Detecção de Mercúrio em tecidos de peixes
por Espectrofotometria de Absorção Atômica

Dissertação apresentada por
Ruth de Gouvêa ^{Allo} Duarte para
obtenção do título de
Mestre em Saúde Pública

Orientador: Prof. Dr. Carlos Celso do Amaral e Silva

BIBLIOTECA
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
SP - 8

Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

São Paulo, janeiro de 1977

Este trabalho foi realizado sob patrocínio da
FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO.

As análises foram gentilmente realizadas pela
COMPANHIA ESTADUAL DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO BÁSICO E
DE DEFESA DO MEIO AMBIENTE.

À memória de meus Pais, que me ensinaram o amor aos livros, o respeito à inteligência, o valor sem preço do estudo e que me inculcaram a necessidade de sujeição à clausura e a vantagem da persistência no processo de aprendizagem.

Ofereço este trabalho ao meu MESTRE Professor Doutor Samuel Murgel Branco, que despertou em mim o interesse pela Ecologia, que me introduziu no Curso de Saúde Pública para Graduados da FSPUSP, que me guiou na Pós Graduação e me conduziu na vida universitária. A melhor forma de mostrar minha gratidão é com a promessa de não parar aqui e dar o melhor de mim, seja na pesquisa, seja no ensino.

AGRADECIMENTOS

- . ao Professor Doutor Carlos Celso do Amaral e Silva, orientador deste trabalho, pela valiosa atenção dispendida sempre que solicitado.
- . ao Professor Mário Tolentino, da Universidade Federal de São Carlos, que sempre encontrou paciência e tempo para desfazer minhas dúvidas e com quem aprendi a ser objetiva nas observações, precisa nas informações e cuidadosa nas conclusões.
- . ao Professor Doutor Aristides Almeida Rocha, professor da FSPUSP e biólogo da CETESB, pelas sugestões, apoio e especialmente pelo incentivo.
- . ao Professor Doutor Edson Rodrigues, que me proporcionou a oportunidade de fazer um curso de Espectrofotometria de Absorção Atômica e me facilitou o uso do Espectrofotômetro do Departamento de Física e Química Molecular da Universidade de São Paulo, campus de São Carlos.
- . ao Engenheiro Oscar Fugita da CETESB, pela gentileza de me permitir o uso do laboratório de Espectrofotometria de Absorção Atômica para as análises desta monografia.
- . ao Professor Doutor José Maria Pacheco de Souza e ao acadêmico Moacir Lobo da Costa, pela orientação no tratamento estatístico deste trabalho.
- . à Sanitarista Maria Elisa de Oliveira Geribelo, companheira e amiga, por suas sugestões e pela colaboração na pesquisa Bibliográfica.
- . à Professora Maria Eloisa Martins Dias, pela revisão do português.

AGRADECIMENTOS

- . ao Senhor Albério Martins, técnico de laboratório do IFQMUSP, pela colaboração nas técnicas de espectrofotometria.
- . ao Senhor Ivan Ronaldo Horcel, Senhora Daicy Gradia Baptista Horcel e Senhorita Maria Thereza Fragoso de Barros e Silva, da CETESB, pela indispensável colaboração na parte experimental de meu trabalho.
- . às bibliotecárias Senhora Neusa Celere da EESCUSP; Senhora Maria Angélica Duppas Gonçalves, do IFQMUSP, Senhora Helena Mhirdaui Peres da EESCUSP e Senhorita Daisy Pires Noronha da FSPUSP pelo indispensável auxílio na aquisição de bibliografias e pela feitura das referências bibliográficas.
- . aos meus amigos, funcionários da FSPUSP, Senhora Adelaide Rosas Forte e Rubens Gomes de Oliveira, Senhorita, Ana Evangelina de Campos e Senhora Ines Gomes Colombo do Departamento de Saúde Ambiental; Senhora Ana Angel e Senhora Nýelse Sá French Martins, da Secção de Pós Graduação.

Toda minha gratidão aos meus familiares, sem a colaboração dos quais não me seria possível estudar e trabalhar:

- . a meu marido Prof.Dr. Luiz R. Duarte, meu grande incentivador, paciente e eficiente colaborador.
- . aos meus filhos Marcelo Cláudio e Fernando Henrique, pela indispensável companhia na coleta de peixes e sobretudo pelo respeito que demonstraram aos meus estudos e ao meu trabalho.
- . à minha filha Priscilla Martha, interessadíssima em cada etapa da minha dissertação e companheira silenciosa nos longos momentos de pesquisa.
- . à Sebastiana Emília, a Mãe Preta dos meus filhos, que me substituiu com perfeição nas tarefas domésticas, permitindo minha dedicação aos estudos.

SUMÁRIO

Determinação de Mercúrio em Tecidos de Peixes Por Espectrofotometria de Absorção Atômica, sem chama

Por Espectrofotometria de Absorção Atômica , sem chama, foram analisadas 64 amostras de tecidos muscular e vísceras de 32 peixes do Rio Mogi-Guaçu, São Paulo, Brasil. Os teores de mercúrio dos músculos são significamente maiores que os de vísceras. Os peixes do Rio Mogi-Guaçu, das espécies examinadas, não oferecem risco como alimento para a saúde, pois possuem mercúrio com teores menores que 0,05 ppm (nível permissível pelo WHO).

ABSTRACTS

Mercury Determination in Fish Tissues By Flamless Atomic Absortion Spectrophotometry

By Flamless Atomic Absortion Spectrophotometry were analysed 64 samples of muscular tissue (flesh), and víscera of 32 fish from Mogi-Guaçu River, São Paulo, Brazil. The mercury contents of the muscles are significantly bigger than viscera's. The fish from Mogi-Guaçu River of examined species don't offer any danger as food for health, because they have mercury with contents lesser than 0,05 ppm (permissible level by WHO).

	Pags. Nº
1. <u>INTRODUÇÃO</u>	
1.1. Justificativa	01
1.2. Proposição	02
1.3. Histórico Bibliográfico	02
1.3.1. A água e os peixes	02
1.3.2. O mercúrio	04
1.3.2.1. Propriedades Químicas	07
1.3.2.2. Fontes Naturais e Artificiais	07
1.3.2.3. Contaminação Ambiental	13
1.3.2.3.1. No ar	14
1.3.2.3.2. No solo	14
1.3.2.3.3. Na água	15
1.3.2.4. Metilação do Mercúrio	17
1.3.2.5. Mercúrio em alimento - Cadeia Alimentar	19
1.3.2.6. Absorção do mercúrio e danos causados ao homem	20
1.3.2.7. Sintomas de envenenamento	22
1.3.2.8. Casos "clássicos" de intoxicação por mercúrio	23
1.3.2.8.1. Suécia	23
1.3.2.8.2. Japão	24
1.3.2.8.3. Iraque	26
1.3.2.8.4. Paquistão	26
1.3.2.8.5. Guatemala	26
1.3.2.8.6. Brasil	27
1.3.2.8.7. Estados Unidos da América do Norte	27
1.3.2.8.8. Canadá	27
1.3.2.8.9. Gana	28
2. <u>MATERIAIS E MÉTODOS</u>	
2.1. Critérios adotados	29
2.1.1. Para escolha do rio	29
2.1.2. Para escolha das espécies de peixes	29
2.1.3. Para escolha do método de análise	32
2.2. Da captura ao Laboratório	33
2.3. Amostragem	33
2.4. Preparo das Amostras	34
2.4.1. Músculos e Vísceras	34
2.4.2. Processo de digestão	35

	Pags. Nº
2.5. Procedimento Experimental	36
3. <u>RESULTADOS</u>	
3.1. Teores de mercúrio expressos em micrograma/grama.	42
Tabela nº 1	44
3.2. Análise de Variância	42
3.2.1. Modelo Matemático (Quadro nº 1)	45
3.2.2. Peixes do Trecho I (Tabela nº 2)	46
3.2.3. Peixes do Trecho II (Tabela nº 3)	47
3.2.4. Fontes de Variação. ANOVA (Tabela nº 4)	48
3.2.4.1. Apêndice nº 1	62
4. <u>DISCUSSÃO</u>	
4.1. Nível permissível	45
4.2. Teores de mercúrio em tecido muscular	50
4.3. Teste de hipóteses e análise de variância	56
4.3.1. Teores de Hg	56
5. <u>CONCLUSÕES</u>	60
	63
6. <u>BIBLIOGRAFIA</u>	63

"Se eu vi mais longe foi porque
subi nos ombros de gigantes. "

ISAAC NEWTON

1. INTRODUÇÃO

1.1. Justificativa

Vem despertando a atenção de autoridades sanitárias de todo o mundo a contaminação de águas de rios por despejos industriais ou resultante de atividades agrícolas com o uso de mercúrio, pois além dele ser o mais tóxico dos metais pesados é também cumulativo em animais e homem - por longos períodos de tempo. Como o mercúrio presente na natureza não se origina apenas da poluição mas também de fontes ditas naturais, faz-se necessário e imperioso um seguro conhecimento do assunto para que os poderes competentes possam exercer o necessário controle sobre as fontes artificiais de contaminação.

O Comitê do Codex sobre Pescado e Derivados da Comissão Mista FAO/WHO (6a. Sessão, Noruega 1971)- que é considerado em âmbito internacional como um dos mais conceituados órgãos no campo do pescado como alimento - alerta e recomenda o Estudo da Contaminação do Pescado por mercúrio. Isto porque, se o homem ingere pouco mercúrio diretamente com a água, os moluscos e crustáceos e em especial os peixes têm sido veículos causadores de ingestões desse metal.

Mas o peixe, o grande responsável por intoxicações mercuriais, é também indispensável alimento de nossa dieta alimentar carente em proteínas. E os teores de mercúrio encontrados em peixes são excelente referencial para o estado de nossas águas, constituindo-se portanto em uma dupla fonte de informações para a saúde pública. Por isso pensou-se em estudar a contaminação dos peixes pelo mercúrio, detectando-se o teor do metal nos peixes em ppm.

Há fartura de peixes em muitos dos nossos

rios e eles portanto, não seriam problema para um trabalho. O equipamento poderia ser obstáculo ao trabalho porque, para detectar mercúrio, faz-se necessário um sofisticado equipamento de laboratório - o Espectrofotômetro de Absorção Atômica - mas tal não foi o caso, pois havia possibilidade de utilizar-se quer o do Departamento de Química e Física Molecular do Instituto de Física do campus da Universidade de São Paulo, em São Carlos, quer o da Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Básico e de Defesa do Meio Ambiente, de São Paulo. O primeiro serviu para aprendizado e domínio da sofisticada e exaustiva técnica de espectrofotometria; no segundo, foram feitas as análises para o trabalho propriamente dito.

1.2. Proposição

Detectar mercúrio em 64 amostras de tecidos de peixes por Espectrofotometria de Absorção Atômica, sem chama, com o objetivo precípuo de verificar se os teores encontrados seriam menores ou maiores que os níveis permissíveis, a fim de se concluir da periculosidade ou não dos referidos peixes.

1.3. Histórico Bibliográfico

1.3.1. A água e os Peixes

A água é fonte de vida, e já no 1º verso do 1º capítulo da Bíblia ela é mencionada, junto com os céus e a terra, como as primeiras criações de Deus. Sem água não haveria vida - pelo menos a vida tal como a concebemos.

"Não fosse a sua impressionante onipresença a água mereceria a classificação de curiosa raridade em nosso Globo Terrestre. A água é substância muito difundida na natureza, sendo encontrada principalmente em sua forma líquida. Exatamente esse caráter trivial de sua ocorrência é que nos faz esquecer a sua extrema singularidade. Com exceção do petróleo (que é de origem orgânica) e do mercúrio (de ocorrência relativamente rara), a água é o

único componente líquido, à temperatura e pressões normais, da crosta terrestre. E o próprio fato de se apresentar em estado líquido à pressão e temperatura normais constitui fenômeno dos mais extraordinários, resultante de total inobediência às leis normas de física. (S.M. Branco in O Peixe em relação ao ambiente.)

Proteger nossos mananciais e, em especial, não poluir nossas sobrecarregadas pequenas correntes de água dos grandes centros urbanos não pareceu nem parece relevante para grande número de brasileiros. A água é farta e, farta, quase sempre conduz ao desperdício.

Aliás, a abundância das águas brasileiras foi uma das primeiras coisas de que tomou conhecimento El Rei Dom Manoel, através da carta de Caminha em 1500.

"As águas são muitas, infinitas. Em tal maneira a terra é graciosa, que em se querendo aproveitá-la, tudo que na terra se plantar, há de dar-se por causa das águas que tem."

Somente agora, quando poluição é assunto do momento, é que a população começa a ser capaz de perceber sua necessidade de água, e a se preocupar com suas implicações na saúde, ou seja, com seus padrões de qualidade.

Algo um pouco semelhante acontece com o peixe. Sua história antecede muito a do próprio ser humano. Segundo a tradição, teria sido obra do Altíssimo no 5º dia da criação "Produzam as águas uma multidão de seres vivos" (Gênesis, capítulo I, versículo 20), e o homem deve ter se acostumado a duas atitudes antagônicas: comer pouco peixe e acreditar-lo existir sempre em inesgotável multidão...

E, de repente, vê-se colhido - através de nossos falhos meios de comunicação - por informações quase sempre deturpadas, ou truncadas ou mesmo sensacionalmente e xageradas, alarmando quanto aos perigos da água e do peixe. Esta não é, seguramente, a melhor forma de proteger nem nos sa gente, nem as águas, nem os peixes tampouco. Sensibilizar um povo sem educá-lo não conduz a coisa alguma.

Parece que uma contribuição melhor é fornecer o maior e o mais seguro número de dados para que possam - os que assumem atitudes a nível decisório - tomar providências para assegurar nossa saúde, protegendo o ambiente.

1.3.2. O Mercúrio

Na Mitologia Grega, Mercúrio era o rápido mensageiro dos Deuses. Todos aqueles que já tentaram apanhar um pouco de mercúrio vertido num recipiente concordam que a sua denominação foi bem escolhida!

O mercúrio era conhecido pelos antigos chineses e indostaneses e ele foi encontrado em um amuleto de uma tumba egípcia em Kurna, que data do século XVI ou XV a.C. (M.E. Weeks, 1949).

Durante o reinado de Shung Yu, da Dinastia Sung (1241-1253 AC), Shung Tzu menciona antídotos para vários venenos, inclusive para o mercúrio. No final da dinastia Ming (1367-1253) ele foi usado no tratamento da sífilis (R.L. Bidstrup, 1964).

Ligeiras referências são feitas por Hipócrates (460-377 AC) e Aristóteles (384-322 AC), inclusive quanto ao efeito tóxico de vapores mercuriais. Teofrasto, entre 372-287 AC, descreve como se pode obter esse metal a partir do cinábrio (R.L. Bidstrup, 1964; J.W. Neuhans et alii, 1973).

Os filósofos gregos dos séculos IV e V AC acreditaram que o mercúrio teria uma essência, uma qualidade e que - por adição ou remoção de mercúrio - mudavam as propriedades de certos materiais. A menos desse uso - extrair ouro e prata dos minérios através de um processo de amálgama bastante semelhante ao que até hoje se utiliza - o mercúrio não tinha muita utilidade. (P.L. Bidstrup, 1964) Belas damas gregas e romanas, com o perigo de se envenenarem lentamente, usavam cinábrio como carmim para os lábios. O mesmo cinábrio que, aquecido em forno em contacto com o ar, libertava vapores e mais vapores, os quais aose

condensarem, formavam gotinhas de "prata rápida" ou "prata viva" (mercúrio). Qualquer adolescente de hoje conhece a simplicidade do fenômeno, mas quatrocentos anos Antes de Cristo semelhava Milagre! (C.A. Reichen, 1966)

Galeno (131-201 DC) afirma que todas as formas de mercúrio são tóxicas (P.L. Bidstrup, 1964; J.W. Neuhaus et alii, 1973).

