UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Remoção de mercúrio e arsênio em cação-azul, *Prionace glauca*

Luciene Fagundes Lauer Macedo

Dissertação para obtenção de grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho

São Paulo
2010

Luciene Fagundes Lauer Macedo

Remoção de mercúrio e arsênio em cação-azul, *Prionace glauca*

Comissão Julgadora
da
Dissertação para Obtenção do Grau de Mestre

Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho
orientador/presidente

_____
1º. examinador

_____
2º. examinador

São Paulo, _____ de _____.

Dedico este trabalho a Deus, autor da vida e portador de todo saber, ao meu marido, Luzenildo, pelo amor, apoio e cuidado, à minha mãe, Maria Izabel, pelo esforço e dedicação, e aos meus filhos, Sofia e Henrique, pelos lindos sorrisos.

Agradecimentos

A Alfredo Tenuta Filho, professor e chefe, pela paciente orientação.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, em especial ao Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, pela oportunidade de realização desse projeto.

Às professoras Deborah Ines Teixeira Favaro e Elizabeth Sonoda Keiko Dantas, do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, pela valiosa colaboração.

Aos funcionários da secretaria, Cleo, Mônica e Edilson, e da Seção de Pós-graduação, Jorge e Elaine, pelo atencioso atendimento e instrução.

À minha família, Luzenildo, Sofia e Henrique, por me proporcionarem felicidade e paz para que eu pudesse me dedicar a esta realização.

À minha mãe, por me colocar nesse caminho.

Aos meus pais no coração, Joel e Sandra, pela amizade inspiradora.

A todos os colegas do laboratório, pela ajuda, incentivo e companhia.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

Lista de Tabelas iv

Lista de Figuras..... v

Resumo..... vi

Abstract vii

1. Introdução..... 1

2. Revisão da Literatura 3

2.1. O Mercúrio..... 3

2.1.1. Fontes de Mercúrio, Naturais e Antropogênicas..... 3

2.1.2. Transformações do Mercúrio na Natureza 4

2.1.3. O Mercúrio o Consumo Humano de Peixe..... 4

2.1.4. Efeitos Tóxicos do Mercúrio 6

2.1.5. Interação entre Mercúrio e Selênio 9

2.1.6. Limites de Tolerância e Conteúdo de Mercúrio Total e Metilmercúrio em Cação 10

2.1.7. Ingestão Semanal Tolerável Provisional para Mercúrio 16

2.2. O Arsênio..... 17

2.2.1. Fontes e Usos do Arsênio 17

2.2.2. Transformações do Arsênio no Ambiente Marinho..... 18

2.2.3. Metabolismo e Toxicidade das Espécies Arsenicais..... 19

2.2.4. Interação entre Arsênio e Selênio 23

2.2.5. Conteúdo de Arsênio em Peixes 25

2.2.6. Limites de Tolerância e Ingestão de Arsênio..... 29

2.3. Remoção de Mercúrio e Arsênio Total e Inorgânico de Cação..... 30

2.3.1. O Cação 31

2.3.2. Remoção com Cisteína 32
2.3.3. Remoção com Borohidreto de Sódio 34
2.3.4. Métodos de Cocção na Redução de Arsênio 36

3. Objetivos 39

3.1. Objetivo Geral 39

3.2. Objetivos Específicos 39

4. Material e Métodos 40

4.1. Material 40

4.1.1. Reagentes 40
4.1.2. Amostras de Cação 40

4.2. Métodos 41

4.2.1. Remoção de Mercúrio com Cisteína 41
4.2.2. Remoção de Mercúrio com Borohidreto de Sódio 44
4.2.3. Remoção de Arsênio por Procedimentos de Cocção 44
4.2.4. Quantificação do Mercúrio 45
4.2.5. Quantificação do Selênio e do Arsênio Total 46
4.2.6. Quantificação do Arsênio Inorgânico 46
4.2.7. Teor de Umidade 46
4.2.8. Análises Estatísticas 47

5. Resultados e Discussão 48

5.1. Remoção do Mercúrio de Cação com Cisteína 48

5.1.1. Eficiência do Tratamento sobre Diferentes Concentrações de Mercúrio 48
5.1.2. Efeito da Concentração de Cisteína em Diferentes pHs 52
5.1.3. Reutilização da Solução de Cisteína 54

5.2. Conteúdo de Arsênio em Cação Azul 56

5.3. Remoção do Arsênio de Cação-Azul com Borohidreto de Sódio..... 58

5.4. Efeito dos Métodos de Cocção 59

6. Conclusões..... 62

7. Referências Bibliográficas..... 63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações de mercúrio total em músculo de cações da costa brasileira e do comércio em São Paulo/SP 11

Tabela 2 – Concentrações de mercúrio total e metilmercúrio em cações de vários locais, exceto Brasil 12

Tabela 3 – Conteúdo de arsênio em músculo de cações 26

Tabela 4 – Remoção de mercúrio com cisteína (0,5%) em diferentes concentrações do metal 49

Tabela 5 – Efeito da concentração de cisteína na remoção de mercúrio de cação, em pH's 2 e 5 52

Tabela 6 – Potencial de reutilização da solução de cisteína em relação à remoção de mercúrio 55

Tabela 7 – Conteúdo de arsênio total em cação-azul 56

Tabela 8 – Conteúdo de arsênio total e inorgânico em cação-azul 57

Tabela 9 – Conteúdo de arsênio, total e inorgânico, e selênio em cação-azul, tratado ($NaBH_4$ 3%) ou não ("pool") com borohidreto de sódio a 3%, e porcentagem de sua remoção 58

Tabela 10 – Efeito dos métodos de cocção sobre o conteúdo de arsênio total em cação-azul, usando sal (A), sal e limão (B) e sal, limão e ácido ascórbico (C) 60

Tabela 11 – Efeito dos métodos de cocção sobre o conteúdo de arsênio inorgânico em cação-azul, usando sal (A), sal e limão (B) e sal, limão e ácido ascórbico (C) 61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Redução e metilação do arsênio inorgânico 20

Figura 2 – Remoção de mercúrio do cação com cisteína..... 42

Figura 3 – Remoção modificada do mercúrio de cação com cisteína..... 43

Figura 4 – Remoção aparente de mercúrio x mercúrio total inicial no cação..... 49

Figura 5 – Conteúdo de arsênio total em cação-azul, “Box-Plot”..... 57

RESUMO

Remoção de mercúrio e arsênio em cação-azul, *Prionace glauca*

Os cações são importantes recursos pesqueiros que podem apresentar concentrações de mercúrio (Hg) e arsênio (As) muitas vezes acima do limite de tolerância, o que os tornam impróprios como alimento. No meio aquático estes contaminantes são convertidos em espécies orgânicas, em especial metilmercúrio (MeHg) e arsenobetaína (AB), respectivamente. O MeHg é neurotóxico, sendo o sistema nervoso em desenvolvimento o mais susceptível. A AB é pouco tóxica, no entanto, o As inorgânico está envolvido em processos de estresse oxidativo, mutagênese e principalmente carcinogênese. Neste trabalho, foi avaliada a eficiência da cisteína na remoção de Hg, a ocorência de As total e inorgânico, e a redução de sua concentração com o emprego de borohidreto de sódio e de preparos para o consumo. A redução máxima de Hg, de 59,4%, com cisteína a 0,5% em pH 5,0, não foi reproduzida quando pretendida a reutilização da solução do aminoácido, importante do ponto de vista prático. O cação-azul continha elevados níveis de As total, 1,98 a 22,56 µg/g (base úmida), que foram removidos com borohidreto de sódio em 99%, demonstrando a alta potencialidade do método usado. O As inorgânico, presente na quantidade média de 0,0086 µg/g (base úmida), foi reduzido em 27,7%. O preparo para o consumo, por cozimento em água, do cação-azul em cubos (1-2 cm^3), resultou em maior remoção de As total, de 65,9 a 71,2%; no cação grelhado a redução foi de 55,4 a 60,2%. As amostras, grelhadas ou cozidas, adicionadas de sal e limão enriquecido com ácido ascórbico, e as grelhadas contendo sal e sal com limão, apresentaram redução na concentração de As inorgânico de 30,1 a 42,8%.

Palavras-chaves: Mercúrio. Arsênio total e inorgânico. Cação-azul. *Prionace glauca*. Cisteína. Borohidreto de sódio. Métodos de Cocção. Ácido ascórbico.

ABSTRACT

Mercury and arsenic removal in blue-shark, *Prionace glauca*

The shark are important fishery resources that may have concentrations of mercury (Hg) and arsenic (As) often above the limit of tolerance, which makes them unsuitable as food. In the aquatic environment these contaminants are converted to organic species, particularly methylmercury (MeHg) and arsenobetaína (AB), respectively. The MeHg is neurotoxic, and the developing nervous system more susceptible. AB is slightly toxic, however, the inorganic As is involved in processes of oxidative stress, mutagenesis and carcinogenesis mainly. In this study, we evaluated the efficiency of cysteine to remove mercury, the occurrence of the total and inorganic As, and the reduction of their concentration with the use of sodium borohydride and preparations for consumption. The maximum reduction of Hg, 59.4%, with 0.5% cysteine at pH 5.0, was not reproduced when you want to reuse the solution of the amino acid, important practical point of view. The blue-shark contained high levels of the total As, 1.98 to 22.56 µg/g (wet weight), which were removed with sodium borohydride in 99%, demonstrating the high potential of the method used. The inorganic As, present in the average amount of 0.0086 µg/g (wet weight) was reduced in 27.7%. Preparation for consumption by baking in water, the blue-shark into cubes (1-2 cm^3) resulted in greater removal of the total As, 65.9 to 71.2%; in the grilled shark the reduction was 55,4 to 60.2%. The samples, grilled or baked, added salt and lemon enriched with ascorbic acid, and the grilled containing salt and salt with lemon, presented reduction in the concentrations of inorganic As from 30.1 to 42.8%.

Keywords: Mercury. Total and inorganic arsenic. Blue-shark. *Prionace glauca*. Cysteine. Sodium borohydride. Cooking methods. Ascorbic Acid.

1. INTRODUÇÃO

O pescado é economicamente relevante por ter largo consumo em todo o mundo. Segundo a FAO, em 2006, sua produção mundial foi de aproximadamente 144 milhões de toneladas, sendo 110 milhões de toneladas para consumo humano, provendo emprego direto e renda para 43,5 milhões de pessoas e trabalho em atividades secundárias na indústria pesqueira para cerca de 170 milhões. Calculando-se o sustento de três dependentes por cada uma dessas pessoas, estima-se que a atividade pesqueira mantenha 520 milhões de pessoas, 7,9% da população mundial em 2006.

O pescado é nutricionalmente muito importante. Os benefícios de seu consumo devem-se ao seu conteúdo de proteína de alto valor nutricional e à sua expressiva concentração de ácidos graxos polinsanturados ômega 3, principalmente os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), essenciais e reconhecidamente cardioprotetores. Os ácidos graxos ômega 3 previnem de doenças coronárias reduzindo arritmias e tromboses e diminuindo o nível plasmático de triglicérides.

No entanto, o consumo humano do pescado pode ser um perigo à saúde pública, pois são encontrados níveis de metais tóxicos, como mercúrio (Hg) e arsênio (As), acima dos limites de tolerância estabelecidos de 1 μg/g, comprometendo a sua ingestão segura.

O Hg acumula-se no pescado majoritariamente sob sua forma orgânica mais neurotóxica, o metilmercúrio (MeHg), que é biomagnificado ao longo da cadeia trófica, levando assim a elevadas concentrações principalmente em peixes predadores, que se encontram no topo da cadeia alimentar, como o cação. Níveis de MeHg são suficientemente altos na maioria desses peixes, podendo causar efeitos adversos em pessoas que os consomem em quantidades significativas.

Em adultos, a neurotoxicidade aguda do MeHg apresenta-se por dano cerebral localizado, através de sintomas que iniciam-se com parestesia progredindo a ataxia cerebelar, disartria, neurestenia, constrição no campo de visão, perda de audição, distúrbios olfatórios e gustativos, podendo chegar à paralisia e morte no caso de exposição grave. Pela exposição materna através da dieta, há indícios da ocorrência de dano difuso em sistema nervoso em desenvolvimento, pois o Hg é capaz de transpor a placenta e acumular-se no feto. Podem ocorrer, então, atrasos no desenvolvimento neurocognitivo e psicomotor. A Organização

Mundial da Saúde está atenta ao problema, no sentido de que a ingestão do MeHg (principalmente), não ultrapasse limites de segurança.

No caso do arsênio, as formas predominantes no pescado são também as orgânicas, que, ao contrário do metilmercúrio, apresentam baixa toxicidade. Em organismos aquáticos, o arsênio inorganico sofre metilações, gerando espécies arsenicais mono, di e trimetiladas, que podem ser transformadas a compostos orgânicos mais complexos como arsenoaçúcares, arsenocolina ou arsenobetaína. As espécies arsenicais inorgânicas, As(III) (arsenito) e As(V) (arsenato) encontram-se em pequenas quantidades em pescado, porém, têm altíssima toxicidade e podem gerar uma ampla gama de efeitos indesejados.

O mecanismo da toxicidade do As(V) está baseado na sua capacidade de substituir o fosfato em muitas reações bioquímicas, resultando na inibição de enzimas, diminuição na produção de ATP, etc. Mas a maior parte dos efeitos tóxicos deve-se ao As(III), que tem alta afinidade por moléculas contendo tióis, como glutationa e cisteína, ou grupos funcionais específicos de enzimas ou receptores de coenzimas, podendo assim inibir importantes processos bioquímicos, levando à toxicidade. Ao causar estresse oxidativo por meio da inibição da respiração mitocondrial e depleção de ATP, as formas trivalente mono e dimetiladas, produtos do metabolismo do arsênio inorgânico em humanos, geram espécies de oxigênio reativo altamente tóxicas, que exercem importante papel na morte celular via apoptose ou necrose e na carcinogenicidade e mutagenicidade via dano ao DNA celular.

O selênio (Se) é um micronutriente essencial que, em níveis seguros de consumo, pode antagonizar-se ao mercúrio e ao arsênio, protegendo o organismo de suas ações tóxicas.

Desse modo, uma alternativa de aproveitamento do pescado contaminado em excesso pelo Hg e As, é a descontaminação prévia ao consumo. O ideal seria a remoção concomitante do Hg e As contaminantes, por um mesmo procedimento, preservando os níveis de selênio. Nisso foi baseado esse estudo.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. O MERCÚRIO

2.1.1. Fontes de Mercúrio, Naturais e Antropogênicas

Emissões naturais de Hg ocorrem em áreas com progressiva atividade vulcânica e geotérmica, e de solos com elevada concentração (>100 ppb) devido à mineralização resultante de processo geológico passado. A maioria desses solos mercuríferos está concentrada em amplas zonas que coincidem com os limites da maior placa tectônica. Uma parte da composição das emissões dessas áreas é oriunda de re-emissão de Hg depositado da atmosfera. Outra fonte natural de Hg atmosférico são solos e superfícies foliares com baixo conteúdo (<100 ppb), sendo predominantemente re-emissões do Hg depositado, e proveniente de fontes naturais e antropogênicas, e de queima de biomassa, chamadas emissões de fundo. O Hg tem um elevado tempo de residência na atmosfera (cerca de um ano) e, portanto, um alto potencial de transporte. Sua circulação global promove a distribuição do Hg atmosférico às mais remotas regiões do planeta, sendo considerado um poluente global (CLARKSON, 2002; WILSON et al., 2006; GUSTIN, LINDBERG & WEISBERG, 2008; BJERREGAARD & ANDERSEN, 2007; LOHMAN et al., 2008).

As maiores fontes antropogênicas de Hg são: combustão estacionária de combustível fóssil (petróleo, óleo ou carvão), incluindo plantas de geração de energia e aquecimento residencial (cerca de 25 %); fundição de metais não-ferrosos (purificação de Cu, Ni, Pb e Zn) e fabricação de cimento, de ferro-gusa e aço, incluindo coque (cerca de 30%); produção de soda cáustica (indústria de cloro-álcali); incineração de resíduos; extração de ouro e do próprio mercúrio; e outras fontes, como manufatura de bateria primária, de instrumentos de medição e controle, de lâmpadas elétricas, de dispositivos de rede elétrica e interruptores elétricos (PACYNA A et al., 2006; WILSON et al., 2006).

2.1.2. Transformações do Mercúrio na Natureza

O destino e comportamento do Hg dependem de sua forma química. O Hg é lançado no ambiente aquático proveniente de fontes naturais e antropogênicas, principalmente por deposição atmosférica, mas também por arraste do solo e por lançamento de rejeitos líquidos. Na água doce ou salgada e nos sedimentos, por processos aeróbios e anaeróbios, e predominantemente onde o gradiente de oxigênio é maior, inicia-se o processo de metilação, efetuado principalmente por bactérias sulfato-redutoras e metanogênicas. A taxa de metilação depende de fatores como temperatura, material orgânico dissolvido, pH, biodisponibilidade de Hg(II) e presença de complexantes. Nesse processo são formados tanto metilmercúrio (MeHg), como dimetilmercúrio. O primeiro, geralmente sob a forma de cloreto ($MeHg^{+}Cl^{-}$), é mais estável em pH neutro e ácido. Em pH de aproximadamente 8,2, como é o caso de águas doces e de oceanos, forma-se também dimetilmercúrio, que é completamente volátil e, portanto, encontrado em maiores concentrações em águas mais profundas. No ar, onde cerca de 95% do Hg está na forma de vapor de Hg (Hg^{0}), o dimetilmercúrio degrada-se a MeHg e a formas inorgânicas, sendo a provável fonte da pequena concentração de formas metiladas de Hg na atmosfera. A concentração total de Hg em água do mar varia tipicamente de 1 a 5ng/L, sendo que aproximadamente 1% está na forma de MeHg (CLARKSON, 1997; CLARKSON, 2002; AMLUND, LUNDEBYE & BERNTSSEN, 2007; BJERREGAARD & ANDERSEN, 2007).

Em ambiente aquático, o Hg(II) pode ser reduzido a Hg elementar (Hg^{0}), por atividade enzimática na parede celular de algas unicelulares e volatilizar-se, onde permanece na atmosfera juntamente com o Hg^{0} proveniente re-emissões ou emissões de fundo, até que seja oxidado a Hg(II) por reação com ozônio, radicais OH e ação de luz solar, para retornar ao solo, oceanos, rios ou lagos, ligado à material particulado ou dissolvido em água de chuva (CLARKSON, 1997; CLARKSON, 2002; BJERREGAARD & ANDERSEN, 2007; LOHMAN et al., 2008).

2.1.3. O Mercúrio o Consumo Humano de Peixe

Sob a forma de MeHg, o Hg bioacumula-se e biomagnifica-se em organismos ao longo da cadeia trófica, levando assim a elevadas concentrações de Hg em peixes predadores

(RENZONI, ZINO & FRANCHI, 1998; AMLUND, LUNDEBYE & BERNTSSEN, 2007), como o cação. O nível de mercúrio em peixes consumidos por humanos depende de fatores como a espécie, idade, local de origem e posição na cadeia alimentar, sendo que a maior fração de seu conteúdo (mais de 70%) encontra-se na forma de MeHg, forma mais tóxica que o Hg(II) (CLARKSON, 1997; AMLUND, LUNDEBYE & BERNTSSEN, 2007). A biomagnificação do Hg é demonstrada pelo fato de o nível de MeHg no topo da cadeia trófica ser da ordem de 1 milhão de vezes maior que na água.

O consumo de peixe é a maior rota de exposição ao MeHg para o homem (BURGER & GOCHFELD, 2007; CLIFTON, 2007). Níveis de MeHg são suficientemente altos em muitos peixes para causar efeitos adversos em pessoas que consomem grandes quantidades (BURGER & GOCHFELD, 2007).

Por volta de 95% do MeHg consumido é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal, transportando-se através das células vermelhas do sangue, e uma parte pode ainda ser lentamente metabolizado a Hg inorgânico pela microflora do intestino. Tem alta afinidade por sulfidrilas (–SH) e as reações de associação e dissociação a eles são rápidas, bem como sua transferência de um grupo tiol a outro. Em tecidos, encontra-se ligado a moléculas contendo grupamentos tióis, tanto proteínas como outras de menor peso molecular, como L-cisteína e glutationa, facilitando seu transporte extracelular e tornando-o hábil para ligar-se a proteínas intracelulares, atingindo enzimas sulfidrílicas. Está presente em complexos hidrossolúveis, daí sua grande mobilidade, e não se distribui para regiões lipídicas no corpo. Seus alvos preferenciais são o Sistema Nervoso Central e a placenta, locais onde se concentra. Transpõe membranas de células endoteliais do sangue para a barreira cerebral como um complexo com L-cisteína, mimetizando a L-metionina, através de canais específicos para este aminoácido. No cérebro, o MeHg é transformado em Hg inorgânico, Hg(II), e questiona-se se é essa forma ou a orgânica (MeHg), o agente tóxico principal para o dano cerebral. Deixa as células como um complexo com a glutationa reduzida, que tem papel fundamental na sua excreção (CLARKSON, 2002; WHO, 2003; BURGER & GOCHFELD, 2007; CLIFTON, 2007).

2.1.4. Efeitos Tóxicos do Mercúrio

Sistema Nervoso Central Adulto

O maior efeito tóxico do MeHg dá-se sobre o sistema nervoso central. Em adultos, ocorre um período latente tanto para o MeHg como para o Hg metálico, cujo mecanismo não é conhecido, entre a exposição e o aparecimento dos primeiros sintomas, que dura de algumas semanas a vários meses, dependendo da dose e do período de exposição. O selênio é um componente da dieta que afeta a disponibilidade e toxicidade do MeHg, retardando o princípio de seus efeitos tóxicos pela formação de complexos insolúveis entre Hg(II) e selênio e prolongando seu tempo de residência no cérebro. Ligado a proteínas retorna lentamente à corrente sanguínea, o que explica o longo período de seus efeitos (STIER & GORDON, 1998; CLARKSON, 2002; WHO, 2003; CLIFTON, 2007).

O envenenamento agudo por MeHg de pescado contaminado chama-se também doença de Minamata, devido ao despejo de cloreto de MeHg, subproduto da fabricação de acetaldeído, inicialmente na baía de Minamata e depois na foz do rio Minamata, Japão, espalhando-se pela região, desde o início da década de 50 até 1968 (EKINO et al., 2007). Os sintomas desse envenenamento iniciam-se com parestesia (insensibilidade na pele), dormência ou sensação de formigamento, e podem progredir à ataxia cerebelar (falta de controle muscular na marcha), disartria (dificuldade na articulação das palavras), neurastenia (distúrbio de personalidade), constrição do campo de visão, perda de audição, distúrbio olfatórios e gustativos e desordens somatosensoriais e psiquiátricas, causados pela perda de células neuronais em regiões anatomicamente específicas do cérebro. Nos casos de exposição grave, ocorre paralisia e morte (STIER & GORDON, 1998; WHO, 2003; CLARKSON, 2002; BISINOTI & JARDIM, 2004; EKINO et al., 2007).

Casos de exposição crônica ao MeHg, com sintomas referentes ao sistema nervoso central, foram estudados na costa do mar Shiranui, na baía onde deságua o rio Minamata, local que não teve a pesca restringida. Dez anos depois de cessado o despejo de MeHg no local e com os indicadores de níveis corpóreos de Hg já normalizados, verificava-se a ocorrência de hipoestesia (sensibilidade reduzida à dor), ataxia, disartria, danos à audição e alterações na visão (ZAHIR et al., 2005). Após 30 anos, os pacientes queixavam-se de

parestesia nas extremidades e ao redor dos lábios, induzida por dano difuso no córtex somatosensorial (EKINO et al., 2007).

Exposição a baixas concentrações de Hg está relacionada, não isoladamente, à ocorrência de doenças como mal de Parkinson, Alzheimer, Esclerose Lateral Amiotrófica, Lúpus e Artrite Reumatóide. População adulta do ecossistema amazônico demonstrou sensibilidade no contraste da visão próxima, destreza manual diminuída, tendência ao aumento de fadiga muscular e força muscular diminuída em mulheres (dose dependente). Déficits na atenção, função motora fina e memória verbal, foram encontrados em populações consumidoras de pescado (ZAHIR et al., 2005).

Sistema Nervoso Central em Desenvolvimento

O MeHg cruza a placenta e concentra-se tanto nela como no feto. No envenenamento fetal agudo por MeHg foram observados sérios distúrbios no desenvolvimento psicomotor, com prejuízos significantes à mastigação e deglutição, fala, caminhada, coordenação e movimento involuntário. Também foram relatados sintomas como incapacidade intelectual, distúrbios de personalidade, convulsões epiléticas e sintomas neurológicos (CLARKSON, 2002; WHO, 2003; CLIFTON, 2007; EKINO et al., 2007).

