



Instituto Politécnico de Lisboa
Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

**Exposição Ocupacional a Mercúrio: Associação
com a Atividade da Paraoxonase Humana e
Vitaminas A e E**

Autor:

Ana Lúcia Cebola de Oliveira

Orientadores:

Prof. Adjunto Doutor Mário Manuel Cunha de Pádua – ESTeSL/IPL

Prof. Adjunta Doutora Susana Patrícia Costa Viegas – ESTeSL/IPL

Mestrado em Segurança e Higiene no Trabalho

Lisboa, 2013

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA
ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA

**Exposição Ocupacional a Mercúrio: Associação com a Atividade da
Paraoxonase Humana e Vitaminas A e E**

ALUNO: Ana Lúcia Cebola de Oliveira

ORIENTADOR: Prof. Adjunto Doutor Mário Manuel Cunha de Pádua – ESTeSL/IPL
CO-ORIENTADOR: Prof. Adjunta Doutora Susana Patrícia Costa Viegas – ESTeSL/IPL

Mestrado em Segurança e Higiene no Trabalho

Lisboa, 2013

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de fazer um agradecimento muito especial aos meus orientadores, Prof. Adjunto Doutor Mário Pádua e Prof. Adjunta Doutora Susana Viegas, pela forma como orientaram este projeto. As notas dominantes da sua orientação, as suas recomendações e disponibilidade com que sempre me receberam e ajudaram. Agradeço igualmente a amizade, confiança e transmissão de conhecimento que me concederam, que foi decisiva para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu crescimento pessoal e profissional.

Esta dissertação dificilmente teria sido realizada sem o apoio de duas unidades laboratoriais. Os laboratórios dos departamentos das Ciências Naturais e Exatas e das Ciências e Tecnologias Laboratoriais e Saúde Comunitária da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, e o laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa. Não posso deixar de agradecer à Professora Doutora Cristina Carvalho pelo apoio e acesso às instalações e equipamentos do laboratório de toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, bem como pelo interesse na área do projeto e fornecimento de informação essencial para o seu desenvolvimento.

Neste projeto foram envolvidas várias pessoas que, de uma forma ou de outra, contribuíram para os resultados obtidos. Gostaria de agradecer a:

- Aos representantes da indústria onde foi efetuado o estudo pela forma como nos receberam e facilitaram acesso às instalações da empresa, assim como pela forma como mobilizaram os funcionários para a participação neste projeto,
- Dr. Bruno Carmona e Dra. Paula Ferreira, pela excelente ajuda nos diversos níveis ao longo do desenvolvimento deste projeto e pela amizade, apoio, paciência, troca de ideias e cumplicidade demonstrada,
- Às Sras. D. Domingas Camutar e D. Maria Afonso, pela ajuda na preparação de materiais, apoio e paciência,
- Prof. Adjunta Doutora Carla Viegas, pelo convite para integrar este mestrado, incentivo e amizade,
- Prof. Doutora Elisabete Carolino, pela ajuda no tratamento estatístico com o programa SPSS,
- Dr. Juan Henriques, Dra. Neusa Figueiredo e Doutor Vasco Branco, pela integração, ensino no manuseamento do equipamento e técnicas a aplicar no laboratório de toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa,
- Prof. Adjunta Doutora Luísa Veiga, pelo incentivo, amizade e ideias,
- Enfermeira Patrícia Naré, pela disponibilidade imediata para a realização das colheitas do material biológico, apoio e amizade,

- Presidência da Escola Superior de Tecnologia da Saúde, nas pessoas do Sr. Presidente Prof. Coordenador João Lobato e Vice-presidentes Prof. Coordenador Doutor Paulo Guerreiro e Prof. Adjunto Mestre João de Almeida Pedro, pela confiança depositada e apoio ao longo deste projeto,
- Ao meu marido, José Valadas, companheiro desde o início da licenciatura, que acompanhou, incentivou, motivou e ajudou a ultrapassar todas as dificuldades,
- Aos meus pais por apostarem sempre na minha formação académica e pessoal, incentivo, amizade, dedicação e muita paciência,
- Aos meus amigos Dra. Ana Sofia Tavares e Eng. Nuno Saramago pela ajuda e companheirismo em todas as etapas importantes da minha vida.
- Aos meus colegas do curso de mestrado, em especial à Eng. Susana Oliveira pelo companheirismo, apoio e amizade.

Além das pessoas mencionadas acima, gostaria também de agradecer a todas as pessoas que de alguma forma estiveram envolvidas direta ou indiretamente na concretização deste projeto.

Resumo

Os trabalhadores da indústria de reciclagem e valorização de lâmpadas encontram-se ocupacionalmente expostos a mercúrio durante o processo de produção. Neste trabalho foi caracterizada essa exposição na totalidade dos trabalhadores de uma empresa portuguesa, determinando a concentração de mercúrio total no sangue. A concentração de mercúrio foi relacionada com a atividade do enzima PON-1 e com as concentrações das vitaminas A e E, no sangue dos trabalhadores.

De forma a desenvolver este estudo, efetuaram-se determinações da concentração de mercúrio no sangue por Espectroscopia de Absorção Atómica Termal, tendo trabalhadores apresentado, em média, concentrações significativamente mais elevadas ($p=0,000$) de mercúrio no sangue ($2,25 \mu\text{g.L}^{-1}$) que o grupo de controlo ($0,864 \mu\text{g.L}^{-1}$), o que confirma a exposição ocupacional a este metal.

A atividade da PON-1 foi medida por espectrofotometria Ultra Violeta-Visível (UV-Vis), tendo sido obtidos valores médios de 773 mM.min^{-1} para os trabalhadores e de 663 mM.min^{-1} , para os controlos. As diferenças destas actividades não são estatisticamente significativas ($p=0,562$), indicando que a proteção das LDL contra a oxidação se mantém eficaz. Havia, todavia, uma correlação negativa fraca, não significativa ($r=-0,422$; $p=0,298$), entre a concentração de mercúrio e a atividade da PON-1 nos trabalhadores, sugerindo a possibilidade de inibição da PON-1 pelo mercúrio.

Os níveis séricos de Vitaminas A e E foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC). Relativamente à concentração de vitamina E, foram detetados valores séricos médios de $37,0 \mu\text{M}$ nos trabalhadores e $43,7 \mu\text{M}$ nos controlos, valores que não são estatisticamente diferentes ($p=0,160$) sugerindo que a capacidade antioxidante lipofílica se mantém intacta. Existe uma correlação negativa fraca, não significativa ($r=-0,312$; $p=0,452$) entre as concentrações de mercúrio e vitamina no sangue dos trabalhadores, sugerindo uma ligação entre mercúrio e stress oxidativo.

Da comparação da concentração média sérica de vitamina A entre trabalhadores ($2,00 \mu\text{M}$) e controlos ($0,980 \mu\text{M}$) foram detetadas diferenças estatisticamente significativas das concentrações de vitamina A entre os dois grupos ($p=0,007$), sugerindo um efeito da exposição ao mercúrio ao nível da metabolização do retinol. Foi detetada uma correlação negativa fraca, estatisticamente não significativa, entre as concentrações de mercúrio e de vitamina A nos trabalhadores ($r=-0,239$; $p=0,568$), podendo significar uma ligação entre mercúrio e stress oxidativo.

Foram igualmente estudadas as relações entre a concentração de mercúrio nos trabalhadores e o número de horas de exposição a este metal, verificando-se uma correlação positiva fraca não significativa ($r=0,134$; $p=0,775$).

Da análise da relação entre a concentração do metal e a antiguidade dos trabalhadores em postos de trabalho com exposição ocupacional, constatou-se uma correlação positiva fraca não significativa ($r=0,217$; $p=0,641$).

Concluiu-se que a exposição ocupacional destes trabalhadores não apresenta, no presente, riscos para a sua saúde. No entanto, os trabalhadores já exibem concentrações de mercúrio superiores aos controlos e alguns efeitos bioquímicos. Dado o mercúrio ser um metal bioacumulável, é possível que com o tempo, a exposição venha a produzir efeitos mais marcados.

Palavras-chave: Mercúrio, Metilmercúrio, Paraoxonase humana, Exposição ocupacional, Reciclagem de lâmpadas.

Abstract

Workers from the light bulb recycling and recovery industry may be exposed to mercury during the production process. In this work we characterized the occupational exposure to mercury all the workers of a Portuguese facility by measuring whole blood mercury levels. Concomitantly, the activity of enzyme PON-1 was measured as well as the serum concentrations of vitamin A and E.

Whole blood mercury was determined by atomic absorption spectrometry with thermal decomposition and workers had in average significantly ($p=0.000$) more mercury ($2.25 \mu\text{g.L}^{-1}$) than controls ($0.864 \mu\text{g.L}^{-1}$), thus confirming the occupational exposure.

PON-1 activity was measured by UV-VIS Spectrophotometry and the mean activities found were 773 mM.min^{-1} for the workers and 663 mM.min^{-1} , for the controls. This difference was not significant ($p=0,562$), showing that LDL protection from oxidation is still effective. There was a poor negative, non-significant correlation ($r=-0,422$; $p=0,298$) between mercury levels and PON-1 activity in workers, hinting a possible inhibition of PON-1 by mercury.