O alquimista chinês Ko Hung (281-361) relata que muitas pessoas não podiam crer que o vermelho cinábrio originasse o prateado mercúrio. (M.E. Weeks, 1966)

Movidos pela curiosidade intelectual mas ansiosos por riquezas fabulosas, o sonho dos alquimistas era transformar vís metais (mercúrio, cobre, chumbo, estanho) em metais nobres (prata e ouro). A vã procura da Pedra Filosofal pelos alquimistas fez os coitados tentarem muito, usando o mercúrio ora como ingrediente, ora como a própria matéria que sofreria transformações. A história conserva complicadíssimas receitas para "feitura" da Pedra Filosofal e o alquimista árabe Bar Bahloul ensina a se sublimar, decompor, destilar mercúrio, alumem, enxofre e estrume de cabra para fabricar a pedra ... (C.A. Reichen, 1963)

Jabir ibn Hayyan, - Geber - fala do enxofre e do mercúrio como princípios filosóficos em 803 D.C. O "princípio filosófico" do mercúrio designa as propriedades de fusibilidade e volatibilidade: tudo o que funde e se evapora revela o mercúrio que é um princípio feminino o qual se contrapõe ao princípio masculino que arde e revela o enxofre (C.A. Reicher, 1963).

Aristóteles falou muito da "matéria prima" e, entre 1225-1274, São Thomaz de Aquino emitiu a falsa idéia de que a matéria prima de Aristóteles seria o mercúrio.

Em 1473, Ulrich Ellenborg é o primeiro a alertar quanto aos efeitos tóxicos do vapor de mercúrio como uma ameaça industrial. (P.L. Bidstrup, 1964; J.W. Neuhaus et alii 1973).

Paracelso, na busca do Elixir da Longa Vida, faz uma detalhada descrição do mercurialis como um dos com-

ponentes do Elixir, em 1533, e vinte quatro anos depois Jean Ferrel alerta muito para os danos causados por envenenamentos ocupacionais do mercúrio. (P.L. Bidstrup, 1964)

Nesta época, os portugueses mercadores levam a sífilis para o norte da China e ela se espalha muito rapidamente. O tratamento da Ferida de Catão é feito com mercúrio e surgem casos e mais casos de envenenamento pelo medicamento. Um arbusto trepador denominado salsaparilha fornece as raízes que são usadas como antídoto para o envenenamento com mercuriais. (P.L. Bidstrup 1964)

Compostos de mercúrio eram também usados até esta época como unguentos para pediculose, para doenças venéreas, para tratar o pé de atleta, e como diurético (calomelano).

Em 1863, os compostos orgânicos mercuriais são utilizados em pesquisa química (J.W. Neuhans et alli, 1973)

Por esta época, a observação já havia demonstrado que alguns artesãos apresentavam quadros típicos de envenenamento. Era o caso, por exemplo, dos chapeleiros de 1800. Os chapéus eram feitos de feltro, que era tratado com compostos metil mercúricos e seus fabricantes tinham - quase como regra - dificuldade para falar e andar e seus movimentos não eram bem coordenados. Lewis Carroll, matemático e professor, que em 1865 publicou o seu primeiro livro de histórias infantis Alice no País das Maravilhas, inspirou-se no fato para criar seu personagem "Chapeleiro Maluco."

Entre 1914 - 1920, o mercúrio metálico era utilizado para tratar o Volvo (invaginação do intestino delgado, ileus paralítico ou ileus obstrutivo). Anterior ao raio x, a técnica usada era, quando da suspeita da obstrução, colocar na boca do infeliz paciente um funil com uma sonda e nesse funil derramar-se mercúrio. Muitos morriam da "cura" (relatado pelo Dr. Solon Ribeiro Saldanha, médico sanitarista).

1.3.2.1. Propriedades Químicas

Metal pesado, prata - esbranquiçado, líquido à temperatura ambiente é o único metal conhecido que permanece líquido a 0°.

Número Atômico :	80
Peso Atômico:	200,61
Ponto de Fusão:	38.99
Ponto de Ebulição:	356.99
d_4^{20} :	13.595
Símbolo :	Hg

Embora ocorra livre na natureza, praticamente todo o mercúrio de uso industrial é obtido do cinábrio (HgS).

Insolúvel por solventes comuns, oxida-se lentamente. Não é atacado por solventes hidrocloreídricos nem por ácidos sulfúricos, mas dissolve-se em ácido nítrico a quente e ácido sulfúrico concentrado (F.L.Bidstrup, 1964)

1.3.2.2. Fontes Naturais e Artificiais de Mercúrio

O mercúrio encontrado no ambiente, por vezes é oriundo de fontes naturais, e por vezes tem origem artificial. Os teores naturais variam muitíssimo, motivo pelo qual não é fácil distinguir-se uma fonte da outra (Comitê do Códex sobre Pescado e Derivados, 1971 FAO/WHO, set 505, 1972).

Em Seminário proferido (em Curso de Pós Graduação ministrado pelo Departamento de Hidráulica e Saneamento da EESC-USP, 1974) pelo Professor Mário Tolentino, chefe do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, soube-se que o mercúrio do nosso ambiente provém de:

Fontes Naturais

Calcula-se em cerca de 230 toneladas métricas por ano a quantidade de mercúrio devida ao intemperismo (O.J. Joensu, 1971). E o professor Mário Tolentino, citando os geoquímicos K. Rankama e Th.G. Sahama (1962), fornece os seguintes dados de conteúdo médio de mercúrio em rochas ígneas e sedimentares.

E dos teores médios de diversas rochas expressos em gramas de Hg por tonelada de rocha.

Ígneas = 0.401 gr/ton

Sedimentares = 40.257 gr/ton

Não se encontrou dados de teores provenientes de atividades vulcânicas e desgaseificação do magma.

Quanto às fontes não terrenas (ainda em Seminário do Professor Mário Tolentino 1974), o mercúrio em rochas lunares tem como fontes o reservatório interno e meteoritos. O solo lunar tem 0,90 a 5.3 ppb e perda média é estimada em 10^{12} átomos/cm² em 10^6 anos.

Fontes Artificiais

Os efluentes industriais lançam no ambiente cerca de 10.000 ton de mercúrio por ano (FAO/WHO - ser 505, 1972).

Estima-se que 80 tipos de indústrias utilizam mercúrio pelo menos de 300 formas diferentes. (F.L. Bidstrup, 1964; FAO/WHO ser 505, 1972; F.C.W. 1974; W.F.Almeida, 1975).

Dentre as indústrias, as grandes poluidoras são as de cloro e álcalis, secundadas pelas de aparelhos e elétricos (T.B. Eyl, 1971; Ghosh et Zugger, 1973). Em cada tonelada métrica de cloro ou de cloretos são perdidas 100 gramas de mercúrio (Ghosh et Zugger, 1973).

Em observações feitas em 1969 no Canadá, cerca de 100.000 quilogramas de mercúrio são usados anualmente como matéria prima nas indústrias de cloro álcalis (Norval et Butler, 1974).

Das 10.000 toneladas de mercúrio que o homem anualmente lança no ambiente, cerca de 4.500 toneladas são provenientes da combustão nas minas de carvão fósil. Vostal et Clarkson, 1973, chama a atenção para o fato de, sendo esta uma das maiores fontes de mercúrio da natureza, não acostumarem as estatísticas de consumo industrial incluir esta origem como artificial.

As principais fontes de exposição perigosa são a mineração e a refinação do cinábrio (HgS), mas felizmente poucas pessoas estão engajadas nesse trabalho na Espanha, Rússia, Japão, Yugoslávia, Manila, África, Colúmbia Britânica, América do Sul, México e Estados Unidos da América do Norte (F.L. Bidstrup, 1964).

Outras fontes são: as indústrias de chapéus de feltro usando nitrato ácido de mercúrio para feltramento de pelica; a manufatura de instrumentos científicos como termômetros, manômetros, medidores de fluxo e reguladores de níveis e o uso do mercúrio em laboratórios; a ma-

nufatura de escovas de carbono para uso em geradores na indústria elétrica, onde uma amálgama de 22% de mercúrio -cobre é usada; composto de vedação para fios embutidos em blocos de carbono; manufatura de lâmpadas fluorescentes nas quais a corrente é conduzida através de mercúrio; montagem de sinais a neon; manufatura de compostos mercuriais; a aplicação de calor a superfícies pintadas com uma tinta contendo mercúrio; o reparo de medidores de corrente contínua nos quais o induzido gira em banho de mercúrio.

Outras fontes de exposição, algumas das quais têm dado lugar a envenenamentos, são: a fabricação de amálgamas; a limpeza de mercúrio por destilação; douração a fogo; um processo no qual ou o ouro ou a prata é depositado em metal base cobrindo os objetos de metal com uma amálgama e retirando o mercúrio pelo aquecimento; o uso do mercúrio com o gesso pó para impressões digitais; turbinas a vapor de mercúrio, as quais dependem do aquecimento de mercúrio a 500°C por meio de uma fornalha a carvão e vaporizando o mercúrio a uma pressão de 8 ou 9 atmosferas (depois de funcionar a turbina, o vapor em condensação é usado para aquecer água na faixa convencional de vapor a alta pressão); amálgamas, diluídas de metais alcalinos com mercúrio são a base do processo de pilha de cátodo de mercúrio para a fabricação de hidróxidos puros como, por exemplo, na eletrólise da salmoura para produzir cloretos livres de hidróxido de sódio.

Um revestimento ou um processo de fundição de bronze usando mercúrio congelado como matéria prima, produz fundições de grande precisão para usos em turbina, guias de onda, fabricação de aviões e fins similares.

Um molde feito de alumínio ou aço pré-endurecido é usinado a mínimas tolerâncias, preenchido com mercúrio e mergulhado em banho de cetona refrigerada à temperatura de 65°F. Quando o mercúrio é congelado, o modelo é retirado e "revestido" com um molde de cerâmica à base de zirconita até a espessura de 1/4 de polegada. O mercúrio é fundido à temperatura ambiente, deixando uma casca macia ou "verde", cujo interior reproduz cada detalhe do mo

delo. O molde verde é depois queimado a alta temperatura, resultando um molde estável rígido que é inerte à maioria das ligas. Riscos potenciais existem no manuseio do mercúrio nos estágios de confecção do modelo e fundição.

O mercúrio, seus óxidos e seus sais são usados na manufatura de certos tipos de materiais cirúrgicos e produtos farmacêuticos; na célula da bateria seca de Rubem; nas tintas para cascos de navios para retardar o crescimento de crâcas e de outras formas de vida marinha. Fulminato de mercúrio é usado na fabricação de certos tipos de detonadores e cápsulas de percussão.

Todas essas fontes são reportadas por um destes autores, às vezes por mais de um deles. (F.L. Bidstrup, 1964, Comitê do Codex sobre Pescado e Derivados, 1971; T. B. Eyl, 1971; A.L. Hamond, 1971; A. Swenson, 1973; Bakir et Damluji, 1973; Vostal et Clarkson, 1973; Ghosh et Zugger, 1973; F.C. Lu, 1974; FAO/WHO, ser 505, 1974; Norval et Buttler, 1974; W.F. Almeida, 1975).

Segundo F.L. Bidstrup, 1964, os indivíduos expostos a risco de saúde por motivo de trabalho são: os mineiros de minas de extração do mercúrio do cinábrio, para cuja extração a função ocupacional é particularmente arriscada, os que trabalham em laboratórios científicos - inclusive encontrou-se casos de envenenamento crônico por mercúrio em pessoas trabalhando num laboratório de Universidade. F.L. Bidstrup cita Sollman (1957) que, por sua vez, cita Stuck (sd) como tendo deduzido das suas biografias que os famosos cientistas Faraday e Pascal sofreram de envenenamento crônico por mercúrio, embora não tivessem dado conta da causa dos seus sintomas! Também há muitos riscos para os operários que trabalham na manufatura de baterias secas; os trabalhadores de fábrica onde se fermenta cerveja (o Bunging usado em cada tanque é um tubo em U cheio de mercúrio através do qual o dióxido de carbono escapa borbulhando e pode sempre haver mercúrio escapando da vedação); os que fazem douração e prateação (são usadas 10 partes de Hg para 1 de ouro ou de prata e cerca de 20% do mercúrio utilizado é perdido na atmosfera).

A Organização Mundial de Saúde alerta para o fato de que a administração de medicamentos bem como o uso de cosméticos à base de mercúrio podem ser consideradas fontes potenciais suplementares de contaminação; por isso toda pesquisa epidemiológica deve procurar os antecedentes profissionais e médicos para que não sejam mascarados os valores tomados para certos indicadores utilizados para determinar o nível mercurial de origem alimentar (FAO/WHO, ser 505, 1972).

Quanto aos fungicidas mercuriais, eles foram usados em quase todo o mundo como defensivo agrícola em plantações, mas na maioria dos países seu uso (para esse fim) agora já é proibido. Na Suécia, fungicidas de metil mercúrio foram proibidos em 1966 (A. Swenson, 1973); nos Estados Unidos da América do Norte, proibidos em 1974 (Norval et Butler, 1974) e no Brasil, em janeiro de 1975 (Portaria nº 2 de 6.1.75).

Os fungicidas mercuriais atualmente só estão sendo usados para desinfetar sementes e outras partes de vegetais destinados exclusivamente ao plantio e junto ao desinfetante é colocado um pigmento colorante para alertar a população. No Brasil, as sementes assim tratadas são separadas, etiquetadas, registradas em livros, etc, para que não aconteça aqui o que sucedeu no Iraque, Paquistão, Guatemala, etc.

Estudos feitos com essas sementes tratadas e plantadas durante anos seguidos revelaram que parte do mercúrio passa para a terra de cultivo e para o lençol freático, desde que o solo contenha substâncias ligantes e pequenas quantidades de matéria orgânica; neste caso, o mercúrio é absorvido pela maior parte das camadas superficiais esbo-ráveis (R.A. Imre et Allii, 1972). Acontece que só cerca de 3 a 5% de mercúrio (do total usado em países industriais) é oriundo de fungicidas e, como o tratamento de semente oferece muitas possibilidades de aumentar a produção e qualidade dos cultivos agrícolas e como em alguns casos não usar os fungicidas pode levar à perda total da colheita, a Organização Mundial da Saúde não vê necessidade de se proibir

esses fungicidas (FAO/WHO, Genebra, 1974; W.F. Almeida 1975).

Óxido amarelo de mercúrio é utilizado também para aplicação local em lesões de troncos e galhos de árvores (W.F. Almeida, 1975).

O problema de mercúrio em agricultura é antes de fiscalização e educação (para evitar que sementes ou grãos tratados sejam ingeridos por animais ou pessoas) que de novas proibições, uma vez que já não se permite seu uso em vegetais de consumo humano.

1.3.2.3. Contaminação Ambiental

Os compostos mercuriais que estão envolvidos na contaminação ambiental são encontrados como: Mercúrio elementar (Hg^0); Ion Mercúrico (Hg^{+}); Fenil mercúrio ($Ph\ Hg$); Metil-organoetil mercúrio ($Me\ O\ et\ Hg^{+}$) e Metil mercúrio ($Me\ Hg^{+}$) (J.W. Nenhans et alii, 1973).

O mercúrio elementar é quimicamente não reagente e precisa ser oxidado ao estado mercúrico, antes de se tornar reagente. O ión mercúrio e os cátion organometálicos são passíveis de combinações químicas, com uma variedade de ligas encontradas na matéria viva, mas em intensidade maior com os grupos sulfidril do que com qualquer outra liga. Esta alta afinidade com os grupos do sulfidril leva a muitas considerações de saúde quanto ao mecanismo dos mercuriais. As proteínas contêm muitos grupos de metal reativo sulfidril que são importantes para suas funções gerais e os mercuriais podem, facilmente, influenciar os processos vitais que envolvem as proteínas. Vale dizer que os mercuriais são venenos celulares inespecíficos, mas altamente potentes. Isto leva a crer que a toxidez seletiva do mercúrio é devida à sua também seletiva distribuição no organismo, havendo danos onde o mercúrio se acumule em concentrações suficientes. Este aspecto vem influenciando, explicita e implicitamente, o curso das pesquisas da toxidez do mercúrio, nestes últimos 20 anos (Burg et Rustam, 1974).

1.3.2.3.1. No Ar

Embora, via de regra, o mercúrio da atmosfera não constitua um risco sério para a população, podem tornar-se perigosas as atmosferas daquelas regiões onde haja altas emissões, podendo em certos locais haver acúmulos em nível pouco encontrado em quase toda a Terra (A. Swenson, 1973). Populações que habitem áreas adjacentes a esse local podem estar expostas a concentrações muito altas de mercúrio provenientes do ar. Os problemas do mercúrio na atmosfera a nível de Saúde Pública, na maioria das vezes, estão ligados à saúde ocupacional, e algumas vezes é uma questão de localização geográfica (Vostal et Clarkson, 1973).

