



## MONITORAMENTO PRELIMINAR DE MERCÚRIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS UTILIZANDO BIOSSENSOR MICROBIANO

Josi Claire Lourenço Porto ;  
Gisele dos Santos Costa ; Andrea Medeiros Salgado; Paulo Rubens Guimarães Barroca

### INTRODUÇÃO

A história da humanidade é uma história de novas descobertas o que leva a geração de impactos ao ambiente. Esta situação pode ser observada ao redor da Baía de Guanabara, onde um complexo estuarino de aproximadamente 400 km<sup>2</sup>, localizado no estado do Rio de Janeiro, tem atividade industrial e atividade portuária intensas, agregadas ainda a um complexo polo petroquímico, sendo a região impactada por matéria orgânica, óleo e um grande número de outros compostos, incluindo os metais pesados (Seixas *et al.*, 2007). O metal pesado em estudo é o mercúrio, pois seu uso indiscriminado vem trazendo o aumento das suas concentrações no meio ambiente e prejudicando a biota. Os danos à saúde causados pelo mercúrio são conhecidos de longa data, mas atenção global aos problemas da contaminação surgiu após os acidentes no Japão nas décadas de 1950 e 1960 (Honda, Hylander and Sakamoto, 2006) e ainda no Iraque na década de 1970, ambos por contaminação com metilmercúrio. Na Baía de Guanabara foram detectadas elevadas concentrações de mercúrio próximo à desembocadura do rio São João de Meriti (Barrocas, 1994). No entanto, a biota apresentou níveis de mercúrio baixos, fato que pode estar relacionado às condições eutróficas e redutoras desse ecossistema aquático. Nas últimas duas décadas, o potencial analítico dos biossensores vem sendo reconhecido. Os métodos tradicionais de detecção não permitem distinguir poluentes que estão disponíveis para os sistemas biológicos dos que estão inertes ou indisponíveis, uma questão especial em relação aos metais tóxicos. Os biossensores surgem como alternativa de detecção de poluentes, apresentando novas ferramentas analíticas a serem aplicadas no diagnóstico das condições do meio ambiente (Tecon and Meer, 2008), sendo promissores graças à seletividade, à rapidez e seu baixo custo, além de possibilitar a avaliação da eficiência e monitorar sistemas de tratamento.

### OBJETIVOS

O presente trabalho visa detectar e monitorar mercúrio biodisponível em amostras ambientais da Baía de Guanabara utilizando um biossensor bioluminescente, e como biocomponente *Escherichia coli* MC1061 por sua resposta seletiva e específica das espécies contaminantes presentes.

### MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo A Baía de Guanabara apresenta profundidade média da Baía é de 7 metros e 80% de sua área tem menos de 10 metros de profundidade (Neto e Fonseca, 2011). As amostras de água foram coletadas de abril a dezembro de 2012, em 2 locais da Baía de Guanabara, sendo no primeiro coletado três pontos na coluna d'água, (superfície, meio e fundo), e no segundo em dois pontos na coluna d'água (superfície e fundo), totalizando 5 amostras por mês de coleta. As amostras de água foram obtidas através de garrafas de van dorn, colocadas em tubo falcon (50mL) mantidas sob refrigeração adequada (5°C) até o experimento luminométrico. Todo o material usado para coleta das amostras de água foi previamente esterilizado para evitar a contaminação biológica das amostras. Procedimento Experimental Realizou-se o crescimento do microrganismo em meio mínimo de sais, seguido de um

preparo da célula. Para os procedimentos de determinação da bioluminescência foram utilizadas placas brancas opacas de 96 poços, sendo possível a realização de desenhos experimentais, de acordo com a ordem de leitura do aparelho. Os ensaios foram realizados seguindo o processo segundo (Barrocas, 2003), que envolve a adição das amostras ambientais diretamente nas microplacas. E também soluções de mercúrio conhecidas foram inseridas nos poços da placa luminométrica de acordo com o desenho experimental estabelecido, seguido da adição das amostras celulares, com densidade celular conhecida. Após a adição das soluções as placas foram incubadas por 45 minutos para a produção de luciferase. Em seguida o processo de medição se iniciou com o aparelho dispensando 100µL de substrato da luciferase em cada poço da placa, monitorando cada poço por 12 segundos. Os resultados dos experimentos bioluminescentes foram dados em URL (Unidades Relativas de Luz).