The serum concentrations of vitamin E and A were determined by High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) with diode array detection. The mean values of vitamin E in workers were $37.0 \mu\text{M}$ and $43.7 \mu\text{M}$ in controls. These values are not statistically different ($p=0,160$) suggesting that the lipophilic antioxidant barrier is intact. There was a non significant, weak negative correlation ($r=-0,312$; $p=0,452$) between the blood concentrations of mercury and vitamin E in workers, linking mercury and oxidative stress.

Comparing the mean values of serum vitamin A of workers ($2.00 \mu\text{M}$) and controls ($0.980 \mu\text{M}$), a significant difference was found ($p=0,007$), suggesting an effect of the mercury at the level of retinol metabolism. It was detected a weak negative correlation, non significant ($r=-0,239$; $p=0,568$), between between the blood concentrations of mercury and vitamin A in workers, again linking mercury and oxidative stress.

To further characterize the exposure, we studied the possible correlation between blood mercury and the number of daily exposure hours, finding a non significant, weak positive correlation ($r=0,134$; $p=0,775$). Moreover, the relationship between blood mercury and the number of years working in the industry also showed a non significant, weak positive correlation ($r=0,217$; $p=0,641$).

The occupational exposure of these workers does not presently constitute a risk for their health. Nevertheless, mercury bioaccumulates over time, and these workers already have more mercury than the controls. Furthermore, they already show some biochemical effects. Steps should be taken in order to prevent the development of serious occupational mecurialism.

Keywords: Mercury, Methyl mercury, Human Paraoxonase, Occupational Exposure, Lamp Recycling.

Índice Geral

AGRADECIMENTOS	I
RESUMO	III
ABSTRACT	V
1.INTRODUÇÃO	1
1.1. CONTEXTO HISTÓRICO	1
1.2. METAIS	2
1.2.1. <i>Mercúrio</i>	3
1.2.2. <i>Formas de Mercúrio</i>	5
1.2.3. <i>O Ciclo Biogeoquímico do Mercúrio</i>	6
1.2.4. <i>Toxicocinética do Mercúrio</i>	8
1.2.5. <i>Toxicodinâmica do Mercúrio</i>	11
1.2.6. <i>Efeitos para a saúde humana</i>	13
1.2.7. <i>Mecanismos de Destoxificação</i>	17
1.2.8. <i>Formas de tratamento</i>	20
1.3. SAÚDE OCUPACIONAL	21
1.3.1. <i>Monitorização Biológica</i>	23
1.3.2. <i>Indicadores Biológicos de Exposição</i>	23
1.3.3. <i>Indicadores Biológicos de Efeito</i>	24
1.3.4. <i>Indicadores Biológicos de Suscetibilidade</i>	30
1.4. INDÚSTRIA DE VALORIZAÇÃO DE LÂMPADAS FLUORESCENTES	31
2.OBJETIVOS	42
2.1. OBJETIVO GERAL	42
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
3.MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1. TIPO DE ESTUDO	43
3.2. RECOLHA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS	44
3.2.1. <i>Recolha de amostras biológicas</i>	44
3.2.2. <i>Preparação de amostras para determinação de mercúrio total</i>	44
3.2.3. <i>Preparação de amostras para determinação da PON-1 e Vitaminas A e E</i>	44
3.3. DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO TOTAL POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ATÓMICA TERMAL	45
3.4. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE PARAOXANASE-1 POR ESPECTROFOTOMETRIA	47
3.5. DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE VITAMINAS A E E POR HPLC	49
4.RESULTADOS	53
4.1. CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO	53
4.2. DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO TOTAL	57
4.2.1. <i>Na População de Trabalhadores</i>	57
4.2.2. <i>No Grupo de Controlo</i>	58
4.3. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA PARAOXANASE-1	59
4.3.1. <i>Na População de Trabalhadores</i>	59
4.3.2. <i>No Grupo de Controlo</i>	59
4.4. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE VITAMINAS A E E	61
4.4.1. <i>Nos Trabalhadores</i>	61

4.4.2. <i>No Grupo de Controlo</i>	62
4.5. COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO ENTRE TRABALHADORES E CONTROLOS	65
4.6. COMPARAÇÃO DAS ATIVIDADES DE PON-1 ENTRE TRABALHADORES E CONTROLOS	66
4.7. FORMA E INTENSIDADE DA RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO E A ATIVIDADE DA PON-1	67
4.7.1. <i>Nos Trabalhadores</i>	67
4.7.2. <i>No Grupo de Controlo</i>	68
4.8. COMPARAR A CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA E ENTRE TRABALHADORES E GRUPO DE CONTROLO.....	69
4.8. FORMA E INTENSIDADE DA RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO E A CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA E.....	70
4.9.1. <i>Nos Trabalhadores</i>	70
4.9.2. <i>No Grupo de Controlo</i>	71
4.10. COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA A ENTRE TRABALHADORES E CONTROLOS	73
4.11. DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO E A CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA A.....	74
4.11.1. <i>Nos Trabalhadores</i>	74
4.11.2. <i>No Grupo de Controlo</i>	75
4.12. DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO E O NÚMERO DE HORAS DE EXPOSIÇÃO A MERCÚRIO NO GRUPO DE TRABALHADORES	76
4.13. DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO E A ANTIGUIDADE NOS TRABALHADORES	78
5.DISSCUSSÃO	80
6.CONCLUSÕES	86
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
ANEXO I – TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO	1
ANEXO II – QUESTIONÁRIO PARA AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO A MERCÚRIO	2

Índice de Tabelas

TABELA 1: CONCENTRAÇÕES MERCÚRIO METÁLICO QUE PROVOCAM EFEITOS NO ORGANISMO HUMANO (PAVLOGEORGATOS & VASILIS, 2003).	16
TABELA 2: CONCENTRAÇÕES MERCÚRIO INORGÂNICO QUE PROVOCAM EFEITOS NO ORGANISMO HUMANO (PAVLOGEORGATOS & VASILIS, 2003).	16
TABELA 3: CONCENTRAÇÕES MERCÚRIO ORGÂNICO QUE PROVOCAM EFEITOS NO ORGANISMO HUMANO (PAVLOGEORGATOS & VASILIS, 2003).	17
TABELA 4: VALORES LIMITE DE EXPOSIÇÃO A MERCÚRIO (VLE-MP) DE VÁRIAS ORGANIZAÇÕES MUNDIAIS.	22
TABELA 5: VALORES LIMITE DOS MARCADORES BIOLÓGICOS DE VÁRIAS ORGANIZAÇÕES MUNDIAIS.	24
TABELA 6: QUANTIDADES DE MERCÚRIO PRESENTES NAS LÂMPADAS FLUORESCENTES (MG POR LÂMPADA) DE FABRICO EM VÁRIOS PAÍSES (NANCE <i>ET AL.</i> , 2012).	34
TABELA 7: DILUIÇÕES DO PADRÃO DE A-TOCOFEROL (VITAMINA E) COM VISTA À REALIZAÇÃO DA RETA DE CALIBRAÇÃO. VOLUME INJETADO DE 25 µL.	50
TABELA 8: DILUIÇÕES DO PADRÃO DE RETINOL (VITAMINA A) COM VISTA À REALIZAÇÃO DA RETA DE CALIBRAÇÃO. VOLUME INJETADO DE 25 µL.	51
TABELA 9: CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS PARA QUANTIFICAÇÃO DE RETINOL E A-TOCOFEROL PARA REALIZAÇÃO DAS RESPECTIVAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO.	52
TABELA 10: CARACTERÍSTICAS DO GRUPO DE TRABALHADORES.	54
TABELA 11: CARACTERÍSTICAS DO GRUPO DE CONTROLO.	56
TABELA 12: CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO TOTAL NO SANGUE DOS TRABALHADORES DA INDÚSTRIA DE VALORIZAÇÃO E RECICLAGEM DE LÂMPADAS.	57
TABELA 13: CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO TOTAL NO SANGUE DO GRUPO CONTROLO DA INDÚSTRIA DE VALORIZAÇÃO E RECICLAGEM DE LÂMPADAS.	58
TABELA 14: ATIVIDADES DE PARAOXONASE-1 DOS TRABALHADORES.	59
TABELA 15: ATIVIDADES DE PARAOXONASE-1 DO GRUPO DE CONTROLO.	59
TABELA 16: CONCENTRAÇÃO DE A-TOCOFEROL NO SANGUE DOS TRABALHADORES.	61
TABELA 17: CONCENTRAÇÃO DE RETINOL NO SANGUE DOS TRABALHADORES.	62
TABELA 18: CONCENTRAÇÃO DE A-TOCOFEROL NO SANGUE DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO DE CONTROLO.	63
TABELA 19: CONCENTRAÇÃO DE RETINOL NO SANGUE DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO DE CONTROLO.	63
TABELA 20: TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i> REALIZADO COM O PROGRAMA ESTATÍSTICO SPSS.	65
TABELA 21: RESULTADOS DO TESTE T PARA DUAS AMOSTRAS INDEPENDENTES PARA COMPARAR AS CONCENTRAÇÕES MÉDIAS SE MERCÚRIO NO SANGUE, ENTRE TRABALHADORES E CONTROLOS.	65
TABELA 22: TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i>	66
TABELA 23: RESULTADOS DO TESTE DE <i>MANN-WHITNEY</i> PARA A COMPARAÇÃO DAS ATIVIDADES DE PON-1 ENTRE TRABALHADORES E CONTROLOS.	66
TABELA 24: RESULTADOS DO TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i>	67
TABELA 25: RESULTADOS DO COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE <i>PEARSON</i> PARA AVALIAR A FORMA E INTENSIDADE DA RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO E A ATIVIDADE DO ENZIMA PON-1 NOS TRABALHADORES.	67
TABELA 26: RESULTADOS DO TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i>	68
TABELA 27: RESULTADOS DO COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE <i>SPEARMAN</i> , PARA AVALIAR A FORMA E INTENSIDADE DA RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO E A ATIVIDADE DO ENZIMA PON-1.	68
TABELA 28: RESULTADOS DO TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i>	69
TABELA 29: RESULTADOS DO TESTE T PARA DUAS AMOSTRAS INDEPENDENTES PARA COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE A-TOCOFEROL ENTRE TRABALHADORES E CONTROLOS.	69
TABELA 30: RESULTADOS DO TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i>	70
TABELA 31: RESULTADOS DO COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE <i>PEARSON</i> , PARA DETERMINAR A FORMA E INTENSIDADE DA RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO E DE A-TOCOFEROL NO SANGUE, NO GRUPO DOS TRABALHADORES.	71

