

JOSÉ MARIA SOARES

**QUALIDADE NUTRICIONAL E TEORES DE MERCÚRIO E AMINAS
BIOATIVAS EM PEIXES COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE
HUMAITÁ, AM**

Faculdade de Farmácia da UFMG

Belo Horizonte – MG

2018

JOSÉ MARIA SOARES

**QUALIDADE NUTRICIONAL E TEORES DE MERCÚRIO E AMINAS
BIOATIVAS EM PEIXES COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE
HUMAITÁ, AM**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor.

Orientadora: Prof^a. Dra. Maria Beatriz Abreu
Glória

Coorientadora: Prof^a Dra. Josianne Nicácio
Silveira

Faculdade de Farmácia da UFMG

Belo Horizonte – MG

2018

S676q Soares, José Maria.
Qualidade nutricional e teores de mercúrio e amins bioativas em peixes comercializados no município de Humaitá, AM / José Maria Soares. – 2018.
142 f. : il.

Orientadora: Maria Beatriz Abreu Glória.
Coorientadora: Josianne Nicácio Silveira.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

1. Alimentos – Qualidade – Teses. 2. Peixe – Teses. 3. Ácidos graxos – Teses. 4. Mercúrio – Teses. 5. Amins – Teses. 6. Tiramina – Teses. 7. Putrescina – Teses. 8. Cadaverina – Teses. I. Glória, Maria Beatriz Abreu. II. Silveira, Josianne Nicácio. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 641.392



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PPGCA

FOLHA DE APROVAÇÃO

**QUALIDADE NUTRICIONAL E TEORES DE MERCÚRIO E AMINAS BIOATIVAS
EM PEIXES COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE HUMAITÁ, AM**

JOSÉ MARIA SOARES

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 13 de junho de 2018, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Dra. Maria Beatriz de Abreu Gloria - Orientador
Faculdade de Farmácia - UFMG

Profa. Dra. Josianne Nicacio Silveira
Faculdade de Farmácia - UFMG

Profa. Dra. Lucia Péret de Almeida
Uni-BH

Profa. Dra. Tânia Maria Leite da Silveira
Uni-BH

Profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo
Faculdade de Farmácia - UFMG

Belo Horizonte, 13 de junho de 2018.

À minha esposa, Marilene. O início desse trabalho foi o começo da nossa caminhada juntos. Muito obrigado pelo amor, sensatez, compreensão, cuidado e pelos sonhos compartilhados. Juntos, senti-me mais forte e mais seguro para vencer esse desafio.

À minha família: meu pai, José Soares de Oliveira (*in memorian*), minha mãe, Maria Píncer de Oliveira (*in memorian*), vovó Sinhá (*in memorian*), especialmente, meus segundos pais, Anália Píncer Batista e —Cícero Romão Batista, meus sempre e amados VELHUSCOS. E a todos os demais familiares que sempre depositaram toda confiança, deram-me todo apoio e que sempre tiveram um carinho muito especial por mim.

À minha imensa família Cristã que não deixou de dedicar momentos de orações ao nosso DEUS, por mim.

Dedico com muito amor e muita gratidão este trabalho

Há para todas as coisas, um tempo determinado por DEUS
Eclesiastes, 3:1

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por ter me proporcionado este privilégio de ter a coragem de enfrentar este grande desafio e alcançar esta importante vitória da minha vida. Toda minha gratidão a ti, SENHOR.

À minha esposa, Marilene, pela força, compreensão e pela companhia nos momentos bons e dos -difíceis na realização deste trabalho.

A todos os meus familiares, pelo carinho e incentivo constantes.

À professora Maria Beatriz Abreu Glória, pela valiosa oportunidade de cursar o doutorado, pela orientação e por ser exemplo de professora e pesquisadora competente e dedicada.

À professora Josianne Nicácio Silveira, pela coorientação e valiosas contribuições.

Às professoras Flávia Beatriz Custódio (UFRJ), Daniela Chemim de Melo Hoyos (Aquacultura, UFMG) e Lucilene Rezende Anastácio (Depto. de Alimentos, UFMG) pelas contribuições ao trabalho.

Ao técnico de Laboratório do Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente (IEAA) da UFAM, José Martins Gomes, pelo auxílio na coleta e preparo das amostras.

A Lorena e toda equipe do LABM pelo apoio na realização das análises dos ácidos graxos.

Ao professor Ivan e ao Danilo pela orientação nas análises estatísticas.

A todos os colegas do LBqA que contribuíram de forma significativa no meu aprendizado e pela ótima convivência nesse período: Aisa Del Rio, Arthur Magno, Bárbara Silveira, Bruno Dala Paula, Caroline Paiva, Douglas Braga, Edineia Xavier, Fabiana Diniz, Gisela Machado, Guilherme Reis, Laura Ciribelli, Letícia Guidi, Luciana Caldeira, Naiara Ciríaco, Nathália L. de Moura, Nilton Almeida, Patricia Tette, Paula Santiago, Raquel Braga, Regina Carvalho, Ricardo Byrro, Valterney Deus e Warlley Evangelista.

A todos os professores da UFMG com os quais eu tive a oportunidade de cursar disciplinas.

Aos membros da banca examinadora pela participação e contribuições na finalização deste trabalho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) / Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente (IEAA).

À Fundação de Amparo a Pesquisa do estado do Amazonas (FAPEAM).

Muito obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO GERAL	21
2. REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1. Peixes	23
2.2. A produção e o consumo de pescado no mundo e no Brasil	23
2.3. A pesca na Amazônia	25
2.3.1. A situação do município de Humaitá	28
2.4. Potencial nutricional dos peixes	30
2.4.1. Benefícios dos ácidos graxos insaturados à saúde humana	32
2.5. Aspectos toxicológicos associados aos peixes	35
2.5.1. Mercúrio	36
2.5.1.1. Mercúrio no ambiente Amazônico e a saúde do homem	39
2.5.1.2. Controle ambiental do uso de mercúrio	40
2.5.1.3. Limites de tolerância do mercúrio	41
2.5.2. Aminoácidos bioativos	42
2.5.2.1. Classificação das aminoácidos bioativos	43
2.5.2.2. Biossíntese das aminoácidos bioativos	44
2.5.2.3. Aminoácidos bioativos nos alimentos	44
2.5.2.4. Aminoácidos bioativos em peixes	46
2.5.2.5. Aminoácidos bioativos em peixes da Amazônia	47

2.5.2.6. Controle de qualidade dos pescados	48
2.5.2.7. Legislação referente a aminos bioativas em peixes	49
3. OBJETIVOS	50
3.1. Objetivo geral	50
3.2. Objetivos específicos	50
4. PARTE EXPERIMENTAL	51
CAPÍTULO I – PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E ASPECTOS NUTRICIONAIS DE PEIXES DO RIO MADEIRA, NO MUNICÍPIO DE HUMAITÁ, AM	52
1. INTRODUÇÃO	52
2. MATERIAL E MÉTODOS	53
2.1. Material	53
2.1.1. Coleta das amostras de peixes	53
2.1.2. Reagentes e soluções	55
2.1.2.1. Preparo do agente esterificante	55
2.1.3. Métodos de análises	56
2.1.3.1. Preparo das amostras para análises dos ácidos graxos	56
2.1.3.2. Esterificação e análises cromatográficas	56
2.1.3.3. Análise por cromatografia gasosa dos ácidos graxos esterificados	57
2.1.3.4. Quantificação dos ésteres dos ácidos graxos	57
2.1.3.5. Índice da qualidade nutricional (IQN)	58
2.1.3.6. Análise estatística	59

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
3.1. Teores de lipídeos totais e da composição dos ácidos graxos em tecidos musculares de curimatã, jaraqui, pacu e sardinha	59
3.1.1. Teores de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados em tecidos musculares de curimatã, jaraqui, pacu e sardinha	60
3.1.2. Ácidos graxos polinsaturados, linoleico (C18:2n-6) e linolênico (C18:3 n-3)	66
3.1.3. Ácidos graxos polinsaturados eicosapentaenoico (EPA) edocosaheanoico (DHA)	68
3.2. Teores de ácidos graxos em curimatã, jaraqui, pacu e sardinha em duas estações do ano	69
3.3. Índices de qualidade nutricional da fração lipídica do tecido muscular de curimatã, jaraqui, pacu e sardinha	73
4. CONCLUSÃO	76
CAPÍTULO II - MERCÚRIO EM PEIXES DO RIO MADEIRA E ESTIMATIVA DO RISCO À SAÚDE DA POPULAÇÃO DO MUNICÍPIO DE HUMAITÁ, AM	
1. INTRODUÇÃO	77
2. MATERIAL E MÉTODOS	79
2.1 Material	79
2.1.1. Coleta de amostras de peixes	79
2.1.1.1. Coleta de amostras na estação chuvosa	80
2.1.1.2. Coleta de amostras na estação seca	81
2.1.2. Reagentes e soluções	82
2.2. Métodos	82
2.2.1. Método de análises	82
2.2.1.1. Metodologia analítica para determinação de mercúrio total em peixes	82
2.2.1.2. Metodologia de avaliação do risco à saúde humana, pela estimativa da exposição alimentar do metilmercúrio em peixes	82

2.2.1.3. Metodologia para a extração de lipídeos	84
2.2.2. Análise estatística	84
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
3.1. Características dos peixes	85
3.2. Distribuição do mercúrio ao longo do músculo do peixe	88
3.3. Teores de mercúrio em diferentes espécies de peixes	90
3.4. Teores de mercúrio nos peixes em diferentes locais de captura do peixe	93
3.5. Teores de mercúrio nos peixes em diferentes estações	93
3.6. Avaliação do risco a saúde pela exposição do metilmercúrio no consumo de peixes	94
4. CONCLUSÃO	97
CAPÍTULO III - AMINAS BIOATIVAS E AMINOÁCIDOS EM PESCADOS DO RIO MADEIRA, COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE HUMAITÁ, AM	98
1. INTRODUÇÃO	98
2. MATERIAL E MÉTODOS	99
2.1. Material	99
2.1.1. Amostras	99
2.1.2. Reagentes para as análises de aminas bioativas e aminoácidos livres	100
2.1.3. Soluções para as análises de aminas bioativas e aminoácidos livres	101
2.1.3.1. Solução padrão das aminas	101
2.1.3.2. Solução tampão acetado de sódio; octossulfonato de sódio- fase móvel para a cromatografia	101
2.1.3.3. Solução derivante	102
2.2. Métodos	102
2.2.1. Fatores que afetam os níveis de aminas bioativas nos peixes	102

2.2.2. Teores de aminoácidos livres nas amostras dos peixes	103
2.2.3. Método de análise	103
2.2.3.1. Determinação de aminoácidos livres	103
2.2.3.2. Determinação das aminas bioativas livres	104
2.2.3.3. Análises estatísticas	105
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	106
3.1. Aminoácidos livres no peixe	106
3.2. Ocorrência de aminas nos peixes	109
3.3. Teores de aminas bioativas nos peixes	112
3.4. Influência do tamanho, peso e teores de lipídeos dos peixes nos teores nas aminas	113
3.5. Influência da estação climática de captura dos peixes nas aminas	115
3.6. Influência do local de captura no perfil e teores de aminas bioativas	116
3.7. Aspectos toxicológicos relacionados às aminas bioativas no peixe	119
4. CONCLUSÃO	120
CONCLUSÕES INTEGRADAS	122
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	124
ANEXO	142

LISTA DE FIGURAS

1	Produção e consumo mundial de pescado de 2009 a 2014	24
2	Estrutura química dos ácidos graxos poli-insaturados, ômega-6 (n-6) e ômega-3 (n-3)	32
3	Ciclo de transformação do mercúrio no meio ambiente	38
4	Estruturas químicas de algumas aminas bioativas	43
5	Pescados comercializados no mercado municipal de Humaitá, AM	49
I.1	Identificação dos pontos de coletas dos peixes capturados no rio Madeira, próximo à Humaitá, AM	54
II.1	Prática de garimpo no rio Madeira, próximo à Humaitá, AM	78
II.2	Fotografia ilustrativa dos pontos de coleta de amostras em cada tipo de peixe em cada tipo de peixe para investigar a distribuição de mercúrio no tecido muscular de peixes coletados na estação chuvosa no município de Humaitá, AM.	81
II.3	Representação esquemática do equipamento DMA-80 (Milestone)	83
II.4	Valores mínimos, máximos e medianas dos teores de mercúrio nas amostras de peixes capturados no rio Madeira, Humaitá, AM	91
III.1	Contribuição de cada amina ao teor total, considerando os respectivos teores médios, nos peixes curimatã, jaraqui, pacu e sardinha capturados no rio Madeira no município de Humaitá, AM.	113

LISTAS DE TABELAS

1	Estimativa de crescimento da produção de pescado no mundo e no Brasil	25
2	Preferência_(%) do consumo de carnes nas regiões do Brasil	26
3	Características das fases associadas à contínua movimentação das águas nos rios da Amazônia	29
4	Informações gerais dos peixes capturados no rio Madeira, município de Humaitá, AM	31
5	Qualidade nutricional da fração lipídica de espécies de peixes amazônicos adquiridos no mercado do peixe em Belém, PA	34
6	Qualidade nutricional da fração lipídica de espécies de peixes amazônicos da região pantaneira do Mato Grosso do Sul	35
7	Limites de mercúrio e de metilmercúrio estabelecidos por diversos órgãos competentes	41
I.1	Teores médios de lipídeos totais e de ácidos graxos (mg/100 g) no tecido muscular de curimatá, jaraqui, pacu e sardinha, capturados no rio Madeira, no município de Humaitá, AM, nos meses de maio e outubro de 2015	62
I.2	Teores médios dos somatários dos ácidos graxos (mg/100g), de tecido muscular de curimatá, jaraqui, pacu e sardinha, capturados no rio Madeira, no município de Humaitá, AM, nos meses de maio e outubro de 2015.	65
I.3	Teores médios de ácidos linoleico (C18:2n-6) e linolênico (C18:3n-3), em mg/100 g, em curimatã, jaraqui, pacu e sardinha do rio Madeira, Humaitá, AM e a contribuição ao consumo/dia na dieta recomendada	67
I.4	Teores médios de ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), EPA+DHA, estimativa do consumo/dia pela população ribeirinha de Humaitá, AM, e a contribuição (%) do consumo mínimo/dia recomendado pela FAO	68
I.5	Perfil de ácidos graxos (mg/100 g) de tecido muscular (filé) dos peixes capturados no rio Madeira, município de Humaitá, AM, nas duas estações (chuvosa e seca) do ano de 2015	71
I.6	Índices de qualidade nutricional da fração lipídica do tecido muscular de curimatã, jaraqui, pacu e sardinha, capturados no rio Madeira, no município de Humaitá, AM, em maio e outubro de 2015	74
II.1	Classificação taxonômica das quatro espécies de peixes analisadas do rio Madeira, no município de Humaitá, AM	80

II.2	Teores medianos de mercúrio e lipídeos nos filés, teores médios de comprimento e peso de peixes capturados em dois locais do rio Madeira, Humaitá, AM e em duas estações do ano de 2015	85
II.3	Correlação de Pearson entre os teores de mercúrio, comprimento, peso e teores de lipídeos nos filés das espécies de peixes analisadas do rio Madeira, município de Humaitá, AM	87
II.4	Teores médianos (mínimos e máximos) de mercúrio total, em mg/Kg em base úmida de tecido muscular de diferentes partes dos peixes capturados no rio Madeira	88
II.5	Níveis do mercúrio total e metilmercúrio em peixe e estimativa de exposição para o metilmercúrio, pelo consumo de quatro espécies de peixes do rio Madeira e pela região Norte do Brasil e população ribeirinha, próximo a Humaitá, AM.	96
III.1	Teores de aminoácidos livres no tecido muscular de quatro espécies de peixes capturados no rio Madeira em Humaitá, em dois locais, Igarapé Puruzinho e Santa Rosa, na estação chuvosa do ano de 2015	107
III.2	Teores médios, medianas e máximos de aminos bioativas encontradas nas espécies dos peixes curimatã, jaraqui, pacu e sardinha capturados no rio Madeira no município de Humaitá, AM	111
III.3	Teores de aminos bioativas encontradas em quatro espécies de peixes do rio Madeira no município de Humaitá, AM, capturados em duas estações climáticas (chuvosa e seca) no ano de 2015	115
III.4	Ocorrência e teores de aminos bioativas livres (mediana, mínimo, e máximo de aminos bioativas livres), em quatro espécies de peixes do rio Madeira, afetados pelo local de captura Igarapé Puruzinho e Santa Rosa), no município de Humaitá, AM, em 2015	118
III.5	Exposição da população do Norte do Brasil e da população ribeirinha do rio Madeira próximo a Humaitá, AM, pelo consumo de peixes com níveis de tiramina	120

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácido graxo
AGM	Agmatina
AGMI	Ácido graxo monoinsaturado
AGPI	Ácido graxo poliinsaturado
AGS	Ácido graxo saturado
AM	Amazonas
ANVISA	Agência Nacional da Vigilância Sanitária
ABs	Aminas bioativas
CAD	Cadaverina
DHA	Ácido docosahexaenoico
DMA	Director Mercury Analyzer
DOU	Diário Oficial da União
EPA	Ácido eicosapentaenoico
EPD	Espermidina
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
FEM	Feniletilamina
Hg	Mercúrio
HgMe	Metilmercúrio
HH	Hipocolesterolêmicos e Hipercolesterolêmicos
HIM	Histamina
IA	Índice de aterogenicidade
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IDAM	Instituto de Desenvolvimento Agropecuária e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas
IEAA	Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente
IMAO	Inibidor de monoaminoxidase
IPAAM	Instituto de Proteção Ambiental do Amazonas
IT	Índice de trombogenicidade
LBqA	Laboratório de Bioquímica de Alimentos
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MPA	Ministério da Pesca e Aquicultura
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPA	o-Ftalaldeído
PNCRC	Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
PUT	Putrescina
SEPROR	Secretaria de Estado de Produção Rural e Sustentabilidade
SRT	Serotonina
TCA	Ácido tricloroacético
TIM	Tiramina
TRM	Triptamina
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UNEP	United Environment Program
USEPA	Unites States Environmental Protection Agency
WHO	World Health Organization

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo investigar os teores de ácidos graxos, mercúrio total, aminoácidos livres e aminas bioativas em peixes comercializados em Humaitá, AM, a saber: curimatã, jaraqui, pacu e sardinha. As amostras foram coletadas em dois locais do rio Madeira (igarapé Puruzinho e Santa Rosa), próximos a Humaitá, em duas estações (chuvosa e seca) em 2015. Os ácidos graxos foram determinados por CG-FID; o mercúrio total por espectrometria de absorção por amalgamação em ouro; as aminas por CLAE-par iônico e detecção fluorimétrica; e os aminoácidos por UPLC e detecção no UV. Os teores de lipídeos foram 1760 (jaraqui), 1920 (curimatã), 7060 (sardinha) e 7690 mg/100 g (pacu). O ácido palmítico foi o saturado que se destacou (350 em curimatã; 1230 em pacu e 1547 mg/100 g em sardinha). A sardinha apresentou maiores teores de monoinsaturados (2900 mg/100 g) e o pacu de polinsaturados (1900 mg/100 g). O pacu apresentou maiores teores de ácido linoleico (1056 mg/100 g), linolênico (673 mg/100 g) e EPA+DHA (60,13 mg/100 g). Houve variação sazonal de ácidos graxos saturados e polinsaturados para o pacu e a sardinha, com maiores teores na cheia. Os teores de mercúrio total variaram, com a cadeia trófica, sendo maiores em sardinha (0,24 mg/kg), seguido do curimatã (0,16 mg/kg), jaraqui (0,13 mg/kg) e pacu (0,04 mg/kg). Houve correlação positiva entre os teores de mercúrio e o comprimento do peixe para o jaraqui, porém, negativa para sardinha. Os teores de mercúrio foram compatíveis com a legislação, porém, devido ao alto consumo, a ingestão desses peixes excedeu o PTWI de 1,6 µg/kg/semana (JECFA), indicando risco para a população ribeirinha. Foram detectados 16 aminoácidos nos peixes, com a prevalência da histidina (55,5-67,9%) e cinco aminas bioativas foram detectadas. Houve variação na ocorrência e teores destas aminas nas diferentes espécies de peixe: espermidina, putrescina e cadaverina foram detectadas em todas as espécies, agmatina só em pacu, e tiramina em curimatã, jaraqui e pacu. Curimatã e jaraqui tiveram os maiores teores totais de aminas, sendo elevada a contribuição de tiramina ao teor total. Peixes obtidos na cheia apresentaram os maiores teores de aminas. Teores mais elevados de tiramina e cadaverina foram encontrados em Santa Rosa onde a água apresenta maior

contaminação. O teor de tiramina encontrado é preocupante para os ribeirinhos, especialmente aqueles que fazem o uso do medicamento IMAO.

Palavras-chave: peixes. ácidos graxos. mercúrio. tiramina. putrescina. cadaverina
qualidade.

ABSTRACT

The objective of this work was to investigate the levels of fatty acids, mercury, bioactive amines and free amino acids in four of the most commercialized fish species in Humaitá, AM: curimatã, jaraqui, pacu and sardinha. The samples were collected in two different places of the Madeira river (Puruzinho and Santa Rosa), at the dry and rainy seasons in 2015. The fatty acids were determined by GC-FID after methylation; total mercury by gold amalgamation absorption spectrometry; the amines by ion pair-HPLC and fluorometric detection; and the amino acids by UPLC and UV detection. Total lipids varied from 1700 (jaraqui), 1920 (curimatã), 7060 (sardinha) and 7690 mg/100 g (pacu). Palmitic acid was the prevalent saturated fatty acid (350 - curimatã; 1230 - pacu and 1547 mg/100 g – sardinha); sardinha had the highest monosaturated (2900 mg/100 g), and pacu the highest polyunsaturated (1900 mg/100 g). Pacu had higher levels of linoleic (1056 mg/100 g), linolenic (673 mg/100 g) and EPA+DHA (60.13 mg/100 g). There was seasonal variation of saturated and polyunsaturated fatty acids for pacu and sardinha, with higher values in the rainy season. The levels of total mercury varied from 0.01 to 0.46 mg/kg in the fish. Higher levels were in sardinha (0.22 mg/kg), followed by curimatã (0.15 mg/kg), jaraqui (0.15 mg/kg) and pacu (0.05 mg/kg). The place of fish capture and season affected mercury levels in jaraqui and sardinha. The health risk calculated by means of predicted tolerable weekly ingestion (PTWI) using mean levels (135 µg/kg) was 43.4% over the tolerable limit, providing evidence of potential health risk to riverines due to high fish consumption. 16 amino acids were found with prevalence of histidine (55.5- 67.9%). Only five amines were detected in the fish and the occurrence and levels varied among fish: spermidine, putrescine and cadaverine were detected in every species. Agmatine was only detected in pacu, and tyramine in curimatã, jaraqui and pacu. Curimatã and jaraqui had higher total amines, with higher contribution of tyramine to total levels. Fish captured in the rainy season had higher levels of amines compared to dry season. Higher levels of tyramine and cadaverine were found in Santa Rosa suggesting higher water contamination at this place. Tyramine levels in fish are worrisome to the riverines, specially those under MAOI drugs.

Keywords: Fish. fatty acids. mercury. tyramine. putrescine. cadaverine. quality

1. INTRODUÇÃO GERAL

A população brasileira vem seguindo a tendência mundial de consumir alimentos nutritivos, os quais, de alguma forma, trazem benefícios para a sua saúde. Dentre eles, o peixe pode oferecer ao consumidor quantidades adequadas de nutrientes essenciais (SANTOS, 2011; THE STATE..., 2016).

Os peixes se destacam pelo alto teor protéico; o que lhes confere também elevado valor nutricional. A carne de peixes possui, aproximadamente, o mesmo teor de proteínas que a de mamíferos e aves, porém, com a vantagem de ter maior digestibilidade. É rica em vitaminas, sais minerais, além de ser a maior reserva de ácidos graxos poliinsaturados, especialmente o eicosapentaenóico - EPA (20:5n-3) e o docosahexaenóico - DHA (22:6n-3), da série ômega-3. A estes ácidos graxos são atribuídos numerosos benefícios ao organismo humano por produzirem compostos que estão envolvidos em vários processos metabólicos de grande importância, principalmente os vasculares que têm funções antitrombóticas e anti-inflamatórias (FURUYA *et al.*, 2006; STEVANATO *et al.*, 2007; TONIAL *et al.*, 2014).

Embora o pescado seja uma fonte rica de nutrientes importantes para a saúde humana, a realidade ambiental de rios, riachos e mares brasileiros e do mundo tem causado preocupações. Cada vez mais se observa os altos índices de poluição, aumentando a preocupação de que esse alimento possa ser também fonte de compostos prejudiciais à saúde humana, como metais pesados, principalmente, mercúrio, e outros contaminantes relacionados às práticas higiênico-sanitárias e de manutenção do frio, inadequadas durante as etapas de captura e comercialização, gerando as aminas biogênicas (MARINHO *et al.*, 2014).

De acordo com Oliveira (2006), o uso de mercúrio no garimpo de ouro do rio Madeira, associado à intensificação da prática de desmatamento e queimadas na região, pode resultar no aumento das concentrações desse elemento no ecossistema aquático. O mercúrio pode transformar-se numa forma orgânica, metilmercúrio, cem vezes mais tóxica, sendo rapidamente assimilado pelos organismos vivos e bioacumular-se ao longo das cadeias alimentares aquáticas, de modo a figurar como origem de vários problemas de saúde humana, oriundos de sua ingestão indevida e, na maioria das vezes, ignorada.

Outra preocupação seriam as aminas biogênicas tais como histamina, tiramina, putrescina e cadaverina. Estas, em teores elevados, podem causar efeitos adversos à saúde humana. A intoxicação por histamina resulta da ingestão de produtos alimentares que contenham níveis elevados desta amina, causando sintomas cutâneos como erupção, urticária, edema e inflamação localizada; gastrointestinais tais como náuseas, diarreia e contrações abdominais; outros sintomas incluem hipotensão, dor de cabeça, palpitações, formigamento e, em casos mais severos, sensação de queimadura, broncoespasmos e dificuldade respiratória. Por outro lado, a tiramina, a triptamina e a feniletilamina, podem causar enxaqueca. E, ainda, algumas aminas podem ser indicadoras das condições higiênico-sanitárias prevalentes durante a captura e armazenamento do pescado, como, por exemplo, sua permanência em temperaturas inadequadas, ou seja, superiores a 4 °C, após captura e durante o armazenamento, transporte e comercialização (GLÓRIA, 2006).

A pesca extrativista, além de fornecer o alimento, tem sido uma das principais fontes de renda da população de Humaitá, AM; porém, não há informações precisas da quantidade produzida e comercializada no município.

Afluente da margem direita do rio Amazonas, o Madeira é um dos vinte maiores rios do mundo e o terceiro rio do país em extensão. Possui 3.370 km de extensão e largura média de 2 a 8 km, percorrendo os estados de Rondônia e Amazonas. É propício à pesca, o que o torna importante fonte de alimento e sustento para a população da região (HERRAIZ, 2015).

Assim, há necessidade de conhecer a qualidade nutricional de peixes de água doce, relacionada ao perfil de ácidos graxos, visto que o peixe é um dos principais componentes da dieta da população do estado e, em particular dos ribeirinhos, os possíveis aspectos adversos associados à segurança em relação ao mercúrio, aminas biogênicas e seus aminoácidos precursores, tendo em foco a realidade do município de Humaitá, localizado no Sul do Estado do Amazonas, às margens do rio Madeira.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Peixes

O peixe faz parte da dieta de vários grupos populacionais, não apenas como fonte de proteínas de alta qualidade nutricional, mas ainda como reserva significativa de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) especialmente o ácido eicosapentanoico (EPA-C20:5n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA-C22:6n-3), aos quais são atribuídos numerosos benefícios à saúde (FERNANDES *et al.*, 2014).

O peixe é o principal alimento da região amazônica em função de sua grande disponibilidade, tornando a pesca uma das atividades de maior expressão social, econômica e cultural da região e a principal fonte nutricional, sendo a maior fonte de proteína para o consumo humano da região, particularmente das populações que habitam as margens dos rios e lagos, denominados de ribeirinhos (SOARES *et al.*, 2016). É uma opção de consumo mais saudável do que as outras carnes, como as bovinas, suínas e de aves (GONÇALVES, 2011). O consumo *per capita* de pescado das populações ribeirinhas é estimado em 500 g/dia ou equivalente a 180 kg/pessoa/ano (PESCA..., 2015).

2.2. A produção e consumo de pescado no mundo e no Brasil

De acordo com a The state... (2016), a produção mundial de pescado, em 2014, foi de 167,2 milhões de toneladas (Figura 1), com um consumo de 146,3 milhões de toneladas (87,5%), gerando um consumo *per capita* de 20,1 kg. Para a produção de peixes marinhos, a China, Indonésia, Estados Unidos, Rússia e Japão foram os cinco maiores produtores nesse ano; enquanto que para a aquicultura, os cinco maiores produtores foram a China, Índia, Indonésia, Vietnã e Chile, ficando o Brasil na décima quarta posição. A China, além de ser o maior produtor, é também o maior exportador de peixes e derivados, desde 2002.

O crescimento global na oferta de peixes para o consumo humano superou o crescimento da população nas últimas cinco décadas, aumentando a uma média anual de 3,2% no período de 1961 a 2013. O consumo per capita no mundo aumentou de uma média de 9,9 kg na década de 1960 para 14,4 kg na década de 1990 e 19,7 kg em 2013, com estimativa para 2015 superior a 20 kg (THE STATE..., 2016).

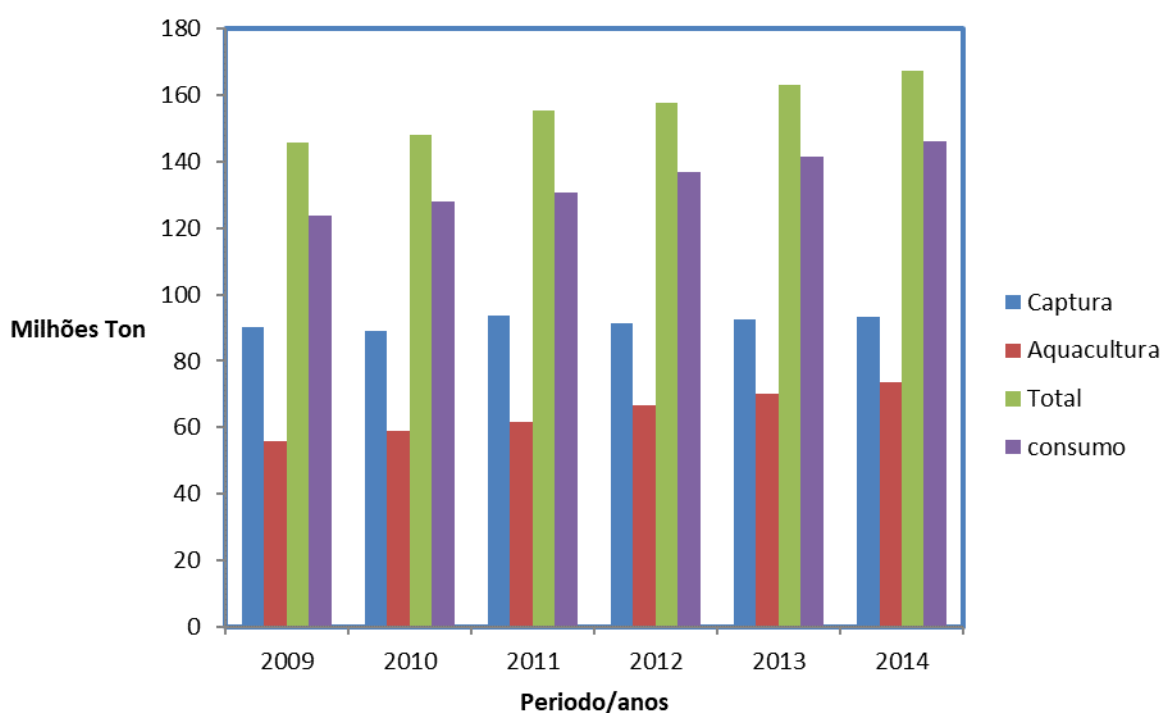


FIGURA 1 - Produção e consumo mundial de pescado de 2009 a 2014.

Fonte: The state... (2016).

A produção e o consumo de pescado no Brasil vêm crescendo a cada ano. O relatório da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (THE STATE..., 2016), descreve sobre a estimativa de que o Brasil deve registrar um crescimento de 48,6 e 104% na pesca e aquicultura, respectivamente, até 2025 (Tabela 1). Segundo o estudo, o aumento na produção brasileira será maior em comparação com o crescimento mundial. O crescimento se deve aos investimentos feitos no setor nos últimos anos, podendo o país ser também uma potência importante na pesca e aquicultura (THE STATE..., 2016).

Este aumento se deve ao fato do Brasil possuir uma costa marítima com 8,5 mil Km e 8,2 bilhões de metros cúbicos de água distribuídos em rios, lagos, açudes e represas, com condições ambientais e climáticas favoráveis para se tornar um dos maiores produtores de pescado no mundo (BRASIL, 2017).

Em 2011, o consumo *per capita* no Brasil foi de 11,1 kg, ainda abaixo do recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que sugere um consumo de pelo menos 12,0 kg/per capita/ano (BRABO *et al.*, 2016).

TABELA 1 - Estimativa de crescimento da produção de pescado no mundo e no Brasil

Local	Produção (1000 Ton)		Crescimento (%)
	2013-2015	2025	
Global			
Mundo	166.889	195.911	17,4
Brasil	1.327	1.972	48,6
Aquacultura			
Mundo	73.305	101.768	25,7
Brasil	560	1.145	104,4

Fonte: The state... (2016).

2.3. A pesca na Amazônia

A produção da pesca extrativa continental, em 2011, no Brasil foi de 249.600 toneladas (BOLETIM..., 2012). A região norte foi a maior produtora dessa modalidade com 137.145 toneladas, sendo responsável por 55% da captura total, sendo o estado do Amazonas o maior produtor com 63.743 toneladas, representando 46,48% do total capturado.

De acordo com Lopes *et al.* (2016), em relação à preferência de consumo de carnes, no Brasil, a região norte se destaca com o maior percentual no consumo de

peixes, comparado com outros tipos de carnes, alcançando o patamar de, aproximadamente, 71% da preferência de peixes (Tabela 2).

A pesca na Amazônia representa uma importância muito significativa por ser uma das atividades de maior expressão social e econômica da região, apresentando características artesanais na maioria das localidades (LIMA *et al.*, 2016). A pesca faz parte da cultura dos povos da Amazônia, constituindo uma atividade tradicional de grande importância para a renda familiar e, é, também, uma das principais atividades econômicas da região (OLIVEIRA, 2006).

TABELA 2 - Preferência (%) do consumo de carnes nas regiões do Brasil

Região	Tipo de carne	Preferência (%) (Continua)
Norte	Peixes	70,7
	Bovinos	14,7
	Aves	12,2
	Suínos	1,2
	Outros	1,2
Nordeste	Bovinos	38,2
	Aves	32,1
	Peixes	24,7
	Suínos	2,5
	Outros	2,5
Centro-Oeste	Bovinos	52,7
	Aves	22,7
	Peixes	18,7
	Suínos	2,2
	Outros	2,2
Sudeste	Bovinos	50,1
	Aves	27,8
	Peixes	15,2
	Suínos	3,0
	Outros	3,9
Sul	Bovinos	53,0

Peixes	22,6
Aves	18,8
Suínos	2,1
Outros	3,5

Fonte: Lopes *et al.* (2016).

Na Amazônia, a pesca artesanal responde por uma parcela significativa da produção de pescado para o mercado interno, além de suprir suas comunidades com praticamente a totalidade das necessidades de proteína animal e abastecer inúmeras famílias ribeirinhas por meio de canais de comercialização, troca e solidariedade. Trata-se de uma atividade passada de geração em geração e conta com a participação dos membros das famílias, sem distinção de gênero ou idade. Porém, embora todos pesquem, somente aqueles devidamente registrados como profissionais são chamados de pescadores de fato (MOREIRA *et al.*, 2010).

A pesca de subsistência é desenvolvida por pescadores ribeirinhos e destinada à sua alimentação e à de seus familiares. Quando bem sucedida, parte da produção pode ser vendida a intermediários ou em feiras das vilas mais próximas. Trata-se de uma atividade difusa, praticada por milhares de pessoas e, por isso, a produção é difícil de ser quantificada. É também muito expressiva do ponto de vista cultural, por ser uma atividade comumente praticada por pessoas de ambos os sexos e de todas as idades e categorias sociais (SANTOS e SANTOS, 2005).

No estado do Amazonas, apesar do número de espécies de peixe ser bastante elevado, são poucas as espécies ou grupos de espécies responsáveis pela maioria dos desembarques. De forma geral, curimatã, pacu, jaraqui, tambaqui, sardinha, matrinxã, surubim, dourada, filhote, pirarucu e piramutaba são as espécies de maior importância para o estado (BOLETIM..., 2012).

Um fator de grande importância para a atividade pesqueira nos rios da Amazônia refere-se ao processo quase contínuo de subida e descida das águas que determinam quatro fases distintas: enchente, cheia, vazante e seca, conforme indicado na Tabela 3.

A exploração pesqueira na Amazônia é regida por várias Leis, Decretos, Portarias e outras normas legais. O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, por meio da portaria nº 48, de 5 de novembro de 2007, publicada no DOU nº 213, de 06 de novembro de 2007, (BRASIL, 2007), estabeleceu normas para a gestão do uso sustentável dos recursos pesqueiros. No artigo 1º do Decreto nº 5.583, de 16 de novembro de 2005, estabeleceu normas de pesca para o período de proteção à reprodução natural dos peixes. No estado do Amazonas, esse período compreende entre o dia 15 de novembro a 15 de março, com proibições e permissões específicas constando no anexo II, em que se insere a bacia do Rio Madeira, objeto de pesquisa desse projeto

2.3.1. A situação do município de Humaitá

O município de Humaitá está localizado no Sul do Estado do Amazonas (Lat 07°30'22S Long. 63°01'15"W), pertencente à mesorregião do sul do Amazonas e microrregião do Madeira. Sua população é de 53.383 habitantes, de acordo com estimativas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (PESQUISA..., 2010). O rio é afluente da margem direita do Rio Amazonas, é um dos vinte maiores do mundo e o terceiro rio do país em extensão. Banha algumas regiões mais férteis do Brasil. Possui 3.370 km de extensão e largura média de 2 a 8 km, percorrendo os estados de Rondônia e Amazonas (HERRAIZ, 2015). Tem grande potencial hidráulico e apresenta, em seu curso superior, muitas cachoeiras. A fauna é abundante, rica em variedades de pássaros, de peixes e de animais. Os peixes que povoam os rios e a farinha de mandioca, constituem a base alimentícia da população. Portanto, o pescado constitui uma das principais fontes de nutrientes da população (ESTUDOS..., 1997).

TABELA 3 - Características das fases associadas à contínua movimentação das águas nos rios da Amazônia

Fases dos rios	Descrição
Enchente	ocorre entre os meses de dezembro e abril, quando a maioria das espécies forma cardume e empreende migrações para desovar na boca de igarapés ou nas margens dos rios, sendo seus ovos e larvas

	carreadas pela correnteza para as áreas que começam a ser inundadas
Cheia/ Chuvosa	dura entre maio e junho. É nela que os peixes desovados e os jovens recrutados, em fase de crescimento, se alimentam intensamente, aproveitando a farta oferta de frutos, sementes, raízes, folhas e invertebrados e outros alimentos proporcionados pela floresta inundada
Vazante	abrange o período de julho a setembro e nesse tempo, os peixes se agrupam para abandonar as áreas da floresta que começam a secar, iniciando a saída pelas ligações do lago com o rio e, a partir daí, pelo canal principal, em movimento de dispersão ascendente
Seca	entre outubro e novembro. É nessa ocasião que os peixes se tornam mais concentrados, por causa da maior vulnerabilidade à predação, assim como pela depleção de oxigênio nos corpos d'água mais rasos e sob forte influência de material em decomposição

Fonte: Santos e Santos (2005).