Os compostos mercuriais são mais eficientemente absorvidos pelo trato respiratório que pela epiderme. A volatilidade é fator muito importante, uma vez que a inalação é, em termos práticos, a via de absorção humana. Então, o manuseio se faz muito importante e, no caso de ser usado em pó, é difícil prevenir danos. (A. Swenson, 1973).

1.3.2.3.2. No Solo

Águas de chuva transportam o mercúrio da atmosfera para o solo, mas em quantidades irrelevantes.

Via de regra também, é pouco o mercúrio proveniente de intemperismo. É o caso, por exemplo, dos peixes com teores altos de mercúrio (de 0,5 a 1,0 Mg/Kg), provenientes de lagos aparentemente não contaminados ou, pelo menos, não contaminados pelo homem, sendo as prováveis responsáveis por esse fenômeno as adjacentes estruturas geológicas com concentrações naturais anormalmente elevadas (FAO/WHO, ser 505, 1972).

Não é muito alto no solo o teor de mercúrio e, provavelmente, os locais onde este teor é um pouco maior é devido a intemperismo e, portanto, fenômeno localizado. O acetato de fenil mercúrio é facilmente metabolizado pelo solo (Dakir et Dambuji, 1972).

Também as camadas superficiais friáveis do solo adsorvem metoxi-etil-mercúrio, usado para desinfetar sementes de plantio. O processo é lento e é preciso que haja sucessivos plantios dessas sementes e - ainda - logo o mercúrio é carregado pelas águas (R.A. Imre, 1972).

Em uma cultura pura de Clostridium cochleri um isolada do solo, foi encontrada metilação de mercúrio (W.J. Spangler et alii, 1973).

O benzeno, etano e metano foram também identificados como produtos de decomposição do acetato de fenil-mercúrio, fosfato etil mercúrio e cloreto etil mercúrio, respectivamente. A divisão do C-Hg ligado ao acetato fenil mercúrio e o fosfato etil mercúrico foram catalizados por um extrato de células livres de pseudomonas na presença de sulfidril composto e esta reação foi juntada à formação de NADH e NADPH pela dehidrogenase de glicose. A cepa K₆₂ da pseudomona, bactéria resistente ao mercúrio, foi usada por Suzuki em tentativas de remover mercuriais de resíduos industriais. (Furakawa e Tonomura, 1971; Kojima et Fugita, 1971).

1.3.2.3.3. Na Água

Geralmente, o teor de mercúrio não excede a 1 µg/litro nas águas de rios e lagos, mas nas proximidades de depósitos de mercúrio a concentração pode subir até 80 µg/litro (W.F. Almeida, 1975).

Alguns fatores influenciam no teor de mercúrio:

- falta de profundidade dos lagos
- condições oligotróficas
- presença de outros organismos que não peixes "concorrentes" no consumo de mercúrio.

- pH da água (pH baixo favorece a formação de metil mercúrio (FAO/WHO, ser 505, 1972).

Segundo as estimativas, a quantidade total

do mercúrio nas águas do mar seria da ordem de 10^8 toneladas, e a produção anual pelas atividades humanas não chega a 10^3 toneladas. Por isso, se for lançado no mar todo o mercúrio fabricado pelo homem, o teor seria aumentado de apenas 1% (A.L. Hamond, 1971).

O nível máximo de mercúrio na água do mar parece ser 0,1 ppm, baseado nas limitadas evidências disponíveis.

A poluição de origem humana não pode trazer senão efeitos locais, por exemplo nos lagos, nos cursos de água, nos estuários e regiões costeiras (FAO/WHO, ser 505, 1972).

O tratamento de águas por substâncias impuras pode aumentar ligeiramente o teor de mercúrio, mas, na água, o mercúrio está em forma inorgânica e sempre é menos abundante que nos alimentos, sendo, pois, pouco provável que a água e o ar concorram de forma sensível nos derivados mercuriais do organismo.

No Brasil, a Portaria 0013 de 15.1.76 classifica as águas interiores do território nacional em quatro classes, segundo o uso a que se destinam e o tratamento que recebem. Todas as águas não tratadas e as tratadas, quer por processo convencional, quer por tratamento avançado, não podem ter mais que 0,002 mg de mercúrio por litro de água.

Acontece que nos sedimentos dos rios, lagos, oceanos, encontramos teores altos de mercúrio. No óleo extraído de águas de sedimentos, encontrou-se uma concentração quatro mil vezes maior que nas amostras de água do mesmo local (Walker et Colwell, 1974).

Por causa de seu peso, o mercúrio fixa-se no fundo dos lagos, rios, mares e acumula-se no sedimento. A quebra química ocorre mais prontamente com o aril alcoxy-alcoyl mercúrio do que com os compostos correspondentes de alcoyl mercúrio, analogamente ao que acontece nos animais superiores (J.W. Nenhans, 1973).

A provável origem de metil-mercúrio em sedimentos é através do processo de metilação por organosilício (sais de trimethylsilyl) (W.J. Spangler et alli, 1973)

Cessada a contaminação por mercúrio, um reservatório de águas contaminadas pode permanecer assim de 10 a 100 anos. Parece não ser suficiente a dragagem, porque o mesmo teor foi encontrado em mariscos e lodo. Outro método, que é o descarregamento de ganga de minério em córregos e lagos no sentido de inativar quimicamente tanto o mercúrio metálico como o metil-mercúrio, mostrou-se promissor, após tentativas em pequena escala na Suécia. Não se sabe, entretanto, o que acontece em grandes massas de água (J.B.Eyl, 1971).

1.3.2.4. Metilação do Mercúrio

Em 1971, um composto semelhante ao cloreto de metil mercúrio foi tirado do lodo de um fosso, em áreas próximas a uma fábrica de soda cáustica que usava somente mercúrio metálico na eletrólise do cloreto de sódio. O fosso era o local de tratamento de resíduos, onde o carbonato de cálcio era usado para neutralizar a água vinda da eletrólise (Kojima et Fugita, 1973). O composto tinha propriedades químicas e toxicológicas que pareciam identificá-lo como metil mercúrio. Esta é a primeira evidência da alquilação do mercúrio inorgânico em um sistema aparentemente totalmente inorgânico (S. Yamaguchi et alli, 1971).

Foram Jensen et Jernelov que conseguiram resolver o problema da origem do metil mercúrio na água, sugerindo que os responsáveis seriam microrganismos da água. Teoricamente, também o fenil mercúrio se transformaria em metil mercúrio. Disto se pode inferir que a metilação do mercúrio pode se dar por qualquer de dois mecanismos enzimáticos (microbianamente) ou químico (metil cobalamina).

Os sistemas biológicos alquilantes presentes nos sedimentos dos lagos, rios, estuários e mares podem produzir a síntese do metil mercúrio e do dimetil mercúrio, tanto em condições aeróbias como anaeróbias. Tan-

to o metil como o dimetil mercúrio surgem como produtos da metilação. Altas concentrações de mercúrio favorecem a formação de monometil mercúrio; o pH alcalino facilita a formação do dimetil mercúrio, que é altamente volátil e se decompõe em monometil mercúrio em condições ácidas (J.W.Wood et alii, 1968; J.B. Eyl, 1971; A.L. Hamond, 1971; S. Yamaguchi et alii, 1971; F. Matsumura et alii, 1971; Comitê CODEX Para o Pescado e Derivados, 1971; FAO/WHO, ser 505 1971, W.J. Spangler et alii, 1973; S.Skerfving, 1972,1974; C. Ramel, 1974 e W.F. Almeida, 1975).

Bactérias anaeróbias transformam mercúrio inorgânico ou fenil mercúrio em $\text{CH}_3 \text{Hg}^+$ (íon metil mercúrio) ou em $(\text{CH}_3)_2 \text{Hg}$, que é mais estável mas que, por ser mais volátil, escapa para a atmosfera. Apesar de ser estável em condições aeróbias, o $(\text{CH}_3)_2 \text{Hg}$ se converte em $\text{CH}_3 \text{Hg}^+$, quando o pH é ácido, que é um íon solúvel na água e que se concentra nos organismos, aparecendo usualmente nos lipídeos do corpo. Despejos não tratados facilitam a metilação, uma vez que ela se processa em condições de anaerobiose. (*Methanobacterium omelianskii*) (J.B. Eyl, 1971).

Algumas cepas de bactérias (*Pseudomonas* K₆₂) são resistentes ao mercúrio e capazes de decompor mercuriais orgânicos em mercúrio metálico (Furakawa et Tonomura, 1971; J.W. Neuhaus et alii, 1973; Kojima et Fugita, 1973, Walker et Colwell, 1974).

Um ou todos os processos ocorrem significativamente em ambientes aquáticos. Estudos em laboratório mostraram que pode ocorrer, concomitantemente, metilação de mercúrio inorgânico e de demetilação de metil mercúrio (J. W. Spangler et alii, 1973). Ainda não há método satisfatório para determinar dimetil (C.A. Bache et alii, 1971).

Kojima et Fugita, 1973, relatam que Kitamura et Sumino, em 1972 descobriram uma bactéria resistente ao mercúrio e um fungo de Neurospora sitophila, que foi capaz de formar metil e etil mercúrio quando estes organismos foram incubados em uma cultura contendo mercúrio clorídrico. Metil mercúrio foi produzido pela reação do mercúrio inorgânico com o carbonato de cálcio, cujo resíduo foi jogado no

fosso de tratamento para neutralizar o efluente. Mercúrio inorgânico reagiu com carbono amorfo, formando metil mercúrio.

A maior parte de mercúrio de um ecossistema aquático encontra-se na forma de metil mercúrio (A. Jerne-
lov, 1974). É marcadamente alta a metilação na presença de metilcobalamina $\text{CH}_3\text{-(CO)}$, que é uma vitamina análoga à vitamina B_{12} (N. Nomubasa et alii, 1972).

1.3.2.5. Mercúrio em alimentos. Cadeia alimentar

Os vegetais comumente contêm pouco ou nenhum mercúrio e, quando contêm, o fato é devido à desobediência à lei que proíbe o uso de fungicidas mercuriais em vegetais para consumo (FAO/WHO, ser 505, 1972).

Da mesma forma, animais domésticos alimentados por sementes tratadas também podem estar contaminados. Aves, ovos, porcos, etc, podem conter alto teor de mercúrio e, portanto, não servem para o consumo. (A. Curley et alii, 1971).

Por ingerirem pão fabricado com farinha de sementes de trigo que só serviam para o plantio por causa do fungicida, houve envenenamentos na Guatemala, Iraque, Paquistão, Estados Unidos, Gana.

Podem ser encontrados fracos teores de mercúrio em carne de animais e em produtos láteos, teores esses derivados da farinha de peixes que deveriam ter teores altíssimos (W.F. Almeida, 1975).

Na verdade, o peixe é que tem sido não só o grande "portador" de mercúrio como o "depositário" de quase todos os estudos feitos sobre o assunto, uma vez que um dos mais sérios problemas em toxicologia ambiental, desde 1960, tem sido o aumento gradual dos níveis de mercúrio encontrados em peixes (S. Skerfving, 1972).

Nos organismos aquáticos, o mercúrio pode ser absorvido diretamente pelo organismo ou ele pode vir através da cadeia alimentar. Nos consumidores primários,

como as diatomáceas marinhas, o metil mercúrio se acumula por adsorção passiva na superfície do organismo. A meia vida no peixe é 200 dias. (A.S. Hamond, 1971).

No homem, o mercúrio chega, quase que como regra, pela cadeia alga-peixe-homem. Acontece que praticamente todo o mercúrio dos peixes é o altamente tóxico metil mercúrio (G. Henderson et alii, 1972) e geralmente na forma de sais tóxicos (A. Bache et alii, 1971).

1.3.2.6. Absorção do Mercúrio e danos causados ao homem

Compostos organo-mercuriais são absorvidos pela pele e mais eficazmente pelos tratos respiratório e gastro-intestinal. Uma vez absorvidos, os compostos alcoil e arilmercúricos são transportados principalmente pela união com eritrócitos, diferentemente dos compostos de mercúrio inorgânico e seus íons que se unem em especial à proteína plasmática. Compostos metoxietílicos distribuem-se uniformemente entre glóbulos vermelhos e plasma. Tanto os compostos metoxietílicos com os fenílicos se degradam, no organismo, a mercúrio inorgânico. O alquimercúrio também se metaboliza, mas muito lentamente. Quando os organomercuriais são adquiridos pelo pulmão ou pelo trato gastro-intestinal, eles são rapidamente absorvidos pelo corpo. Após a absorção, são transportados com o sangue para os diferentes órgãos com distribuição diferente para diferentes compostos (A. Swenson, 1973).

No homem e nos animais o metil mercúrio se acumula por longos períodos de retenção. No homem a meia vida é 70 dias; no peixe é 200 dias (A. L. Hamond, 1971 ; C.A. Ramel, 1973; Vostal et Clarkson, 1973).

O metil mercúrio é encontrado, principalmente, nos glóbulos vermelhos, enquanto os demais compostos mercuriais repartem-se igualmente entre plasma e glóbulos vermelhos.

Os compostos orgânicos, por se unirem às

hemácias, mantêm-se na circulação por período de tempo maior que os compostos inorgânicos. Isto permite maior oportunidade de afetar certos órgãos como o cérebro e pode também haver para eles maior permeabilidade na barreira cérebro-sanguínea (S.I. Kurland et alii, 1960).

Embora um síndrome de intoxicação pelo mercúrio possa se dar tanto pelos compostos orgânicos como inorgânicos, os danos neurológicos são mais severos nas intoxicações orgânicas (Von Burg et Rustan, 1974).

Segundo o Departamento de Saúde Educação e Bem-Estar Americano, o dano causado por mercúrio é permanente e não existe tratamento algum, a não ser a prevenção. (A.L. Hamond, 1971).

Os danos irreversíveis podem ser agrupados em:

Desordens cromossômicas:

Estudos citológicos revelaram que compostos mercuriais-metil, etil, britil, fenil e metoxi-etil induzem a C mitose, poliploidia e aneuploidia. Compostos de metil e fenil mercúrio induzem a quebra cromossômica. Muitos compostos de alquil, fenil e metoxi-etil mercúrio induzem a anormalidades cromossômicas em organismos, existindo inclusive relação entre frequência de cromosomas e concentração de mercúrio em glóbulos vermelhos do sangue e parece que a mesma correlação existe nas células da medula dos ossos (S. Skerfving et alii, 1970, J.B. Eyl, 1971, S. Skerfving, 1972, 1974; C. Ramel, 1973; W.F. Almeida, 1975).

Entre os riscos agudos do metil mercúrio, são de valor especial os de efeito genético; compostos de metal orgânico como o metil são geneticamente ativos, alteram o número de cromosomas, embora não necessariamente interfiram no material genético propriamente dito. Mercúrio orgânico também reage com DNA (C. Ramel, 1974).

Efeitos Teratogênicos

O feto constitui uma faixa importante na intoxicação por metil mercúrio, que ultrapassa a barreira pla

centário mesmo quando a gestante não apresenta sintomas do mal (Skerfving et alii, 1970; J. Spyker et alii, 1972. Vostal et Clarkson, 1973). O feto acumula 28% mais mercúrio que a mãe, provavelmente porque, como corpo estranho (J.B.Eyl, 1971), desenvolve uma polaridade negativa que atrai o mercúrio (íon +). Teoricamente, metil mercúrio induzindo quebra cromossômica nas células germinativas pode fazer crescer descendência anormal (S.Skerfving et alii, 1970).

Perturbações Neurológicas

Metil mercúrio causa dano ao cérebro, apresentando mudanças degenerativas nas intoxicações sérias (S. Skerfving, 1972). Exposição pré-natal ao metil mercúrio resulta em retardamento mental com paralisia cerebral (Bakir et Damluji, 1971). A estabilidade dos compostos alquil mercúricos favorece seu acúmulo no sistema nervoso central (W.F. Almeida, 1975). O metil mercúrio não acarreta inflamação, mas degeneração, lesando irreversivelmente o sistema nervoso central (S. Katsuki, 1958).

1.3.2.7. Sintomas de Envenenamento

Por ordem ascendente de severidade, os sintomas de envenenamento são os seguintes:

- Parestesia da boca, lábios, língua, mãos, pés, dedos das mãos e pés.
- Constrição do campo visual: visão de túnel .
- Dificuldade de audição (especialmente a de distinguir uma voz num grupo)
- Distúrbios de expressão (sons altos e explosivos, dificuldade de articular palavras).
- Neurastenia; fraqueza; fadiga; incapacidade para se concentrar.
- Dificuldade para escrever, ler ou recordar coisas básicas como alfabeto, endereços familiares,

números, etc.