Todos estes sintomas estão relacionados com dano difuso a todas as áreas do cérebro, ao contrário das lesões ao cérebro adulto. Microcefalia também foi observada. Há indicações de que todos os processos mais básicos no desenvolvimento cerebral, como divisão celular e migração neuronal, podem ser afetados. Há uma relação dose-resposta à exposição do cérebro em desenvolvimento ao MeHg (CLARKSON, 2002).

Atualmente, alguns estudos sugerem que exposição persistente a baixas doses de vários contaminantes tóxicos ambientais, incluindo Hg, através da dieta materna durante a gestação, durante um período critico do desenvolvimento neural, entre crianças geneticamente susceptíveis, pode aumentar o risco de desordens do desenvolvimento, como o autismo (PALMER, BLANCHARD & WOOD, 2008; DETH et al., 2008), mas não há unanimidade sobre isso (MUTTER et al., 2005; ZAHIR et al., 2005; LEWANDOWSKI, 2006; PALMER, 2006). O cloreto de Hg(II) é um forte inibidor da tiróide peroxidase e a hipotiroxinemia maternal e inibição das deiodinases fetais, causadas pelo efeito desse poluente, juntamente com outros fatores de predisposição, podem levar ao autismo (ROMÁN, 2007). Por esse

mecanismo, o MeHg não é um risco para a ocorrência do autismo, uma vez que não é um agente anti-tireoidiano. Alguns estudos não encontraram relação significativa entre exposição a baixas doses de MeHg proveniente do consumo de peixe e atrasos na marcha e fala em crianças (AXTELL et al., 1998; WILLIAMS et al., 2008).

Neonatais podem ser contaminados através do leite materno, causando prejuízos na linguagem (fala tardia) e memória, déficit de atenção, autismo e marcha tardia (ZAHIR et al., 2005). Consumo de peixe durante a gravidez e concentração de Hg no cordão umbilical, mostram correlação significativa com atrasos no desenvolvimento neurocognitivo e psicomotor em crianças com até 1 ano (JEDRYCHOWSKI et al., 2007; PERERA, et al., 2006).

Outros Efeitos

O sintoma mais comum da inalação de Hg metálico é um tipo de febre de vapor de metal (gosto metálico na boca, febre, calafrios e dispnéia), náusea, vômito, diarréia e tosse junto com tensão no peito. Exposição a altas concentrações ao vapor de Hg pode causar toxicidade ao sistema renal (necrose tubular e falência renal agudas) e pulmonar (bronquite aguda necrotizante com subseqüente progressão a comprometimento respiratório completo e morte). Baixas concentrações de Hg também podem induzir aumento no estresse oxidativo, gengivite, estomatite, diminuição na fertilidade feminina e masculina e intensificação da resposta auto-imune (ZAHIR et al., 2005; CLIFTON, 2007).

Sugere-se que a contaminação por Hg pode diminuir o efeito cardioprotetivo do consumo de peixe devido a um aparente efeito antagônico entre ácidos graxos n-3 e o desenvolvimento da homeostase cardiovascular em crianças nascidas abaixo do peso, que apresentam pressão sanguínea sistólica e diastólica aumentada com o aumento da concentração de Hg no cordão umbilical (ZAHIR et al., 2005). Ainda foram encontradas correlações significativas entre doença cardiovascular e progresso acelerado de aterosclerose da carótida, e o consumo de peixe e níveis de Hg em urina e cabelo em populações finlandesas (CLARKSON, 2002; STERN, 2005; VIRTANEN, et al., 2007).

2.1.5. Interação entre Mercúrio e Selênio

A interação Hg-Se não é ainda inteiramente entendida, a ponto de oferecer fundamentos concretos para uma efetiva proteção anti-tóxica do Se em relação ao Hg (CUVIN-ARALAR & FURNESS, 1991; GOYER, 1997). O Se é integrante da glutationa peroxidase, enzima que junto com a catalase, superóxido dismutase e vitamina E, dão proteção celular contra danos oxidativos, inclusive os provocados pelo Hg (GOYER, 1997). Possíveis mecanismos explicariam em parte a ação protetora do Se: (a) formação de complexos de Hg-Se inativos; (b) redistribuição do Hg no organismo (de órgãos mais sensíveis para outros de menor sensibilidade); (c) competição entre Hg e Se por sítios de ligação (alguns receptores localizados em tecidos); (d) conversão de compostos tóxicos de Hg em outros de menor toxidez (demetilação do metilmercúrio); (e) diminuição do efeito inibitório do metilmercúrio sobre a atividade da glutationa peroxidase; e, (f) por prevenção de danos causados por radicais livres gerados pelo Hg na membrana celular (CUVIN-ARALAR & FURNESS, 1991; GOYER, 1997).

A complexação Hg-Se e a redistribuição do Hg são considerados os mais importantes entre os mecanismos apontados anteriormente. A formação de um complexo de Hg-Se-proteína poderia explicar a relação 1:1 encontrada entre o Hg e Se, em fígado de mamíferos marinhos, com decréscimo correspondente na toxicidade relativa ao Hg. Isto seria decorrente do fato de o complexo Hg-Se ligado à proteína ser muito menos tóxico que o metilmercúrio. A absorção do Hg não é diminuída pela presença de Se, tampouco este último aumenta a eliminação do primeiro. O que há é uma redistribuição do Hg para tecidos menos sensíveis (ex.: músculo), conferindo um certo grau de proteção (PEAKALL & BURGER, 2003).

Nenhuma correlação que fosse significativa entre o Hg e o Se muscular de peixes, crustáceos e moluscos foi encontrada (PLESI, BERTELLI & MONZANI, 2001; BARGHIGIANI et al.,1991), que pudesse ajudar no entendimento da interação entre estes elementos. Uma maior concentração de Hg ($P<0,05$) foi encontrada em peixes comparativamente a crustáceos e moluscos; por outro lado, não houve diferença ($P>0,05$) em relação ao Se para os três tipos de pescado (PLESI, BERTELLI & MONZANI, 2001).

Como na maioria do pescado marinho o Se muscular está estequiometricamente em excesso em relação ao Hg, tem sido cogitado que o consumo de peixes, crustáceos e moluscos não expõe o consumidor aos efeitos tóxicos do Hg. A elucidação da interação entre Hg e Se é

necessária para melhor entendimento da ação protetora do Se na exposição do consumidor ao Hg (RUITER, 1995).

2.1.6. Limites de Tolerância e Conteúdo de Mercúrio Total e Metilmercúrio em Cação

No Brasil e também em vários países, o limite máximo de Hg em pescado predador é de 1,0 μg/g, e 0,5 μg/g para peixes não-predadores (KNOWLES, FARRINGTON & KESTIN, 2003; BRASIL, 1998). Outros países, como o Canadá, estabelecem o limite de 0,5 μg/g para qualquer pescado, incluindo os predadores (FORSYTH et al., 2004). Foi constatado que 46,4 % dos cações tinham concentrações de Hg superiores a 1 μg/g, e 73,9 % acima de 0,5 μg/g (TENUTA-FILHO & NASCIMENTO, 2007). Apesar de a legislação brasileira impedir, o cação é comercializado sem fiscalização quanto ao conteúdo de Hg, não cumprindo sua finalidade de proteção à saúde do consumidor.

As Tabelas 1 e 2 apresentam as concentrações de Hg e MeHg relatadas na literatura consultada, em músculo de cações capturados na costa brasileira ou adquiridos no comércio de São Paulo/SP, Brasil (Tabela 1), e provenientes de outras localidades do mundo (Tabela 2).

Várias espécies de cação da costa brasileira ou comercializados em São Paulo/SP (*P. glauca*, *C. signatus*, *S. magalops*, *S. mitisukuri*, *Sphyrna* sp., *Odontapsis* sp. e machote) apresentaram concentrações de Hg acima dos limites estabelecidos na legislação (1 μg/g). Dentre os estudos consultados, nenhum apresentou concentrações de MeHg (Tabela 1).

Entre outras localidades, exceto o Brasil, observou-se que todas as concentrações médias de Hg total relatadas para os cações *Carcharhinus obscurus* (“Dusky shark”), *Halaeulurus bivius* (“Narrowmouth catshark”), *Scyliorhinus canícula* (“Small-spotted catshark”) e *Sphyrna zyaena* (“Smooth hammerhead”) encontraram-se acima de 1 μg/g. Dentre os resultados apresentados, 30 das 62 concentrações médias de Hg total apresentaram-se acima desse limite (Tabela 2).

Em alguns desses estudos, o MeHg foi quantificado, sendo cerca de 86 ± 8 % da quantidade de Hg total, podendo, em muitos casos, chegar a 100 % (BRANCO et al., 2007; STORELLI, BUSCO & MARCOTRIGIANO, 2005; FORSYTH et al., 2004; STORELLI et al., 2003; STORELLI, STUFFLER & MARCOTRIGIANO, 2002; STORELLI, STUFFLER & MARCOTRIGIANO, 2001; VLIEG, MURRAY & BODY, 1993).

A maioria dos autores encontraram correlação positiva significativa entre a concentração de Hg total e/ou MeHg com o comprimento ou peso dos peixes (BRANCO et al., 2007; MÁRSICO et al., 2007; STORELLI, BUSCO & MARCOTRIGIANO, 2005; PINHO et al., 2002; STORELLI, STUFFLER & MARCOTRIGIANO, 2002; LACERDA et. al., 2000; TUROCZY et al., 2000; NOGEIRA, ORDÓÑEZ & MARTÍNEZ, 1998; VLIEG, MURRAY & BODY, 1993; CASADEI e RODRIGUES, 1986; WATLING et al., 1982; HALL, TEENY & GAUGLITZ, 1977; MENASVETA & SIRIYONG, 1977). Essa correlação pode ter uso prático.

Tabela 1 – Concentrações de mercúrio total em músculo de cações da costa brasileira e do comércio de São Paulo/SP

Espécie	***n***	***Hg total (µg/g)***	***Local***	***Referência***
Prionace glauca	30	0,40 ± 0,29 (0,01 a 1,15)	Costa do sul do Brasil	MÁRSICO et al. (2007)
Isurus oxyrhinchus	4	0,38 ± 0,25 (0,12 a 0,69)		
Sphyrna zugaena	5	0,44 ± 0,30 (0,02 a 0,70)		
Carcharhinus signatus	38	1,74 (0,33 a 3,48)	Sudoeste do Oceano Atlântico Equatorial	FERREIRA et al. (2004)
Mustelus norrisi	13	0,36 ± 0,28	Costa do Brasil (alto-mar)	PINHO et al. (2002)
Mustelus canis	79	0,41 ± 0,35		
Carcharhinus signatus	6	1,77 ± 0,56		
Squalus megalops	21	1,90 ± 0,58		
Squalus mitsukurii	33	2,22 ± 0,72		
Rhizoprionodon lalandii	45	0,075 (0,022 a 0,280)*	Sudeste do Brasil	LACERDA et al. (2000)
Rhizoprionodon porosus	23	0,042 (0,008 a 0,091)*		
Mustelus higmani	12	0,055 (0,013 a 0,163)*		
Squantia argentina (Anjo **)	6	0,33 ± 0,39 (0,04 a 0,95)	Comércio do sudeste de São Paulo/SP	MORALES-AIZPURÚA et al. (1999)
Prionace glauca (Azul **)	5	0,73 ± 0,41 (0,28 a 1,17)		
Sphyrna sp (Cambeva **)	6	2,45 ± 1,36 (1,04 a 4,71)		
Odontaspis sp (Caçoa **)	5	1,89 ± 0,92 (0,99 a 3,12)		
Machote **	3	1,35 ± 0,89 (0,50 a 2,27)		
Anequim **	1	0,51		
Prionace glauca	15	0,79 ± 0,34 (0,21 a 1,50)	Comércio do sudeste de São Paulo/SP	CHICOUREL et al. (1995)

* Média ± Desvio Padrão, calculados em matéria úmida; * Base seca; ** Denominações comuns.

Tabela 2 – Concentrações de mercúrio total e metilmercúrio em cações de vários locais, exceto Brasil.

Espécie	***n***	***Hg total (µg/g)***	***MeHg (µg/g)***	***MeHg/ Hg (%)***	***Local***	***Referência***
Prionace glauca "Blue shark"	37	0,22 a 1,30	0,18 a 1,20	84 ± 17	Oceano Atlântico (Açores)	BRANCO et al. (2007)
Prionace glauca "Blue shark"	27	0,68 a 2,50	0,65 a 1,95	96 ± 3	Oceano Atlântico (linha do equador)	BRANCO et al. (2007)
Scyliorhinus canicula "small spotted shark"	12	1,10 ± 0,62 (0,26 a 2,06)	1,01 ± 0,58 (0,23 a 1,99)	78 a 100	Mar Adriático	STORELLI, BUSCO & MARCOTRI-GIANO (2005)
Cações *	13	1,26 (0,09 a 2,73)	-	-	Comércio do Canadá	DABEKA et al. (2004)
Cações *	12	1,36 ± 0,70 (0,39 a 2,73)	0,85 ± 0,40 (0,28 a 1,54)	65 ± 14	Comércio do Canadá	FORSYTH et al. (2004)
Cações *	5	1,40 (1,01 a 2,20)	-	-	Comércio do Reino Unido	KNOWLES, FARRINGTON & KESTIN (2003)
Galeorhinus australis "School Shark"	25	2,31 (0,28 a 4,60)	-	-	Comércio da Nova Zelândia	LOVE RUSH & McGRATH (2003)
Squalus acanthias "Spikey dogfish"	11	0,61 (0,30 a 1,12)	-	-		
Sphyrna zygaena "hammerhead shark"	4	12,2 ± 4,6 (8,55 a 21,07)	14,0 ± 4,4 (7,45 a 19,57)	86,8	Mar Jônico	STORELLI et al. (2003)

Tabela 2 – Continuação

Espécie	***n***	***Hg total (µg/g)***	***MeHg (µg/g)***	***MeHg/Hg (%)***	***Local***	***Referência***
Galeus melastomus “Blackmouth dogfish”	819 .	1,66 ± 0,89 (0,25 a 5,47)	1,35 ± 0,61 (0,23 a 4,32)	84 ± 11 (57 a 100)	Mar Jônico, Adriático e Egeu	STORELLI, STUFFLER & MARCOTRI-GIANO (2002)
Scyliorhinus canicula “small spotted shark”	70 . .	1,49 ± 0,61 (0,79 a 2,56)	1,23 ± 0,49 (0,68 a 2,00)	83 ± 5 (77 a 90)		
Dalatias licha “Kitefin shark”	3 .	4,38 ± 1,07 (3,58 a 6,00)	3,81 ± 0,69 (3,24 a 5,00)	88 ± 0,1 (78 a 95)		
C. granulosus “Gulper shark”	25 .	9,7 ± 0,7 (8,75 a 10,51)	9,09 ± 0,83 (7,90 a 10,0)	93 ± 3 (89 a 97)		
Squalus blainvillei “Longnose spurdog”	20 .2	4,53 ± 1,19 (3,90 a 7,44)	4,05 ± 1,29 (3,22 a 7,24)	92 ± 8 (81 a 98)		
Etmopterus spinax “Velvet belly”	120 .	0,63 ± 0,29 (0,17 a 1,07)	0,58 ± 0,26 (0,17 a 0,97)	91 ± 5 (86 a 100)		
Heptranchias perlo “Sharpnose sevengill”	8 . .2	1,27 ± 1,70 (1,13 a 1,41)	1,20 ± 0,17 (1,00 a 1,41)	91 ± 5 (86 a 100)		
Mustelus mustelus “Smoothhound”	15 . .2	0,31 ± 0,06 (0,23 a 0,37)	0,23 ± 0,05 (0,18 a 0,28)	75 ± 0,1 (69 a 80)		
Sphyrna zygaena “hammerhead shark”	1 .	18,29 . .	16,06 . .	88 . .		
Squalus acanthias “Piked dogfish”	15 .	6,5 ± 2,2 (3,90 a 10,44)	6,1 ± 2,3 (3,22 a 10,24)	92 ± 8 (81 a 98)	Mar Adriático	STORELLI, STUFFLER & MARCOTRI-GIANO (2001)
Prionace glauca “Blue shark”	17 .	0,38 ± 0,19 (0,20 a 0,89).	0,35 ± 0,13 (0,20 a 0,79).	92 ± 7 (89 a 100)		
D. dalcea “Dog shark”	18 .	1,44 ± 0,46 .	- .	- .	Sudeste da Austrália	TUROCZY et al. (2000)
C. crepidator “Dog shark”	10 .	0,86 ± 0,48 .	- .	- .		
C. owstonii “Dog shark”	11 .	2,38 ± 0,22 .	- .	- .		
Rhizoprionodon terraenovae	21	0,74 (0,27 a 1,6)	-	-	Veracruz, México	NOGEIRA, ORDÓÑEZ & MARTÍNEZ (1998)
Galeus melastomus “Blackmouth dogfish”	-	0,14 a 3,39	-	-	Mar Adriático	STORELLI, STUFFLER & MARCOTRI-GIANO (1998)

Tabela 2 – Continuação

Espécie	***n***	***Hg total (µg/g)***	***MeHg (µg/g)***	***MeHg/ Hg (%)***	***Local***	***Referência***
P. squalo 0 0	60	2,3 ± 2,9 (0,49 a 8,00)	-.	-.	Al_ria e Marche, Itália	HAQUET, GALARINI & ROSCINI (1996)
Lamna nasus “Smeriglio”	20	1,4 ± 0,2 (1,23 a 1,54)	-.	-.		
Alopias vulpinus “Volpe”	30	0,44 ± 0,45 (0,15 a 0,97)	-.	-.		
Squalus acanthias “Spinarolo”	490	0,34 ± 0,24 (0,09 a 1,25)	-.	-.		
Polombo 0 0 0	2900	0,29 ± 0,28 (0,05 a 4,02)	-.	-.		
Gattucio 0 0 0	20	0,22 ± 0,07 (0,17 a 0,27)	-.	-.		
Notidano 0	1	0,18	-	-		
Mustelus schimitii	-	0,45 ± 0,30	-	-	Buenos Aires, Argentina	SCARPINI, ANDRADE & MARCOVECCHIO (1993) apud LACERDA et AL. (2000)
Galeorhinus viaminicus	-	0,34 ± 0,17	-	-		
Isurus oxyrinchus “Shortfin Mako shark”	-.	1,58 ..	1,180 .	74,7 .	Nova Zelândia	VLIEG, MURRAY & BODY (1993)
Lamna nasus – “Porbeagle shark”	-.	0,68 . .	0,55 .	80,9 . .		
Mustelus schmitii 0 0 0	0 570.	0,77 ± 0,36 (0,03 a 3,26)	-.	-.	Baía Branca, Argentina	MARCOVECCHIO, MORENO & PÉREZ (1991)
Halaeulurus bivius 0 0 0	73.	2,20 ± 0,58 (0,89 a 3,04)	-.	-.		
Notorhynchus sp	14	2,99 ± 0,48 (0,95 a 3,43)	-.	-.		
Squantia argentina	-	0,48 ± 0,23	-	-	Baía Branca, Argentina	MARCOVECCHIO, MORENO & PÉREZ (1988)
Mustelus schmitii	-	0,89 ± 0,29	-	-		
Halaeulurus bivius	-	2,51 ± 0,30	-	-		
Mustelus schmitii	-	0,85 ± 0,42	-	-	Baía Branca, Argentina	MARCOVECCHIO AL AL. (1986)

Tabela 2 – Continuação

Espécie	***n***	***Hg total (µg/g)***	***MeHg (µg/g)***	***MeHg/Hg (%)***	***Local***	***Referência***
Galeocerdo cuvieri	3	1,41 ± 0,55	-	-	Canal de Moçambique	CASADEI & RODRIGUES (1986)
.	0	(0,78 a 1,76)	.	.		
Carcharhinus maculipennis	2	1,19 ± 0,23	-	-		
	00	(1,02 a 1,35)	.	.		
Cacharhinus brevipennis	5 0	1,43 ± 0,74	-	-		
	0	(0,73 a 2,59)	.	.		
Sphyrna lewini 0	4	0,84 ± 0,64	-	-		
.	00	(0,37 a 1,78)	.	.		
Mustelus punctatus .	1	0,51	-	-		
Rhizoprionodon acutus	1	1,48	-	-		
Carcharhinus milberti	1	0,69	-	-		
Carcharhinus limbatus	6	0,75 ± 0,40	-	-		
.	0	(0,37 a 1,29)	.	.		
Carcharhinus obscurus	3	1,08 ± 0,46	-	-		
.	.	(0,69 a 1,58)	.	.		
Sphyrna makorran	1	0,60	-	-		
Rhynchobatus dseddewsis 0	2	0,45 ± 0,14	-	-		
	0	(0,35 a 0,55)	.	.		
Isurus oxyrhinchus	26	2,6	-	-	Costa de Natal, África do Sul	WATLING et al. (1982)
"Mako shark"	.	.	.	.		
Carcharhinus obscurus	32	2,74 ± 1,38	-	-		
"Dusty shark"	.	.	.	.		
Carcharodon carcharias	14	2,3	-	-		
"Great white shark"	.	.	.	.		
Squalus acanthias	127	0,92	-	-	Washington, EUA	HALL, TEENY & GAUGLITZ (1977)
"Spiny dogfish"		(0,43 a 2,58)				
Isurus guntheii	4	0,21 ± 0,19	-	-	Mar de Andaman, Índia	MENASVETA & SIRIYONG, 1977
"Great blue shark"	. 0	(0,06 a 0,45)	.	.		
Bulamia ftallamzami	4	0,31 ± 0,22	-	-		
"Black tip shark"	.	(0,14 a 0,41)	.	.		
Sphyrna tades	3	0,23 ± 0,21	-	-		
"Hammerhead shark"	. 0	(0,07 a 0,48)	.	.		
Alopius sp.	1	0,22	-	-		
"Longtail shark"		.				

* Espécies sem identificação zoológica

2.1.7. Ingestão Semanal Tolerável Provisional para Mercúrio

Em 2000, foi estabelecida a Ingestão Semanal Tolerável Provisional (ISTP) para MeHg, de 3,3 μg/Kg de peso corpóreo, não devendo ultrapassar 200 μg por pessoa (FAO/WHO, 2000). Incluía o consumo de Hg por mulheres grávidas e que amamentavam. Em 2003, esse limite foi revisado visando a proteção desse grupo mais susceptível e a ISTP então reduzida para 1,6 μg/Kg (FAO/WHO, 2003). Em 2006, foi confirmada a essa redução, mas apontou-se que outras faixas etárias, que não embrionária ou fetal, podem ser menos sensíveis aos efeitos adversos do MeHg, considerando que a ingestão de até dobro da ISTP de 1,6 μg/Kg não expõe a riscos de neurotoxicidade. No entanto, recomendou-se que mulheres em idade de concepção não excedam o limite recomendado. Também se relatou que para crianças e adolescentes (até 17 anos) que, apesar de certamente não serem mais susceptíveis que embriões ou fetos, podem ser mais sensíveis que adultos, pois o desenvolvimento cerebral continua significativamente ainda nessa faixa etária, portanto, a esse grupo recomenda-se não ultrapassar essa ISTP (FAO/WHO, 2006).

A ISTP recomendada para Hg total é de 300 μg por pessoa, não mais que 200 μg como MeHg, ou 5 μg/Kg de peso corpóreo (FAO/WHO, 2000). O limite estabelecido para MeHg é igual a 32 % desse valor. Sugere-se então que para o consumo de peixes predadores, já que podem conter concentrações relativas de MeHg de até 100 % do Hg total, o ISTP de Hg total possa ser considerado igual ao do MeHg, ou seja, 1,6 μg/Kg de peso corpóreo de Hg total ingeridos semanalmente. A Organização Mundial da Saúde já relatou o reconhecimento da necessidade de a ISTP para o Hg total ser reavaliada (FAO,WHO, 2003), como aconteceu para o MeHg. Contudo, a mudança nos níveis estabelecidos para MeHg não reduz a exposição da população e deve-se prover métodos efetivos para reduzir o número de indivíduos o consomem acima da ISTP, especialmente em populações às quais esse risco se apresenta com maior intensidade.

A Com base na IPTS para MeHg, e considerando o pescado predador cuja proporção de MeHg pode chegar a 100% do Hg total, para uma pessoa com 70 Kg, seria tolerável a ingestão semanal de 112 μg de MeHg (ou Hg total no caso de peixes predadores), ou seja, aproximadamente 224 g de um peixe com 0,5 μgHg/g, 112 g de um peixe contendo 1 μgHg/g, 56 g de um peixe com 2 μgHg/g, ou 37,3 g de um peixe contendo 3 μgHg/g.