As dez principais espécies de peixes, branquinha, curimatã, dourada, jatuarana, jaraqui, pacu, sardinha, surubim, tamoatã e tucurané, registradas pela Colônia de Pescadores Z-31, no município de Humaitá, no período de 2001 a 2013, foram responsáveis por até 94% do total capturado (LIMA *et al.*, 2016). Estas incluíam as quatro espécies estudadas no presente projeto: curimatã (*Prochilodus nigricans*), jaraqui (*Semaprochilodus insignis*), pacu (*Mylossoma duriventre*) e sardinha (*Triportheus angulatus*). De acordo com esses autores, a produção total registrada pela Colônia nesse período foi de 3.874 toneladas, com média anual de 298 toneladas. Na Tabela 4 estão apresentadas as informações sobre as espécies estudadas no presente trabalho (SANTOS e SANTOS, 2006).

2.4. Potencial nutricional dos peixes

Os peixes se destacam por apresentar elevada importância nutricional devido ao alto teor proteico e de vitaminas (MORETTO *et al.*, 2002). Por isso o seu consumo é associado a uma alimentação saudável (TOCHER, 2015) e amplamente recomendado por médicos e nutricionistas (SANTOS *et al.*, 2013). O conteúdo protéico de peixes varia entre 15 e 24 g/100 g, similar ao de mamíferos e aves. A variação no teor de proteína é influenciada por fatores como espécie, idade, época

de captura etc. O espectro de aminoácidos é completo. A digestibilidade das proteínas é alta, cerca de 90-95%, superando a carne bovina, que atinge valores ao redor de 90%. Com relação ao conteúdo de lipídeos, os peixes contêm teores variando de 0,1 a 22 g/100 g (GONÇALVES, 2011; THE STATE..., 2016). A fração lipídica possui alto teor de ácidos graxos insaturados (MORETTO *et al.*, 2002; FURUYA *et al.*, 2006; GONÇALVES, 2011).

Os ácidos graxos de grande interesse nutricional, como os ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 (Figura 2), os quais estão envolvidos em vários processos metabólicos de grande importância, principalmente os vasculares que têm ações antitrombóticas e antiinflamatórias (FURUYA *et al.*, 2006). O consumo frequente de alimentos ricos em ácidos graxos ômega-3, presentes principalmente nos peixes, está associado à redução dos riscos de doenças cardiovasculares, de alguns tipos de câncer, bem como no tratamento de doenças inflamatórias, como a artrite (SANTOS *et al.*, 2013).

Quanto ao teor de minerais, os peixes são portadores de quantidades apreciáveis de fósforo, cálcio, ferro, cobre e iodo. E, com relação às vitaminas, destacam-se como importante fonte de vitaminas lipossolúveis A e D, assim como as ovas de peixe que contêm alto teor de vitaminas do complexo B (MORETTO *et al.*, 2002; GONÇALVES, 2011).

TABELA 4 - Informações gerais dos peixes capturados no rio Madeira, município de Humaitá, AM

Informação	Peixes			
	Curimatã	Jaraqui de escama grossa	Pacu manteiga	Sardinha chata
Espécie	<i>Prochilodus nigricans</i> (Agassiz, 1829)	<i>Semaprochilodus insignis</i> (Schomburgk, 1841)	<i>Mylossoma duriventre</i> (Cuvier, 1817)	<i>Triportheus angulatus</i> (Spix & Agassiz, 1829)
Ordem	Characiformes	Characiformes	Characiformes	Characiformes
Família	Prochilodontide	Prochilodontidae	Characidae	Characidae
Porte	porte grande até 50 cm	porte grande até 35 cm	porte médio até 25cm	porte pequeno até 20 cm
Ocorrência	águas claras, pretas e branca	águas brancas, claras e pretas	águas brancas, claras e pretas	área de várzea
Alimentação	detritívoro	detritívoro	herbívoro	Onívora
Hábito	diurno, migrador	diurno, migrador	diurno, migrador	forma cardumes e empreende migrações, sendo uma trófica na seca e outra reprodutiva na enchente.
Desova	total, em águas claras e brancas	total em rios de águas pretas e brancas	total em confluências de rios de águas pretas e brancas	desova nas águas brancas
Fecundação	externa	externa	externa	externa
Época sazonal para reprodução	final da seca, início da enchente	Início da enchente	seca e cheia	enchente

Fonte: Santos *et al.* (2006).

2.4.1. Benefícios dos ácidos graxos insaturados na saúde humana

Os ácidos graxos encontrados nos peixes (Figura 2), mais importantes para o homem são o da família ômega-3 (n-3) que são o ácido linolênico (18:3), o ácido eicosapentaenóico - EPA (20:5) e o ácido docosahexaenóico - DHA (22:6), e os da família omega-6 (n-6) que são os ácidos linoleico (18:2) e o araquidônico (20:4). Dentre esses ácidos graxos, o linoléico e o linolênico são essenciais, pois não podem ser produzidos pelo organismo humano e, portanto, devem ser obtidos pela dieta (MARECHA *et al.*, 2002).

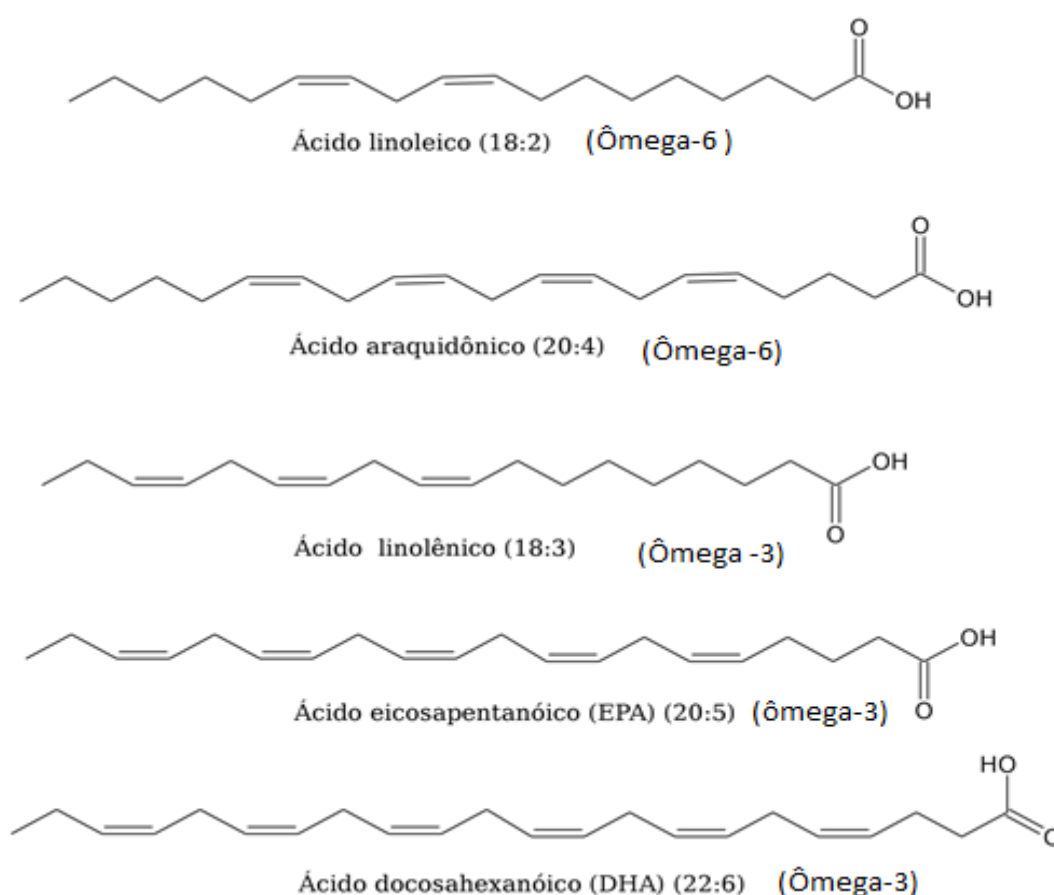


FIGURA 2 - Estruturas químicas dos ácidos graxos poli-insaturados, ômega-6 (n-6) e ômega-3 (n-3).

Os ácidos linoleico e linolênico são precursores do EPA e do DHA (SONG *et al.*, 2016). O DHA é essencial no desenvolvimento do cérebro de fetos (MAAS *et al.*, 2017). Ácidos graxos poliinsaturados, especialmente ácido linoleico (18:2n-6), ácido araquidônico (20:4n-6), ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e do ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) são biologicamente ativos: eles modulam a expressão gênica e regulam as propriedades físicas de membranas. A ingestão dietética desses ácidos é importante para a saúde do ser humano, porque atuam na prevenção de distúrbios neurológicos, na prevenção de doenças cardiovascular, imunológica, inflamatória, diabetes e obesidade (GUESNET *et al.*, 2011).

Os ácidos graxos essenciais exercem várias funções importantes como precursores dos eicosanóides: prostaglandinas e leucotrienos que são potentes mediadores anti-inflamatórios e atuam na modulação do sistema imunológico (FRANCO, 2008; SONG *et al.*, 2016). Os de grande interesse são os polinsaturados, ômega-3, que estão envolvidos em vários processos metabólicos de grande importância nutricional (FURUYA *et al.*, 2006).

Os benefícios que representam os ácidos graxos insaturados para a saúde humana são amplamente conhecidos no que diz respeito à prevenção de doenças coronárias, doenças cardiovasculares, artrite reumática, depressão, depressão pós-parto, cânceres, diabetes, ação antiinflamatórias, entre outros (SOUZA *et al.*, 2007).

A qualidade nutricional dos ácidos graxos pode ser avaliada por diferentes índices, que indicam a contribuição do alimento na prevenção de doenças coronárias. A razão entre ácidos graxos poliinsaturados e saturados (AGPI/AGS) pode ser um destes indicadores. Valores inferiores a 0,45 são considerados indesejáveis à dieta pelo potencial de indução do aumento do colesterol sanguíneo (TONIAL *et al.*, 2010).

Outro índice seria a razão entre os ácidos graxos ômega-6 e os ômega-3 (n-6/n-3), sendo que valores menores que 4 indicam prevenção do risco de doenças cardiovasculares (RODRIGUES *et al.*, 2017).

Há também os índices de aterogenicidade (IA), índice de trombogenicidade (IT) e a razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) que refletem os efeitos funcionais dos ácidos graxos e o potencial em prevenir a aterosclerose e a trombose coronárias (RAMOS FILHO *et al.*, 2008). Não existem

limites recomendados para esses índices (NOZAKI *et al.*, 2012). Entretanto, estes indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, de forma que, quanto menores os valores, maior é a quantidade de ácidos graxos anti-aterogênicos presentes em óleos/gorduras e, conseqüentemente, maior o potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronárias; por outro lado, maiores valores para o índice HH favorecem a qualidade nutricional dos alimentos (TONIAI *et al.*, 2010). Estes índices (IA, IT e HH) são úteis na avaliação e comparação da qualidade de diferentes alimentos e dietas.

São escassas as informações sobre o perfil lipídico de peixes da Amazônia. Na literatura pesquisada, estudo realizado por Bentes *et al.* (2009), com três espécies de peixes amazônicos, Gurijuba, Piramutaba e dourada adquiridas no mercado do peixe em Belém, PA (Tabela 5) indicaram que todas as espécies apresentaram elevada qualidade nutricional da fração lipídica, traduzida por baixos índices de IA e IT e elevados HH e relação Σ AGPIs/ Σ AGSs, ou seja, a razão entre o somatório dos ácidos graxos poliinsaturados dividido pelo somatório dos ácidos graxos saturados. Índices de qualidade nutricional da fração lipídica de espécies de peixes cachara, pacu, dourado e pintado da região pantaneira do Mato Grosso do Sul (Tabela 6) apontaram para valores nutricionalmente adequados (RAMOS FILHO *et al.*, 2008).

TABELA 5 - Qualidade nutricional da fração lipídica de espécies de peixes Amazônicos adquiridos no mercado do peixe em Belém,PA

Índice	Valores/Espécies de peixes		
	Gurijuba	Piramutaba	Dourada
Σ AGn-6/ Σ AGn-3	-	-	0,02 ± 0,01
Σ AGPI/ Σ AGS	1,06 ± 0,01	0,99 ± 0,12	1,07 ± 0,07
IA	0,59 ± 0,02	0,83 ± 0,00	0,64 ± 0,14
IT	0,33 ± 0,01	0,38 ± 0,03	0,27 ± 0,05
HH	1,08 ± 0,02	0,87 ± 0,09	0,94 ± 0,07

AGPI- Ácidos graxos polinsaturados, AGS- Ácidos graxos saturados, n-6(ômega-6), n-3(ômega-3),

IA- Índice de aterogenicidade, IT-índice de trombogenicidade e HH-Hipocolesterolêmicos Hipercolesterolêmicos

Fonte: Bentes *et al.* (2009).

TABELA 6 - Qualidade nutricional da fração lipídica de espécies de peixes da região pantaneira do Mato Grosso do Sul

Índice	Valores/ Espécies de peixes			
	Cachara	Pintado	Pacu	Dourado
P/S	0,44	0,52	0,13	0,49
n-6/n-3	1.18	0,95	3,65	1,14
IA	0,54	0,49	0,86	0,70
IT	0,59	0,33	1,16	0,35
HH	1,75	1,84	1,66	1,49

P/S –Polinsaturado/Saturado, n-6(ômega-6), n-3(ômega-3), IA- Índice de aterogenicidade, IT-índice de trombogenicidade e HH-Hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos

Fonte: Ramos Filho *et al.* (2008).

Estudos têm sido realizados buscando investigar o efeito da dieta na otimização da composição dos ácidos graxos em várias espécies de peixes de piscicultura. Entretanto, em peixes de rio, a dieta irá depender da ecologia local, que irá variar em função de fatores ambientais e dos hábitos alimentares das espécies (SOUZA *et al.*, 2007). Desta forma, estudos são necessários para se conhecer o potencial nutricional de peixes de rios, e nesse caso, no rio Madeira, cujos peixes são a base de alimentação da população ribeirinha.

2.5. Aspectos toxicológicos associados ao consumo dos peixes

Embora o pescado consista em uma fonte rica de nutrientes importantes para a saúde humana, existe a preocupação que esse alimento possa também ser fonte de compostos prejudiciais à saúde, como metais pesados, principalmente, mercúrio, e de compostos, como a histamina e outras aminas biogênicas. Causam ainda preocupação, os diversos contaminantes químicos e microbiológicos relacionados às práticas inadequadas durante as etapas de desenvolvimento, captura, armazenamento e comercialização.

2.5.1. Mercúrio

O mercúrio é um metal pesado que se apresenta em várias formas/espécies químicas, dentre elas, o mercúrio elementar (Hg^0), inorgânico (Hg^+ e Hg^{2+}) e orgânico metilmercúrio (CH_3Hg) e o etilmercúrio ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Hg}$). A forma inorgânica (Hg^{2+}) é a mais frequentemente presente em toda crosta terrestre (Lemos e Santos, 2014). Seu principal minério, o cinábrio, é conhecido desde os tempos pré-históricos. Admite-se que tanto o mercúrio quanto o cinábrio começaram a ser extraídos de minas há mais de 2.300 anos. Usado na medicina desde a época de Aristóteles, os antigos chineses acreditavam que o cinábrio e o mercúrio tinham propriedades medicamentosas que prolongavam a vida. Vários imperadores morreram de mercurialismo na tentativa de assegurar a imortalidade, por meio da ingestão constante desse metal (AZEVEDO *et al.*, 2003).

O mercúrio lançado na atmosfera e/ou em efluentes devido aos dejetos industriais e atividades garimpeiras é altamente reativo e disponível para metilação e acumulação pela biota depois de sua deposição em ambientes de superfície (LACERDA, 1997; DENG *et al.*, 2015).

A toxicidade do mercúrio vem sendo discutida por pesquisadores brasileiros e estrangeiros, desde o final dos anos 80, na tentativa de se determinar o verdadeiro risco que este elemento apresenta para o meio ambiente (WASSERMAN *et al.*, 2001).

O mercúrio metálico pode causar danos aos rins com sintomas reversíveis, caso seja interrompida a exposição (MIRANDA *et al.*, 2007).

As transformações do mercúrio no meio ambiente (Figura 3) envolvem uma série de reações químicas complexas, podendo combinar com outros elementos inorgânicos para formar compostos inorgânicos de mercúrio; ou com compostos orgânicos envolvendo biotransformação por microrganismos aquáticos, formando o metilmercúrio (GUINDACE..., 2008).

O mercúrio lançado na atmosfera é altamente reativo e disponível para metilação e acumulação pela biota depois de sua deposição em ambientes de superfície (LACERDA, 1997).

A incorporação do mercúrio na cadeia alimentar e sua assimilação por seres humanos são mundialmente reconhecidas como perigo potencial à saúde. Quando lançado em ambientes aquáticos pode ser convertido em uma forma orgânica mais tóxica, o metilmercúrio. Nesta forma, torna-se biodisponível para a icitiofauna, podendo ser bioacumulado ao longo da cadeia alimentar e alcançando os seres humanos (OLIVEIRA, 2006).

A metilação do mercúrio em sistemas aquáticos é influenciada por diversos fatores ambientais. Alguns dos fatores mais estudados são a composição e a atividade dos microrganismos metiladores, concentração de Hg biodisponível, pH, temperatura, potencial redox e a presença de agentes complexantes orgânicos e inorgânicos presentes nos sistemas aquáticos. Aparentemente, as maiores taxas de metilação de mercúrio estão relacionadas com pH ácido, baixa salinidade e a presença de matéria orgânica em decomposição em condições redutoras (MIRANDA *et al.*, 2007).

O metilmercúrio é uma substância lipossolúvel com tendência de se concentrar no tecido muscular dos peixes, este se liga a grupamentos sulfidrilas de proteínas, causando a sua inibição ou inativação (BONSIGNORE *et al.*, 2013). Cerca de 90% do mercúrio total no tecido muscular está na forma de metilmercúrio (WEIS, 2004; THE STATE..., 2013).

Os estudos para conhecimento do ciclo do mercúrio e suas implicações sobre a saúde e o meio ambiente tiveram início a partir dos registros da contaminação de populações humanas. A toxicidade do mercúrio em seres humanos foi detectada na década de 1950 no Japão, quando peixes consumidos pela população de Minamata, em função da contaminação das águas com altas concentrações de mercúrio, levaram os indivíduos a adquirirem graves problemas de saúde (THE STATE..., 2013).

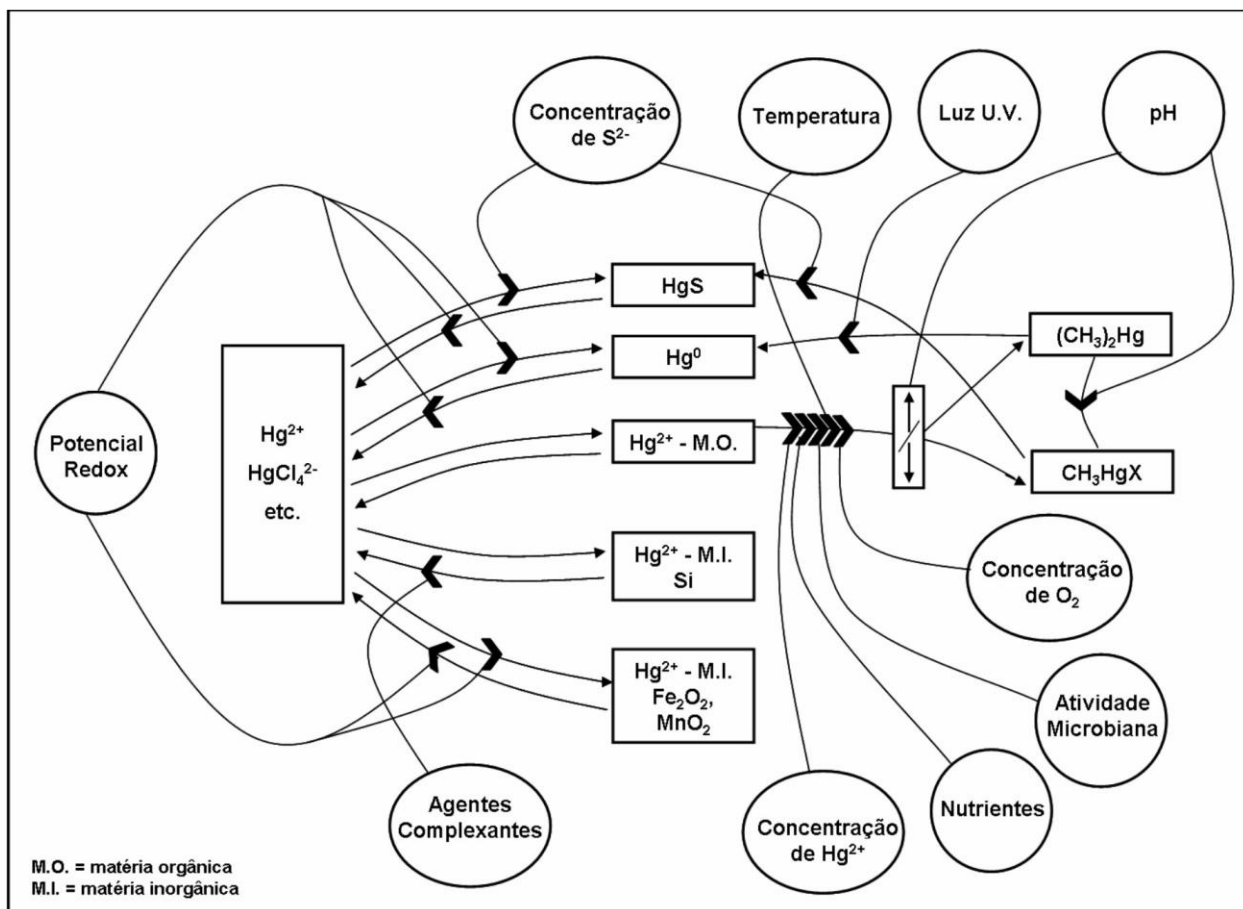


FIGURA 3 - Ciclo de transformações do mercúrio no meio ambiente.

Fonte: Miranda *et al.* (2007).

A exposição humana ao metilmercúrio (MeHg) ocorre, principalmente, pela ingestão de alimentos contaminados, sendo este considerado um importante contaminante para populações que se alimentam diariamente de peixes (BARBOSA *et al.*, 2001).

O consumo de peixes contaminados com metilmercúrio pode causar vários problemas de saúde ao ser humano, tais como sensoriais, motores e danos neurológicos (DENG *et al.*, 2015).

De acordo com Virtaner *et al.* (2007), o acúmulo do metilmercúrio nos tecidos do corpo dos seres humanos provoca efeitos tóxicos, principalmente no sistema nervoso central e doenças cardiovasculares.

Em estudos realizados nas populações ribeirinhas da Amazônia com alto consumo de peixes foram observados efeitos neurotóxicos relacionados ao mercúrio, como redução do campo visual e do desempenho psicomotor, efeitos

imunológicos e cardiovasculares, tanto em adultos quanto em crianças (DIAS *et al.*, 2008).

De acordo com Gendzier (2010), o metilmercúrio causa problemas de ordem neurotóxicas nos seres humanos. Em doses elevadas, bem acima dos limites estabelecidos (0,5 a 1,0 mg/kg), provoca graves danos ao sistema nervoso e doses suficientemente elevadas ou ainda exposição prolongada, pode levar o indivíduo à morte.

2.5.1.1. Mercúrio no ambiente Amazônico e a saúde do homem

A questão do comportamento do mercúrio no ambiente amazônico e sua toxicidade vêm sendo discutidas por pesquisadores brasileiros e estrangeiros, desde o final dos anos 80, na tentativa de se determinar o verdadeiro risco que este elemento pode representar para o meio ambiente (WASSERMAN *et al.*, 2001).

O consumo de peixes contaminados com metilmercúrio pode causar vários problemas de saúde no ser humano, tais como danos sensoriais, motores e neurológicos (DENG *et al.*, 2015). Em estudos realizados nas populações ribeirinhas da Amazônia com elevado consumo de peixes foram observados efeitos neurotóxicos relacionados ao mercúrio, como redução do campo visual e do desempenho psicomotor, problemas imunológicos e cardiovasculares, tanto em adultos quanto em crianças (DIAS *et al.*, 2008).

Estima-se que mais de 80% das famílias ribeirinhas das comunidades do alto e médio Madeira (até o município de Novo Aripuanã, AM), sejam elas de agricultores, extrativistas ou pescadores, estão envolvidas direta ou indiretamente com a garimpagem do ouro aluvial, fato que significa uma dependência cada vez mais forte da economia familiar ribeirinha desta atividade (HERRAIZ, 2015). Estudar o comportamento do mercúrio em compartimentos ambientais na Amazônia é fundamental para o entendimento de seu ciclo, uma vez que ainda é utilizado nessa região, devido à atividade garimpeira.

2.5.1.2. Controle ambiental do uso de mercúrio

A Organização Mundial da Saúde (OMS) apoia o desenvolvimento de estudos e pesquisas que buscam compreender, avaliar e gerenciar os riscos ambientais e aconselha a formulação de políticas de vigilância direcionadas à preservação do meio ambiente e da saúde humana (AVALIAÇÃO..., 2016).

Na região amazônica, a mineração de ouro começou a se estabelecer a partir da década de 1980, ocasionando a contaminação ambiental por mercúrio (LACERDA, 1997). Então, são necessárias medidas para avaliar e gerenciar os riscos aos seres humanos e aos ecossistemas.

Em 2013, foi assinado um tratado global para proteger a saúde humana e o ambiente dos efeitos adversos do mercúrio, na quinta sessão do Comitê Intergovernamental de Negociação das Nações Unidas, em Genebra, Suíça. A partir desse tratado, surgiu a Convenção de Minamata sobre o mercúrio, cujo objetivo é proteger a saúde humana e o meio ambiente, com o uso de medidas de controle sobre as emissões atmosféricas e a regulamentação internacional sobre o setor informal da mineração artesanal e de ouro em pequena escala (MINAMATA..., 2013).

A partir de junho de 2012, o governo do estado do Amazonas regulamentou a licença ambiental para o garimpo, liberando o uso de mercúrio na separação do ouro de outros materiais. As condições adotadas foram de comprovar origem de compra do mercúrio, utilização de equipamento (cadinho) para recuperação do metal, transporte de resíduos para depósitos autorizados, recuperação das áreas degradadas e apresentação de um estudo de impacto ambiental (GOVERNO..., 2012). O Instituto de Proteção Ambiental do Amazonas (IPAAM) oferece, anualmente, um curso formativo, intitulado de “Boas Práticas no Extrativismo Mineral Familiar” como forma de capacitação obrigatória, para a atuação dos garimpeiros na realização da atividade (HERRAIZ e SILVA, 2015).

De acordo com o Brasil (2017), o Brasil, preocupado com as questões de qualidade e segurança dos alimentos, monitora o grau de exposição a que o pescado brasileiro está submetido aos resíduos de contaminantes ambientais na

pesca extrativa, por meio do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC). Este plano de amostragem de pescado foi oficializado pela Instrução Normativa nº 09, de 21 de fevereiro de 2017 e um dos resíduos de interesse é o mercúrio, proveniente de processos industriais e do garimpo, uma vez que pesquisas revelaram que os peixes, provavelmente, contribuem com os maiores teores de mercúrio para a dieta humana.

2.5.1.3. Limites de tolerância do mercúrio

O limite para o mercúrio é estabelecido como mercúrio total e metilmercúrio em dois tipos de peixes: predadores e não predadores. No Brasil, o limite estabelecido refere-se ao mercúrio total, sendo 0,5 mg/kg para peixes não predadores e de 1,0 mg/kg para predadores, porém, outros países adotam esses limites para o metilmercúrio. Esses limites estabelecidos, bem como a forma do mercúrio encontrado nos dois tipos de peixes encontram-se na Tabela 7.

TABELA 7 - Limites de mercúrio e de metilmercúrio estabelecidos por diversos órgãos competentes

Órgãos	Tipo de pescado	Limite estabelecido
Anvisa	Peixes não predadores	0,5 mg/kg*
	Peixes predadores	1,0 mg/kg*
União Europeia	Produtos de pesca	0,5 mg/kg*
	Especies predadoras	1,0 mg/kg*
FAO/WHO, CODEX	Peixes não predadores	0,5 mg/kg**
	Peixes predadores	1,0 mg/kg**
FDA	Peixes	1,0 mg/kg**
Japão	Peixes	0,4 mg/kg*
		0,3 mg/kg**

* Mercúrio total, ** Metilmercúrio. Fonte: Guindace..., (2008) e BRASIL (2013).

2.1.1.2.5.2. Aminas bioativas

As aminas bioativas são compostos básicos orgânicos com baixa massa molar, onde um, dois ou três átomos de hidrogênio da amônia foram substituídos por grupos alquila e arila (Figura 4). São formadas em alimentos, principalmente, por descarboxilação via enzimas microbianas de seus aminoácidos correspondentes. Ocorrem naturalmente em microrganismos, plantas e animais, como consequência do seu metabolismo (GLÓRIA, 2006; GOUVEIA, 2009; BILGIN E GENÇCELEP, 2015; FU *et al.*, 2016).

De acordo com Glória (2006), a maioria das aminas foi denominada a partir dos aminoácidos precursores. Porém, nomes como cadaverina e putrescina estão associados à decomposição e à putrefação, e espermina e espermidina estão relacionados ao fluido seminal, de onde foram isoladas pela primeira vez.

O processo de descarboxilação dos aminoácidos livres pode ocorrer por duas vias bioquímicas: por meio de enzimas descarboxilase endógenas, naturalmente presentes nos alimentos, ou através de enzimas descarboxilase exógenas de microrganismos adicionados (culturas iniciadoras) ou contaminantes nos alimentos. No entanto a produção endógena de aminas é insignificante quando comparada com a via exógena (SANTOS, 1996).

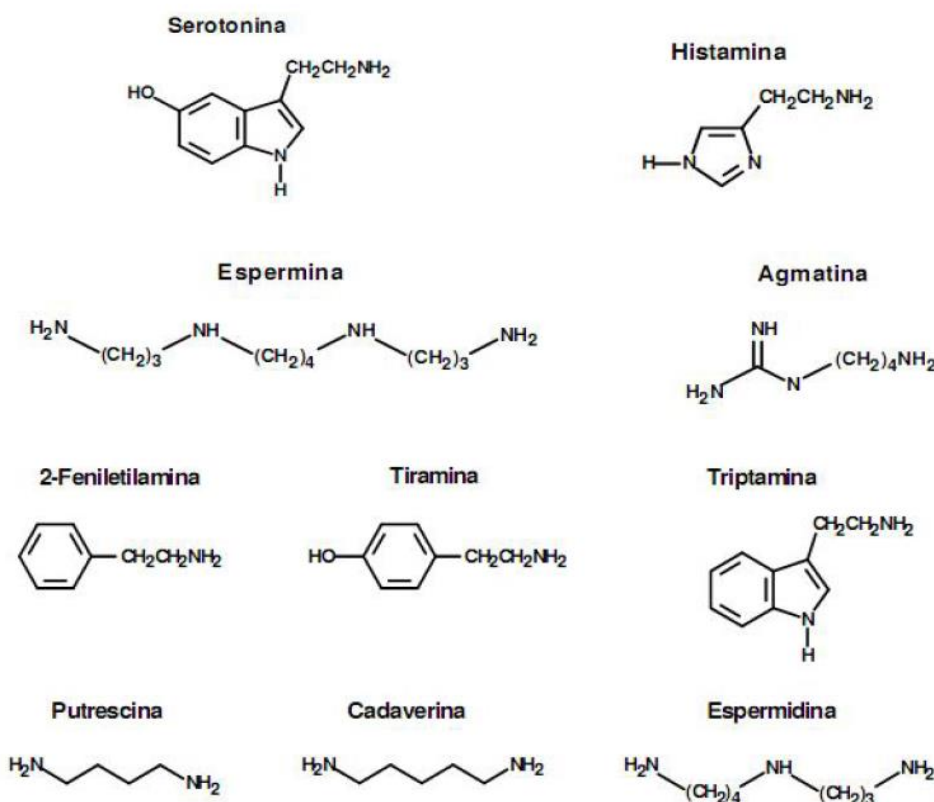


FIGURA 4 - Estruturas químicas de algumas aminas bioativas.

Fonte: FARIA (2011).

2.5.2.1. Classificação das aminas bioativas

São diversas as maneiras de classificar as aminas bioativas. Podem ser classificadas estruturalmente como alifáticas (putrescina, cadaverina, espermina e espermidina), aromáticas (tiramina e feniletilamina) e heterocíclicas (histamina e triptamina) (GOUVEIA, 2009). Podem também ser classificadas de acordo com o número de grupos amina, em monoaminas (tiramina, feniletilamina), diaminas (histamina, serotonina, triptamina, putrescina, cadaverina) ou poliaminas (espermina, espermidina, agmatina) (Figura 4) (GLÓRIA, 2006).

Entretanto, a mais comumente utilizada classifica-as como poliaminas e aminas biogênicas, dependendo da via biossintética. As poliaminas, espermidina e espermina são referidas como hormônios e fatores de crescimento (GLÓRIA, 2006; TOSUKHOWONG *et al.*, 2011). As aminas serotonina, tiramina, feniletilamina,

triptamina, cadaverina são formadas pela descarboxilação de aminoácidos por enzimas microbianas, sendo denominadas aminas biogênicas (GLÓRIA, 2006).

2.5.2.2. Biossíntese das aminas bioativas

A biossíntese de aminas ocorre durante o processo metabólico normal. Aminas são formadas por aminação ou transaminação de aldeídos ou cetonas, hidrólise de compostos nitrogenados, decomposição térmica e descarboxilação de aminoácidos, sendo esta última a principal via de formação de aminas nos alimentos. A síntese de histamina, tiramina, triptamina, feniletilamina e cadaverina ocorre por meio da descarboxilação dos aminoácidos precursores histidina, tirosina, triptofano, fenilalanina e lisina, respectivamente. O aminoácido ornitina é o principal precursor das poliaminas, por ação da enzima ornitina descarboxilase. Entretanto, a citrulina, a arginina, e a agmatina podem também dar origem as poliaminas. Na formação das poliaminas, a putrescina é um composto intermediário obrigatório. A putrescina pode ser adicionada de um grupamento aminopropil proveniente da metionina via S-adenosilmetionina e, por ação de espermidina sintase, formando a espermidina. Esta, por sua vez, pode também receber o grupo aminopropil e formar a espermina via espermina sintase (GLÓRIA, 2006).

2.5.2.3. Aminas bioativas nos alimentos

Nos alimentos, a produção de aminas bioativas ocorre, principalmente, pela ação de micro-organismos descarboxilase positivos. As bactérias são as mais importantes produtoras destes compostos, principalmente, as pertencentes da família *Enterobacteriaceae*, gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Shigella* e *Proteus* e as dos gêneros *Achromobacter*, *Lactobacillus*, *Leucomostoc*, *Pseudomonas*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Propionobacterium*, *Clostridium* (BIJI *et al.*, 2016).

As condições necessárias para a existência de aminas biogênicas nos alimentos são disponibilidade de aminoácidos livres, a existência de microrganismos

e condições que permitam o seu crescimento (particularmente a temperatura e o pH). As condições de armazenamento (em especial da temperatura) para alimentos fermentados são variáveis e podem ser relevantes para o acúmulo de amins biogênicas (PANEL..., 2011).

É importante monitorar os níveis de amins bioativas nos alimentos e bebidas, devido a sua importância para a saúde humana e a segurança alimentar. Em baixos teores, as amins biogênicas são essenciais para a saúde humana, entretanto, em concentrações elevadas, podem causar intoxicação. O tipo mais frequente de intoxicação por amins é a intoxicação histamínica, também denominada “intoxicação por escombrideos”, frequentemente ligada ao consumo de peixes da família *Scombridae*, como atum, bonito, cavala, mas também podem estar associadas a outros tipos de peixe como a sardinha (*Clupeidae*), com níveis elevados de histamina (CINQUINA *et al.*, 2004).

A histamina é uma substância endógena que ocorre naturalmente no corpo humano e é derivada da descarboxilação do aminoácido histidina. Tem funções fisiológicas importantes relacionadas às respostas imunológicas locais, secreção de ácido gástrico e neuromodulação (PUBLIC..., 2013). De acordo com a European Food Safety Authority (PANEL..., 2011), nenhum efeito adverso para a saúde foi observado em voluntários saudáveis expostos a um nível de 25 a 50 mg de histamina. Porém, em pacientes com intolerância à histamina, mesmo pequenas quantidades de histamina em alimentos ingeridos podem causar efeitos adversos à saúde, portanto somente níveis abaixo dos limites detectáveis podem ser considerados seguros.

A intoxicação por histamina, geralmente, causa erupções cutâneas, urticárias, náuseas, vômitos, diarreia e prurido na pele. O tempo de aparecimento dos sintomas varia de três minutos a três horas, após a ingestão do peixe contaminado com a histamina.

Vários surtos de intoxicação histamínica têm sido registrados nos Estados Unidos, Japão, Inglaterra, França, Dinamarca, Brasil, dentre outros. Os peixes das famílias *Scombridae* (atum, bonito, cavala), *Scorpaenidae* (tiravira), *Pomatomidae* (pomátomo), *Coryphaenidae* (‘dolphin-fish, mahi-mahi’), *Carangidae* (olho-de-boi), *Clupeidae* (arenque, sardinha) e *Engraulidae* (anchova) foram os mais implicados nesses casos (EVANGELISTA, 2010).

Outro tipo de intoxicação causada por amins está associado ao consumo de amins aromáticas, dentre elas, tiramina, triptamina e feniletilamina. Para a tiramina, nenhum efeito adverso à saúde foi observado em indivíduos saudáveis expostos a um nível de 600 mg de tiramina. Entretanto, indivíduos sensíveis ou aqueles em tratamento com medicamentos inibidores da monoaminoxidase (IMAO), baixas concentrações podem causar efeitos adversos (PANEL..., 2011).

Os sintomas associados à intoxicação por tiramina, incluem enxaqueca e crise hipertensiva em indivíduos em tratamento com medicamentos inibidores de monoaminoxidases (GLÓRIA, 2006). Queijos, produtos cárneos fermentados e algumas espécies de peixe, são exemplos de alimentos nos quais a tiramina é a amina mais abundante. De acordo com Panel... (2011), indivíduos que não fazem o uso de medicamentos IMAO, podem consumir até 600 mg de tiramina por refeição; porém, aquelas que fazem uso de IMAO de terceira geração, o limite é de 50 mg por refeição, no entanto, pessoas que fazem o uso do medicamento IMAO clássico, o limite sem efeito adverso para a saúde é 6 mg/refeição.

Outras reações adversas das amins podem ocorrer quando elas são nitrosadas formando compostos denominados de *N*-nitrosaminas que são carcinogênicas para diversas espécies animais. A putrescina e a cadaverina podem ser convertidas em pirrolidina e piperidina que, respectivamente, formarão a *N*-nitrosopirrolidina e *N*-nitrosopiperidina por meio de reações com nitritos ou nitratos, usados em produtos cárneos. Também as amins, espermidina, espermina e agmatina podem reagir com nitrito para formar as nitrosaminas nos alimentos (GLÓRIA, 2006; BIJI *et al.*, 2016).

2.5.2.4. Aminas bioativas em peixes

O peixe é um dos principais alimentos que pode ser foco de intoxicação por amins biogênicas, sendo a histamina a mais frequente (EVANGELISTA, 2010). Isso se deve ao fato destes peixes serem naturalmente ricos em aminoácidos livres, como a histidina que pode ser catabolizada no seu tecido muscular (SANTOS, 1996; GLÓRIA, 2006).

A formação das aminas bioativas em peixes depende de diferentes fatores, como a quantidade de aminoácidos livres, a presença de descarboxilases bacterianas e das condições ambientais (BILGIN E GENÇCELEP, 2015). Com relação à temperatura, as descarboxilases são mais ativas em temperaturas inferiores a 30°C, porém, acima de 40°C são inativas e, na faixa de 0 a 10°C, a atividade dependerá da microbiota presente. Já em pH ácido (2,5 a 6,5), a produção de aminas é estimulada como mecanismo de proteção das bactérias (GLÓRIA, 2006).

Oliveira (2009) avaliou o teor de histamina em pescados capturados no Rio Grande do Norte. Das 180 amostras de atum fresco analisadas, apenas 5% continham histamina com teores que variaram de 4,92 a 6,90 mg/kg. Peixes provenientes de outras localidades do Brasil, também foram estudados e a presença de histamina foi detectada (EVANGELISTA, 2010). Entretanto são escassos os estudos sobre as aminas biogênicas em peixes da Amazônia.