TABELA 32: RESULTADOS DO TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i>	71
TABELA 33: RESULTADOS DO COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE <i>PEARSON</i> , PARA DETERMINAR A FORMA E INTENSIDADE DA RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO E DE A-TOCOFEROL NO SANGUE DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO DE CONTROLO.....	72
TABELA 34: TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i>	73
TABELA 35: RESULTADOS DO TESTE T PARA DUAS AMOSTRAS INDEPENDENTES PARA A COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE RETINOL ENTRE TRABALHADORES E CONTROLOS.....	73
TABELA 36: TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i> REALIZADO COM O PROGRAMA ESTATÍSTICO SPSS.	74
TABELA 37: TESTE DE RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO E A CONCENTRAÇÃO DE VITAMINA A NOS TRABALHADORES ATRAVÉS DO COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE <i>PEARSON</i> REALIZADO COM O PROGRAMA ESTATÍSTICO SPSS.....	74
TABELA 38: TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i> REALIZADO COM O PROGRAMA ESTATÍSTICO SPSS.	75
TABELA 39: TESTE DE RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO E DE VITAMINA A NO GRUPO DE CONTROLO ATRAVÉS DO COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE <i>PEARSON</i> REALIZADO COM O PROGRAMA ESTATÍSTICO SPSS.....	75
TABELA 40: TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i> REALIZADO COM O PROGRAMA ESTATÍSTICO SPSS.	76
TABELA 41: TESTE DE RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO E O NÚMERO DE HORAS DE EXPOSIÇÃO A LÂMPADAS DE Hg ATRAVÉS DO COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE <i>SPEARMAN</i> REALIZADO COM O PROGRAMA ESTATÍSTICO SPSS.....	76
TABELA 42: TESTE DE NORMALIDADE DE <i>SHAPIRO-WILK</i> REALIZADO COM O PROGRAMA ESTATÍSTICO SPSS.	78
TABELA 43: TESTE DE RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO E A ANTIGUIDADE DOS TRABALHADORES COM FUNÇÕES EXPOSTAS A MERCÚRIO ATRAVÉS DO COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE <i>SPEARMAN RHO</i> REALIZADO COM O PROGRAMA ESTATÍSTICO SPSS.....	78

Índice de Figuras

FIGURA 1: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO CICLO BIOGEOQUÍMICO DO MERCÚRIO (OLIVEIRA, 2011).....	7
FIGURA 2: MODELO TOXICOCINÉTICO DO MERCÚRIO (ADAPTADO DE RAMÍREZ, 2008).....	9
FIGURA 3: FÓRMULA QUÍMICA DO COMPLEXO METILMERCÚRIO COM O AMINOÁCIDO DE CISTEÍNA, RESULTANDO NA FORMAÇÃO DE METIONINA (CLARKSON <i>ET AL.</i> , 2007).....	18
FIGURA 4: ESQUEMA DO METABOLISMO DO MERCÚRIO (Hg ²⁺). A REAÇÃO ASSINALADA COM * OCORRE NO FÍGADO. AS RESTANTES OCORREM NO SANGUE (ABREVIATURAS: GS – GLUTATIONO, ALB – ALBUMINA, MT – METALOTIONINA, SELP – SELENOPROTEÍNA P) (GAILER, 2002).	19
FIGURA 5: ESTRUTURA QUÍMICA DA VITAMINA A (ROSA, 2009).....	28
FIGURA 6: TIPOS DE LÂMPADAS FLUORESCENTES. I) LÂMPADAS FLUORESCENTES COMPACTAS; II) LÂMPADAS FLUORESCENTES TUBULARES; III) LÂMPADAS FLUORESCENTES DE DESCARGA DE ALTA DENSIDADE (FONTE: UNIDADE DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES).	31
FIGURA 7: DIAGRAMA DE UMA LÂMPADA FLUORESCENTE (ÁLVAREZ-CAICOYA <i>ET AL.</i> , 2011).	32
FIGURA 8: TRITURADOR SEPARADOR DE LÂMPADAS FLUORESCENTES TUBULARES (FONTE: UNIDADE DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES).	37
FIGURA 9: ESQUEMA REPRESENTATIVO DO PROCESSO DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES TUBULARES. (FONTE: UNIDADE DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES).	37
FIGURA 10: PRÉ TRATAMENTO DE LÂMPADAS FLUORESCENTES CIRCULARES E COMPACTAS (FONTE: UNIDADE DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES).	38
FIGURA 11: ESQUEMA REPRESENTATIVO DO PROCESSO DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES CIRCULARES E COMPACTAS (FONTE: UNIDADE DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES).	38
FIGURA 12: PROCESSADOR DE LÂMPADAS DE ALTA DENSIDADE (FONTE: UNIDADE DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES).	39
FIGURA 13: ESQUEMA REPRESENTATIVO DO PROCESSO DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS DE ALTA DENSIDADE (FONTE: UNIDADE DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES).	39
FIGURA 14: TRITURADOR DE LÂMPADAS DE GEOMETRIA DIVERSA (FONTE: UNIDADE DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES).	40
FIGURA 15: ESQUEMA REPRESENTATIVO DO PROCESSO DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS DE GEOMETRIA VARIÁVEL (FONTE: UNIDADE DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES).....	40
FIGURA 16: DESTILADORA DE MERCÚRIO (FONTE: UNIDADE DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES).	41
FIGURA 17: ESQUEMA REPRESENTATIVO DO PROCESSO DE DESTILAÇÃO DE MERCÚRIO (FONTE: UNIDADE DE RECICLAGEM DE LÂMPADAS FLUORESCENTES).	41
FIGURA 18: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO ESPECTRÓMETRO DE ABSORÇÃO ATÓMICA COM DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA (AMA 254): 1 – BARQUINHA DE NÍQUEL, 2 – FORNO DE DECOMPOSIÇÃO, 3 – COLUNA CATALÍTICA, 4 – AMÁLGAMA DE OURO, 5 – FORNO DE LIBERTAÇÃO, 6 – LÂMPADA DE CÁTODOS DE MERCÚRIO, 7 – SISTEMA DE CÉLULAS ÓTICAS, 8 – DETETOR (SPEVÁCKOVÁ <i>ET AL.</i> , 2004).	46
FIGURA 19: COMPOSIÇÃO DE UM ESPECTROFOTÓMETRO: 1 – SISTEMA DE EMISSÃO DE RADIAÇÃO (LÂMPADAS); 2 – MONOCROMADOR; 3 – SISTEMA DISPERSIVO; 4 – SISTEMA DISPERSIVO; 5 – CHOPPER; 6 – ATENUADORES (REFERÊNCIA/AMOSTRA); 7 – PORTA AMOSTRAS; 8 – DETETORES; 9 – ESFERA INTEGRADA PARA REFLEXÃO (VIOLANTE, 2011).	47
FIGURA 20: ESQUEMA ILUSTRATIVO DE UM SISTEMA DO HPLC: 1- RESERVATÓRIO DE SOLVENTES; 2 - VÁLVULAS DE ABERTURA; 3 – BOMBA; 4 – MISTURADOR; 5 - VÁLVULA INTERNA; 6 – INJETOR; 7 - PRÉ-COLUNA; 8 – COLUNA; 9 – DETENTORES; 10 - ESTAÇÃO DE AQUISIÇÃO DE DADOS; 11 – RESERVATÓRIO DE RESÍDUOS. A SETA AZUL REPRESENTA O SENTIDO DA PROGRESSÃO DO SOLVENTE DURANTE UMA ANÁLISE (TAVARES, 2010).	50

Índice de Gráficos

GRÁFICO 1: COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO TOTAL ENTRE O GRUPO DE TRABALHADORES E O GRUPO DE CONTROLOS	80
GRÁFICO 2: COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS ATIVIDADES DE PON-1 ENTRE O GRUPO DE TRABALHADORES E O GRUPO DE CONTROLOS	82
GRÁFICO 3: COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES DE A-TOCOFEROL ENTRE O GRUPO DE TRABALHADORES E O GRUPO DE CONTROLOS	82
GRÁFICO 4: COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES DE RETINOL ENTRE O GRUPO DE TRABALHADORES E O GRUPO DE CONTROLOS	84