2.2. O ARSÊNIO

2.2.1. Fontes e Usos do Arsênio

O arsênio (As), distribuído na crosta terrestre, ocupa o 20º lugar em abundância natural, 14º em água marinha e 12º no corpo humano. Está contido em mais de 245 minerais, sendo a forma mais comum a arsenopirita. Apesar de sua maior incidência ser de fonte geológica, muitas vezes vulcânica, a atividade humana também é causa de poluição por arsênio (SHARMA & SOHN, 2009; PESHUT, MORRISON & BROOKS, 2008; FOWLER et al., 2007; STORELLI & MARCOTRIGIANO, 2004). Concentrações elevadas desse mineral no solo ocorrem somente em áreas localizadas, mas regiões industriais causam preocupação ambiental (BHATTACHARYA et al., 2007).

O As é mais largamente utilizado em pesticidas, herbicidas, dessecantes de algodão e conservantes de madeira. Mas o uso de compostos arsenicais em agricultura vem gradualmente diminuindo desde a década de 60, devido ao maior entendimento de sua toxicidade e a consciência concernente à segurança dos alimentos e contaminação ambiental (BHATTACHARYA et al., 2007). É usado também na manufatura de vidro, na fabricação na semicondutores, fotocélulas e em pesquisa espacial. O As elementar é usado como aditivo na produção de ligas metálicas, para aumentar a dureza e resistência ao calor. Suas formas inorgânicas são principalmente geradas na mineração, como subproduto da fundição de minas de cobre, zinco, chumbo ou ouro e na queima de combustível fóssil (DENOBILE, 2007; FOWLER et al., 2007; SLOTH, JULSHAMN & LUNDEBYE, 2005; PESHUT, MORRISON & BROOKS, 2008).

Os compostos arsenicais são conhecidos como agentes terapêuticos desde 400 a.c. A partir do século XIX, uma solução de arsenito de potássio, conhecida como solução de Fowler, foi usada no tratamento de leucemia, psoríase e asma bronquial crônica. Com base em estudos epidemiológicos, essa solução, já banida em muitos países, está associada ao desenvolvimento de câncer (HUGHES, 2002; FOWLER et al., 2007). Compostos de arsênio orgânico têm sido extensivamente usados no tratamento de doenças causadas por protozoários e espiroquetas. O trióxido de arsênio foi reportado para o tratamento de leucemia promielocítica aguda (NICOLIS et al., 2009; FOWLER et al., 2007).

2.2.2. Transformações do Arsênio no Ambiente Marinho

A mobilização do As no solo e subseqüente lixiviação em águas profundas ou de superfície ou sua entrada na cadeia alimentar humana, devem ser consideradas um sério risco. Essa mobilização em ecossistemas naturais é predominantemente dirigida por interações biogeoquímicas mediadas microbiologicamente (BHATTACHARYA et al., 2007).

O arsênio está presente em todos os oceanos em concentrações de 1-2 µg/L (SHARMA & SOHN, 2009; BORAK & HOSGOOD, 2007; SLOTH, JULSHAMN & LUNDEBYE, 2005). Essas concentrações são mais constantes em águas mais profundas, onde predomina o arsenato (As^{V}), enquanto em águas superficiais essas concentrações sofrem variações sazonais (FOWLER et al., 2007; BORAK & HOSGOOD, 2007; STYBLO, et al., 2000). Redução e metilação ocorrem em zonas fóticas superficiais e os níveis de metilação estão correlacionados com a atividade fotossintética. Águas superficiais contém, além de As^{V}, pequenas concentrações de arsenito (As^{III}), resultante de processos microbiológicos de detoxificação ou respiração, monometilarsonato (MMA) e dimetilarsinato (DMA) (BORAK & HOSGOOD, 2007; BHATTACHARYA et al., 2007).

Os animais marinhos ingerem uma pequena quantidade de arsênio inorgânico através de sua alimentação e o bioacumulam. Através da cadeia trófica, uma seqüência de transformações metabólicas leva à bioacumulação de compostos arsenicais metilados complexos em espécies de animais maiores, como a arsenobetaína, considerada o produto metabólico final no ecossistema marinho. (BORAK & HOSGOOD, 2007; HANAOKA et al., 1987a; HANAOKA et al., 1987b; DE-GIETER et al., 2002; STORELLI & MARCOTRIGIANO, 2004).

Essa cadeia de transformações tem a participação fitoplâncton, que capta o As^{V}, via sistema de transporte trans-membrana para captação de fósforo, seguido de rápida detoxificação por redução e metilação, resultando na formação de arsenoaçúcares, bem como menores quantidades de DMA, MMA e outra formas metiladas (BORAK & HOSGOOD, 2007; DE-GIETER et al., 2002). Os níveis de As em algas é geralmente cerca de 1000 a 10000 vezes maior que a encontrada na água marinha (BORAK & HOSGOOD, 2007).

A arsenobetaína, forma trimetilada do As^V, é o composto arsenical predominante em animais marinhos, principalmente em peixes do topo da cadeia trófica, como o cação, comuns na alimentação humana (SHARMA & SOHN, 2009; BORAK & HOSGOOD, 2007; CAVA-MONTESINOS et al., 2005; SLOTH, JULSHAMN & LUNDEBYE, 2005; FOWLER et al., 2007; DE-GIETER et al., 2002; HANAOKA et al., 1987a; HANAOKA et al., 1987b). A arsenobetaína não é sintetizada diretamente do As^V, mas provavelmente os arsenoaçúcares liberados na água e sedimentos, pela morte e decomposição de algas, são transformados por microorganismos ou por alguns animais marinhos em arsenobetaína ou seus precursores, os quais são então ingeridos por outros animais marinhos (BORAK & HOSGOOD, 2007).

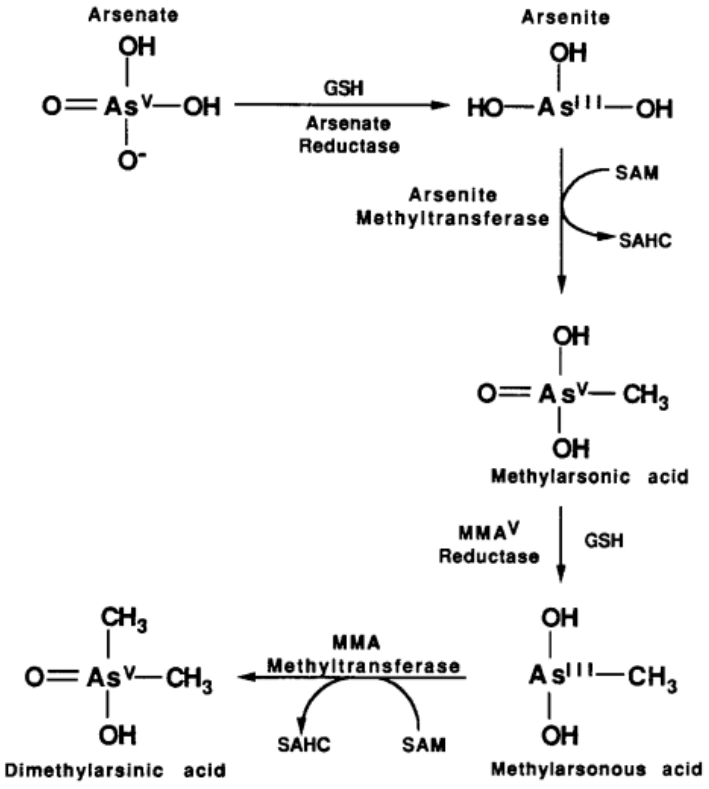
Outras formas orgânicas e inorgânicas do arsênio, além da arsenobetaína, são encontradas em peixes e animais marinhos comuns na dieta humana. A proporção do arsênio inorgânico nesses alimentos é geralmente muito baixa, menor que 1-4% do As total. Os compostos metilados (MMA e DMA) e o óxido de trimetilarsina (TMAO), bem como compostos orgânicos mais complexos, como arsenocolina e arsenoaçúcares, também estão presentes em alimentos marinhos, em menores quantidades (BORAK & HOSGOOD, 2007). O TMAO é formado por metilação por bactérias da flora intestinal dos peixes e também como produto secundário da degradação microbiológica *post-mortem* da arsenobetaína contida em animais marinhos, com subseqüente decomposição a DMA, MMA e finalmente às formas inorgânicas (BORAK & HOSGOOD, 2007; DEVESA et al., 2005; HANAOKA et al., 1993; HANAOKA et al., 1992; KAISE et al., 1987).

2.2.3. Metabolismo e Toxicidade das Espécies Arsenicais

O metabolismo do arsênio é de grande importância para o desencadeamento de seus efeitos tóxicos. Muitas espécies mamíferas metilam o arsênio inorgânico. Esse processo dá-se por ciclos de redução e metilação (Figura 1), iniciando-se pela redução do As^V a As^{III}, na presença de um tiol como a glutationa, seguida de metilação enzimática oxidativa a formas orgânicas pentavalentes (MMA^V, DMA^V e TMAO). O metabólito predominante do arsênio inorgânico, o DMA, é rapidamente excretado pela maioria dos mamíferos. O TMAO é o produto final desse processo, mas é encontrado em concentrações muito pequenas na urina (HUGHES, 2002; FOWLER et al., 2007; STYBLO, et al., 2000). O MMA^{III} e o DMA^{III}, antes considerados produtos intermediários do metabolismo do arsênio, já foram identificados

na urina de humanos expostos cronicamente ao arsênio através da ingestão de água (APOSHIAN et al., 2000; DEL-RAZO et al., 2001).

Figura 1 – Redução e metilação do arsênio inorgânico



Fonte: PETRICK et al., 2000.

Geralmente as espécies inorgânicas do arsênio são mais tóxicas que as formas orgânicas presentes em organismos vivos, inclusive humanos, e por isso, a metilação foi considerada a principal via de detoxificação do arsênio inorgânico. Entretanto, estudos recentes demonstraram que o DMA^{III} e principalmente o MMA^{III}, são mais citotóxicos e genotóxicos que seus análogos pentavalentes e que o As^{V}, por apresentarem maior reatividade e afinidade por tióis, sugerindo que a metilação não é somente um mecanismo de detoxificação, mas que os arsênicos metilados trivalentes são tão biologicamente ativos quanto o As^{III} (SHARMA & SOHN, 2009; HUGHES, 2002; STYBLO, et al., 2000, PETRICK et al., 2000). Outro estudo apresentou que o dimetilmonotioarsênio (DMMTA) é muito mais tóxico que outros compostos arsenicais pentavalentes não-tiolados (NARANMANDURA, IBATA & SUZUKI, 2007; RAAB et al., 2007; RAML et al., 2007). Propõe-se a seguinte ordem de toxicidade em vários tipos de células humanas: $MMA^{III} > As^{III}$

= DMA^{III} > As^{V} > MMA^{III} =/> DMA^{V} (SHARMA & SOHN, 2009; STYBLO, et al., 2000, PETRICK et al., 2000).

O mecanismo da toxicidade do arsenato, As^{V}, está baseado na sua capacidade de substituir o fosfato em muitas reações bioquímicas, devido à estrutura e propriedades similares, resultando na inibição de enzimas, diminuição na produção de ATP, etc. Mas a maior parte de seus efeitos tóxicos deve-se à sua redução a arsenito, As^{III}, que tem alta afinidade por moléculas contendo tióis, como glutationa e cisteína. Essas ligações a grupos tióis ou sulfidrilas vicinais críticos, como grupos funcionais específicos de enzimas ou receptores de coenzimas, podem inibir importantes processos bioquímicos, levando à toxicidade. Por outro lado, a ligação do As^{III} a locais não-essenciais em proteínas, pode ser um mecanismo de detoxificação (HUGHES, 2002; STYBLO, et al., 2000). Ao causar estresse oxidativo por meio da inibição da respiração mitocondrial e depleção de ATP, o MMA^{III} e o DMA^{III} geram espécies de oxigênio reativo altamente tóxicas, que exercem importante papel na morte celular via apoptose ou necrose, e na carcinogenicidade via dano ao DNA celular (FOWLER et al., 2007).

É difícil propor um mecanismo de ação do arsênio no desenvolvimento do câncer por muitas razões. Algumas delas incluem vários resultados negativos em bioensaios de carcinogenicidade em animais padrão; a falta de evidência de que o arsênio é um mutagênico pontual; os efeitos carcinogênicos e promotores do DMA^{V}; os efeitos tóxicos das formas trivalentes metiladas; e os inúmeros efeitos do arsênio na sinalização celular. Entretanto, alguns mecanismos são propostos. Sugere-se que o arsênio não interage diretamente com o DNA, mas ocorre através da alteração indireta da expressão gênica, bem como através da perturbação do mecanismo de metilação do DNA e interferência nas vias de transdução de sinal. A inibição do processo de reparo do DNA pode contribuir como um papel co-carcinogênico do arsênio. Devido à sua interação com genes-alvo ser indireta e influenciada pelo ambiente celular, o efeito carcinogênico do arsênio deve ser expresso quando esgotarem-se os mecanismos protetores e adaptativos (SCHOEN et al., 2004; HUGHES, 2002; BASU et al., 2001).

A toxicidade aguda do arsênio está relacionada à forma química e ao estado de oxidação. A toxicidade do As^{III} é quase três vezes maior que a do As^{V}, em animais e em células humanas, sendo sua dose letal de 1-3 mg/Kg de peso corpóreo, para exposição humana via oral (SHARMA & SOHN, 2009; FOWLER et al., 2007; HUGHES, 2002;

STYBLO, et al., 2000). A intoxicação aguda ou sub-aguda envolve muitos órgãos e sistemas, incluindo dano gastrointestinal, dérmico, nervoso, renal, hepático, hematológico, cardiovascular, respiratório e oftálmico, podendo chegar a choque, convulsões, coma e morte (FOWLER et al., 2007; HUGHES, 2002).

Os efeitos crônicos do arsênio inorgânico também afetam sistemas multi-órgãos. Uma característica distinta dessa exposição são as lesões cutâneas, caracterizadas por hiperpigmentação, hiperqueratose palmoplantar e hipopigmentação, edema facial e descamação (FOWLER et al., 2007; HUGHES, 2002). Em Taiwan, a doença do pé-preto, um distúrbio vaso-oclusivo que leva à gangrena das extremidades, foi observada em indivíduos cronicamente expostos ao arsênio através da ingestão de água (TSENG, 2002). Outros efeitos cardiovasculares incluem anormalidades eletromiográficas, doenças arteriais periféricas, coronarianas e cerebrais, aterosclerose da carótida, hipertensão e microcirculação anormal. Efeitos não cardiovasculares observados foram neuropatia periférica, encefalopatia, hematomegalia, anemias, cirrose, heme-metabolismo alterado, depressão da medula óssea, diabetes mellitus e distúrbios renais, como degeneração do túbulo proximal e necrose papilar e cortical (TSENG, 2004; FOWLER et al., 2007; HUGHES, 2002; MUÑOZ et al., 2000).

Baseadas em estudos epidemiológicos, a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC, 1987 apud HUGHES, 2002; IARC, 1980 apud HUGHES, 2002) e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, 1988 apud HUGHES, 2002), reconhecem o arsênio inorgânico como carcinogênico humano do grupo 1. Tumores desenvolvidos após inalação de arsênio são primeiramente observados no pulmão, enquanto após exposição oral são constatados inicialmente na pele. Contudo, câncer em órgãos internos, como bexiga, fígado e rins, ocorrem em indivíduos cronicamente expostos à água contaminada (TSENG, 2004; HUGHES, 2002).

Adicionalmente, porque a toxicidade pelo arsênio pode ser modificada pelo estado nutricional, as respostas tóxicas podem variar significativamente entre populações com dietas diferentes, particularmente com respeito à ingestão de nutrientes ricos em compostos doadores de metila (como colina e metionina), selênio e antioxidantes.

2.2.4. Interação entre Arsênio e Selênio

O selênio (Se) ocupa o 147º lugar em toxicidade e sua forma inorgânica, Se^{IV}, reage com a glutationa inserindo-se no ciclo redox, causando estresse oxidativo e apoptose (ROSEN & LIU, 2009; ROSSMAN & UDDIN, 2004). Mas, em contraste ao arsênio, é um micronutriente essencial, anticancerígeno, que oferece proteção contra a toxicidade de metais como mercúrio e arsênio. Em humanos, há mais de 25 selenoproteínas, responsáveis por regulação redox, antioxidação e detoxificação (HUANG et al., 2009). Estudos envolvendo a exposição simultânea ao arsênio e selênio, em vários animais, apresentaram uma interação antagonista entre eles, e muitas pesquisas sugerem que o mesmo aconteça em humanos. Essa interação pode ocorrer direta ou indiretamente, dependendo as forma química e dose de cada um (ZENG, UTHUS & COMBS, 2005; ROSSMAN & UDDIN, 2004).

Foi verificado que o selênio aumenta a excreção biliar de arsênio e vice-versa (GAILER, 2007). Embora esse aumento na secreção biliar de selênio provavelmente seja o principal mecanismo pelo qual o arsênio interage com o selênio, os seus sais inorgânicos podem antagonizar-se pela formação de precipitados e pela inibição mútua da formação de metabólitos metilados (ZENG, UTHUS & COMBS, 2005). Em ratos, essa interação causou aumento da excreção fecal destes dois metalóides e a formação de um precipitado de arsenoselenito nos lisossomos renais (GAILER, 2007). Altos níveis de selênio na urina de habitantes da Bacia de Lanyang, Taiwan, expostos a altas concentrações de arsênio através da água (HSUEH et al., 2003), e de mulheres grávidas (CHRISTIAN et al., 2006) estão relacionados com maior excreção urinária de arsênio, com um aumento na % DMA e diminuição na % de As inorgânico, indicando alteração no metabolismo do arsênio. HOLMBERG & FERM (1969) observaram que o selenito diminui a teratogenicidade do As(V) quando os dois compostos são administrados simultaneamente por via intravenosa a “hamsters” prenhas.

A modulação da expressão de selenoproteínas pela exposição ao arsênio inorgânico pode destacar o mecanismo molecular para sua toxicidade. HUANG et al. (2009) constataram que a exposição a essas espécies arsenicais não somente modulam positivamente a expressão de algumas selenoproteínas antioxidantes (em ratos), como também suprimem a expressão de

selenoproteínas do retículo endoplasmático e aumentam o estresse oxidativo. Essa situação reverte-se pela suplementação de selênio.

Uma primeira indicação de que o antagonismo entre Se e As, e a ocorrência de câncer, foi fornecida através de um estudo de intervenção alimentar em ratos, que demonstraram que o As(III) abole a anticarcinogenicidade do Se(IV) (GAILER, 2007). GAILER (2009) estudaram a formação e a secreção biliar do íon seleno-bis-(S-glutationil)-arsínio "in vivo" e constataram seu envolvimento na toxicidade crônica e carcinogenicidade do As(III). MENO et al. (2009) relataram que a exposição ao As(III) leva à redução das concentrações musculares de selênio e que o MMA^{III} altera a expressão de selenoproteínas em um modelo primário de células humanas de fígado, com base na indução seletiva da tioredoxina redutase 1, numa série de eventos moleculares cumulativos que levam à redução significativa na habilidade celular de defesa contra estresse oxidativo, que conseqüentemente pode gerar espécies reativas de oxigênio e mutagênese (ROSSMAN & UDDIN, 2004). Os autores indicaram a necessidade de estudos posteriores para examinar se essa série de eventos é também a base para a carcinogenicidade potencial do arsênio em animais modelo.

Estudos epidemiológicos indicam que baixa concentração de selênio em plasma e sangue está significativamente relacionada à ocorrência de lesões na pele de população cronicamente exposta ao arsênio através da água (HUANG et al., 2008; CHEN et al., 2009). A acumulação do arsênio inorgânico, e a inibição da sua metilação, ocorreram em humanos, devido à exposição crônica a baixos níveis de selênio (HUANG et al.,2008; GAILER, 2007). Foi sugerido que a suplementação com selênio pode reverter algumas mudanças na expressão gênica em indivíduos com lesões pré-malignas na pele, presumidamente induzidas por exposição crônica ao arsênio (KIBRIYA et al., 2007; CHEN et al., 2009). CHEN et al. (2009) têm um estudo de cinco anos em andamento, que avalia se a suplementação com selênio ou vitamina E pode prevenir a ocorrência de câncer em pacientes com lesões na pele. Opostamente, STEPNIK et al. (2009) observaram que o efeito carcinogênico do arsênio não foi significativamente modulado pelo estado de suplementação com selênio, indicando a necessidade de estudos que esclareçam a interação entre os dois metalóides. ROSSMAN & UDDIN (2004) também observaram que o selênio inorgânico não foi fortemente protetor contra a toxicidade do arsênio, mas suas formas orgânicas protegeram contra a mutagênese induzida por baixas doses de arsênio.

2.2.5. Conteúdo de Arsênio em Peixes

A Tabela 3 apresenta concentrações musculares de arsênio total e inorgânico em várias espécies de cações.

STORELLI, BUSCO & MARCOTRIGIANO (2005) relataram que 92,3 a 99,1% das concentrações de As total (Tabela 3) em *small* "spotted shark" (*Scyliorhinus canícula*), encontravam-se em formas orgânicas. Também observaram correlação positiva significativa entre essas concentrações de arsênio total e o peso do peixe, indicando bioacumulação no músculo similar a que ocorre no caso do Hg. O mesmo foi relatado para a correlação entre a fração orgânica e o peso do espécime, confirmando que as formas arsenicais orgânicas mais complexas, como a arsenobetaína, acumulam-se eficientemente no tecido de animais marinhos e não é facilmente excretado como acontece para humanos e outros mamíferos. Essa correlação positiva não foi verificada para as formas inorgânicas.

STORELLI & MARCOTRIGIANO (2004) analisaram concentrações de As total em músculo de 10 espécies de eslamobrânquios (Tabela 3) e relataram que o cação azul, "blue-shark", uma espécie essencialmente teutívora, ou seja, que mais de 40% de sua dieta é composta por lula (ESSINGTON, BEAUDREAU & WIEDENMANN, 2006), apresentou menores concentrações de arsênio, em comparação com os demais, mas ainda muito acima do limite legal (1 µg/g). Nenhuma relação entre conteúdo de arsênio no músculo e comprimento do peixe foi observada para os cações analisados, com exceção do "blackmouth dogfish". Esse estudo indica que essa relação pode ser espécie-dependente, ou que o teor de arsênio no tecido de elasmobrânquios é regulado, e uma excreção ativa ocorre. O metabolismo do arsênio no fígado de peixes ocorre via metilação do arsênio inorgânico, um processo que resulta em formas orgânicas mono e dimetiladas, de excreção mais rápida. Assim, pode-se supor que os elasmobrânquios, particularmente aqueles de maior tamanho, são muitos eficientes na metilação do arsênio inorgânico e têm maior capacidade de detoxificação (STORELLI & MARCOTRIGIANO, 2004). DE-GIETER et al. (2002) também não encontraram correlação significativa entre bioacumulação e tamanho do peixe, o que foi atribuído à faixa limitada de comprimentos dos peixes estudados, devido à pesca de um tamanho específico para fins de consumo alimentar. Discutiram que a bioacumulação não é função somente da exposição ao longo do tempo, mas também do nível de contaminação de

sua fonte alimentícia e que mudanças na dieta levam a variações na exposição e taxa de crescimento, o que poderia causar diluição pelo crescimento.

Tabela 3 – Conteúdo de arsênio em músculo de cações.