- Instabilidade emocional; acessos de raiva; depressão; agitação.

- Ataxia; andar cambaleante, trôpego; dificuldade em manusear objetos familiares (garfos, botões); movimentos completamente desordenados, grotescos; espasmos; rigidez; paralisia.

- Estupor, coma, morte (em casos extremos).

(J.B. Eyl, 1971; F. Bakir et alii, 1975).

Muitas vezes existe um longo período de latência entre a exposição ao risco e o aparecimento de sintomas. Estes são irreversíveis, embora possa ser conseguida a melhoria da função motriz, especialmente em crianças. Em adultos, mesmo afastada a exposição, os sintomas se agravam. (F.C. Lu, 1974).

Suecos sem sintomas óbvios ou sinais de envenenamento tinham nas células do sangue níveis três vezes mais altos que 0,4 µg/g - nível estimado como o mínimo para a sintomatologia -, o que parece indicar uma considerável variação individual na sensibilidade ao metil mercúrio (S. Skerfving, 1974)

1.3.2.8. Casos "clássicos" de intoxicação por mercúrio

1.3.2.8.1. Suécia

Em 1950, ornitologistas suecos alarmaram-se com uma brusca diminuição de população de pássaros em zonas de agricultura. Como o fato se deu em regiões onde há dez anos vinham usando fungicidas mercuriais nas plantações, o mesmo não acontecendo nas demais áreas, eles sugeriram a possibilidade de haver relação entre essas duas variáveis. Entretanto, o problema pareceu trivial ao grande público e providência alguma foi tomada. Mas, logo depois, animais predadores apareceram mortos também e foi dado o alarme... Donas de casa entraram em pânico quando foram informadas de que um ovo apresentava mais de 0,5 mg de mercúrio por

quilo de ovo. As aves estavam com altos teores de mercúrio, devido à ingestão de sementes; animais diversos continham muito mercúrio nas suas carnes. (J. M. Wood et alii, P.H. Abelson, 1970; C. Ramel, 1974). Toda a gente passou a comentar aquele antigo caso das Cotovias Amarelas (Emberiza citrinella).

As autoridades sanitárias, a partir de 1963, promoveram vários Encontros para estudar e discutir o problema do uso ou não de fungicidas em sementes. Mas só em 1967 é que se chegou à conclusão de que o tóxico que causara os envenenamentos era o metil mercúrio. A esta altura, teores alarmantes de mercúrio foram encontrados em peixes de água doce. (Comitê Sobre o Pescado e Derivados, 1972, F.C. Lu, 1974).

Em 1967, o metil foi substituído por alquilmercúrio que não se acumula nos alimentos nem é igualmente tóxico. (C. Ramel, 1974). Com a proibição, logo baixaram ao normal os teores de mercúrio nos ovos, as aves deixaram de morrer e os animais, seus predadores, também. A assustada população sueca, ao ser informada, respirou aliviada!... Acontece que o caso do envenenamento das cotovias amarelas era apenas o pico de um iceberg! Altos teores de mercúrio foram encontrados em peixes de lugares diversos da Suécia, inclusive em áreas industriais onde fungicidas mercuriais não haviam sido utilizados.

Jensen et Jernelov descobriram, então, que resíduos industriais contendo mercúrio lançados em água de rios ou lagos haviam sido metilados no lodo por ação bacteriana e que a metilação do mercúrio podia se dar enzimática e não enzimaticamente.

Vários países, por esta época, estavam enfrentando problemas semelhantes e o mercúrio se tornou assunto de interesse em Saúde Pública.

1.3.2.8.2. Japão. Minamata e Niigata

No Japão, no final do ano de 1953, uma desconhecida desordem neurológica começou a afetar os habitantes

tes de uma pequena vila pesqueira, ao longo da baía de Minamata. Em 1956, o surto assumiu proporções de epidemia. A sintomatologia lembra a encefalite. Mas, quando perceberam que a doença que envolvia o sistema nervoso central era uma estranha moléstia, ela foi cognominada "Mal de Minamata". (Norval et Butler, 1975; H. Rustam et alii, 1975).

Foi somente em 1958, quando o doutor Douglas Mc Alpine visitava a Universidade de Kumamoto, é que ele associou essa doença aos compostos de alcoilmercúrio. (P.S. Bidstrup, 1964; J.W. Neuhaus, 1973).

Dois anos antes de surgir o problema, uma fábrica, que sintetizava acetaldeído a partir de acetileno empregando mercúrio como catalizador, foi instalada às margens do Rio Minamata e nele lançava seus resíduos industriais. (Comitê do Codex de Pescados e Derivados, 1971).

Não está claro se parte desses anos foi necessária para a incorporação de significativas concentrações de metil mercúrio em pescado e mariscos. (F. Bakir et alii, 1973).

Coadjuvado pelos problemas da Suécia, o "Mal de Minamata" atraiu a atenção do mundo, surgindo estudos e pesquisas em torno da degradação do mercúrio e da sua concentração no peixe e na cadeia alimentar.

O agente causador do "Mal de Minamata" pode ser o S. alcoilmercurocisteína ou homocisteína combinado com a molécula constituinte dos peixes ou crustáceos de Minamata, que seriam absorvidos ou transportados pelo corpo humano ou pelos seus oligopeptídeos (Morval et Butler, 1974).

Lamentavelmente foi preciso essa dramática situação japonesa, em que cerca de 150 pessoas foram envenenadas entre 1953 e 1960 - das quais 19 foram casos congênitos -, para que surgissem estudos sobre metilação do mercúrio, sobre a toxidez do metil mercúrio e sobre como ele se acumula nos organismos e chega ao homem através da cadeia alimentar.

Muitos países se preocuparam em fazer leis, regulamentando o uso do mercúrio em níveis permissíveis em alimentos.

O segundo surto ocorreu entre 1964 e 1965, em Niigata, pelos mesmos motivos, apenas com menos casos registrados.

1.3.2.8.3. Iraque

Entre 1969 e 1972, no Iraque, um surto epidêmico foi devido à ingestão de sementes de trigo que haviam sido tratadas com fungicidas mercuriais e que deveriam ter sido usadas para plantio apenas. As sementes de trigo, já revestidas com metil mercúrio, apesar das advertências das autoridades, foram utilizadas para preparar pão. Como as sementes haviam vindo do estrangeiro, criou-se um desagradável mal-estar internacional.

O surto do Iraque foi o maior de que se tem notícia: 6.000 casos, cerca de 10% de mortes e um número muito grande de crianças que nasceram com problemas mentais e neurológicos, por terem sido expostas ao mercúrio quando da vida uterina. (H. Rustam et alii, 1973).

1.3.2.8.4. Paquistão

Em 1971, no Paquistão Ocidental, centenas de pessoas foram envenenadas com etil mercúrio, por ingerirem sementes de trigo tratadas com fungicidas. Muitas dessas pessoas morreram.

1.3.2.8.5. Guatemala

Na Guatemala, em 1963, 64 e 65, houve três surtos de intoxicação por mercúrio, provenientes de sementes tratadas com fungicidas alcoxialcoilmércurio, as quais foram fraudulentamente destinadas ao consumo humano ou animal. Isto se deu em Panorama, região montanhosa, sempre nas épocas de colheita de trigo. O dramático foi que em 1965 quarenta e cinco pessoas foram envenenadas - todas com idade entre 1 e 11 anos. Alguns destes comeram animais que haviam comido as sementes. A princípio, pensou-se que realmente se tratava de um surto de

encefalite. (J.B. Eyl, 1971; A. L. Hamond, 1971; C. Rammel, 1974 e W.F. Almeida, 1975).

1.3.2.8.6. Brasil

Em fins de 1966 e início de 1967, no Estado de São Paulo, tomates, beringelas e hortaliças foram tratados com fungicidas mercuriais orgânicos por inescrupulosos horticultores. Esse procedimento, que evitou o desenvolvimento de fungos superficiais, melhorou sobremaneira o aspecto desses produtos. Os produtos usados eram metoxi e etil mercúricos, que são menos tóxicos que o metil mercúrio e não lesam o sistema nervoso central. Entretanto, o uso indevido e fraudulento do fungicida foi descoberto e estoques de hortaliças tratadas foram destruídas e tomates, que estavam prestes a ser industrializados, foram retirados do comércio. (M. Tolentino, 1974 ; W.F. Almeida, 1975).

1.3.2.8.7. Estados Unidos

Em Almgador, New Mexico, 3 crianças de uma família de 9 foram envenenadas por ingerirem carne de um porco que havia comido sementes tratadas com fungicidas mercuriais. Embora a mãe não apresentasse sintoma algum teve um filho que nasceu com problemas, por sofrer os efeitos do metal tóxico. (J.B. Eyl, 1971).

1.3.2.8.8. Canadá

Em 1940, o governo canadense anunciou uma restrição na venda e exportação de peixes apanhados nas águas do Lago Saint Clair, porque eles estavam altamente contaminados por mercúrio de uma indústria química que despejava 100 quilos de resíduos metálicos e mercúrio, diariamente. Em atuns foi encontrado um teor de mercúrio de 0,8 mg Hg/Kg peixe.

The Lancet, 1971; J.B. Eyl, 1971; Norval et Butler, 1974).

1.3.2.8.9. Gana

Envenenamentos causados por milhos desinfetados com fungicidas mercuriais apresentaram manifestações clínicas bem diferentes das demais: período de latência curto, sintomas gastro-intestinais agudos, prevalência de estomatites, mas sem manifestações no sistema nervoso central.

O envenenamento se deu por um composto mercurial de cadeia curta (alcoilmercúrio ou por uma mistura de alcool e nonalcoil).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Critérios adotados

2.1.1. Para escolha do rio

2.1.2. Para escolha das espécies de peixes

2.1.3. Para escolha do método de análise

2.2. Da captura do Laboratório

2.3. Amostragem

2.4. Preparo das Amostras

2.4.1. Músculos e Vísceras

2.4.2. Processo de digestão

2.5. Procedimento Experimental

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Critérios adotados

2.1.1. Para escolha do rio

Na região de São Carlos, o rio que possui maior volume de água é o Rio Mogi-Guaçu que dista da cidade, em média, 27 quilômetros.

Rio piscoso e de fácil acesso para os moradores do município e das cidades vizinhas, ele atrai muitos pescadores amadores e, mais ainda, muitos pescadores profissionais dele vêm tirando seu sustento. Às suas margens muitas indústrias vêm sendo implantadas e algumas delas usam mercúrio como matéria prima ou catalizador. O rio Mogi-Guaçu banha muitas propriedades agrícolas, nas quais podem estar sendo usados fungicidas mercuriais para proteger sementes e podem mesmo, tais propriedades agrícolas, ter utilizado em suas plantações defensivos mercuriais, quando tais produtos ainda não tinham seu uso proibido. (Portaria nº 2, de 6.1.75).

Por tudo isso, parece interessante se conhecer qual o teor de mercúrio presente nos peixes que fazem parte daquele ecossistema aquático.

Devido à extensão do rio, fez-se necessário escolher local para a retirada dos peixes a serem examinados e dois trechos foram selecionados:

Trecho I - A jusante da Cachoeira das Emas na localidade conhecida como Santa Henriqueta.

Trecho II- 5 Km a montante da Cachoeira das Emas.

Haveria diferença expressiva entre teores de mercúrio dos peixes do trecho I e do trecho II?

2.1.2. Para escolha das espécies de peixes.

Nas águas doces do Estado de São Paulo, 90 a 95% dos peixes são Teleósteos (infra classe Teleostei) e de-

les foram escolhidas duas ordens - ambas bem representativas quanto ao consumo: Ordem Cypriniforme e Ordem Siluriforme. Juntos, os cypriniformes e siluriformes formam a Super-ordem Ostariophysi à qual pertencem 85% dos peixes de água doce do Brasil (H.A. Britski, 1972). Gênero e espécie foram escolhidos segundo o esquema abaixo, dois representantes dos Cypriniformes e dois dos Siluriformes, levando-se em conta seus hábitos de vida, em especial sua alimentação, aliando-se sempre que possível tais variáveis ao valor da pesca comercial e amadora, à facilidade de ser encontrado e a um tamanho não muito grande, o que impossibilitaria boa conservação e fácil transporte.

O S T A R I O P H Y S I	Ordem Cyprini forme	Subordem Characoi- dei	Família Prochilo- dontidae	Subfamília Prochilodon tinae	<u>Prochi-</u> <u>lodus</u> <u>scrofa</u> (Curim- batá)
	Ordem Silurifor me		Família Curimati- dae	Subfamília Curimati- nae	<u>Curima-</u> <u>tus</u> <u>elegans</u> (Sagüiru)
			Família Pimelodi- dae	Subfamília Sorubini- nae	<u>Hemisoru</u> <u>bim pla-</u> <u>tyrhyn-</u> <u>chus</u> (Jurupo- ca)
					<u>Pimelo-</u> <u>dus macu</u> <u>tus</u> (Mandi)

Prochilodus scrofa (Curimbatã)

É a espécie mais freqüente na bacia superior do Paran, sendo pescado em todo o ecossistema formado pelo Mogi - Pardo - Grande e, em particular, na Cachoeira das Emas, por ser capturado o ano inteiro (M.R. Godoy - 1972).

Peixe migrador, de piracema, ltico, reoflico e ilifago pois, quer quando alevino, quer quando jovem ou adulto um comedor exclusivo de lodo (H.A. Britski, 1972). no lodo dos rios que se acumula o mercrio, por isso deveria ser interessante saber se seria significativamente maior a presena de mercrio nos curimbats que so importantssimos na pesca, por sua ocorrncia no estoque pesqueiro rioiano, figurando tambm nos primeiros lugares no consumo paulista de peixes de gua doce.

Curimatus elegans (Sagiru)

De pouco valor comercial, o sagiru bastante pescado por amadores, por ser encontrado o ano inteiro. Embora viva muito bem em guas paradas, o sagiru utiliza-se das correntes para fazer pequenas sortidas (P. de Azevedo, 1972). Nos primeiros 30 - 50 dias de vida, o sagiru fito e zooplancfago e somente depois da perda dos dentes, aos 50 dias, que passa a se alimentar de lodo, procedendo assim at o final de sua vida.

Apesar de no ter grande valor comercial, o sagiru foi includo neste trabalho por ser predado pelo Dourado, importante espcie no mercado, que devido ao seu tamanho no pde ser analisado, pois seria difcilmo seu transporte e armazenamento.

Hemisorubin platyrhynchus (Jurupoca)

 o menor representante da famlia Sorubininae, qual pertencem peixes como o Ja, Pirarara, Surubin, Pintado (H.A. Britski, 1972) - espcies de grande valor comercial, porm de porte grande demais para entrarem no presente trabalho, por motivos de ordem tcnica. O estudo de uma

espécie de pequeno porte, de relativo valor comercial, pertencente a uma família de grande presença no estoque pesqueiro, parece interessante, porque os hábitos desses peixes todos da família Sorubiniinae são muito semelhantes.

O Jurupoca ocorre com bastante frequência no Rio Mogi-Guaçu, especialmente durante a época das chuvas, quando o rio está com suas águas barrentas. Alimenta-se de pequenos peixes que se refugiam em pedras do fundo do rio, ingerindo, pois, não só peixes menores, mas também muito lodo de pedras.

Pimelodus maculatus (Mandi)

Muito abundante na Bacia Mogiana, é apreciadíssimo não só pela população ribeirinha, como encontra ainda fácil comércio em centros mais populosos. É migrador, peixe de piracema, que só se reproduz em águas correntosas (H. L. Stempniewski, 1972). Lótico e de hábitos bentônicos, pois vários exemplares mostraram no estômago areia, pedrinhas e quirera. Entretanto, segundo H. Nomura, 1973, a anatomia de seu trato digestivo mostra estar adaptada a uma dieta com predominância de matéria animal.

2.1.3. Para escolha do método de análise

Para dosagem de metais nos alimentos, na água e nos líquidos biológicos, podem-se utilizar os métodos de: colorimetria, ativação neutrônica, absorção atômica, espectroscopia de emissão e polarografia. Não existem métodos ótimos para o chumbo, o cádmio e o mercúrio. Para dosagem do mercúrio total, as técnicas de ativação neutrônica ou os métodos baseados na absorção atômica são provavelmente os melhores (Comissão de Peritos em Aditivos Alimentares FAO/WHO, 505 - 1972).