2.5.2.5. Aminas bioativas em peixes da Amazônia

Poucos são os estudos sobre a presença de aminas bioativas em peixes provenientes da região amazônica. Em um estudo recente, foi investigada a presença de histamina e outras aminas bioativas (total de 10 aminas) em peixes adquiridos no mercado consumidor Ver-o-Peso, no estado do Pará, incluindo xaréu (*Caranx latus*), cavala (*Scomberomorus cavalla*), sarda (*Scomber scombrus*), timbira (*Oligoplites palometa*) e serra (*Scomberomorus brasiliensis*). Dentre as dez aminas pesquisadas, foram detectadas nove: espermina, espermidina, agmatina, putrescina, cadaverina, tiramina, histamina, feniletilamina e serotonina, sendo que histamina e tiramina estavam dentro dos limites permitidos de acordo com a legislação estabelecida que é de 100 mg/kg e 200 mg/kg, respectivamente (ARAÚJO, 2013).

Marinho *et al.* (2014) analisaram a presença de histamina, putrescina e cadaverina em Piramutaba, capturadas por meio da pesca com rede em barco, nos meses de maio, junho e agosto de 2010 e janeiro de 2011, no município de Vigia de Nazaré, PA. As amostras foram armazenadas a 0°C durante o período de 0 a 14 dias. De acordo com os resultados só foram detectados histamina (< 20 mg/kg),

abaixo do limite de 100 mg/kg e putrescina (< 10 mg/kg), porém, não há um limite estabelecido para a putrescina.

2.5.2.6. Controle de qualidade dos pescados

Os produtos pesqueiros devem receber cuidados especiais de higiene desde o momento em que são capturados até chegarem ao consumidor final. Desse modo, devem haver condições no barco de pesca, para a estocagem do produto sob a proteção do frio, a qual pode ser feita por gelo em escamas, túneis de congelamento ou câmaras de estocagem em baixa temperatura (PEREIRA e FONSECA, 2011).

Ainda de acordo com Pereira e Fonseca (2011), os peixes, por serem altamente perecíveis, exigem cuidados especiais na manipulação, armazenamento, conservação, transporte e comercialização. A qualidade do peixe fresco pode ser influenciada por vários fatores, dentre eles, equipamentos e utensílios não higienizados, superfícies contaminadas, que podem propiciar um ambiente não estéril e úmido, onde a água se acumula em cavidades e outros lugares permitindo que grandes populações de microrganismos se desenvolvam.

Na Amazônia, há o costume de se adquirir o pescado em feiras e mercados por se entender que está com suas características naturais preservadas, ou seja, o peixe fresco. As feiras e mercados, por sua vez, são montados de forma improvisada em locais próximos à margem dos rios ou em locais sem estrutura higiênico-sanitária para a venda de produtos perecíveis. Este fator não garante a inocuidade do pescado comercializado e muito menos que este esteja fresco (CAMPOS e PAIVA, 2011).

De acordo com Marinho (2014), a manipulação do pescado fora das condições ideais de refrigeração é um dos fatores que favorecem o aparecimento da histamina, pois permite o crescimento de bactérias produtoras da enzima histidina descarboxilase. O controle da formação de histamina em peixes pode ser feito pelo resfriamento rápido do peixe imediatamente após a morte. Algumas bactérias produtoras de histamina poderão crescer a temperatura de refrigeração, mas as taxas de crescimento dessas bactérias serão reduzidas a temperaturas próximas de 0 °C (FISH..., 2011).

Em Humaitá, foi constatado, num dos centros de maior comercialização de pescado do município, que o pescado fica exposto sem manutenção da temperatura de conservação, o que pode colocar em risco a saúde do consumidor (Figura 5).



FIGURA 5 - Pescados comercializados no mercado municipal de Humaitá, AM.

Fonte: Acervo pessoal.

2.5.2.7. Legislação referente a aminos bioativas em peixes

A legislação para aminos bioativas em peixes está estabelecida para a histamina, sendo esta um critério para a qualidade do pescado. A Food and Drug Administration (FISH..., 2011), sugeriu um limite máximo de histamina de 50 mg/kg. Na União Europeia (EU), o nível aceitável de histamina no peixe *Scombridae* é no máximo de 100 mg/kg e o nível de aminos biogênicos totais no máximo de 200 mg/kg em peixes e produtos de peixes (PANEL..., 2011). Conferir para todo kg estar em minúsculo.

Ainda de acordo com Panel... (2011), o nível de histamina por refeição por pessoa é de até 50 mg. No Brasil, o limite estabelecido para a histamina é 100 mg/kg, no músculo nas espécies pertencentes às famílias *Scombridae*, *Scombresocidae*, *Clupeidae*, *Coryphaenidae*, *Pomatomidae* (BRASIL, 1997).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade nutricional associada aos ácidos graxos, aminoácidos livres e aminas bioativas e também a qualidade quanto aos aspectos toxicológicos, mercúrio e aminas biogênicas nos peixes curimatã (*Prochilodus nigricans*), jaraqui (*Semaprochilodus insignis*), pacu (*Mylossoma duriventre*) e sardinha (*Triportheus angulatus*) coletados em dois locais de pesca do rio Madeira e em duas estações: chuvosa e seca, no município de Humaitá, Amazonas.

3.2. Objetivos específicos

Os objetivos específicos foram:

- i) avaliar o perfil de ácidos graxos, a influência sazonal na quantificação desses ácidos graxos e os índices de qualidade nutricional, índice de aterogenicidade (IA), índice de trombogenicidade (IT) e a razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) em quatro espécies das mais consumidas no município de Humaitá, AM;
- ii) avaliar a qualidade das quatro espécies de peixes mais comercializadas no município de Humaitá, AM, em relação ao teor de mercúrio total em diferentes partes ao longo do peixe e nos filés, em dois locais próximos a garimpos e em duas estações climáticas, chuvosa e seca, bem como avaliar o risco para a saúde da população, pela estimativa da exposição ao metilmercúrio, devido ao alto consumo de peixes nessa região do estado do Amazonas;
- iii) foi investigar o perfil e os níveis de aminas bioativas e seus aminoácidos precursores em peixes dos mais consumidos no rio Madeira, próximo ao município

de Humaita, AM e investigar a influência de espécies de peixes, em relação ao nível das aminas biogênicas, local de captura e às estações climáticas, chuvosa e seca.

4. PARTE EXPERIMENTAL

Os objetivos propostos foram atendidos e estão apresentados na forma de três capítulos, a seguir:

Capítulo I – Perfil e teores de ácidos graxos e aspectos nutricionais em peixes do rio Madeira no município de Humaitá, AM;

Capítulo II – Teores de mercúrio em peixes do rio Madeira e estimativa do risco à saúde da população do município de Humaitá, AM; e

Capítulo III – Teores e perfil de aminas bioativas e aminoácidos em pescados do rio Madeira no município de Humaitá, AM.

CAPÍTULO I

PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E ASPECTOS NUTRICIONAIS DE PEIXES DO RIO MADEIRA, NO MUNICÍPIO DE HUMAITÁ, AM

1. INTRODUÇÃO

A pesca artesanal é um dos segmentos que mais emprega no estado do Amazonas. Mais de 45.000 pescadores vivem diretamente da atividade pesqueira e cerca de 200.000 pessoas estão envolvidas no sistema produtivo, desde a captura, desembarque, transporte, industrialização, preparo, distribuição e comercialização de peixes; incluindo os subprodutos. A atividade gera renda aos ribeirinhos e parte dos moradores das sedes dos municípios, contribuindo para manter o homem no seu local de origem (PESCA..., 2015).

O peixe é a principal fonte de proteína animal para a população do estado do Amazonas e representa o alimento diário de pelo menos 500 mil habitantes da população ribeirinha. Diariamente, são consumidos 500 gramas de pescado por pessoa, o que representa 180 kg ao ano para cada habitante (MANAUS, 2016).

De acordo com a The state... (2016), o consumo mundial per capita, aumentou de, em média, 9,9 kg na década de 1960 para 19,7 kg em 2013. No Brasil, a região norte se destaca com um consumo de 34,2 kg/pessoa/ano (PESQUISA..., 2011), enquanto que o consumo no município de Humaitá foi de 148,2 kg/pessoa/ano (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Os peixes se destacam por apresentarem elevada importância nutricional devido ao alto teor proteico e por possuir uma fração lipídica com alto teor de ácidos graxos insaturados (MORETTO *et al.*, 2002; FURUYA *et al.*, 2006; GONÇALVES, 2011). Por isso, o seu consumo é associado a uma alimentação saudável (TOCHER, 2015) e amplamente recomendado pelos órgãos de saúde (DIETARY..., 2005).

Com relação ao conteúdo de lipídeos, os peixes contêm teores variando de 0,1 a 22 g/100 g (GONÇALVES, 2011; THE STATE..., 2016). Os ácidos graxos encontrados nos peixes, mais importantes para o homem são o da família ômega-3,

que são o ácido linolênico (18:3), o ácido eicosapentaenóico - EPA (20:5) e o ácido docosahexaenóico - DHA (22:6), e os da família omega-6 que são os ácidos linoléico (18:2) e o araquidônico (20:4). Dentre esses ácidos, o linoléico e o linolênico são ácidos graxos essenciais, pois não podem ser produzidos pelo organismo humano e, portanto, devem ser obtidos pela dieta (MARECHA *et al.*, 2002).

O consumo frequente de alimentos ricos em ácidos graxos ômega-3, presentes principalmente nos peixes, têm sido associados à redução dos riscos de doenças cardiovasculares, depressão, diabetes, de alguns tipos de câncer, bem como no tratamento de doenças inflamatórias, como a artrite (FERNANDES *et al.*, 2014; SAYYED-ALANGI E KOHESTANI, 2015; SONG *et al.*, 2016).

O peixe constitui uma das principais fontes de renda da população e tem um papel importante nos hábitos alimentares da região. Por isso, necessita-se de pesquisas constantes com objetivo de avaliar a qualidade nutricional desses pescados da região amazônica. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de ácidos graxos, a influência sazonal na quantificação desses ácidos graxos e os índices de qualidade nutricional, índice de aterogenicidade (IA), índice de trombogenicidade (IT) e a razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) em quatro espécies das mais consumidas no município de Humaitá, AM.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

2.1.1. Coleta das amostras de peixes

Foram analisadas 96 amostras das quatro espécies de peixes mais comercializadas em Humaitá-AM: curimatã (*Prochilodus nigricans*), jaraqui (*Semaprochilodus insignis*), pacu manteiga (*Mylossoma duriventre*) e sardinha (*Triportheus angulatus*). Na estação cheia, no mês de maio de 2015, foram adquiridas 24 amostras (seis peixes de cada espécie), provenientes do igarapé

Puruzinho e 24 amostras (seis peixes de cada espécie) provenientes de Santa Rosa (Figura I.1).



FIGURA I.1 - Identificação dos pontos de coletas dos peixes capturados no rio Madeira, próximo à Humaitá, AM.

Fonte: (www.google.com.br e acervo pessoal).

O mesmo procedimento foi efetuado na estação seca, no mês de outubro de 2015. A pesca de ambos os casos foi efetuada no período noturno e, no dia seguinte, as amostras foram transportadas em pequenas embarcações, canoas motorizadas, denominadas de "rabetas", em caixas de isopor com gelos, por cada pescador, até o ponto de comercialização, em Humaitá.

Em seguida, foram transferidas cuidadosamente, para outras caixas de isopor com gelo e, imediatamente, levadas para o Laboratório de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) em Humaitá, para o preparo. Os peixes foram identificados taxonomicamente, pesados em balança semi-analítica (Ohaus Explorer Pro, Barueri, SP, Brasil), medidos o comprimento e imediatamente filetados, triturados e armazenados em embalagens apropriadas, congeladas e transportadas para o Laboratório de Bioquímica de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). As amostras foram mantidas em ultrafreezer (-80 °C) até o momento da análise.

2.1.2. Reagentes e soluções

Foram utilizados uma mistura de esteres metílicos de ácidos graxos - FAMES Supelco 37; padrão interno tricosanoato de metila (C23:0); e clorofórmio da Sigma-Aldrich (Cotia, São Paulo, Brasil); hexano P.A. sulfato de sódio anidro P.A., cloreto de amônio, P.A., cloreto de sódio P.A. Merck (Rio de Janeiro, RJ, Brasil); metanol grau HPLC da Hexis Científica (Jundiaí, SP, Brasil); hidróxido de sódio P.A. da Neon (São Paulo, SP, Brasil); e ácido sulfúrico P.A. 95-98% da Proquímios (Bangu, RJ, Brasil).

2.1.2.1. Preparo do agente esterificante

Foi pesado 10 g de cloreto de amônio., adicionado 300 mL de Metanol e, cuidadosamente, acrescentado 15 mL de ácido sulfúrico concentrado, em balão de fundo redondo de 500 mL, foi colocado em manta aquecedora, sob condensador e a mistura foi deixado em fervura sob refluxo, durante 15 minutos .

2.1.3. Métodos de análises

2.1.3.1. Preparo das amostras para análises dos ácidos graxos

As amostras foram retiradas do freezer (-80 °C), transferidas e deixadas em geladeira no período da noite, até descongelamento. Foi feita a extração dos lipídeos totais seguindo a metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959). O solvente foi evaporado com nitrogênio gasoso e o lipídeo extraído, pesado a massa do extrato, quantificado percentualmente e armazenado em freezer a -20 °C até o momento do preparo para a análise cromatográfica.

2.1.3.2. Esterificação e análises cromatográficas

As amostras foram submetidas a reações de esterificação baseado no método descrito por Maia e Amaya (1993). Em um tubo de tampa com roscas, foi adicionado 1 mL do padrão interno, tricosanoato de metila (C23:0) 1 mg/mL em hexano. O solvente foi removido com N₂ gasoso. Para os tubos contendo o padrão interno, foi adicionado uma massa de lipídeo que variou de 25 a 42 mg do extrato lipídico, 5,0 mL de solução de hidróxido de sódio 0,5 mol/L em metanol. Em seguida os tubos foram aquecidos em banho maria a 100 °C por 5 minutos e resfriados a temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado 5,0 mL do agente esterificante (mistura de ácido sulfúrico concentrado, cloreto de amônio e metanol) e aquecido ao banho maria a 100 °C por 5 minutos e resfriado a temperatura ambiente. A seguir, foi adicionado 3,0 mL de hexano, agitado em Vortex por 30 s e adicionado 5,0 mL de solução saturada de cloreto de sódio. Foi deixado em repouso em geladeira até separação das fases. A fase superior (sobrenadante) foi separada e armazenada em freezer até análise cromatográfica.

2.1.3.3. Análise por cromatografia gasosa dos ácidos graxos esterificados

Foi utilizado o cromatógrafo G-CROM, Geração 8000 (São Paulo, SP, Brasil), equipado com detector de ionização de chamas (CG-DIC). A coluna utilizada foi da Agilent J&W DB – 23 (60 m, comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura do filme, 0,25 µm). As condições de operação do cromatográfico foram temperatura do detector foi de 300 °C, Injetor a 270 °C, temperatura da coluna em gradiente de 130°C por 1 min, rampas de 130 a 170°C por 7 min, de 170 a 215 °C por 16 min, manter a 215 °C por 12 min, rampa de 215 a 230 °C por 1 min e manter a 230 °C por 10 min, totalizando a corrida cromatográfica em 47 min. O gás de arraste utilizado foi o N₂, 40 psi e como os gases da chama, o H₂, 16 psi e ar sintético, 16 psi. O volume injetado foi de 1 µL no modo split (1:1). A identificação dos ésteres dos ácidos graxos (metil ésteres) foi feita comparando os tempos de retenção da amostra com os do padrão.

2.1.3.4. Quantificação dos ésteres dos ácidos graxos

A quantificação foi feita em mg/g do lipídeo total de acordo com Visentainer (2012), conforme equação 1, usando o padrão interno, tricosanoato de metila (C23:0). Os resultados obtidos da equação 1, em mg/g, foram convertidos para mg/100 g do tecido muscular (filé) do peixe.

$$Mx = (Ax \cdot Mp \cdot Fct) / (Ap \cdot Ma \cdot Fcea) \quad \text{Equação (1)}$$

Sendo Mx= massa do ácido graxo em mg/g do lipídeo;

Ma= massa do lipídeo total da amostra em g;

Mp = massa do padrão interno;

Ap= área do padrão interno;

Ax= área do ácido graxo da amostra;

Fcea= Fator de conversão do metil éster para ácido graxo; e

Fct= Fator de correção teórico do ácido graxo.

2.1.3.5. Índices de qualidade nutricional

Os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) foram calculados, conforme as equações 2 e 3 (Ulbricht e Southgate, 1991) e a razão entre os ácidos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) foi calculada pela equação 4 (Santos-Silva *et al.*, 2002). C12:0, C14:0 e C16:0 são os ácidos láurico, mirístico e palmítico, respectivamente; AGMI representa a soma das concentrações de todos os ácidos graxos monoinsaturados; e AGPI a soma dos ácidos graxos poli-insaturados, $\Sigma n-6$, $\Sigma n-3$, a soma dos ácidos graxos das séries ômega-6 e ômega-3, respectivamente.

$$IA = \frac{[(C12:0) + 4 \times C14:0] + (C16:0)}{(\Sigma AGMI + \Sigma n-6 + \Sigma n-3)} \quad \text{Eq. (2)}$$

O IT foi calculado segundo a equação 3, sendo C14:0, C16:0 e C18:0, respectivamente, os ácidos mirístico, palmítico e esteárico.

$$IT = \frac{(C14:0 + C16:0 + C18:0)}{[(0,5 \times \Sigma AGMI) + (0,5 \times \Sigma n-6) + (3 \times \Sigma n-3) + (\Sigma n-3 / \Sigma n-6)]} \quad \text{Eq. (3)}$$

A razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) pode ser calculada segundo a Equação 4, sendo C18:1n-9, C18:2n-6, C18:3n-3, C20:4n-6, C20:5n-3, C22:5n-3 e C22:6n-3, os ácidos oléico, linoleico, linolênico, araquidônico, eicopentaenoico (EPA), docopentaenoico e docosaenoico (DHA), respectivamente.

$$HH = \frac{(C18:1n-9 + C18:2n-6 + C20:4n-6 + C18:3n-3 + 20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3)}{(C14:0 + C16:0)} \quad \text{Eq.(4)}$$

2.1.3.6. Análise estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as medias foram comparadas a 5% de significância pelo teste de Tukey. Foram usados os softwares INFOStat, UNC, Córdoba, AR (2008) e o SISVAR, versão 5.0, DEX/UFLA, Lavras, MG (2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Teores de lipídeos totais e da composição dos ácidos graxos em tecidos musculares de curimatã, jaraqui, pacu e sardinha

Os teores de lipídeos totais dos peixes variaram de 1780 mg/100g a 7690 mg/100 g (tabela I.1). Os menores valores médios de lipídeos foram encontrados para jaraqui e curimata (1760 ± 830 e 1920 ± 480 mg/100 g, respectivamente), não havendo diferença significativa entre eles. Os maiores teores médio foram observados para a sardinha e o pacu (7080 ± 3420 e 7690 ± 3420 mg/100 g, respectivamente), também sem diferença significativa entre eles. Os peixes são reconhecidamente uma baixa fonte de lipídeos, em relação a outras fontes de proteína animal e a variação do teor de lipídeos encontrada (1780 a 7690 mg/100 g) é comum em estudos com peixes, tanto para peixes de água doce como para peixes de origem marinha (SHERR *et al.*, 2014).

Estes resultados são similares aos teores de lipídeos encontrados em peixes marinhos do Brasil (FERNANDES *et al.*, 2014). São também similares aqueles obtidos por Vasconi *et al.* (2015) para peixes de água doce de diversas espécies capturadas em 10 lagos subalpinos na Itália (570 a 9690 mg/100 g) e em peixes do mar mediterrâneo (PRATO e BIANCOLINO, 2012). Os resultados para o pacu foram semelhantes aos maiores teores encontrados por Hiane *et al.* (2002), para o pacu capturado na região pantaneira do Mato Grosso do Sul, cuja concentração variou de 700 a 8700 mg/100 g. Entretanto, os resultados obtidos para os peixes do rio Madeira foram menores que os encontrados para 17 espécies de água doce do sul

do Brasil, o total de lipídeos variou de 270 a 19750 mg/100 g, sendo que o pacu (*Colossoma mitrei*) foi um dos peixes com maior teor (18310 mg/100 g) (ANDRADE *et al.*, 1995).

3.1.1. Teores de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados em tecidos musculares de curimatã, jaraqui, pacu e sardinha

A composição dos ácidos graxos em amostras de filés das quatro espécies de peixes estudados encontra-se na tabela I.1 com destaque para ácidos graxos saturados, monoinsaturados e os polinsaturados (Tabela I.2). Os peixes com os menores teores médios de gordura saturada foram curimatã (551,90 mg/100 g) e jaraqui (586,94 mg/100 g), quantidade cerca de quatro vezes menor que a encontrada no pacu (2369,42 mg/100 g) e sardinha (2387,25 mg/100 g), tabela I.2. Embora esses valores sejam superiores aos de outros peixes de água doce, como dourado (500 mg/100 g) e tilápia (1100 mg/100 g) (ANDRADE *et al.*, 1995), ainda assim, essas quantidades são inferiores às encontradas em alguns cortes de carnes vermelhas (3869 mg/100 g) e superiores ao de corte de frango (2044 mg/100 g) (SANTOS *et al.*, 2013).

Na tabela I.1 estão descritos os teores dos diferentes ácidos graxos encontrados nos peixes. Observa-se que houve uma predominância dos ácidos graxos insaturados no total de lipídeos de todos os peixes avaliados. Dentre os ácidos graxos saturados, destacaram o palmítico (C16:0) e o esteárico (C18:0). Os teores médios de ácido palmítico foram 350,0 mg/100 g para o curimatã; 331,3 mg/100 g para o jaraqui; 1230,0 mg/100 g para o pacu; e de 1547,3 mg/100 g para a sardinha. Para o ácido esteárico foram curimatã, 88,4 mg/100 g; jaraqui, 110,5 mg/100 g; pacu, 740,9 mg/100 g; e sardinha, 640,4 mg/100 g. Para esses dois ácidos graxos, os valores encontrados no pacu e sardinha foram significativamente maiores comparado aos do curimatã e jaraqui. Outros trabalhos avaliando peixes de água doce, tais como piau, pintado e tucunaré oriundos do estado de Goiás (RODRIGUES *et al.*, 2017), curimatã, dourado, piau, piraiba e tambaqui, provenientes de Roraima na Amazônia, também encontraram predominância de ácido palmítico e ácido esteárico.

O consumo de pelo menos duas porções de peixe (cerca de 200 g) por semana contribui com a melhora da saúde cardiometabólica e, conseqüentemente, redução do risco de doenças cardiovasculares (MOZZAFFARIAN, 2011). Essa recomendação é justificada não apenas pelo valor nutricional dos peixes como um todo ou o conteúdo de ácidos graxos polinsaturados da série ômega-3, mas pelo fato de que o consumo de peixe poderia facilitar a substituição de consumo de outros alimentos ricos em gorduras saturadas da dieta, como as carnes gordurosas (LICHTENSTEIN *et al.*, 2006). Os peixes são reconhecidamente uma fonte baixa de ácidos graxos saturados, quando comparados às carnes vermelhas (3869 mg/100 g). A restrição da ingestão do consumo de ácidos graxos saturados é recomendada por várias organizações como estratégia para uma redução dos riscos de doenças cardíacas (SANTOS *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2014).

O consumo de ácidos graxos saturados em quantidades menores que 10% do valor energético total da dieta está relacionado à redução do LDL-colesterol (SANTOS *et al.*, 2013). Essa quantidade representa, numa dieta de 2.000 kcal, cerca de 22000 mg de gordura saturada. O consumo de curimatã e jaraqui contribuiriam de forma praticamente irrisória no alcance desses limites de ingestão, tanto em 100 g de filé (cerca de 600 mg/100 g; 2,7% do limite máximo recomendado), quanto considerando-se o consumo médio per capita da população ribeirinha do rio Madeira, 406000 mg/dia/pessoa (OLIVEIRA *et al.*, 2010), o que representaria um total de 2400 mg e 11,0% do limite de ingestão de gordura saturada.

Com relação aos ácidos graxos monoinsaturados, a sardinha apresentou o maior teor (2900 mg/100 g), seguido do pacu (1980 mg/100 g), curimatã (472 mg/100 g) e jaraqui (450 mg/100 g) (Tabela I.2). Os teores médios de ácidos graxos encontrados em curimatã e jaraqui estão próximos do valor encontrado em tucunaré, que é uma espécie da região amazônica e o seu teor de ácido graxo monoinsaturado foi de 400 mg/100 g (SARTORI e AMANCIO, 2012). Já os teores médios de monoinsaturados no curimatã foram inferiores aos encontrados por Petenuci *et al.* (2016), os quais encontraram, na mesma espécie do peixe, 1180 mg/100 g deste ácido graxo (4,33% de lipídeos totais; 273,47 mg de ácido oleico/g de lipídeo).

TABELA I.1 - Teores médios de lipídeos totais e de ácidos graxos (mg/100 g), de tecido muscular de curimatã, jaraqui, pacu e sardinha, capturados no rio Madeira, no município de Humaitá, AM, nos meses de maio e outubro de 2015

Lipídeos totais/ Ácidos graxos	Teores (mg/100 g) / peixes			
	curimatã	jaraqui	pacu	Sardinha
				(Continua)
LIPÍDEOS	1920±480 ^a	1760± 830 ^a	7690 ± 342 ^b	7080 ± 342 ^b
C12:0	2,25±2,09 ^a	3,65± 3,23 ^{ab}	18,41±15,30 ^c	9,08±6,20 ^b
C13:0	3,57±2,50 ^a	8,62 ± 12,50 ^b	0,99±1,56 ^a	1,04±1,25 ^a
C14:0	34,11±19,66 ^a	37,82±28,69 ^a	195,62±214,43 ^b	106,07±56,39 ^a
C14:1	20,07±11,52 ^b	20,43±13,77 ^b	2,22±2,06 ^a	6,42±5,17 ^a
C15:0	26,71±13,36 ^{bc}	38,09±42,86 ^c	6,79±3,87 ^a	13,63±7,83 ^{ab}
C15:1	14,15±7,03 ^b	17,58±10,02 ^b	8,39±3,83 ^a	8,75±4,97 ^a
C16:0	349,98±173,73 ^a	331,34±200,31 ^a	1230,00±589,59 ^b	1547,26±1041,94 ^b
C16:1	160,48±90,14 ^b	152,95±128,36 ^b	111,18±83,62 ^b	258,50±182,03 ^a
C17:0	27,83±14,50 ^{bc}	31,12±22,26 ^c	14,28±9,54 ^a	18,78±11,61 ^{ab}
C17:1	16,13±11,24 ^b	16,32±13,52 ^b	6,23±4,52 ^a	10,38±5,54 ^{ab}
C18:0	88,43±45,13 ^a	110,51±69,79 ^a	740,87±288,42 ^b	640,44±409,78 ^b
C18:1 Cis(n9)	227,74±137,30 ^a	211,55±121,93 ^a	1772,55±836,21 ^b	2562,84±1615,11 ^c
C18:1 Trans(n9)	2,24±1,53 ^{ab}	3,21±2,84 ^b	1,10±1,75 ^a	2,27±3,53 ^{ab}
C18:2 Cis (n6)	65,72±40,74 ^a	50,90±40,30 ^a	1056,53±564,64 ^c	562,31±323,42 ^b
C18:2 Trans(n6)	1,54±1,64 ^{ab}	1,53±1,59 ^{ab}	1,09±1,96 ^a	2,69±2,22 ^b
C18:3 (n3)	34,24±24,59 ^a	29,98±31,09 ^a	673,03±742,51 ^b	98,86±60,27 ^a
C18:3 (n6)	5,05±3,69 ^a	8,17±8,52 ^{ab}	8,26±4,97 ^{ab}	10,81±6,95 ^b
C20:0	7,23±5,08 ^a	7,62±6,00 ^a	123,79±155,14 ^b	26,22±17,16 ^a

Lipideos totais/ Ácidos graxos	Teores (mg/100 g) / peixes				(Conclusão)
	curimatã	jaraqui	pacu	Sardinha	
LIPIDEOS	1920±480 ^a	1760± 830 ^a	7690 ± 342 ^b	7080 ± 342 ^b	
C20:1 (n9)	12,38±10,39 ^a	18,17±12,10 ^{ab}	61,86±22,03 ^c	30,81±19,59 ^b	
C20:2 (n6)	4,43±2,84 ^a	3,86±3,13 ^a	24,05±12,71 ^c	9,98±6,02 ^b	
C20:3 (n3)	16,55±25,58 ^a	17,48±29,37 ^a	14,23±20,11 ^a	12,51±16,82 ^a	
C20:3 (n6)	18,65±19,47 ^a	26,50±19,83 ^a	24,83±11,24 ^a	30,50±28,08 ^a	
C20:4 (n6)	22,59±31,22 ^a	19,31±34,49 ^a	26,49±18,31 ^a	28,03±18,72 ^a	
C20:5 (n3)- EPA	14,82±9,56 ^{ab}	11,73±5,64 ^{ab}	24,77±33,99 ^b	10,44±9,00 ^a	
C21:0	4,01±5,13 ^a	4,77±4,61 ^a	15,50± 16,69 ^b	10,23±10,99 ^{ab}	
C22:0	5,84±5,73 ^a	8,35±7,30 ^a	17,68±10,85 ^b	8,74±9,92 ^a	
C22:1 (n9)	3,30±6,13 ^{ab}	0,54±0,41 ^a	5,26±8,54 ^b	5,55±6,25 ^b	
C22:6 (n3)-DHA	22,70±9,17 ^a	28,54±15,41 ^{ab}	35,37±13,39 ^b	45,37±13,45 ^c	
C24:0	3,81±9,50 ^a	5,05±6,14 ^a	5,49±2,72 ^a	5,76±3,20 ^a	
C24:1 (n9)	8,94±4,33 ^a	9,95±5,52 ^a	9,64±3,90 ^a	7,68±1,68 ^a	

n=24. Médias, com letras iguais, na mesma linha, não diferem estatisticamente (teste de Tukey, p>0,05).

Ácido láurico (C12:0), ácido tridecanóico (C13:0), ácido mirístico (C14:0), ácido miristoleico (C14:1), ácido pentadecanóico(C15:0), ácido cis-10- pentadecenóico (C15:1), ácido palmítico (C16:0), ácido palmitoleico (C16:1), ácido heptadecanóico (C17:0), ácido cis-10-hepatadecenóico (C17:1), ácido esteárico (C18:0) ácido oleico (C18:1), ácido linoléico (C18:2), ácido alfa-linolênico (C18:3 n-3), ácido gama-linolênico (C18:3 n-6), ácido araquídico (C20:0), ácido eicosenoico (C20:1 n-9), ácido Cis-11,14 Eicosadienoico(C20:2 n-6), Ac.cis-11,14,17-eicosatrienoico(C20:3 n-3), Ac. Cis-8,11,14-eicosatrienoico (C20:3 n-6), ácido araquidônico (C20:4 n-6), ácido cis- 5,8,11,14,17- Eicosapentenoico (EPA-C20:5 n-3), Ac. Heneicosanoico (C21:0), ácido Behenico (C22:0), ácido erúico (C22:1 n-9), ácido cis-4,7,10,13,16,19 docosahexenoico (C22:6 n-3 DHA), ácido lignocérico (C24:0), ácido nervônico (C24:1 n-9).

Dentre os ácidos graxos monoinsaturados, a maior contribuição foi do ácido oleico (C18:1 cis n-9) para a sardinha (2560 mg/100 g, que corresponde a 88,6% do total), seguido do pacu (1780 mg/100 g; 89,6%); curimatã (230 mg/100 g; 48,2%) e jaraqui (210 mg/100 g; 47,0%). A contribuição do ácido oleico na composição total dos monoinsaturados para pacu e sardinha, também foi semelhante àquela encontrada nos peixes do estreito de Maláca na Malásia, avaliados por Aziz *et al.* (2013) que foi de 83,5% (2550 mg/100 g).

A concentração total dos ácidos graxos polinsaturados foi significativamente maior no pacu (1888,64 mg/100 g) do que nos outros peixes. A sardinha também teve teores mais altos (811,50 mg/100 g) que o curimatã (206,29 mg/100 g) e jaraqui (198,00 mg/100 g).

Petenuci *et al.* (2016) estudaram a composição de ácidos graxos de cinco espécies de peixes da amazônia, provenientes do estado de Roraima, incluindo *Colossoma macropomum* (tambaqui), *Leporinus friderici* (piauí), *Prochilodus nigricans* (curimatã), *Brachyplatystoma filamentosum* (piraíba) e *Brachyplatystoma flavicans* (dourado). Os resultados desse estudo revelaram uma quantidade de ácidos graxos polinsaturados de 969 mg/100 g para o curimatã, quase cinco vezes maiores que o apresentado neste trabalho (206,29 mg/100 g), porém, coerente com o teor de lipídeos totais (5,66%), cerca de três vezes maior do que o valor encontrado no presente estudo (1,92%).

Os peixes são, tradicionalmente, uma fonte de ácidos graxos polinsaturados, sendo que a composição desses ácidos graxos pode variar entre diferentes espécies, tanto de água doce, quanto de águas marinhas (JABEEN e CHAUDHRY, 2011). Em peixes de água doce, já foram descritos valores de 400,0 mg/100 g (SARTORI e AMANCIO, 2012) e outros autores descreveram quantidade variável de ácidos graxos polinsaturados variando de 110,0 a 530,0 mg/100 g, para o pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e dourado (*Salminus maxillosus*) da região pantaneira do Mato Grosso do Sul (RAMOS FILHO *et al.*, 2008). No presente estudo, o pacu foi o peixe que apresentou os maiores teores de ácidos graxos polinsaturados. O consumo dietético desses ácidos é recomendado em diretrizes internacionais para a população em geral, pois contribuem na prevenção da ocorrência de doenças cardiovasculares (MOZZAFFARIAN, 2011; ENDO E ARITA, 2016).

TABELA I.2 - Teores médios dos somatórios dos ácidos graxos (mg/100g), de tecido muscular de curimatã, jaraqui, pacu e sardinha, capturados no rio Madeira, no município de Humaitá, AM, nos meses de maio e outubro de 2015.

Somatórios dos ácidos graxos	Teores (mg/100 g)/peixes			
	curimatã	jaraqui	pacu	sardinha
ΣAGPI	206,29±93,58 ^a	198,00±130,95 ^a	1888,64±1197,95 ^c	811,50±388,87 ^b
ΣAGMI	472,57±221,20 ^a	449,88±286,18 ^a	1978,43±867,87 ^b	2893,19±1725,37 ^c
ΣAGS	551,90±277,72 ^a	586,94±373,72 ^a	2369,42±888,99 ^b	2387,25±1484,71 ^b
Σn-6	117,98± 59,66 ^a	110,27±79,75 ^a	1141,25±573,16 ^c	644,32±341,73 ^b
Σn-3	88,31±53,46 ^a	87,73±68,65 ^a	747,39±742,80 ^c	167,18±60,70 ^b
EPA + DHA	37,52±17,74 ^a	40,27±20,23 ^{ab}	60,13±33,53 ^c	55,81±16,74 ^{bc}
ΣCis	293,45±168,30 ^a	262,45±157,11 ^a	2829,08±1190,50 ^b	3125,15±1829,99 ^b
ΣTrans	3,78±2,97 ^a	4,74±4,22 ^a	2,19±3,41 ^a	4,96±4,64 ^a

n=24/ Médias, com letras iguais, na mesma linha, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey .

ΣAGPI(somatório dos ácidos graxos polinsaturados), ΣAGMI somatório dos ácidos graxos monoinsaturados),

ΣAGS(somatório dos ácidos graxos saturados), Σn-3 (somatório de ácidos graxos ômega-3), Σn-6

(somatório de ácidos graxos ômega-6).

3.1.2. Ácidos graxos polinsaturados linoleico (C18:2 n-6) e linolênico (C18:3 n-3)

Os resultados das concentrações dos ácidos C18:2n-6 - ácido linoleico, e C18:3n-3 - ácido linolênico encontrados nos peixes, estão apresentados na tabela I.3. A ingestão estimada diária desses ácidos graxos considerando-se o consumo médio de peixes pela população ribeirinha do rio Madeira, próximo a Humaitá (OLIVEIRA *et al.*, 2010), também foi apresentada, assim como a comparação desses valores com as recomendações. O pacu foi o peixe que apresentou maiores quantidades desses ácidos, seguido pela sardinha, curimatã e jaraqui. O teor de ácido linolênico, foi de 673,03 mg/100 g para o pacu, o que representou 90,0% do total (747,39 mg/100 g). Já a sardinha, apresentou 98,86 mg/100 g de ácido linolênico, correspondente a 59,1% do total de 167,18 mg/100 g de ômega-3, seguido de uma contribuição de 34,24 mg/100 g e de 29,98 mg/100 g do total de 88,31 mg/100 g e de 87,73 mg/100 g para o curimatã e jaraqui, respectivamente. O ácido linoleico, pertencente a série ômega-6, também esteve presente em maior quantidade no pacu (1056,53 mg/100 g; o que representou 92,6% de todos os ácidos graxos da série ômega-6) e na sardinha (562,31 mg/100 g, o que representou 87,3% de todos os ácidos graxos da série ômega 6). O curimatã e jaraqui tiveram menores teores de linoleico, 65,72 mg/100 g (55,70%) e 50,90 mg/100 g (46,16%), respectivamente.

Os ácidos linoleico e alfa-linolênico são ácidos graxos essenciais; os quais precisam ser adquiridos via dieta. A deficiência de ácidos graxos essenciais está relacionada à deficiência no crescimento, lesões dermatológicas e até infertilidade (SPECTOR e KIM, 2015) uma vez que esses ácidos graxos são necessários para manter sob condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos. Esses ácidos graxos também participam da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, da síntese da hemoglobina e da divisão celular (MARTIN *et al.*, 2006).

Considerando-se as recomendações do Dietary... (2005), a ingestão de ácido linoleico diária deve ser de no mínimo 17000 mg para os homens e de 12000 mg para as mulheres. O pacu foi o peixe que melhor contribuiu no fornecimento dos dois ácidos graxos, oferecendo 25,7% e 36,4% da quantidade recomendada de

ácido linoleico para homens e mulheres adultos, respectivamente, considerando-se a ingestão média diária de peixes das populações ribeirinhas (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

TABELA I.3 - Teores médios de ácidos linoléico (C18:2n-6) e linolênico (C18:3n-3), em mg/100 g, em curimatã, jaraqui, pacu e sardinha do rio Madeira, Humaitá, AM e a contribuição ao consumo/dia na dieta recomendada

Informações nutricionais	Curimatã	Jaraqui	Pacu	Sardinha
Quantidade encontrada (mg/100 g)				
Acido linoleico	70	50	1060	560
Acido linolênico	30	30	670	100
Quantidade consumida (mg/dia)¹				
Acido linoleico	280	200	4300	2270
Acido linolênico	120	120	2720	410
Consumo recomendado (%)²				
Adulto masculino				
Acido linoléico (17000 mg/dia)	1,65	1,20	25,29	13,35
Acido linolenico (1600 mg/dia)	7,50	7,50	170,00	25,62
Adulto feminino				
Acido linoléico (12000 mg/dia)	2,33	1,70	35,83	18,92
Acido linolenico (1100 mg/dia)	10,91	10,90	247,27	37,27

¹ Consumo de peixes pela população ribeirinha do rio Madeira, próximo a Humaitá, 406 g/dia ou 148,2 kg/pessoa/ano (Oliveira *et al.*, 2010).

² Ingestão adequada segundo o Instituto de Medicina (2005).

Com relação à necessidade diária de ácido linolênico, o pacu também se destacou, uma vez que as recomendações situam-se entre 1100 mg/dia para mulheres adultas e 1600 mg/dia para homens adultos e a quantidade encontrada é de 670 mg/100 g. Dessa forma, considerando-se o consumo médio de 406000 mg/dia de peixes por populações ribeirinhas do rio Madeira (OLIVEIRA *et al.*, 2010), essa quantidade de pacu ofertaria aproximadamente o dobro do recomendado de ácido graxo essencial da série ômega 3.

A contribuição da sardinha para o suprimento de ácidos graxos essenciais também é relevante e forneceria pelo menos 25% das recomendações de alfa

linolênico, considerando-se o consumo médio de peixe por populações ribeirinhas da Amazônia.