Espécie	**n**	**As total (µg/g) A**	**As Inorgânico (µg/g) B**	**B/A (%)**	**Local**	**Referência**
Sem identificação	51	8,3 (2,1 a 33,5)	0,026 (0,001 a 0,19)	0,02 a 1,9	Comércio de São Paulo	DENOBILE (2007)
Somniosus microcephalus	24	9,82 ± 0,70	-	-	"Cumberland Sound" (Ártico)	McMEANS _L _L. (2007)
Somniosus pacificus	14	5,36 ± 0,15	-	-	"Prince Willian Sound" (Ártico)	
Sem identificação	9	0,62 a 9,54	-	-	Comércio de São Paulo	ALMEIDA (2005)
Scyliorhinus canicula	12	7,88 ± 2,92 (4,46 a 14,27)	0,26 ± 0,13 (0,08 a 0,49)	0,9 a 7,7	Mar Mediterrâneo	STORELLI, BUSCO & MARCO-TRIGIANO (2005)
"Blackmouth dogfish"	164	7,81 ± 1,83 (5,05 a 10,59)	-	-	Mar Mediterrâneo	STORELLI & MARCO-TRIGIANO (2004)
"Blackmouth dogfish"	164	7,11 ± 2,75 (2,38 a 11,54)	-	-		
"Blackmouth dogfish"	273	5,57 ± 2,50 (2,53 a 11,76)	-	-		
"Blackmouth dogfish"	218	13,07± 4,93 (6,80 a 28,18)	-	-		
"Small spotted shark"	218	13,60 ± 3,57 (9,17 a 20,64)	-	-		
"Kitefin shark"	4	16,58 ± 4,81 (10,49 a 22,19)	-	-		
"Gulper shark"	25	18,92 ± 6,43 (12,21 a 25,02)	-	-		
"Longnose spurdog"	137	12,68 ± 4,79 (4,92 a 20,05)	-	-		
"Velvet belly"	120	19,19 ± 1,30 (17,66 a 20,80)	-	-		
"Smooth hound"	120	15,40 ± 13,89 (6,46 a 31,39)	-	-		
"Blue-shark"	23	7,20 ± 3,05 (3,27 a 11,25)	-	-		
"Sharpnose sovengill"	8	10,88 ± 2,52 (7,23 a 13,25)	-	-		
"Ghost shark"	160	52,41 ± 23,83 (20,71 a 79,27)	-	-		

Tabela 3 – Continuação

Espécie	n	As total (µg/g) A	As Inorgânico (µg/g) B	B/A (%)	Local	Referência
Sphyrna zygaena	4	18,0 ± 8,6 (15,7 a 20,2)	-	-	Mar Jônico	STORELLI et al. (2003)
Scyliorhinus canícula	20	21,3 a 64,0	0,046 a 0,60*	< 2	Mar do Norte e Canal Inglês	DE-GIETER et al. (2002)
Centroscymnus crepidater	4	~3,9	> 1,0	-	Victoria, Austrália	ALLINSON, NISHIKAWA & LAURENSON (2002)
Deania calcea	2	~5,6	>1,0	-		
Carcharhinus limbatus	1286	0,08 a 16,6	-	-	Costa da Ilha de Bougainville	POWELL & POWELL (2001)
Rhizoprionodon acutus	270	0,1 a 7,9	-	-		
Sphyrna lewini	82	0,3 a 9,3	-	-		
Centroscymnus crepidater	10	17 ± 3	-	-	Victoria, Australia	TUROCZY et al. (2000)
Centroscymnus owstonii	11	29 ± 5	-	-		
Deania calcea	18	15 ± 8	-	-		
Isurus oxyrinchus	10	0,44	-	-	Nova Zelândia	VLIEG, MURRAY & BODY (1993)
Lamna nasus	12	0,23	-	-		
Galeorhinus australis	12	14 ± 5 (5 a 23)	-	-	Victoria, Australia	GLOVER (1979)
Mustelus antarcticus	12	17 ± 6 (7 a 30)	-	-		
Hexanchus griseus	15	4,1 (0,4 a 5,9)	-	-	Costa Pacífica do Canadá	LEBLANK & JACKSON (1973)
Squalus acanthias	17	2,9 (1,5 a 5,6)	-	-		

* Base úmida; * Arsênio tóxico = arsênio inorgânico + MMA + DMA

STORELLI et al. (2003) e TUROCSY et al. (2000) encontraram altas concentrações de As total em “hammerhead shark” e “dog shark” (Tabela 3) e as explicam parcialmente pelo hábito alimentar misto dessas espécies, cuja dieta é mais rica em cefalópodes e crustáceos, que têm maior capacidade de reter arsênio que peixes (STORELLI et al., 2003; DE-GIETER et al., 2002). Por outro lado, McMEANS et al. (2007) e DE-GIETER et al (2002) também encontraram alto conteúdo de arsênio em cações (“Greenland shark”/”pacific sleeper shark” e “dogfish” (Tabela 3), provavelmente proveniente da dieta, mas como não há evidências da ocorrência de biomagnificação, essas concentrações se justificam por variações regionais na biodisponibilidade, causadas por diferenças geográficas, sazonais ou ambientais.

POWELL & POWELL (2001) ao avaliarem a variação temporal do arsênio em uma área contaminada com resíduos de mineração na costa de Papua Nova Guiné, não encontraram evidência de biomagnificação ao longo de um período de 10 anos em “hammerhead shark”.

DE-GIETER et al. (2002) apresentaram relação linear significativa entre o arsênio total e tóxico (inorgânico + MMA + DMA) quando somadas as concentrações no fígado e no músculo de “dogfish”. Apontaram também que a fração tóxica do arsênio é constante para uma mesma espécie, sugerindo que, para cada espécie, a partir de certa concentração, próxima de 1% do arsênio total no caso do “dogfish”, um sistema de detoxificação é iniciado.

TUZEN (2009) relatou concentração de arsênio em várias espécies de peixes do Mar Negro, Turquia, variando de 0,11 mg/Kg em salmonete (*Mullus barbatus*) a 0,32 mg/Kg em “mackerel” (*Scomber scombrus*). TOPPE et al. (2007) analisando várias espécies de peixes da Noruega, apresentaram concentrações de arsênio em peixes “gordos” (“blue fish”), com média de 2,0 ± 1,1 mg/Kg (base seca desengordurada), com valor máximo de 3,8 mg/Kg em “big herring” (*Clupea harengus*), contra o teor médio de 0,3 ± 0,3 mg/Kg em peixes “magros”. JUREŠA & BLANUŠA (2003) encontraram concentrações de arsênio mais altas em “hake” (*Merluccius merluccius*), 23,3 ± 3,6 mg/Kg, semelhantes às apresentadas para cações (Tabela 3). Os mesmos autores relataram concentrações mais baixas em “mackerel”, 0,56 ± 0,11 mg/Kg.

USYDUS et al. (2008) estudaram peixes enlatados disponíveis no mercado polonês e encontraram arsênio total mínimo de 0,47 ± 0,12 mg/Kg em “paprykars” (peixe com arroz) e máximo de 1,93 ± 0,85 mg/Kg em sardinha em óleo. Valores similares observaram MANTOVANI & ANGELUCCI (1992) ao analisarem amostras de sardinha e atum, “in natura” e enlatados, da cidade de Campinas/SP (Brasil). O arsênio (mg/g) variou de 0,85 a 1,58 mg/Kg em amostras “in natura”, 0,78 a 1,78 em sardinha em óleo comestível, 0,80 a 2,06 em sardinha em molho de tomate e 0,44 a 1,26 em atum em óleo comestível. MUÑOZ et al. (2000) relataram concentrações de 0,60 a 8,12 mg/Kg para arsênio total e de 0,008 a 0,196 mg/Kg para arsênio inorgânico, em peixe enlatado. Também apresentaram conteúdos de 1,17 a 3,01 mg/Kg para arsênio total e 0,010 a 0,055 mg/Kg para arsênio inorgânico, em “cod” salgado.

Para peixes da Samoa americana, PESHUT, MORRISON & BROOKS (2008) apresentaram resultados de arsênio total entre 0,235 e 98,2 mg/Kg (n=383) em 117 composições (“pools”). A fração inorgânica foi abaixo do limite de detecção em 80 dessas 117 composições. Nas demais foram observados valores entre 0,0096 e 0,2438 mg/Kg, que compreendem 0,01 a 37 % do arsênio total, sendo até 6,7 em 31 das 37 composições restantes e menor que 1% para 22 delas. Os valores altos de até 37% foram relatados para “mullet” inteiro.

MUÑOZ et al. (2000) apresentaram conteúdos de arsênio total e inorgânico para várias espécies de peixes. As maiores concentrações, em base seca, relatadas para peixes "magros” (“white fish”, que têm menos de 1% de lípides) foram para “meagrim”: arsênio total de 3,08 a 53,57 mg/Kg (mediana = 21,25 mg/Kg, n=12) e arsênio inorgânico de 0,010 a 0,116 mg/Kg (mediana = 0,034 mg/Kg). Para peixes “gordos” (“blue fish”, com mais de 1% de lípides), os maiores conteúdos foram encontrados na anchova e sardinha, 2,73 a 36,87 mg/Kg (mediana = 12,79 mg/Kg, n=12) e 3,39 a 27,62 mg/Kg (mediana = 12,79 mg/Kg, n=11), respectivamente, para arsênio total. Para arsênio inorgânico foram relatadas as quantidades de 0,042 a 0,408 mg/Kg (mediana = 0,113 mg/Kg) e 0,172 a 0,366 mg/Kg (mediana = 0,218 mg/Kg), para anchova e sardinha, respectivamente.

STORELLI & MARCOTRIGIANO (2000) publicaram conteúdos de arsênio total em espécies de raias que variaram de 14,4 a 61,5 mg/Kg. O maior valor médio foi observado em amostras de “long nose skates”, 48,8 mg/Kg. Para arsênio inorgânico, as maiores concentrações foram relatadas para “blue whiting”, com teores na faixa de 0,17 a 1,19 mg/Kg (média de 0,50 mg/Kg).

2.2.6. Limites de Tolerância e Ingestão de Arsênio

O arsênio é um sério contaminante em pescado e apresenta-se em níveis muito acima dos limites estabelecidos (Tabela 3). Devido à falta de normas formais consensuais para concentração de arsênio em pescado, é muito difícil julgar o risco humano potencial em relação ao consumo. Limites legais variam entre 0,1 mg/Kg (Venezuela) e 10 mg/Kg (Hong Kong). Em muitos países esses limites são adotados em relação à concentração total de

arsênio, enquanto em outros países se expressam como a fração inorgânica do arsênio (DE-GIETER et al., 2002). Por ser este a espécie mais tóxica, seu nível máximo deve ser regulamentado na legislação para arsênio. A introdução na legislação de níveis para arsênio total não garante a segurança do produto (MUÑOZ et al., 2000).

O limite estabelecido na legislação brasileira para As total é de 1 mg/Kg (BRASIL, 1998). No entanto, o governo não fiscaliza a comercialização do cação quanto à sua concentração de arsênio, não cumprindo sua finalidade de proteção à saúde do consumidor, tal como ocorre no caso do Hg.

A Ingestão Semanal Tolerável Provisional (ISTP) indicado pela FAO/WHO é de 25 µg/Kg de peso corpóreo para arsênio total (WHO, 1996 apud JUREŠA & BLANUŠA, 2003), e para o arsênio inorgânico, é de 15 µg/Kg de peso corpóreo (WHO, 1989). Anteriormente, a ingestão máxima tolerável diária para arsênio inorgânico era de 2 µg/Kg de peso corpóreo. O NOAEL (maior nível no qual não se observa nenhum efeito) calculado para o arsênio é de 0,8 µg/Kg/dia e o LOAEL (menor nível no qual se observa um efeito adverso) é de 14 µg/Kg/dia. Usando-se um fator de incerteza de 3, a partir do NOAEL estima-se o nível de 0,3 µg/Kg/dia para a exposição diária sem risco apreciável de efeitos deletérios (DENOBILE, 2007).

A água é uma importante via de exposição oral ao arsênio, que, em muitos locais, ocorre naturalmente em altas concentrações. A partir de 2001 foi estabelecido pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, o limite de 10 µg/L em água potável (WHO, 2001). Mas em pescado (peixes, moluscos, crustáceos e algas comestíveis) encontram-se os maiores níveis de arsênio, sendo estimado que cerca de 90% da exposição humana a esse mineral, por ingestão de alimentos, seja através do consumo de produtos de pesca (FDA, 1993). No entanto, geralmente mais de 80% do arsênio encontrado em peixes é arsenobetaína, uma forma com toxicidade muito baixa.

2.3. REMOÇÃO DE MERCÚRIO E ARSÊNIO TOTAL E INORGÂNICO DE CAÇÃO

Na pesca do cação, a técnica usada não permite a seleção de tamanho ou peso compatível. Então, o pescado capturado de grande porte e alto teor de As e Hg muscular, não

sobrevivendo até à despesca, poderia servir de matéria-prima para os processos de descontaminação que a literatura sugere.

2.3.1. O Cação

Dentre os peixes predadores, o cação é um valioso recurso marinho, que sustenta a pesca em vários países, com altos números de produção (exploração). A captura total de cações, incluindo raias (“rays” e “skates”), quimeras e esqualos, variou aproximadamente de 839,1 a 869,5 mil toneladas ao ano, entre 2000 e 2003. No Brasil, no mesmo período, produziu-se cerca de 12,8 a 21,7 mil toneladas ao ano (LACK & SANT, 2006). O cação é uma importante fonte de proteínas para populações costeiras dependentes da pesca de subsistência e tem bom aproveitamento industrial, pois, além das várias formas de processamento de sua carne (congelada, salgada seca, salmourada e defumada), também as barbatanas, para a fabricação de sopa, tem alto valor agregado. Também são usados a pele para a fabricação de couro e lixa, os dentes em bijuteria e o óleo de fígado com fins farmacêuticos. Além da utilização da cartilagem em indústria de cosméticos, há relatos do uso de sulfato de condroitina dela extraído, para tratamento de osteoartrite, osteoporose e câncer (TENUTA-FILHO, 2006; NOMURA, 2004; SATO et al., 2004; VANNUCCINI, 1999).

O cação pertence à classe Chondrichthyes, cuja característica é de peixes com esqueleto cartilaginoso e não ósseo, e à sub-classe Elasmobranchii, onde são divididos em 35 famílias e aproximadamente 465 espécies com características muito variadas. Os cações são os principais predadores de sua comunidade. Há diferenças enormes entre os cações e outros peixes, como seu esqueleto cartilaginoso e a manutenção de seu equilíbrio osmótico com auxílio da presença de uréia e óxido de trimetilamina em seu sangue e tecidos. Não têm o trato urinário usual, então a uréia presente no sangue, subproduto não tóxico do metabolismo, é excretada através da pele, e após a captura pode ser eliminada através da sangria. Após a pesca, a uréia é transformada por bactérias em amônia, tóxica, e por isso a validade do produto fresco é bem pequena. Manuseio impróprio pode levar a odor e gosto forte de amônia (VANNUCCINI, 1999). A trimetilamina formada por deterioração bacteriana ou enzimática do óxido de trimetilamina também é um bom indicador da qualidade do cação e um importante fator de comprometimento sensorial (TENUTA-FILHO, 2006).

Estudos demonstraram que os Elasmobranchii podem acumular altas concentrações de compostos potencialmente tóxicos. O cação, por exemplo, o cação-azul (*Prionace glauca*), devido ao grande tamanho e eficiência predatória e por sua alta posição na cadeia trófica, pode conter concentrações de arsênio muscular impróprias para a alimentação humana (STORELLI et al., 2003; TENUTA-FILHO & NASCIMENTO, 2007).

Os cações podem ser classificados em duas categorias, de acordo com seu habitat: demersais e pelágicos. Os demersais, em contraste com os pelágicos, alimentam-se não somente de animais de níveis altos da cadeia trófica, mas também de animais dos níveis mais baixos, os quais provavelmente contêm alguns compostos arsenicais diferentes da arsenobetaína, Por isso, cações demersais poderiam conter alguns precursores da arsenobetaína no tecido e/ou órgãos. No entanto, constata-se que o músculo e fígado de cações, como por exemplo, o cação-azul, contém majoritariamente a arsenobetaína, independente de seus hábitos alimentares, indicando a ocorrência de bioconversão (HANAOKA et al., 1987).

2.3.2. Remoção com Cisteína

Várias metodologias de espectrofotometria de absorção atômica com geração de hidretos, usadas para quantificação de As e Hg, usam com alta eficiência a cisteína para reduzir suas espécies para a subseqüente formação do hidreto correspondente. Na intoxicação humana aguda ou crônica por Hg, moléculas contendo grupos tióis ou ditióis são o tratamento de escolha e agem como agentes quelantes que competem com ligantes biológicos, removendo-os dos tecidos (GUZZI & LA PORTA, 2008; ROONEY, 2007). KOSTYNIAK et al. (1983) relataram a remoção de MeHg de eritrócitos, com tióis em concentração aproximada à da glutationa presente na célula. Sendo assim, a cisteína em concentrações adequadas é um agente complexante com grande potencial de uso na remoção do mercúrio de músculo de pescado. Alem disso, tem baixa toxicidade e fácil inclusão no processo produtivo.

LIPRE (1980) tratando filés de bacalhau com solução de cisteína a 0,1 e 1% e YANNAI & SALTZMAN (1973) em postas de atum (3 cm) pré-cozidas, com solução de cisteína a 0,33%, chegaram à redução na concentração de Hg de 40 e 44% (1,36 µg/g inicial, matéria seca), e 54 a 79% (0,37-0,53 µg/g inicial, matéria úmida), respectivamente, em

temperatura de refrigeração, por 24h. Resultados similares, de remoção de 51 a 57% do Hg contaminante (0,67-0,99 µg/g, matéria úmida), foram obtidos em larga escala por SCHAB, SACHS & YANNAI (1978) ao tratarem postas pré-cozidas (de 2 a 3cm) de atum ("yellowtuna") em solução de cisteína a 0,5%, com agitações periódicas durante 3 horas, a 20-25°C e pH 0,5, com posterior neutralização com $NaHCO_3$ (bicarbonato de sódio) e enlatamento do produto.

TEENY, HALL & GAUGLITZ (1974) removeram 50% do Hg inicial (1µg/g, matéria úmida) de postas de *Anoplopoma fimbria*, "sablefish", tratadas por 4 horas e pedaços, tratados por 72 horas com solução de cisteína a 1%, em pH 7, posteriormente lavadas com água corrente por 1 hora e imersos em NaCl (cloreto de sódio) 0,1M também por 1 hora. No mesmo estudo, o músculo do peixe triturado foi agitado com a mesma solução de cisteína por 15 minutos, centrifugado e re-suspendido em água ou NaCl 0,1M e re-centrifugado, levando a 60 a 80% de remoção do Hg. Em "swordfish" (1,27 µg/g de Hg total, matéria seca) e "yellowfin tuna" (6,37 µg/g de Hg total, matéria seca), também triturados, tratados com cisteína durante 15 minutos, em pH 2, e lavados 3 vezes com água, SUZUKI (1974) alcançou eficiência de 90% com solução de cisteína, a 0,5 ou 1%, em "yellowfin tuna", e de 56 e 70% em "swordfish" com solução de cisteína, a 0,5 e 1%, respectivamente. Ainda em músculo triturado, SPINELLI et al. (1973) conseguiram 45% de eficiência na remoção do Hg de "Pacific halibut" (*Hippoglossus stenolepis*) inicialmente com 6 µgHg/g (matéria seca), ao utilizarem solução de cisteína a 0,5% em NaCl 0,1M com leve agitação por 15 minutos e posterior lavagem com a solução salina.

OHTA et al. (1982) extraíram Hg de músculo triturado de "conger eel" (*Conger myriaster*), "grouper" (*Malakichthys griseus*) e "skipjack" (*Katsuwonus pelamis*), contendo originalmente 0,53 a 8,75 µg/g de Hg total (matéria seca), através de agitação por 15 minutos com solução de cisteína a 0,5%. Obtiveram cerca de 50% de remoção do Hg quando aplicaram esse tratamento em pH 5 a amostras cruas, e 70% quando em pH 1,4 à amostras pré-cozidas, com a desvantagem, nesse último caso, da perda de proteína por solubilização.

O músculo de cação-azul ("blue shark") triturado, aquecido (a 100°C por 15 minutos) ou não, foi submetido por OKAZAKI et al. (1984) por duas vezes à ação da cisteína a 0,5%, por 15 minutos sob agitação, em pH 3 a 7, seguida de lavagem com água, levando à remoção de cerca de 65% do Hg inicialmente contido na amostra (5,79 µg/g, matéria seca).

FERNÁNDEZ-SOLIS et al. (1976) submeteram músculo pré-cozido de bonito listrado (*Katsumonus pelanis*), contendo 0,70 µgHg/g (matéria úmida), ao tratamento com cisteína

(0,1 e 0,5%), em NaCl 0,1 M ou em água, durante 30 minutos, a 17 e 37°C, antes do enlatamento (ao natural e em óleo). A remoção do metal foi baixa, de 5,7 a 14,3%, verificada nos produtos processados. Também MORALES-AIZPURÚA et al. (1997), ao estudarem a remoção do Hg em postas de cação-azul contendo (*Prionace glauca*) pela adição de cisteína (0,5%), sob agitação, em pH 2,0 a 2,5, a 5°C, por 24 horas, seguida de duas lavagens com NaCl a 5%, por 1 hora, sob agitação, a 20-22°C, obtiveram resultados muito baixos. Nesse mesmo estudo, ao músculo triturado de cação-azul (*Prionace glauca*) contendo 6,39 µg/g (matéria seca) de Hg, foi aplicado tratamento com cisteína a 0,5% em pH 7, de acordo com os procedimentos apontados por SUZUKI (1974) e OKAZAKI et al. (1984), com remoção de cerca de 40% do Hg, e por SPINELLI et al. (1973), com remoção insatisfatória (3,8%).

Para uma alta remoção do Hg do músculo do pescado, a concentração de cisteína adicionada deve ser maior que a que compõe a proteína, para que tenha condições de competir pela interação com o Hg, mas diferentes fatores envolvidos no processo podem afetar a eficiência dessa remoção (TENUTA-FILHO, 2006; SCHAB, SACHS & YANNAI, 1978; YANNAI & SALTZMAN, 1973).

2.3.3. Remoção com Borohidreto de Sódio

COHEN & SCHRIER (1975) propuseram uma metodologia para remoção de Hg de um concentrado protéico de peixe (CPP) usando o borohidreto de sódio ($NaBH_4$), por redução, que pode ser até total se em excesso do reagente, das formas químicas presentes de Hg a Hg^{2+} e em seqüência a Hg^0 (elementar) volátil. Essa redução potencialmente se estenderia também a outros minerais tóxicos, como o chumbo.

O CPP preparado pelos autores anteriormente citados, foi preparado com *C. carpio* (carpa) e *A. probatophefalus* (“sheepshead”), peixes teleósteos, segundo SPINELLI et al. (1971), pelo método “aqueous phosphate”, que compreende separação mecânica do músculo, adição de água (1:1) e ácido sulfúrico até pH 5,7 e aquecimento a 70-80°C, para inativação de proteases, seguido de adição de hexametafosfato de sódio e ácido sulfúrico até pH 3,8-4,0. Depois disso, através de centrifugações, lavagem com água, extração com álcool isopropílico e secagem a vácuo, é obtido o CPP desengordurado e seco. Antes da secagem, porém, COHEN & SCHRIER (1975) introduziram o tratamento com adição de soluções de $NaBH_4$ de 1 a 5%, por 20-30 minutos, em temperatura ambiente (21 a 25°C).

Ocorre, com a adição do $NaBH_4$, uma reação de oxi-redução, na qual as formas químicas de Hg são reduzidas a Hg^0 e os hidretos (H^-) são oxidados a gás hidrogênio (H_2), que auxiliam no arraste do Hg volátil formado, processo no qual uma agitação efetiva é fundamental. Simultaneamente, o excedente de íons BH_4^- é hidrolisado a íons BO_2^- (metaborato), que formam com a água um ácido fraco ($NaBO_2$) e pouco ionizado, liberando íons hidróxido (HO^-) que elevam o pH do meio de reação, inicialmente entre 5,8 e 6,8 para 9 a 10.

Ao final do tempo de reação, foi adicionado HCl até pH 4,5, aproximadamente o ponto isoelétrico da proteína. Além disso, a adição do ácido remove os íons hidróxido do meio, levando a um deslocamento do equilíbrio da hidrólise dos íons BH_4^- no sentido da formação do ácido metabórico (HBO_2), sendo então que todo o boro presente no meio fica nessa forma e a reação é cessada pela extinção do agente redutor, $NaBH_4$. O $HB0_2$ foi removido por lavagem do sólido obtido com água.

TENUTA-FILHO (2006) aplicou o procedimento proposto por COHEN & SCHRIER (1975) em cação. Nesse estudo, o $NaBH_4$, nas concentrações de 1, 3 e 5% foi adicionado a uma suspensão do músculo de cação triturado sem tecido conjuntivo e água (1:10, peso:volume) e o tratamento teve prosseguimento conforme o método exposto. O boro residual foi eliminado até níveis seguros para o consumo, através de lavagens com água.

Os dois estudos (COHEN & SCHRIER, 1975; TENUTA-FILHO, 2006) apresentaram redução de até cerca de 85% na concentração de Hg inicial dos peixes, com 5% de $NaBH_4$ por 20 minutos. COHEN & SCHRIER (1975) relataram remoção de quase 100% para MeHg e Hg total, em alguns experimentos.

COHEN & SCHRIER (1975) indicaram também a possibilidade de remoção de outros elementos tóxicos, além do Hg, como o selênio (Se), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e arsênio (As), através do mesmo mecanismo de redução ao estado elementar. Porém esta hipótese não foi experimentalmente comprovada. Entretanto, a redução química destes elementos tóxicos pelo $NaBH_4$ somente é quantitativa nos casos do Hg e do Pb (SULLIVAN, 1995).