A absorção atômica com chama foi usada por N.S. Poluektov et alii, 1964, que é um método muito rápido, mas carece de sensibilidade para análise de resíduos de tecidos (D.A. Pass, et alii, 1975 et alii, 1970; T.Y. Toribara et alii, 1970; G. Wobeser et alii, 1970; Munns e

Holland 1971; C.A. Bache, 1971; W. Hollak et alii 1972; Malaiyandi e Barrette 1972; J.G. Neukaus et alii, 1973; Krinitz et Holak, 1974, D.A. Pass et alii, 1975; E. Norval et L. Butler, 1975.)

A escolha recaiu no método de Espectrofotometria de Absorção Atômica sem chama, por haver um Espectrofotômetro em São Carlos no Departamento de Química do Instituto de Física e Química - campus da U.S.P. em São Carlos-e um Espectrofotômetro na CETESB (Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Básico e de Defesa do Meio Ambiente), em São Paulo. Havia possibilidade de uso dos dois laboratórios.

2.2. Da Captura ao Laboratório

Os métodos usados na captura foram os tradicionalmente empregados pelos pescadores profissionais de nossos rios. Assim, todos os peixes foram capturados por tarrafa ou por rede de espera. Com a tarrafa foram apanhados os sagüirus grandes e pequenos e os curimatás pequenos, ao passo que as redes de espera (que passavam a noite no rio) capturaram os curimatás maiores e todos os de couro (Mandis e Jurupocas grandes e pequenos). Duas malhas diferentes foram utilizadas para a captura de peixes menores e maiores. Após a captura, os peixes eram preparados para o transporte. Tal preparo consistia na seleção, obedecendo à amostragem adotada e na colocação dos peixes em sacos plásticos os quais eram, por sua vez, etiquetados com código próprio para a identificação e acondicionados em conservadoras de isopor, com pedaços de gelo, sendo então imediatamente transportados para o laboratório.

2.3. Amostragem

Segundo o Relatório da Comissão FAO/OMS de Peritos em aditivos alimentares, 1970 e 1972 e C.A. Bache, 1971, J.W.G. Neuhaus, 1973, parece haver, para algumas espécies, certa relação entre teor de Mercúrio e tamanho dos peixes, com os exemplares maiores e mais velhos, tendendo a apresentar valores maiores (J.J. Vostal e J.W. Clarkson 1973, W.F. Almeida, 1975.)

As quatro espécies de peixes escolhidos para este trabalho foram subdivididas em oito grupos, segundo o critério - peixes pequenos e peixes grandes - de acordo com seu comprimento, a saber:

Sagüirus	$\left\{ \begin{array}{l} \text{pequenos: } \leq 6 \text{ cm (Grupo 1)} \\ \text{grandes : } \geq 12 \text{ cm (Grupo 2)} \end{array} \right.$
Curimba- tás	$\left\{ \begin{array}{l} \text{pequenos: } \leq 12 \text{ cm (Grupo 3)} \\ \text{grandes : } \geq 26 \text{ cm (Grupo 4)} \end{array} \right.$
Mandis	$\left\{ \begin{array}{l} \text{pequenos: } \leq 14 \text{ cm (Grupo 5)} \\ \text{grandes : } \geq 24 \text{ cm (Grupo 6)} \end{array} \right.$
Jurupo- cas	$\left\{ \begin{array}{l} \text{pequenos: } \leq 14 \text{ cm (Grupo 7)} \\ \text{grandes : } \geq 30 \text{ cm (Grupo 8)} \end{array} \right.$

Os peixes eram então numerados no grupo e procedia-se a um sorteio, segundo uma tabela de números aleatórios, não se tomando de cada grupo mais que 50%.

De cada exemplar selecionado, procurou-se sempre um similar para haver uma repetição (por exemplo dois sagüirus pequenos de 4 cm retirados do mesmo lugar). Assim foram sempre examinados dois peixes da mesma espécie, do mesmo comprimento, do mesmo trecho do rio.

2.4. Preparo de Amostras

2.4.1. Músculos e Vísceras

Foram analisados, em separado, duas porções do corpo de cada peixe: tecido muscular e vísceras.

Quase toda a literatura disponível a respeito de detecção de mercúrio em peixes. não menciona se todo o peixe foi examinado ou se as análises se restringiram aos músculos (carne). Apenas um artigo relata que as análises foram feitas separadamente para músculos, fígado e rins.

Pensando-se em corroborar os dados referidos por Wobeser et alii, 1970, resolveu-se analisar também em separado o tecido muscular e as vísceras dos peixes. O tecido muscular, parte comestível, não apresentou problemas de análise de ordem técnica, mas o mesmo não se deu com rins e fígado dos exemplares pequenos. Inclusive, mesmo analisando-se em conjunto todas as vísceras, os menores exemplares de sagüirus não tinham vísceras em tamanho suficiente para a análise e tais peixes foram descartados do trabalho.

2.4.2 Processo de Digestão

No laboratório da CETESB (Companhia Estadual de Tecnologia e Saneamento Básico e de Defesa do Meio Ambiente), onde foram analisadas as amostras, a rotina seguida para a digestão foi a seguinte:

- a- degelar a amostra, separando as vísceras e músculos das espinhas e pele.
- b- macerar o material em graal de ágata.
- c- pesar cerca de 10 gramas do material macerado, transferindo-o para um balão de digestão de 250 ml.
- d- adicionar 10 ml de HNO_3 concentrado, colocando o balão em chapa de aquecimento e montado com um condensador de bolas.
- e- digerir o material em refluxo por duas horas a 125°C .
- f- esfriar, lavar o condensador com água deionizada.
- g- filtrar com papel Watman 41, recolhendo o material filtrado em balão volumétrico de 100 ml. Lavar o resíduo com pequenas porções de água deionizada, até atingir a marca de 100 ml. Homogenizar.
- h- tomar uma alíquota da amostra digerida e diluída.

O método acima descrito é quase padrão para Institutos Oficiais e baseia-se em trabalhos de: Holak (1972) (1974), Neuhaus et alii (1973), Munns e Holland (1971) os

quais - por sua vez - seguem o método oficial da AOAC (Association of Official Analytical Chemists) Washington. Este método difere substancialmente daquele utilizado por Uthe, Armstrong e Stainton (1970), no que diz respeito ao ácido utilizado para digestão: estes últimos usam o ácido sulfúrico, o mesmo acontecendo para Jeffus et alii (1970) e Solomon e Griffitt (1972).

2.5. Procedimento Experimental

O sistema para análise de mercúrio por espectrofotometria de absorção atômica sem chama Perkin-Elmer é baseado no procedimento descrito por Hatch e Ott (1968). Em síntese, o método é o seguinte:

- trata-se 100 ml da amostra (já digerida) com ácido nítrico e ácido sulfúrico, na presença de permanganato de potássio, a fim de oxidar todo o mercúrio presente, transformando-o em Hg^{++} . O excesso de permanganato é reduzido com hidroxilamina hidrociorada e o mercúrio é reduzido à forma metálica, pelo cloreto estanhoso. Um aerador é colocado na solução da amostra. O ar preso no sistema é movimentado através da solução por uma bomba de circulação, evaporando o mercúrio e carreando o vapor para a célula de absorção. O vapor de mercúrio na forma atômica absorve a radiação de comprimento de onda 253,7 nm, emitida pela fonte (lâmpada de aparelho). Vem daí a expressão "absorção atômica sem chama".

Para se levar a efeito uma medida de absorção atômica, são precisos:

- uma fonte de radiação de luz correspondente ao elemento que se vai analisar.
- meios de se produzir uma nuvem atômica da amostra, a qual deve estar em solução;
- meios de se medir a intensidade de uma particular banda de onda.

Sumarizando: os principais componentes do aparelho são os seguintes:

- a) a fonte (uma lâmpada, cuja luz corresponde ao comprimento do elemento a ser analisado - para mercúrio $253,7 \times 10^{-9}$ metros)
- b) uma unidade atomizadora
- c) o espectômetro e unidade de medida

Um esquema do equipamento pode ser visto na figura 1.

A técnica de detecção de mercúrio, por não exigir queimadores, simplifica bastante o processo de medição. O mercúrio é atomizado e captado no sistema (célula) após a reação de oxi-redução, quando então átomos do metal são susceptíveis de ter sua banda fundamental executada pela radiação emitida pela lâmpada padrão. O aparelho mede a quantidade de energia absorvida na transição. O que se lê é a absorbância em porcentagem, a qual fornece a concentração de mercúrio, por intermédio da exponencial que relaciona entre si intensidades e concentrações, mantidos constantes os comprimentos de onda.

Para a feitura das soluções padrão foram preparadas soluções aquosas contendo mercúrio de tal maneira que cada amostra de 100 ml contivesse de 1 a 10 mg de Hg. Estas soluções eram oxidadas em excesso pelo permanganato de potássio a 5%, (T.Y. Toribara et alii 1970.) Em seguida, era feita a redução com adição de 5 ml de ácido nítrico 5,6 N e 5 ml de ácido sulfúrico 18 N; agitava-se e aguardava-se um minuto, após o que eram adicionados 5 ml de hidroxilamina hidrociorada, aguardando-se 15 segundos para a solução tornar-se incolor. Como último passo, eram adicionados 5 ml de cloreto estanhoso, procedendo-se imediatamente à aeração por intermédio da bomba (figura 2, do conjunto). A leitura da medida no galvanômetro era feita após sua estabilização.

Para novas operações o sistema era purgado do mercúrio, utilizando-se para isso a sucção e exaustão providenciadas pela própria bomba de aeração (figura 2). Entretanto, devido à grande sensibilidade do aparelho e ao fato de o mercúrio metálico adsorver-se facilmente em

superfícies lisas (tubos de polietileno, células, janelas, tubos de vidro, frascos e partes metálicas), a purgação do sistema é uma operação demorada e exaustiva. Todos os balões, pipetas e provetas utilizadas com as soluções, bem como todos os componentes do aparelho - tubulações, célula e filtros por onde o mercúrio é carregado - têm que ser lavados com detergentes, enxaguados duas vezes, novamente lavados com sabão neutro, novamente duas vezes enxaguados com água corrente a 50 - 60°C. Em seguida, é necessário : passar em tudo, cuidadosamente, ácido nítrico concentrado, novamente enxaguar duas vezes com água corrente a 50-60°C, mais, uma vez lavar com água destilada e levar ao seca-dor de ar sente filtrado. É então pode ser feita uma nova determinação, tendo-se então certeza de que o mercúrio detectado é realmente proveniente daquela amostra, estando todo o equipamento livre de anteriores contágios.

Com soluções - padrão preparadas segundo descrição anterior, procedia-se à calibragem do aparelho cada vez que ele era utilizado. Uma curva típica de calibragem pode ser vista na figura 3.

ESQUEMA DOS COMPONENTES DO ESPECTROFOTÔMETRO

A- AERADOR COM AMOSTRA

B- BOMBA DE SUÇÃO E COMPRESSÃO

C- CÉLULA

L- LÂMPADA DE LUZ CARACTERÍSTICA

R- REGISTRADOR DE ABSORBÂNCIA

ESQUEMA DA MONTAGEM DO SISTEMA BOMBA - AERADOR

A - AERADOR
B - BOMBA
C - CÉLULA
D - DESSECADOR
E - FILTRO

FIGURA 2

FIGURA 3

3. RESULTADOS

3.1. Teores de mercúrio expressos em micrograma/grama.
Tabela nº 1.

3.2. Análise de Variância

3.2.1. Modelo Matemático (Quadro nº 1)

3.2.2. Peixes do Trecho I (Tabela nº 2)

3.2.3. Peixes do Trecho II (Tabela nº 3)

3.2.4. Fontes de Variação. ANOVA -(Tabela nº 4)

3.2.4.1. Apêndice nº 1.

3. RESULTADOS

3.1. Teores de mercúrio em micrograma/grama (Tabela nº 1)

Os resultados podem ser vistos na tabela nº 1, na qual foram colocados os teores de mercúrio expressos em microgramas de mercúrio por grama da amostra, calculados de acordo com a expressão:

$$\mu\text{g/g/Hg)} = \frac{\mu\text{g na alíquota usada} \times 100}{\text{peso da amostra (g)} \times \text{alíquota}}$$

3.2. Análise de Variância

3.2.1. Modelo Matemático (Quadro nº 1)

O tratamento estatístico foi feito segundo o Modelo Matemático apresentado no Quadro nº 1, usado para a Análise de Variância "Modificada", isto é, com um Split-plot, que permite fazer uma partição (ou mais) quando as precisões das medidas são diferentes. No caso "entre" peixes e "dentro" de peixes, isto porque foram feitas duas medidas para cada um dos exemplares de peixe: vísceras e tecido muscular. Ora, neste caso são duas medidas de um mesmo peixe e, portanto, têm ambas a mesma precisão; são medidas "dentro" de peixes. Por outro lado, foram examinados peixes de dois tamanhos, de duas ordens, de quatro espécies e com uma réplica; então, estas medidas não têm a mesma precisão que as anteriormente citadas e, como não se pode a priori dizer se isso influi ou não nos resultados, a melhor técnica é usar o experimento split plot, separando os dados em dois grupos (Johnson et Leone, 1967).

O nível de significância do Teste de Hipóteses foi fixado em 5%.

3.2.2. Peixes do Trecho I - à jusante da Cachoeira de Emas (Tabela nº 2)

3.2.3. Peixes do Trecho II - à montante da Cachoeira de Emas (Tabela 3)

Nestas duas tabelas podemos observar que as quantidades $X_{ijkl...}$, $X_{ijk...}$, $X_{ij....}$ e $X_{i.....}$ representam as somas parciais sucessivas de colunas culminando com $X_{.....}$ que vale 3,230 na tabela 2 e 4,014 na tabela 3, portanto, $X_{.....} = 7,244$.

3.2.4. ANOVA - Fontes de Variação (Tabela nº 4)

Os valores das somatórias calculadas nas tabelas nºs 2 e 3 são importantes para o cálculo da coluna de soma dos quadrados da Tabela nº 4, para todas as fontes de variação. Para melhor ilustrar o seguimento do cálculo, no apêndice nº 1 é apresentado o detalhamento das expressões utilizadas.

A Tabela nº 4 dá as informações para se verificar se existe ou não evidência estatística para supor que o teor de mercúrio difira significativamente entre os elementos dos conjuntos da coluna 1. O fator fixo E_m (partes analisadas do peixe: tecido muscular (carne) e vísceras) é altamente significativo.

Conforme os resultados, não há evidência estatística para se supor que o teor de mercúrio difira significativamente nos elementos dos seguintes conjuntos:

$E_m \times B_j$ (Tecido muscular; vísceras) x Ordem

$E_m \times A_i \times B_j$ (Tecido muscular; vísceras) x Ordem x Trecho

$E_m \times A_i \times D_L$ (Tecido muscular; vísceras) x Trecho x Tamanho

O objetivo do exame do fator fixo E_m foi corroborar os resultados do Trabalho de Wobeser, Nielsen e Dunlop (1970), os únicos a apresentarem análises feitas nas vísceras e no tecido muscular de peixes, tendo sido encontrados maiores teores do metal no fígado e nos rins dos peixes analisados. Nas análises feitas para a presente dissertação foram encontrados nos tecidos musculares (carne) maiores teores de mercúrio que nas vísceras.