## RESULTADOS

Foi determinado o perfil de crescimento do microrganismo *Escherichia coli* MC1061, apresentando-se em fase exponencial após sete horas, e a fase estacionária após onze horas. Para determinar a densidade celular foi utilizada a curva de peso seco, obtendo-se a correlação pela equação da reta: Concentração celular [g/L] = (Abs600nm – 0,0028)/ 0,9137). Os ensaios de detecção da bioluminescência se iniciaram no ano de 2012 e até o presente momento foram realizados 25 experimentos de luminescência. Detectou-se com estes experimentos que a etapa crítica do método esta em encontrar a curva de calibração para amostras ambientais que são complexas, o que exige que se trabalhe com uma curva de adição padrão. As concentrações de mercúrio biodisponível foram então calculadas a partir das equações da reta das curvas de adição padrão, das amostras ambientais da Baía de Guanabara. Os resultados parciais indicam que os valores encontrados para os locais amostrados estão abaixo dos valores permitidos pela Resolução CONAMA nº 357. No entanto, nossa metodologia mede o mercúrio biodisponível, aquele prontamente disponível para os organismos, diferentemente dos métodos analíticos utilizados pelos órgãos fiscalizadores que determinam limites máximos em concentração total, deficientes do ponto de vista ecológico.

## CONCLUSÃO

O sistema aplicado na detecção de mercúrio biodisponível se mostra promissor como uma ferramenta biológica sensível em amostras ambientais, fornece uma resposta qualitativa da presença do mercúrio o ambiente. Tais resultados precisam ser comparados com a técnica tradicional, como espectrometria de absorção atômica com vapor frio, para validar a metodologia aplicada. Deve ser ressaltada a importância de ações permanentes de controle do mercúrio (e de outros metais pesados e outras substâncias tóxicas) como seu monitoramento ambiental. Os baixos teores encontrados não devem arrefecer os esforços de práticas de controle, para que tais resultados sejam efetivamente permanentes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROCAS, P.R.G. Mercury Geochemistry in sediments of São João de Meriti river: Guanabara bay system, Rio de Janeiro, Brasil. Dissertação de Mestrado. 132p. Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1994.

BARROCAS, P. R. G. Assessment of Mercury ( II ) Species Bioavailability Using a Bioluminescent Bacterial Biosensor. [s.l: s.n.], 2003.

HONDA, S.; HYLANDER, L.; SAKAMOTO, M. Recent Advances in Evaluation of Health Effects on Mercury with Special Reference to Methylmercury – A Minireview. n. July, p. 171-176, 2006.

NETO, J. A. B.; FONSECA, E. M. DA. Variação sazonal , espacial e composicional de lixo ao longo das praias da

margem oriental da Baía de Guanabara (Rio de Janeiro ) no. Journal of Integrated Coastal Zone Management, v. 11, n. 1, p. 31-39, 2011.

SEIXAS, T. G. *et al.* Distribuição de Selênio em Organismos Marinhos da Baía De Guanabara/ RJ. Química Nova, v. 30, n. 3, p. 554-559, 2007.

TECON, R.; MEER, J. R. VAN DER. Bacterial Biosensors for Measuring Availability of Environmental Pollutants. Sensors, v. 8, n. 7, p. 4062-4080, 10 jul. 2008.

## **Agradecimento**

FAPERJ E CNPq pelo apoio financeiro e bolsas concedidas.