Siglário

$\mu\text{g Hg.m}^{-3}$	Símbolo para unidade de micrograma de mercúrio por metro cúbico
AAS	<i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
Abs	Absorvência
ACGIH	<i>American Conference of Industrial Hygienists</i>
Alb	Albumina
APA	Agência Portuguesa do Ambiente
ATPase	Enzima que catalisa a hidrólise de ATP
BAL	Dimercaptopropanol
BDS	Base Deactivated Silica
$\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg}^+$	Fórmula molecular de etilmercúrio
CFL	<i>Compact Fluorescent Lamps</i>
$(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$	Fórmula molecular de dimetilmercúrio
CH_3Hg^+	Fórmula molecular de metilmercúrio
CH_3HgCl	Fórmula molecular de cloreto de mercúrio
CH_3HgOH	Fórmula molecular de hidróxido de mercúrio
CHCl_3	Clorofórmio
CLRTAP	<i>Convention on Long-range Transboundary Air Pollution</i>
CV	Coefficiente de variação
CVAAS	<i>Could Vapor Atomic Absorption Spectrometry</i>
Cys	Cisteína
DAD	Diode array detector
DMPS	2,3-Dimercaptopropanol-1-sulfonato
DMSA	2,3-Dimercaptosucínico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EEE	Equipamentos elétricos e eletrónicos
eNOS	<i>Endothelial Nitric Oxide Sintase</i>
EPI	Equipamento de Proteção Individual
Ga	Símbolo químico do elemento Gálio
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GC	<i>Gas Chromatography</i>
gl	Grau de liberdade
GS^-	Glutatio
GSH	Glutatio reduzido
GS-Hg-SG	Complexo glutatio-mercúrio-glutatio
GSSG	Glutatio Oxidado
HDL	<i>High density lipoprotein</i>
$\text{Hg}(\text{CN})_2$	Fórmula molecular de cianeto de mercúrio
$\text{Hg}(\text{OH})_2$	Fórmula molecular de Hidróxido de mercúrio
Hg.m^{-3}	Símbolo para unidade de mercúrio por metro cúbico
Hg^+	Símbolo químico para o ião mercúrio monovalente
Hg^0	Símbolo químico para o mercúrio elementar
Hg^{2+}	Símbolo químico para o ião mercúrio divalente
HgCl_2	Fórmula molecular de Cloreto de mercúrio
HgCl_3^-	Fórmula molecular do ião cloreto de mercúrio

HgCl ₄ ²⁻	Fórmula molecular de Tetracloreto de mercúrio
HgO	Fórmula molecular de Óxido de mercúrio
HgS	Fórmula molecular de sulfureto de mercúrio
HgS ₂ ²⁻	Fórmula molecular de persulfato de mercúrio
HgS ₂ H ⁻	Fórmula molecular de hidropersulfureto de mercúrio
HgSe	Seleneto de mercúrio
HID	High density
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPLC-ICP-MS	<i>High Performance Liquid Chromatography – Inductible Coupled Plasma – Mass Spectrometry</i>
IBE	Indicador Biológico de Exposição
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LC	Liquid chromatography
LDL	<i>Low density lipoprotein</i>
MAO	Enzima Monoaminoxidase
MRT	<i>Mercury recycling, mercury recovery & lamp recycling system</i>
MT	Metalotionina
NF-kB	Fator nuclear kB
NO	<i>Nitric Oxide</i>
O ₂ ⁻	Símbolo químico do radical anião superóxido
OH ⁻	Símbolo químico para o Ião hidróxido
-OH	Símbolo químico para grupos sulfídricos
OMS	Organização mundial de saúde
OSHA	<i>Occupational Safety and Health Administration</i>
PDA	Photodiode array
PON-1	Paraoxonase Humana -1
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SCOEL	<i>Scientific Committee on Occupational Exposure Limits</i>
SelP	Selenoproteína P
Sig.	Significância estatística
Tris-HCL	Símbolo para designar o composto trishidroximetil hidrocloreto
Vit. A	Vitamina A
Vit. E	Vitamina E
VLE	Valor limite de exposição
VLE-MP	Média ponderada do valor limite de exposição
WEEE	<i>Waste Electrical and Electronic Equipment Directive</i>
α-TA	α-Tocoferil-acetato

1.Introdução

1.1. Contexto Histórico

A exposição a metais pesados ocorre há milhares de anos, desde que o Homem iniciou a sua extração e processamento (Sousa, 2010). Ao longo de vários séculos, os metais pesados foram utilizados em diversas atividades. O chumbo foi utilizado na construção de materiais, o cádmio nos pigmentos utilizados por diversos artistas plásticos e o mercúrio era utilizado na medicina como um remédio para o alívio das dores de dentes e mais tarde para o combate da sífilis (Apostoli, 2002; Järup, 2003).

A partir da segunda metade do século XIX, com a Revolução Industrial, a exploração de metais pesados aumentou. A combustão, a extração e outras formas de processamento levaram a um aumento das emissões para a atmosfera e o descarte de resíduos industriais, para as águas e solos, levando a que a população ficasse significativamente exposta aos elementos metálicos (Gidlow, 2004; Sousa, 2010).

A relação entre a atividade profissional e os efeitos na saúde há muito que é descrita. A primeira publicação descrevendo uma associação entre o trabalho em minas e a manifestação de doenças respiratórias data de 1556 na obra *De re metálica* de Georg Bauer. Mais tarde, em 1700, Bernardino Ramazzini - considerado o pai da medicina no trabalho - publicou o livro *De morbis artificum diatriba* no qual descreve 54 doenças relacionadas com o trabalho de mineiros, químicos, fabricantes de vidro e trabalhadores que lidavam com cerâmica, ouro e prata (Apostoli, 2002; Sousa, 2010).

As unidades industriais implementaram processos de fundição e soldadura, e outros na indústria de baterias, cerâmica, plástico, vidro, entre outras, que apresentam um elevado risco na saúde dos seus trabalhadores (Tong, Schirnding & Prapamontol, 2000). O problema deveu-se à presença de material particulado em suspensão constituído por elementos químicos como o arsénio, o chumbo, o crómio, o cobalto, o níquel e o mercúrio, considerados tóxicos ao organismo (Sousa, 2010).

1.2. Metais

Os metais estão presentes no planeta como constituintes naturais de solos e rochas, bem como nos produtos utilizados diariamente, sendo que várias são as fontes desses elementos que podem contaminar o solo, o ar e a água, com reflexos sobre as plantas, os animais e particularmente o Homem, de onde se destacam a deposição atmosférica, os resíduos agropecuários, os fertilizantes, resíduos urbanos, indústria e de minério (Souza, Vianna, Zandim, Fernandes & Fontes, 2009). Os metais pesados são normalmente referenciados como representando perigo para a saúde humana por não se decomporem no ambiente (Meadows-Oliver, 2012). Contudo, alguns destes metais como o cobalto (Co), crómio (Cr), cobre (Cu), Manganês (Mn) e Zinco (Zn) são essenciais, em pequenas concentrações, para os mecanismos biológicos, mas tóxicos em concentrações elevadas. Existem outros que apenas exibem toxicidade e levantam maiores preocupações para a saúde humana e ambiental, como o arsénio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb), mercúrio (Hg), tálio (Tl) e Urânio (U) (Alloway, 1995).

É fácil verificar na literatura a multiplicidade de definições relativa a metais pesados. Duffus (2002) citou vários trabalhos diferentes que utilizam limites de densidade específica estes metais de 3,5 a 7 g.cm⁻³ (Alloway, 1995; Duffus, 2002; Sherameti & Varma, 2010; Sousa, 2010).

De acordo com Duffus (2002) qualquer sistema de classificação deve basear-se na tabela periódica dos elementos. Os metais são definidos quimicamente como elementos que conduzem eletricidade e calor, têm brilho metálico, são maleáveis e dúcteis, formam catiões e óxidos básicos (Duffus, 2002). Tendo em conta que muitos dos elementos da tabela periódica se inclui na descrição anterior, é necessário categorizar os metais. Uma das formas de o fazer é de acordo com a configuração eletrónica dos átomos. Existem os elementos com orbitais s em preenchimento (bloco s), que podem ser subdivididos em elementos alcalinos e alcalino-terrosos. Os elementos do bloco d (elementos de transição) são igualmente metais. Muitos deles podem ter vários estados de oxidação, o que é um fator importante para a toxicidade dos seus compostos. Os elementos do bloco f, também conhecidos como elementos das terras raras, dividem-se em lantanídeos e actínídeos. Todos eles são igualmente metais. O grupo seguinte é o bloco p, que ocorre principalmente no lado direito da tabela periódica e representa um grupo misto de metais, metaloides e não metais. Destes são metais o Alumínio (Al), Gálio (Ga), Lantânio (In), Tl, Estanho (Sn), Pb, Cd, Bismuto (Bi), Telúrio (Te) e Polónio (Po) (Duffus, 2002; Sherameti & Varma, 2010).