TABELA Nº 1 - Teores de mercúrio em tecidos de peixes

Teores de Mercúrio em Mg/g.										
A M O S T R A S			Escamas				Couro			
			Prochilodus scrofa (Curimbataá)		Curimatus elegans (Sagüirú)		Pimelodus maculatus (Mandi)		Hemisorubini platyrhynchus (Jurupoca)	
			P	G	P	G	P	G	P	G
Trecho I	Tecido muscu- lar	R ₁	0,087	0,084	0,135	0,189	0,055	0,103	0,072	0,177
		R ₂	0,079	0,131	0,185	0,134	0,091	0,102	0,122	0,183
	Vísceras	R ₁	0,031	0,062	0,133	0,156	0,044	0,025	0,064	0,125
		R ₂	0,035	0,038	0,134	0,116	0,082	0,031	0,115	0,110
Trecho II	Tecido muscu- lar	R ₁	0,061	0,197	0,133	0,162	0,172	0,230	0,064	0,124
		R ₂	0,116	0,127	0,120	0,243	0,218	0,328	0,108	0,121
	Vísceras	R ₁	0,038	0,116	0,042	0,160	0,045	0,070	0,043	0,116
		R ₂	0,104	0,067	0,034	0,182	0,168	0,107	0,120	0,078

P → Pequeno

G → Grande

R₁ e R₂ = Repetições

QUADRO-1

ANÁLISE DE VARIÂNCIA, SEGUNDO EXPERIMENTO SPLIT-PLOT

Fatores: $A_i \rightarrow$ Trecho , $C_{R(j)} \rightarrow$ Espécie ; $E_m \rightarrow$ Tecido muscular (carne), Visceras (fixos)

$B_j \rightarrow$ Ordem ; $D_{L(jk)} \rightarrow$ Tamanho $R_h \rightarrow$ 1º e 2º peixes. (i, j, k, L, m, n = 1, 2)

MODELO:

$$X_{ijklmn} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + C_{k(j)} + AC_{ik(j)} + D_{L(jk)} + AD_{iL(jk)} + e + E_m + EA_{ini} + \\ EB_{mj} + EAB_{mij} + EC_{mk(j)} + EAC_{mik(j)} + ED_{mL(jk)} + EAD_{miL(jk)} + Z_{ijklmn}$$

Variável: X $\rightarrow$ Teor de mercúrio em $\mu\text{g/g}$.

nível de significância: $\alpha = 5\%$

TABELA Nº 2 - Peixes do Trecho I

A i →		T R E C H O 1 i=1							
B j →		Couro j=1				Es·amas j=2			
Ck(j)		Pimelodus Maculatus (Mandi)K=1		Hemisorubin platyrhinchus (Jurupoca)K=2		Prochilodus scrofa (Curimbata)K=1		Curimatus elegans (Sagfiru)K=2	
L(jk)		P L=1 G L=2		P L=1 G L=2		P L=1 G L=2		P L=1 G L=2	
Idade		P L=1 G L=2		P L=1 G L=2		P L=1 G L=2		P L=1 G L=2	
teci- do	R_1^n	0,055	0,103	0,072	0,177	0,087	0,084	0,135	0,189
	R_2^n	0,091	0,102	0,122	0,183	0,079	0,131	0,185	0,134
Vís- ce- ras	R_1^n	0,044	0,025	0,064	0,125	0,031	0,062	0,133	0,156
	R_2^n	0,082	0,031	0,115	0,110	0,035	0,038	0,134	0,116
$X_{ijk1} \dots$		0,272	0,261	0,373	0,595	0,232	0,315	0,587	0,595
$X_{ijk} \dots$		$x_{11} \dots = 0,533$		$x_{12} \dots = 0,968$		0,547		1,182	
$X_{ij} \dots$		$x_{11} \dots = 1.501$				$x_{12} \dots = 1.729$			
$x_i \dots$				3,230					

TABELA Nº 3 - Peixes do Trecho II

A i		T R E C H O 2 i=2							
B j		Couro j=1				Escamas j=2			
Ck (j)		Pimelodus maculatus (Mandi)K=2		Hemisorubin platyrhinchus (Jurupoca)K=2		Prochilodus scrofa (Curimbata)K=1		Curimatus elegans (Sagüiru)K=2	
L(jk)		P L=1 G L=2		P L=1 G L=2		P L=1 G L=2		P L=1 G L=2	
Idade		P L=1	G L=2	P L=1	G L=2	P L=1	G L=2	P L=1	G L=2
tecido muscular	R_1^n	0,172	0,230	0,064	0,124	0,061	0,197	0,0133	0,162
	R_2^n	0,218	0,328	0,108	0,121	0,116	0,127	0,120	0,243
Visceras	R_1^m	0,045	0,070	0,043	0,116	0,038	0,116	0,042	0,160
	R_2^m	0,168	0,107	0,120	0,078	0,104	0,067	0,034	0,182
X _{ijk1} ..		0,603	0,735	0,335	0,439	0,319	0,507	0,329	0,747
X _{ijk...}		1,338		0,774		0,826		1,076	
X _{ij....}		x _{21....} 2,112		x _{22....} 1,902					
xi.....		4,014							

TABELA Nº 4 - Fontes de Variação

ANOVA

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	T.S.
1 A	1	0,00960400	0,00960400	4,70	*
2 B	1	0,00000506	0,00000506	$2,5 \times 10^{-3}$	n.s
3 AB	1	0,00299757	0,00299757	1,47	n.s
4 C(B)	2	0,02499582	0,01249791	6,11	**
5 AC(B)	2	0,03581955	0,01790978	8,76	***
6 D(BC)	4	0,02348902	0,00587241	2,87	n.s
7 AD(BC)	4	0,01334363	0,00333591	1,63	n.s
Resíduo	16	0,03272850	0,00204553	-	-
Entre	31	0,14298375	0,00461238	1,81	n.s
8 E	1	0,04316006	0,04316006	113,50	***
9 EA	1	0,00257557	0,00257557	6,77	**
11 EB	1	0,00057601	0,00057601	1,51	n.s
11 EAB	1	0,00070223	0,00070223	1,85	n.s
10 EC(B)	2	0,00874805	0,00437403	11,50	***
10 EAC(B)	2	0,00783083	0,00391542	10,30	***
10 ED(BC)	4	0,01013063	0,00253408	6,66	***
11 EAD(BC)	4	0,00194212	0,00048553	1,28	n.s
Resíduo	16	0,00608450	0,00038028	-	-
Dentro	32	0,08175000	0,00255469	-	-
Total	63	0,22473375	-	-	-

4. DISCUSSÃO

4.1. Nível permissível

4.2. Teores de mercúrio em tecido muscular

4.3. Teste de hipóteses e análise de variância

4. DISCUSSÃO

4.1. Nível Permissível

O peixe tem sido o grande responsável pelas intoxicações humanas com mercúrio, mas o homem não pode se dar ao luxo de desprezar essa importantíssima fonte de proteínas; ao contrário, em lugar de prescindir do peixe à mesa, há que se estimular o consumo do pescado e, paralelamente, estabelecer estrita vigilância quanto ao seu controle sanitário. Mesmo porque "os peixes constituem um barômetro muito útil do real estado de pureza de uma água H.D. Turing (S.M. Branco, 1972).

Alguns países, principalmente como Norma Administrativa, estabeleceram níveis máximos de mercúrio permissíveis em peixes, considerando impróprios para o consumo exemplares que tenham teores acima do fixado. Mas esses variam em muitos países.

Cinquenta por cento dos países estabelecem como nível máximo de mercúrio em peixes, 0,5 ppm. Em outros países, a diferença oscila entre 0,1 ppm e 1 ppm (F. C. Lu, 1974). A Organização Mundial de Saúde recomenda também o limite de 0,5 ppm.

O maior limite aceito é o da Suécia, que estabelece um teor de 1,0 ppm. Os suecos fixaram esse limite com base nos casos de envenenamento no Japão, quando do Mal de Minamata (S. Skerving, 1974). Mas a Suécia fixou seu limite num valor muito alto, criticado por T.B. Eyl, 1971 e J.W. Neuhaus, 1973, que acreditaram tenha havido um engano no cálculo, erro devido ao fato de os suecos considerarem que os níveis fixados pelo Japão haviam sido calculados em peso úmido, que é o de uso na atualidade.

O Brasil não fixou ainda seu limite, mas tendo em vista a recomendação da Organização Mundial de Saúde (0,5 ppm) e acrescido do problema levantado em torno de um

possível erro de cálculo da Suécia ao fixar seu valor em 1,0 ppm, neste trabalho assumiu-se que o limite tolerável seria 0,5 ppm. Porque, por um lado fixar um teor menor que 0,5 ppm parece ser a adoção de uma medida excessivamente restrita de proteção e esse excesso de cautela poderia, sem necessidade, privar a população de uma das mais importantes fontes de proteínas da alimentação. Isto sem se cogitar a difícil situação em que seriam colocadas as pessoas que vivem da indústria pesqueira se, por excesso de zelo, se fixasse um teor muito pequeno de mercúrio como máximo permissível em peixes. Por outro lado, aceitar-se um limite maior que 0,5 ppm parece imprudente, uma vez que a própria Comissão de Codex sobre Pescado e Produtos da Indústria Pesqueira ainda está para formular recomendações sobre os níveis que se podem considerar permissíveis. Essas recomendações terão que ser referendadas pelo Comitê do Codex sobre aditivos alimentares e só então a Comissão FAO/WHO do Codex Alimentarius examinará os limites para uma possível adoção como normas internacionais (F.C.Lu, 1974).

Todos os peixes examinados para este trabalho têm teor de mercúrio menor que 0,5 ppm. No tecido muscular, o menor teor encontrado foi 0,055 $\mu\text{g Hg/g}$ peixe; e o maior teor foi 0,328 $\mu\text{g/g}$ (amplitude de variação = 0,273). O menor teor de mercúrio encontrado nas vísceras foi 0,025 $\mu\text{g/g}$, o maior 0,182 $\mu\text{g/g}$ (amplitude de variação 0,157).

Um mandi grande do Trecho II foi o que apresentou o maior teor de mercúrio nos músculos, e um mandi pequeno do Trecho I teve o menor teor encontrado. Para as vísceras, o maior teor pertence a um sagüiru grande do Trecho II, e o menor a um mandi grande do Trecho I. Todos eles, porém, com teores sempre menores que 0,5 ppm, que se aceitou como o maior permissível.

4.2. Teores de Mercúrio em Tecido Muscular

A bibliografia que se refere a mercúrio em peixes apenas menciona os níveis encontrados sem dizer se as análises foram feitas no peixe todo ou se apenas em sua parte comestível. J.F. Uthe et alii relatam que o mercúrio de

tectado é de músculos de peixes.

Outra exceção é a feita por G. Westöo, 1973, que estudou a porcentagem de metil mercúrio no mercúrio total de 34 peixes: salmons e 8 trutas de diversas procedências. Para esse estudo, ele examinou vísceras e tecido muscular separadamente, mas não do mesmo peixe. Isto é, de 26 exemplares (21 salmões e 5 trutas) estabeleceu a relação entre metil mercúrio e mercúrio total presentes nos músculos. Em outros 8 peixes (5 salmões e 3 trutas) fez o mesmo estudo nas vísceras.

Wobeser, Nielsen, Dunlop e Atton, 1970, estudaram separadamente as concentrações de mercúrio em vísceras e em músculos de 14 dos 81 peixes analisados do rio canadense Saskatchwan. Os resultados encontrados foram os seguintes:

Peixes Nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
T e o r d e Hg														
Hg músculo	10.5	10.6	6.1	4.4	5.3	1.2	5.3	11.2	5.3	1.1	1.5	0.6	1.0	0.5
Hg fígado	14.3	12.8	13.4	10.4	12.7	1.2	4.9	16.5	8.7	2.5	1.9	2.5	1.6	1.3
Hg rins	13.1	21.1	20.5	10.5	9.5	1.2	-	13.4	6.0	1.6	2.3	1.4	1.4	-

Peixes do Rio Saskatchewan

Wobser, Nielsen, Dunlop et Atton, 1970.

No peixe de nº 7, o teor de Hg é maior nos músculos (5.3) que no fígado (4.9). No peixe nº 6, o teor é igual para músculo, fígado e rins (1.6). Nos demais peixes, o teor de mercúrio encontrado é sempre menor nos músculos.

Resolveu-se, para a feitura dessa dissertação, analisar em separado o tecido muscular dos peixes (parte comestível) e também analisou-se as vísceras. Mas, por motivos de ordem técnica - tamanho pequeno de vários peixes -, as vísceras todas foram digeridas para o exame. Na tabela nº 1 vê-se que dos 32 peixes analisados apenas em um (jurupoca pequeno do Trecho I) foi encontrado um teor de mercúrio maior nas vísceras que na carne; todos os demais continham mais mercúrio nos músculos. Portanto, estes resultados são opostos aos de Wobeser e seus colaboradores que, por sua vez, dizem:

"Embora a distribuição dos tecidos estudados sugira que os músculos não têm grande capacidade de concentrar mercúrio como alguns outros tecidos, os músculos de peixes de águas com concentrações moderadas ou não detectáveis têm um conteúdo de mercúrio maior que os outros tecidos".

Por isso, embora teores encontrados não corroborem os de Wobeser et alii, 1970, o próprio trabalho deles já dá uma possível explicação para que os músculos dos peixes do Rio Mogi-Guaçu contenham mais mercúrio que as vísceras. O teor de mercúrio dos peixes do Sasketchwan é altíssimo, muitos deles maiores que 10,0 ppm, e os teores das espécies estudadas do Rio Mogi-Guaçu são bem baixas (sempre menores que 0,330 µg/g).

Qual seria uma possível explicação para que haja mais do metal tóxico nos músculos dos peixes que em suas vísceras?

IN Poluição e Intoxicação de Peixes, diz S.M.Branco: "O peixe se acha imerso na solução tóxica, isto é, sua intoxicação não depende da ingestão do veneno. O seu contacto é mais direto e permanente. Realmen

te os peixes de água doce ingerem muito pouco ou nenhuma água: assim mesmo pode ser notado que a eliminação de líquidos, sob a forma de urina, é muito abundante e necessária pois, sendo a pressão osmótica interior muito maior que a do meio, há uma quantidade considerável de água penetrando continuamente no organismo do peixe. Essa entrada contínua de água se faz principalmente através das brânquias, pois a superfície do corpo, revestida de escamas, é impermeável. A penetração da água, por sua vez, facilita a penetração dos tóxicos, que passam diretamente à circulação das brânquias e daí à aorta dorsal que os distribui imediatamente por todo o corpo".

Então, parte do mercúrio pode ir para os peixes através da cadeia alimentar, e parte através da água diretamente.

Sendo os músculos a parte comestível do peixe, parece muito importante que os músculos sejam analisados em separado, porque é importante saber-se se os teores encontrados nos peixes são de seu tecido muscular.

Como a bibliografia não menciona como se procedeu, pode-se imaginar as duas possibilidades: o exame foi feito no peixe todo e os dados são interpolados para os músculos; ou então, a análise foi feita nos músculos e os dados vêm sendo extrapolados para o peixe. Em ambas as situações pode-se cometer erro, se o teor não for igual para músculos e carne. Esse dado não é disponível, mas pode-se pensar nas possibilidades que surgem:

1º caso: O mercúrio foi detectado no peixe digerido totalmente e os teores encontrados são interpolados para os músculos. No caso, pode acontecer:

- a) $\text{teor Hg} + \text{T.M.} = \text{Teor Hg vísceras}$ (não há erro.
- b) $\text{teor Hg} + \text{T.M.} > \text{teor Hg vísceras}$ o resultado usado para a carne é menor que o real; cometendo-se esse erro para menos, pode-se estar permitindo ingestão de peixe com nível maior que o permissível.

- c) teor Hg $\rightarrow$ T.M. $<$ V - o resultado total usado para carne é um resultado maior que o verdadeiro; pode-se então estar se condenando peixes que estão dentro do limite de segurança.

2º Caso: As análises são feitas só em músculos e os resultados são extrapolados para o peixe como um todo.

- a) teor Hg $\rightarrow$ T.M. = V - não há problema
- b) teor Hg $\rightarrow$ T.M. $>$ V - o resultado é usado a nível de alimento, há um erro para mais e peixes com teores seguros podem estar sendo condenados.
- c) teor Hg T.M. $<$ teor Hg V - o erro é para menos, e peixes com mercúrio acima do nível permissível podem erroneamente ser considerados inócuos.

Quando se condena peixes que poderiam ser liberados, além de se privar a população desse pescado "inocente", ainda se alarma, sem necessidade, uma população nem sempre esclarecida.

No caso contrário - permitindo a ingestão de peixes que deveriam ser condenados - expõe-se a população a um risco.

Além desses motivos para se decidir analisar músculos separados de vísceras, há outro fator importante: será sempre extremamente útil conhecer o valor real de mercúrio presente nos músculos.

Ademais, se realmente quando as águas estão fortemente contaminadas há um teor maior de Hg nas vísceras, em análises de rotina feitas separadamente os teores encontrados podem ser um bom índice de contaminação, quando houver flutuações dos teores de mercúrio na água.

4.3. Teste de Hipótese e Análise de Variância

Para o teste de hipótese feito através da análise de variância - Split plot (Quadro I) o nível de significância foi fixado em 5%. Ao se dar a α um tamanho pequeno, se houver erro ele será um pequeno erro de espécie. Vale dizer, haverá 5% de probabilidade de se cometer um erro ao afirmar que existe alguma diferença nas comparações que se estiver fazendo, quando na verdade não existe essa diferença.