No caso do Se, que pode ser nutriente ou tóxico, dependendo da quantidade presente no alimento, TENUTA-FILHO (2006) relatou que o produto obtido de cação através do tratamento com NaBH4 conservou aproximadamente 63% do nutriente inicialmente presente na amostra. Para outros minerais tóxicos, ainda há necessidade de estudos a fim de confirmar experimentalmente a possibilidade de remoção e quantificá-la.

O $NaBH_4$ utilizado para a descontaminação do produto proposto por TENUTA-FILHO (2006) pode alterar a toxicidade do As. A redução incompleta de suas formas orgânicas (principalmente arsenobetaína), menos tóxicas e predominantes em pescado, pode levar ao aumento das espécies mais tóxicas, as formas arsenicais inorgânicas (As^{3+} e As^{5+}), o que inviabilizaria o tratamento para descontaminação de Hg. Por outro lado, as formas inorgânicas poderiam ser reduzidas a As elementar e eliminado do pescado, aumentando o potencial descontaminante do referido tratamento com $NaBH_4$.

Segundo COHEN & SCHRIER (1975), o tratamento usado não alterou o valor biológico da proteína, quando ensaiado em aves em crescimento (a partir de 1 dia de idade), pelo período de 3 semanas. O produto obtido de cação proposto por TENUTA-FILHO (2006) demonstrou ter características específicas, como insolubilidade e incapacidade de formar emulsão, porém bastante hidratável, com capacidade de reestruturar-se (texturização) com o congelamento e estabilidade química (MACEDO et al., 2004; KOROSSUE et al., 2002). A digestibilidade enzimática também foi alta e igual à da matéria-prima. O comportamento eletroforético da proteína desse produto apresentou sutis diferenças da proteína do cação sem tratamento, mas o estudo não avançou em análise toxicológica, porém não se verificou diferença entre o perfil de aminoácidos das amostras tratadas com borohidreto de sódio e não-tratadas (TENUTA-FILHO, 2006; MACEDO & TENUTA-FILHO, 2003). A lisina disponível teve redução de 24,4% em relação ao cação não tratado com $NaBH_4$, sugerindo alguma importante alteração na proteína, não avaliada no referido estudo.

2.3.4. Métodos de Cocção na Redução de Arsênio

O estabelecimento do risco envolvendo o consumo de pescado tem sido baseado no conteúdo de arsênio em peixes crus, não levando em consideração as variações que o preparo para o consumo, principalmente os que envolvem o aquecimento, pode ocasionar. Já foi relatada a formação de espécies mais tóxicas que as mono ou dimetiladas pentavalentes, como o íon tetrametilarsônio (TMA^+), a partir da descarboxilação da arsenobetaína. Em menor escala, também pode ser gerado o arsênio inorgânico (HANAOKA et al., 2001).

Dois fatores podem alterar a concentração de arsênio presentes em pescado cru, como resultado da cocção. Um deles é o aumento na concentração do metalóide devido à perda de massa, resultante do decréscimo no teor de água, voláteis e, em menor grau, de outros

constituintes da amostra bruta (lípides, carboidratos e proteínas); o outro, é que pode haver perda da espécie arsenical por solubilização ou volatilização. Conseqüentemente, dependendo do fator que tem um efeito mais forte, aumento ou diminuição em sua concentração pode ser observado após a cocção (DEVESA et al., 2001a; DEVESA et al., 2005). É possível também a transformação química de uma espécie em outra, como resultado do aquecimento aplicado (DEVESA et al., 2001a; DEVESA et al., 2001b).

Muitos trabalhos informam que ocorre aumento na concentração do arsênio total (base úmida) após o tratamento térmico. Isso foi confirmado por PERELLÓ et al. (2008), ao fritar e grelhar amostras de sardinha, merluza e atum, ou ao assar e cozinhar em água amostras de merluza, sendo o ato de grelhar o que causou maior aumento na concentração de arsênio em relação às amostras cruas. ERSOY et al. (2006) relataram que as concentrações de arsênio total, em robalo (*Dicentrarchus labrax* Linne, 1785), não se alteraram em relação às concentrações originais, quando foram assadas em formo convencional ou grelhadas. Um aumento significativo, de 3,8 a 7,1 vezes as concentração das amostras cruas, foi observado para amostras cozidas em microondas ou fritas.

Ao aplicarem os métodos de cocção domésticos mais comuns no País Basco, a várias espécies de pescado, a fim de estudar seu efeito sobre o conteúdo total e inorgânico do arsênio, DEVESA et al. (2001a) concluíram que o efeito da cocção sobre a concentração do arsênio, total e inorgânico, depende do tipo de pescado considerado (nesse caso foram analisados 10 tipos de pescado, sendo eles: bivalves, crustáceos e 8 espécies de peixes). Para a maioria das amostras não houve variação significativa nas concentrações do arsênio, total e inorgânico, após a cocção, com exceção de “salted cod” e bivalves que apresentaram aumento no arsênio total, e bivalves e lula, que tiveram seu conteúdo de arsênio inorgânico aumentado.

Utilizando um planejamento similar para avaliar as espécies orgânicas do arsênio, DEVESA et al. (2005) apresentaram que a arsenobetaína era a espécie majoritária também em pescado tratado por cocção, seguido por DMA e TMA+. Arsenocolina (AC) e MMA também foram encontrados em concentrações menores. Também foi constatado a formação de TMA+ em “meagrim”, “atlantic horse mackerel” e sardinha, em níveis de 0,008 a 0,262 µg/g (base úmida). Para amostras de anchova, foram relatadas concentrações de 0,010 a 0,039 µg/g no peixe cru e de 0,020 a 0,571 µg/g após tratamento térmico de “grilling” e “roasting”. Relataram ainda o aumento na concentração de AB, DMA, TMA+ e MMA na maioria dos peixes ensaiados, após a cocção. Em outro estudo, concluiu-se que vários fatores afetam a

quantidade de TMA+ formado durante a cocção: o tipo de peixe, o tempo empregado, o tipo de tratamento de cocção e a concentração original de AB (DEVESA et al., 2001b).

HANAOKA et al. (2001) constataram conversão da arsenobetaína ao TMA^+, de 56% e 41%, quando o cação (*M. manzano*) foi excessivamente grelhado (“roasting”) (com perda de 68 % de massa) ou em panela (com perda de 74% de massa), respectivamente. No mesmo estudo, foi relatada a formação de 0,6% de TMA^+ em músculo de *P. longipes femoristriga* assado normalmente em grelha (15% de perda de massa).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

- ✓ Aproveitamento de pescado excessivamente contaminado pelo mercúrio e arsênio como alimento.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Reavaliação do tratamento com cisteína para remoção de mercúrio em cação, com vista ao seu emprego também na descontaminação de arsênio;

- ✓ Ocorrência de arsênio (total e inorgânico) em cação-azul;

- ✓ Avaliação do tratamento com borohidreto de sódio, em cação-azul, considerando o efeito sobre o arsênio (total e inorgânico); e,

- ✓ Efeito do preparo para o consumo sobre o arsênio (total e inorgânico) em cação-azul.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. Reagentes

Foi utilizada para a remoção do Hg e do As, a L-cisteína (Ajinomoto) e o borohidreto de sódio (Vetec). Para a medida da exatidão e recuperação dos métodos de quantificação dos contaminantes, foi usado o padrão de referência para mercúrio, arsênio, selênio e outros minerais-traço, DORM-2, "Dogfish muscle" (NRCC – National Research Council Canada). Os demais reagentes usados foram de grau analítico ou conforme o especificado em cada metodologia.

4.1.2. Amostras de Cação

As espécies de cação (sem espécie definida) e de pescada branca usadas para o tratamento com cisteína foram adquiridas comercialmente nos municípios de São Paulo ou Santos, SP. Para os demais experimentos foram usadas amostras de cação-azul (*Prionace glauca*) adquiridas no mercado municipal de São Paulo. Todas as amostras foram inicialmente trituradas em moedor de carne (crivo de 10 mm) e homogeneizadas, ainda congeladas.

4.2. MÉTODOS

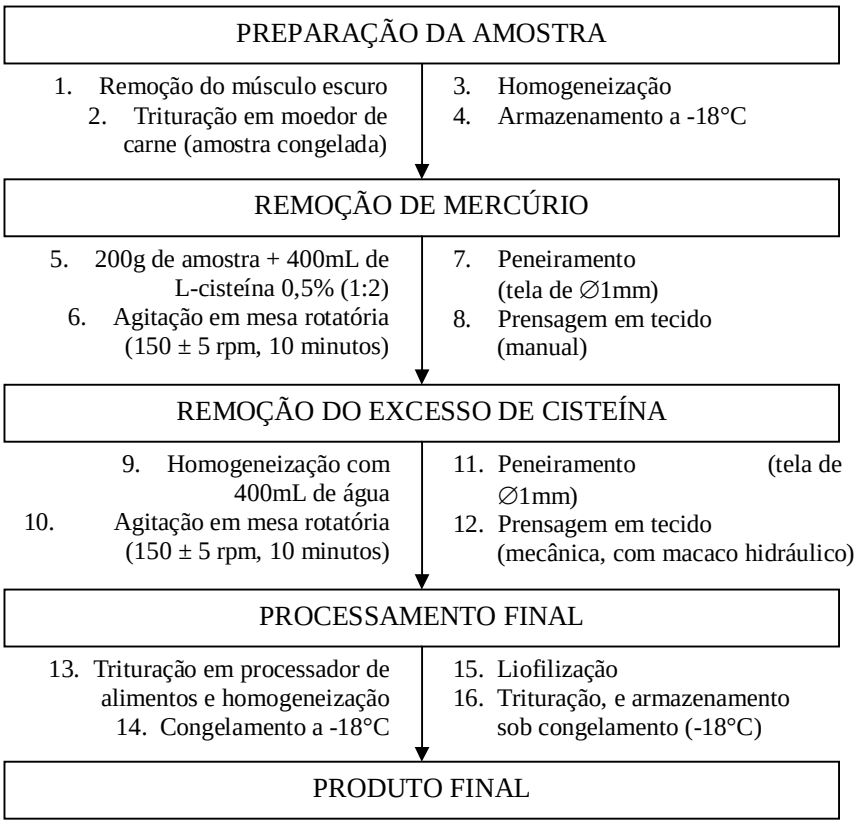
4.2.1. Remoção de Mercúrio com Cisteína

Amostras com diferentes concentrações do contaminante

Foi utilizada uma amostra de cação, com posta medindo aproximadamente 30 cm de diâmetro, pressupostamente indicando alta concentração de mercúrio acumulado, misturada com amostra de um peixe de pequeno porte e não-predador (pescada branca), possivelmente com baixa concentração do contaminante nas proporções de 1:0, 1:1 e 1:4 (cação:pescada). O ideal seria que fossem usados cações da mesma espécie, com tamanhos diferentes, e que proporcionassem diferentes quantidades de Hg. Mas isso se tornou inviável, pois as amostras foram adquiridas no comércio local, sem a possibilidade de identificação de espécie e de quantificação individual até que se tivesse um gradiente de concentrações de Hg.

Foi utilizado o procedimento conforme exposto na Figura 2.

Figura 2 – Remoção de mercúrio do cação com cisteína



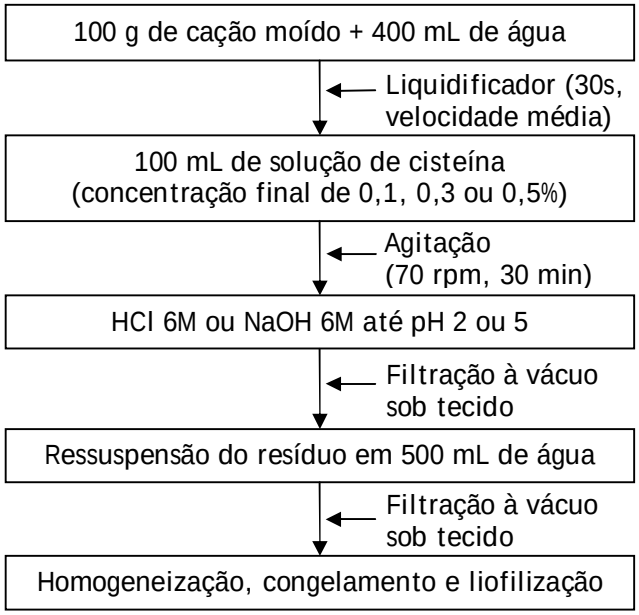
Efeito da concentração de cisteína em diferentes pHs

Nessa etapa do trabalho, foram incluídas modificações no tratamento indicado na Figura 2, visando o aumento na eficiência da remoção de Hg, conforme a Figura 3. As modificações que geraram o fluxograma apresentado na Figura 3 foram as seguintes:

- ✓ Diminuição na granulação da amostra que, segundo a Figura 2, havia sido triturada com crivo de 10 mm. Foi usado o liquidificador para desintegrar a amostra, adicionalmente à trituração em moedor de carne. Isso permitiria que a cisteína pudesse ter maior chance de interação com o mercúrio ligado à proteína;
- ✓ A proporção entre as massas de peixe e os volumes de cisteína, foi aumentada de 1:2 para 1:5 (massa:volume), a fim de melhorar a homogeneidade e possibilidade de contato maior entre o reagente e a amostra;

- ✓ Filtração à vácuo sobre tecido no lugar de prensagem, sem peneiramento prévio, ao final do tempo de contato entre a solução de cisteína e o peixe, para que proporcionasse menor perda de sólidos.

Figura 3 - Remoção modificada do mercúrio de cação com cisteína



Em duas diferentes amostras de cação, foi utilizado o procedimento indicado na Figura 3. No momento da ressuspensão com água (para retirada do excesso de cisteína), nas amostras tratadas em pH 2, foi adicionado bicarbonato de sódio (300 mg por amostra), conforme proposto por SCHAB, SACHS & YANNAI (1978). Isto favoreceu muito a filtração posterior, diminuiu o grau de hidratação do produto final, elevou o pH para próximo de 6 e aumentou o rendimento.

Reutilização da solução de cisteína

O ensaio consistiu em utilizar uma mesma solução de cisteína, a 0,5%, para tratar cinco amostras de cação, ou seja, a solução foi reutilizada por quatro vezes. Um mesmo espécime de cação foi empregado para isso. Entre um tratamento e o seguinte, ajustou-se foi ajustada a concentração da cisteína para que permanecesse em 0,5%. O procedimento foi

aplicado em quatro replicatas e de acordo com o protocolo descrito na Figura 3. A mistura entre a cisteína e a amostra proporcionou um pH próximo de 5. Foi usada centrifugação no lugar da filtração à vácuo sobre tecido, por apresentar os mesmos resultados e ser um processo mais prático e rápido, com menor perda de sólidos.

4.2.2. Remoção de Mercúrio com Borohidreto de Sódio

Foi utilizado o método desenvolvido por TENUTA-FILHO (2006) para remoção de mercúrio de cação, utilizando borohidreto de sódio, baseado na proposta de COHEN & SCHRIER (1975), originalmente aplicada em relação a um concentrado protéico de pescado (CPP). Nele, o cação (50g) triturado e peneirado (∅ 1 mm^2), isento de tecido conectivo, foi processado por 20 minutos efetivos em liquidificador (Walita, modelo 1774, velocidade média) com 3% de borohidreto de sódio (peso:peso), em água na proporção de 1:10 (peso:volume). Esse processamento foi realizado pela aplicação de 20 ciclos de 1 minuto de agitação cada (liquidificador) seguido de 2 minutos de repouso, para evitar o aquecimento excessivo da amostra. Em seguida houve a eliminação do $NaBH_4$ residual e a precipitação da proteína, com adição de ácido clorídrico 6M até pH de aproximadamente 4,7 sob leve agitação, precedida de adição 80 ppm de antiespumante simeticona (30%) (Dow Corning Medical Antifoam C Emulsion). Ao final, o boro residual foi eliminado com 2 lavagens consecutivas com água e uma terceira com solução de bicarbonato de sódio (pH 6,8 a 7,0), intercaladas por centrifugações (12000 x g). O produto foi então centrifugado, congelado e analisado após liofilização.

4.2.3. Remoção de Arsênio por Procedimentos de Cocção

Para a redução do conteúdo de arsênio em cação foi utilizado um “pool” de amostras. Dez amostras com massas iguais, cortadas em cubos de aproximadamente 1 cm^3, foram misturadas para obter uma composição homogênea.

Foram empregados três tipos de tratamentos. Cada um deles foi aplicado em 500 g do “pool” de amostras:

a) Tratamento controle (A): a amostra (“pool”) foi marinada por 30 minutos em 70 mL de solução aquosa contendo 2,5 g de cloreto de sódio, correspondente a 0,5% de sal de cozinha sugerido em preparações culinárias;

b) Tratamento com limão (B): a amostra (“pool”) foi marinada por 30 minutos em 70 mL de suco de limão (aproximadamente dois limões, o que corresponde a aproximadamente 50 ppm de ácido ascórbico) contendo 2,5 g de cloreto de sódio. O limão tem sido normalmente utilizado em preparações culinárias envolvendo pescado;

c) Tratamento com limão enriquecido (C): a amostra (“pool”) foi marinada por 30 minutos em 70 mL de suco de limão contendo 250 mg de ácido ascórbico (perfazendo o total de 550 ppm de ácido ascórbico) e 2,5 g de cloreto de sódio.

Cada tratamento foi aplicado em duas amostras, das quais uma foi cozida em 200 mL de água fervente, por 10 minutos, e outra foi grelhada em frigideira antiaderente, sem adição de óleo, por 5 minutos. Após cocção, a água de cozimento foi drenada, e as amostras cozidas e grelhadas foram trituradas em processador de alimentos.

4.2.4. Quantificação do Mercúrio

O Hg total foi determinado usando a técnica de espectrofotometria de absorção atômica com geração de vapor frio no equipamento FIMS100 (sistema para mercúrio por injeção de fluxo), Perkin Elmer, em laboratório do Centro Nacional de Energia Nuclear do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN). A matéria orgânica de 200 a 500mg do músculo de peixe liofilizado foi digerida com uma mistura de 4 mL de HNO_3 e 2 mL de H_2SO_4 concentrados, em frascos de teflon, num bloco de alumínio a 90°C, por 3 horas. Após resfriamento em temperatura ambiente, o volume final foi ajustado para 50 mL com água Milli-Q. O procedimento analítico usado (digestão) foi o de HORVAT (1996), modificado por FARIAS et al. (2005). A vidraria usada foi antes deixada por 24h em contato com o detergente Extran, lavada, enxaguada com água destilada e deionizada, imersa em solução (30 %) de ácido nítrico, por 24 horas, enxaguada em água destilada e deionizada, e seca em estufa.

4.2.5. Quantificação do Selênio e do Arsênio Total

A determinação de selênio e arsênio totais seguiu a metodologia proposta por KRYNITSKY (1987). As amostras foram mineralizadas, por via úmida, com ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio (5:3), e diluídas em ácido clorídrico 6M. Uma curva de calibração para cada um dos minerais foi construída para a realização dos cálculos. O Se total foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica por injeção de fluxo com geração de hidretos (FI-HG-AAS). O As total foi quantificado por espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (GF-AAS), em laboratório do Centro de Química e Meio Ambiente do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CQMA) (assim como o arsênio inorgânico).

4.2.6. Quantificação do Arsênio Inorgânico

Conforme MUÑOZ, VÉLEZ & MONTORO (1999), foi realizada uma extração de arsênio inorgânico anterior à mineralização. A extração foi iniciada com a hidrólise da amostra com ácido clorídrico 9,8M, por 12 horas. Em seguida foi adicionado sulfato de hidrazina a 1,5% e ácido bromídrico concentrado, para posteriores extrações com clorofórmio. Dessa fase orgânica é extraído o As inorgânico, por extrações com HCl 1M. A fase aquosa é então mineralizada e determinada como descrito no método para determinação de Se e As total (item 4.2.5) e determinada por espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (GF-AAS), em laboratório do Centro de Química e Meio Ambiente do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CQMA).

4.2.7. Teor de Umidade

O teor de umidade foi determinado gravimetricamente, por secagem em estufa a 105°C, segundo BRASIL (2005).

4.2.8. Análises Estatísticas

Os dados experimentais foram analisados estatisticamente utilizando o Programa Microsoft Office Excel 2003 e o programa Statistica 7.1 (Stat Soft, Inc.), por análise de variância (ANOVA) com 95% de confiança ($\alpha = 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. REMOÇÃO DO MERCÚRIO DE CAÇÃO COM CISTEÍNA

5.1.1. Eficiência do Tratamento sobre Diferentes Concentrações de Mercúrio

Foram realizados três tratamentos para cada mistura de cação + pescada e as análises realizadas nas amostras tratadas em relação às não-tratadas, conforme o procedimento apresentado na Figura 2. Independente da concentração de Hg (0,53 a 2,7 μg/g, base úmida), a eficiência obtida na remoção do metal foi de 25 a 28 %, aproximadamente. O resultado foi considerado não ideal para atender à descontaminação desejada (Tabela 4).

Foi verificada a existência de correlação entre a concentração do Hg inicialmente contido na amostra e a sua remoção pelo tratamento com a cisteína. Com esse fim, a eficiência da remoção foi expressa como aparente (em base seca), ou seja, a fração do total removida – (Hg total inicial – Hg total após o tratamento) / Hg total inicial x 100. Essa correlação foi estudada a partir da construção de um gráfico com aproximação linear (Figura 4) e verificação da qualidade estatística desse modelo matemático. Para viabilizar a realização desses cálculos, as proporções entre cação e pescada apresentadas, 1:4, 1:1 e 1:0 (4.2.1.3.), foram transformadas em % de cação na amostra, ou seja, 20, 50 e 100%, respectivamente.

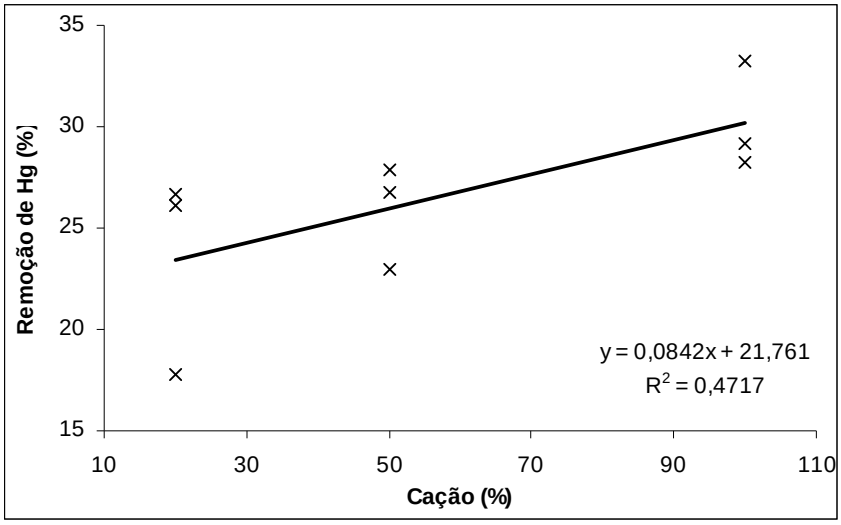
Os coeficientes dessa regressão foram significativos ($p<0,05$), porém o coeficiente de determinação (r^2) representa que apenas 47,2% dos resultados de remoção de Hg do cação se expliquem pelas quantidades desse contaminante no pescado. Através da análise de variância, não foi verificada a existência de diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) entre os valores encontrados para a remoção nas diferentes concentrações iniciais de Hg (Tabela 4).

Tabela 4 – Remoção de mercúrio com cisteína (0,5%) em diferentes concentrações do metal.

Amostra		*Umidade (g/100g)*	*Rendimento (g/100g, BS)*	*Hg total (µg/g, BU)*	*Hg total (µg/g, BS)*	*Remoção de Hg (%, BS)*
1:4	**MP**	79,05 ± 0,30 [b] (0,38)	-	0,53 ± 0,01 [a] (1,95)	2,51 ± 0,05 [a] (1,95)	-
	A	61,20 ± 0,99 [a] (1,62)	73,26 ± 0,12 [a] (0,16)	0,71 ± 0,00 [a] (2,13)	1,82 ± 0,04 [a] (2,13)	27,66 ± 1,54 [a] (5,57)
1:1	**MP**	77,72 ± 0,21 [b] (0,28)	-	1,20 ± 0,08 [ab] (6,45)	5,38 ± 0,35 [c] (6,45)	-
	A	62,24 ± 0,55 [a] (0,89)	63,80 ± 0,79 [a] (1,24)	1,48 ± 0,03 [ab] (1,19)	3,92 ± 0,05 [b] (1,19)	27,17 ± 0,87 [a] (3,20)
1:0	**MP**	76,82 ± 0,65 [b] (0,85)	-	2,47 ± 0,05 [b] (2,13)	10,64 ± 0,23 [e] (2,13)	-
	A	70,32 ± 7,99 [ab] (11,37)	60,48 ± 3,05 [a] (5,04)	2,43 ± 0,91 [b] (10,47)	8,02 ± 0,84 [d] (10,47)	24,65 ± 7,89 [a] (32,00)

BS = base seca; BU = base úmida; MP = matéria-prima; A = amostra tratada com cisteína; Média (n=3) ± Desvio-padrão (Coeficiente de variação, %); Letras sobrescritas diferentes nas colunas indicam diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$).