Percebe-se a controvérsia associada ao termo metal pesado. Aparentemente deverá estar mais relacionado com as espécies químicas do que com a densidade específica. Desta

forma, os metais alcalinos e alcalino-terrosos são simplesmente metais e não, como o senso comum sugere, metais pesados. Autores sugerem três grupos a considerar na tabela periódica que devem ser considerados metais pesados:

- (1) Metais de transição (Titânio (Ti), Zircónio (Zr), Háfnio (Hf), Ruterfórdio (Rf), Vanádio (V), Nióbio (Nb), Tântalo (Ta), Crómio (Cr), Molibdénio (Mo), Tungsténio (W), Mn, Tecnécio (Tc), Rénio (Re), Ferro (Fe), Ruténio (Ru), Ósmio (Os) e Zn);
- (2) Lantanídeos e actinídeos;
- (3) Alguns elementos do grupo p que também são metais (Al, Ga, In, Tl, Sn, Pb, Antimónio (Sb), Bi e Po) ou elementos metalóides (Duffus, 2002; Sheraleti & Varma, 2010).

1.2.1. Mercúrio

O mercúrio é um elemento químico com número atómico 80 e massa molar 200,59. Pertence ao grupo 12 da tabela periódica, integrando a classe dos metais de transição. Tem sete isótopos naturais, podendo encontrar-se em três estados de oxidação (0, +1, +2) (Watt, 2004; Cunha, 2008). É o único metal líquido à temperatura ambiente, uma vez que o seu ponto de fusão é de -39°C , apresentando como propriedades a baixa resistividade elétrica, elevada tensão superficial, elevada condutividade térmica, uma uniforme expansão de volume ao longo da gama líquida e facilidade em formar ligas com outros metais (Álvarez-Caicoya et al., 2011; Nunes, 2009; Watt, 2004). O seu ponto de ebulição é de 356°C a 1 atm, a solubilidade é de $49,4 \times 10^{-6} \text{ g.L}^{-1}$ a 20°C (relativamente insolúvel na água) e a pressão de vapor de 0,180 Pa igualmente a 20°C . Estas características anormais são causadas pelas fracas ligações interatómicas, derivadas do núcleo ter uma força atrativa elevada relativamente aos seus eletrões de valência (Bank, 2012; Nunes, 2009).

O nome deste metal homenageia o Deus grego Mercúrio, que era Deus do comércio, trocas comerciais, roubo e mensageiro dos Deuses. O símbolo Hg vem do latim “*hydrargyrum*” (*hydor* significa água e *argyros* é o nome grego para prata) que significa água de prata (Bank, 2012; Cunha, 2008).

Tem tido variadas utilizações ao longo dos tempos, especialmente devido à sua elevada densidade. É usado em barómetros, manómetros, baterias, lâmpadas fluorescentes, interruptores, conversores de eletricidade, revestimento de submarinos e termómetros, uma vez que o Hg tem uma elevada taxa de expansão térmica que é constante durante as variações de temperatura (Álvarez-Caicoya et al., 2011; Bank, 2012; Cunha, 2008). É igualmente usado na indústria e na medicina há séculos. Industrialmente o Hg é utilizado na produção eletrolítica de cloreto de sódio a partir de cloreto de sódio (indústria cloro-alcali) e formulação de pesticidas, por exemplo (Cunha, 2008; Guilherme, 2007). Na medicina, era

bastante utilizado na desinfecção. Esta combinação única de propriedades tornam-no ideal para estras aplicações (Bank, 2012; Guilherme, 2007).

O Hg é um elemento natural encontrado na crosta terrestre, ar, solo e água, com uma abundância de $0,5 \mu\text{g.g}^{-1}$, é naturalmente libertado para o ambiente por fontes naturais (Meadows-Oliver, 2012; Nunes, 2009). As fontes naturais de Hg incluem: erupções vulcânicas, desgaseificação da crosta terrestre, emissões a partir da vegetação, das superfícies aquáticas e solo, fogos florestais, fontes geotérmicas e reemissão de Hg depositado. As contribuições variam no tempo e no espaço dependendo de vários fatores, tais como: existência ou não de atividades vulcânicas ou geotérmicas, formações geológicas com alta concentração de Hg, processos de troca entre os compartimentos ambientais e reemissão. O Hg elementar gasoso é predominante na maioria das emissões naturais, o que difere das emissões antropogénicas que podem também conter Hg gasoso reativo e particulado. (Liu, Cai & O'Driscoll, 2010; Nunes, 2009). Na Europa, os maiores depósitos naturais de Hg foram encontrados em Almadén (Espanha), Idria (Eslovénia) e Monte Amiata (Itália). Contudo, existem igualmente emissões de mercúrio por fontes antropogénicas. Assim, estimou-se que as emissões de todas as fontes (naturais e antropogénicas) são de cerca de 5000 a 6000 ton.ano^{-1} , das quais as fontes naturais contribuem com mais de 60% para o balanço global atmosférico. As emissões por queima de biomassa também têm uma contribuição de cerca de 675 ton.ano^{-1} . As emissões relacionadas com as fontes naturais dependem das concentrações de mercúrio existentes nos diversos compartimentos ambientais, das condições meteorológicas e do tipo de ocupação do território (Liu *et al.*, 2010; Nunes, 2009).

As emissões antropogénicas causaram uma contaminação mundial por Hg em diversos ecossistemas terrestres e aquáticos, com um aumento deste metal na atmosfera de duas a cinco vezes, desde o início da industrialização. Contudo, as emissões têm registado um decréscimo nas últimas três décadas (Liu *et al.*, 2010). Existe uma enorme variedade de fontes de emissão antropogénicas, que provocam a libertação de Hg para a atmosfera, que podem ser pontuais ou difusas. No tipo de emissões pontuais temos os processos de fabrico de metais ferrosos e não ferrosos, produção de substâncias químicas, processamento de minérios, fabrico de cimento e queima de carvão. Nas emissões difusas temos aterros, solos alterados pela descarga de esgotos e desperdícios de minas (Liu *et al.*, 2010; Nunes, 2009). Estimou-se que estas fontes contribuem com cerca de 2503 ton.ano^{-1} das emissões globais. Uma vez libertado para a atmosfera, o Hg pode ser transportado, transformado e depositado na superfície terrestre (Andrew & Nriagu, 1979; Nunes, 2009).

Em Portugal, a quantificação das emissões de Hg é efetuada no âmbito da Convenção sobre a Poluição Atmosférica Transfronteira a Longa Distância (CLRTAP), com base na qual anualmente é elaborado um relatório pela Agência Portuguesa do Ambiente (APA) onde

estão discriminadas as emissões deste metal, entre outros poluentes. De acordo com o último inventário nacional (2009), o total das emissões de Hg antropogénico foi estimado em 0,017 ton.Km⁻². As emissões por fontes naturais, não se encontram quantificadas (APA, 2012; Nunes, 2009). As maiores contribuições de Hg para a atmosfera provêm da produção de energia e da combustão industrial que utilizam o carvão e outros combustíveis fósseis (Hsi, Chen, Rostam-Abadi, Rood, Som, Carey & Chang, 1998; Nunes, 2009; Poissant, Dommergue & Ferrari, 2002).

1.2.2. Formas de Mercúrio

O mercúrio metálico existe na sua forma elementar e encontra-se em numerosos compostos químicos. Os seus sais orgânicos são conhecidos desde a antiguidade, mas os compostos de Hg orgânicos com ligações covalentes entre o ião Hg e o radical orgânico apenas foram descritos no século XIX (Aucot *et al.*, 2003; Grandjean, Satoh, Murata & Eto, 2010).

De uma forma geral existem três formas de apresentação de mercúrio, com solubilidade, reatividade e toxicidade características, sendo que as suas espécies químicas mais significativas podem ser classificadas da seguinte forma (Alloway, 1995; Bank, 2012; Cunha, 2008; Grigoletto *et al.*, 2008):

- **Compostos voláteis: Hg⁰, (CH₃)₂Hg**

O dimetilmercúrio ((CH₃)₂Hg) é significativamente mais tóxico que o mercúrio elementar no que respeita à ingestão e encontra-se na atmosfera em concentrações negligenciáveis. Contudo, pensa-se ser ubíquo nas profundezas oceânicas (Alloway, 1995; Bank, 2012; Cunha, 2008).

- **Compostos reativos inorgânicos: HgX₂, HgX³⁻, HgX⁴⁻ com X=OH⁻, Cl⁻ e Br⁻; HgO e partículas de aerossol, Hg²⁺ complexado com ácidos orgânicos.**

Estes compostos formam-se a partir da reação dos iões (Hg⁺ e Hg²⁺) com compostos inorgânicos, apresentando-se normalmente como pó branco ou cristais. São instáveis e quando expostos à luz e ao calor rapidamente se convertem em mercúrio elementar (Nunes, 2009).

- **Espécies não reativas: Metilmercúrio (CH₃Hg⁺, C₂H₅Hg⁺, CH₃HgCl, CH₃HgOH) e outros compostos organomercúriados; Hg(CN)₂, HgS, Hg²⁺ ligados a átomos de S em húmus.**

Os compostos de mercúrio orgânicos formam-se através de ligações covalentes com carbono e enxofre. Esta ligação é quimicamente estável, não sendo quebrada por água, ácidos ou bases fracas. Podem ainda possuir ligações com um ou dois carbonos (radicais orgânicos arilo ou alquilo) e um qualquer anião. Se o anião for um nitrilo ou um sulfato, a

ligação terá um caráter iónico polar e são, por isso, mais solúveis em água. Se, por outro lado, o anião for um cloreto, este composto terá um caráter covalente e será pouco polar, sendo mais solúvel em compostos orgânicos do que em água (Baêta, 2004; Nunes, 2009).