Especificamente, como a variável X é teor de mercúrio, pode-se errar afirmando que entre dois ou mais parâmetros comparados, o teor de mercúrio difere significativamente. O tamanho desse erro é de 5%. Sendo α bastante pequeno, há uma maior confiabilidade nas possíveis diferenças entre os parâmetros avaliados, e um futuro trabalho poderá ter como objetivo corroborar essas dissimilaridades.

4.3.1. Teores de Mercúrio

-No fator fixo E (tecido muscular, vísceras)

Como as análises foram feitas em duas porções distintas de cada peixe e estes dois parâmetros têm a mesma precisão de medida, as comparações entre eles foram feitas separadamente. Seguramente esta é a afirmação mais precisa das análises: difere com alta significância o teor de mercúrio nessas duas porções do peixe. Parece que seria bastante interessante aproveitar-se estas informações em futuros trabalhos, já que das variáveis medidas, estas além de serem sumamente importantes para a saúde foram as que no teste F da análise de variância nos deram grande segurança para afirmar que os teores de mercúrio das vísceras são menores que os dos músculos ($F = 113,50$ - Tabela 4). Foi bastante boa a escolha da metodologia de se separar os músculos das vísceras e analisá-los nos mesmos peixes.

-No Fator A (Trechos)

Embora a Σ dos teores de cada trecho dê os valores T.I. = 3,230 e T.II = 4.014 (Tabelas 2 e 3) e a análise de variância nos dê para F o valor 4,70 (Tabela 4), a única afirmativa segura para os trechos é que os peixes analisados do Trecho I contêm menos mercúrio que os do Trecho II, mas não se pode afirmar que o Trecho II esteja mais contaminado, porque os peixes migram, ultrapassando inclusive a Cachoeira de Emas, principalmente nas épocas de reproduções. Contudo, pode-se colocar as questões: estaria o Trecho II mais contaminado? Seria possível que a indústria de papel que se encontra nesse trecho fosse responsável ao menos por parte do mercúrio encontrado nesse trecho?

- No Fator B - Ordem (Siluriformes - couro e Cypriniformes - escamas)

A Análise de Variância nos dá $F = 2,5 \times 10^{-3}$ (Tabela 4), o que não nos permite concluir quanto a possíveis diferenças entre as ordens estudadas. Mas acontece que para espécies diferentes há concentrações diferentes de mercúrio (W.F. Almeida, 1975), mas não se pode extrapolar para ordens. São muitos os gêneros e as famílias que compõem uma ordem, e as diferenças entre eles podem "compensar" os resultados, não se encontrando as mesmas diferenças entre os peixes de couro em conjunto e os de escama também agrupados. Contudo, pode-se perguntar: seria interessante analisar grande número de peixes das duas ordens para se verificar se haveria diferença de concentrações de mercúrio entre peixes de escama e de couro?

Quando do início do trabalho, ao se escolher duas diferentes ordens para o presente estudo, pensou-se que, sendo bastante diferentes os hábitos de vida (especialmente os alimentares) dos peixes de escama e couro (os últimos alimentando-se bastante de lodo), poderia haver indicações estatísticas de diferenças significantes entre os teores de mercúrio nos peixes de ordens diferentes.

Mas os nossos resultados não nos permitem sequer levantar hipóteses a respeito.

- Fator C - (Espécies)

Prochilodus scrofa (Curimbatã)

Curimatus elegans (Sagüiru)

Hemisorubim platyrhinchus (Jurupoca)

Primelodus maculatus (Mandi)

Para as espécies estudadas, a Análise de Variância dá para F o valor 6.11, o que indica haver evidência estatística para se supor que os teores de mercúrio difiram entre as espécies. Para se verificar isso, seria necessário trabalhar-se então com mais exemplares de duas espécies, se possível do mesmo gênero ou, ao menos, de uma mesma família, para se comparar melhor os resultados e se pensar em estabelecer diferenças e semelhanças de teores de mercúrio entre peixes com características iguais. Por exemplo, como se comporta o mercúrio em Curimatus elegans e Curimatus Gilberti?

- Fator D - Tamanho (Pequeno e Grande)

Os peixes analisados e agrupados segundo o tamanho, em função do maior comprimento que a espécie pode atingir, não autorizam, estatisticamente, a dizer que neles haja diferença significativa nos teores de mercúrio. Acontece, porém, que só se analisou 4 peixes pequenos e 4 peixes grandes para cada espécie, não havendo, portanto, exemplares em toda a curva de crescimento, o que impede uma segura extrapolação dos dados. G. Wobeser et alii 1970, também estranharam no seu trabalho não encontrar maior teor de mercúrio nos exemplares maiores, conforme a literatura relata (OMS, 1974; Comitê do Codex sobre Pesca do e Derivados, 1971, J.W. Neuhaus, 1973).

Para se relacionar com segurança tamanho x teores há que se possuir mais amostras de uma mesma espécie para o mesmo tamanho, e procurar ter exemplares de todas as idades (através da curva de crescimento que rela-

ciona tamanho x idade). É bastante lógico pensar-se em encontrar mais mercúrio nos peixes maiores, sendo esse metal cumulativo (A.L. Hamond, 1971) e seria muito interessante verificar-se essa acumulação em função do tamanho, principalmente porque o mecanismo pelo qual o peixe pode acumular o mercúrio das águas que o rodeiam não foi ainda satisfatoriamente explicado, embora tais acumulações tenham sido confirmadas experimentalmente. (Vostal et Clarkson, 1973).

- Fator R - 1º e 2º peixes

As repetições feitas, analisando-se dois peixes do mesmo tamanho, da mesma espécie, do mesmo local, apanhados no mesmo dia, não revelaram diferenças significativas nos teores, o que nos dá maior confiabilidade dos dados. De qualquer modo, parece ser sempre conveniente se fazer uma repetição para cada análise.

5. CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

5.1. Todos os peixes analisados para este trabalho continham teores de mercúrio abaixo do nível permissível pela Organização Mundial de Saúde (0,5 ppm). A partir desta amostragem pode-se inferir que são próprios para o consumo - não representando perigo algum para o homem - peixes do Mogi-Guaçu das espécies: Prochilodus scrofa (Curimatã); Curimatus elegans (Sagüiru); Hemisorubim platyrhinchus (Juru-poca) e Pimelodus maculatus (Mandi).

5.2. O teor de mercúrio encontrado nos músculos (carne) é maior que o das vísceras, fator importante porque a concentração é maior exatamente na porção comestível dos peixes, mas não há motivo para alarme, primeiramente porque a concentração, mesmo a do tecido muscular, está abaixo do teor 0,5 ppm-recomendado como maior nível permissível pela Organização Mundial da Saúde, e também porque esse tipo de concentração (maior nos músculos que nas vísceras) é o encontrado em águas com pequeno teor de mercúrio (Wobeser et alii, 1970).

5.3. A nível de significância de 5%, a Análise de Variância "modificada" Split plot, pelo teste F revela que não existe evidência estatística para se supor que o teor de mercúrio difira significativamente para:

- Ordem dos peixes examinados: **escamas x couro** (Cypriniformes e Siluriformes)
- Trecho do rio de onde foram retiradas as amostras x Ordem dos peixes.
- Tamanho (grandes e pequenos) dos peixes examinados x (Ordem; Espécie)
- Trecho x Tamanho x (Ordem; Espécie)
- "Entre" os fatores analisados, a saber: trechos, ordens, espécies, tamanhos, repetições.

5.4. A partir do teste F, para $\alpha = 5\%$, há evidência estatística na análise de variância para se supor que o teor de mercúrio difira significativamente entre:

- Trechos
- Espécie x Ordem
- Trecho x Ordem (Espécie)

5.5. Através do fator fixo porções analisadas dos peixes, a saber, Tecido Muscular e Vísceras (variáveis "dentro" dos peixes) há significativa diferença quando $\alpha = 5\%$, no teste F, da análise de variância para os seguintes elementos:

- Tecido muscular x vísceras
- Tecido muscular, vísceras x Trechos
- Tecido muscular, vísceras x Ordem x (Espécies)
- Tecido Muscular; Vísceras x Trechos x Ordens x (Espécies)
- Tecido Muscular, Vísceras x Tamanho x (Ordens x Espécies)

5.6. Não existe evidência estatística para se supor que o teor de mercúrio difira significativamente no teste F, para um nível de significância de 5% na Análise de Variância com fator fixo Tecido Muscular; Vísceras, para os seguintes conjuntos:

- (Tecido Muscular; Vísceras)x Ordem
- (Tecido Muscular; Vísceras) x Trecho x Ordem
- (Tecido Muscular; Vísceras) x Trecho x Tamanho x (Ordem; Espécie)

INDICE	REGRA	PRODUTO	SOMA DOS QUADRADOS
A	i	i - 1	$\sum_i x_i^2 \dots / 32 - \frac{x^2 \dots}{64}$
B	j	j - 1	$\sum_j x_j^2 \dots / 32 - \frac{x^2 \dots}{64}$
AB	ij	(i-1)(j-1) ij - i - j + 1	$\sum_i \sum_j x_{ij}^2 \dots / 16 - \sum_i x_i^2 \dots / 32 - \sum_j x_j^2 \dots / 32 + \frac{x^2 \dots}{64}$
C	k(j)	j(k-1) jk - j	$\sum_j \sum_k x_{jk}^2 \dots / 16 - \sum_j x_j^2 \dots / 32$
AC	ik(j)	j(i-1)(k-1) ijk - ij - jk + j	$\sum_i \sum_j \sum_k x_{ijk}^2 \dots / 8 - \sum_i \sum_j x_{ij}^2 \dots / 16 - \sum_j \sum_k x_{jk}^2 \dots / 16 + \sum_j x_j^2 \dots / 32$
D	L(jk)	jk(L-1) jkL - jk	$\sum_j \sum_k \sum_L x_{jkl}^2 \dots / 8 - \sum_j \sum_k x_{jk}^2 \dots / 16$
AD	iL(jk)	jk(L-1)(i-1) ijkL - ijk - jkL + jk	$\sum_i \sum_j \sum_k \sum_L x_{ijkl}^2 \dots / 4 - \sum_i \sum_j \sum_k x_{ijk}^2 \dots / 8 - \sum_j \sum_k \sum_L x_{jkl}^2 \dots / 8 + \sum_j \sum_k x_{jk}^2 \dots / 16$
E	m	m - 1	$\sum_m \frac{x^2 \dots m}{32} - \frac{x^2 \dots}{64}$
EA	im	(i-1)(m-1) im - i - m + 1	$\sum_i \sum_m \frac{x_{im}^2 \dots}{16} - \sum_i \frac{x_i^2 \dots}{32} - \sum_m \frac{x^2 \dots m}{32} + \frac{x^2 \dots}{64}$
EB	jm	(j-1)(m-1) jm - j - m + 1	$\sum_j \sum_m \frac{x_{jm}^2 \dots}{16} - \sum_j \frac{x_j^2 \dots}{32} - \sum_m \frac{x^2 \dots m}{32} + \frac{x^2 \dots}{64}$
EAB	ijm	(i-1)(j-1)(m-1) ijm - ij - im - jm + i + j + m - 1	$\sum_i \sum_j \sum_m \frac{x_{ijm}^2 \dots}{8} - \sum_i \sum_j \frac{x_{ij}^2 \dots}{16} - \sum_i \sum_m \frac{x_{im}^2 \dots}{16} - \sum_j \sum_m \frac{x_{jm}^2 \dots}{16} + \sum_i \frac{x_i^2 \dots}{32} + \sum_j \frac{x_j^2 \dots}{32} + \sum_m \frac{x^2 \dots m}{32} - \frac{x^2 \dots}{64}$
EC	mjk(j)	j(m-1)(k-1) jmk - jm - jk + j	$\sum_j \sum_k \sum_m \frac{x_{jkm}^2 \dots}{8} - \sum_j \sum_m \frac{x_{jm}^2 \dots}{16} - \sum_j \sum_k \frac{x_{jk}^2 \dots}{16} + \sum_j \frac{x_j^2 \dots}{32}$
EAC	mik(j)	j(m-1)(i-1)(k-1) ijk m - jkm - ijk - ijm + i + j + k + jm - j	$\sum_i \sum_j \sum_k \sum_m \frac{x_{ijk m}^2 \dots}{4} - \sum_i \sum_j \sum_m \frac{x_{ijm}^2 \dots}{8} - \sum_i \sum_k \sum_m \frac{x_{ikm}^2 \dots}{8} - \sum_j \sum_k \sum_m \frac{x_{jkm}^2 \dots}{8} + \sum_i \sum_j \frac{x_{ij}^2 \dots}{16} + \sum_j \sum_k \frac{x_{jk}^2 \dots}{16} + \sum_j \sum_m \frac{x_{jm}^2 \dots}{16} - \sum_j \frac{x_j^2 \dots}{32}$
ED	mL(jk)	jk(m-1)(L-1) jkLm - jkm - jkL + jk	$\sum_j \sum_k \sum_L \sum_m \frac{x_{jklm}^2 \dots}{4} - \sum_j \sum_k \sum_m \frac{x_{jkm}^2 \dots}{8} - \sum_j \sum_k \sum_L \frac{x_{jkl}^2 \dots}{8} + \sum_j \sum_k \frac{x_{jk}^2 \dots}{16}$
EAD	miL(jk)	jk(m-1)(L-1)(i-1) ijkLm - ijk m - ijkL - jkLm + i + jk + jkL + jkm - jk	$\sum_i \sum_j \sum_k \sum_L \sum_m \frac{x_{ijkLm}^2 \dots}{2} - \sum_i \sum_j \sum_k \sum_m \frac{x_{ijk m}^2 \dots}{4} - \sum_i \sum_j \sum_k \sum_L \frac{x_{ijkL}^2 \dots}{4} - \sum_j \sum_k \sum_L \sum_m \frac{x_{jklm}^2 \dots}{4} + \sum_i \sum_j \sum_k \frac{x_{ijk}^2 \dots}{8} + \sum_j \sum_k \sum_L \frac{x_{jkl}^2 \dots}{8} + \sum_j \sum_m \frac{x_{jm}^2 \dots}{8} - \sum_j \frac{x_j^2 \dots}{16}$
ENTRE	—	—	$\sum_i \sum_j \sum_k \sum_L \sum_m x_{ijklm}^2 / 2 - \frac{x^2 \dots}{64}$
TOTAL	—	—	$\sum_i \sum_j \sum_k \sum_L \sum_m \sum_n x_{ijklmn}^2 - \frac{x^2 \dots}{64}$

APÊNDICE I

6. BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFIA

1. ABELSON, Philip H. - Methyl mercury. Science, 169 (3942), 17 jul. 1970.
2. ALMEIDA, Waldemar F. - Contaminação ambiental e alimentar por mercúrio e suas consequências. O Biológico, 41 (7) 208-220, jul. 1975.
3. AMARAL E SILVA, C. C. - A poluição das águas por metais pesados. São Paulo, CETESB, 1975.
4. AQUINO, Inoah - Manual agrícola. São Paulo, Química Industrial Brasileira, 1969.
5. AZEVEDO, Pedro de - A piscicultura, histórico, considerações gerais e perspectiva futuras. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, CIBPU, 1972, p. 177-180.
6. AZEVEDO, Pedro de - Principais peixes das águas interiores de São Paulo, hábitos de vida. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, CIBPU, 1972, p. 109-112.
7. BACHE, C.A.; GUTENMANN, W.H.; LISK, D.J. - Residues of total mercury and methylmercuric salts in Lake Trout as a function of age. Science, 72: 951-952, 28 may 1971.
8. BAKIR, F. & DAMLUJI, S. F. - Methylmercury poisoning in Iraq. Science, 181 (4096): 230-241, 20 jul. 1973.
9. BARBER, R.T. et all. - Mercury concentrations in recent and ninety-year-old Benthopelagic fish. Science, 178: 636-639, 1972.
10. BERQUÓ, E. - Bioestatística. São Paulo, Faculdade de Higiene e Saúde Pública - USP, 1969.
11. BIDSTRUP, P. L. - Toxicity of mercury and its compounds. Amsterdam, Elsevier, 1964.
12. BRANCO, Samuel Murgel - Controle da poluição. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, CIBPU, 1972, p. 63-72.
13. BRANCO, Samuel Murgel - Efeitos da poluição sobre a exploração de recursos naturais vivos. R. DAE, São Paulo, 35 (101): 39-42, 1975.