Figura 4 – Remoção aparente de mercúrio x mercúrio total inicial no cação.



O Hg encontra-se predominantemente ligado aos grupos sulfidrila da fração miofibrilar da proteína do pescado, que não é solúvel (TEENY, HALL & GAUGLITZ, 1974). Se a fração protéica sarcoplasmática (solúvel, 15-25% da proteína muscular total), não foi recuperada no processo, poderá resultar em redução no rendimento e, conseqüentemente, aumento na concentração de Hg no produto final em relação à matéria total, podendo mascarar ou diminuir o efeito do tratamento utilizado para a descontaminação. O mesmo é válido para a proteína miofibrilar, caso se solubilize nas condições usadas na remoção do Hg. No entanto, o pH final observado no experimento realizado era cerca de 4,8, não favorável à solubilização protéica.

Nesta proposta para o tratamento com cisteína, foi usada solução com concentração de 0,5%, a mesma empregada por OKAZAKI et al. (1984), OHTA et al. (1982) e SUZUKI (1974). OHTA et al. (1982) alcançou de 25,0 a 72,0% de remoção de Hg em diferentes pH's, a partir de "conger eel" (*Conger myriaster*), "skipjack" (*Katsuwonus pelamis*) e "crouper" (*Malakichthys griseus*), SUZUKI (1974), usando também amostras trituradas e previamente congeladas, até 90% em "yellowfin tuna", e até 70%, em "swordfish", enquanto OKAZAKI et al. (1984), utilizando pasta de cação-azul termocoagulada, conseguiu até 70%.

Foi proposto o uso de amostra triturada por considerar-se que nessa forma seria mais propícia à remoção do mercúrio ligado à sua proteína. MORALES-AIZPURÚA et al. (1997) conseguiu 40-45% de remoção em amostras de cação azul triturado enquanto, para a amostra em pedaços de aproximadamente 3 cm^3, não verificou redução alguma. TEENY, HALL & GAUGLITZ (1974) trabalharam com amostras de "sablefish" (*Anoplopoma fimbria*) triturado ("comminuted"), em pedaços ("slices") e em postas ("chunks"). Com amostra triturada, verificaram redução de 55% do Hg no período de 2 minutos, mas em amostras em pedaços ou postas, foram necessárias 4 horas ou 3 dias, respectivamente, até remoção de 50%. No mesmo trabalho, os autores mantiveram fixa a massa de cisteína (0,2g para 100g de "sablefish" triturado) e variaram o volume no qual a cisteína era dissolvida, de 50 a 500mL (1:0,5 a 1:5, massa de peixe : volume de solução de cisteína). Os resultados mostraram que a cisteína era mais efetiva em solução mais concentrada, ou seja, 0,2g de cisteína em 50mL para 100 g de peixe.

Visando melhor dispersão do pescado, para se ter uma agitação eficiente, foi usada, no presente trabalho, proporção de 1:2, como a maioria dos autores (MORALES-AIZPURÚA et al., 1997; LIPRE, 1980; OKAZAKI et al., 1984; SPINELLI et al., 1973; TEENY, HALL & GAUGLITZ, 1974).

SPINELLI et al. (1973) não verificaram aumento na remoção do mercúrio de “Pacific halibut” (*Hipoglossus stenolepis*) triturado, quando o tempo variou de 5 a 120 minutos, tal como TEENY, HALL & GAUGLITZ (1974), quando submeteu “sablefish” triturado à extração por 2 a 60 minutos. Estes resultados sugerem um rápido deslocamento do mercúrio do músculo para a solução de cisteína. SCHAB, SACHS & YANNAI (1978), ao submeterem postas de atum (“yellow tuna”) pré-cozidas à extração com cisteína, variando o tempo de 30 a 150 minutos, obtiveram remoção gradativa de 21 a 56% em até 90 minutos, sendo que após este tempo não houve maior remoção. Alguns autores aplicaram 30 minutos de extração, como o usado no presente trabalho (MORALES-AIZPURÚA et al., 1997; FERNÁNDEZ-SOLÍS et al., 1976), e outros, 15 minutos (OHTA et al., 1982; OKAZAKI et al., 1984; SUZUKI, 1974), para remoção de mercúrio com cisteína de peixe triturado.

Quando é longo o tempo de extração, por exemplo, no caso de remoção de mercúrio de postas ou filés de pescado, dá-se preferência ao uso de temperatura de refrigeração, ou seja, entre 2 e 5°C (MORALES-AIZPURÚA et al., 1997; LIPRE, 1980). Em poucos casos foi usada baixa temperatura para extração rápida (OHTA et al., 1982). Vários autores realizaram o tratamento em temperatura ambiente, de 20 a 25°C, e em todos esses casos, o tempo total de extração não passou de 1 hora (MORALES-AIZPURÚA et al., 1997; FERNÁNDEZ-SOLÍS et al., 1976; OKAZAKI et al., 1984; SCHAB, SACHS & YANNAI, 1978; SUZUKI, 1974). TEENY, HALL & GAUGLITZ (1974) ensaiaram a remoção do mercúrio de “sablefish” triturado, em várias concentrações de cisteína, a 2 e a 20°C. O estudo mostrou que a 20°C foi alcançada maior redução dos níveis de Hg e maior perda de massa total devido à alta diminuição no conteúdo de lípides (a amostra apresentava 57% de lípides em peso seco). SPINELLI et al. (1973) não verificaram diferença na extração do mercúrio quando os tratamentos foram realizados à temperatura ambiente ou a 3°C.

Na literatura consultada, os tratamentos para remoção de Hg de pescado, foram aplicados em amostras com concentrações relativamente baixas (de 0,23 a 1,67 μgHg/g, base úmida) e não existiam estudos explorando a interferência dessa variação do Hg na amostra em relação à eficiência da remoção.

Os resultados de eficiência na remoção do Hg apresentados na Tabela 4, (24,65 a 27,66%), não são suficientes com vista à descontaminação, conforme apontado, e sugerem melhoria. A variação nas concentrações de Hg nas amostras (0,53 a 2,47 μgHg/g, base úmida), não interferiram na eficiência da cisteína a 0,5% em pH 4,8, para a remoção deste contaminante.

5.1.2. Efeito da Concentração de Cisteína em Diferentes pHs

Foi avaliado o efeito da concentração de cisteína na remoção do mercúrio de cação, em pH 2 (fortemente ácido) e 5 (menos ácido e próximo ao ponto isoelétrico da proteína). Os resultados encontram-se na Tabela 5.

A concentração do Hg nas amostras tratadas com 0,5 % de cisteína em pH 5 e com 0,3 % de cisteína em pH 2, foram significativamente menores que o controle e as outras amostras. A remoção de Hg para essas amostras foi de 59,4 e 42,0%, respectivamente. O teor de Hg na matéria-prima, de 4,90 μg/g, em base seca, corresponde a 0,92 μg/g, em base úmida, valor muito próximo ao limite brasileiro de 1 μg/g, para peixes predadores (BRASIL, 1998). Após o tratamento com a cisteína, as quantidades de mercúrio residual foram de 2,31 a 4,24 μg/g, em base seca, correspondendo a 0,19 a 0,40 μg/g, respectivamente, de mercúrio total, em base úmida.

Tabela 5 – Efeito da concentração de cisteína na remoção de mercúrio de cação, em pH 2 e 5.

Cisteína (%) e pH		*Umidade (g/100g)*	*Rendimento * (g/100g)*	*Hg total * (μg/g)*	*Remoção Hg * (%)*
0,1%	**pH 2**	87,50 ± 7,88 [a] (9,00)	51,14 ± 3,91 [a] (7,65)	3,03 ± 0,64 [a,b] (21,30)	37,33 ± 18,98 [a] (50,86)
	pH 5	90,20 ± 0,63 [a] (0,70)	48,12 ± 6,36 [a] (13,21)	3,44 ± 0,48 [a,b] (14,05)	29,09 ± 16,44 [a] (56,52)
0,3%	**pH 2**	93,61 ± 2,07 [a] (2,22)	57,83 ± 9,17 [a] (15,86)	2,86 ± 0,75 [a] (26,08)	42,00 ± 9,85 [a] (23,46)
	pH 5	90,67 ± 3,93 [a] (4,34)	51,54 ± 6,45 [a] (12,51)	3,05 ± 0,15 [a,b] (4,99)	37,38 ± 8,92 [a] (23,87)
0,5%	**pH 2**	90,51 ± 0,74 [a] (0,82)	42,74 ± 0,17 [a] (0,40)	3,03 ± 0,26 [a,b] (8,49)	37,61 ± 11,05 [a] (29,37)
	pH 5	90,73 ± 0,57 [a] (0,62)	44,32 ± 3,37 [a] (7,60)	2,00 ± 0,33 [a] (16,52)	59,37 ± 2,96 [a] (4,99)
MP		80,98 ± 5,77 [a] (7,13)	-	4,90 ± 0,46 [b] (9,29)	-

Média (n = 2) ± Desvio-padrão (Ccoeficiente de variação, %); MP = matéria-prima (cação); * Base seca; Letras sobrescritas iguais, nas colunas, indicam diferenças estatisticamente não-significativas (p>0,05).

Nesse ensaio (Tabela 5), não foi observado efeito significante do pH sobre a eficiência da cisteína na remoção do Hg contaminante. São controversos os resultados apresentados na literatura, mostrando que o efeito do pH sobre a remoção de Hg com cisteína sofre interferências ainda não identificadas. Os planejamentos desses estudos são variados, tornando-se difícil a comparação. SPINELLI et al. (1973) relataram remoção de mercúrio de 15-20% em pHs 4,5 a 5,5, utilizando solução de cisteína a 0,2%. Houve aumento, para 50% de remoção, quando o pH foi elevado até 7. SUZUKI (1974) realizou o tratamento com solução de cisteína a 0,5%, em pHs 2 a 8, e, ao contrário do observado por TEENY, HALL & GAUGLITZ (1974) e por SPINELLI et al. (1973), que encontraram maiores remoções de Hg em pH 7, relatou resultado por volta de 80% em pHs entre 5 e 6, 60% em pHs 3 e 7, 40% em pH 8 e 20% em pH 2. OKAZAKI et al. (1984) não observaram variação na remoção de mercúrio usando o pH de 3 a 7, sendo maior o resultado em pHs 1 e 2, pelos motivos já apresentados. Foi relatado que os tratamentos realizados em meio fortemente ácido ($pH \leq 3$) têm maior eficiência na remoção do Hg, devido à hidrólise (parcial) da proteína (SCHAB, SACHS & YANNAI, 1978; TEENY, HALL & GAUGLITZ, 1974; SPINELLI et al., 1973; YANNAI e SALTZMAN, 1973). A recuperação dos sólidos em tratamentos nesses pHs fica prejudicada, pois ocorre solubilização (por hidrólise) da proteína, tornando impraticáveis os processos de separação, como a filtração, o que leva ao baixo rendimento (TEENY, HALL & GAUGLITZ, 1974). Em conseqüência da perda de massa, pode haver aumento da concentração do mineral contaminante no produto, diminuindo a porcentagem de sua remoção.

O tratamento mais eficiente, selecionado a partir dos resultados da Tabela 5, foi o que utiliza solução de cisteína a 0,5% em pH 5. Esse resultado concorda com a maioria dos estudos apresentados na literatura, nos quais foram feitas comparações entre a eficiência da cisteína em concentrações que variavam de 0,1 a 0,5%, sendo que, com as concentrações mais altas, havia melhor remoção de Hg (MORALES-AIZPURÚA et al., 1997; OKAZAKI et al., 1984; LIPRE, 1980; OHTA et al., 1982; SCHAB, SACHS & YANNAI, 1978; SUZUKI, 1974; TEENY, HALL & GAUGLITZ, 1974; SPINELLI et al., 1973).

Apesar de que os resultados encontrados neste trabalho, para as amostras tratadas com cisteína a 0,3%, em pH 2, também tenham sido positivos em relação à descontaminação, esse tratamento foi considerado menos atrativo devido a dificuldade prática encontrada em pH baixo, qual seja, a necessidade da adição de bicarbonato de sódio para causar agregamento

das partículas e possibilitando uma centrifugação efetiva, o que representa uma operação adicional que pode ocasionar outras variações que não foram controladas.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os resultados de umidade para as amostras tratadas e a controle (matéria-prima), indicando pouca interferência do procedimento de descontaminação. O rendimento também foi estatisticamente igual, mostrando que as diferentes concentrações de cisteína e níveis de acidez do meio, não provocaram grandes alterações na solubilidade protéica e perda de sólidos entre os vários tratamentos aplicados. Contudo, o rendimento médio foi de 49,3%, ou seja, mais de metade da amostra bruta seca foi perdida no processo, podendo-se considerar entre as perdas, compostos solúveis, inclusive proteína, matéria particulada leve que não sedimentou na centrifugação, lípides e minerais.

5.1.3. Reutilização da Solução de Cisteína

Foi avaliada a possibilidade de reutilização da solução de cisteína (Tabela 6) para a remoção do mercúrio de cação. Sendo a cisteína em solução (0,5%) muito mais concentrada em relação àquela presente na proteína muscular e suficiente para teoricamente complexar o mercúrio ligado a esta proteína, existe a possibilidade de reutilização da referida solução.

Segundo os resultados obtidos (Tabela 6), foi possível a reutilização da mesma solução de cisteína a 0,5%, para a remoção do Hg de 5 amostras. A eficiência na remoção do Hg foi similar à obtida na Tabela 4, mas não reproduziu o resultado apresentado na Tabela 5, para as mesmas condições. Verificou-se que o rendimento das amostras tratadas com cisteína reutilizada foi significativamente maior e que ocorreu diminuição no teor de umidade do produto a cada reutilização da solução. Isso sugere que a proteína e outros compostos dissolvidos na solução de cisteína já utilizada interferem na solubilidade e capacidade de hidratação da próxima amostra.

Tabela 6 – Potencial de reutilização da solução de cisteína, em relação à remoção de mercúrio.

Solução de Cisteína a 0,5%	*Umidade * (g/100g)*	*Rendimento * (g/100g)*	*Hg total * (µg/g)*	*Remoção de Hg * (%)*
***Não-reutilizada**	96,14 ± 0,38 [a] (0,004)	46,40 ± 1,82[a] (3,93)	3,36 ± 0,71 [a] (21,2)	24,2 ± 16,1 [a] (66,3)
1ª reutilização	88,87 ± 1,07 [b] (0,012)	53,79 ± 1,84[b] (3,42)	3,60 ± 0,57 [a] (15,9)	18,8 ± 12,9 [a] (68,7)
2ª reutilização	87,43 ± 0,30 [c] (0,003)	53,30 ± 1,60[b] (3,00)	3,53 ± 0,67 [a] (18,9)	20,4 ± 15,1 [a] (74,0)
3ª reutilização	86,50 ± 0,32 [c,d] (0,004)	52,88 ± 1,62[b] (3,07)	3,18 ± 0,64 [a] (20,2)	28,2 ± 14,5 [a] (51,3)
4ª reutilização	85,57 ± 0,35 [d] (0,004)	52,96 ± 0,89[b] (1,68)	3,11 ± 0,56 [a] (17,9)	29,9 ± 12,5 [a] (41,9)
Matéria-prima	84,89 ± 0,64 (0,75)	-	4,44 ± 0,23 (5,2)	-

* Média (n = 4) ± Desvio-padrão (Coeficiente de variação, %), calculados em base seca; Letras sobrescritas diferentes, nas colunas, indicam diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$).

SCHAB, SACHS & YANNAI (1978) chegaram a remover Hg com a mesma eficiência de 11 amostras com a mesma solução de cisteína a 0,5%. Estes autores propuzeram, inclusive, uma metodologia para remover o Hg da solução de cisteína usada nas extrações e conservação dela por vários dias, em pH baixo (0,5).

A possível reutilização da solução de cisteína conforme observado na Tabela 6 é interessante, considerando o aspecto econômico de um eventual sistema de remoção de Hg de pescado em escala industrial, assim como favorece a questão da disposição ambiental desse efluente, que obviamente deverá receber o tratamento adequado.

Os resultados mencionados nas Tabelas 4, 5 e 6, indicam que a remoção do Hg com cisteína foi baixa e inconsistente, podendo inclusive variar na dependência das condições experimentais, sendo, portanto, insuficientes para atender à descontaminação desejável referente ao cação. A possibilidade de estudo e aplicação na descontaminação de As foi então descartada, já que o objetivo era a remoção concomitante de As e Hg. Isso implica na continuidade e na procura de métodos que satisfaçam essa proposta de pesquisa.

5.2. CONTEÚDO DE ARSÊNIO EM CAÇÃO AZUL

Foi quantificado o As total presente em dez amostras de cação-azul e os resultados apresentados na Tabela 7.

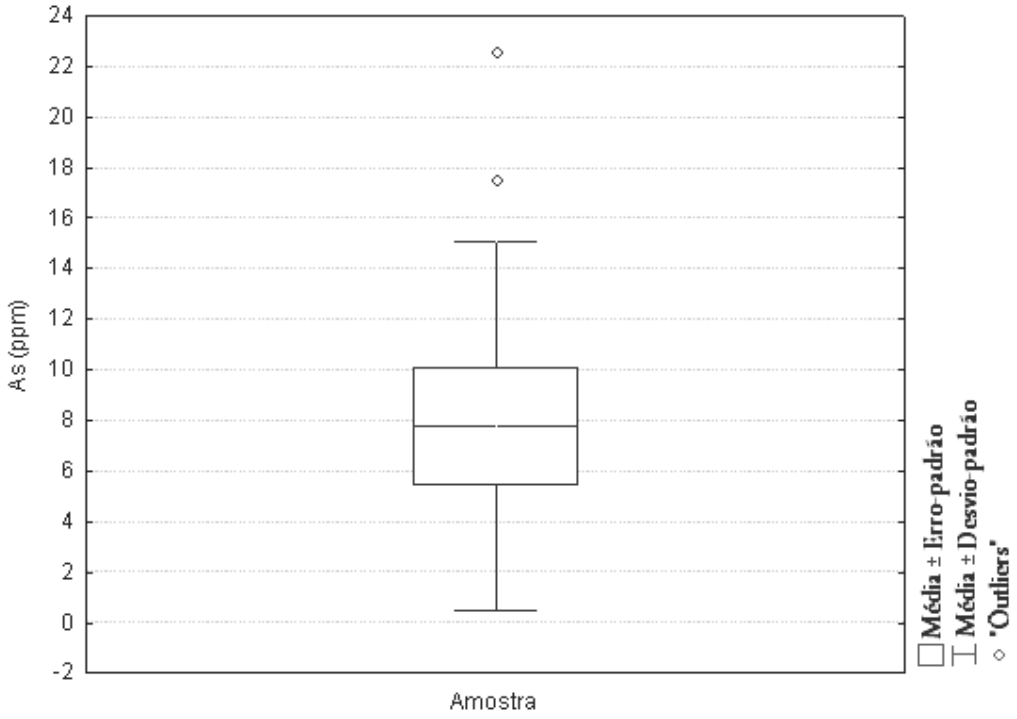
Tabela 7 – Conteúdo de arsênio total em cação-azul.

Amostra	*Base Seca (µg/g)*	*Base Úmida (µg/g)*
Cação 1	92,42 ± 1,73 (1,88) [c]	17,35 ± 0,33 (1,88) [c]
Cação 2	16,60 ± 0,56 (3,39) [a]	2,97 ± 0,10 (3,39) [a]
Cação 3	17,39 ± 1,19 (6,86) [a]	1,98 ± 0,14 (6,86) [a]
Cação 4	17,64 ± 0,59 (3,34) [a]	3,05 ± 0,10 (3,34) [a]
Cação 5	17,30 ± 1,15 (6,62) [a]	2,98 ± 0,20 (6,62) [a]
Cação 6	67,09 ± 7,35 (10,96) [b]	10,65 ± 1,17 (10,96) [b]
Cação 7	13,97 ± 1,57 (11,27) [a]	2,64 ± 0,30 (11,27) [a]
Cação 8	17,66 ± 1,63 (9,24) [a]	3,09 ± 0,29 (9,24) [a]
Cação 9	121,89 ± 11,49 (9,43) [d]	22,56 ± 2,13 (9,43) [d]
Cação 10	54,41 ± 2,19 (4,03) [b]	10,32 ± 0,42 (4,03) [b]

* Média (n = 3) ± Desvio-padrão (Coeficiente de variação, %), em base úmida.

Os valores em base úmida, de 1,98 a 22,56 µg/g de As (Tabela 7, Figura 5), proporcionaram teor médio de 7,76 µg/g e a mediana de 3,08 µg/g. Estes resultados são de 2 a mais de 20 vezes acima do limite legal brasileiro de 1 µg/g (BRASIL, 1998), ao mesmo tempo que concordam com o que relata a literatura com referência a cação (DENOBILE, 2007; McMEANS et al., 2007; ALMEIDA, 2005; STORELLI, BUSCO & MARCOTRIGIANO, 2005; STORELLI & MARCOTRIGIANO, 2004; STORELLI et al., 2003; DE-GIETER et al., 2002; ALLINSON, NISHIKAWA & LAURENSON, 2002; POWELL & POWELL, 2001; TUROCZY et al., 2000; GLOVER, 1979; LEBLANK & JACKSON, 1973).

Figura 5 – Conteúdo de arsênio total em cação-azul – “Box-Plot”



Em duas composições (“pool”) contendo quantidades iguais de 10 espécimes de cação-azul cada, foram quantificados o As inorgânico e o total, e calculada a razão entre ambos. Os resultados encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8 – Conteúdo de arsênio total e inorgânico em cação-azul.

Amostra	*Arsênio Total* (µg/g)*	*Arsênio Inorgânico*(µg/g)*	*As Inorg./As Total* (%)*
“Pool” 1	7,99 ± 0,70 (8,8)	0,0086 ± 0,0002 (2,5)	0,107
“Pool” 2	12,25 ± 0,11 (0,9)	0,0153 ± 0,0004 (2,8)	0,125

* Média (n = 3) ± Desvio-padrão (Coeficiente de variação, %), calculados em base úmida.

As concentrações de arsênio inorgânico e a razão entre elas e os teores de arsênio total, encontrados neste trabalho, são compatíveis com o apresentado na literatura para cação. DENOBILE (2007) e STORELLI, BUSCO & MARCOTRIGIANO (2005) relataram teores de arsênio inorgânico de 0,001 a 0,190 e 0,08 a 0,49 µg/g, correspondentes a 0,02 a 1,9 e 0,9 a

7,7% do arsênio total, respectivamente. DE-GIETER et al. (2002) apresentaram valores entre 0,046 e 0,60 µg/g de arsênio tóxico, que inclui as formas inorgânicas, MMA (ácido monometilarsênico) e DMA (ácido dimetilarsênico), menos que 2% do arsênio total.

5.3. REMOÇÃO DO ARSÊNIO DE CAÇÃO-AZUL COM BOROHIDRETO DE SÓDIO

Foram quantificados o As total e inorgânico e o selênio (Se) na composição de cações ("pool"), tratada ou não, com borohidreto de sódio a 3%. Também foi calculada a taxa de remoção do arsênio. Os resultados encontram-se na Tabela 9.

A descontaminação alcançada pelo procedimento com borohidreto de sódio foi muito satisfatória, chegando a 99%, e reduzindo o arsênio ao nível seguro de 0,48 µg/g, correspondente a 0,034 µg/g em matéria úmida, quase 30 vezes menor que seu limite de tolerância (1 µg/g, BRASIL, 1998).

Tabela 9 – Conteúdos de arsênio, total e inorgânico, e selênio em cação-azul, tratado ou não ("pool") com borohidreto de sódio ($NaBH_4$ 3%), e porcentagem de sua remoção.