O metilmercúrio (CH_3Hg^+) é bastante tóxico após ingestão e acumula-se rapidamente na cadeia alimentar. Este composto não é detetável nos oceanos com exceção do oceano pacífico equatorial (Alloway, 1995; Bank, 2012). A conversão derivada do mercúrio inorgânico é efetuada por biometilação em microrganismos (bactérias metanogénicas) encontrados em sedimentos (Cunha, 2008).

O etilmercúrio ($\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg}^+$) tem algumas semelhanças químicas com o metilmercúrio, mas é metabolizado mais rapidamente em mercúrio inorgânico no organismo (Cunha, 2008).

1.2.3. O Ciclo Biogeoquímico do Mercúrio

A circulação e a interação dos elementos entre os diferentes compartimentos ambientais (bióticos e abióticos) que resultam em processos de transferência ou transformação (químicos, físicos e biológicos), de matéria e energia é chamada de ciclo biogeoquímico. Após a libertação no ambiente, os elementos podem sofrer várias reações bióticas (metilação, oxidação, redução) ou abióticas (dissolução, precipitação, hidrólise), gerando novas espécies químicas que afetam o seu grau de disponibilidade para os organismos (Válega, 2009). O ciclo do mercúrio (figura 1) envolve os quatro compartimentos ambientais, todos ligados entre si, sendo eles o compartimento atmosférico, aquático, terrestre e biótico. Devido às suas características químicas, o mercúrio move-se através dos vários compartimentos ambientais mudando de forma e espécie ao longo do processo (Nunes, 2009).

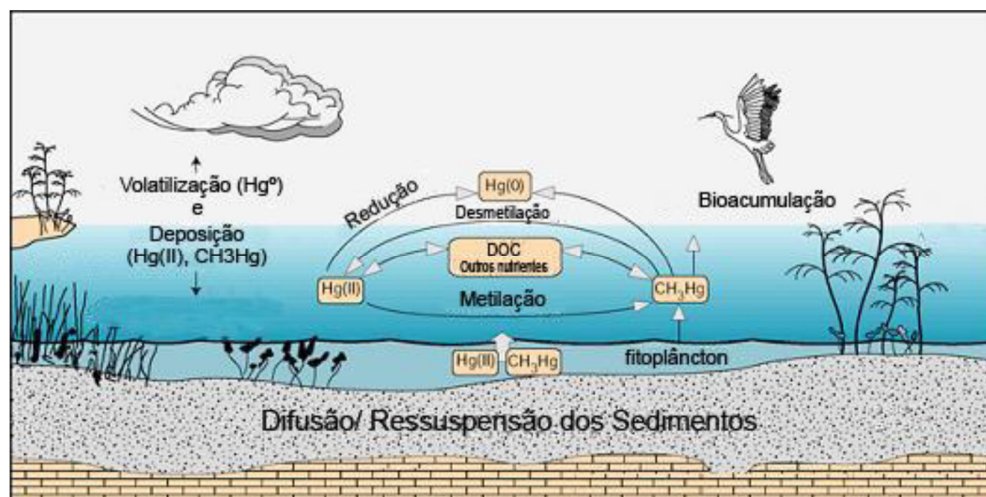


Figura 1: Representação esquemática do ciclo biogeoquímico do mercúrio (Oliveira, 2011).

Compartimento Atmosférico

O mercúrio libertado para a atmosfera, a partir das várias fontes, na forma de Hg^0 sofre oxidação na interface sólido-líquido (neblina, gotículas de chuva) e através de reações mediadas pelo ozono, raios ultra violetas ou outros oxidantes atmosféricos, transforma-se em Hg^{2+} . Este retorna ao ambiente aquático e terrestre através da água da chuva, aerossóis ou absorvido em pequenas partículas, enquanto que o Hg^0 pode ser transportado a grandes distâncias, devido ao tempo que o mercúrio permanece na atmosfera (Almeida, 2011; Baêta, 2004; Marques, 2010; Nunes, 2009). Cerca de 95% do mercúrio atmosférico total corresponde ao estado elementar gasoso, o qual consegue permanecer durante cerca de um ano na atmosfera (Almeida, 2011).

Compartimento terrestre

As principais espécies de mercúrio encontradas neste compartimento são compostos Hg -óxidos de ferro, Hg -matéria orgânica, Hg -óxidos de manganês, sendo estas as espécies predominantes devido à oxidação de sulfureto a sulfato, redução do ferro e/ou manganês, presentes nos óxidos hidratados, Hg^0 , $HgCl_2$, $Hg(OH)_2$, $HgCl_4^{2-}$, $HgCl_3^-$, HgS_2H^- , HgS_2^{2-} , complexos com diversos ligandos orgânicos, HgS ou Hg adsorvido à superfície de sulfuretos minerais (Marques, 2010).

Compartimento aquático

No ambiente aquático, o Hg^{2+} é adsorvido preferencialmente na superfície dos sedimentos, ácidos húmicos, material particulado e argilas por processos de coprecipitação e correção (HgS , $Hg(OH)_2$, $HgCl_2$) (Baêta, 2004; Marques, 2010; Válega, 2009). O mercúrio elementar, o metilmercúrio ou o dimetilmercúrio formam complexos com ligando orgânicos, formando compostos com ligações covalentes C-Hg e complexos não lábeis de Hg com matéria

orgânica. Podem ainda, ser encontrados precipitados contendo mercúrio (HgS) (Marques, 2010). Contudo, a forma química do mercúrio é fortemente influenciada pelo pH e pelo potencial de oxidação-redução, bem como pelas concentrações de compostos inorgânicos e orgânicos (Almeida, 2011).

Neste ciclo, as águas naturais encontram-se frequentemente saturadas com Hg^0 relativamente ao ar, o que resulta num fluxo deste metal elementar da água para a atmosfera, por volatilização (Almeida, 2011).

Compartimento biótico

Bactérias, incluindo as redutoras de sulfato, transformam o Hg^{2+} por metilação em metilmercúrio (CH_3Hg^+) e dimetilmercúrio ($(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$) na interface água-sedimento e também, no perifiton das macrófitas aquáticas (Baêta, 2004; Marques, 2010; Válega, 2009). Por outro lado, a hidrólise do metilmercúrio é termodinamicamente favorável, mas cineticamente impedida, permanecendo este composto estável nas soluções aquosas (Almeida, 2011). O CH_3Hg^+ é rapidamente absorvido pelos organismos marinhos e, desta forma, será bioacumulado ao longo da cadeia trófica. Em menor extensão, o CH_3Hg^+ é também desmetilado, por microrganismos ou por processos fotoquímicos, a Hg^{2+} e posteriormente reduzido a Hg^0 retornando à atmosfera e diminuindo a toxicidade nestes ambientes (Almeida, 2011; Baêta, 2004; Marques, 2010; Válega, 2009).

O mercúrio é convertido em formas químicas e estados de oxidação diferentes dentro dos organismos. Através de processos enzimáticos, o mercúrio elementar pode ser oxidado a outras formas inorgânicas, bem como, compostos de mercúrio orgânico podem ser convertidos em mercúrio inorgânico. Os efeitos adversos dependerão da forma química do mercúrio incorporado, da via de exposição (inalação, ingestão e contacto dérmico) e da intensidade da exposição, uma vez que o metilmercúrio é acumulado por peixes e mamíferos marinhos, podendo a sua concentração ser bastante superior em espécies predadoras do topo da cadeia alimentar, relativamente aos valores encontrados na água e no fitoplâncton (Baêta, 2004; Oliveira, 2011).

1.2.4. Toxicocinética do Mercúrio

A toxicidade do mercúrio é causada, principalmente, pelo facto deste metal entrar no organismo e reagir com diferentes enzimas, inibindo a catálise de reações metabólicas básicas, não tendo por isso, nenhuma função fisiológica benéfica (Branco, Canário, Lu, Holmgren & Carvalho, 2012; OPAS/OMS, 2011; Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003). A exposição ao mercúrio pode ocorrer através da inalação do ar ambiente, em que a absorção é efetuada principalmente por via pulmonar, ingestão de alimentos contaminados, água ou

solos, ou contacto dérmico com objetos que contenham este metal (Meadows-Oliver, 2012; Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003; Rocha, 2009).

Em saúde ocupacional, a via inalatória é a mais importante e, tanto o mercúrio elementar como o inorgânico e seus compostos podem alcançar o sangue, por esta via com uma eficiência de 80%. No caso da via dérmica, não está demonstrado que haja uma influência importante do ponto de vista da saúde ocupacional (Ramírez, 2008).

Os vários tipos de Hg podem ser absorvidos e excretados de forma diferente (figura 2) (Meadows-Oliver, 2012).