14. BRANCO, Samuel Murgel - O peixe em relação ao ambiente. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, CIBPU, 1972, p. 25-28.
15. BRANCO, Samuel Murgel - Poluição e intoxicação de peixes. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, CIBPU, 1972, p. 45-52.
16. BRANCO, Samuel Murgel - Transferência e transformações de poluentes nas cadeias alimentares e ecossistemas aquáticos. Revista DAE, 25 (101): 27-31, 1975.
17. Brasil. Leis, decretos, etc. Portaria nº 37 - 10 ago. 1970. Ministério da Agricultura. Diário Oficial, Brasília, 02 set. 1970 p. 7710.
18. Brasil. Leis, decretos, etc. Portaria nº 2 - 06 jan. 1975. Ministério da Agricultura. Diário Oficial, Brasília, 14 jan. 1975. p. 577.
19. Brasil. Leis, decretos, etc. Portaria nº 003/SEMA - 11 abr. 1975. Diário Oficial, Brasília, 24 abr. 1975.
20. Brasil. Leis, decretos, etc. Portaria G.M/nº 0013 - 15 jan. 1976. Diário Oficial, Brasília, 23 jan. 1976.
21. BRISTSKI, Heraldo A. - Peixes de água doce do estado de São Paulo: sistemática. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, CIBPU, 1972, p. 79-99.
22. BROWN, A. W. A. - "Pest resistance to pesticides" In: WHITE, Robert, ed. - Pesticides in the environment. New York, Dekker, 1971, v. 1, cap. 7, p. 458-552.
23. COMITÊ DO CODEX SOBRE PESCADO E DERIVADOS - Programa Misto FAO/OMS sobre Padrões Alimentares. Trad. C.A.M.L.S., s.d. 10 p. (Documento preparado pelo Secretariado Norueguês). CX/FFP 71/6.
24. COMITÊ DO CODEX SOBRE PESCADO E DERIVADOS. 6.; Sessão, Berger, Noruega, 4-8, out. 1971. Trad. C.A.M.L.S. Noruega, 1971, s.d. 2 p. (ALINORM 72/18). Relatório.

25. CURLEY, August et all. - Organic mercury identified as the cause of poisoning in humans and hogs. Science, 172 (3978): 65-67, apr. 1971.
26. EDWARDS, Clive A. - CRC persistent pesticides in the environment. London, Butterworths, 1970.
27. ENCICLOPÉDIA Mirador Internacional. São Paulo, Encyclopædia Britânica do Brasil, 1976. v.2.
28. EYL, Thomas B. - Alkylmercury contamination of foods. JAMA, 215 (2): 287-8, 1971.
29. EYL, Thomas B. - Methyl mercury poisoning in fish and human beings. Clinical toxicology, 4 (2): 291-296, 1971.
30. EYL, Thomas B. - Organic-mercury food poisoning. N. Engl. J. Med., 284: 706-9, 1971.
31. FAO/WHO - Evaluation of mercury, lead, cadmium and the food additives amaranth, diethylpyrocabate, and octyl galate. Who Food Additives Ser., Geneva 4 (505): 1-35, 1972.
32. FAO/WHO - Expert Committee on Food Additives. Who Rechn. Report Ser., 1972 (505): 11-17.
33. FAO/WHO - The use of mercury and alternative compounds as seed dressings. Who Tech. Rep., Geneva, 1974, (555): 1-34.
34. FOWLER, Bruce A. - Ultrastructural evidence for nephropathy induced by long-term exposure to small amounts of methyl mercury. Science, 175: 780-781, 1972.
35. FURUKAWA, K. & TONOMURA, K. - Enzyme system involved in the decomposition of phenyl mercuric acetate by mercury-resistant pseudomonas. Agr. Biol. Chem., 35(4): 604-610, 1971.
36. GANTHER, H. E., et all. - Selenium: relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets containing tuna. Science, 175 (4026): 1122-1124, 10 mar. 1972.

37. GIBBS JR., R.H.; JAROSEWICH, E.; WINDOM, H.L. - Heavy metal concentrations in Museum Fish Specimens; effects of preservatives and time. Science, 184 (4135): 475-477, 26 apr. 1974.
38. GODINHO, Heloisa Maria - Considerações gerais sobre anatomia dos peixes. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, CIBPU, 1972, p. 113-136.
39. GODOY, M.P. de - Idade, crescimento e peso de peixes. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, CIBPU, 1972, p. 137-146.
40. GODOY, M.P. de - Migrações dos peixes: marcação. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, CIBPU, 1972. p.147-156.
41. GHOSH, M. M. & ZUGGER, P.D. - Toxic effects of mercury on the activated sludge process. Journal WPCF, 45 (3): 424-433, 1973.
42. HAMOND, Allen L. - Mercury in the environment: natural and human factors. Science, 71: 788-789, 25 feb. 1971.
43. HATCH, W.R. & OTT; W.L. - Determination of submicrogram quantities of mercury by atomic absorption spectrophotometry. Analytical Chemistry, 40 (14): 2085-2087, dec 1968.
44. HENDERSON, C.; INGLIS, A.; JOHNSON, W.L. - Mercury residues in fish, 1960-1970 - national pesticide monitoring program. Pesticides Monitoring Journal, 6 (3): 144-59, 1972.
45. HOLAK, W.; KRINITZ, B.; WILLIAMS, J.C. - Simple, rapid digestion technique for the determination of mercury in fish by flameless atomic absorption. Journal of the AOAC, 55 (4): 741-2, 1972.
46. IMRE, R.A. et all - Soil contamination caused by the use of mercury - containing disinfectants. Zbl. Bakt. Hyg. 1- Abt. Orig. B., 1972 (155): 476-481.

47. IMURA, Nomubasa et all. - Chemical methylation of inorganic mercury with methylcobalamin, a vitamin B₁₂ analog. Science, 172 (3989): 172-173, 1972.
48. JEFFUS, M. T.; ELKINS, J.S.; KENNER, C.T. - Determination of mercury in biological materials. Journal of the AOAC, 53: 1172-1175, 1970.
49. JERNELOV, A. - Persistent pesticides and heavy metals. In: FAO/SIDA Training course on marine pollution in relation to protection of living resources, 1., Gothenburg, Sweden, 2 may - 3 june 1972. p. 59-73. Swedish Funds-in-Trust TF/INT/32 - FAO/SIDA/TF 95, supl. 1. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1974.
50. JOENSUU, Oiva I. - Fossil fuels as a source of mercury pollution. Science, 172 (3987): 1027-1028, 17 feb. 1971.
51. JOHNSON, L.G.; MORRIS, R.L. - Pesticides in water. Pesticides monitoring Journal, 4 (5): 216-219, mar. 1971.
52. JOHNSON, Norman L. & LEONE, Fred C. - Statistics and experimental design. New York, Wiley & Sons, 1969. v. 2. p. 176-242.
53. KAHN, Ephraim - Mercuran. Arch. Environ. Health. 1974, 29: 297.
54. KATSUKI, S. - A study on metabolism in the so-called minamata disease with special reference to metal metabolism. Kyushu J. Med. Sci., 9: 102-109, 1958
55. KOJIMA, Kohei & FUJITA, Masahiko - Summary of recent studies in Japan on methyl mercury poisoning. Toxicology, 1(1) 43-62, 1973.
56. KRINITZ, B. & HOLAK, W. - Simple, rapid digestion technique for the determination of mercury. Journal of the AOAC, 57: 568-569, 1974.
57. KURLAND, L.T.; FARO, S.N.; SIEDLER, H. - The outbreak of a neurologic disorder in Minamata, Japan, and its relationship to the ingestion of seafood contaminated by mercuric compounds. World Neurol., 1: 370-395, 1960.

58. LE QUESNE, P.M. et all. - Electrophysiological studies of peripheral nerves in patients with organic mercury poisoning. Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry, 37: 333-339, 1974.
59. LETTER: Mercuran. Arch. Environ. Health, 29: 296-298, nov. 1974.
60. LU, F.C. - El mercurio como contaminante de los alimentos. Cronica de la OMS, 28: 8-11, 1974.
61. MALAIYANDI, M. & BARRETE, J.P. - Wet oxidation method for the determination of submicrogram quantities. Journal of the Assoc., 55: 951-952, 1972.
62. MARTINS, Maria A. Basile - Plâncton: generalidades e sua importância na alimentação dos peixes. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, CIBPU, 1972. p. 195-206.
63. MATSUMURA, Fumio, BOUSH, G. Mallory; MISATO, Tomomasa - Environmental toxicology of pesticides. New York, Academic Press, 1972.
64. MATSUMURA, Fumio; GOTOH, Yoshiko; BOUSH, G. Mallory - Phenylmercuric acetate: metabolic conversion by microorganisms. Science, 173 (3991): 49-51, 2 jul. 1971.
65. MENEZES, Naércio Aquino - Distribuição e origem da fauna de peixes de água doce das grandes bacias fluviais do Brasil. In: Poluição e piscicultura. São Paulo, CIBPU, 1972, p. 73-78.
66. MERCURY in fish. The Lancet, 1: 27-28, jan., 1971.
67. MILLER, G.E., et all. - Mercury concentrations in museum specimens of Tuna and Swordfish. Science, 175 (4026): 1121-1122, 10 mar. 1972.
68. MODE, Elmer S. - Elements of statistics. 3a. ed. New Jersey, Prentice-Hall, s.d..
69. MORE about the mercury menace. Food Cosmet. Toxicol., 6 (3): 397-400, 1968.

70. MUNNS, R.K. & HOLLAND, D.C. - Determination of mercury in fish by flameless atomic absorption collaborative study. Journal of the AOAC, 54 (1): 202-205, 1971.
71. NAGI, N.A. & YASSIN, A.K. - Organic mercury poisoning in children. J. Trop. Med. Hyg., 77(6): 128-32, 1974.
72. NEUHAUS, J.W.G.; BRADY, M.N.; SIYALI, D.S.; WALLIS, E. - Mercury and organochlorine pesticides in fish. Med. J. Aust., 1: 107-10, 1973.
73. NOMURA, Hitoshi - Peixes: pesca e biologia. Rio de Janeiro, Pisces, 1973.
74. NORVAL, E. & BUTLER, L.R.P. - Trace metals in man's environment and their determination by atomic absorption spectroscopy. S. Afr. Med. J., 48 (63): 2617-26, 1974.
75. OSER, Bernard L. - "Toxicology of pesticides to establish proof of safety". In: WHITE, Robert, ed. - Pesticides in the environment, New York, Dekker, 1971, v.1, cap.6 p. 411-455.
76. PAPPAS, Ernest G. & ROSENBERG, Lynn A. - Determination of submicrogram quantities of mercury by cold vapor atomic absorption photometry. Journal of the AOAC, 49 (4): 782-791, 1966.
77. PASS, D.A.; LITTLE, P.B.; KARSTAD, L.H. - The pathology of subacute and chronic methyl mercury poisoning of the Mallard duck (*Anas platyrhynchos*). J. Comp. Pathol., 85 (1): 7-21, 1975.
78. PIEDADE, J.R. - Considerações sobre análise e decomposição dos defensivos agrícolas. O Biológico, 41 (6): 155-158, jun. 1975.
79. POLUEKTOV, N.S.; VITKUN, R.A.; ZELYUKOVA, Yu V. - Determination of milligram amounts of mercury by atomic absorption in the gas phase. Journal Analytical Chemistry USSR, 19: 873-878, 1964.

80. PREGNOLATTO, W. et all - Pesquisa e determinação de mercúrio em peixes de água salgada e doce do Brasil. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 34: 95-100, 1974.
81. RAMEL, Claes - The mercury problem - a trigger for environmental pollution control. Mutation Research, 26: 341-348, 1974.
82. REICHEN, Charles-Albert - História da Química. Rio de Janeiro, Moraes, 1966.
83. REISH, D.J.; KAUWLING, T.J.; MEARNES, A.J. - Marine and estuarine pollution. Journal WPCF, 47 (6): 1617-1635, jun. 1975
84. RUCKER, Robert R. - Effects of mercurial compounds on fish and humans. Bull. Office Int. Epizoot, 69 (9/10): 1431-1437, 1968.
85. RUSIECKI, W. & OSICKA, A. - Distribution and excretion of mercury in rats intoxicated with methyl mercury dicyanide amide. Acta Polon. Pharm, 29 (6): 635-636, 1972. (Summary).
86. RUSTAM, H. et all. - Evidence for a neuromuscular disorder in methylmercury poisoning. Arch. Environ. Health, 30 (4): 190-195, 1975.
87. SAITO, M. et all. - Studies on Minimata disease. I. - Establishment of the criterion for etiological research in mice. Jap. J. Exp. Med., 31 (4): 277-290, 1961
88. SKERFVING, S. - Mercury in fish-some toxicological considerations. Food Cosmet Toxicol., 10 (4). 545-56, 1972.
89. SKERFVING, S. - Methylmercury exposure, mercury levels in blood and hair, and health status in swedes consuming contaminated fish. Toxicology, 1 (2): 3-23, mar. 1974.
90. SKERFVING, S. et all. - Chromosome breakage in humans exposed to methyl mercury through fish consumption. Arch. Environ. Health, 21: 133-9, 1970.

91. SPANGLER, W.J. et all. - Degradation of methylmercury by bacteria isolated from environmental samples. Applied Microbiology, 25 (4): 488-93, 1973.
92. SPYKER, Joan M.; SPARBER, S.B.; GOLDBERG, A.M. - Subtle consequences of methylmercury exposure: behavioral deviations in offspring of treated mothers. Science, 177 (4049): 621-623, 18 aug. 1972.
93. STANTON, Michael P. - Syringe procedure for transfer of manogram quantities of mercury vapor for flameless atomic absorption spectrophotometry. Analytical Chemistry, 43 (4): 625-627, apr. 1971.
94. SYME, John D. - El pescado y su inspeccion. (Fish and fish Inspection). Trad. Benito Moreno Garcia. 2 ed. Madrid, Acrilra, 1969.
95. SWENSSON, A. - Organic mercurials used as fungicides. Arh. Hig. Rada Toksikol., 24: 307-16, 1973.
96. TORIBARA, T.Y.; SIELDS, C.P.; KOVAL, L. - Behaviour of dilute solutions of mercury. Talanta, 17: 1025-28, 1970. (Annotation).
97. UTHE, J.F.; ARMSTRONG, F.A.J.; STANTON, M.P. - Mercury determination in fish samples by wet digestion and flameless atomic absorption spectrophotometry. Journal Fisheries Research Board of Canada, 27 (4): 805-811, 1970.
98. UTHE, J.F.; SOLOMON, J.; GRIFT, B. - Rapid semimicro method for the determination of methyl mercury in fish tissue. Journal of the AOAC, 55 (3): 583-9, 1972.
99. VON BURG, R. & RUSTAM, H. - Electrophysiological investigations of methylmercury intoxication in humans. Evaluation of peripheral nerve by conduction velocity and electromyography. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, 37: 381-392, 1974.
100. VOSTAL, J.J. & CLARKSON, T.W. - Mercury as an environmental hazard. Journal of occupational Medicine, 15 (8): 649-656, aug. 1973.

101. YAMAGUCHI, S. et all. - Occurrence of alkyl mercury compound in caustic soda factory. Arch.Environ.Health, 23: 196-201, 1971.
102. WALKER, J.D. & COLWELL, R.R. - Mercury-resistant bacteria and petroleum degradation. Applied Microbiology, 27 (1): 285-7, 1974.
103. WEEKS, Mary Elvira - História de los elementos químicos; Tradução de A. Sandromã Nicolau. Barcelona, Ed. Manuel Marin, 1949.
104. WESTOO, G. - Methylmercury as percentage of total mercury in flesh and viscera of salmon and sea trout of various ages. Science, 181 (4099): 567-8, 1973.
105. WHO - Safe use of pesticides. 20th. Report of the Wo Expert Committe on Insecticides. Tech. Rep. Ser., Genebra,(513) 1973.
106. WILLIAM, F. Fitzgerald & LYONS, W.B. - Mercury concentration in open-ocean waters: lampling procedure. Limnology and Ocenography, 20 (3): 468-471, may 1975.
107. WOBESER, G. et all. - Mercury concentrations in tissues of fish from the Saskatchewan river. Journal Fisheries Research Board of Canada, 27 (4): 830-834, 1970.
108. WOOD, J.M. et all - Synthesis of methyl mercury compounds by extracts of a Methanogenic Bacterium. Nature, 220: 173-4, 1968.