3.1.3. Ácidos graxos poliinsaturados, eicosapentaenoico(EPA) e docosaheaeenóico (DHA)

A quantidade média de EPA e DHA, em mg/100 g de todos os peixes analisados, bem como a soma EPA+DHA, consumo médio estimado de EPA e DHA/por dia, estão contidos na tabela I.4. A quantidade dos ácidos graxos EPA e DHA, dois ácidos graxos da série ômega 3, somados, foi de 37,52 mg/100 g para o curimatã; 40,27 mg/100 g para o jaraqui; 55,81 mg/100 g para a sardinha; e de 60,13 mg/100 g para o pacu. Com base nas estimativas de consumo de peixes por população ribeirinha próxima à Humaitá (OLIVERIA *et al.*, 2010), o consumo médio desses peixes ofertaria aproximadamente 200 mg/dia de EPA e DHA, o que equivale a aproximadamente 80% da recomendação de ingestão diária desses ácidos graxos preconizada pela Organização Mundial de Saúde (FAST..., 2010), que é de 250 mg/dia.

TABELA I.4 - Teores médios de ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), EPA+DHA, estimativa do consumo/dia pela população ribeirinha de Humaitá, AM, e a contribuição (%) do consumo mínimo/dia recomendado pela FAO

Informações nutricionais	curimatã	jaraqui	pacu	sardinha
Teores médios (mg/100 g)				
EPA	14,82	11,73	24,77	10,44
DHA	22,70	28,54	35,37	45,37
EPA + DHA	37,52	40,27	60,14	55,81
Consumo (mg/dia)¹				

EPA	60,17	47,62	100,57	42,39
DHA	92,16	115,87	143,60	184,20
EPA + DHA	152,33	163,50	244,17	226,59
Contribuição (%) do consumo recomendado²				
EPA + DHA	60,9	65,4	97,7	90,6

¹ Consumo de peixe de 148,2 kg/ano/pessoa= 406 g/dia/pessoa (Oliveira *et al.*, 2010).

² Recomendação FAO (2010): 250 mg/dia (consumo mínimo/dia).

Nesse quesito, o pacu e a sardinha são os que mais contribuem para o fornecimento desses ácidos graxos, sendo que o consumo de 406000 mg/dia supriria as necessidades desses ácidos graxos quase na sua totalidade. No caso do curimatã e jaraqui, a contribuição também é importante, mas da ordem de aproximadamente 60%.

A ingestão adequada desses ácidos graxos é importante para todas as faixas etárias e estados fisiológicos. Entretanto, é especialmente importante para mulheres gestantes e lactantes em virtude da elevada demanda de DHA no desenvolvimento do sistema nervoso central e retina do feto e recém nascido. De acordo com Guesnet *et al.* (2011), a recomendação para o consumo diário para mulheres gestantes e lactantes é de 200 mg de DHA. Dessa forma, mulheres gestantes e lactantes ribeirinhas, de forma estimada, consumiriam 143,60 mg/dia e 184,20 mg/dia de DHA advindos de pacu e sardinha, o que representaria aproximadamente 72% e 92% das recomendações, respectivamente.

Dietas com DHA ao longo dos períodos pré e pós natal, são determinantes para o desenvolvimento do sistema neurológico dos bebês, especialmente o cerebral, no último trimestre (SUN *et al.*, 2017), bem como todo o desenvolvimento normal do feto (MAAS *et al.*, 2017). Além disso, o DHA tem atividade anti-inflamatória, contribui para o sistema imunológico, possui ação antioxidante, e vem sendo estudado na prevenção e como coadjuvante promissor no tratamento de doenças cardiovasculares; obesidade; diabetes e câncer (YUM *et al.*, 2016).

3.2. Teores de ácidos graxos em curimatã, jaraqui, pacu e sardinha em duas estações do ano

A composição dos ácidos graxos em amostras de filés dos quatro peixes estudados nas diferentes estações, encontra-se na tabela I.5. Observou-se que somente o pacu e a sardinha apresentaram diferenças significativas na composição de ácidos graxos entre as estações cheia e seca, sendo que, em geral, os valores de ácidos graxos foram maiores na estação cheia ($p < 0,05$). No entanto, alguns ácidos graxos apresentaram quantidades superiores no período da seca em relação

à cheia em alguns peixes, isso ocorreu com o DHA e o linolênico (18:3 n-6) para o jaraqui e com DHA para o pacu.

As variações nos teores de determinados ácidos graxos foram tão pronunciadas que causaram redução de pelo menos metade dos teores de ácido linoleico (1363,05 e 750,0 mg/100 g); ácido linolênico (936,92 e 409,15 mg/100 g) e EPA (35,37 e 14,16 mg/100 g) no pacu, em relação aos períodos de cheia e seca, respectivamente.

A redução da quantidade encontrada na estação chuvosa, para a estação seca, também foi significativa para o ácido linoleico (704,23 e 420,39 mg/100 g), e ácido linolênico (137,12 e 60,60 mg/100 g), na sardinha. Inhamuns *et al.* (2009) observaram comportamento semelhante no tucunaré, peixe da região amazônica, em que seus resultados revelaram valores de ácidos graxos polinsaturados no período da cheia (35,8%), maior do que no período da seca (24,2%).

As variações nos teores de ácidos graxos observadas no período de cheia e seca podem estar relacionadas com as mudanças nos hábitos alimentares dos peixes (KALYONCU *et al.*, 2009). Yamamoto *et al.* (2004) estudaram o comportamento alimentar da sardinha (*Triportheus angulatus*) na cheia e na seca amazônica e observaram que no período da enchente/cheia, a disponibilidade de alimento é maior (zooplâncton, algas, restos vegetais, frutos, sementes e insetos), enquanto que no período da seca, há uma menor disponibilidade de alimentos, sendo insetos e material vegetal os mais consumidos. No entanto, Luzia *et al.* (2003) não encontraram influência da sazonalidade em pescados marinhos (corvina e sardinha) e de água doce (curimatá e tilápia) doados na cidade de São Paulo.

TABELA 1.5 - Perfil de ácidos graxos (mg/100 g) de tecido muscular(filé) dos peixes capturados no rio Madeira, município de Humaitá, AM, nas duas estações(chuvosa e seca) do ano de 2015

Ácidos graxos	Teores de ácidos graxos (mg/100 g) em peixes / Estação climática							
	curimatã		jaraqui		pacu		sardinha	
	Cheia	Seca	Cheia	Seca	Cheia	Seca	Cheia	Seca (Continua)
C12:0	2,62 ^{am}	1,87 ^{dm}	1,45 ^{ao}	5,84 ^{deo}	23,89 ^{bx}	12,94 ^{ey}	9,75 ^{aw}	8,41 ^{dez}
C13:0	3,77 ^{am}	3,37 ^{dm}	3,04 ^{ao}	14,21 ^{ep}	0,71 ^{ax}	1,28 ^{dx}	0,99 ^{aw}	1,08 ^{dw}
C14:0	29,05 ^{am}	39,17 ^{dm}	20,05 ^{ao}	55,59 ^{do}	120,22 ^{ax}	271,02 ^{ey}	130,06 ^{aw}	82,07 ^{dw}
C14:1	17,79 ^{bm}	22,34 ^{dm}	15,22 ^{bp}	25,64 ^{do}	1,92 ^{ax}	2,51 ^{ex}	8,76 ^{abw}	4,07 ^{ew}
C15:0	25,15 ^{am}	28,26 ^{em}	17,55 ^{ao}	58,62 ^{dp}	5,83 ^{ax}	7,75 ^{ex}	16,63 ^{aw}	10,63 ^{ew}
C15:1	15,54 ^{am}	12,76 ^{dm}	14,88 ^{ao}	20,28 ^{eo}	7,37 ^{bx}	9,41 ^{dx}	9,38 ^{abw}	8,12 ^{dw}
C16	329,84 ^{am}	370,13 ^{dm}	218,40 ^{ao}	444,29 ^{do}	1378,04 ^{bx}	1081,95 ^{ex}	1973,12 ^{by}	1121,40 ^{ex}
C16:1	153,33 ^{am}	167,62 ^{dm}	94,31 ^{ao}	211,58 ^{dp}	96,74 ^{ax}	125,62 ^{dx}	324,55 ^{bw}	192,44 ^{dz}
C17:0	23,60 ^{am}	32,06 ^{em}	18,88 ^{ao}	43,35 ^{ep}	13,17 ^{ax}	15,38 ^{dx}	23,77 ^{aw}	13,80 ^{dw}
C17:1	18,58 ^{bm}	13,68 ^{dm}	8,71 ^{ao}	23,93 ^{ep}	5,83 ^{ax}	6,63 ^{dx}	12,68 ^{abw}	8,08 ^{dw}
C18:0	83,09 ^{am}	93,76 ^{dm}	73,35 ^{ae}	147,66 ^{do}	846,31 ^{by}	635,43 ^{ex}	750,90 ^{bw}	529,98 ^{ez}
C18:1 Cis(n9)	184,11 ^{am}	271,36 ^{dm}	154,42 ^{ao}	268,68 ^{do}	2112,34 ^{bx}	1432,75 ^{ex}	3167,63 ^{cz}	1958,04 ^{ew}
C18:1 Trans(n9)	2,44 ^{abm}	2,03 ^{dem}	2,59 ^{abo}	3,82 ^{eo}	0,77 ^{ax}	1,42 ^{dex}	3,45 ^{bz}	1,08 ^{dw}
C18:2 Cis(n6)	59,70 ^{am}	71,73 ^{dm}	34,21 ^{ao}	67,59 ^{do}	1363,05 ^{cy}	750,00 ^{fx}	704,23 ^{bz}	420,39 ^{ew}
C18:2 Trans(n6)	1,94 ^{am}	1,13 ^{dm}	0,92 ^{ao}	2,14 ^{deo}	0,82 ^{ax}	1,36 ^{dx}	1,74 ^{aw}	3,64 ^{ez}

C18:3 (n3)	28,76 ^{am}	39,72 ^{dm}	11,65 ^{ao}	48,30 ^{do}	936,92 ^{by}	409,15 ^{dx}	137,12 ^{aw}	60,60 ^{adw}
C18:3 (n6)	5,30 ^{abm}	4,81 ^{dm}	3,65 ^{ao}	12,68 ^{ep}	10,79 ^{by}	5,73 ^{dx}	10,58 ^{aw}	11,04 ^{dew}
C20:0	5,96 ^{am}	8,50 ^{dm}	4,10 ^{ao}	11,15 ^{do}	176,73 ^{by}	70,85 ^{dx}	28,00 ^{aw}	24,44 ^{dew}
Teores de ácidos graxos (mg/100 g) em peixes / Estação climática								
Ácidos graxos	curimatã		jaraqui		pacu		sardinha	
	Cheia	Seca	Cheia	Seca	Cheia	Seca	Cheia	Seca (Conclusão)
C20:1(n9)	8,95 ^{am}	15,81 ^{dm}	12,85 ^{ao}	23,49 ^{do}	64,13 ^{cx}	59,59 ^{ex}	37,84 ^{bz}	23,78 ^{dew}
C20:2(n6)	5,08 ^{abm}	3,78 ^{dm}	1,91 ^{ao}	5,82 ^{do}	26,99 ^{cx}	21,11 ^{ex}	10,39 ^{bw}	9,56 ^{dew}
C20:3 (n3)	0,35 ^{am}	32,75 ^{dn}	0,09 ^{ao}	34,87 ^{dp}	1,48 ^{ax}	26,97 ^{dy}	2,31 ^{aw}	22,70 ^{dz}
C20:3 (n6)	28,85 ^{an}	8,44 ^{dm}	39,18 ^{abp}	13,81 ^{do}	30,73 ^{ax}	18,42 ^{dx}	50,85 ^{bz}	10,15 ^{dew}
C20:4 (n6)	25,48 ^{am}	19,71 ^{dm}	1,94 ^{ao}	36,68 ^{dp}	17,76 ^{ax}	35,23 ^{dx}	22,89 ^{aw}	33,16 ^{dew}
C20:5 (n3)-EPA	16,46 ^{abm}	13,19 ^{dm}	9,26 ^{ao}	14,20 ^{do}	35,37 ^{by}	14,16 ^{dx}	7,40 ^{aw}	13,49 ^{dew}
C21:0	6,11 ^{am}	1,91 ^{dm}	7,86 ^{ao}	1,69 ^{do}	25,59 ^{by}	5,40 ^{dx}	14,59 ^{az}	5,51 ^{dew}
C22:0	5,12 ^{am}	6,55 ^{dm}	4,29 ^{ao}	12,40 ^{dep}	17,58 ^{bx}	17,78 ^{ex}	10,47 ^{abw}	7,00 ^{dz}
C22:1 (n9)	0,94 ^{am}	5,65 ^{dm}	0,61 ^{ao}	0,48 ^{do}	8,68 ^{by}	1,85 ^{dx}	6,59 ^{abw}	4,52 ^{dew}
C22:6(n3)-DHA	22,16 ^{am}	23,23 ^{dm}	21,55 ^{ao}	35,53 ^{dep}	29,53 ^{ax}	41,19 ^{ey}	48,52 ^{bw}	42,21 ^{ew}
C24:0	0,84 ^{am}	6,77 ^{dn}	4,99 ^{ao}	5,10 ^{do}	5,39 ^{ax}	5,59 ^{dx}	4,55 ^{aw}	6,96 ^{dew}
C24:1 (n9)	8,81 ^{am}	9,07 ^{dem}	7,10 ^{ao}	12,80 ^{ep}	7,78 ^{ax}	11,49 ^{dey}	6,73 ^{aw}	8,61 ^{dew}

n=12. Médias, comparadas entre as espécies, na estação cheia (a,b,c), entre as espécies, na estação seca(d,e,f), entre as estações para o Curimatã(m,n), Jaraqui(o,p), pacu(x,y) e para a sardinha(w,z). Letras iguais, na mesma linha, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Ácido láurico (C12:0), ácido tridecanóico (C13:0), ácido mirístico (C14:0), ácido miristoleico (C14:1), ácido pentadecanóico(C15:0), ácido cis-10- pentadecenóico (C15:1), ácido palmítico (C16:0), ácido palmitleico (C16:1), ácido heptadecanóico (C17:0), ácido cis-10-hepatadecenóico (C17:1), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1), ácido linoléico (C18:2), ácido alfa-linolênico (C18:3 n-3), ácido gama-linolênico (C18:3 n-6), ácido araquídico (C20:0), ácido eicosenoico (C20:1 n-9), ácido Cis-11,14 Eicosadienoico(C20:2 n-6), Ac.cis-11,14,17-eicosatrienoico(C20:3 n-3), Ac. Cis-8,11,14-

eicosatrienoico (C20:3 n-6), ácido araquidônico (C20:4 n-6), ácido cis- 5,8,11,14,17- Eicosapentenoico (EPA-C20:5 n-3), Ac. Heneicosanoico (C21:0), ácido Behenico (C22:0), ácido erúcico (C22:1 n-9), ácido cis-4,7,10,13,16,19 docosahexenoico (C22:6 n-3 DHA), ácido lignocérico (C24:0), ácido nervônico(C24:1 n-9).

Petenuci *et al.* (2016) também observaram em peixes da Amazônia, variações na composição dos ácidos graxos em função das estações chuvosa e seca. Esses autores relatam que a sazonalidade é um fenômeno que afeta os ciclos de vida dos peixes, como sua reprodução, condições corporais, consumo de alimentos. Ainda, segundo esses autores, na bacia amazônica, a mudança é pronunciada por oscilações no volume de água do rio, o que altera a disponibilidade de alimentos.

3.3. Índices de qualidade nutricional da fração lipídica do tecido muscular de curimatã, jaraqui, pacu e sardinha

Os índices de qualidade dos lipídeos do tecido muscular dos peixes estão apresentados na tabela 1.6. Os resultados para a relação de ácidos graxos polinsaturados/ácidos graxos saturados (AGPI/AGS) revelaram valores de 0,36 para o jaraqui a 0,90 para o pacu, sendo esse valor diferente significativamente dos demais ($p < 0,05$). Esses resultados foram inferiores aos encontrados por Rodrigues *et al.* (2017), os quais foram da ordem de 2,11 a 3,47, para cinco espécies brasileiras de peixes de água doce tais como *Prochilodus lineatus* (curimatã), *Brycon cephalus* (matrinxã), *Leporinus friderici* (piauí), *Pseudoplatystoma corruscans* (pintado) e *Cichla ocellaris* (tucunaré). Os Valores de AGPI/AGS acima de 0,45 têm sido recomendados por órgãos internacionais, como o Departamento de Saúde e Segurança Social do Reino Unido (TONIAL *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2017). O pacu apresentou um valor da relação AGPI/AGS dentro dessa recomendação. Enquanto que o curimatã, jaraqui e sardinha apresentaram valores abaixo de 0,45 que significa maiores teores de ácidos graxos saturados em comparação com os ácidos graxos insaturados. Alimentos com baixa proporção de AGPI/AGS podem induzir aumento na colesterolemia (SANTOS *et al.*, 2002).

A relação ômega-6/ômega-3 nos peixes variou de um mínimo de 1,59 para o curimatã a no máximo de 3,80 para a sardinha. Esses valores foram superiores àqueles encontrados em cinco espécies de peixes de água doce, cuja variação foi de 0,66 a 1,28 (RODRIGUES *et al.*, 2017) e também daqueles relatados por Ramos Filho e Ramos (2008) que foram de 0,95 para o pintado e de 3,65, para o pacu.

De acordo com Santos *et al.* (2013), a relação n-6/n-3 é de 15:1 a 40:1 na dieta ocidental e para a promoção da saúde, essa relação deveria ser mais baixa. O aumento da ingestão de n-6 poderia elevar a geração de mediadores inflamatórios implicados com diversos processos patológicos, como a aterosclerose e seus fatores de riscos tradicionais, como a hipertensão arterial, diabetes e obesidade (SANTOS *et al.*, 2013). O Departamento de Saúde do Reino Unido recomenda valores abaixo de 4:1 (RODRIGUES *et al.*, 2017). Dessa forma, o consumo dos peixes avaliados contribuiria para baixar a relação n-6/n-3, especialmente curimatã e jaraqui que apresentaram valores mais baixos em comparação com o pacu e a sardinha. Alimentos com maiores quantidades de ácidos graxos polinsaturados n-3 e menores de ácidos graxos polinsaturados n-6 favorecem a saúde humana, à medida que contribuem para a redução dessa relação (HUYNH e KITTS, 2009).

TABELA 1.6 - Índices de qualidade nutricional da fração lipídica do tecido muscular de curimatã, jaraqui, pacu e sardinha capturados no rio Madeira, no município de Humaitá em maio e outubro de 2015

Parâmetros	Peixes			
	curimatã	jaraqui	pacu	sardinha
AGPI/AGS	0,39±0,09 ^a	0,36±0,08 ^a	0,90±0,68 ^b	0,37±0,12 ^a
n-6/n-3	1,59±0,72 ^a	1,64±0,69 ^{ab}	3,37±4,30 ^{bc}	3,80±1,49 ^c
HH	1,07±0,36 ^a	1,02±0,29 ^a	2,95±1,80 ^c	2,08±0,49 ^b
IA	0,70±0,11 ^{ab}	0,74±0,17 ^b	0,59±0,38 ^{ab}	0,54±0,15 ^a
IT	0,84±0,17 ^a	0,91±0,15 ^a	0,76±0,38 ^a	0,93±0,23 ^a

n=24.

Médias, com letras iguais, na mesma linha, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

AGPI- Ácidos graxos polinsaturados, AGS- Ácidos graxos saturados, n-6(ômega-6), n-3(ômega-3).

IA - Índice de aterogenicidade, IT - índice de trombogenicidade e HH – Hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos.

Os índices de ácidos graxos Hipocolesterolêmico/Hipercolesterolêmico(HH), observados nesses peixes, revelaram a sardinha e o pacu como os de maiores índices, 2,08 e 2,95, respectivamente. Tais índices foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre eles e entre os índices do curimatã (1,07) e jaraqui (1,02). O índice HH é uma indicação dos efeitos dos ácidos graxos no metabolismo do colesterol. Do ponto de vista nutricional, valores de HH mais altos são considerados mais benéficos para a saúde do homem (PETENUCCI *et al.*, 2016), uma vez que a hipercolesterolemia está associada à formação de placa de ateroma na parede dos vasos sanguíneos, tendo como consequências clínicas o infarto do miocárdio e acidente vascular encefálico (SANTOS *et al.*, 2013). Dessa forma, o pacu e a sardinha, possuem, além de um bom perfil de ácidos graxos, certo equilíbrio entre ácidos graxos que promovem redução e aumento da colesterolemia.

Os índices de aterogenicidade (IA) para o curimatã, jaraqui, pacu e sardinha, foram de 0,70; 0,74; 0,59 e 0,54, respectivamente. Só foi observada diferença significativa entre os índices para o jaraqui e sardinha. Enquanto para os índices de trombogenicidade (IT) não houve diferença significativa ($p > 0,05$) dos índices observados para o curimatã, 0,84; jaraqui, 0,91; pacu, 0,76 e sardinha, 0,93.

Ramos Filho e Ramos (2008) analisaram os índices HH, IA e IT em quatro peixes do Pantanal Matogrossense e os valores encontrados para o pacu, foi de 1,66; 0,86 e 1,16, respectivamente, valores diferentes dos apresentados para esse mesmo peixe no presente estudo (2,95; 0,59 e 0,76, respectivamente). Já os resultados apresentados por Petenucci *et al.* (2016), os valores dos índices IA, IT e HH para o curimatã foram de 0,43; 0,69 e 2,11, respectivamente, e tais valores foram similares apenas para o índice IA (0,70) na avaliação desse mesmo peixe no presente trabalho (HH de 1,07 e IT de 0,84) .

De acordo com Tonial *et al.* (2011), os índices IA e IT podem indicar o potencial de estímulo à formação de ateroma e agregação plaquetária (ULBRICHTH e SOUTHGATE, 1991), de forma que, quanto menores esses valores, maior é a quantidade de ácidos graxos anti-aterogênicos presentes nos lipídeos e, conseqüentemente, maior é o potencial de prevenção de doenças coronarianas. Os menores índices de IA foram observados para o pacu (0,59) e sardinha (0,54) e os menores índices de IT para o pacu (0,76) e curimatã (0,84). Não há valores

recomendados para esses índices, porém, consideram-se que valores mais baixos sugerem uma relação de ácidos graxos que podem favorecer a saúde humana (TONIAL *et al.*, 2011).

4. CONCLUSÃO

O pacu e a sardinha que foram os peixes com maiores teores médios de lipídeos totais e de ácidos graxos polinsaturados, destacando-se os ácidos graxos essenciais, linoleico (C18:2 n-6) e linolênico (C18:3 n-3). Também esses foram os peixes com maior fornecimento de EPA e DHA.

Na comparação sazonal, o pacu e a sardinha se destacaram apresentando maiores teores de ácidos graxos polinsaturados (linolênico), monoinsaturados (oleico) e saturados (palmítico e esteárico) na estação chuvosa, comparada a estação seca.

Para os índices de qualidade nutricional da fração lipídica, a relação AGPI/AGS, foi melhor para o pacu (valores acima de 0,45 que é uma relação mais saudável) enquanto que os demais índices, IA para o pacu e sardinha e IT para o curimatã e o pacu, apresentaram valores compatíveis com os recomendados por órgãos de saúde.

De acordo com os resultados apresentados nesse estudo, pode-se concluir que as quatro espécies de peixes da Amazônia podem contribuir para o fornecimento adequado de ácidos graxos da dieta, podendo ser benéfico à saúde de um modo geral e especialmente na redução do risco de doenças cardiovasculares da população consumidora desses peixes.

CAPÍTULO II

MERCÚRIO EM PEIXES DO RIO MADEIRA E ESTIMATIVA DO RISCO À SAÚDE DA POPULAÇÃO DO MUNICÍPIO DE HUMAITÁ, AM

(Trabalho publicado no Food Research International- Anexo I)

1. INTRODUÇÃO

O município de Humaitá está localizado no sul do estado do Amazonas (Lat 07°30'22S, Long. 63°01'15"W), às margens do rio Madeira, que é um dos vinte maiores rios do mundo e o terceiro do país em extensão. É propício à pesca, sendo, portanto, importante fonte de alimento e sustento para a população da região (HERRAIZ e SILVA, 2015).

O garimpo ainda é uma prática comum nesse rio (Figura II.1) e o uso do mercúrio na extração do ouro, pode promover a contaminação e por conseguinte o seu acúmulo nos peixes e colocar em risco a saúde da população que se alimenta desses. O mercúrio é um metal pesado que se apresenta em várias formas químicas, conhecidas como espécies, sendo as mais importantes o mercúrio elementar (Hg^0), o inorgânico (Hg^+ e Hg^{2+}) e o orgânico (metilmercúrio e etilmercúrio) (LEMOS e SANTOS, 2014).

As transformações do mercúrio no meio ambiente envolvem uma série de reações químicas complexas, podendo combinar com outros elementos inorgânicos para formar compostos inorgânicos de mercúrio; ou com compostos orgânicos envolvendo biotransformação por microorganismos aquáticos, formando o metilmercúrio - MeHg (GUINDACE..., 2008).

A exposição humana ao mercúrio ocorre, principalmente, pela ingestão de alimentos contaminados, sendo este considerado um importante contaminante para populações que se alimentam diariamente de peixes (BARBOSA *et al.*, 2001; GUINDACE..., 2008). O mercúrio acumulado pelos peixes encontra-se principalmente na forma de metilmercúrio, representando de 70 a 98% do mercúrio total analisado (BRABO *et al.*, 1999; MAURICE-BOURGOIN *et al.*, 2000; WEIS,

2004; GUINDACE..., 2008; GENDZIER, 2010; BASTOS *et al.*, 2015). Mais de 95% do metilmercúrio ingerido é absorvido pelo organismo humano (GENDZIER, 2010).



FIGURA II.1 - Prática de garimpo no rio Madeira próximo a Humaitá, AM.

Fonte: Associação dos garimpeiros de Humaitá.

O consumo de peixes contaminados com metilmercúrio pode causar vários problemas de saúde no ser humano, tais como danos sensoriais, motores e neurológicos (DENG *et al.*, 2015). A legislação brasileira (BRASIL, 2013) estabeleceu o limite para espécies de pescados não predadoras de 0,5 mg/kg para o mercúrio total e para espécies predadoras de 1,0 mg/kg. De forma semelhante, a Comissão do Codex Alimentarius (GENERAL..., 2016) recomenda o limite de 1,0 mg/kg de MeHg para peixes predadores e de 0,5 mg/kg de MeHg para peixes, excluindo os predadores.

A exposição alimentar ao mercúrio presente em peixes é uma estimativa que envolve informação de consumo, teor do mercúrio nos peixes e o peso corporal, constituindo uma prática essencial para a avaliação do risco à saúde humana. O Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA), Comitê Científico Internacional de Especialistas em Aditivos Alimentares pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) e pela World Health Organization (WHO), propôs um limite

de ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) de 1,6 µg/kg de peso corporal aplicável a exposição alimentar para o metilmercúrio.

São poucos os dados referentes à contaminação de mercúrio em peixes das espécies mais comercializadas e consumidas nessa região. Sabendo-se do real consumo de peixes nessa região do município de Humaitá, da toxicidade do mercúrio e da capacidade de bioacumulação nos peixes, é importante o monitoramento constante para conhecer o comportamento deste nessa região.

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade das quatro espécies de peixes mais comercializadas no município de Humaitá, AM, em relação ao teor de mercúrio total em diferentes partes ao longo do peixe e nos filés, em dois locais próximos a garimpos e em duas estações climáticas, chuvosa e seca, bem como avaliar o risco para a saúde da população, pela estimativa da exposição ao metilmercúrio, devido ao alto consumo de peixes nessa região do estado do Amazonas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

2.1.1. Coleta das amostras de peixes

Foram coletados 96 peixes de quatro espécies das mais comercializadas no município de Humaitá-AM, curimatã (*Prochilodus nigricans*), jaraqui (*Semaprochilodus insignis*), pacu manteiga (*Mylossoma duriventre*) e sardinha (*Triportheus angulatus*). A classificação taxonômica dos peixes, encontra-se na tabela II.1. Foram seis peixes de cada espécie, em dois locais de pesca do rio Madeira Igarapé Puruzinho (rio Madeira no sentido Humaitá- Manicoré) e Santa Rosa e em duas estações climáticas, chuvosa (maio de 2015) e seca (outubro de 2015). Sendo que em cada local a pesca foi efetuada por um pescador, morador da localidade correspondente.

TABELA II.1 - Classificação taxonômica das quatro espécies de peixes analisadas do rio Madeira, no município de Humaita, AM

Nome vulgar	Família	Nome Científico
Curimatã	Prochilodontidae	<i>Prochilodus nigricans</i> (Agassiz, 1829)
Jaraqui escama grossa	Prochilodontidae	<i>Semaprochilodus insignis</i> (Schombugk, 1841)
Pacu manteiga	Characidae	<i>Mylossoma duriventre</i> (Cuvier, 1817)
Sardinha chata	Clupeidae	<i>Triportheus angulatus</i> (Spix & Agassiz, 1829)

Fonte: Santos *et al.* (2006), Souza e Inhamuns (2011).

Os peixes foram recebidos de seus respectivos pescadores, em caixas de isopor com gelo e transportados para o Laboratório da Engenharia Ambiental 01 da Universidade Federal do Amazonas, Campus de Humaitá, onde imediatamente foram feitos os preparos das amostras. Totalizaram 384 amostras para análises, sendo 96 de filés triturados e homogeneizados, das duas estações (chuvosa e seca) e 288 amostras (seis porções) extraídas dos 48 peixes coletados na estação chuvosa.

2.1.1.1 Coleta das amostras na estação chuvosa

Das 48 amostras de quatro espécies dos peixes, curimatã, jaraqui, pacu e sardinha, vinte e quatro peixes foram da Entrada do puruzinho e vinte e quatro de Santa Rosa. As amostras foram, imediatamente, levadas para o Laboratório de Engenharia Ambiental 01 da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) em Humaitá, para o preparo. Os peixes foram pesados em balança semianalítica, medidos com régua o comprimento (cm) e em seguida foram extraídas três porções dos músculos dos peixes descamados, da parte superior (região dorsal), denominadas de P1, P2 e P3; e três da parte inferior (região lateral), denominadas de P4, P5 e P6 (Figura II.2) num total de 288 amostras (48 peixes x 6 porções) armazenadas em embalagens devidamente identificadas. Em seguida, esses peixes foram filetados e os filés foram triturados e armazenados em embalagens apropriadas. Todas as amostras (porções e filés homogeneizados) foram congeladas e transportadas para o Laboratório de Bioquímica de Alimentos da Universidade

Federal de Minas Gerais (UFMG). As amostras foram mantidas congeladas em ultrafreezer (-80 °C) até o momento da análise.

2.1.1.2. Coleta das amostras na estação seca

Foram obtidas 48 amostras das mesmas espécies, dos mesmos pescadores e nos mesmos locais do rio Madeira, igarapé Puruzinho (n=24) e Santa Rosa (n=24), em outubro de 2015. As amostras foram imediatamente levadas para o Laboratório de Engenharia Ambiental 01 da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) em Humaitá, para o preparo. Os peixes foram pesados em balança semi-analítica, medido o comprimento (cm), descamados, filetados e os filés foram triturados, armazenados em embalagens apropriadas, congelados e transportados para o Laboratório de Bioquímica de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). As amostras foram mantidas congeladas em ultrafreezer (-80 °C) até o momento da análise.

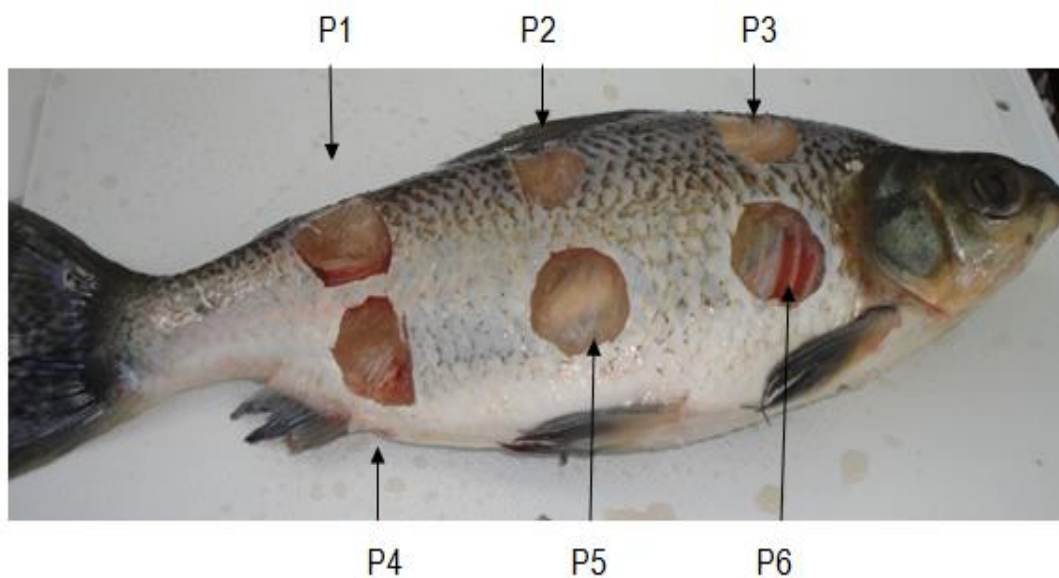


FIGURA II.2 - Fotografia ilustrativa dos pontos de coleta de amostras em cada tipo de peixe para investigar a distribuição de mercúrio no tecido muscular de peixes coletados na estação chuvosa no município de Humaitá, AM.

2.1.2. Reagentes e soluções

Foram usados ácido nítrico P.A. 70%, solução padrão de mercúrio, 1000 ± 2 mg/L (Sigma- Aldrich), água ultrapura (Milli-Q System Milipore Corp., Milford, MA, EUA). Para a extração de lipídeos foram usados cloreto de sódio P.A., sulfato de sódio P.A., nitrogênio gasoso comercial, metanol P.A. e clorofórmio P.A.

2.2. Métodos

2.2.1. Métodos de análises

2.2.1.1. Metodologia analítica para determinação de mercúrio total em peixes

O mercúrio total foi determinado nas amostras utilizando o equipamento DMA-80 (Figura II.3), que se baseia na espectrometria de absorção atômica de combustão após amalgamação em ouro (METHOD..., 2007; TORRES *et al.*, 2012; LEMOS E SANTOS, 2014; MAKEDONSKI *et al.*, 2015; PANICHEV e PENICHEVA, 2015), equipado com um sistema catalisador (DMA 8133, Milestone) para liberar o mercúrio contido na amostra, um sistema amalgamador de ouro (DMA 8134, Milestone) utilizado para reter os vapores de mercúrio. O amalgamador retém o mercúrio seletivamente depois que o sistema é purgado com ar comprimido, para a remoção de gases remanescentes e ou produtos da decomposição. Em seguida, este é aquecido e o vapor de mercúrio é liberado.

As temperaturas de secagem e decomposição foram, respectivamente, 250 °C e 650 °C e os tempos foram 150 e 60 segundos, respectivamente. O tempo de aquecimento do amalgamador foi o recomendado pelo fabricante, de 12 segundos. As leituras de absorvância foram feitas a 253,7 nm.

As amostras congeladas foram retiradas do congelador e deixadas a temperatura ambiente por 2 h. Uma simples homogeneização da amostra foi suficiente para a análise, sem pré-tratamento químico. As massas das amostras

foram pesadas, em triplicatas, variando de 10 a 100 mg em barcas de níquel previamente limpas e secas em estufa a temperatura de 80°C.

Os resultados foram obtidos por meio de curva analítica construída na faixa de 1 a 8,5 ng de mercúrio (ANDRADE, 2015). Para a construção da curva padrão foram utilizadas barcas de quartzo, utilizadas para a solução de mercúrio preparada em ácido nítrico a 2% (METHOD..., 2007). Os teores de mercúrio total foram expressos em mg/kg, em base úmida.

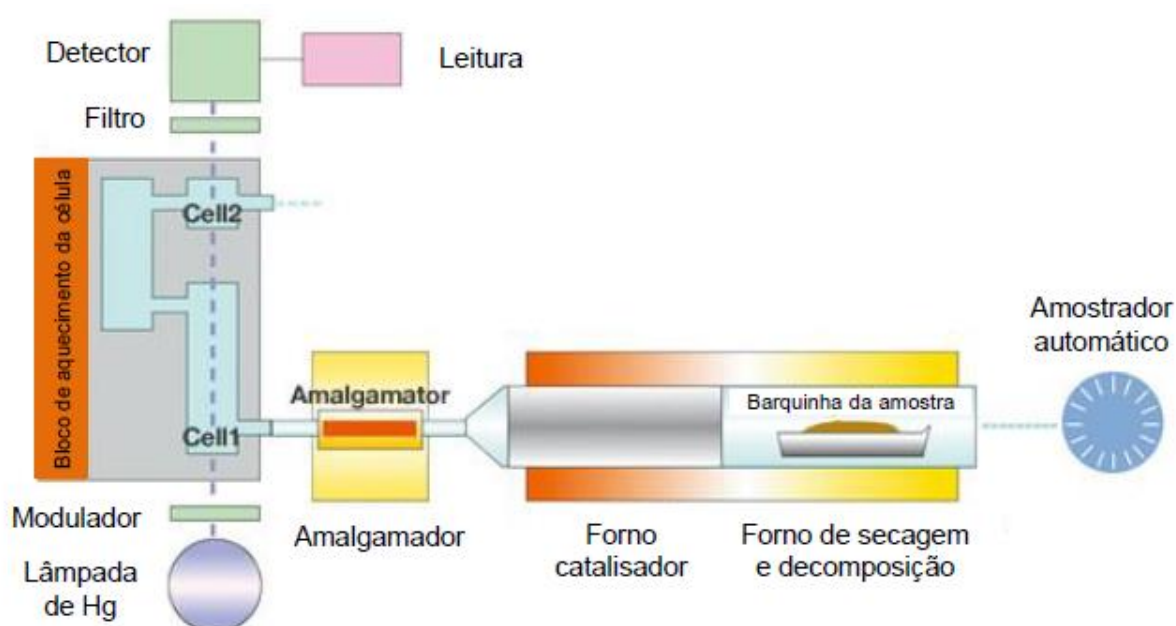


FIGURA II.3 - Representação esquemática do equipamento DMA-80 (Milestone)

Fonte: (Torres *et al.*, 2012).

2.2.1.2. Metodologia de avaliação do risco à saúde humana, pela estimativa da exposição alimentar do metilmercúrio em peixes

O risco à saúde, de acordo com o valor da exposição alimentar quando excede o PTWI, foi calculado pela equação (GUINDACE..., 2008): $\text{Exposição} = [\text{Concentração média de metilmercúrio } (\mu\text{g/kg}) \times \text{Quantidade semanal consumida (kg)}] / \text{Peso corpóreo (kg)}$.

A estimativa de ingestão semanal para cada espécie de pescado foi calculada usando os valores médios de metilmercúrio total para cada espécie e a média de todas as espécies estudadas, considerando o consumo per capita do estado do Amazonas população ribeirinha de 148.2 kg/ano (OLIVEIRA *et al.*, 2010), que equivale a 2.85 kg semanal.

O teor de metilmercúrio foi calculado, considerando-se que 90% do mercúrio total no peixe está na forma de metilmercúrio (MICARONI *et al.*, 2000; WEIS, 2004; GUINDACE..., 2008; PIMENTEL, 2011; THE STATE..., 2013). Foi utilizado o peso corpóreo estabelecido pela Guindace... (2008), de 60 kg para adultos.

2.2.1 3. Metodologia para extração de lipídeos

Os lipídeos totais foram extraídos de acordo com o método de Bligh e Dyer (1959).

2.2.2. Análises estatísticas

Para investigar a distribuição do mercúrio no tecido muscular ao longo dos peixes das diferentes espécies foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso testando seis regiões do músculo do peixe, com 12 repetições (n=12). Para investigar a influência dos locais de captura dos peixes próximos às atividades garimpeiras no rio Madeira e das estações (chuvosa e seca) no teor de mercúrio das diferentes espécies de peixes, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em fatorial 2x2x4 (2 locais, 2 estações climáticas e 4 espécies) com 6 repetições. Foram testadas as premissas de normalidade e homocedasticidade dos dados. Para os dados não paramétricos foram utilizados os testes Friedman e de Kruskal Wallis e para os dados paramétricos foram utilizados o teste de Tukey (SAMPAIO, 2015).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Características dos peixes

Os peixes foram caracterizados com relação ao comprimento, peso e o teor de lipídeos, conforme apresentados na tabela II.2. De forma geral, o comprimento dos peixes variou de 16,67 cm no pacu a 27,83 cm no curimatã, com os maiores valores para o curimatã e jaraqui e os menores valores para o pacu e sardinha. O comprimento dos peixes não foi afetado pelo local ou estação climática para o curimatã e o jaraqui; entretanto, o pacu apresentou um valor maior em Santa Rosa, comparado com Puruzinho na estação chuvosa e a sardinha foi maior em Santa Rosa comparado com o Puruzinho na estação seca.