Amostra	*As Total* (µg/g)*	*As Inorgânico* (µg/g)*	*Se Total* (µg/g)*
"Pool"	43,68 ± 3,83 (8,8)	0,0471 ± 0,0012 (2,5)	0,512 ± 0,004 (0,8)
$NaBH_4$ 3%	0,48 ± 0,05 (10,0)	0,034 ± 0,002 (5,4)	0,74 ± 0,07 (9,1)
Remoção (%)	98,92 ± 0,23 (0,2)	27,40 ± 0,57 (2,1)	-

* Média (n = 3) ± Desvio-padrão (Coeficiente de variação, %), calculados em base seca.

Quanto ao arsênio inorgânico, o teor quantificado na amostra tratada, de 0,024 µg/g em base úmida, é bem baixo em relação aos relatados na literatura consultada (DENOBILE, 2007; STORELLI, BUSCO & MARCOTRIGIANO, 2005; DE-GIETER et al., 2002). O tratamento promoveu a remoção de arsênio inorgânico em 27% calculado em matéria seca, ou 72% em termos de base úmida, (produto final com 93% de umidade). Com o uso do cação

descontaminado (hidratado) na formulação de um produto alimentício, a transferência de arsênio inorgânico seria favoravelmente muito baixa. A descontaminação completa em relação a essa forma química do arsênio é difícil na prática devido à baixa concentração inicial do contaminante no pescado, nesse caso, de 0,0086 µg/g, em base úmida.

O tratamento com borohidreto de sódio poderia alterar o teor de selênio presente no cação. Ocorreu um aumento nessa concentração de 69 ± 6 µg/g. Como explicado anteriormente, essa elevação se explica pela perda de massa durante o tratamento. A retenção do Se é de grande interesse, uma vez que esse mineral essencial é um agente protetor contra a toxicidade do arsênio e do mercúrio.

No mesmo laboratório em que o presente estudo foi realizado, o mesmo tratamento com borohidreto de sódio possibilitou resultados expressivos na remoção de Hg de cação (TENUTA-FILHO, 2006). Portanto, o referido tratamento é uma poderosa alternativa para a descontaminação de arsênio e mercúrio. O produto tem grande potencial de aplicação na indústria alimentícia, por suas características nutricionais, sensoriais e tecológicas.

5.4. EFEITO DOS MÉTODOS DE COCÇÃO

Os conteúdos de arsênio total e inorgânico dos produtos do tratamento por cocção de uma composição de 10 cações-azul (“pool”) foi analisado. Amostras iguais da composição foram cozidas em água ou grelhadas com a adição somente de sal (A – tratamento controle), com sal e limão, contendo cerca de 50 ppm de ácido ascórbico (RONCADA, WILSON & SUGUIMOTO, 1977) (B – tratamento com limão) ou com sal, limão e ácido ascórbico, somando 550 ppm de ácido ascórbico (C - tratamento com limão enriquecido). Os resultados encontram-se nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10 – Efeito dos métodos de cocção sobre o conteúdo de arsênio total em cação-azul, usando sal (A), sal e limão (B) e sal, limão e ácido ascórbico (C).

Tratamento	*Arsênio Total* (µg/g) (base seca)*	*Arsênio Total* (µg/g) (base úmida)*	*Remoção Aparente* (%) (base seca)*
Não tratado	68,85 ± 0,60 (0,9) [a]	12,25 ± 0,11 (0,9) [a]	-
Grelhado A	30,69 ± 1,40 (4,6) [a]	9,92 ± 0,45 (4,6) [b]	55,42
Grelhado B	29,72 ± 0,09 (0,3) [b]	9,62 ± 0,03 (0,3) [b]	56,84
Grelhado C	27,42 ± 1,67 (6,1) [b,c]	9,24 ± 0,56 (6,1) [b]	60,18
Cozido A	23,47 ± 0,85 (3,6) [c]	5,77 ± 0,21 (3,6) [c]	65,92
Cozido B	21,53 ± 1,73 (8,0) [c,d]	5,90 ± 0,47 (8,0) [c]	68,73
Cozido C	19,81 ± 0,17 (0,9) [d]	5,63 ± 0,05 (0,9) [c]	71,22

* Média (n = 2) ± Desvio-padrão (Coeficiente de variação, %); Letras sobrescritas diferentes, nas colunas, indicam diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$).

O “pool” das 10 amostras de cação apresentou quantidade de arsênio total de 12,25 µg/g, em matéria úmida, valor próximo a alguns encontrados entre os cações analisados (Tabela 7), e bastante acima do limite estabelecido de 1 µg/g (BRASIL, 1998). A descontaminação através dos métodos de cocção foi considerável e significativa, chegando a mais de 70% (Tabela 10). Como os teores de arsênio em cação são muito altos, a descontaminação obtida foi insuficiente, em promover resultados menores que 1 µg/g (limite aceito legamelmente).

Foi observado que as amostras cozidas resultaram em remoção de As total cerca de 12% maior que a observada para as amostras grelhadas. A adição de ácido ascórbico provocou uma diminuição ligeiramente maior (por volta de 5%) na concentração do As total original, ao contrário do ocorrido no caso do grelhado.

O enriquecimento do limão com ácido ascórbico (redutor) não resultou no efeito adicional esperado, sugerindo que a suplementação usada não tenha se justificado.

O limão, como ingrediente culinário, reúne potencial envolvendo a remoção de As em pescado, eventualmente pela presença de ácido cítrico (sequestrante e redutor), além do ácido ascórbico.

A remoção do As inorgânico (Tabela 11), todavia, foi menor que a observada para o As total (Tabela 10).

Tabela 11 – Efeito dos métodos de cocção sobre o conteúdo de arsênio inorgânico em cação-azul, usando sal (A), sal e limão (B) e sal, limão e ácido ascórbico (C).

Tratamento	***As Inorgânico* (µg/g) (base seca)***	***As Inorgânico* (µg/g) (base úmida)***	***Remoção Aparente* (%) (base seca)***
Não-tratado	0,086 ± 0,002 (2,8) [a]	0,0153 ± 0,0004 (2,8) [a]	-
Grelhado A	0,056 ± 0,007 (13,0) [a]	0,0195 ± 0,0001 (0,5) [a,b]	7,25
Grelhado B	0,060 ± 0,006 (10,8) [a,b]	0,018 ± 0,002 (13,0) [b]	10,97
Grelhado C	0,050 ± 0,005 (9,1) [b]	0,019 ± 0,002 (10,8) [a]	42,78
Cozido A	0,080 ± 0,000 (0,5) [b]	0,017 ± 0,002 (9,1) [a,b]	34,19
Cozido B	0,076 ± 0,009 (12,0) [b]	0,022 ± 0,003 (12,0) [a,b]	30,10
Cozido C	0,049 ± 0,007 (13,6) [b]	0,013 ± 0,002 (13,6) [a,b]	42,11

* Média (n = 2) ± Desvio-padrão (Coeficiente de variação, %); Letras sobrescritas diferentes, nas colunas, indicam diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$).

6. CONCLUSÕES

- ✓ A remoção do Hg observada em cação com o uso da cisteína foi insuficiente para atender à descontaminação de pescado excessivamente contaminado.

- ✓ A ocorrência de arsênio total em cação-azul ultrapassou muitas vezes o limite legal de tolerância, o que não ocorreu com sua forma inorgânica.

- ✓ A descontaminação do cação-azul alcançada pelo uso do borohidreto de sódio foi quase total, o que não ocorreu da mesma proporção em relação ao arsênio inorgânico.

- ✓ O preparo do cação-azul para o consumo promoveu eliminação considerável e significativa nos teores de arsênio total, sem, contudo, reduzi-lo abaixo do limite legal de tolerância. Quanto ao arsênio inorgânico, a remoção foi menor.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLINSON, G.; NISHIKAWA, L.; LAURENSON, L. T. B. Metal concentrations in vertebrae of the Dogfish, *Centroscymnus crepidater* (Bocage and Capello) ans *Deania calcea* (Lowe). **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, New York, v.68, p.444-447, 2002.

ALMEIDA, M.C.S. **Avaliação dos teores de arsênio total em cação, por meio de técnicas espectrofotométricas.** Dissertação para obtenção de grau de Mestre. Universidade de São Paulo: São Paulo, 2005.

AMLUND, H.; LUNDEBYE, A.K.; BERNTSSEN, M.H.G. Accumulation and elimination of methylmercury in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) following dietary exposure. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v.83: p.223-230, 2007.

APOSHIAN, H. V., GURZAU, E. S., LE, X. C., GURZAU, A., HEALY, S. M., LU, X. F., MA, M. S., YIP, L., ZAKHARYAN, R. A., MAIORINO, R. M., DART, R. C., TIRCUS, M. G., GONZALEZ-RAMIREZ, D., MORGAN, D. L., AVRAM, D., & APOSHIAN, M. M. Occurrence of monomethylarsonous acid in urine of humans exposed to inorganic arsenic. **Chemical Research in Toxicology**, Washington, v.13, n.8, p. 693-697, 2000.

AXTELL, C.D.; MYERS, G.J.; DAVIDSON, P.W.; CHOI, A.L.; CERNICHIARI, E.; SLOANE-REEVES, J.; SHAMLAYE, C.; COX, C.; CLARKSON, T.W. Semiparametric modeling of age at achieving developmental milestones after prenatal exposure to methylmercury in the Seychelles Child Development Study. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v.106, n.9, p.559-564, 1998.

BARGHIGIANI, G., PELLEGRINI, D., DULIVO, A., & DERANIERI, S. Mercury Assessment and Its Relation to Selenium Levels in Edible Species of the Northern Tyrrhenian Sea. **Marine Pollution Bulletin**, London, v.22, n.8, p.406-409, 1991.

BASU, A., MAHATA, J., GUPTA, S., & GIRI, A. K. Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review. **Mutation Research-Reviews in Mutation Research**, Amsterdam, v. 88, n.2, p.171-194, 2001.

BHATTACHARYA, P., WELCH, A. H., STOLLENWERK, K. G., MCLAUGHLIN, M. J., BUNDSCHUH, J., & PANAULLAH, G. Arsenic in the environment: Biology and

Chemistry. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.379, n.2-3, p.109-120, 2007.

BISINOTI, M.C.; JARDIM, W.F. O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.4, p.593-600, 2004.

BJERREGAARD, P. & ANDERSEN, O. Ecotoxicology of Metals—Sources, Transport, and Effects in the Ecosystem. In: Nordberg, G.F., Fowler, B.A., Nordberg, M.; Friberg L.T. (Eds.) **Handbook on the Toxicology of Metals**. 3rd Ed. Amsterdam: Academic Press, 2007, p.251-280.

BORAK, J.; H. D. HOSGOOD. Seafood Arsenic: Implications for Human Risk Assessment. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Orlando, v.47, n.2, p.204-212, 2007.

BRANCO, V.; VALE, C.; CANÁRIO, J.; SANTOS, M.N. Mercury and selenium in blue shark (Prionace glauca, L. 1758) and swordfish (Xiphias gladius, L. 1758) from two areas of the Atlantic Ocean. **Environmental Pollution**, Amsterdam, v.150, p. 373-380, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. **Portaria n.685, de 27 de agosto de 1998**. Aprova o Regulamento Técnico: "Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos" e seu Anexo: "Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos". Disponível em: http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=90&word=. Acesso em: 09 ago. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** Brasília: MS/ANVISA, 2005.

BURGER, J. and GOCHFELD, M. Risk to consumers from mercury in Pacific cod (Gadus macrocephalus) from the Aleutians: Fish age and size effects. **Environmental Research**, New York, v.105, p.276-284, 2007.

CASADEI, E.; RODRIGUES, P.C. Mercury contamination levels in the sharks of the Mozambican channel. **FAO Fisheries Report**, Rome, v.329, suppl., p.463–470, 1986.

CAVA-MONTESINOS, P., NILLES, K., CERVERA, M. L. & DE LA GUARDIA, M. Non-chromatographic speciation of toxic arsenic in fish. **Talanta**, Amsterdam, v.66, n.4, p.895-901, 2005.

CHANG, S. I., JIN, B., YOUN, P., PARK, C., PARK, J. D., RYU, D. Y. Arsenic-induced toxicity and the protective role of ascorbic acid in mouse testis. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v.218, n.2**,** p.196-203, 2007.

CHEN, Y., PARVEZ, F., GAMBLE, M., ISLAM, T., AHMED, A., ARGOS, M., GRAZIANO, J. H., AHSAN, H. Arsenic exposure at low-to-moderate levels and skin lesions, arsenic metabolism, neurological functions, and biomarkers for respiratory and cardiovascular diseases: Review of recent findings from the Health Effects of Arsenic Longitudinal Study (HEALS) in Bangladesh. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v.239, n.2, p.184-192, 2009.

CHICOUREL, E.L.; TENUTA-FILHO, A.; SAKUMA, A.M.; ZENEBON, O.; AMORIM, A.R. Mercúrio em pescado comercializado em São Paulo-SP, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.15, n.2, p.144-149, 1995.

CHRISTIAN, W. J., HOPENHAYN, C., CENTENO, J. A., TODOROV, T. Distribution of urinary selenium and arsenic among pregnant women exposed to arsenic in drinking water. **Environmental Research**, New York, v.100, n.1, p.115-122, 2006.

CLARKSON, T. W. The toxicology of mercury. *Critical Reviews in* **Clinical Laboratory Sciences**, Bethesda, v.34, n.4, p.369-403, 1997.

CLARKSON, T.W. The three modern faces of mercury. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v.110, supp.1, p.11–23, 2002.

CLIFTON, J.C. Mercury Exposure and Public Health. **Pediatric Clinics of North America**, Philadelphia, v.54,n p. 237–269, 2007.

COHEN, G.B.; SCHRIER, E.E. Removal of mercury from fish protein concentrate by sodium borohydride reduction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.23, n.4, p.661-665, 1975.

CUVIN-ARALAR, M. L. A., FURNESS, R. W. Mercury and Selenium Interaction - a Review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v.21, n.3, p.348-364, 1991.

DABEKA, R.; McKENZIE, A.D.; FORSYTH, D.S.; CONACHER, H.B.S. Survey of total mercury in some edible fish and shellfish species collected in Canada in 2002. **Food Additives and Contaminants**, London, v.21, n.5, p.434–440, 2004.

DE-GIETER, M., LEERMAKERS, M., VAN RYSSEN, R., NOYEN, J., GOEYENS, L., BAEYENS, W. Total and toxic arsenic levels in north sea fish. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.43, n.4, p.406-417, 2002.

DEL-RAZO, L. M., QUINTANILLA-VEGA, B., BRAMBILA-COLOMBRES, E., CALDERON-ARANDA, E. S., MANNO, M., ALBORES, A. Stress proteins induced by arsenic. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v.177, n.2, p.132-148, 2001.

DENOBILE, M. **Estudo da ocorrência de compostos arsenicais, mercuriais e selênio em cações comercializados na cidade de São Paulo.** Tese para obtenção de grau de doutor. Universidade DENOBILE, M. **Estudo da ocorrência de compostos arsenicais, mercuriais e selênio em cações comercializados na cidade de São Paulo.** Tese para obtenção de grau de doutor. Universidade de São Paulo: São Paulo, 2007. de São Paulo: São Paulo, 2007.

DETH, R.; MURATORE, C.; BENZECRY, J.; POWER-CHARNITSKY, V.A.; WALY, M. How environmental and genetic factors combine to cause autism: A redox/methylation hypothesis. **Neurotoxicology**, Amsterdam, v.29, p.190–201, 2008.

DEVESA, V., MACHO, M. L., JALON, M., URIETA, I., MUNOZ, O., SUNER, M. A., LOPEZ, F., VELEZ, D., MONTORO, R. Arsenic in cooked seafood products: Study on the effect of cooking on total and inorganic arsenic contents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.49, n.8, p.4132-4140, 2001a.

DEVESA, V., MARTINEZ, A., SUNER, M. A., VELEZ, D., ALMELA, C., MONTORO, R. Effect of cooking temperatures on chemical changes in species of organic arsenic in seafood. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.49, n.5, p.2272-2276, 2001b.

DEVESA, V., SUNER, M. A., ALGORA, S., VELEZ, D., MONTORO, R., JALON, M., URIETA, I., MACHO, M. L. Organoarsenical species contents in cooked seafood. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, n.22, p.8813-8819, 2005.

DRAHOTA, P., FILIPPI, M. Secondary arsenic minerals in the environment: A review. **Environment International**, Amsterdam, v.35, n.8, p.1243-1255, 2009.

EKINO, S.; SUSA, M.; NINOMIYA, T.; IMAMURA, K,; KITAMURA, T. Minamata disease revisited: An update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning. **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdam, v.262, p.131–144, 2007.

EPA. Special Report on Ingested Inorganic Arsenic. Skin Cancer; Nutritional Essentiality, US Environmental Protection Agency, EPA/625/3-87/-13. 1988 apud HUGHES, M. F. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.133, n.1, p.1-16, 2002.

ERSOY, B., YANAR, Y., KUCUKGULMEZ, A., CELIK, M. Effects of four cooking methods on the heavy metal concentrations of sea bass fillets (*Dicentrarchus labrax* Linne, 1785). **Food Chemistry**, Barking, v.99, n.4, p.748-751, 2006.

ESSINGTON, T. E., BEAUDREAU, A. H., WIEDENMANN, J. Fishing through marine food webs. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.103, n.9, p.3171-3175, 2006.

FAO/WHO. **Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Fifty-fifth Meeting. Summary and Conclusions.** JECFA, World Health Organization, Geneva, 2000.

FAO/WHO. **Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Sixty-first Meeting. Summary and Conclusions.** JECFA, World Health Organization, Geneva, 2003.

FAO/WHO. **Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Sixty-seventh Meeting. Summary and Conclusions.** JECFA, World Health Organization, Geneva, 2006.

FARIAS, L.A.; AZEVEDO, J.S.; FÁVARO, D.I.T.; BRAGA, E.S. Evaluation of mercury, selenium and methylmercury in fish consumed by Santos bay communities, São Paulo, Brazil. **INAC**, 28/Ago a 2/Set, 2005.

FDA - Food and Drug Administration. Guidance document for arsenic in shellfish. US Food and Drug Administration, Washington, DC, p.25, 1993 apud LIAO, C. M., LING, M. P. Assessment of human health risks for arsenic bioaccumulation in tilapia (Oreochromis mossambicus) and large-scale mullet (Liza macrolepis) from blackfoot disease area in Taiwan. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.45, n.2, p.264-272, 2003.

FDA - Food and Drug Administration. Making medical progress: a look at FDA approvals in 2000. **FDA Consum** v.35, n.2, p.7–8, 2001. Available: http://www.fda.gov/fdac/features/2001/201_med.html [accessed 5 January 2005].

FERNÁNDEZ-SOLÍS, J.M.; MARTÍNEZ, F.B.; CAPONT, F.L.; LAMAS. M.L.R. Reducción del nivel de mercurio en conservas de atún mediante tratamientos con cisteína. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v.16, n.2, p.273-278, 1976.

FERREIRA, A.G., FARIA, V.V., CARVALHO, C.E.V.; LESSA, R.P.T., SILVA, F.M.S. Total mercury in the night shark, *Carcharhinus signatus* in the western equatorial Atlantic ocean. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.47, n.4, p.629–634, 2004.

FORSYTH, D.S.; CASEY, V.; DABEKA, R.W.; MCKENZIE, A. Methylmercury levels in predatory fish species marketed in Canada. **Food additives and contaminants**, London, v.21, n.9, p.849-856, 2004.

FOWLER, B.A.; SELENE, C.H.; CHOU, J.; JONES, R.L.; CHEN, C.J. Arsenic. In: Nordberg, G.F., Fowler, B.A., Nordberg, M.; Friberg L.T. (Eds.) **Handbook on the Toxicology of Metals**. 3rd Ed. Amsterdam: Academic Press, 2007, p.367-406.

GAILER, J. Arsenic-selenium and mercury-selenium bonds in biology. *Coordination* **Chemistry Reviews**, Washington, v.251, n.1-2, p.234-254, 2007.

GAILER, J. Chronic toxicity of As-III in mammals: The role of (GS)(2)AsSe-. **Biochimie**, Paris, v.91, n.10, p.1268-1272, 2009.

GLOVER, J. W. Concentrations of Arsenic, Selenium and 10 Heavy-Metals in School Shark, Galeorhinus-Australis (Macleay), and Gummy Shark, Mustelus-Antarcticus Gunther, from Southeastern Australian Waters. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, Victoria, v.30, n.4, p.505-510, 1979.

GOYER, R. A. Toxic and essential metal interactions. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v.17, p.37-50, 1997.

GUSTIN, M.S.; LINDBERG, S.E.; WEISBERG, P.J. An update on the natural sources and links of atmospheric mercury. **Applied Geochemistry**, Amsterdam, v.23, p.482–493, 2008.

GUZZI, G.P.; LA-PORTA, C.A.M. Molecular mechanisms triggered by mercury. **Toxicology**, Shannon, v.244, p.1–12, 2008.

HALL, A.S.; TEENY, F.M.; GAUGLITZ Jr., E.J. Mercury in fish and shellfish of the Northeast Pacific. III. Spiny dogfish, *Squalus acanthias*. **Fishery Bulletin**, Washington, v.75, n.3, p.642–645, 1977.

HANAOKA, K., FUJITA, T., MATSUURA, M., TAGAWA, S., KAISE, T. Identification of Arsenobetaine as a Major Arsenic Compound in Muscle of 2 Demersal Sharks, Shortnose Dogfish Squalus-Brevirostris and Starspotted Shark Mustelus-Manazo. **Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology**, Oxford, v.86, n.4, p.681-682, 1987a.

HANAOKA, K., GOESSLER, W., OHNO, H., IRGOLIC, K. J., KAISE, T. Formation of toxic arsenical in roasted muscles of marine animals. **Applied Organometallic Chemistry**, v.15, n.1, p.61-66, 2001.

HANAOKA, K., KOBAYASHI, H., TAGAWA, S., KAISE, T. Identification of Arsenobetaine as a Major Water-Soluble Arsenic Compound in the Liver of 2 Demersal Sharks, Shortnose Dogfish Squalus-Brevirostris and Starspotted Shark Mustelus-Manazo. **Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology**, Oxford, 88(1): 189-191. 1987b.

HANAOKA, K., KOGA, H., TAGAWA, S., KAISE, T. Degradation of Arsenobetaine to Inorganic Arsenic by the Microorganisms Occurring in the Suspended Substances. **Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology**, Oxford, v.101, n.4, p.595-599, 1992.

HANAOKA, K., KOGURE, T., MIURA, Y., TAGAWA, S., Post-mortem formation of inorganic arsenic from arsenobetaine in a shark under natural conditions. **Chemosphere**, Amsterdam, v.27, n.11, p.2163-2167, 1993.

HAQUET, M.N.; GALARINI, R.; ROSCINI, D. Mettalli pesanti ed istamina nei prodotti ittici. 1. Presenza di mercurio negli anni 1986-1995. **Industrie Alimentari**, Pinerolo, v.35, p.939–945, 1996.

HOLMBERG, R. E., & FERM, V. H. Interrelationships of Selenium Cadmium and Arsenic in Mammalian Teratogenesis. **Archives of Environmental Health**, Chicago, v.18, n.6, p.873-&, 1969.

HORVAT, M. Mercury analysis and speciation. In: Baeyens, W.; Ebinghaus, R.; Vasiliev, O. (Eds) **Environmental sample in global and regional mercury cycles: sources, fluxes and mass balances** – NATO ASI Series. Netherlands: Klumer Academic Publishers, p.1-31, 1996.

HSUEH, Y.M.; KO, Y.F.; HUANG, Y.K.; CHEN, H.W.; CHIOU, H.Y.; HUANG, Y.L.; YANG, M.H.; CHEN, C.J. Determinants of inorganic arsenic methylation capability among residents of the Lanyang Basin, Taiwan: Arsenic and selenium exposure and alcohol consumption. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.137, n.1-2, p.49-63, 2003.

HUANG, Z., LI, J., ZHANG, S. C., ZHANG, X. R. Inorganic arsenic modulates the expression of selenoproteins in mouse embryonic stem cell. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.187, n.2, p.69-76, 2009.

HUANG, Z., PEI, Q., SUN, G., ZHANG, S., LIANG, J., GAO, Y., ZHANG, X. Low selenium status affects arsenic metabolites in an arsenic exposed population with skin lesions. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v.387, n.1-2, 139-144, 2008.

HUGHES, M. F. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.133, n.1, p.1-16, 2002.

IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man: Some Metals and Metallic Compounds, v.23, International Agency for Research on Cancer, Lyon, p.39–141, 1980 apud HUGHES, M. F. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.133, n.1, p.1-16, 2002.

IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk to Humans: Arsenic and arsenic compounds (Group 1). Supplement 7, International Agency for Research on Cancer, Lyon, p.100–103, 1987 apud HUGHES, M. F. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.133, n.1, p.1-16, 2002.