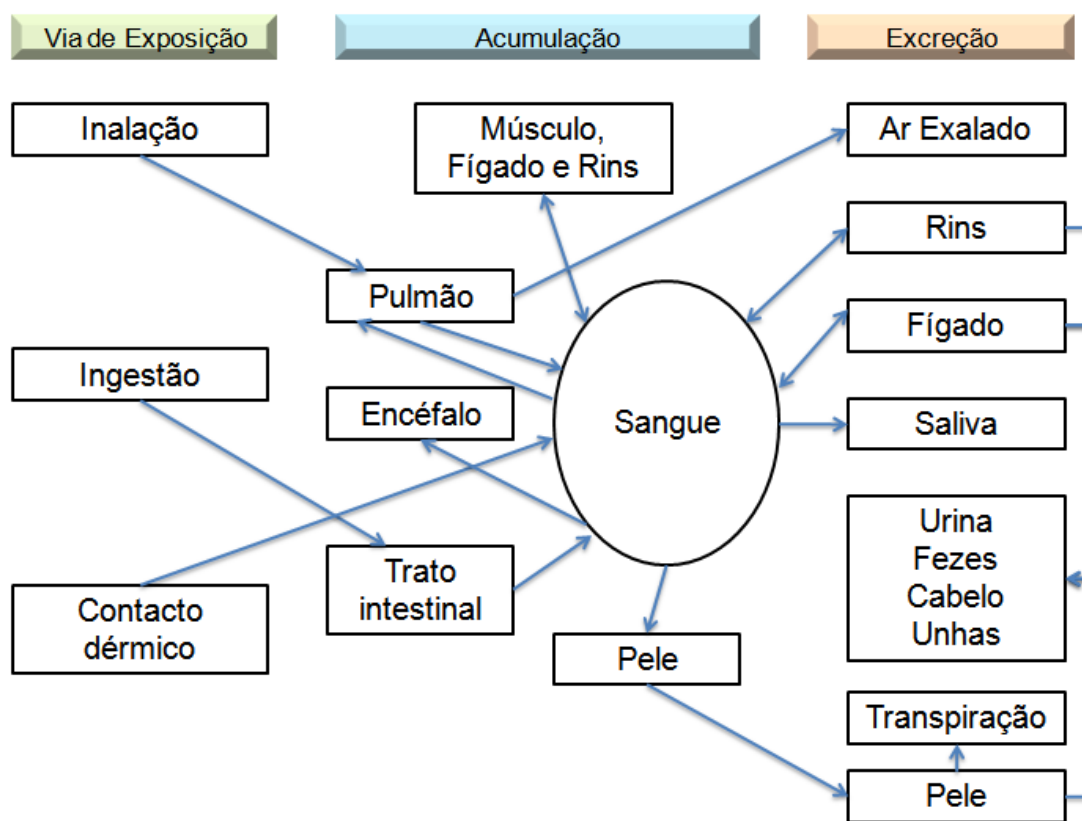


Figura 2: Modelo toxicocinético do mercúrio (Adaptado de Ramírez, 2008).

Toxicocinética do mercúrio metálico

Quando o mercúrio metálico entra no corpo humano, é principalmente absorvido pela inspiração de vapores de mercúrio (Meadows-Oliver, 2012). A percentagem de retenção nos pulmões varia de 74% a 76% tendo em conta uma concentração ambiental de $100 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ (Rocha, 2009). Uma vez absorvido pelos pulmões, é distribuído por todos os tecidos do organismo através da corrente sanguínea, acumulando-se nos rins, sistema nervoso central (sistema para o qual tem maior afinidade), fígado, medula óssea, vias aéreas superiores,

parede intestinal, pele, glândulas salivares, coração, músculos, placenta e testículos (Klaassen, 2001; Meadows-Oliver, 2012; OPAS/OMS, 2011; Rocha, 2009). Esta forma de mercúrio tem muito pouca absorção no corpo através do contacto com a pele ou pela ingestão, e aquele que é ingerido passa pelo organismo quase sem ser absorvido (Meadows-Oliver, 2012).

O mercúrio elementar é excretado através da urina, fezes, ar exalado, transpiração e saliva. As variações na forma de excreção, dependem do grau de oxidação do metal. Usualmente, a excreção fecal está associada com exposições de baixo nível, enquanto que uma exposição de nível elevado relaciona-se com a excreção por via urinária (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003). A maior parte é excretada em 60 dias, mas uma pequena parte acumula-se no cérebro e pode demorar até um ano para ser eliminado (OPAS/OMS, 2011).

Toxicocinética do mercúrio orgânico

O mercúrio orgânico é rapidamente absorvido a partir do trato gastrointestinal, onde cerca de 95% é absorvido, a partir de peixe ingerido (Meadows-Oliver, 2012). A exposição por via inalatória é limitada e a percentagem de absorção dérmica é de 3% a 5% (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003). É distribuído em todos os tecidos do organismo em cerca de 30 horas. Cerca de 10% desta forma absorvida é distribuída para o cérebro, particularmente para o córtex posterior, 5% permanece no sangue, e o resto pode ser distribuído nos outros sistemas do corpo (Klaassen, 2001; Meadows-Oliver, 2012).

Cerca de 90% é excretado nas fezes e o restante na urina e leite materno (Meadows-Oliver, 2012; Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003). O metilmercúrio tem um tempo de meia vida no corpo humano de 45 a 70 dias (Meadows-Oliver, 2012).

Toxicocinética do mercúrio Inorgânico

O mercúrio inorgânico é absorvido de forma fraca pelo trato gastrointestinal, mas depende da espécie envolvida no processo, uma vez que a absorção decresce com a diminuição da solubilidade (Meadows-Oliver, 2012; Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003). Desta forma, apenas cerca de 7 a 15% do mercúrio inorgânico ingerido é absorvido (Meadows-Oliver, 2012). Não existem registos de absorção destas formas de mercúrio por via dérmica (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003).

Uma pequena porção daquilo que é absorvido pode ser exalada como vapor de mercúrio (Meadows-Oliver, 2012). A maior proporção de mercúrio inorgânico é encontrada nos rins, fígado, trato intestinal, pele, baço e testículos, e é principalmente excretado pelo cabelo, na urina, em caso de exposição aguda, nas fezes, após excreção pela vesícula biliar e pelas células epiteliais (Bartell, Ponce, Sanga, & Faustman, 2000; Meadows-Oliver, 2012; OPAS/OMS, 2011; Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003; Rocha, 2009). Inicialmente, as

concentrações no sangue diminuem, durante uma fase de eliminação relativamente rápida. Esta, é seguida de uma fase de eliminação mais lenta, com um tempo de meia vida de cerca de 2 meses (Besser, 2009, Meadows-Oliver, 2012).

1.2.5. Toxicodinâmica do Mercúrio

Este metal é tóxico porque precipita as proteínas sintetizadas pelas células, principalmente as neuronais e porque se liga aos grupos tiol (-SH) e selenol (-SeH) de vários enzimas, inibindo-as (Ramírez, 2008). No estado iónico, através de ligações covalentes com o enxofre, forma mercaptídeos, alterando a solubilidade, a dissociação e afinidade relativa para os recetores. Interfere, assim, com vários sistemas metabólicos e enzimáticos das células, com a membrana celular e a síntese de proteínas mitocondriais, afetando a produção de ATP (Cunha, 2008; Ramírez, 2008).

No rim, diminui a atividade das fosfatases alcalinas dos túbulos proximais e altera o transporte de potássio e da ATPase membranar (Ramírez, 2008).

No encéfalo, os neurónios do cérebro e do cerebelo são as zonas mais sensíveis, onde se verifica um aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (Cunha, 2008; Ramírez, 2008).

O mercúrio iónico induz o *stress* oxidativo e como consequência, o mercúrio origina uma diminuição dos níveis de glutatióno, catalases plasmáticas, colinesterase eritrocitária, glutatióno redutase eritrocitária e cerebral, galactosidase, dopadescarboxilase, monoaminoxidase, glicerofosfatase, succindesidrogenase e di e trifosfato-piridina-nucleótido, o que confere um défice na despolarização da membrana interna mitocondrial, com consequente aumento de peróxido de hidrogénio. Provoca a lipoperoxidação levando ao aumento da permeabilidade membranar (Cunha, 2008; Ramírez, 2008).

Por todas estas interações, e uma vez que o mercúrio pode causar lesões celulares em qualquer tecido onde se acumule em concentração suficiente, provoca igualmente alterações do DNA, DNA polimerase e síntese proteica, desregulação do sistema imunitário e mudança da homeostase do cálcio (Cunha, 2008; Ramírez, 2008; Rocha, 2009). Em vários órgãos incluindo o rim, o mercúrio induz a formação de metalotioninas, um polipéptido sequestrador de Hg^{2+} (Ramírez, 2008).

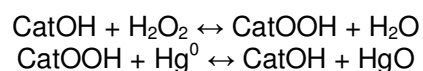
A biotransformação do mercúrio realiza-se por quatro vias:

- a) Por oxidação do vapor de mercúrio metálico a mercúrio divalente. Esta é mediada pela catalase do peróxido de hidrogénio nos peroxissomas e determina o tempo de permanência do vapor inalado (crucial para alcançar locais sensíveis), ao diminuir a sua lipossolubilidade e, portanto, a sua toxicidade. Contudo, a tendência de

- bioacumulação aumenta quando esta oxidação se realiza nos tecidos (Frieberg, Nordberg & Vouk, 1979; Ramírez, 2008).
- b) Por redução do mercúrio divalente a mercúrio metálico, mediada pelo sistema xantina oxidase (Frieberg *et al.*, 1979; Ramírez, 2008).
 - c) Por metilação do mercúrio inorgânico, apesar de se desconhecer o local exato onde esta ocorre. Contudo, o local mais provável será o fígado (Frieberg *et al.*, 1979; Ramírez, 2008).
 - d) Por conversão do metilmercúrio em mercúrio inorgânico. No caso da exposição laboral crónica conhece-se o processo de biodesmetilação em vários tecidos, mas é no fígado que se realiza em maior proporção (Frieberg *et al.*, 1979; Ramírez, 2008).