TABELA II.2 - Teores medianos de mercúrio e lipídeos nos filés, teores médios de comprimento e peso de peixes capturados em dois locais do rio Madeira, Humaitá, AM e em duas estações do ano de 2015

Peixes	Estação	Parâmetros			
		Hg (mg/kg)	Lipídeo (g/100 g)	Comprimento (cm)	Peso (g)
(Continua)					
Curimatã					
Puruzinho	Chuvosa	0,17 ^{abc}	1,85 ^{ab}	25,50 ^{de}	233,98 ^{bcde}
	Seca	0,17 ^{abc}	1,89 ^{ab}	27,83 ^e	327,71 ^{efg}
St ^a Rosa	Chuvosa	0,13 ^{abc}	2,25 ^{abc}	26,75 ^e	299,93 ^{abc}
	Seca	0,13 ^{abc}	1,71 ^{ab}	26,75 ^e	311,98 ^{ef}
Jaraqui					
Puruzinho	Chuvosa	0,12 ^{cde}	1,89 ^{ab}	25,50 ^{de}	281,26 ^{def}
	Seca	0,22 ^{ab}	2,03 ^{ab}	24,42 ^{de}	431,17 ^g

Peixes	Estação	Parâmetros			
		Hg (mg/kg)	Lipídeo (g/100 g)	Comprimento (cm)	Peso (g)
					(Conclusão)
St ^a Rosa	Chuvosa	0,09 ^{def}	0,72 ^a	22,17 ^{bcd}	170,75 ^{abc}
	Seca	0,18 ^{abc}	2,41 ^{bcd}	25,50 ^{de}	258,69 ^{cdef}
Pacu					
Puruzinho	Chuvosa	0,05 ^{ef}	6,68 ^e	18,08 ^a	165,76 ^{abc}
	Seca	0,04 ^f	6,59 ^e	16,67 ^a	195,51 ^{abcd}
St ^a Rosa	Chuvosa	0,05 ^{ef}	11,63 ^e	22,42 ^{bcd}	357,62 ^{fg}
	Seca	0,06 ^{def}	5,86 ^{de}	20,08 ^{abc}	200,60 ^{abcd}
Sardinha					
Puruzinho	Chuvosa	0,28 ^{abc}	5,48 ^{cde}	22,08 ^{bcd}	119,10 ^a
	Seca	0,21 ^{abc}	5,51 ^{cde}	19,25 ^{ab}	117,75 ^a
St ^a Rosa	Chuvosa	0,29 ^a	11,36 ^e	20,08 ^{abc}	135,31 ^{ab}
	Seca	0,13 ^{bcd}	5,92 ^{cde}	23,08 ^{cd}	123,58 ^a

n= 96

Para o mercúrio e lipídeo, as médias seguidas, com pelo menos uma letra igual nas colunas, não diferem significativamente ao nível de 5% pelo Teste de Kruskal- Wallis.

Para o comprimento (cm) e Peso (g), as médias seguidas, com pelo menos uma letra igual nas colunas, não diferem significativamente ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

Com relação ao peso para os peixes, a variação do teor foi de 117,75 g (sardinha) a 431,17 g (jaraqui). O curimatã, jaraqui e o pacu foram os mais pesados comparados com a sardinha. O local de captura e a estação climática não afetaram o peso do curimatã e da sardinha; entretanto, o jaraqui do Puruzinho apresentou pesos maiores comparados com os de Santa Rosa em ambas as estações climáticas e o pacu de Santa Rosa foi mais pesado do que o pacu do Puruzinho na estação chuvosa.

Os teores de lipídeo dos músculos variaram de 720 mg /100 g no jaraqui a 11630 mg/100 g no pacu. Os maiores teores de lipídeos foram encontrados no pacu

e na sardinha comparados ao curimatã e jaraqui. A estação climática afetou os teores de lipídeos no jaraqui de Santa Rosa, com valores mais elevados na estação seca comparada com a estação chuvosa. Não foi encontrada na literatura, informação associada a essas características para essas espécies de peixes.

De acordo com a tabela II.3, houve uma correlação positiva significativa entre o comprimento e o peso para todas as quatro espécies; entretanto, houve uma correlação positiva significativa entre lipídeo e comprimento somente para o pacu e entre lipídeo e peso para pacu e sardinha. Segundo Soares *et al.* (2016), uma correlação significativa foi encontrada também entre o peso e comprimento para outros tipos de peixes do rio Negro, na Amazônia.

TABELA II.3 - Correlação de Pearson entre os teores de mercúrio, comprimento, peso e teores de lipídeos nos filés das espécies de peixes analisadas do rio Madeira, município de Humaitá, AM

Correlação		Espécies			
		Curimatã	Jaraqui	Pacu	Sardinha
Hg (mg/kg) x Comp. (cm)	Coeficiente	0,06	0,52	-0,03	-0,57
	p (valor)	0,7775	0,0095	0,8741	0,0038
Hg (mg/kg) x peso (g)	Coeficiente	-0,06	0,80	-0,08	-0,28
	p (valor)	0,7815	<0,0001	0,7067	0,1890
Hg (mg/kg) x lipídeo filé (g/100 g)	Coeficiente	-0,13	0,25	-0,15	0,09
	p (valor)	0,5399	0,2470	0,4847	0,6852
Comp. (cm) x peso (g)	Coeficiente	0,88	0,59	0,86	0,44
	p (valor)	<0,0001	0,0023	<0,0001	0,0311
Comp. (cm) x lípideo filé (g/100 g)	Coeficiente	0,16	0,17	0,58	-0,15
	p (valor)	0,443	0,4359	0,0030	0,4858
Peso (g) x Lipídeo filé (g/100 g)	Coeficiente	0,21	0,29	0,72	0,41
	p (valor)	0,3208	0,1744	0,0001	0,0454

n =24 para cada uma das espécies.

3.2. Distribuição do mercúrio ao longo do músculo do peixe

Como os teores médios de mercúrio nas diferentes partes do peixe (Figura II.2), não apresentaram distribuição normal e não foram homocedásticos, foi utilizado o teste não paramétrico de Friedman ($p < 0,05$) (SAMPAIO, 2015). Os resultados dessas análises estão apresentados na Tabela II.4, onde é possível verificar que os teores de mercúrio ao longo do peixe variaram em função da espécie de peixe. Para o pacu, os teores médios de mercúrio, na parte superior (região dorsal) do peixe (P1-P3) foram significativamente maiores comparados com a parte inferior (P4-P6). Não foi observada diferença significativa entre as amostras da parte dorsal dos peixes, exceto, para o curimatã, que apresentou diferença entre P1 e P3. Na parte inferior (barriga), os maiores valores foram encontrados próximos do ponto P4 comparado com o meio (P5) e próximo à cabeça (P6), exceto para sardinha que apresentou maior valor em P5. Para o jaraqui, os valores mais elevados de mercúrio estavam na área dorsal (P4), não havendo diferença significativa nos outros locais. No caso da sardinha, não foi encontrada diferença significativa entre os locais de coleta de amostra.

TABELA II.4 - Teores médios (mínimos e máximos) de mercúrio total, em mg/Kg em base úmida de tecido muscular de diferentes partes dos peixes capturados no rio Madeira

Local amostra no peixe	Teor de mercúrio (mg/kg)/Espécie			
	Pacu	Jaraqui	Curimatã	Sardinha (Continua)
P1	0,050 ^a (0,030 - 0,140)	0,103 ^a (0,080 - 0,140)	0,126 ^b (0,090- 0,180)	0,278 ^a (0,080 - 0,460)
P2	0,052 ^a (0,030 - 0,140)	0,099 ^a (0,070 - 0,130)	0,137 ^{ab} (0,090 - 0,180)	0,268 ^a (0,080 - 0,420)
P3	0,051 ^a (0,030 - 0,140)	0,099 ^a (0,070 - 0,140)	0,146 ^a (0,090 - 0,210)	0,284 ^a (0,090- 0,480)
P4	0,045 ^b (0,030 - 0,150)	0,099 ^{ab} (0,070 - 0,150)	0,136 ^{ab} (0,090 - 0,180)	0,273 ^a (0,080 - 0,450)

Local amostra no peixe	Teor de mercúrio (mg/kg)/Espécie			
	Pacu	Jaraqui	Curimatã	Sardinha (Conclusão)
P5	0,036 ^c (0,030 - 0,150)	0,094 ^b (0,060 - 0,140)	0,132 ^b (0,100 - 0,180)	0,289 ^a (0,060 - 0,640)
P6	0,039 ^c (0,020 - 0,100)	0,100 ^a (0,060 - 0,140)	0,138 ^{ab} (0,100 - 0,200)	0,250 ^a (0,090 - 0,440)

n = 12. Na mesma coluna, valores médianos com uma mesma letra, não diferem estatisticamente pelo Teste de Friedman ($p > 0,5\%$).

Baseado nesses resultados, cada espécie de peixes acumulou o mercúrio total no tecido muscular em diferentes partes; entretanto, houve a tendência para valores mais elevados na parte dorsal comparado com a parte inferior do peixe, com valores menores especialmente no meio da parte inferior. No entanto, diferentemente desses resultados, uma distribuição relativamente uniforme de mercúrio nos peixes, foi observada por Cizdziel *et al.* (2002) no músculo de seis espécies de peixes de um lago nos Estados Unidos, incluindo truta, *stripped e largemouth bass*, tilápias, *catfish e bluegill*. Estes autores pesquisaram os níveis de mercúrio total em 27 diferentes locais no músculo esquelético e não encontraram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os locais.

Entre os fatores que podem afetar os teores de mercúrio no tecido muscular, a dieta e gordura corporal desempenham papel importante. Diferenças dos teores de mercúrio ao longo do músculo do mesmo peixe poderiam ser associadas com o depósito de gordura no músculo que varia entre as espécies de peixes e também afetados pelos fatores dietéticos (SILVA *et al.*, 2016). Na verdade, a maior parte de mercúrio em peixe está disponível na forma de metilmercúrio, que é lipofílico (GUINDACE..., 2008). Logo, o peixe com grande quantidade de tecido adiposo retem mais mercúrio (SOARES *et al.*, 2016). No entanto, quando correlacionando mercúrio total com o teor de lipídeo, não foi encontrada uma correlação para estas espécies (Tabela II.3). Porém, a distribuição do mercúrio no peixe resulta de sua mobilidade, que depende da rota de absorção da guelra, pele e trato gastrointestinal para o sangue e órgãos internos para a deposição final no músculo e rins ou

eliminação através da bile (CIZDZIEL *et al.*, 2002; RÉGINE *et al.*, 2006; WATANABE *et al.*, 2012; CECCATTO *et al.*, 2016).

Uma vez que o músculo da área dorsal ao longo do peixe foi considerado a melhor para avaliar o conteúdo do mercúrio total, e que isso representa a massa do músculo do peixe, um procedimento de amostragem foi estabelecido para as análises de amostras de peixes, a homogeneização de todo o filé para análise. Este procedimento foi usado nesse estudo. Posteriormente, todo musculo dorsal foi tirado de cada peixe, homogeneizado em um misturador comercial, lavado com água deionizada e deixado pronto para o uso com objetivo de obter uma amostragem com maior representatividade para essa análise.

3.3. Teores de mercúrio total em diferentes espécies de peixe

Todas as amostras dos filés de cada espécie de peixe analisada, continha teor detectável de mercúrio total. Os teores de mercúrio total nos peixes não seguiram uma distribuição normal e não homocedástico. Sendo assim, foi usado o teste de Kruskal Wallis e os resultados foram comparados ao nível de 5% de significância (SAMPAIO, 2015). No geral, o mercúrio total nos peixes, variou de 0,01 a 0,46 mg/kg (n=96, LOQ= 0,01 µg/kg), e a variação do conteúdo de cada espécie está apresentado na Figura II.3. Os menores teores de mercúrio total foram observados para o pacu (0,01 a 0,11 mg/kg) e os maiores para a sardinha (0,07 a 0,46 mg/kg). Semelhantemente, o menor valor mediano foi observado para o pacu (0,04 mg/kg), seguido por jaraqui (0,13 mg/kg) e curimatã (0,16 mg/kg), com uma mediana mais elevada para a sardinha (0,24 mg/kg).

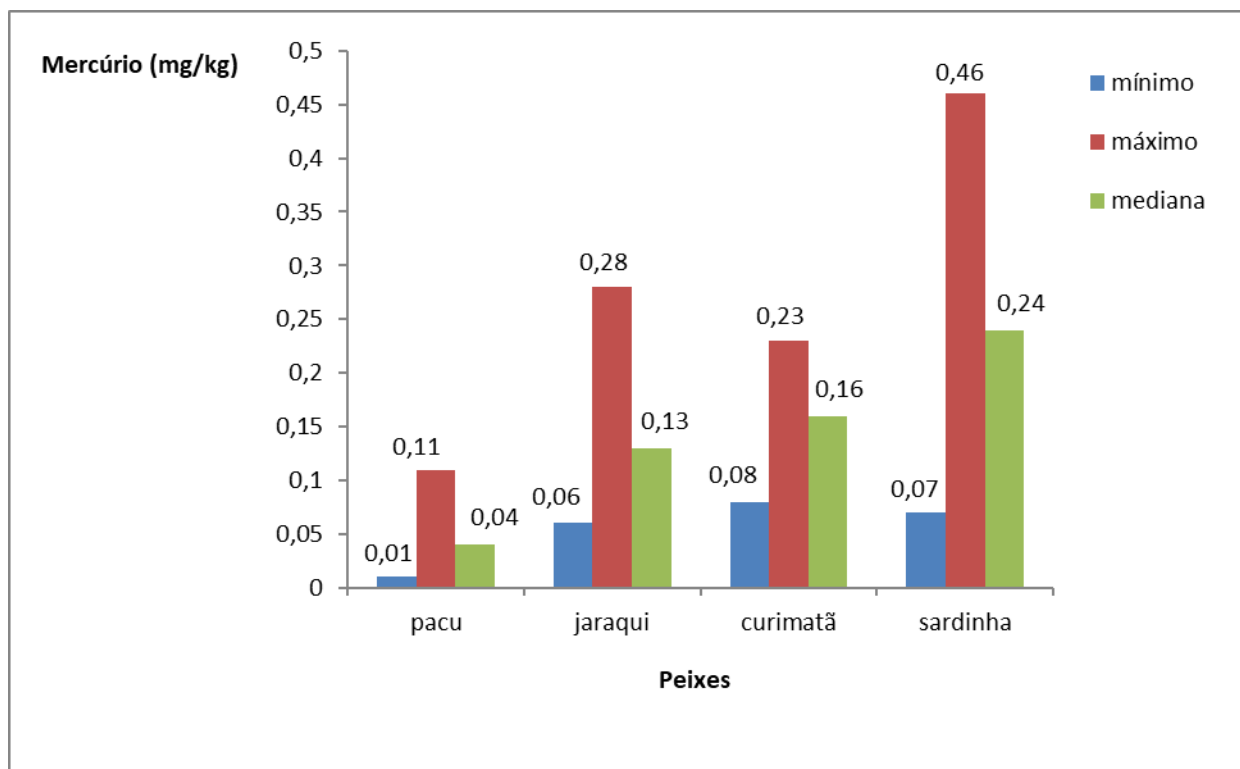


FIGURA II.4 - Valores mínimos, máximos e mediana dos teores de mercúrio total nas amostras de peixes capturados no rio Madeira próximo a Humaitá, AM.

Esses resultados estão coerentes com a biomagnificação do mercúrio. De fato, a presença de mercúrio nos peixes segue o processo de bioacumulação relacionada com o hábito alimentar dos peixes ao longo da cadeia trófica, aumentando na ordem de herbívoros, detritívoros, onívoros e carnívoros (LIMA *et al.*, 2015). Uma vez que o pacu, herbívoro, jaraqui e curimatã são detritívoros e a sardinha é onívora, os teores de mercúrio total em cada peixe são coerentes com os seus hábitos alimentares (RÉGINE *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2010; BASTOS *et al.*, 2015; AZEVEDO-SILVA *et al.*, 2016).

Esses níveis de mercúrio total são semelhantes ou menores, comparados com os valores relatados na literatura para peixes de diferentes locais da bacia do Madeira (BASTOS e LACERDA., 2004; HACON *et al.*, 2014; BASTOS *et al.*, 2015) e também para localizações próximo do Puruzinho, mas no lago (OLIVEIRA *et al.*, 2010; AZEVEDO-SILVA *et al.*, 2016). Em estudos realizados no lago do Puruzinho em 2005-2006 (OLIVEIRA *et al.*, 2010), uma média mais baixa do nível de mercúrio total foram encontrados para curimatã, valores semelhantes para o pacu e jaraqui e mais baixo na sardinha. Nessa comunidade, relativamente isolada, o consumo de

peixe diário per capita foi de 406 g/dia com refeições de peixes variando de 4 a 14 vezes por semana.

A correlação de Pearson indicou que a correlação significativa foi observada somente para o jaraqui entre o mercúrio total x peso e mercúrio x comprimento (positivo), e para a sardinha, entre mercúrio total e o comprimento-correlação negativa (Tabela II.3). De forma semelhante, uma correlação negativa foi observada entre o mercúrio total x tamanho de outros peixes onívoros (BASTOS *et al.*, 2015).

Baseado nesses resultados, os níveis de mercúrio total em peixes do rio Madeira, tem semelhança ou levemente níveis mais baixos comparados com estudos anteriores, e, sendo assim, a contaminação do rio permanece, apesar de medidas adotadas por órgãos oficiais para controlar o uso do mercúrio, especialmente próximo às comunidades ribeirinhas que dependem basicamente do peixe que fornece a principal fonte de proteína (OLIVEIRA *et al.*, 2010; BASTOS *et al.*, 2015). Esses resultados enfatizam a possibilidade de problema de saúde gerado pela continuidade ao longo tempo da exposição do mercúrio da comunidade ribeirinha.

Os teores de mercúrio total encontrados nos peixes estão abaixo do limite de 0,5 mg/kg estabelecido no Brasil (BRASIL, 2013) e também em outros países e comunidades (ENVIRONMENTAL..., 1990); entretanto, há uma necessidade de continuar monitorando os, principalmente, nas espécies mais comumente consumidas pelas comunidades ribeirinhas. Medidas são também necessárias para minimizar a contaminação, pelo melhor monitoramento através de agências que regulamentam e com programas educacionais com informações, especialmente, indivíduos vulneráveis, como as crianças, mulheres gestantes e mulheres com crianças em fase de amamentação referentes ao consumo elevado de peixes e os que contém maiores teores de mercúrio.

3.4. Teores de mercúrio nos peixes em diferentes locais de captura do peixe

Os teores de mercúrio nos peixes coletados em dois locais do rio Madeira, Igarapé Puruzinho e Santa Rosa, nas proximidades de Humaitá, AM estão apresentados na Tabela II.2. Estas são áreas típicas de locais de pesca de onde se obtém os peixes para as comunidades ribeirinhas e também para Humaitá. Puruzinho está mais próximo de Humaitá, no sentido da descida do rio; e Santa Rosa, mais à frente no mesmo sentido de descida do rio, porém, mais próximo dos pontos de garimpos de extração do ouro.

Não houve diferença estatística nos teores de mercúrio entre os dois locais de capturas dos peixes ($p > 0,05$) para o curimatã, pacu e sardinha. Entretanto, os teores de mercúrio total no jaraqui do igarapé Puruzinho e Santa Rosa foram diferentes entre as duas estações, sendo os teores maiores em ambos os locais, na estação seca. Entre os dois locais, apenas a estação seca do igarapé Puruzinho foi diferente da estação chuvosa de Santa Rosa.

Sendo assim, esses resultados sugerem que os locais de capturas dentro do rio Madeira não afetaram os teores de mercúrio total nos peixes, apesar das diferentes características dos dois locais. Resultados semelhantes foram descritos na literatura, em outros locais do rio Madeira, sugerindo que os teores de mercúrio nos peixes, não está relacionado com um local específico (BASTOS e LACERDA, 2004; BASTOS *et al.*, 2015).

3.5. Teores de mercúrio nos peixes em diferentes estações

Os teores de mercúrio nos peixes coletados nas duas estações climáticas do ano de 2015, chuvosa e seca não foram diferentes estatisticamente ($p > 0,05$) para os peixes curimatã e pacu, conforme indicado na tabela II.2. Semelhantemente, não houve diferença significativa entre as estações para o jaraqui e sardinha, embora houvesse duas situações peculiares nas quais foram observadas diferenças. Primeiramente, o jaraqui de ambos, Puruzinho e Santa Rosa tiveram os maiores

teores de mercúrio total na estação seca, comparados com a estação chuvosa; mas o jaraqui da estação seca foi maior comparado com a estação chuvosa, que pode explicar a diferença nos teores do mercúrio total. Resultados similares têm sido reportados para outros peixes detritívoros o que foi justificado pelo fato de que na estação chuvosa, o maior volume do rio causa diluição do mercúrio, diminuindo assim a sua disponibilidade. Além do mais, durante a estação chuvosa, a prática do garimpo de ouro é interrompida devido ao alto volume de água no rio (BASTOS e LACERDA, 2004).

No segundo caso, a sardinha de Santa Rosa, na estação chuvosa, teve elevado teor de mercúrio total comparado com a estação seca. Também teve maiores teores de lipídeos, o dobro para ambos, mercúrio total e lipídeos, entretanto, não houve correlação entre o teor de mercúrio e lipídeos na sardinha (Tabela II.3). Além disso, estudos sobre os hábitos alimentares da sardinha indicaram que na estação chuvosa há maior disponibilidade de alimentos (zooplâncton, algas, restos de vegetais, frutas, sementes e insetos), os quais têm baixo poder de bioacumulação de mercúrio (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

3.6. Avaliação do risco à saúde, pela exposição do metilmercúrio no consumo de peixes

A estimativa de exposição ao metilmercúrio em função do consumo de peixes, considerando os teores de mercúrio total nos peixes demonstrados no presente estudo está descrito na tabela II.5. Para caracterizar o risco da população do norte do Brasil e da população ribeirinha do rio Madeira, quanto a exposição do metilmercúrio pelo consumo de peixes, a ingestão estimada foi comparada com os parâmetros toxicológicos de ingestão segura, por exemplo PTWI 1,6 µg/kg por semana (FOOD..., 2003). Um risco potencial para saúde da população pode ser indentificada quando a exposição estimada ultrapassar o valor de referência.

É interessante observar que embora os teores de mercúrio detectados estejam compatíveis com os limites estabelecidos pela legislação, o consumo da maioria desses peixes poderia representar uma exposição ao metilmercúrio acima do limite de ingestão segura, o que colocaria em risco a população amazônica. De acordo

com os resultados, se o pacu (peixe herbívoro) for a única fonte de peixe para a população norte brasileira, o teor de metilmercúrio proporcionaria uma exposição abaixo do limite de segurança da ingestão do metilmercúrio (31,2% do PTWI) estabelecido pelo Food... (2003). Quando considerado o teor de metilmercúrio calculado nos peixes detritívoros, a exposição seria de 69% a 93,5% (jaraqui e curimatã, respectivamente) do PTWI, A mais elevada exposição ao metilmercúrio (181% do PTWI) seria obtida pelo consumo de sardinha, que é um onívoro. Esses valores da exposição de metilmercúrio são preocupantes, principalmente para grupos susceptíveis, como as crianças, mulheres grávidas e mulheres no período fértil.

Considerando as comunidades ribeirinhas do rio Madeira que têm o peixe como principal fonte de proteína, o consumo de peixe (148,2 a 180 kg por pessoa/ano) é muito elevado comparado com a população da Amazônia (OLIVEIRA *et al.*, 2010; HACON *et al.*, 2014). Com este consumo de peixe (OLIVEIRA *et al.*, 2010), a exposição ao metilmercúrio seria de 133% a 773% acima do limite de ingestão segura. Esses valores são cerca de quatro vezes mais elevados do que os estimados para a exposição do metilmercúrio da população do Norte do Brasil. Alterações na visão, audição, manifestação no comportamento neurológico e nas funções motoras, foram observadas na população da Bacia Amazônica, sintomas estes, típicos da exposição ao metilmercúrio, têm sido relatados na literatura (CARDOSO *et al.*, 2014; HOSHINO *et al.*, 2015).

TABELA II.5- Níveis do mercúrio total e metilmercúrio em peixe e estimativa de exposição para o metilmercúrio, pelo consumo de quatro espécies de peixes do rio Madeira e pela região Norte do Brasil e população ribeirinha, próximo a Humaitá, AM.

Peixes	Teor ($\mu\text{g}/\text{kg}$)/peixe		Exposição ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{pc}/\text{semana}$)	PWTI %
	Hg	MeHg		
Região Norte ^a				
Pacu	50	45	0,499	31,2
Jaraqui	110	99	1,097	68,6
Curimatã	150	135	1,496	93,5
Sardinha	290	261	2,893	180,8
Média	150	135	1,496	93,5
Ribeirinho ^b				
Pacu	50	45	2,132	133,3
Jaraqui	110	99	4,689	292,9
Curimatã	150	135	6,395	399,7
Sardinha	290	261	12,363	772,7
Média	150	135	6,395	399,7

MeHg: Metilmercúrio; pc: peso corporal (60 kg); PTWI: Ingestão semanal tolerável provisória.

^a Consumo semanal de peixe na região Norte do Brasi : 0,665 kg (Pesquisa..., 2011).

^b Consumo semanal de peixe pela população ribeirinha do rio Madeira: 2,842 kg (Oliveira *et al.*, 2010).

Em função da contaminação do metilmercúrio em peixes e devido à importância do peixe para a dieta dos ribeirinhos do rio Madeira, seria importante uma seleção da dieta, direcionando-a ao consumo de peixes herbívoros por esses terem apresentados concentrações mais baixas de mercúrio. Dentre os peixes incluídos neste estudo o pacu é a espécie que poderia ser utilizada sem restrições; curimatã e jaraqui deveriam ter consumo moderado; e a sardinha deve ser evitada principalmente para mulheres em idades férteis.

A concentração do metilmercúrio calculada no peixe e a ingestão estimada para a região amazônica confirma que o mercúrio ainda é um sério problema que ameaça a saúde da população na região e, nesse sentido, é necessário que haja um

programa contínuo de monitoramento para minimizar os problemas relacionados com esse metal pesado.

4. CONCLUSÃO

Correlações significativas foram encontradas entre o peso e o comprimento para todos os peixes; lipídeo e comprimento para o pacu e lipídeo e peso para o pacu e sardinha.

O teor total de mercúrio variou ao longo do músculo do peixe, exceto para a sardinha. Portanto, a amostragem foi realizada com o tecido muscular da parte dorsal ao longo do peixe, seguida de homogeneização das amostras.

Os teores de mercúrio total variaram amplamente (0,01 a 0,46 mg/kg) nos peixes. A mediana mais elevada foi encontrada na sardinha (0,24 mg/kg), seguido pelo curimatã (0,16 mg/kg), jaraqui (0,13 mg/kg) e pacu (0,04 mg/kg), correspondente com o respectivo hábito alimentar ao longo da cadeia trófica.

O teor de mercúrio total não foi afetado pelos locais de captura dos peixes e pelas estações climáticas, chuvosa e seca. Houve uma correlação positiva significativa entre o teor do mercúrio total e o comprimento para o jaraqui, ao passo que houve uma correlação negativa para a sardinha. Houve correlação significativa do mercúrio total com o comprimento e o peso para jaraqui e com o comprimento para a sardinha (correlação negativa).

Os teores do mercúrio nos peixes foram compatíveis com a legislação; entretanto, em função do consumo elevado, a estimativa de ingestão segura excedeu o PTWI de 1,6 ug/kg por semana (FOOD..., 2003), o que representa um potencial risco para a saúde da população.

CAPÍTULO III

AMINAS BIOATIVAS E AMINOACIDOS EM PESCADOS DO RIO MADEIRA, COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE HUMAITÁ, AM

1. INTRODUÇÃO

Na Amazônia, há o costume de se adquirir o peixe em feiras e mercados por se entender que estes estão com suas características naturais preservadas, ou seja, um produto fresco (JUNIOR, 2010). Várias espécies de peixes estão disponíveis ao longo da bacia do rio madeira. oito espécies são as mais amplamente consumidas. Entre eles, pacu (23%), jaraqui (12%), sardinha (10%) e curimatã (7%) compõem quase 60% do total (BASTOS e LACERDA, 2004; LIMA *et al.* 2016).

Uma parte da quantidade do peixe capturado é consumido pelas comunidades ribeirinhas e a outra parte é levada para cidades próximas e comercializada em feiras e mercados, montados de forma improvisada, em locais próximos à margem dos rios ou em locais sem qualquer estrutura higiênico-sanitária para a venda de produtos perecíveis, embora seja conhecido que o peixe é muito suscetível à deterioração (PRESTER, 2011; VISCIANO *et al.*, 2012; BIJI *et al.*, 2016; EVANGELISTA *et al.*, 2016).

Um dos centros de maior comercialização de pescado do município de Humaitá, AM, foi constatado que o pescado fica exposto à contaminação, o que pode colocar em risco a saúde do consumidor (Figura 5).

Condições inadequadas de manutenção do peixe, incluindo, elevadas temperaturas de armazenamento e condições higiênico-sanitárias impróprias, podem induzir à formação e acúmulo de algumas aminos. As aminos biogênicas são consideradas relevantes parâmetros na avaliação da qualidade de diferentes peixes. Neste sentido, diversos países utilizam a histamina e outras aminos biogênicas como um indicador da qualidade do peixe.

O Fish... (2011) estipulou teores de histamina de 50 mg/kg como um ponto crítico para aceitação do peixe para a indústria alimentícia e diversos outros países, como países da União Europeia (UE) e o Brasil estipularam 100 mg/kg como um

limite para peixes no mercado, inclusive produtos processados (BILGIN e GENÇCELEP, 2015). Ainda, existem relatos de vários surtos de intoxicação por histamina, tiramina e outras amins biogênicas associadas ao peixe (EVANGELISTA *et al.*, 2016). Desta forma, a ocorrência e os teores de amins em peixes podem ser usados como um índice de qualidade dos peixes, refletindo as condições prevalentes durante sua cadeia e o potencial toxico com prejuízo a saúde humana (ARAÚJO, 2013).

Nesse contexto, devido à escassez de estudos relacionados com a qualidade de pescados no rio Madeira, próximo ao município de Humaitá, AM, e à importância econômica que a pesca extrativista representa para a região, o objetivo deste estudo foi investigar o perfil e os níveis de amins bioativas e seus aminoácidos precursores em peixes dos mais consumidos no rio Madeira, próximo ao município de Humaita, AM e investigar a influência de espécies de peixes, em relação ao nível das amins biogênicas, local de captura e às estações climáticas, chuvosa e seca.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

2.1.1. Amostras

Foram analisadas 96 amostras das quatro espécies de peixes mais comercializadas em Humaitá, AM: curimatã (*Prochilodus nigricans*), jaraqui (*Semaprochilodu sinsignis*), pacu manteiga (*Mylossoma duriventre*) e sardinha (*Triportheus angulatus*). Na estação cheia, no mês de maio de 2015, foram adquiridas, 24 amostras, 6 peixes de cada espécie, provenientes do igarapé Puruzinho (Latitude 07°23'14.9" S; Longitude 62°00'04.8" W) 24 amostras (6 peixes de cada espécie) provenientes do local Santa Rosa (Latitude 07°21'50.2" S; Longitude 62°59'08.5" W (Figura I.1). O mesmo procedimento foi efetuado na estação seca, no mês de outubro de 2015. A pesca foi efetuada no período noturno

e, no dia seguinte, as amostras foram transportadas em pequenas embarcações, canoas motorizadas, denominadas de “rabetas”, em caixas de isopor com gelos, por cada pescador, até o ponto de comercialização, em Humaita. Em seguida, foram transferidas cuidadosamente, para outras caixas de isopor com gelo e, imediatamente, levadas para o Laboratório de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) em Humaitá, para o preparo. Os peixes foram classificados taxonomicamente (SANTOS *et al.*, 2006; SOUZA e INHAMUS, 2011), pesados e medido o comprimento. Em seguida foram lavados, filetados, triturados e armazenados em embalagens apropriadas, congeladas e transportadas para o Laboratório de Bioquímica de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). As amostras foram mantidas em ultrafreezer (-80 °C) até o momento da análise.

2.1.2. Reagentes para as análises de aminas bioativas e aminoácidos livres

Foram utilizados os padrões das aminas, agmatina (AGM, sal sulfato), cadaverina (CAD, dicloridrato), espermidina (EPD, tricloridrato), 2-feniletilamina (FEM, cloridrato), histamina (HIM, dicloridrato), putrescina (PUT, dicloridrato), serotonina (SRT, cloridrato), tiramina (TIM, cloridrato) e triptamina (TRM, cloridrato) e *o*-ftalaldeído (OPA) adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). Os padrões dos aminoácidos foram preparados como alanina (98%), cloridrato de arginina (98%), ácido aspártico (98%). Ácido glutâmico (98%), cistina cristalina (98%), fenilalanina (98%), glicina (99%), cloridrato de histidina monohidratada (98%), isoleucina (98%), leucina (98%), metionina (98%), L-norvalina (99%, como padrão interno), prolina (99%), serina (99%), tirosina (98%), treonina (98%), valina (98%), cloridrato de beta-feniletilamina (98%) adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). Acetonitrila e metanol de grau cromatográfico (HPLC) adquiridos da Hexis Científica (Jundiaí, SP, Brasil). Para o preparo das soluções foi utilizada água ultrapura obtida do Sistema Milli-Q Plus (Millipore Corp., Milford, MA, EUA). Os solventes aquosos foram filtrados em membrana HAWP e os solventes orgânicos em membrana HVLP, com 47 mm de diâmetro e 0,45 µm de tamanho do poro (Millipore Corp., Milford, MA, EUA).

2.1.3. Soluções para as análises das aminas bioativas e aminoácidos livres

As soluções foram acondicionadas em frasco de vidro âmbar e os padrões de aminas em tubos hermeticamente fechados. Todos foram identificados e armazenados sob refrigeração (7 ± 3 °C) para a realização das análises, exceto a solução tampão acetato de sódio octanossulfonato de sódio e hidróxido de sódio 0,55 mol/L que foram mantidas à temperatura de 22 °C.

4.1.1.1-2.1.3.1. Solução padrão das aminas

Para o preparo da solução padrão de cada amina considerou-se a massa da base livre (sem a utilização da massa de cloreto ou sulfato) para resultar em uma concentração de 1 g/mL em ácido clorídrico 0,1 mol/L. A partir de alíquotas de 1 mL de cada uma das soluções individuais, obteve-se 10 mL de solução padrão contendo dez aminas na concentração de 100 µg/mL. As soluções de trabalho foram preparadas nas concentrações de 1; 10; 20; 30; 40; 50; e 60 µg/mL. Estas soluções foram utilizadas para o preparo da curva de calibração que foi usada para quantificar as aminas

4.1.1.2-2.1.3.2. Solução tampão acetato de sódio: octossulfonato de sódio- fase móvel para a cromatografia

Como uma das fases móveis, empregou-se a solução tampão de acetato de sódio 0,2 mol/L e octanossulfonato de sódio 15 mmol/L, com ajuste de pH para 4,9 em potenciômetro digital (Digimed, SP, Brasil) utilizando ácido acético glacial. Esta solução foi filtrada em membrana HAWP, em éster de celulose, com 47 mm de diâmetro e 0,45 µm de tamanho do poro (Millipore Corp., Milford, MA, EUA) e desgaseificada em aparelho ultra-som (UltraSonic Cleaner, Unique, SP, Brasil). A outra fase móvel era constituída de acetonitrila filtrada em membrana HVWP, em

éster de celulose, com 47 mm de diâmetro e 0,45 µm de tamanho do poro (Millipore Corp., Milford, MA, EUA).

2.1.3.3. Solução derivante

A solução derivante foi preparada dissolvendo-se 25 g de ácido bórico e 22 g de hidróxido de potássio em 500 mL de água ultrapura, cujo pH foi ajustado para 10,5 com hidróxido de potássio 0,01 mol/L. A esta solução foram adicionados 0,2 g de o-ftalaldeído (OPA) dissolvidos em 3 mL de metanol previamente filtrado, 1,5 mL de Brij 35 e 1,5 mL de mercaptoetanol. A solução derivante foi preparada imediatamente antes do uso, foi desgaseificada, durante 5 minutos, em aparelho ultrassom (UltraSonic Cleaner, Unique, SP, Brasil) e mantida sob abrigo da luz. A validade dessa solução é de 24 horas.

2.2. Métodos

2.2.1. Fatores que afetam os níveis de aminos bioativas no peixe

As quatro espécies dos peixes foram coletadas em dois locais diferentes: Igarapé Puruzinho e em Santa Rosa, ambos no rio Madeira, próximo à cidade de Humaitá, AM (Figura I.1). As amostras foram coletadas no período chuvoso (maio de 2015) e no período de seca (outubro de 2015). Foi utilizado um delineamento fatorial inteiramente casualizado (2x2x4, dois locais, duas estações e quatro espécies) com seis repetições. Foram analisadas as aminos bioativas, aminoácidos livres e determinada a correlação de Pearson entre os teores das aminos bioativas e tamanho, peso e teor de lipídeos.

2.2.2. Teores de aminoácidos livres nas amostras dos peixes

Foram quantificados os aminoácidos livres e aminas bioativas nas quatro espécies dos peixes do igarapé Puruzinho, no período da estação chuvosa (maio 2015). Dos seis peixes (repetição) de cada espécie, foram feitos três pools (dois peixes de cada espécie) para essas análises. Foi feita uma correlação de Pearson entre aminoácidos e aminas bioativas detectadas.

2.2.3. Métodos de análises

2.2.3.1. Determinação dos aminoácidos livres

Para análise de aminoácidos livres, a extração foi realizada com solução de ácido tricloroacético 5% (m/v), de acordo com o método modificado de Bandeira *et al.* (2012), alterando-se a massa das amostras pesadas para 2,0 g e o volume final para 10 mL.

Os aminoácidos livres foram analisados segundo a metodologia descrita por Fiechter *et al.* (2013). Após extração dos aminoácidos livres, a solução foi neutralizada com NaOH 0,55 mol/L. Em seguida foram derivados (derivação pré-coluna) por reação com 6-aminoquinolilcarbamato de N-hidroxisuccinimidil (AQC), utilizando o Kit Waters AccQFluor®. Pipetou-se 500 µL do extrato, neutralizou-se com 230 µL de NaOH 0,55 mol/L, 2 µL de L-Norvalina a 50 µmol/mL e 68 µL de água purificada. Após, retirou-se 5 µL e adicionou-se 35 µL de tampão borato AccQ.Fluor® e 10 µL do reagente AQC. Depois de 1 minuto de repouso, a mistura foi aquecida a 55 °C, por 10 minutos em banho-maria para completar a reação de derivação. As amostras derivadas foram filtradas em membrana de 0,20 µm de tamanho do poro (Whatman®, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e analisadas por cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC).

A análise cromatográfica dos aminoácidos derivados foi realizada em cromatógrafo líquido de ultra eficiência, modelo Waters Acquity®, Ultra Performance LC (UPLC®) (Waters, Milford, MA, EUA) equipado com um detector Acquity tunable ultravioleta (TUV) (Waters, Milfor MA, EUA). Utilizou-se coluna de fase reversa Acquity UPLC® CSH, C18 (2,1 x 50 mm, 1,7 µm) Waters, para separação dos analitos. Foram empregadas duas fases móveis, na separação, (A) tampão acetato de sódio 0,01 mol/L em água ultrapura com pH ajustado para 4,8 com ácido acético, (B) acetonitrila, ambas fases filtradas a vácuo em membrana de poro tamanho de 0,22 µm (GV Durapore Merck®) e sonicados por 30 minutos para remoção de bolhas de ar. O volume de injeção de amostra na coluna foi de 2 µL, o fluxo foi de 0,9 mL/min e o comprimento de onda de detecção UV foi de 249 nm a uma taxa de amostragem de 40 pontos/seg. O software Empower 2 foi utilizado para controle do UPLC e armazenamento dos dados para a identificação e quantificação dos aminoácidos.