JEDRYCHOWSKI, W.; PERERA, F.; JANKOWSKI, J.; RAUH, V.; FLAK, E.; CALDWELL, K.; JONES, R.L.; PAC, A.; LISOWSKA-MISZCZYK, I. Fish consumption in pregnancy, cord blood mercury level and cognitive and psychomotor development of infants followed over the first three years of life – Krakow epidemiologic study. **Environment International**, Amsterdam, v.33, p.1057–1062, 2007.

JUREŠA, D., BLANUŠA, M. Mercury, arsenic, lead and cadmium in fish and shellfish from the Adriatic Sea. **Food Additives and Contaminants**, London, v.20, n.3, p. 241-246, 2003.

KAISE, T., WATANABE, S., ITO, K., HANAOKA, K., TAGAWA, S., HIRAYAMA, T., FUKUI, S. The Study of Organoarsenic Compounds in Fish and Alga by Exact Mass Measurement Using Fast-Atom-Bombardment Mass-Spectrometry. **Chemosphere**, Amsterdam, v.16, n.1, p.91-97, 1987.

KIBRIYA, M. G., JASMINE, F., ARGOS, M., VERRET, W. J., RAKIBUZ-ZAMAN, M., AHMED, A., PARVEZ, F., AHSAN, H. Changes in gene expression profiles in response to selenium supplementation among individuals with arsenic-induced pre-malignant skin lesions. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.169, n.2, p.162-176, 2007.

KNOWLES, T.G.; FARRINGTON, D.; KESTIN, S.C. Mercury in UK imported fish and shellfish and UK-farmed fish and their products. **Food Additives and Contaminants**, London, v.20, n.9, p.813–818, 2003.

KOROSSUE, E., MACEDO, L. F. L., FÁVARO, D. I. T., TENUTA-FILHO, A. Remoção de mercúrio em cação. 1-Caracterização química do produto obtido. In: VII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia - 10ª Reunião de Iniciação Científica, 2002, São Paulo. *Resumos…* **Revista Brasileira de Ciências Framacêuticas**, 2002. v.38. p.54

KOSTYNIAK, P.J. Pharmacokinetics of methylmercury in sheep. **Journal of Applied Toxicology**, Shannon, v.3, p.38-45, 1983.

KRYNITSKY, A. J. Preparation of biological tissue for determination of arsenic and selenium by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, Washington, v.59, n.14, p.1884-1886, 1987.

LACERDA, L.D.; PARAQUETTI, H.H.M.; MARINS, R.V.; REZENDE, C.E.; ZALMON, I.R.; GOMES, M.P.; FARIAS, V. Mercury content in shark species from the south-eastern Brazilian coast. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v.60, n.4, p.571–576, 2000.

LACK, M.; SANT, G. **World shark catch, production and trade 1990 – 2003.** Australian Government/Traffic Oceania. 2006.

LEBLANC P.J.; JACKSON A.L. Arsenic in marine fish and invertebrates. *Marine* **Pollution Bulletin**, Amsterdam, v.4, n.6, p.88-90, 1973.

LEWANDOWSK, T.A. Questions regarding environmental mercury release, special education rates, and autism disorder: An ecological study of Texas by Palmer et al. **Health & Place**, Amsterdam, v.12, p.749–750, 2006.

LIPRE, E.R. Methods for removing mercury from fish. **Tallinna Poluetehnilise Instituudi Toimetised**, v.489, p.41-44, 1980.

LOHMAN; K.; SEIGNEUR, C.; GUSTIN, M.; LINDBERG, S. Sensitivity of the global atmospheric cycle of mercury to emissions. **Applied Geochemistry**, Amsterdam, v.23, p.454–466, 2008.

LOVE, J.L.; RUSH, G.M.; McGRATH, H. Total mercury and methylmercury levels in some New Zealand commercial marine fish species. **Food Additives and Contaminants**, London, v.20, n.1, p.37–43, 2003.

MACEDO, L. F. L., MURITIBA, J., IGLÉSIAS, A. W. C., MING, C. C., TENUTA-FILHO, A. Remoção de mercúrio de cação. 2- Cor, Texturização por congelamento e estabilidade do produto obtido de cação. In: IX Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004, São Paulo. *Resumos…* **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, 2004, v.40, p.43.

MACEDO, L. F. L., TENUTA-FILHO, A. Efeito do tratamento com $NaBH_4$ sobre proteína de cação. Perfil eletroforético. In: VIII Semana de Ciência e Tecnologia da FCF-USP, 2003, São Paulo. *Resumos…* **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, 2003, v.39, p.59.

MANTOVANI, D. M. B.; ANGELUCCI, E. Arsênico em atum e sardinha. **Boletim da Sbcta**, Campinas, v.26, n.1, 1992.

MARCOVECCHIO, J.; LARA, R.; GÓMEZ, E. Total mercury in marine sediments near a sewage outfall. Relation with organic matter. **Environmental Technology Letters**, London, v.7, n.1, p.501-507, 1986.

MARCOVECCHIO, J.E. ; MORENO, V.J. ; PÉREZ, A. Determination of heavy metal concentrations in biota of Bahia Blanca, Argentina. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.75, n.2-3, p.181-190, 1988.

MARCOVECCHIO, J.E. ; MORENO, V.J. ; PÉREZ, A. Metal accumulation in tissues of sharks from the Bahía Blanca Estuary, Argentina. **Marine Environmental Research**, New York, v.31, p.263-274, 1991.

MÁRSICO, E.T. ; MACHADO, M.E.S. ; KNOFF, M. ; SÃO-CLEMENTE, S.C. Total mercury in shark along the southern Brazilian Coast. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.59, n.6, p.1593-1596, 2007.

McMEANS, B. C., BORGA, K., BECHTOL, W. R., HIGGINBOTHAM, D., FISK, A. T. Essential and non-essential element concentrations in two sleeper shark species collected in arctic waters. **Environmental Pollution**, Amsterdam, v.148, n.1, p.281-290, 2007.

MENASVETA, P.; SIRIYONG, R. Mercury content of several predacions fish in the Andaman sea. **Marine Pollution Bulletin**, London, v.8, n.9, p.200–204, 1977. 2007.

MENO, S. R., NELSON, R., HINTZE, K. J., SELF, W. T. Exposure to monomethylarsonous acid (MMA(III)) leads to altered selenoprotein synthesis in a primary human lung cell model. **Toxicol Appl Pharmacol**, Amsterdam, v.239, n.2, p.130-136, 2009.

MORALES-AIZPURÚA, I.C.; TENUTA-FILHO, A.; SAKUMA, A.M.; ZENEBON, O. Mercúrio total em cação comercializado em São Paulo-SP, Brasil. **Ciência e Tecnología de Alimentos**, Campinas, v.19, n.3, p.429–432, 1999.

MORALES-AIZPURÚA, I.C.M.; TENUTA-FILHO, A.; SAKUMA, A.M.; ZENEBON, O. Use of cysteine to remove mercury from shark muscle. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.32, n.4, p.333-337, 1997.

MUÑOZ, O., DEVESA, V., SUNER, M. A., VELEZ, D., MONTORO, R., URIETA, I., MACHO, M. L., JALON, M. Total and inorganic arsenic in fresh and processed fish products**. Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, n.9, p.4369-4376, 2000.

MUÑOZ, O.; VÉLEZ, D.; MONTORO, R. Optimization of the solubilization, extraction and determination of inorganic arsenic [As(III) + As(V)] in seafood products by acid digestion, solvent extraction and hydride generation atomic absorption spectrometry. **Analyst**, London, v.124, p.601-607, 1999.

MUTTER, J.; NAUMANN, J.; SADAGHIANI, C.; WALACH, H.; DRASCH, G. Mercury and autism: Response to the letter of K. E. v. Mu¨ hlendahl [Int. J. Hyg. Environ. Health 208 (2005) 435]. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, Amsterdam, v.208, p.437–438, 2005.

NARANMANDURA, H., IBATA, K., SUZUKI, K. T. Toxicity of dimethylmonothioarsinic acid toward human epidermoid carcinoma A431 cells. **Chem Res Toxicol**, Washington, v.20, n.8, p.1120-1125, 2007.

NICOLIS, I., CURIS, E., DESCHAMPS, P., BÉNAZETH, S. Arsenite medicinal use, metabolism, pharmacokinetics and monitoring in human hair. **Biochimie**, Paris, v.91, n.10, p.1260-1267, 2009.

NOGEIRA, G.N.; ORDÓÑEZ, J.B.; MARTÍNEZ, R.R. Concentración y distribución de mercurio en tejidos del cazón (*Rhizoprionodon terraenovae*) del Golfo de México. **Veterinaria México**, Ciudad Universitaria Deleg. Coyoacán, v.29, n.1, p.15–21, 1998.

NOMURA, Y. Properties and utilization of shark collagen. In: SAKAGUCHI, M., ed. **More efficient utilization of fish and fisheries products**: proceedings of the international symposium on the occasion of the 70th anniversary of the Japanese Society of Fisheries Science, Kyoto, Japan, 7-10 October 2001. Amsterdam: Elsevier, 2004. p.147–158. (Developments in food science, n.42).

OHTA, F.; NISHIMOTO, J., MIKI, H.; TAKEBAYASHI, T. Reduction of mercury with cystein in comminuted fish muscle. **Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima University**, Kagoshima, v.31, p.273-278, 1982.

OKAZAKI, E.; KANNA, K.; SUZUKI, T.; KIKUCHI, T. Elimination of mercury from shark flesh. **Tokai-ku Suisan Kenkyusho Kenkyu Hokoku**, Tokai, v.114, p.125-132, 1984.

PACYNA, E.G.; PACYNA, J.M.; STEENHUISENC, F.; WILSON, S. Global anthropogenic mercury emission inventory for 2000. **Atmospheric Environment**, Amsterdam, v.40, p.4048–4063, 2006.

PALMER, R.F. Response to Thomas A. Lewandowski: Questions regarding environmental mercury release, special education rates, and autism disorder: an ecological study of Texas by Palmer et al. **Health & Place**, Amsterdam, v.12, p.751–752, 2006.

PALMER, R.F.; BLANCHARD, S.; WOOD, R. Proximity to point sources of environmental mercury release as a predictor of autism prevalence. **Health & Place**, Amsterdam, v.15, n.1, p.18-24, 2008.

PEAKALL, D., BURGER, J. Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors. **Ecotoxicol Environ Saf**, Amsterdam, v.56, n.1, p.110-121, 2003.

PERELLÓ, G., MARTI-CID, R., LLOBET, J. M., OMINGO, J. L. Effects of various cooking processes on the concentrations of arsenic, cadmium, mercury, and lead in foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.56, n.23, p.11262-11269, 2008.

PERERA, F., VISWANATHAN, S., WHYATT, R., TANG, D., MILLER, R. L., RAUH, V. Children's environmental health research--highlights from the Columbia Center for Children's Environmental Health. **Ann N Y Acad Sci**, New York, v.1076, p.15-28, 2006.

PESHUT, P. J., MORRISON, R. J., BROOKS, B. A. Arsenic speciation in marine fish and shellfish from American Samoa. **Chemosphere**, Amsterdam, v.71, n.3, p.484-492, 2008.

PETRICK, J. S., AYALA-FIERRO, F., CULLEN, W. R., CARTER, D. E., VASKEN APOSHIAN, H. Monomethylarsonous acid (MMA(III)) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v.163, n.2, p.203-207, 2000.

PINHO, A.P.; GUIMARÃES, J.R.D.; MARTINS, A.S.; COSTA, P.A.S.; OLAVO, G.; VALENTIN, J. Total mercury in muscle tissue of five shark species from Brazilian offshore waters: effects of feeding habit, sex and lenght. **Environmental Research**, New York, v.89, n.3, p.250–258, 2002.

PLESI, M.; BERTELLI, D.; MONZANI, A. Mercury and selenium content in selected seafood. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.14, p.461–467, 2001.

POWELL, J. H.; POWELL, R. E. Trace Elements in Fish Overlying Sub-aqueous Tailings in the Tropical West Pacific. **Water, Air and Sol Pollution**, Netherlands, v.126, p.81-104, 2001.

RAAB, A., WRIGHT, S. H., JASPARS, M., MEHARG, A. A., FELDMANN, J. Pentavalent arsenic can bind to biomolecules. **Angew Chem Int Ed Engl**, Weinheim, v.46, n.15, p.2594-2597, 2007.

RAML, R., RUMPLER, A., GOESSLER, W., VAHTER, M., LI, L., OCHI, T., FRANCESCONI, K. A. Thio-dimethylarsinate is a common metabolite in urine samples

from arsenic-exposed women in Bangladesh. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v.222, n.3, p.374-380, 2007.

RENZONI, A.; ZINO, F.; FRANCHI, E. Mercury levels along the food chain and risk for exposed populations. **Environmental Research**, New York, v.77, n.2, p.68-72, 1998.

ROMÁN, G.C. Autism: Transient in utero hypothyroxinemia related to maternal flavonoid ingestion during pregnancy and to other environmental antithyroid agents. **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdam, v.262, p.15–26, 2007.

RONCADA, M.J.; WILSON, D.; SUGUIMOTO, L. Concentration of ascorbic acid in juices of several Brazilian fruit and its relationship with cost and daily allowances of vitamin C. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.11, n.1, 1977.

ROONEY, J.P.K. The role of thiols, dithiols, nutritional factors and interacting ligands in the toxicology of mercury. **Toxicology**, Shannon, v.234, p.145–156, 2007.

ROSEN, B. R., LIU, Z. J. Transport pathways for arsenic and selenium: A minireview. **Environment International**, Amsterdam, v.35, n.3, p.512-515, 2009.

ROSSMAN,T.G.; UDDIN,A.N. Selenium prevents spontaneous and arsenite-induced mutagenesis**. Int. Congr. Ser.**, v.1275, p.173–179, 2004.

RUITER, A. Contaminants in fish. In: RUITER A. (ed.) **Fish and Fishery Products. Composition, Nutritive Properties and Stability**, CAB International, Wallingford, p.261-285, 1995.

SATO, K.; MURATA, N.; TSUTSUMI, M.; SHIMIZU-SUGANUMA, M.; SHICHINOHEC, K.; KITAHASHI, T.; NISHIMURA, K.; NAKAMURA, Y.; OHTSUKI, K. Moderation of chemo-induced cancer by water extract of dried shark fin: anti-cancer effect of shark cartilage. In: SAKAGUCHI, M., ed. **More efficient utilization of fish and fisheries products**: proceedings of the international symposium on the occasion of the 70th anniversary of the Japanese Society of Fisheries Science, Kyoto, Japan, 7-10 October 2001. Amsterdam: Elsevier, 2004. p.159–168. (Developments in food science, n.42).

SCARPINI, E.M.; ANDRADE, S.; MARCOVECCHIO, J.E. Total mercury distribution in two shark species from Buenos Aires province coastal waters, in Argentina. **Proceedings of International Conference of Heavy Metals in the Environment**, v.1, p.82-85, 1993. Apud: LACERDA, L.D.; PARAQUETTI, H.H.M.; MARINS, R.V.; REZENDE, C.E.; ZALMON, I.R.; GOMES, M.P.; FARIAS, V. Mercury content in

shark species from the south-eastern Brazilian coast. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v.60, n.4, p.571–576, 2000.

SCHAB, R.; SACHS, K.; YANNAI, S. A proposed industrial method for the removal of mercury from fish. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.29, p.274-280, 1978.

SCHOEN, A., BECK, B., SHARMA, R., DUBE, E. Arsenic toxicity at low doses: epidemiological and mode of action considerations. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v.198, n.3, p.253-267, 2004.

SHARMA, V. K., SOHN, M. Aquatic arsenic: toxicity, speciation, transformations, and remediation. **Environment International**, Amsterdam, v.35, n.4, p.743-759, 2009.

SLOTH, J. J., JULSHAMN, K., LUNDEBYE, A. K. Total arsenic and inorganic arsenic content in Norwegian fish feed products. **Aquaculture Nutrition**, Berlin, v.11, n.1, p.61-66, 2005.

SPINELLI, J.; DYER, J.; LEHMAN, L.; WIEG, D. The fish protein concentrate story. 13. Aqueous phosphate processing. **Food Technology**, Chicago, v.25, p.713-717, 1971.

SPINELLI, J.; STEINBERG, M.A.; MILLER, R.; HALL, A.; LEHMAN, L. Reduction of mercury with cysteine in comminuted halibut and hake fish protein concentrate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.21, n.2, p.264-268, 1973.

STEPNIK, M., STETKIEWICZ, J., KRAJNOW, A., DOMERADZKA, K., GRADECKA-MEESTERS, D., ARKUSZ, J., STANCZYK, M., PALUS, J., DZIUBALTOWSKA, E., SOBALA, W., GROMADZINSKA, J., WASOWICZ, W., RYDZYNSKI, K. Carcinogenic effect of arsenate in C57BL/6J/Han mice and its modulation by different dietary selenium status. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v.72, n.8, p.2143-2152, 2009.

STERN, A.H. A review of the studies of the cardiovascular health effects of methylmercury with consideration of their suitability for risk assessment. **Environmental Research**, New York, v.98, p.133–142, 2005.

STIER, P.A.; GORDON, R.A. Psychiatric Aspects of Mercury Poisoning. **Medical Update for Psychiatrists**, Amsterdam, v.3, n.5, p.144–147, 1998.

STORELLI, M. M., MARCOTRIGIANO, G. O. Organic and inorganic arsenic and lead in fish from the South Adriatic Sea, Italy. **Food Additives and Contaminants**, London, v.17, n.9, p.763-768, 2000.

STORELLI, M.M.; BUSCO, V.P.; MARCOTRIGIANO, G.O. Mercury and arsenic speciation in the muscle tissue of *Scyliorhinus canicula* from the Mediterranean sea. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, Shannon, v.75, p.81–88, 2005.

STORELLI, M.M.; CECI, E.; STORELLI, A.; MARCOTRIGIANO, G.O. Polychlorinated biphenyl, heavy metal and methylmercury residues in hammerhead sharks: contaminant status and assessment. **Marine Pollution Bulletin**, London, v.46, p.1035–1048, 2003.

STORELLI, M.M.; MARCOTRIGIANO, G.O. Interspecific variation in total arsenic body concentrations in elasmobranch fish from the Mediterranean Sea. **Marine Pollution Bulletin**, London, v.48, p.1145-1167, 2004.

STORELLI, M.M.; STUFFLER, R.G.; MARCOTRIGIANO, G.O. Mercury accumulation and speciation in muscle tissue of different species of sharks from Mediterranean sea, Italy. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.68, p.201–210, 2002.

STORELLI, M.M.; STUFFLER, R.G.; MARCOTRIGIANO, G.O. Total mercury in muscle of benthic and pelagic fish from the South Adriatic Sea (Italy). **Food Additives and Contaminants**, London, v.15, n.8, p.876-883, 1998.

STORELLI, M.M.; STUFFLER, R.G.; MARCOTRIGIANO, G.O. Total mercury and methylmercury in tuna fish and sharks from the south Adriatic sea. **Italian Journal of Food Science**, Roma, v.8, n.1, p.101–106, 2001.

STYBLO, M., DEL-RAZO, L. M., VEGA, L., GERMOLEC, D. R., LECLUYSE, E. L., HAMILTON, G. A., REED, W., WANG, C., CULLEN, W. R., THOMAS, D. J. Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells. **Archives of Toxicology**, Berlin, v.74, n.6, p.289-299, 2000.

SULLIVAN, E.A. Hydrides. In: **KIRK-OTHMER encyclopedia of chemical technology**. 4.ed. Mountain View: Knight-Ridder; New York: John Wiley, v.13, p.606-629, 1995.

SUZUKI, T. Developing a new food material from fish flesh. III. Removal of mercury from fish flesh. **Tokai-ku Suisan Kenkyusho Kenkyu Hokoku**, Tokai, v.78, p.67-72, 1974.

TEENY, F.M.; HALL, A.S.; GAUGLITZ Jr., E.J. Reduction of mercury in sablefish (*Anoplopoma fimbria*) and the use of the treated flesh in smoked products. **Marine Fisheries Review**, Seattle, v.36, n.5, p.15-19, 1974.

TENUTA-FILHO, A. **Remoção de mercúrio de cacao, com borohidreto de sódio, e avaliação de características do produto obtido e de seu potencial de uso como alimento.** Tese para obtenção de título de Professor Livre-Docente. Universidade de São Paulo: São Paulo, 2006.

TENUTA-FILHO, A.; NASCIMENTO, E.S. Review: Mercury in shark. Occurrence and possibility of removal. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.10, n.2, p.78-85, 2007.

TOPPE, J., ALBREKTSEN, S., HOPE, B., AKSNES, A. Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species. **Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology**, Oxford, v.146, n.3, p.395-401, 2007.

TSENG, C. H. The potential biological mechanisms of arsenic-induced diabetes mellitus. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v.197, n.2, p.67-83, 2004.

TSENG, C.H. An overview on peripheral vascular disease in blackfoot disease-hyperendemic villages in Taiwan. **Angiology**, Newbury Park, v.53, p.529–537, 2002.

TUROCZY, N.J.; LAURENSON, L.J.B.; ALLINSON, G.; NISHIKAWA, M.; LAMBERT, D.F.; SMITH, C.; COTTIER, J.P.E.; IRVINE, S.B.; STAGNITTI, F. Observations on metal concentrations in three species of shark (*Deania calcea*, *Centroscymnus creapidater*, and *Centroscymnus owstoni*) from southeastern Australian waters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, p.4357–4364, 2000.

TUZEN, M. Toxic and essential trace elemental contents in fish species from the Black Sea, Turkey. **Food Chem Toxicol**, Oxford, v.47, n.8, p.1785-1790, 2009.

USYDUS, Z., SZLINDER-RICHERT, J., POLAK-JUSZCZAK, L., KANDERSKA, J., ADAMCZYK, M., MALESA-CIECWIERZ, M., RUCZYNSKA, W. Food of marine origin: Between benefits and potential risks. Part 1. Canned fish on the Polish market. **Food Chemistry**, Barking, v.111, n.3, p.556-563, 2008.

VANNUCCINI, S. **Shark utilization, marketing and trade**. Rome: FAO, 1999. 470p. (FAO Fisheries Technical Paper, 389).

VIRTANEN, J.K.; RISSANEN, T.H.; VOUTILAINEN, S.; TUOMAINEN, T.P. Mercury as a risk factor for cardiovascular diseases. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Amsterdam, v.18, p.75–85, 2007.

VLIEG, P.; MURRAY, T.; BODY, D.R. Nutritional data on six oceanic pelagic fish species from New Zealand waters. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.6, p.45–54, 1993.

WATLING, R.J.; WATLING, H.R.; STANTON, R.C.; McCLURG, T.P.; ENGELBRECHT, E.M. The distribuition and significance of toxic metals in sharks from the Natal coast, South Africa. **Water Science and Technology**, Oxford, v.14, n.4/5, p.21–30, 1982.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Evaluation of certain food additives and contaminants. 33rd Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee om Food Additives. Food Additives Series: 52. Geneva: WHO, 1989.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. IPCS International Programme on Chemical Safety. **Environmental Health Criteria, 224**: Arsenic. WHO, Geneva, 2001. 521p.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Methylmercury (addendum)**. WHO Food Additives Series: 52. Geneva: WHO, 2003.

WHO - World Health Organization. Trace Elements in Human Nutrition and Health Geneva: World Health Organization, 1996, apud JUREŠA, D., BLANUŠA, M. Mercury, arsenic, lead and cadmium in fish and shellfish from the Adriatic Sea. **Food Additives and Contaminants**, London, v.20, n.3, p. 241-246, 2003.

WILLIAMS, P.G.; HERSH, J. H.; ALLARD, A.; SEARS, L.L. A controlled study of m170–175ercury levels in hair samples of children with autism as compared to their typically developing siblings. **Research in Autism Spectrum Disorders**, Amsterdam, v.2, p.170–175, 2008.

WILSON, S.J.; STEENHUISEN, F.; PACYNA, J.M.; PACYNA, E.G. Mapping the spatial distribution of global anthropogenic mercury atmospheric emission inventories. **Atmospheric Environment**, Oxford, v.40, n.24, p.4621-4632, 2006.

YANNAI, S.; SALTZMAN, R. Elimination of mercury from fish. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.24, p.157-160, 1973.

ZAHIR, F.; RIZWI, S.J.; HAQ, S.K.; KHAN R.H. Low dose mercury toxicity and human health. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v.20, n.2, p.351-360, 2005.

ZENG, H. W., UTHUS, E. O., COMBS, G. F. Mechanistic aspects of the interaction between selenium and arsenic. **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, v.99, n.6, p.1269-1274, 2005.