A identificação dos aminoácidos foi feita por comparação do tempo de retenção dos picos das analitos na amostra em relação aos da solução padrão e também pela adição do padrão interno (norvalina) na solução obtida da extração. O cálculo da concentração dos aminoácidos foi feito por interpolação nas respectivas curvas analíticas.

2.2.3.2. Determinação das aminos bioativas livres

A determinação das aminos bioativas foi feita de acordo com o método descrito por Oliveira *et al.* (2012) e Evangelista *et al.* (2016). A extração das aminos foi feita pesando-se $5,00 \pm 0,01$ g do filé de peixe homogeneizado em tubo de centrífuga de polipropileno, adicionando 7,0 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5% p/v em cada tubo e agitando a 250 rpm em mesa agitadora por 5 minutos. Em seguida, cada amostra foi centrifugada a 10.000 g a 4 °C durante 20 min. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro qualitativo Whatman nº 1 em balão volumétrico de 25 mL. O resíduo foi extraído por mais duas vezes, seguindo as mesmas condições anteriores e o balão volumétrico foi completado com a solução de TCA 5% p/v, homogeneizado e transferido para frasco de polietileno devidamente identificado e

filtrado em membrana de HAWP (13 mm de diâmetro, 0,45 µm de porosidade, Milipore Corp., Milford, MA, EUA) imediatamente antes da injeção no cromatógrafo.

Para a análise cromatográfica das aminas foi utilizado o cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) da Shimadzu (Kioto, Japão), constituído por três bombas LC-20 AD, sistema de derivação pós-coluna, conjunto de lavagem automática de pistão, detector espectrofluorimétrico modelo RF-10 AXL, forno de coluna, modelo CTO – 10 ASVP, auto-injetor modelo SIL 20 AHT, com rack para 115 vials de 1,5 mL, unidade de controle das interfaces CBM-20A. Foram utilizadas colunas Novapack C18 (3,9 x 300 mm, 4 µm) e pré-coluna Novapack C18 (3,9 x 20 mm, 4 µm) da Waters (Milford, MA, EUA). As fases móveis usadas foram: fase A (solução tampão de acetato de sódio/ octossulfonato de sódio) e fase B (acetoneitrila). Após a separação, as aminas foram derivadas com *o*-ftalaldeído (OPA), usando-se solução derivante (hidróxido de potássio/ácido bórico/OPA). A detecção das aminas foi feita a 340 nm e 450 nm de excitação e emissão, respectivamente.

A identificação das aminas foi realizada por comparação do tempo de retenção dos picos das aminas presentes nas amostras em relação ao da solução padrão e a confirmação pela adição de padrão da amina suspeita à amostra. A solução padrão de concentração intermediária (4 mg/L) foi injetada de maneira intercalada às amostras e o cálculo da concentração das aminas foi feito mediante interpolação em curva analítica preparada pela dissolução da solução padrão de aminas (100 mg/L) com ácido clorídrico 0,1 M nas concentrações de 0,1; 0,2; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0 mg/L; e corrigido pelo fator de correção baseado na concentração encontrada para o padrão intermediário. O coeficiente de correlação da curva padrão calculado foi $\geq 0,9989$ e o limite de quantificação do método (LOQ) é 0,1 mg/kg. Os resultados foram expressos em mg/kg do músculo do peixe.

2.2.3.3. Análises estatísticas

A fim de se observar a influência dos locais de coletas e das estações, chuvosa e seca, nos teores de aminas bioativas e dos aminoácidos livres, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado estudando o fatorial 2x2x4 (2 locais, 2 estações climáticas e 4 espécies) com 6 repetições. Foram testadas as premissas

de normalidade e homocedasticidade dos dados. Para os dados não paramétricos foi utilizado o teste de Kruskal Wallis (SAMPAIO, 2015). As análises foram rodadas utilizando o Software Infostat. Também foi feito ANOVA, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, para as amins e aminoácidos, usando o software SISVAR. Todas as análises foram realizadas ao nível de 5% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Aminoácidos livres no peixe

O perfil e os teores de aminoácidos livres nos músculos esqueléticos dos peixes capturados no Igarapé Puruzinho durante o período da estação chuvosa, estão indicados na tabela III.1. Entre os 19 aminoácidos pesquisados, 16 foram detectados (limite de quantificação $\geq 0,1$ mg/kg) nos peixes. Somente o ácido aspártico, glutamina, triptofano e leucina não foram detectados em nenhum peixe.

A sardinha teve o teor mais elevado de aminoácidos livres, comparado ao curimatã e jaraqui, enquanto o pacu apresentou teores intermediários. Entretanto, quando considerado somente aminoácidos livres essenciais, não houve diferença significativa entre os quatro diferentes peixes.

TABELA III.1 - Teores de aminoácidos livres no tecido muscular de quatro espécies de peixes capturados no rio Madeira em Humaitá, em dois locais, Igarapé Puruzinho e Santa Rosa, na estação chuvosa do ano de 2015

Amino ácidos	Media dos teores de aminoácidos livres (mg/kg)			
	<i>Pacu</i>	<i>Curimatã</i>	<i>Jaraqui</i>	<i>Sardinha</i>
Alanina	3,98±0,70 ^a	6,47±2,73 ^a	4,20±2,13 ^a	4,74±0,83 ^a
Arginina	82,34±4,08 ^a	61,10±11,90 ^a	84,71±13,86 ^a	63,12±8,98 ^a
Asparagina	8,16±0,62 ^a	11,31±3,16 ^a	11,63±0,64 ^a	12,50±3,25 ^a
Cystina	56,56±2,92 ^a	54,04±1,62 ^a	54,39±2,53 ^a	53,58±2,08 ^a
Glicina	29,43±6,18 ^b	45,02±3,58 ^b	34,11±7,04 ^b	312,58±37,11 ^a
Ác. glutâmico	47,21±13,05 ^b	100,13±28,77 ^a	65,18±9,06 ^{ab}	68,59±13,82 ^{ab}
Histidina	1092,2±323,73 ^b	1176,6±317,25 ^{ab}	941,49±66,31 ^b	1802,8±205,63 ^a
Isoleucina	11,12±2,53 ^a	16,05±5,91 ^a	19,63 ± 2,61 ^a	19,04±1,28 ^a
Lisina	431,89±164,36 ^a	30,43±26,62 ^b	158,37±21,68 ^b	71,16±15,21 ^b
Methionina	28,99±1,05 ^b	30,62±2,76 ^{ab}	33,13±0,93 ^{ab}	34,61±2,45 ^a

Phenilalanina	32,57±1,24 ^a	39,03±5,21 ^a	38,51±1,91 ^a	39,84±1,24 ^a
Prolina	22,64±7,07 ^a	21,87±3,57 ^a	20,08±2,09 ^a	25,65±1,70 ^a
Serina	10,68±5,90 ^a	14,81±7,66 ^a	5,32±0,42 ^a	10,81±2,30 ^a
Treonina	34,73±6,08 ^a	41,47±12,06 ^a	53,10±11,31 ^a	43,54±7,11 ^a
Tirosina	64,00±2,65 ^a	69,55±10,37 ^a	65,72±4,12 ^a	67,15±2,55 ^a
Valina	11,86±3,59 ^b	19,68±8,63 ^{ab}	23,97±4,58 ^{ab}	27,57±1,87 ^a
Essenciais	1352,9± 123,19 ^a	1725,7±344,70 ^a	1415,0±376,48 ^a	2101,7±233,96 ^a
Total	1968,4±376,37 ^{ab}	1738,1±429,72 ^b	1613,5±144,87 ^b	2657,2±276,76 ^a

Valores médios (\pm desvios padrão) com letras diferentes na mesma linha são diferentes significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0.05$).

A histidina foi o aminoácido que teve a maior contribuição ao teor total, correspondendo a 55,5% no pacu, e 67,8% na sardinha e curimatã. Houve diferença significativa nas concentrações de alguns aminoácidos nas diferentes espécies: histidina, lisina, methionina, valina, ácido glutâmico e glicina. Pacu continha teores significativamente maiores de lisina, comparado a outros peixes. O curimatã continha maior teor de ácido glutâmico, comparado com o pacu. A sardinha continha maior teor de glicina e histidina comparado com os outros, e maior teor de methionina e valina comparado com o pacu. Baseado nesses resultados há diferença significativa entre os peixes em relação aos teores dos aminoácidos livres.

Os fatores que podem ter afetado os teores de aminoácidos livres no tecido muscular dos peixes seriam as espécies de peixes, os hábitos alimentares, a captura e também o período de jejum. Na ausência da glicose, pode ter ocorrido a mobilização de aminoácidos livres para a produção de energia, no processo de metabolismo dos aminoácidos, para a obtenção de glicose, a gluconeogênese (MELO *et al.*, 2016).

Correlação de Pearson entre os teores de aminoácidos e aminas indicou que não houve uma correlação significativa para o jaraqui. Houve correlação significativa para o curimatã, entre a putrescina e arginina (1,00; $p=0,0014$), serina (1,00; $p=0,0297$), glicina (1,00; $p=0,0305$) e lisina (1,00; $p=0,0014$); e entre espermidina e cistina (-1,00; $p=0,0153$). No pacu, houve uma correlação significativa

entre putrescina e lisina (1,00; $p=0,0032$); e também entre cadaverina e prolina (1,00; $p=0,0482$). A sardinha mostrou correlação significativa entre espermidina e asparagina (1,00; $p=0,0052$); entre putrescina e ácido glutâmico (1,00; $p=0,0032$), cistina (1,00; $p=0,0182$), e tirosina (1,00; $p=0,0186$); e também entre cadaverina e ácido glutâmico (1,00; $p=0,0032$), cistina (1,00; $p=0,0182$) e tirosina (1,00; $p=0,0186$).

Os teores médios de histidina encontrados nos peixes (941,49–1802,8 mg/kg) estão dentro daqueles encontrados por Biji *et al.* (2016) para vários peixes scombroides (620-23610 mg/kg), que são considerados ricos em histidina livre e são usualmente associados a surtos de intoxicação por histamina (AL BULUSHI *et al.*, 2009). É interessante observar que mesmo que haja histidina livre abundante nesses peixes, histamina não foi detectada em nenhum deles. Entretanto, a histamina pode ser produzida se as condições higiênico-sanitárias e a temperatura de armazenamento não forem adequadas, permitindo, dessa forma, a contaminação e o crescimento de bactéria histidina descarboxilase (GLÓRIA, 2006; VISCIANO *et al.*, 2012; BIJI *et al.*, 2016). Portanto, deve-se tomar os devidos cuidados no controle desses parâmetros, para evitar a produção e o acúmulo de histamina.

Os teores médios de lisina livre variaram de 30,43 a 431,89 mg/kg, em curimatã e no pacu, respectivamente. Esses teores são semelhantes em peixes marinhos (60 - 1080 mg/kg) relatados por Al Bulushi *et al.* (2009). Embora não houvesse diferença significativa entre os teores de tirosina nos peixes, teores mais elevados de tiramina foram encontrados no pacu, curimatã e jaraqui, mas não encontrado na sardinha. Novos estudos são necessários, sob condições controladas, para uma melhor avaliação do impacto dos aminoácidos livres nos peixes.

3.2. Ocorrência de aminos nos peixes

Dentre as nove aminos pesquisadas, cinco aminos (55,5%): espermidina (EPD), agmatina (AGM), putrescina (PUT), cadaverina (CAD), e tiramina (TIM) foram detectadas nas 96 amostras de peixes analisadas. Esta é a primeira vez que essas espécies de peixes são analisadas para as aminos. De fato, há poucas informações

sobre aminas em peixes de água doce, principalmente, peixes da bacia do rio Amazonas, no Brasil.

Outras quatro aminas (triptamina, feniletilamina, serotonina e histamina) foram pesquisadas, porém, não foram detectadas em peixes do rio Madeira. Já a histamina tem sido detectada em peixes marinho (AL BULUSHI *et al.*, 2009; PRESTER, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2012; VISCIANO *et al.*, 2012; EVANGELISTA *et al.*, 2016). Além disto, bactérias associadas à produção de histamina estão normalmente presentes em ambientes de águas salgadas (VISCIANO *et al.*, 2012). A histamina, feniletilamina e triptamina foram detectadas em cinco peixes de água doce da China (ZHAI *et al.*, 2012).

A ocorrência destas aminas já foi relatada na literatura para outros tipos de peixe de água salgada (AL BULUSHI *et al.*, 2009; PARK *et al.*, 2010; PRESTER, 2010; VISCIANO *et al.*, 2012; KORAL *et al.*, 2013; EVANGELISTA *et al.*, 2016). Porém, são poucos os dados sobre aminas em peixes de água doce (PRESTER, 2011; ZHAI *et al.*, 2012). Carpa tem baixos níveis de putrescina, cadaverina e tiramina, ao passo que a truta arco-iris tem histamina, putrescina, cadaverina (PRESTER, 2011). Alguns peixes de água doce da China como *orbfish*, carpa, pompano, dourado, perch chinês e *wuchang bream*, contêm baixos níveis de putrescina, cadaverina, espermidina, espermina, histamina e tiramina (ZHAI *et al.*, 2012).

A presença de algumas das aminas detectadas nos peixes desse trabalho era esperada, como a espermidina e espermina. Estas duas aminas, chamadas poliaminas, estão presentes em todas as células vivas, onde desempenham papel importante na renovação celular; síntese de DNA, RNA e proteína; e outras funções relevantes. A presença de pequenas quantidades de putrescina também é esperada, pois é um intermediário na síntese de poliaminas (GLORIA, 2006; AL BULUSHI *et al.*, 2009; VISCIANO *et al.*, 2012; BIJI *et al.*, 2016).

A presença de aminas biogênicas, como a cadaverina em peixe, pode ser associada com o processo de deteriorização do peixe ou pela contaminação microbiana, devido à condições higiênicas e sanitárias inadequadas após a captura e durante o processamento, armazenamento e comercialização do peixe (GLÓRIA, 2006; PRESTER, 2011). A presença de grande quantidade de cadaverina no peixe pode acarretar um aroma indesejável, ocasionando a rejeição do produto pelo

consumidor (GLÓRIA, 2006). Além disto, teores elevados de cadaverina e putrescina podem potencializar um efeito tóxico de histamina (AL BULUSHI *et al.*, 2009; PANEL..., 2011; PARK *et al.*, 2010; KORAL *et al.*, 2013). A tiramina é obtida pela descarboxilação da tirosina (GLÓRIA, 2006; PRESTER, 2011) e tem sido encontrada em anchova e em vários outros peixes marinhos. Esta amina biogênica tem sido sugerida como índice de qualidade e segurança, porque é o segundo tipo de amina biogênica envolvida em intoxicação alimentar (GLÓRIA, 2006; PARK *et al.*, 2010; PRESTER, 2011; BIJI *et al.*, 2016). A agmatina tem sido encontrada em vários peixes marinhos em níveis até 30,6 mg/kg, incluindo cutlass fish, anchova, cuttl efish, redlip croaker (PARK *et al.*, 2010), mas não foi detectado em peixes de água doce.

Considerando-se as espécies de peixes do presente estudo (Tabela III.2), pode se observar que essas espécies analisadas foram afetadas por essas cinco aminas . Espermidina, putrescina e cadaverina foram detectadas em todas as espécies; agmatina somente no pacu e a tiramina foi detectada no curimatã, jaraqui e pacu, mas não foi encontrada na sardinha.

O pacu foi o peixe com maior diversidade de aminas, incluindo a putrescina, espermidina, tiramina, cadaverina e agmatina. No curimatã e no jaraqui, quatro aminas foram detectadas, putrescina, cadaverina, espermidina e tiramina. A sardinha apresentou um menor tipo de aminas, somente espermidina, putrescina e cadaverina. Esses resultados demonstraram a influência dessas espécies de peixes na ocorrência de aminas bioativas, que também foram encontradas na literatura (GLÓRIA, 2006; AL BULUSHI *et al.*, 2009; PRESTER, 2011). Possivelmente, devido às condições higiênicas-sanitárias inadequadas nos locais de pesca e no transporte, dificultados pela cheia do rio Madeira.

TABELA III.2 - Teores médios, medianas e máximos de aminas bioativas encontradas nas espécies dos peixes curimatã, jaraqui, pacu e sardinha capturados no rio Madeira no município de Humaita, AM

Espécie / Valor	Teores médios, medianas e maximo de amina em mg/kg					
	EPD	AGM	PUT	CAD	TIM	Total
Curimata						
Média	1,16	0,00	0,81	0,10	3,77	5,83
Mediana	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,32
Maximo	5,61	0,00	5,09	2,36	31,57	36,66
Jaraqui						
Média	0,74	0,00	1,45	0,58	2,40	5,16
Mediana	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,59
Maximo	4,53	0,00	15,47	7,72	18,62	21,04
Pacu						
Média	0,66	0,05	0,51	0,57	0,70	2,50
Mediana	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,78
Maximo	3,18	1,25	2,65	12,83	12,29	16,69
Sardinha						
Média	0,66	0,00	0,02	0,12	0,00	0,80
Mediana	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Maximo	3,64	0,00	0,50	2,90	0,00	5,90

n = 24 amostras por espécie. -

Para teores de aminas não detectados, zero foi utilizado para calculo das médias e medianas.

SPD= Espermidina, AGM= agmatina, PUT= putrescina, CAD= cadaverina e TYM= tiramina.

3.3. Teores de aminos bioativas nos peixes

Os teores de aminos detectados em cada uma das espécies investigadas estão apresentados na tabela III.2. Observa-se que os teores totais das aminos encontradas foram mais elevados para o curimatã e jaraqui comparado ao pacu, que, por sua vez, foi maior que os teores totais em sardinha.

Ao investigar a influência de cada amina ao teor total, considerando os teores médios (Figura III.1) observa-se para cada tipo de peixe um perfil de distribuição diferenciado para as espécies de peixe. A sardinha se destacou por ter a mais elevada contribuição de espermidina (82,5%) ao teor total, seguida da cadaverina e putrescina.

Para o pacu, houve uma contribuição semelhante de todas as quatro aminos, espermidina, putrescina, agmatina e tiramina, para o teor total, variando de 20,4 a 28,1%. No curimatã e jaraqui, a tiramina foi a que mais contribuiu ao total, com 64,6 e 46,4% respectivamente. Essa alta prevalência de tiramina pode ser relevante como índice de qualidade e segurança desses peixes. No curimatã, a espermidina foi a segunda amina prevalente (19,9%), seguido da putrescina (13,8%) e da cadaverina (1,7%). Em relação ao jaraqui, a putrescina foi a segunda amina prevalente (28,1%), seguido da espermidina (14,4%) e da cadaverina (11,2%).

Quando comparado a quantidade de cada amina entre as espécies (Tabela III.1), o maior teor de espermidina foi encontrado no curimatã. A agmatina foi detectada somente em um pacu e foi o menor teor de todas as aminos detectadas. Teores elevados de putrescina foram encontrados no jaraqui e curimatã. Teor elevado de cadaverina foi encontrado no jaraqui e no pacu. Altos teores de tiramina foram encontrados no curimatã e jaraqui. Quantidades semelhantes de aminos foram observadas para o curimatã e jaraqui, entretanto, pacu e sardinha, apresentaram teores de aminos diferentes. Baseado nesses resultados, as espécies de peixes foram afetadas por estas aminos, provavelmente, devido às condições higiênico-sanitárias inadequadas.

Quando se observa os hábitos alimentares dos peixes (SANTOS *et al.*, 2006), curimatã e jaraqui são detritívoros, pois alimentam-se de algas, microorganismos e

matéria orgânica em decomposição. Este pode ser o motivo da acumulação de tiramina no tecido muscular, devido a presença dessa amina na matéria orgânica ou a descarboxilação da tirosina pela ação bacteriana (GLÓRIA, 2006). O pacu é um peixe herbívoro com tendência onívora. Alimenta-se basicamente de frutas, sementes e larvas de insetos aquáticos. A sardinha é onívora e alimenta-se, principalmente, de frutas, insetos e outros invertebrados.

Portanto, é provável que o hábito alimentar também possa afetar os teores de aminas, e a contribuição de cada amina ao teor total. Mais estudos serão necessários para avaliar o papel da dieta no perfil e teores de aminas no músculo de peixes.

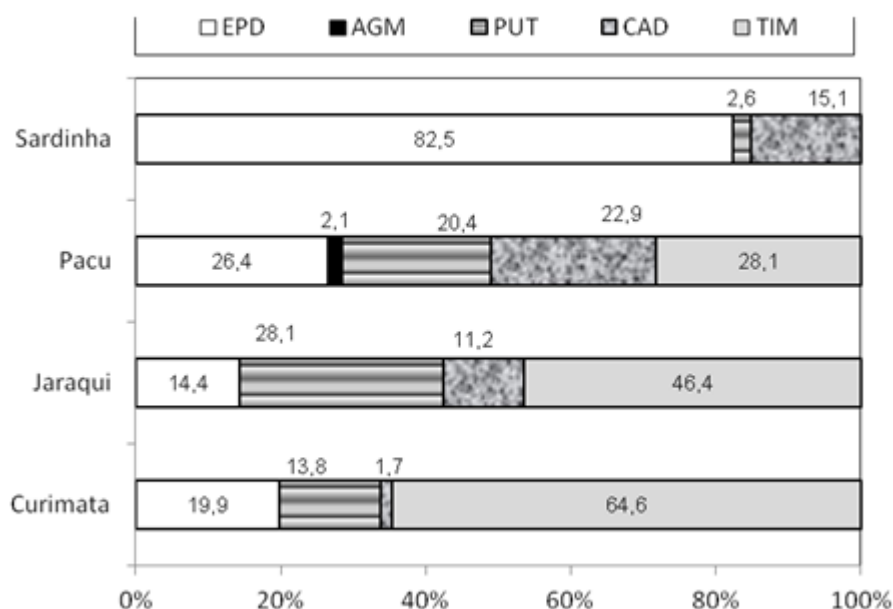


FIGURA III.1 - Contribuição de cada amina ao teor total, considerando os respectivos teores médios, nos peixes curimatã, jaraqui, pacu e sardinha capturados no rio Madeira no município de Humaita, AM.

EPD= espermidina, AGM= agmatina, PUT= putrescina, CAD= cadaverina e TIM= tiramina.

3.4. Influência do tamanho, peso e teores de lipídeos dos peixes nas aminas

Em todos os peixes foram medidos o tamanho, peso e teor de lipídeos. O comprimento médio dos peixes variou de 16,67 a 27,83 cm, com maiores valores para o curimatã e jaraqui comparados com pacu e sardinha. O peso dos peixes

variou de 117,75 a 431,17 g. Curimatã, jaraqui e pacu tiveram maiores pesos em comparação com a sardinha. Esses valores são similares aos da literatura (SANTOS *et al.*, 2006). Os teores de lipídeos no músculo dos peixes variam de 0,72 a 11,63 g/100 g, com maior teor no pacu e sardinha comparados com curimatã e jaraqui.

A correlação de Pearson foi usada para investigar a influência do tamanho do peixe (comprimento) no peso e nos teores de lipídeos e de aminos. Para o pacu, houve correlação negativa significativa entre os níveis de espermidina e o peso (0,88, $p=0,0002$), comprimento do peixe (-0,87, $p=0,0002$) e teor lipídeo (-0,81, $p=0,0013$). Houve correlação positiva significativa entre a putrescina e o peso do peixe (0,78, $p=0,0031$), comprimento (0,76, $p=0,0041$) e teor de lipídeo (0,74, $p=0,0055$). Para a sardinha, houve correlação negativa entre o teor de espermidina e o peso do peixe (-,59, $p=0,0436$) e o teor de lipídeo (-0,72, $p=0,0086$). O jaraqui apresentou correlação significativa entre o teor de espermidina e o de lipídeo (0,85, $p=0,0005$) e também entre o teor de tiramina e o peso (-0,62, $p=0,0323$), comprimento (-0,63, $p=0,0265$) e teor de lipídeo (-0,68, $p=0,0151$) do peixe. Não houve correlação significativa para o curimatã.

De acordo com esses resultados, os teores de aminos, no curimatã não foi afetado pelo peso e comprimento do peixe, e pelo teor de lipídeo. Entretanto, os teores de espermidina foram afetados pelo peso, comprimento e teor de lipídeo para o pacu e sardinha (negativamente) e jaraqui (positivamente). A putrescina foi afetada pelo peso do peixe, comprimento e teor de lipídeo no pacu, enquanto a tiramina foi afetada negativamente pelo peso do peixe, comprimento e teor de lipídeo no jaraqui. Sendo assim, nos peixes mais velhos (peso e comprimento mais elevados), teores de espermidina são mais baixo (pacu e sardinha) e tiramina (jaraqui) e teores mais elevados de putrescina (pacu). Os peixes mais gordos, que possivelmente, são os mais velhos, tiveram os menores teores de espermidina (pacu e sardinha). De acordo com Matsumoto (2015), o teor de poliamina (por exemplo a espermidina) do corpo diminui durante o processo de envelhecimento nos mamíferos. É possível que isso também ocorra nos peixes.

3.5. Influencia da estação climática da captura de peixes nas aminos

Quando comparados os resultados das aminos em peixes afetados pelas estações, chuvosa (maio, 2015) e seca (outubro, 2015), pode-se observar que não foram detectadas aminos durante a estação seca (Tabela III.3), diferindo significativamente dos teores de aminos nos peixes capturados na estação chuvosa. Esse resultado foi observado para todos os peixes pesquisados.

Comparando as duas estações investigadas, durante a estação chuvosa, há um aumento significativo de efluentes domésticos, rural e industrial que são levados pelas inundações. Tais fatores antropogênicos podem contaminar os rios causando impactos ambientais negativos (LIMA *et al.*, 2015). Além disso, durante a estação chuvosa, as condições para a prática da pesca são menos favoráveis devido ao grande volume e velocidade da água que leva a uma maior demora de captura, deixando o peixe mais estressado e levando mais tempo para o transporte do peixe. Esses fatores podem contribuir para uma baixa qualidade do peixe (GLÓRIA *et al.*, 1999; GLÓRIA, 2006; KRIZEK, 2009).

TABELA III.3 - Teores de aminos bioativas encontradas em quatro espécies de peixes no rio Madeira no município de Humaita, AM, capturados em duas estações climáticas (chuvosa e seca) no ano de 2015

Peixe / Estação	Ocorrência e teor médio e faixa de aminos em mg/Kg				
	Espermidina	Agmatina	Putrescina	Cadaverina	Tiramina
Curimatã					
Chuvosa	7/12	0/12	11/12	1/12	6/12
	2,31	0,00	1,61	0,20	7,53
	(nd-5,61)	nd	(nd- 5,09)	(nd-2,36)	(nd- 31,57)
Seca	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	nd	nd	nd	nd	nd

Peixe / Estação	Ocorrência e teor médio e faixa de aminas em mg/Kg				
	Espermidina	Agmatina	Putrescina	Cadaverina	Tiramina (Conclusão)
Jaraqui					
Chuvosa	5/12	0/12	9/12	3/12	8/12
	1,49	nd	2,89	1,15	4,79
	(nd-4,53)		(nd- 15,47)	(nd- 7,72)	(nd- 18,62)
Seca	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	nd	nd	nd	nd	nd
Pacu					
Chuvosa	6/12	1/12	8/12	2/12	5/12
	1,32	0,10	1,02	1,15	2,82
	(nd-3,18)	(nd-1,25)	(nd- 2,65)	(nd- 12,83)	(nd- 12,29)
Seca	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	nd	nd	nd	nd	nd
Sardinha					
Chuvosa	6/12	0/12	0/12	1/12	0/12
	1,32	0,00	0,00	0,24	0,00
	(nd-3,64)	nd	nd	(nd – 2,90)	nd
Seca	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	nd	nd	nd	nd	nd

n=12 peixes de cada espécie por estação.

3.6. Influência do local de captura no perfil e teores de aminas bioativas

Ao comparar os teores de aminas bioativas nos peixes capturados em diferentes locais do rio Madeira, próximo a Humaitá, AM (Tabela III.4), maiores teores de espermidina foram encontrados em Puruzinho, comparado com Santa Rosa para as quatro espécies. De fato, a espermidina não foi detectada em peixes de Santa Rosa. Entretanto, altos teores de putrescina e tiramina foram detectadas em pacu, curimatã e jaraqui capturados em Santa Rosa, comparado com Puruzinho. Houve diferença significativa nos teores de cadaverina e agmatina em peixes, em

relação ao local de captura. A espermidina é formada via putrescina e é precursora de espermina. É uma poliamina natural em músculo de peixe e o seu teor permanece inalterado ou diminui post mortem, dependendo da espécie de peixe (GLÓRIA, 2006; VISCIANO *et al.*, 2012). A diferença dos teores de espermidina pode estar associada com os hábitos alimentares e com a qualidade da água, incluindo a contaminação (LIMA *et al.*, 2015). A tiramina e a putrescina foram encontradas em teores mais elevados no pacu, curimatã e jaraqui de Santa Rosa. A agmatina somente foi encontrada no pacu de Puruzinho na estação chuvosa.

É possível que as diferenças nos teores das aminas, devido ao local de captura possa ser afetada pelas características desses dois locais. Em Puruzinho, que está entre o lago Puruzinho com o rio Madeira, há vasta quantidade de vegetação que fornece ampla quantidade de alimentos para os peixes herbívoros e detritívoros. Além do mais, a vegetação serve de sombra e mantém a água mais fria. Além do mais o igarapé é menos susceptível à contaminação por efluentes. Por outro lado, em Santa Rosa, o rio é mais largo, sendo mais aberto para a contaminação com os efluentes domésticos, rural, industrial e as demais atividades dos ribeirinhos. É também caracterizado por uma alta carga de sedimentos e material em suspensão, típico do rio Madeira (BASTOS *et al.*, 2015; HERRAIZ e SILVA, 2015).

Provavelmente, é esta a razão pela qual o peixe de Santa Rosa tem teores mais elevados de putrescina e tiramina e baixos teores de espermidina comparado ao local Puruzinho. De fato, o habitat ambiental e o grau de poluição podem afetar a carga microbiana e a contaminação dos peixes, leva a formação de aminas biogênicas nos peixes. *Aeromonas* spp. são típicas de peixes de água doce, enquanto que em águas poluídas, elevada contagem de Enterobacteriaceae são também encontradas (VISCIANO *et al.*, 2012).

TABELA III.4 - Ocorrência e teores de aminos bioativas livres (mediana, mínimo, e máximo de aminos bioativas livres), em quatro espécies de peixes do rio Madeira, afetados pelo local de captura (Igarapé Puruzinho e Santa Rosa), no município de Humatã, AM, em 2015.

Espécie peixe/Local	Teores de aminos em mg/kg				
	Espermidina	Agmatina	Putrescina	Cadaverina	Tiramina
Curimatã					
Puruzinho	6/6	0/6	5/6	1/6	0/6
	4,2 ^b	0,00 ^a	0,33 ^{ab}	0,00 ^a	0,00 ^a
	(2,72- 5,61)		(nd-0,46)	(nd- 2,36)	(nd)
Santa Rosa	1/6	0/6	6/6	0/6	6/6
	0,00 ^a	0,00 ^a	2,96 ^{cd}	0,00 ^a	15,07 ^c
	(nd-0,23)	(nd)	(0,05- 5,09)	(nd)	(2,09-31,57)
Jaraqui					
Puruzinho	5/6	0/6	3/6	3/6	2/6
	3,22 ^b	0,00 ^a	0,61 ^{abc}	1,42 ^a	0,00 ^{ab}
	(nd – 4,53)	(nd)	(nd-15,47)	(nd-7,72)	(nd-2,30)
Santa Rosa	0/6	0/6	6/6	0/6	6/6
	0,00 ^a	0,00 ^a	2,76 ^d	0,00 ^a	8,17 ^c
	(nd)	(nd)	(2,42-3,35)	(nd)	(2,15-18,62)
Pacu					
Puruzinho	6/6	1/6	2/6	2/6	0/6
	2,62 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	(2,15-3,18)	(nd-1,25)	(nd-0,46)	(nd-12,83)	(nd)
Santa Rosa	0/6	0/6	6/6	0/6	5/6
	0,00 ^b	0,00 ^a	1,86 ^{bcd}	0,00 ^a	0,51 ^{bc}
	(nd)	(nd)	(1,40-2,65)	(nd)	(nd-12,29)
Sardinha					
Puruzinho	6/6	0/6	1/6	1/6	0/6
	2,74 ^b	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	(1,25-3,64)	(nd)	(nd-0,50)	(nd-2,90)	(nd)
Santa Rosa	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
	(nd)	(nd)	(nd)	(nd)	(nd)

nd=0,04 mg/kg. Medianas com letra diferente em uma mesma linha são diferente significativamente (Kruskal Wallis, $p \leq 0,05$).

3.7. Aspectos toxicológicos associados às aminas no peixe

A ausência de histamina nas espécies de peixes altamente consumidas no rio Madeira, mas a presença de tiramina, indicam que, diferente dos peixes marinhos, os peixes de água doce podem ser preocupantes em relação à segurança alimentar devido a presença de tiramina. Os sintomas da intoxicação por tiramina incluem crises de hipertensão que são frequentemente acompanhadas por fortes dores de cabeça. A intolerância a tiramina pode ser causada ou por predisposição genética ou devido a redução do catabolismo de tiramina. A tiramina tem sido também identificada como um iniciador da hipertensão durante o tratamento com inibidores de monoamina oxidase (IMAO), usado no tratamento de tuberculoses, Parkinson e depressão (GLÓRIA, 2006; PRESTER, 2011). De acordo com Panel... (2011), teores de tiramina de 600; 50; e 6 mg por refeição/pessoa podem causar efeitos adversos à saúde de indivíduos saudáveis, aqueles em tratamento com –IMAO de terceira geração, e daqueles em tratamento com o -IMAO classico, respectivamente.

Entretanto, a presença de elevados teores de tiramina em alguns peixes, tais como curimatã e jaraqui, é indesejável, pois pode causar efeitos adversos a saúde do homem. De fato, quando considerado o alto consumo de peixe, associado com o hábito alimentar da população ribeirinha do rio Madeira, a ingestão de tiramina via peixe consumido pode acarretar em risco de intoxicação por tiramina.

O consumo de 203 g de peixe por refeição, que é típico da população ribeirinha do rio Madeira (OLIVEIRA *et al.*, 2010), por uma pessoa sob tratamento com o medicamento clássico IMAO (Tabela III.5), é provável que tenha dores de cabeça, enxaqueca, náusea, vômito e crise de hipertensão consumindo curimatã. Considerando o consumo de peixes pela população da região norte do Brasil (PESQUISA..., 2011), não haveria dano algum no consumo desse peixe, porém, outras fontes de tiramina nas refeições, como queijos, salames, salsichas, molho de soja, bebidas fermentadas, entre outras podem elevar o teor de tiramina no organismo humano (GLÓRIA, 2006; PANEL..., 2011; PRESTER, 2011).

TABELA III.5 - Exposição da população do Norte do Brasil e da população ribeirinha do rio Madeira próximo a Humaitá, AM, pelo consumo de peixes com níveis de tiramina

Espécie Peixe	Tiramina/peixe (mg/kg)	Tiramina/ dia (mg)	Tiramina/ refeição(mg)
Região Norte ^a			
Pacu	12,29	1,16	0,58
Curimatã	31,47	3,00	1,50
Jaraqui	18,62	1,77	0,88
Sardinha	0,00	0,00	0,00
Média	15,62	1,48	0,74
População Ribeirinha ^b			
Pacu	12,29	4,99	2,50
Curimatã	31,47	12,82	6,41
Jaraqui	18,62	7,56	3,78
Sardinha	0,00	0,00	0,00
Média	15,62	6,34	3,17

^a Consumo de peixe por pessoa/dia na região Norte do Brasil: 95 g de peixe/dia ou 47,5 g peixe/refeição (Pesquisa..., 2011).

^b Consumo de peixe por dia pela população ribeirinha = 406 g peixe/dia ou 203 g peixe/ refeição (Oliveira *et al.* 2010)

Nível de tiramina, 600, 50 e 6 mg por pessoa/refeição, capaz de causar danos à saúde de indivíduos que não usam o medicamento IMAO, até a 3ª geração dos que usaram o medicamento e daqueles que usam o medicamento, respectivamente (Panel..., 2011)

IMAO = Inibidor da monoaminoxidase-.

4. CONCLUSÃO

Entre as nove aminas pesquisadas, cinco foram detectadas nesses peixes (55,55%). Pacu (herbívoros) teve a maior diversidade de aminas (espermidina, agmatina, putrescina, cadaverina e tiramina), curimatã e jaraqui (detritívoros) apresentaram quatro aminas (espermidina, putrescina, cadaverina e tiramina), ao passo que a sardinha (onívora) teve a menor diversidade (espermidina, putrescina e cadaverina). Curimatã e jaraqui tiveram os maiores teores de aminas, seguidos pelo pacu e pela sardinha. O perfil e os teores de aminas foram afetados pelas espécies de peixes, local de captura e pela estação climática (chuvosa e seca). Durante a estação chuvosa, os peixes continham maiores níveis de aminas comparados com a estação seca. Dezesesseis aminoácidos estavam presentes nas quatro espécies de peixes, com a prevalência de histidina, representando 55,5 a 67,9% do total dos aminoácidos livres. O maior teor de histidina encontrado em sardinha, comparado com as outras espécies, indica que esse peixe está mais susceptível à formação de histamina, em condições higiênicas-sanitárias inadequadas.

Embora esses peixes tenham apresentado elevado teores de histidina livre, a histamina não foi detectada; entretanto, a temperatura de armazenamento adequada e as condições higiênico-sanitárias, são necessários para prevenir a produção e acúmulo de histamina. Os teores de tiramina presentes nesses peixes são seguros para a população da região norte, entretando, é preocupante para a população ribeirinha, especialmente para indivíduos sob o uso do medicamento IMAO, devido ao alto consumo de peixe.

CONCLUSÕES INTEGRADAS

Os quatro peixes do rio Madeira, dos mais consumidos pela população da região, foram caracterizados com relação ao peso, tamanho (comprimento) e os teores de lipídeos. Uma correlação significativa foi encontrada entre o peso e o comprimento para todos os peixes. Correlações entre lipídeo e o comprimento para o pacu e com o peso para o pacu e sardinha foram significativas.

Com maiores teores de lipídeos, o pacu e a sardinha, se destacaram apresentando os maiores teores de ácidos graxos polinsaturados, principalmente, linoleico, linolênico e foram também os que mais contribuiriam com fornecimento na dieta de EPA e DHA.

O consumo das quatro espécies de peixes da Amazônia proveriam o fornecimento adequado de ácidos graxos da dieta, podendo contribuir para a saúde de um modo geral e, especialmente, na redução do risco de doenças cardiovasculares da população consumidora desses peixes.

O teor de mercúrio total variou ao longo do músculo do peixe, exceto para a sardinha. Portanto, a amostragem deve ser realizada com o tecido muscular da parte dorsal ao longo do peixe, seguida por uma homogeneização representativa das amostras. Os teores de mercúrio nos peixes atenderam a legislação; entretanto, por causa do consumo elevado, a estimativa de ingestão segura excedeu o PTWI de 1,6 ug/kg por semana (FOOD..., 2003) e, sendo assim, representa um potencial risco para a saúde da população. .

O perfil e os teores de aminos foram afetados pelas espécies de peixes, local de captura e pela estação climática (chuvosa e seca). Elevados teores de espermidina foram observados em peixes de Puruzinho; mesmo assim, os peixes de Santa Rosa tiveram altos níveis de putrescina e cadaverina. Durante a estação chuvosa, os peixes continham altos níveis comparados com a estação seca.

Foram detectados dezesseis aminoácidos nas quatro espécies de peixes, com a prevalência de histidina, representando 55,5 a 67,9% do total dos aminoácidos livres.

Embora esses peixes tenham apresentado elevados teores de histidina livre, a histamina não foi detectada; entretanto, temperatura de armazenamento e as condições higiênicas sanitárias adequadas, são necessárias para prevenir a produção e acúmulo de histamina. Os teores de tiramina presente nesses peixes são seguros para a população da região norte, entretando, é preocupante para a população ribeirinha, especialmente para indivíduos sob o uso do medicamento IMAO, por causa do alto consumo de peixe.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

~~Conferir se todas foram citadas e vice-versa~~

AL BULUSHI, I.; POOLE, S.; DEETH, H.C.; DYKES, G.A. Biogenic amines in fish: roles in intoxication, spoilage, and nitrosamine formation: a r--A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.-49, n.-4, p.-366-377, 2009.

ANDRADE, A.M.G.F. **Quantificação de mercúrio em peixes por espectrometria de absorção atômica após amalgamação em ouro--**. 2015. nf. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos) --, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, -2015.

ANDRADE, A.D.; RUBIRA, A.F.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N.E. Quantificação de mercúrio em peixes por espectrometria de absorção atômica após amalgamação em ouro ~~Omega-3 fatty Acids in freshwater fish from South Brazil~~. **Journal of the American Oil Chemist Society**, v.-72, n.10, p.-1207-1210, 1995.

ARAUJO, D.H.P. **Determinação de histamina e caracterização nutricional de peixes da região amazônica**. ~~Belém, PA: Instituto de Tecnologia da Universidade Federal do Pará~~, 2013. 93p93f. (Dissertação, ~~(M~~mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.

AVALIAÇÃO da exposição ambiental ao mercúrio proveniente de atividade garimpeira de ouro na terra indígena yanomami, Roraima, Amazônia, Brasil. [s.l.]: Fiocruz/PUCRJ/ISA/HAY/V, 2016. Relatório parcial.

·

AZEVEDO, F.A.; NASCIMENTO, E.S.; CHASIN, A.A.M. **Metais**: gerenciamento da toxicidade. São Paulo: Editora Atheneu/InterTox, 2003. p. 299-352, ~~São Paulo, 2003~~.

AZEVEDO-SILVA, C.E.; ALMEIDA, R.; CARVALHO, D.P.; ORNETTO, J.P.H.B.; CAMARGO, P.B.; DORNELES, P.R.; AZEREDO, A.; BASTOS, W.R.; MALM, O.; TORRES, J.P.M. Mercury biomagnification and the trophic structure of the

ichthofauna from a remote lake in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v.-151, p.-286-296, 2016.

AZIZ, N.A.; AZLAN, A.; ISMAIL, A.; ALINAFIAH, S.M., RAZMAN, M.R. Quantitative determination of fatty acids in marine fish and shellfish from warm water of straits of malacca for nutraceutical purposes. **BioMed Research International**, v.2013.-n-p-?.
Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/284329>>. Acesso em: 2017.

BANDEIRA, C.M.; EVANGELISTA, W.P.; GLÓRIA, M.B.A. Bioactive amines in fresh, canned and dried sweet corn embryo and endosperm and germinated corn. **Food Chemistry**, v.-131, n.4, p. 1355-1359, 2012.

BARBOSA, A.C.; JARDIM, W.; DOREA, J.G.; FOSBERG, B.; SOUZA, J. Hair mercury speciation as a function of gender, age, and body mass index in inhabitants of the Negro River Basin, Amazon, Brasil. **Archives Environmental Contamination Toxicology** v.-40, n.3, p.-435-444, 2001.

BASTOS, W.R.; DÓREA, J.G.; BERNARDI, J.V.E.; LAUTHARTTE, L.C.; MUSSY, M.H.; LACERDA, L.D.; MALM, O. Mercury in fish of the Madeira river (temporal and spatial assessment), Brazilian Amazon. **Environmental Research**, n.v.-140, p.-191-197, 2015.

BASTOS, W.R.; LACERDA, L.D. A contaminação por mercúrio na bacia do rio Madeira: Uma breve revisão. **Geochimica Brasil**, v.-18, n.-2, p.-99-114, 2004.

BENTES, A.S.; SOUZA, H.A.L.; MENDONÇA, X.M.F. D.; SIMÕES, M.G. Caracterização física e química e perfil lipídico de três espécies de peixes amazônicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.-3, n.-2, p.-97-108, 2009.

BIJI, K.B.; RAVISHANKAR, C.N.; VENKATESWARLV, R.; MOHAN, C.C.; GOPAL, T.K.S. Biogenic amines in seafood: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v.-53, n.-5, p.-2210- 2218, 2016.

BILGIN, B.; GENÇCELEP, H. Determination of biogenic amines in fish products. **Food Science Biotechnology**, v.-24, n.-5, p.-1907-1913, 2015.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J.A. Rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry Physiology**, v.-37, n.-8, p.-911-917, 1959

BOLETIM estatístico da pesca e aquicultura, Brasil, 2011. Brasília: MPA, 2012. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/biblioteca/download/estatistica/est_2011_bol__bra.pdf>.

Acesso em: 19/05/2013.

BONSIGNORE, M.; MANTA, D.S.; OLIVERI, E.; SPROVIER, M.; BASILONG, G.; BONANNO, A.; FALCO, F.; TRAINA, A.; MAZZOLA, S. Mercury in fishes from Augusta Bay (southern Italy): Risk assessment and health implication. **Food and Chemical Toxicology**, v.-56, p.-184-194, 2013.

BRABO, E.S.; SANTOS, E.O.; JESUS, I.M.; MASCARENHAS, A.F.; FAIAL, K.F. Níveis de mercúrio em peixes consumidos pela comunidade indígena de Sai Cinza na Reserva Munduruku, município de Jacareanga, Estado do Pará, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.-15, n.-2, p.-325-331, 1999.

BRABO, M. F.; PEREIRA, L. F. S.; SANTANA, J. V. M.; CAMPELO, D. A. V.; VERAS, G. C. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v.4, n.2, p.-50-58, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria Nº 185 de 13 de maio de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado). **Diário Oficial da União**, Brasília, 19 de maio de 1997, Seção 1, p. 10282.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.. Instrução Normativa nº 09, de 21 de Fevereiro de 2017. Disponível: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes/documentos-da-pncrc/pncrc-2017.pdf>>. Acesso em 22.06.2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução – RDC nº 42, de 24 de agosto 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos máximos

de contaminantes inorgânicos em alimentos. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2013. Seção 1, n.-168, p. 33-35.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria nº 48, de 5 de novembro de 2007, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis-IBAMA, estabelece normas de pesca para o período de proteção à reprodução natural dos peixes. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 06 de novembro de 2007.

CAMPOS, D.S.; PAIVA, Z.C. Condição higiênico-sanitária do pescado comercializado em feira no município de Manaus-AM. **Caderno de Pós-Graduação da Fazu**, v.-2, p.-1-7, 2011.

CARDOSO, N.A.; HOSHINO, A.C.H.; PEREZ, M.A.; BASTOS, W.R.; CARVALHO, D.P.; CÂMARA, V.M. Zumbido em uma população ribeirinha exposta ao metilmercúrio. **Audiology Communication Research**, v19, n.1, p.40-44, 2014.

CARDOSO, M.; LIMA, K.S.C.; FRANÇA, T.C.C.; LIMA, A.L.S. Aminas biogênicas: um problema de saúde pública. **Revista Virtual de Química**, v.-5, n.-2, p.-149-168, 2013.

CECCATTO, A.P.S.; TESTONI, M.C.; IGNÁCIO, A.B.A.; SANTOS-FILHO, M.; MALM, O.; DIEZ, S. Mercury distribution in organs of fish species and the associated risk in traditional subsistence villagers of the pantanal wetland. **Environmental Geochemistry and Health**, v.-38, p. 713-722, 2016.

CINQUINA, A.L.; CALI, A.; LONGO, F.; SANTIS, L.; SEVERONI, A., ABBALLE, F. Determination of biogenic amines in fish tissues by ion-exchange chromatography with conductivity detection. **Journal of Chromatography A**, v.-1032, n.1-2, p.-73-77, 2004.

CIZDZIEL, J.; HINNERS, T.; HEITHMAR, E. Determination of total mercury in fish tissues using combustion atomic absorption spectrometry with gold amalgamation. **Water, Air, and Soil Pollution**, v.-135, n.-1, p.-355-370, 2002.

DENG, L.; LI, Y.; YAN, X.; XIAO, J.; MA, C.; ZHENG, J.; LIU, S.; YANG, R. Ultrasensitive and highly selective detection of bioaccumulation of methyl-mercury in fish samples via Ag⁰/Hg⁰ amalgamation. **Analytical Chemistry**, v.-87-, n.4, p.-2452-2458, 2015.

DIAS, A.C.L.; GUIMARÃES, J.R.D.; MALM, O.; COSTA, P.A.S. Mercúrio total em músculo de cação *Prionaceglauca* (Linnaeus, 1758) e de espadarte *Xiphiasgladius* (Linnaeus, 1758), na Costa Sul-Sudeste do Brasil e suas implicações para a saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**, -v.-24 n.-9, p.-2063-2070, 2008.

DIETARY reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. Washington: Institute of Medicine (IOM) / Food and Nutrition Board; The National Academies Press, 2005. Disponível em: <https://www.nap.edu/>. Acesso em: 31 de janeiro de 2018.

ENDO, J.; ARITA, M. Cardioprotective mechanism of omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Cardiology**, v.67, n.(1), p.22–27, 2016-.

ENVIRONMENTAL health criteria, Methylmercury, vol. 101, Geneva, Switzerland: World Health Organization/IPCS, 1990.

ESTUDOS das potencialidades do município de Humaitá-AM, Porto Velho: Federação das Indústrias do Estado de Rondônia., 1997. http://www.fiero.org.br/downloads/anexos/estudo_potencial_humaita_am.pdf Acesso em 22 de Abril de 2017.

EVANGELISTA, W.P. **Prevalência de histamina em peixes escombrídeos e intoxicação histamínica no Brasil de 2007 a 2009.** 2010. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Belo Horizonte, 2010.

~~Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da UFMG, 2010. (Dissertação, Mestrado em Ciência de Alimentos).~~

EVANGELISTA, W.P.; SILVA, T.M.; GUIDI, L.R.; TETTE, P.A.S.; BYRRO, R.M.D.; SANTIAGO-SILVA, P.; FERNANDES, C.; GLÓRIA, M.B.A. Quality assurance of histamine analysis in fresh and canned fish. **Food Chemistry**, v.-211, p.-100-106, 2016.

FARIA, F.M. **Perfil e teores de aminos bioativas em frutas brasileiras**. 2011. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte; Faculdade de Farmácia, Belo Horizonte, 2011.

FATS and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation. Rome: FAO, 2010. 166p.

~~da UFMG, 2011. 65p. (Dissertação, Mestrado em Ciências de Alimentos).~~

FERNANDES, C.E.; VASCONCELOS, M.A.S.; RIBEIRO, M.A.; SARUBBO, L.A.; ANDRADE, S.A.C.; MELO FILHO, A.B. Nutritional and lipid profiles in marine fish species from Brazil. **Food Chemistry**, v.-160, p.-67-71, 2014.

FIECHTER, G.; SIVÉC, G.; MAYER, H.K. Application of UHPLC for the simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in ripened acid-curd cheeses. **Journal of Chromatography B**, v.-927, p.-191-200, 2013.

FISH and fishery products hazards and controls guidance. Gainesville: FDA, 2011.

FOOD additives and food contaminants. 2003. In: MEETING OF THE FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 61., 2003, Rome. **Report...** Rome: FAO/WHO, 2003.

~~FILGUERAS, R.S. **Microbiota e teores de aminos bioativas na carne maturada de bovinos de corte, com e sem estimulação elétrica da carcaça**. Pelotas: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, 2007. 61p. (Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial).~~

Tabela de composição química dos alimentos. 9.^a ed.ção, São Paulo: –Ed. Atheneu, São Paulo, 2008,₇ 307p.

FU, Y.; ZHOW, Z.; LI, Y.; LU, X.; ZHOO, C.; XU, G. High-sensitivity detection of biogenic amines with multiple reaction monitoring in fish based on benzoil chloride derivatization. **Journal of Chromatography A**, v.-1465, p.-30-37, 2016.

FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; SILVA, A.B.M.; JUNIOR, O.O.S.; SOUZA, N.E.; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J.V. Composição centesimal e perfil de ácidos graxos do camarão-d'água-doce. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.-35, n.-4, p. 1577-1580, 2006.

GENDZIER, J. Risk and regulation: methylmercury exposure and fish consumption. **Engineering and Natural Sciences**, v.-6, n.-1, p.-1-9, 2010.

GENERAL standards for contaminants and toxins in food and feed. Codex Alimentarius. FAO/WHO, 2015.

GLÓRIA, M.B.A.; DAESCHEL, M.A.; CRAVEN, C.; HILDERBRAND Jr., K.S. Histamine and other biogenic amines in albacore tuna. **Journal of Aquatic Food Products and Technology**, v.-8, n.-4, p.-55-69, 1999.

GLÓRIA, M.B.A. Bioactive amines. In: ~~H. Hui, Y.H. (Ed.); L.L. Nollet.~~ **Handbook of Food — food — Science — science, Technology — technology — and Engineering — engineering.** Boca Raton, Florida: CRC Press, Ed. Mar 2006. ~~ed. Deker, v.4, p4 vol. p.-1-38., 2006.~~

GONÇALVES, A.A. **Tecnologia do pescado.** Rio de Janeiro: Editora Atheneu, ~~4ª Ed. Rio de Janeiro,~~ 2011.

GOVERNO do Amazonas libera uso de mercúrio no garimpo. 2012. Disponível: [http://ambiental sustentavel.org/2012/governo-do-amazonas-libera-uso-de-mercurio-no-garimpo/](http://ambiental.sustentavel.org/2012/governo-do-amazonas-libera-uso-de-mercurio-no-garimpo/). Acesso em 22 de junho de 2017.

GOUVEIA, N.N.F. **Desenvolvimento de uma metodologia analítica para determinação de amins biogênicas em tunídeos.** 2009. 83f. Dissertação (Bioquímica Aplicada) - Universidade da Madeira, Centro de Química da Madeira (CQM), Funchal, Aveiro, 2009

~~:- Centro de Química da Madeira (CQM) da Universidade da Madeira, 2009. 83p. (Dissertação, Bioquímica Aplicada).~~

GUESNET, P.; ALESSANDRI, J.M. Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS):— implications for dietary recommendations. **Biochimie**, v.-93, n.-1, p.-7–12, 2011.

GUIDANCE for identifying populations at risk from mercury exposure. Geneva; 2008. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/mercuryexposure.pdf>>. Acesso em: 21.09.2016.

HACON, S.S.; DOREA, J.G.; FONSECA, M.F.; OLIVEIRA, B.A.; MOURÃO, D.S.; RUIZ, C.M.V.; GONÇALVES, R.A.; MARIANI, C.F.; BASTOS, W.R. The influence of changes in lifestyle and mercury exposure in riverine populations of the Madeira river (Amazon basin) near a hydroelectric project. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.-11, n.3, p.-2437-2455, 2014.

HERRAIZ, A.D.; SILVA, M.N.S. Diagnóstico socioambiental do extrativismo mineral familiar (garimpo) na calha do Rio Madeira, em Humaitá, Amazonas. **Revista Pegada**, v.16, n.2, p.201-226, 2015.

HIANE, P.A.; LEAL FILHO, A.F.; RAMOS FILHO, M.M.; RAMOS, M.I.L. Teores de colesterol e lipídios totais em seis espécies de peixes capturados na região pantaneira do estado de Mato Grosso do Sul. **Boletim CEPPA**, v.-20, n.1, p.-65-74, 2002 .

HOSHINO, A.; PACHECO-FERREIRA, H.; SANCHES, S.G.G.; CARVALHO, R.; CARDOSO, N.; PEREZ, M.; CAMERA, V.M. Mercury exposure in a Riverside Amazon population, Brazil: A study of the ototoxicity of methylmercury. **International Archives of Otorhinolaryngology**, v.-19, n.2, p.-135-140, 2015.

HUYNH, M.D.; KITTS, D.D. Evaluating nutritional quality of pacific fish species from fatty acid signatures. **Food Chemistry**, v.-114, n.3, p.-912-918, 2009.

INHAMUNS, A.J.; FRANCO, M.R.B.; BATISTA, W.S. Seasonal variations in total fatty acid composition of muscles and eye sockets of tucunaré (*Cichla s.p.*) from the Brazilian Amazon area. **Food Chemistry**, v.-117, n.2, p.-272-275, 2009.

JABEEN, F.; CHAUDHRY, A.S. Chemical compositions and fatty acid profiles of three freshwater fish species. **Food Chemistry**, v.-125, n.3, p.-991-996, 2011.

JUNIOR, M.A.G. **Avaliação da qualidade de filés de pirarucu (*Arapaima gigas*, CUVIER 1829), refrigerados e embalados sob atmosfera modificada.** 2010. 74f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Rio Grande, RS, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Oceanografia, Rio Grande, 2010., 74 p. (Dissertação, mestrado em Aquicultura).

KALYONCU, L.; KISSAL, S.; AKTUMSEK, A. Seasonal changes in the total fatty acid composition of *Vimba vimba tenella* (Nordmann, 1840) in Eğirdir Lake, Turkey. **Food Chemistry**, v.-116, n.-3, p.728-730, 2009.

KASPER, D.; BOTARO, D.; PALERMO, E.F.A.; MALM, D. Mercúrio em peixes- Fontes e contaminação. **Oecologia Brasileira**, v.-11, n.-2, p.-228-239, 2007.

KORAL, S.; TUFAN, B.; SCAVNICAR, A.; KOCAR, D.; POMPE, M.; KOSE, S. Investigation of the contents of biogenic amines and some food safety parameters of various commercially salted fish products. **Food Control**, v.-32, n.2, p.-597-606, 2013.

KRIZEK, M. Biogenic amines in fish. In: ~~G.~~ Dandrifosse, G. (Ed.), **Biological aspects of biogenic amines, polyamines and conjugates.** ~~(pp. 311-325).~~ Kerala, India: Transworld Research Network, 2009. p.311-325.

LACERDA, L.D. Atmospheric mercury and fish contamination in the Amazon. **Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science**, v.-49, n. 1/2, p.-54-58, 1997.

LEMOS, V.A.; SANTOS, L.O. A new method for preconcentration and determination of mercury in fish, shellfish and saliva by cold vapour atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v.-149, p.-203-207, 2014.

LICHTENSTEIN, A.H.; APPEL, L.J.; BRANDS, M. *et al.* Diet and lifestyle recommendations Revision 2006: A scientific statement from the American Heart Association. Circulation, v.114, n.1, p.82-96. Nutrition Committee. American Disponível em: Heart Association. Downloaded from <<http://circ.ahajournals.org/content/114/1/82>>. Acesso em: 13/03/2018.~~<http://circ.ahajournals.org/> on March 13, 2018.~~

LIMA, D.P.; SANTOS, C.; SILVA, R.S.; YOSHIOKA, E.T.O.; BEZERRA, R.M. Contaminação por metais pesados em peixes e água da bacia do rio Cassiporé, Estado do Amapá, Brasil. **Acta Amazônica**, v.-45, n.-4, p.-405-414, 2015.

LIMA, M.A.L.; FREITAS, C.E.C.; MORAES, S.M.; DORIA, C.R.C. Pesca artesanal no município de Humaitá, Médio rio Madeira, Amazonas, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, ~~v.-42, n.-4~~, p.-914-923, 2016.

LOPES, I.G.; OLIVEIRA, R.G., RAMOS, F.M. Perfil do consumo de peixes pela população brasileira. **Biota Amazônia**, v.-6, n.-2, p.-62-65, 2016.

LUZIA, L.A.; SAMPAIO, G.R.; CASTELLUCCI, C.M.N.; ELIZABETH, A.F.S. The influence of season on the lipid profiles of five commercially. **Food Chemistry**, v.-83, n.1, p.93-97, 2003.

MAAS, C.; FRANZ, A.R.; SHUNOVA, A.; MATHES, M.; BLEEKER, C.; POETS, C.F.; BERNHARD, W. Choline and polyunsaturated fatty acids in preterm infants' maternal milk. **European Journal of Nutrition**, v.56, n.4, p.1733-1742, 2017.

MAIA, E.L.; AMAYA, D.B.R. Avaliação de um método simples e econômico para a metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.53, n.1/2, p.27-35, 1993.

MAKEDONSKI, L.; PEYCHEVA, K.; STANCHEVA, M. Determination of some heavy metal of selected black sea fish species. **Food Control**, v.72, pt.B, p.1-6, 2015.

MANAUS. Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas/Secretaria de Estado de Produção Rural e Sustentabilidade. 2016. Disponível em: www.idam.am.gov.br/sepror. Acesso em 13.05.2017.

MARECHA, H.S.; FRANCISCO, A.; BEIRÃO L.H.; BLOCK, J.M.; SACCOL, A.; CARRASCO, S.P. Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.28, n.1, p.101-110, 2002.

MARINHO, L.S.; NUNES, E.S.C.L.; FERREIRA, M.S.; MONTEIRO, M.L.G.M.; SILVA, F.E.R.; MARSICO, E.T.; FREITAS, M.Q. Parâmetros físico-químicos e sensoriais na avaliação da qualidade da piramutaba (*Brachyplatystona vaillantii*, Valenciennes, 1840) inteira estocada em gelo. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.21, n.4, p.273-277, 2014.

MARTIN, C.A.; ALMEIDA, V.V.; RUIZ, M.R.; VISENTAINER, J.E.L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V. Ácidos graxos polinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v.19, n.6, p.761-770, 2006

MATSUMOTO, M. Polyamines and longevity in mammals, In: Kusano T.; Suzuki H. (Eds). **Polyamines**: a universal molecular nexus for growth, survival, and specialized metabolism. Tokyo: Springer, 2015.

MAURICE-BOURGOIN, L.M.; QUIROGA, I.; CHINCHEROS, J.; COURAU, P. Mercury distribution in waters and fishes of the upper Madeira rivers and mercury exposure in riparian Amazonian populations. **The Science of the Total Environment**, v.260, n.1-3, p.73-86, 2000.

MELO, J.F.B.; LUNDSTEDT, L.M.; INOUE, L.A.K.; METÓN, I.; BAABABTE, I.V.; MORAES, G. Glycolysis and gluconeogenesis in the liver of catfish fed with different concentrations of proteins, lipids and carbohydrates. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.5, p.1251-1258, 2016.

METHOD 7473 - Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry, Revision 0. United States Environmental Protection Agency, 2007. Disponível em: <<http://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/7473.pdf>>. Acesso em: 06.06.2016.

MICARONI, R.C.C.M.; BUENO, M.I.M.S.; JARDIM, W.F. Compostos de mercúrio. Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. **Química Nova**, v.23, n.4, p.487-495, 2000.

MINAMATA convention on mercury. Geneva: United Nations Environment Programme, 2013. Disponível: <http://www.mercuryconvention.org/Convention/tabid/3426/Default.aspx>. Acesso em 22.06.2017.

MIRANDA, M. R.; SOUZA, S. A. C.; GUIMARÃES, J. R. D.; CORREIA, R. S.; OLIVEIRA, D. Mercúrio em sistemas aquáticos: fatores ambientais que afetam a metilação. **Oecologia Brasiliensis**, v.11, n.2, p.240-251, 2007.

MOREIRA, H.C.L.; SCHERER, E.F.; SOARES, S.M. O seguro defeso do pescador artesanal: Políticas públicas e o ritmo das águas na Amazônia. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE SOCIOLOGIA RURAL, 8., Porto de Galinhas, 2010. **Anais...** Porto de Galinhas, PE: ALASRU, 2010.

MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L.V.; KUSKOSKI, E.M. **Introdução à ciência de alimentos**. Florianópolis, SC: UFSC, 2002, 255p.

MOZAFFARIAN, D. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. **Journal of the American College of Cardiology**, v.58, n.20, p.2047-2067, 2011.

NOZAKI, V.T.; MUNHOZ, C.L.; GUIMARÃES, R.C.A.G.; HIANE, P.A.; ANDREV, M.P.; VIANA, L.H.; MACEDO, M.L.R. Perfil lipídico da polpa e amêndoa da guabiroba. **Ciência Rural**, v.42, n.8, p.1518-1523, 2012.

OLIVEIRA, R.B.A.; EVANGELISTA, W.P.; SENA, M.J.; GLÓRIA, M.B.A. Tuna fishing capture and post-capture practices in the northeast of Brazil and thmeir effects on histamine and other bioactive amines. **Food Control**, v.25, n.1, p.64-68, 2012.

OLIVEIRA, R.C. **Caracterização do consumo de peixe como via de exposição ao mercúrio na população do lago puruzinho-Amazônia**. 2006. 91f.Dissertação

(Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Rondônia Porto Velho, RO, 2006.

OLIVEIRA, R.C. O panorama da aqüicultura no Brasil: a prática com foco na sustentabilidade. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v.2, n.1, p.71-89, 2009.

OLIVEIRA, R.C.; DOREA, J.G.; BERNARDI, J.V.E.; BASTOS, W.R.; ALMEIDA, R.; MANZATTO, A.G. Fish consumption by traditional subsistence villagers of the Rio Madeira (Amazon): Impact on hair mercury. **Annals of Human Biology**, v.37, n.5, p.629-642, 2010.

PANEL on biological (BIOHAZ): scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. **EFSA Journal**, v.9, n.10, p.1-93, 2011.

PANICHEV, N.A.; PANICHEVA, S.E. Determination of total mercury in fish and sea products by direct thermal decomposition atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v.166, p.432-441, 2015.

PARK, J.S.; LEE, C.H.; KWON, E.Y.; KIM, J.Y.; KIM, S.H. Monitoring the contents of biogenic amines in fish and fish products consumed in Korea. **Food Control**, v.21, n.9, p.1219-1226, 2010.

PEREIRA, L.A.R.; FONSECA, V.V. Controle de qualidade de pescados com verificação dos seus PCC'S em um restaurante no município de Volta Redonda. **Interbio**, v.5, n.1, p.21-28, 2011.

PESCA e aqüicultura. Manaus: Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas. Manaus: IDAM, 2015. Disponível em: www.idam.am.gov.br/afeter/aquicultura-e-pesca/. Acesso em 13.05.2017.

PESQUISA de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil/IBGE, Coordenação de trabalho e Rendimento. Rio de Janeiro, RJ: IBGE, 2011. 150 p.

PESQUISA de orçamentos familiares 2008-2009: aquisição alimentar domiciliar *per capita*. IBGE, 2010. Disponível em:

<www.ibge.gov.br/home/estatística/população/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisição/default_pdf.shtm>. Acesso em 13.04.2017

PETENUCCI, M.E.; ROCHA, I. do N.A.; DE SOUZA, S.C.; SCHNEIDERS, V.V.A.; DA COSTA, L.A.M.A.; VISENTAINER, J.V. seasonal variations in lipid content, fatty acid composition and nutritional profiles of five freshwater fish from the Amazon Basin. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.93, n.10, p.1373-1381, 2016.

PIMENTEL, D.R. **Avaliação dos níveis de mercúrio (Hg) total em peixes de Igarapés da bacia do rio Mamuru, Pará, Brasil**. 2011. 63f. Dissertação (Mestrado), Universidade do Pará, Santarém, PA, 2011.

PRATO, E.; BIANCOLINO, F. Total lipid content and fatty acid composition of commercially important fish species from the Mediterranean, Mar Grande Sea. **Food Chemistry**, v.131, n.4, p.1233-1239, 2012.

PRESTER, L. Biogenic amines in fish, fish products and shellfish: a review. **Food Control**, v.28, n.11, p.1219-1226, 2010.

PRESTER, L. Biogenic amines in fish, fish products and shellfish: a review. **Food Additives and Contaminants**, v.28, n.11, p.547-1560, 2011.

PUBLIC health risks of histamine and other biogenic amines from fish and fishery products. In: JOINT FAO/WHO EXPERT REPORT, 2012, Rome. Rome, Italy: FAO, 2013.

RAMOS FILHO, M.M.; RAMOS, M.I.L. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.2, p.361-365, 2008.

REGINE, M.B.; GILLES, D.; YANNIEK, D.; ALAIN, B. Mercury distribution in fish organs and food regimes: Significant relationships from twelve species collected in French Guiana (Amazonian basin). **Science of the Total Environment**, v.368, n.1, p.262-270, 2006.

RODRIGUES, B.L.; CANTO, A.C.V.C.S.; COSTA, M.P.; SILVAS, F.A.; MÁRSICO, E.T.; CONTE-JÚNIOR, C.A. Fatty acid profiles of five farmed Brazilian freshwater fish

species from different families. **PLOS ONE** 2017 Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0178898>>. Acesso em: 14/06/2017.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 4.ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2015. 265p.

SANTOS, A.P.B. **Índices químicos, sensoriais e microbiológicos para avaliação do frescor de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) armazenada em gelo**. 2011. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, SP, 2011.

SANTOS, G.M.; SANTOS, A.C.M. Sustentabilidade da pesca na Amazônia. **Estudos Avançados**, v.19, n.54, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ea/v19n54/09.pdf>>. Acesso em: 06/04/2017.

SANTOS, G.; FERREIRA, E.; ZUANON, J. **Peixes comerciais de Manaus**. Manaus: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2006.144p.

SANTOS, R.D.; GAGLIARDI, A.C.M.; XAVIER, H.T. *et al.* Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.100, n.1, supl., p.1-40, 2013.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R.J.B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: fatty and composition of meat. **Livestock Production Science**, v.77, n.2, p.187-194, 2002.

SANTOS, M.H.S. Biogenic amines: their importance in foods. **Food Microbiology**, v.29, n.2-3, p.213-231, 1996.

SARTORI, A.G.D.O.; AMANCIO, R.D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.19, n.2, p. 83-93, 2012

SAYYED-ALANGI, S.Z.; KOHESTANI, M. Comparison of the effects of four cooking methods on chemical compositions and fatty acid profiles of Iranian silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets: a study of nutritional quality indices. **Advances in Environmental Biology**, v.9, n.3, p.253-260, 2015.

SHALABY, A.R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. **Food Research Internacional**, v.29, n.7, p.675-690, 1996.

SHERR, C.; GAGLIARDI, A.C.M.; MINAME, M.H.; SANTOS, R.D. Concentração de ácidos graxos e colesterol de peixes habitualmente consumidos no Brasil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5935/abc.20140176>>. Acesso em: 17/11/2017.

SILVA, S.R.; GUEDES, C.M.; REMA, P.; BATISTA, A.J.; RODRIGUES, V.; LOUREIRO, N.; DIAS, J. In vivo assessment of fat composition in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) by real-time ultrasonography and image analysis of subcutaneous fat. **Aquaculture**, v.456, p.76-82, 2016.

SOARES, J.L.F.; GOCH, Y.G.F.; PELEJA, J.R.P.; FORSBERG, B.R.; LEMOS, E.J.S.; SOUZA, O.P. Bioacumulação de mercúrio total (Hg_T) e hábitos alimentares de peixes da bacia do rio Negro, Amazônia, Brasil. **Biota Amazônica**, v.6, n.1, p.102-106, 2016.

SONG, C.; SHIED, C.H.; WU, Y.S.; KALUEFF, A.; GAIWAID, S.; Su, K.P. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in the treatment of major depression and Alzheimer's disease: Acting separately or synergistically? **Progress in Lipid Research**, v.62, p.41-54, 2016.

SOUZA, A.F.L.; INHAMUNS, A.J. Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazonas**, v.41, n.2, p.289-296, 2011..

SOUZA, S.M.G.; ANIDO, R.J.V.; TOGNON, F.C. Ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 na nutrição de peixes - fontes e relações. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.6, n.1, p.63-71, 2007.

SPECTOR, A.A.; KIM, H.Y. Discovery of essential fatty acids. **Journal of Lipid Research**, v.56, n.1, p.11-21, 2015.

STEVANATO, F.B.; SOUZA, N.E.; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J.V. Aproveitamento de resíduos, valor nutricional e avaliação da degradação de pescado. **Pubvet**, v.1, n.7, p.1-6, 2007.

SUN, G.Y.; SIMONYI, A.; FRITSCHKE, K.L.; CHUANG, D.Y.; HANNINK, M.; GU, Z.; BEVERSDORF, D.Q. Docosahexaenoic acid (DHA): an essential nutrient and a nutraceutical for brain health and diseases. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, 2017. In press.

THE STATE of world fisheries and aquaculture. Contributing to food security and nutrition for all. Rome: FAO, 2016.

THE STATE of world globefish research program. Risks and benefits of seafood consumption. Rome: FAO, 2013.

TOCHER, D.R. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. **Aquaculture**, v.449, p.94-107, 2015.

TONIAL, I.B.; OLIVEIRA, D.F.; BRAVO, C.E.; SOUZA, N.E.; MATSUSHITA, M.; FURUYA, W.M.; VISENTAINER, J. Qualidade nutricional dos lipídeos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração suplementada com óleo de soja. **Alimentos e Nutrição**, v.22, n.1, p.103-112, 2011.

TONIAL, I.B.; OLIVEIRA, D.F.; BRAVO, C.E.; SOUZA, N.E.; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J. Caracterização físico-química e perfil lipídico do salmão (*Salmo salar L.*). **Alimentos e Nutrição**, v.21, n.1, p.93-98, 2010.

TONIAL, I.B.; OLIVEIRA, D.F.; COELHO, A.R.; MATSUSHITA, M.; CORÓ, F.A.G.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J. Quantification of essential fatty acids and assessment of the nutritional quality indexes of lipids in tilapia alevins and juvenile

tilápia fish (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Food Research**, v.3, n.3, p.105-114, 2014.

TORRES, D.P.; TEIXEIRA, M.B.M.; SILVA, E.F.; QUEIROZ, H.M. Method development for the control determination of mercury in seafood by solid-sampling thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectrometry (TODA AAS). **Food Additives and Contaminants**, v.29, n.4, p.625-632, 2012.

TOSUKHOWONG, A.; VISESSANGUAN, W.; PUMPUANG, L.; TEPKASIKUL, P.; PANYA, A.; VALYASEVI, R. Biogenic amine formation in nham, a Thai fermented sausage, and the reduction by commercial starter culture, *Lactobacillus plantarum* BCC 9546. **Food Chemistry**, v.129, n.3, p.846-853, 2011.

ULBRICHT, T.L.V.; SOUTHGATE, D.A.T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, v.338, n.8773, p.985-992, 1991.

VASCONI, M.; CAPRINO, F.; BELLAGAMBA, F.; BUSETTO, M.L.; BERNARDI, C.; PUZZI, C.; MORETTI, V.M. Fatty acid composition of freshwater wild fish in subalpine lakes: a comparative study. **Lipids**, v.50, n.3, p.283-302, 2015.

VIRTANER, J. K.; RISSANEN, T. H.; VOUTILAINEN, S.; TUOMANAINEN, T. Mercury as a risk factor for cardiovascular diseases. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.18, n.2, p. 75-85, 2007.

VISCIANO, P.; SCHIRONE, M.; TOFALO, R.; SUZZI, G. Biogenic amines in raw and processed seafood. **Frontiers in Microbiology**, v.3, n.188, p.1-10, 2012.

WASSERMAN, J.C.; HACON, S.S.; WASSERMAN, M.A. O Ciclo do mercúrio no ambiente Amazônico. **Mundo & Vida**, v.2, n.1/2, p.46-53, 2001.

WATANABE, N.; TAYAMA, M.; INOUYE, M.; YASUTAKE, A. Distribution and chemical form of mercury in comercial fish tissues. **The Journal of Toxicological Sciences**, v.37, n.4, p.853-861, 2012.

WEIS, I.M. Mercury concentrations in fish from Canadian Great Lakes areas of concern: an analysis of data from the Canadian Department of Environment database. **Environmental Research**, v.95, n.3, p.41-350, 2004.

YAMAMOTO, K.C.; SOARES, M.G.M.; FREITAS, C.E.C. Alimentação de *Triportheus angulatus* (Spix & Agassiz, 1829) no lago camaleão, Mangos, AM, Brasil. **Acta Amazônica**, v.34, n.4, p.653-659, 2004.

YUM, H.-W.; Na, H.-K.; Surh, Y.-J. Anti-inflammatory effects of docosahexaenoic acid: Implications for its cancer chemopreventive potential. **Seminars in Cancer Biology**, v.40-41, p.141-159, 2016.

YUM, J.V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em Biodiesel e alimentos. **Química Nova**, v.35, n.2, p.274-279, 2012.

ZHAI, H.; YANG, X.; LI, L.; XIA, G.; CEN, J.; HUANG, H.; HAO, S. Biogenic amines in commercial fish and fish products sold in Southern China. **Food Control**, v.25, n.1, p.303-308, 2012.

ANEXO

Trabalho publicado no Food Research International



Mercury in fish from the Madeira River and health risk to Amazonian and riverine populations

José Maria Soares^{a,b}, José M. Gomes^b, Marcelo R. Anjos^b, Josianne N. Silveira^c, Flavia B. Custódio^{a,d}, M. Beatriz A. Gloria^a

^a LBqA - Laboratório de Bioquímica de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais 31270-901, Brazil

^b IEAA/UFAM-AM - Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente, Universidade Federal do Amazonas, Rua 29 de Agosto 786, Humaitá, Amazonas 69800-000, Brazil

^c Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais 31270-901, Brazil

^d Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro campus Macaé, Rua Aloísio da Silva Gomes 50, Granja dos Cavaleiros, Macaé, Rio de Janeiro 27930-560, Brazil



ARTICLE INFO

Keywords:

Season
Location of capture
Gold amalgamation-atomic absorption spectrometry
Tissue distribution
Amazonia
Methylmercury
Risk

ABSTRACT

The objective of this study was to quantify total mercury in highly popular Amazonian fish pacu, curimatã, jaraqui, and sardinha from the Madeira River and to estimate the exposure to methylmercury from fish consumption. The samples were obtained from two locations - Puruzinho Igarapé and Santa Rosa - near Humaitá, Amazonia, Brazil in two seasons of 2015 (high and low waters). The fish were identified, weighed and measured, and lipids were quantified. Total mercury was determined by gold amalgamation-atomic absorption spectrometry. Mean levels were used to calculate exposure of Amazonian and riverine populations. There was significant correlation ($p < 0.05$) between length \times weight for all fish; length \times lipid and weight \times lipid were significant only for pacu. Total mercury levels varied along muscle tissue for the fish, except for sardinha; therefore muscle from the dorsal area along the fish were sampled, homogenized and used for analysis. The levels of total mercury varied from 0.01 to 0.46 mg/kg, with higher median levels in sardinha (0.24 mg/kg), followed by curimatã (0.16 mg/kg), jaraqui (0.13 mg/kg) and pacu (0.04 mg/kg), corresponding with the respective feeding habits along the trophic chain. Total mercury levels were not affected by the location of fish capture and by high and low waters seasons. Total mercury correlated significantly with length and weight for jaraqui and with length for sardinha (negative correlation). Total mercury levels in fish complied with legislation; however, exposures to methylmercury from fish consumption overpassed the safe intake reference dose for sardinha for Amazonians; however, for the riverine communities, all of the fish would cause potential health risk, mainly for children and women of childbearing age.

PubChem

Nitric acid (PubChem CID: 944)

Mercury (PubChem CID: 23931)

1. Introduction

It is well recognized that moderate consumption of fish plays important roles in human nutrition and health (Mozaffarian & Rimm, 2006). Fish can also be the main protein and nutrients source for some individuals, like those from communities in the Amazon basin, where fish complements a cassava-based diet. Around 500 g fish is consumed

daily per capita (148.2–180.0 kg per capita per year) by nearly 500,000 inhabitants of the rural and riverine areas of the Amazon basin (Hacon et al., 2014; IDAM/SEPROR, 2015; Oliveira et al., 2010).

However, fish can also be a source of environmental mercury (Hg) exposure (Oliveira et al., 2010). Mercury has a complex biogeochemical cycle, which includes biomagnification and biotransformation into more bioavailable forms. Mercury in fish is mainly present in the muscle tissue as methylmercury (MeHg), representing up to 98% of the total mercury. > 95% of the ingested methylmercury is absorbed by the human body. Methylmercury is the main toxic form of mercury with neurotoxicity effects that may also adversely affect early neurodevelopment (Azevedo-Silva et al., 2016; Bastos et al., 2015; Gendzier,

Corresponding author.

E-mail address: mbeatriz@ufmg.br (M.B.A. Gloria).

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.069>

Received 23 January 2018; Received in revised form 26 March 2018; Accepted 30 April 2018

Available online 02 May 2018

0963-9969/ © 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

2010; Watanabe, Tayama, Inouye, & Yasutake, 2012; WHO, 2008). As a result, exposure to methylmercury in fish is a health concern, especially to the Amazonian population (Azevedo-Silva et al., 2016; Bastos et al., 2015; Bastos, Rebelo, Fonseca, Almeida, & Malm, 2008; Mozaffarian & Rimm, 2006; WHO, 2008). In 2003, in the light of new information, JECFA recommended reduction of the methylmercury provisional tolerable weekly intake (PTWI) to 1.6 µg per kg body weight per week based on the most sensitive toxicological end-point (developmental neurotoxicity) in the most susceptible species (hu-mans), mainly women of childbearing age in order to protect the em-bryo and fetus (FAO, 2016). Due to mercury biomagnifications, the Codex Alimentarius Commission (2015) established guidelines levels for methylmercury in non-predatory and predatory or piscivorous fish species (0.5 and 1.0 mg/kg respectively). In a similar way, according to Brazilian legislation (Brasil, 2013), the maximum levels for total mercury in non-predatory and predatory fish species are, respectively, 0.5 and 1.0 mg/kg.

The Amazon region has been the main gold producer in Brazil since the 1970s resulting in the release of tons of mercury to the environment. Although gold mining in the Madeira River basin has decreased significantly from 1995 onwards in Brazil, there are still artisanal gold-mining activities making use of mercury, for example, near Humaitá, AM. Furthermore, mining activities continue in the Bolivian and Peruvian side. The mercury released eventually drains into Brazilian waters and it is also transported through sediments (Azevedo-Silva et al., 2016; Bastos et al., 2015; Bastos & Lacerda, 2004; Hacon et al., 2014; Herraiz & Silva, 2015).

The relevance of fish to the Amazonian relies not only as a source of food/protein but of income as well. Artisanal fishing is one of the segments which provide more jobs in the state of Amazonas. There are > 45,000 fishermen and > 200,000 directly related jobs associated with its productive chain and byproducts. Fishing, therefore, provides income to the riverines and also to individuals in the cities, contributing to the fixation of man at their origins (Bastos et al., 2008; Hacon et al., 2014; IDAM, 2017). In the municipalities of Humaitá, AM, artisanal fishing has high socioeconomic expression. The production varies from 178 to 298 t monthly and it involves several different fish species. Among the eight most captured fish species, pacu, jaraqui, curimatã and sardinha represent 60% of the consumed fish (Bastos & Lacerda, 2004; Lima, Freitas, Moraes, & Doria, 2016).

Madeira River is the main affluent of the Amazonas River and it is also the main source of suspended sediments and dissolved solids (Herraiz & Silva, 2015). Studies have been undertaken in the Madeira River in order to diagnose the presence of mercury in fish. Studies since the 1980s indicated that mercury has been detected in every fish analyzed at different levels (Bastos et al., 2008; Hacon et al., 2014). However, information concerning mercury in fish from Amazonian Rivers is frequently unsatisfactory because of insufficient information of fish names (which vary from region to region), precise description of fish feeding hierarchy, and information related to fish size (length or weight), which are important parameters in controlling the random nature of fish sampling (Bastos et al., 2015). Furthermore, data are scarce on mercury levels in fish from the region of Humaitá, AM, in which fishing is relevant as food and income source and there are still artisanal mining activities (Herraiz & Silva, 2015; Lima et al., 2016). Information is needed on mercury levels in the most consumed fish and also on the exposure of individuals to this toxic compound.

Several methods are available for total mercury quantification, including commercial analyzers based on combustion-atomic absorption spectrometry (AAS) such as a system that integrates combustion of the sample, pre-concentration of mercury by amalgamation with gold, and AAS. It can be used reliably to determine total-mercury in fish tissues with accuracy, precision, and detection limits acceptable for most applications. The method is rapid, requires small amounts of sample and no sample preparation, it exhibits excellent mercury recovery, has low risk of contamination, and produces virtually no laboratory waste

(Cizdziel, Hinnners, & Heithmar, 2002; USEPA, 2007). Although methylmercury is the toxic form of mercury, total mercury has been widely used to estimate the occurrence and the impact of mercury in the population health (Brasil, 2013; WHO, 1990).

Based on this information, the objective of this study was to investigate the contents of total mercury in four widely consumed fish from the Madeira River; the spatial distribution of mercury along the fish; and the influence of location of fish capture and season (high and low waters) on mercury contents. Furthermore, total mercury contents in fish were used to estimate the exposure of the population to methylmercury through the consumption of fish. The generation of knowledge on mercury in Amazonian environments is very important from the human health point of view, due to the importance of fish in the diet of Amazonian riverines and general population (Azevedo-Silva et al., 2016).

2. Experiments/material and methods

2.1. Material

2.1.1. Reagents

Nitric acid p.a. (68–70%) was purchased from Êxodo Química (Sumaré, SP, Brazil) and mercury standard for Inductively Coupled Plasma - ICP (99.8%) was purchased from Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA). Ultrapure water was obtained from Milli-Q™ (Millipore Corp., Milford, MA, USA).

2.1.2. Fish samples

Four of the most widely consumed fish species in Humaitá, AM, Brazil, were used in this study, including pacu (pacu manteiga, *Mylossoma duriventre*, Characidae family, herbivorous), jaraqui (jar-aqui escama grossa, *Semaprochilodus insignis*, Prochilodontidae family, detritivorous), curimatã (*Prochilodus nigricans*, Prochilodontidae family, detritivorous), and sardinha (sardinha chata, *Tripottheus angu-latus*, Clupeidae family, omnivorous). The fish (384 samples) were obtained from fishermen/warehouse immediately after arrival, in two different locations of the Madeira river – Puruzinho Igarapé (Latitude 07°23'14.9" S; Longitude 62°00'04.8" W) and Santa Rosa (Latitude 07°21'50.2" S; Longitude 62°59'08.5" W). They were obtained during two different seasons – high water/rainy (May 2015) and low water/dry season (October 2015).

The fish were kept in isothermal boxes containing crushed ice and were taken immediately to the Laboratório de Engenharia Ambiental at Universidade Federal do Amazonas-UFAM, Humaitá, AM. The fish were taxonomically classified (Santos, Ferreira, & Zuanon, 2006; Souza & Inhamuns, 2011), weighed and the length was measured. The samples were further processed, if necessary, and frozen for transportation to the Laboratório de Bioquímica de Alimentos at Universidade Federal de Minas Gerais (LBqA-UFMG) for analysis.

2.2. Experimental design

2.2.1. Distribution of mercury along the fish

Fish samples (12 from each species) were used to investigate the spatial distribution of mercury along the fish muscle tissue, which are shown schematically in Fig. 1. The fish were captured in Puruzinho during the high water season (May 2015). The fish scales were removed and six pieces of muscle were taken using a stainless steel scalpel (2 cm diameter and 1 cm deep) along the fish muscle, three from the dorsal (P1, P2 and P3) and three from the upper belly area (P4, P5 and P6). The skin was removed from the fish muscle. The scalpel was cleaned between uses. The samples (12 × 4 × 6 = 288) were frozen and kept at -80 °C until analysis. A randomized block design was used for the six points along the fish muscle and 12 repetitions for each fish species.

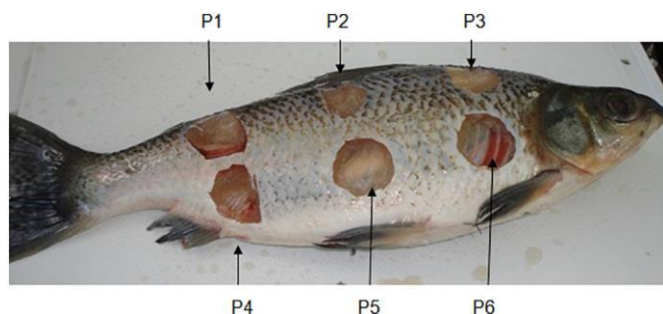


Fig. 1. Photography illustrating the points along the fish muscle from where samples were collected to investigate distribution of total mercury along the fish – dorsal area (P1, P2 and P3) and belly area (P4, P5 and P6).

2.2.2. Influence of the location of capture and the season on total mercury levels in fish

Fish samples were collected from two different locations – Puruzinho and Santa Rosa, both in the Madeira river, near Humaitá, AM, Brazil. They were collected during two seasons – high water/rainy (May 2015) and low waters/dry (October 2015). A completely randomized factorial design was used - $2 \times 2 \times 4$ (2 locations, 2 seasons and 4 species) with six repetitions.

2.2.3. Estimation of methylmercury exposure from fish

The risk to human health by methylmercury exposure from fish consumption was estimated by a deterministic model using Eq. (1) (WHO, 2008).

$$\text{Exposure} = [\text{Mean methylmercury } (\mu\text{g/Kg}) \times \text{weekly fish consumption (Kg)}] / [\text{Body weight (kg)}] \quad (1)$$

Methylmercury levels were calculated from total mercury, considering that 90% of the total mercury in fish is in the methylmercury form (FAO, 2013; WHO, 2008). The estimated weekly intake of methylmercury was calculated using mean levels of methylmercury in each species and also the mean of all species.

The per capita consumption of fish used for the North Region of Brazil (0.665 kg/week) was derived from a survey conducted by Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011) from July 2008 to June 2009. The per capita consumption of fish for the riverines of Madeira River (2.842 kg/week) described by Oliveira et al. (2010) was also considered. The body weight established by WHO (2008) for adults of 60 kg was used.

Total mercury was converted into methylmercury by multiplying total mercury by 0.90 (WHO, 2008; Watanabe et al., 2012) as most of the mercury in fish is in the methylmercury form. The estimated dietary exposure to methylmercury was expressed in micrograms per kilogram body weight per week and compared to a threshold of 1.6 $\mu\text{g/kg}$ body weight (bw), corresponding to the provisional tolerable weekly intake (PTWI) for methylmercury (JECFA, 2003).

2.3. Methods of analysis

2.3.1. Characteristics of the fish

The fish were characterized regarding length, weight and content of lipids. Fish samples were weighed in a semi-analytical balance (Ohaus Explorer Pro, Barueri, SP, Brazil) and the standard length (the distance from the tip of the nose until the caudal fin) was measured with a measuring tape.

Total lipids were quantified after extraction from fish muscle by the Bligh and Dyer method (Bligh & Dyer, 1959).

2.3.2. Determination of total mercury in fish

Total mercury in fish was determined by means of a Direct Mercury Analyzer® (DMA-80, Milestone, Sorisole, Italy), which is based on gold

amalgamation-atomic absorption spectrometry (Makedonski, Peycheva, & Stancheva, 2015; Panichev & Panicheva, 2015; USEPA, 2007). It included a catalyzing system (DMA 8133, Milestone) which liberates mercury from the sample and a gold amalgamation system (DMA 8134, Milestone) which captures mercury vapors. Compressed air was used as combustion and carrier gas. Quartz and nickel boats were used for standards and samples, respectively. The drying and decomposition temperatures/time were 250 °C/150 s and 650 °C/60 s, respectively. The amalgamator heating time was 12 s, which was recommended by Milestone. Readings of the absorbance were taken at 253.7 nm.

The frozen fish samples were semi-thawed at room temperature, homogenized and blended thoroughly and 10 to 100 mg samples was weighed into the boats, which were previously cleaned in the oven at 80 °C.

The levels of total mercury, expressed in mg/kg fresh weight, were quantified by means of analytical curves ranging from 1 to 8.5 ng ($R^2 \geq 0.99617$) using quartz boats (USEPA, 2007). A blank (i.e., an empty sample boat) was analyzed periodically to make sure that mercury was not being carried over between samples. Recoveries varied from 96% to 103% (mean = 99%) and the limit of quantification (LOQ) of the method was 0.01 $\mu\text{g/kg}$.

2.4. Statistical analysis

Normality and homocedasticity of the data were tested. Non parametric results were compared by Friedman and Kruskal Wallis tests, whereas parametric results were compared by Tukey test, at 5% probability (Sampaio, 2015). Pearson correlation was used to investigate correlation among total mercury content, lipid content and weight and length of the fish.

3. Results and discussion

3.1. Characteristics of the fish

The fish were characterized regarding length, weight and content of lipids as indicated in Table 1. Overall, the length of the fish varied from 16.67 cm in pacu to 27.83 cm in curimatã, with largest values for curimatã and jaraqui and smaller values for pacu and sardinha. The length of the fish was not affected by the location or season for curimatã and jaraqui; however, pacu was larger in Santa Rosa compared to Puruzinho in the high waters season and sardinha was larger in Santa Rosa compared to Puruzinho in the low waters season.

With respect to the weight of the fish, they varied from 117.75 g (sardinha) to 431.17 g (jaraqui). Curimatã, jaraqui and pacu were heavier compared to sardinha. The location of capture and season did not affect the weight of curimatã and sardinha; however, jaraqui from Puruzinho were heavier compared to the one from Santa Rosa in both seasons and pacu from Santa Rosa was heavier compared to pacu from Puruzinho in the high waters season.

Lipid contents of the fish muscle varied from 0.72 g/100 g in jaraqui to 11.63 g/100 g in pacu. Higher contents of lipids were found in pacu and sardinha compared to curimatã and jaraqui. The season affected the contents of lipids in jaraqui from Santa Rosa, with higher levels in the low waters compared to the high waters season. No information was found regarding these characteristics for these fish species.

According to Table 2, there was significant positive correlation between length and weight for all four fish; however, there was significant positive correlation between lipid and length only for pacu and between lipid and weight only for pacu and sardinha. Significant correlation was also found between weight and length for other types of fish from Negro River (Soares et al., 2016).

3.2. Distribution of mercury along the fish muscle

The levels of total mercury in the different points along the fish

Table 1

Mean (median) levels of total mercury and lipids in the muscle and length and weight of four fish species captured in two different locations in the Madeira River (Puruzinho and Santa Rosa), near Humaitá, AM, Brazil and in two different seasons (high and low waters) in 2015.

Fish/Places	Seasons (Waters)	Parameters			
		Hg (mg/kg)	Lipid (g/100 g)	Length (cm)	Weight (g)
Pacu					
Puruzinho	High	0.05 ^{ef}	6.68 ^e	18.08 ^a	165.76 ^{abc}
	Low	0.04 ^f	6.59 ^e	16.67 ^a	195.51 ^{abcd}
Santa rosa	High	0.05 ^{ef}	11.63 ^c	22.42 ^{bcd}	357.62 ^{fg}
	Low	0.06 ^{def}	5.86 ^{de}	20.08 ^{abc}	200.60 ^{abcd}
Jaraqui					
Puruzinho	High	0.12 ^{cde}	1.89 ^{ab}	25.50 ^{de}	281.26 ^{def}
	Low	0.22 ^{ab}	2.03 ^{ab}	24.42 ^{de}	431.17 ^g
Santa rosa	High	0.09 ^{def}	0.72 ^a	22.17 ^{bcd}	170.75 ^{abc}
	Low	0.18 ^{abc}	2.41 ^{bcd}	25.50 ^{de}	258.69 ^{cdef}
Curimatã					
Puruzinho	High	0.17 ^{abc}	1.85 ^{ab}	25.50 ^{de}	233.98 ^{bcd}
	Low	0.17 ^{abc}	1.89 ^{ab}	27.83 ^e	327.71 ^{efg}
Santa rosa	High	0.13 ^{abc}	2.25 ^{abc}	26.75 ^e	299.93 ^{abc}
	Low	0.13 ^{abc}	1.71 ^{ab}	26.75 ^e	311.98 ^{ef}
Sardinha					
Puruzinho	High	0.28 ^{abc}	5.48 ^{cde}	22.08 ^{bcd}	119.10 ^a
	Low	0.21 ^{abc}	5.51 ^{cde}	19.25 ^{ab}	117.75 ^a
Santa rosa	High	0.29 ^a	11.36 ^c	20.08 ^{abc}	135.31 ^{ab}
	Low	0.13 ^{bcd}	5.92 ^{cde}	23.08 ^{cd}	123.58 ^a

n = 96.

Median values with different superscripts in the same column are significantly different (Kruskal- Wallis test, p ≤ 0.05).

Mean values with different superscripts in the same column are significantly different (Tukey test, p ≤ 0.05).

(Fig. 1) did not show normal distribution and were not homocedastic, therefore, the non-parametric test of Friedman (p < 0.05) was used (Sampaio, 2015). According to Table 3, the levels of total mercury along the fish muscle varied depending on the fish species. For pacu, the levels of mercury in the upper, dorsal part of the fish (P1–P3) were significantly higher compared to the lower part (P4–P6). No significant difference was observed among samples from the dorsal part of the fish; however, at the lower (belly) part, higher levels were found near the tail (P4) compared to the middle and near the head. For jaraqui, higher levels of mercury were also found in the dorsal part of the fish and also at the belly part at the extremities (P1–P4 and P6), and lower levels were found in the middle of the belly part of the fish (P5). Curimatã had higher mercury levels in the dorsal area, near the head (P3) and lower levels in the middle of the belly area (P5), no significant difference was found for the levels in the other locations. In the case of sardinha, no significant difference was found among the locations.

Based on these results, each fish species accumulated total mercury in the muscle tissue in a different way; however, there was a tendency

Table 2

Pearson correlation among levels of total mercury and lipids in the muscle and length and weight of four fish species from the Madeira River, near Humaitá, AM, Brazil in two seasons (high and low waters) in 2015.

Parameters	Correlation coefficients (p-value)/species			
	Pacu	Jaraqui	Curimatã	Sardinha
Length (cm) × weight (g)	0.86 (< 0.0001)	0.59 (0.0023)	0.88 (< 0.0001)	0.44 (0.0311)
Length (cm) × lipid (g/100 g)	0.58 (0.0030)	0.17 (0.4359)	0.16 (0.4430)	-0.15 (0.4858)
Weight (g) × lipid (g/100 g)	0.72 (0.0001)	0.29 (0.1744)	0.21 (0.3208)	0.41 (0.0454)
Hg (mg/Kg) × length (cm)	-0.03 (0.8741)	0.52 (0.0095)	0.06 (0.7775)	-0.57 (0.0038)
Hg (mg/kg) × weight (g)	-0.08 (0.7067)	0.80 (< 0.0001)	-0.06 (0.7815)	-0.28 (0.1890)
Hg (mg/kg) × lipid (g/100 g)	-0.15 (0.4847)	0.25 (0.2470)	-0.13 (0.5399)	0.09 (0.6852)

n = 24 for each fish species.

Table 3

Median levels (minimum - maximum) of total mercury in mg/Kg muscle tissue from different points along the fish from the Madeira River.

Locations in fish	Total mercury levels (mg/Kg)/fish species			
	Pacu	Jaraqui	Curimatã	Sardinha
P1	0.050 ^a (0.030–0.140)	0.103 ^a (0.080–0.140)	0.126 ^b (0.090–0.180)	0.278 ^a (0.080–0.460)
P2	0.052 ^a (0.030–0.140)	0.099 ^a (0.070–0.130)	0.137 ^{ab} (0.090–0.180)	0.268 ^a (0.080–0.420)
P3	0.051 ^a (0.030–0.140)	0.099 ^a (0.070–0.140)	0.146 ^a (0.090–0.210)	0.284 ^a (0.090–0.480)
P4	0.045 ^b (0.030–0.150)	0.099 ^{ab} (0.070–0.150)	0.136 ^{ab} (0.090–0.180)	0.273 ^a (0.080–0.450)
P5	0.036 ^c (0.030–0.150)	0.094 ^b (0.060–0.140)	0.132 ^b (0.100–0.180)	0.289 ^a (0.060–0.640)
P6	0.039 ^c (0.020–0.100)	0.100 ^a (0.060–0.140)	0.138 ^{ab} (0.100–0.200)	0.250 ^a (0.090–0.440)

n = 12. Mean values in the same column with different superscripts are significantly different (Friedman test, p ≤ 0.5%).

for higher levels in the dorsal compared to the belly/bottom area of the fish, with lower levels especially in the middle of the bottom part. However, different from these results, a relatively uniform distribution of mercury within fish muscle were observed by Cizdziel et al. (2002) for six fish species from a lake in the United States, including trout, striped and largemouth bass, tilapia, catfish and bluegill. They investigated total mercury levels at 27 different locations of the skeletal muscle and found no significant difference (p > 0.05) on mercury levels among sites.

Among factors that can affect mercury levels in muscle tissues, diet and body fat play important roles. Differences in mercury levels along the muscle of some fish could be associated with fat deposits in the muscle which vary among fish species and are also affected by dietary factors (Silva et al., 2016). Indeed, most of the mercury in fish is available as methylmercury, which is lipophilic (WHO, 2008) and, therefore, fish with higher amounts of adipose tissue retains higher levels of mercury (Soares et al., 2016). However, when correlating total mercury with lipids contents very poor correlations were found, with positive coefficients for pacu and jaraqui, and negative for curimatã and sardinha (Table 2). In addition, the distribution of mercury in fish results from its mobility, which depends on the absorption route from gills, skin and gastrointestinal tract to the blood and internal organs for final deposition in the muscle and kidney or elimination through the bile (Ceccatto et al., 2016; Cizdziel et al., 2002; Régine, Gilles, Yannick, & Alain, 2006; Watanabe et al., 2012).

Considering that the muscle from the dorsal area along the fish was considered the best to evaluate the contents of total mercury, and that it represents the bulk mass of the fish muscle, a procedure was established for the analysis of the fish samples. This procedure was used throughout this study. Briefly, the whole dorsal muscle was taken from each fish and it was homogenized by repeated chopping and mixing of the semi-

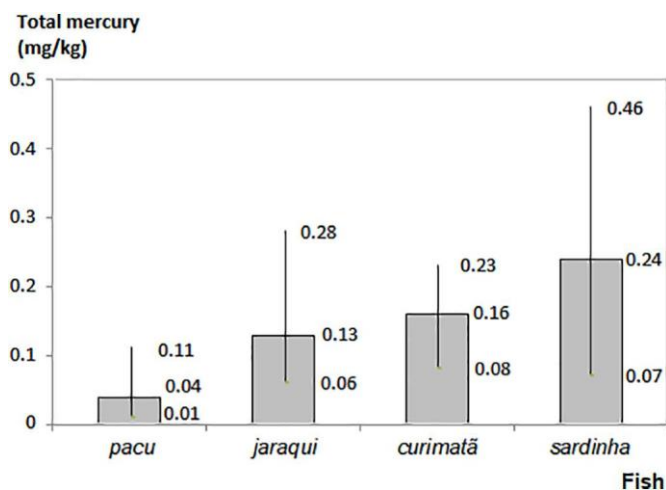


Fig. 2. Median levels of total mercury in different species of fish widely consumed in the Madeira River basin captured at two locations (Puruzinho and Santa Rosa), near Humaitá, AM, Brazil, in May and October 2015. Minimum and maximum levels are also shown (lower and upper values, respectively, indicated by the vertical lines) for each fish.

thawed tissue followed by blending using a commercial blender that had been cleaned and rinsed with deionized water prior to use.

3.3. Total mercury contents in the different fish species

Every fish sample analyzed contained detectable levels of total mercury. The levels of total mercury in the fish did not follow normal distribution and were not homocedastic. Therefore, the non-parametric test of Kruskal Wallis at 5% significance was used to compare results (Sampaio, 2015). The overall contents of total mercury in the fish ranged from 0.01 to 0.46 mg/kg ($n = 96$, LOQ = 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$), and the variation of contents within each species is shown in Fig. 2. Smaller variation on total mercury contents were observed for pacu (0.01 to 0.11 mg/kg) and larger variations for sardinha (0.07 to 0.46 mg/kg). In a similar way, lower median value was observed for pacu (0.04 mg/kg), followed by curimatã (0.13 mg/kg) and jaraqui (0.16 mg/kg), with higher median for sardinha (0.24 mg/kg).

These results are coherent with the biomagnification of mercury. Indeed, the presence of mercury in fish allows bioaccumulation related to the feeding habits along the trophic chain, with the increasing order for herbivorous, detritivorous, omnivorous and carnivorous (Lima et al., 2016). Since pacu is herbivorous, jaraqui and curimatã are detritivorous, and sardinha is omnivorous, the contents of total mercury in each fish are coherent with their feeding habits (Azevedo-Silva et al., 2016; Bastos et al., 2015; Oliveira et al., 2010; Régine et al., 2006).

These levels of total mercury are similar or lower compared to values reported in the literature for fish from the Madeira basin at different locations (Bastos et al., 2008; Bastos et al., 2015; Hacon et al., 2014) and also for locations near Puruzinho, but at the lake (Azevedo-Silva et al., 2016; Oliveira et al., 2010). In the study undertaken in Puruzinho Lake in 2005–2006 (Oliveira et al., 2010), which is further inland from the Madeira river, lower mean total mercury levels were found for curimatã, similar values for pacu and jaraqui and lower in sardinha. In this relatively isolated community, the daily per capita fish consumption was 406 g/day with fish meals ranging from 4 to 14 times/week and the mean hair-mercury contents was high ($17.4 \pm 11.5 \mu\text{g}/\text{g}$).

Pearson correlation indicated that significant correlation was only observed for jaraqui between total mercury \times weight and total mercury \times length (positive), and for sardinha between total mercury and length – negative correlation (Table 2). In a similar way, negative correlation was observed between total mercury \times size for other

omnivorous fish (Bastos et al., 2015).

Based on these results, the levels of total mercury in fish from the Madeira river have similar or slightly lower levels compared to previous studies, and, therefore, the contamination of the river remains in spite of official measures to mitigate mercury use, especially near riverine communities which depend heavily on fish as the main source of protein (Bastos et al., 2015; Oliveira et al., 2010). These results emphasize the possibility of health problem generated by the continuous and long term exposure of riverine communities to mercury.

The total levels of mercury found in the fish are below the limit of 0.5 mg/kg established by Brazil (Brasil, 2013) and also limits established in other countries and communities (WHO, 1990); however, there is need for the continuous monitoring of mercury levels, mainly the most widely consumed species by the riverine communities. Measures are also needed to mitigate contamination, by better monitoring through regulatory agencies and educational programs with respect to fish consumption especially vulnerable individuals, i.e. children, pregnant women and women at childbearing age.

3.4. Total mercury contents in fish captured at different locations

The contents of total mercury in fish from the two locations in the Madeira River, near Humaitá, AM, are described in Table 1 – Santa Rosa and Puruzinho Igarapé. These are typical fishing areas which provide fish to the riverine communities and also to Humaitá. Puruzinho is the closest to Humaitá, downstream; and Santa Rosa is further downstream, but closest to artisanal gold mining boats sites.

No statistical difference on total mercury contents between locations of capture for all fish species was found ($p > 0.05$). However, the contents of total mercury in jaraqui from Puruzinho in the low waters season were higher than to the one from Santa Rosa in the high waters season; however jaraqui from Puruzinho in the dry season were significantly heavier compared to other jaraqui, and this may be the reason why the levels of total mercury were higher in these heavier fish.

Therefore, these results suggest that the place of capture within the Madeira River did not affect total mercury content in the fish despite the different characteristics of the two places. Similar results were described in the literature for other locations of the Madeira River, suggesting that mercury content in fish in this river is not site-specific (Bastos et al., 2008; Bastos et al., 2015).

3.5. Total mercury contents in fish captured in the different seasons

The levels of total mercury in fish from the different seasons –high water/rainy and low waters/dry were not statistically different ($p > 0.05$) for both curimatã and pacu, as indicated in Table 1. In a similar way, there seems to be no significant difference between seasons for jaraqui and sardinha, even though there were two peculiar situations in which differences were observed. In the first, jaraqui from both Puruzinho and Santa Rosa had higher total mercury in the low water season compared to high waters; but jaraqui from the low water were heavier compared to the high water season, which can account for the difference in total mercury levels. Similar results have been reported for other detritivorous fish, and it was reasoned that the high water season causes dilution of mercury in the water bed, decreasing its availability. Furthermore, during the high waters season, artisanal gold-mining activities are stopped due to high waters (Bastos et al., 2008).

In the second case, sardinha from Santa Rosa in the rainy season had higher levels of total mercury compared to the dry season. It also had higher levels of lipids, twice as much for both total mercury and lipids, however no correlation was found between total mercury levels and lipids in sardinha (Table 2). Moreover, studies on the feeding habits of sardinha indicated that in the high waters season there is higher availability of feed (zooplankton, algae, vegetables remains, fruits, seeds and insects), whereas in the low waters season only feed with lower bio-accumulation of mercury are available (Oliveira et al., 2010).

Table 4

Levels of total mercury and methylmercury in fish and estimated exposure to methylmercury from consumption of four fish species from the Madeira River by the Northern Brazilian and riverine population near Humaitá, AM, Brazil.

Population/Fish	Levels ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		Exposure ($\mu\text{g}/\text{kg}$ bw week)	% PWTI ^c
	Hg	MeHg		
Northern Brazilian ^a				
Pacu	50	45	0.499	31.2
Jaraqui	110	99	1.097	68.6
Curimatã	150	135	1.496	93.5
Sardinha	290	261	2.893	180.8
Mean	150	135	1.496	93.5
Riverine ^b				
Pacu	50	45	2.132	133.3
Jaraqui	110	99	4.689	292.9
Curimatã	150	135	6.395	399.7
Sardinha	290	261	12.363	772.7
Mean	150	135	6.395	399.7

MeHg: methylmercury; bw: body weight (60 kg); PTWI: provisional weekly tolerable ingestion.

a) Consumption of fish per week in the Northern Region of Brazil: 0.665 kg (IBGE, 2011).

b) Consumption of fish per week by the riverine population of Madeira River: 2.842 kg (Oliveira et al., 2010).

3.6. Evaluation of methylmercury exposure from fish consumption

The estimated methylmercury exposure from fish consumption considering the contents of total mercury in fish demonstrated in the present study is described in Table 4. In order to characterize the risk of the population from the North region of Brazil and of the riverine of Madeira River to methylmercury exposure through the consumption of fish, the estimated intake was compared with the toxicological parameter of safe intake, i.e. PTWI 1.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw per week (JECFA, 2003). A potential health risk to the population was identified when the estimated exposure exceeds the reference value.

It is interesting to observe that even though mercury levels detected in fish were in compliance with legislation, the consumption of most of these fish would represent exposure to methylmercury above the safe limit of intake, which is a risk to the Amazonian population. According to current results, if one uses pacu (herbivorous fish) as the only source of fish by Northern Brazilian population, methylmercury levels would provide an exposure below the safe limit of intake for methylmercury (31.2% of PTWI) established by JECFA (2003). When considering the contents of methylmercury calculated in detritivorous fish, the exposure would vary from 69% to 93.5% (jaraqui and curimatã, respectively) of PTWI. The highest methylmercury exposure (181% of PTWI) was related to sardinha consumption, which is omnivorous.

These values for methylmercury exposure are of concern mainly to the more susceptible groups, such as children, pregnant women and women of childbearing age. JECFA (2003) and FAO (2016) consider that intakes up two times higher than the existing PTWI would not pose any neurotoxicity risk in adults.

When considering the riverine communities of the Madeira River which use fish as the main source of protein, fish consumption (148.2 to 180 kg per capita per year) is much higher compared to the overall Amazonian population (Hacon et al., 2014; Oliveira et al., 2010). Considering the fish consumption reported by Oliveira et al. (2010), exposures to methylmercury of 133% to 773% above the safe limit of intake were found. These values are around four times higher than the estimated methylmercury exposure for the Northern Brazilian population. Alteration in visual function, tinnitus and behavioral manifestations of neurological effects on motor functions in the Amazon Basin population, typical of methylmercury exposure have been reported in the literature (Cardoso et al., 2014; Hoshino et al., 2015).

Therefore, because of methylmercury contamination in fish and due to the relevance of fish to the diet of Madeira River riverines, it is suggested that fish selection for consumption should be directed to-wards herbivorous or those which tend to accumulate lower concentrations of mercury. Among the fish included in this study, species like pacu could be eaten without restrictions, curimatã and jaraqui should be consumed with moderation and fish like sardinha should be avoided mainly for women of childbearing age.

The concentrations of methylmercury calculated in fish and the estimated intake by Amazonians confirm that mercury is still a serious problem resulting in threat to human health in the region and deserve continuous monitoring programs and long term initiatives to minimize health problems associated with this heavy metal.

4. Conclusions

The four most popular fish from the Madeira River were characterized regarding weight, length and lipids content. Significant correlation was found between weight \times length for all of them. Lipid correlated with length for pacu and with weight for pacu and sardinha. Total mercury content varied along the muscle of the fish, except for sardinha. Therefore, sampling was performed with the dorsal muscle tissue along the fish followed by homogenization to have a representative and homogeneous sample. Total mercury levels varied widely (0.01–0.46 mg/kg) in the fish. Higher median levels were found in sardinha (0.24 mg/kg), followed by curimatã (0.16 mg/kg), jaraqui (0.13 mg/kg) and pacu (0.04 mg/kg), corresponding with the respective feeding habits along the trophic chain. Total mercury levels were not affected by the location of fish capture and by high and low waters seasons. There was significant positive correlation between total mercury levels \times length for jaraqui however it was negative for sardinha. Total mercury correlated significantly with length and weight for jaraqui and with length for sardinha (negative correlation).

Mercury levels in fish complied with legislation; however, because of the high fish consumption, the estimated intake exceeds the PTWI 1.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw per week (JECFA, 2003) and, therefore, represents a potential health risk to the population. Therefore, it is suggested that campaigns encourage and guide the vulnerable population to select fish with lower mercury contamination, such as herbivorous fish and to consume moderately other fish.

Acknowledgements

The authors acknowledge Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM (Manaus, AM, Brazil), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG (Belo Horizonte, MG, Brazil), Coordenação de Pessoal de Nível Superior – CAPES, and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Brasília, DF, Brazil) for the financial support.

Conflict of interest

The authors do not have any conflict of interest.

References

- Azevedo-Silva, C. E., Almeida, R., Carvalho, D. P., Ometto, J. P. H. B., Camargo, P. B., Dorneles, P. R., ... Torres, J. P. M. (2016). Mercury biomagnification and the trophic structure of the ichthyofauna from a remote lake in the Brazilian Amazon. *Environmental Research*, 151, 286–296.
- Bastos, W. R., Dórea, J. G., Bernardi, J. V. E., Lauthartte, L. C., Mussu, M. H., Lacerda, L. D., & Malm, O. (2015). Mercury in fish of the Madeira river (temporal and spatial assessment), Brazilian Amazon. *Environmental Research*, 140, 191–197.
- Bastos, W. R., & Lacerda, L. D. (2004). Mercury contamination in the Madeira river basin: A short review. *Geochimica Brasiliensis*, 18(2), 99–114.
- Bastos, W. R., Rebelo, M. F., Fonseca, M. F., Almeida, R., & Malm, O. (2008). A description of mercury in fishes from the Madeira River Basin, Amazon, Brazil. *Acta Amazonica*, 38(3), 431–438.

- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. A. (1959). Rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917.
- Brasil (2013). Resolução – RDC nº 42, de 24 de agosto 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. Vol. 168. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos (pp. 33–35). Brasília: Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Diário Oficial da União Seção 1, n.
- Cardoso, N. A., Hoshino, A. C. H., Perez, M. A., Bastos, W. R., Carvalho, D. P., & Câmara, V. M. (2014). Tinnitus in a riverside population exposed to methyl-mercury. *Audiology Communication Research*, 19(1), 40–44.
- Ceccatto, A. P. S., Testoni, M. C., Ignácio, A. R. A., Santos-Filho, M., Malm, O., & Díez, S. (2016). Mercury distribution in organs of fish species and the associated risk in traditional subsistence villagers of the pantanal wetland. *Environmental Geochemistry and Health*, 38, 713–722.
- Cizdziel, J., Hinners, T., & Heithmar, E. (2002). Determination of total mercury in fish tissues using combustion atomic absorption spectrometry with gold amalgamation. *Water, Air, and Soil Pollution*, 135(1), 355–370.
- Codex Alimentarius Commission (2015). General standards for contaminants and toxins in food and feed. 48 (revised in 2009 and amended in 2015).
- FAO (2013). The state of world globe fish research program. Risks and benefits of seafood consumption. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- FAO (2016). The state of world fisheries and aquaculture. Contributing to food security and nutrition for all. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome.
- Gendzier, J. (2010). Risk and regulation: Methylmercury exposure and fish consumption. *Engineering and Natural Sciences*, 6(1), 1–9.
- Hacon, S. S., Dorea, J. G., Fonseca, M. F., Oliveira, B. A., Mourão, D. S., Ruiz, C. M. V., ... Bastos, W. R. (2014). The influence of changes in lifestyle and mercury exposure in riverine populations of the Madeira river (Amazon basin) near a hydroelectric project. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11, 2437–2455.
- Herraiz, A. D., & Silva, M. N. S. (2015). Social and environmental diagnostic of the family mining in the river Madeira region, Humaitá, Brazilian Amazonia. *Revista Pegada*, 16(2), 202–226. <http://revista.fct.unesp.br/index.php/pegada/article/viewFile/3892/3209>.
- Hoshino, A., Pacheco-Ferreira, H., Sanches, S. G. G., Carvalho, R., Cardoso, N., Perez, M., & Câmara, V. M. (2015). Mercury exposure in a riverside Amazon population, Brazil: A study of the ototoxicity of methylmercury. *International Archives of Otorhinolaryngology*, 19, 135–140.
- IBGE (2011). Pesquisa de orçamentos familiares 2008–2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil/IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. Rio de Janeiro, RJ150.
- IDAM (2017). Instituto de desenvolvimento agropecuário e florestal sustentável do estado do Amazonas. Disponível Em. www.idam.am.gov.br/afeter/aquicultura-e-pesca/. Accessed date: 13 May 2017.
- IDAM/SEPROR (2015). Instituto de desenvolvimento agropecuário e florestal sustentável do estado do Amazonas/secretaria de Estado de produção rural e sustentabilidade. Disponível Em. www.idam.am.gov.br/sepror. Accessed date: 13 May 2017.
- JECFA (2003). Report of the sixty-first meeting, joint FAO/WHO expert committee on food additives. Rome10–19 (June 2003).
- Lima, M. A. L., Freitas, C. E. C., Moraes, S. M., & Doria, C. R. C. (2016). Small-scale fishing in the municipality of Humaitá, middle Madeira river, Amazonas, Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(4), 914–923.
- Makedonski, L., Peycheva, K., & Stancheva, M. (2015). Determination of some heavy metal of selected black sea fish species. *Food Control*, 72, 1–6.
- Mozaffarian, D., & Rimm, E. B. (2006). Fish intake, contaminants, and human health evaluating the risks and the benefits. *JAMA*, 296(15), 1885–1899.
- Oliveira, R. C., Dorea, J. G., Bernardi, J. V. E., Bastos, W. R., Almeida, R., & Manzatto, A. G. (2010). Fish consumption by traditional subsistence villagers of the Rio Madeira (Amazon): Impact on hair mercury. *Annals of Human Biology*, 37(5), 629–642.
- Panchev, N. A., & Panicheva, S. E. (2015). Determination of total mercury in fish and sea products by direct thermal decomposition atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 166, 432–441.
- Régine, M. B., Gilles, D., Yannick, D., & Alain, B. (2006). Mercury distribution in fish organs and food regimens: Significant relationships from twelve species collected in French Guiana (Amazonian basin). *Science of the Total Environment*, 368, 262–270.
- Sampaio, I. B. M. (2015). Estatística aplicada à experimentação animal. Fundação de ensino e pesquisa em medicina veterinária e zootecnia (pp. 265). (4th ed.). (Belo Horizonte-MG).
- Santos, G., Ferreira, E., & Zuanon, J. (2006). Peixes comerciais de Manaus. Manaus, AM: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis 144p.
- Silva, S. R., Guedes, C. M., Rema, P., Batista, A. J., Rodrigues, V., Loureiro, N., & Dias, J. (2016). In vivo assessment of fat composition in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) by real-time ultrasonography and image analysis of subcutaneous fat. *Aquaculture*, 456, 76–82.
- Soares, J. L. F., Goch, Y. G. F., Peleja, J. R. P., Forsberg, B. R., Lemos, E. J. S., & Souza, O. P. (2016). Total mercury (THg) bioaccumulation and fish food habits in Negro River basin, Amazon, Brazil. *Biota Amazônica*, 6(1), 102–106.
- Souza, A. F. L., & Inhamuns, A. J. (2011). Análise de rendimento carne das principais espécies de peixes comercializadas no estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amaz*, 41(2), 289–296.
- USEPA (2007). Method 7473 - mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry. United States Environmental Protection Agency. revision 0. Disponível em <http://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/7473.pdf>. Accessed date: 6 June 2016.
- Watanabe, N., Tayama, M., Inouye, M., & Yasutake, A. (2012). Distribution and chemical form of mercury in commercial fish tissues. *The Journal of Toxicological Sciences*, 37, 853–861.
- WHO (1990). Environmental health criteria. Methyl-mercury. Vol. 101. Geneva, Switzerland: World Health Organization/IPCS.
- WHO (2008). Guidance for identifying populations at risk from mercury exposure. Geneva: World Health Organization. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/mercuryexposure.pdf>. Accessed date: 21 September 2016.

|

|