Toxicodinâmica do mercúrio metálico

Entra facilmente nos tecidos e nos glóbulos vermelhos onde é oxidado, com mediação de uma catalase, de acordo com as reações seguintes (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003):



Uma das suas ações tóxicas está relacionada com a ligação a grupos ativos do enzima monoaminoxidase (MAO), resultando na acumulação de serotonina endógena e diminuição do ácido 5-hidroxi indolacético, provocando, por isso, manifestações de distúrbios neuronais (Jesus, 2011).

Toxicodinâmica do mercúrio orgânico

Usando os glóbulos vermelhos, penetra a barreira hematoencefálica e inibe diversos enzimas associados à glicólise e mecanismos de síntese proteica (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003). Tendo em conta a elevada lipossolubilidade do metilmercúrio, este direciona-se para a mielina, onde inibe eficazmente a excitabilidade neuronal (Rocha, 2009). Para que ocorra divisão e migração celular de forma normal, são necessários microtúbulos. Uma vez que estes são um alvo primário do metilmercúrio, esta função é altamente afetada no que diz respeito à interrupção do desenvolvimento do sistema nervoso. A principal ação do metilmercúrio é inibir os recetores do neurotransmissor do ácido gama-aminobutírico (GABA) localizados na membrana das células de Purkinje e nos neurónios do cérebro (Rocha, 2009). Uma outra, é a capacidade de lesar mitocôndrias provocando alterações nos complexos da cadeia respiratória, com anomalias nos ribossomas com uma queda da síntese de RNA, DNA e de proteínas (Paletti, 1999).

O etilmercúrio atua ao nível dos recetores do glutamato e transportadores localizados nas membranas das células neuronais do cérebro em desenvolvimento e hidroliza-se no fígado,

produzindo mercúrio divalente e benzeno (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003; Rocha, 2009). Provoca igualmente uma diminuição dos anticorpos humorais, havendo um estímulo da resposta imunitária ocasionada por curtas exposições. Também pode ter ações ao nível do DNA provocando desnaturalização ou ações reversíveis da adenina e timina, que podem dar origem a alterações cromossómicas e defeitos congénitos (OPAS/OMS, 2011).

Toxicodinâmica do mercúrio inorgânico

Por causa da sua elevada afinidade química com grupos –SH, das proteínas, inibe a ação enzimática. Isto tem um efeito no metabolismo dos aminoácidos no cérebro e bloqueia as funções da membrana celular, devido à sua relação química com estes grupos. Mas, existem igualmente estudos que indicam a redução de mercúrio inorgânico à sua forma elementar (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003).

O cloreto de mercúrio (HgCl_2) pode causar a despolarização da membrana interna da mitocôndria, com conseqüente aumento da formação de peróxido de hidrogénio. Sabe-se igualmente que as alterações provocadas pelo mercúrio na homeostasia mitocondrial do cálcio podem aumentar o stress oxidativo induzido pelo Hg^{2+} , nas células renais. Como resultado do aumento da formação de radicais livres e peroxidação lipídica, o dano oxidativo no rim pode originar numerosas alterações bioquímicas, incluindo a excreção em excesso de porfirinas na urina. Por outro lado, ao ligar-se aos grupos tiol das proteínas de transporte do ião cálcio (Ca^{2+}) provoca a inibição da contração muscular e ao aumento da inibição neuronal (Rocha, 2009).

1.2.6. Efeitos para a saúde humana

Os efeitos para a saúde que podem resultar da exposição a mercúrio variam na magnitude, dose e duração da exposição. As crianças são mais sensíveis que os adultos, o que resulta numa maior dose deste metal por unidade de peso corporal. Além disso, as crianças desenvolvem variadas atividades no solo onde os valores de vapor de mercúrio são mais elevados (Besser, 2009). A intoxicação por exposição ocupacional ao mercúrio não é necessariamente causada por exposição a quantidades elevadas de mercúrio no ambiente laboral, mas também pode ocorrer com níveis baixos de exposição (Ramírez, 2008).

No geral, os efeitos da exposição de mercúrio para a saúde são:

- **Síndromes neurológicas:** Constituem o quadro clássico de mercurialismo. Numa primeira fase, é evidenciado por irritabilidade, insónias, sono agitado, medo, debilidade muscular, perda de memória, timidez excessiva, suscetibilidade emocional, hiperexcitabilidade ou depressão produzidas por danos nos centros corticais do sistema nervoso central, que podem levar a encefalite, condicionante do

- síndrome psico-orgânico crónico e definitivo, que termina na demência da pessoa. São igualmente sinais de danos neurológicos tremores, ataxia, dificuldades na marcha, que são muitas vezes confundidas com a doença de Parkinson. O tremor relaciona-se com a gravidade da intoxicação e com a concentração de mercúrio nos tecidos. Histologicamente, encontra-se degeneração axonal e alterações motoras e sensitivas (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003; Ramírez, 2008).
- **Síndromes Renais:** Foram descritas lesões glomerulares de vários tipos, desde lesão mínima de aspeto semelhante a nefrose lipoide, até glomerulonefrite proliferativa extracapilar, com proliferação do epitélio da cápsula de Bowman e glomerulonefrite extramembranar. O sistema imunitário é o primeiro a ser afetado, seguido dos danos renais (Ramírez, 2008).
 - **Síndromes oftalmológicas:** Como sinal precoce de intoxicação descrevem-se casos isolados de escotomas anulares e centrais e visão tubular (restrição concêntrica do campo visual). Pode haver nistagmos e cegueira (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003; Ramírez, 2008). Nos exames com lâmpada de fenda, e também como sinal inicial de intoxicação, podem-se encontrar sinais de Atkinson, reflexo acastanhado bilateral e simétrico na cápsula anterior do cristalino, que não afeta a visão. Pode igualmente ocorrer rinite e conjuntivite causadas por ação irritante direta do mercúrio (Ramírez, 2008).
 - **Síndromes dermatológicas:** Dermatite de contacto localizada nas mãos, antebraços ou cara e lesões hiperqueratósicas que podem levar a úlceras; e, em exposição crónica, alopecia reversível (Ramírez, 2008).

É importante fazer uma subdivisão entre exposição crónica e aguda, uma vez que, ambas têm consequências diferentes. Na aguda, a exposição dá-se num curto período de tempo e em elevadas concentrações de substância, já na crónica, as exposições repetem-se durante um período prolongado de tempo (meses, anos ou ao longo da vida) a baixas concentrações, ocorrendo acumulação da substância tóxica no organismo (OPAS/OMS, 2011).

Exposição Aguda

Os efeitos para a saúde provenientes da inalação de elevadas concentrações de mercúrio são inicialmente respiratórios. Estes podem incluir pneumonite, bronquiolite, edema pulmonar e morte (Besser, 2009; Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003). Pode dar origem a efeitos cardiovasculares, gastrointestinais e neurológicos como falta de ar, dor torácica, tosse, náuseas, vómitos e diarreia (Besser, 2009).

Exposição crónica

A exposição durante períodos prolongados pode causar efeitos neuro-comportamentais, incluindo alterações de humor, tremores, ansiedade, distúrbios no sono e depressão (Besser, 2009; Järup, 2003, Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003). Estes sintomas são reversíveis após cessação da exposição (Järup, 2003). Pode ainda causar hipertensão e disfunções do sistema nervoso autónomo (Järup, 2003; Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003).

Existe igualmente a associação com doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer ou Parkinson (Cunha, 2008).

Por outro lado, os efeitos deste tóxico variam de acordo com a espécie química a que a população está exposta.

Efeitos provocados pela exposição a mercúrio metálico

A inalação é a principal fonte de absorção do mercúrio elementar, sendo rapidamente absorvido pelas membranas alveolares até entrar na circulação sanguínea e difundir-se através da barreira hematoencefálica (OPAS/OMS, 2011).

Os distúrbios neurológicos e comportamentais têm sido relatados como os primeiros sinais da intoxicação que incluem: diminuição da memória ou no desempenho de testes de função cognitiva, labilidade emocional, irritabilidade, excitação, timidez excessiva, diminuição da autoconfiança, nervosismo, insónia; alterações neuromusculares (fraqueza, atrofia muscular ou espasmos musculares), tremores, inicialmente afetando as mãos; polineuropatia (parestesia, perda sensorial de extremidades, hiperreflexia, diminuição da velocidade de condução nervosa sensorial e motora) (OPAS/OMS, 2011). Estudos atuais apoiam que a exposição a vapores de mercúrio induz a um quadro subclínico de danos na visão das cores, inclusive nos locais de trabalho com indicadores de exposição menores que o limite atual (Ramírez, 2008).

Por outro lado, existe uma associação entre o risco de doenças cardiovasculares, onde há uma relação entre concentrações de mercúrio metálico e enfarte do miocárdio (Cunha, 2008).

A exposição a esta forma de mercúrio não produz cancro nem teratogenicidade (Ramírez, 2008). Contudo, alguns estudos sugerem que o Hg^0 pode causar toxicidade reprodutiva, mas a maioria deles indica que a exposição humana em longo prazo não afeta a capacidade reprodutiva (OPAS/OMS, 2011).

Na tabela 1 podemos verificar quais as concentrações associadas a registo de sintomas associados à exposição a esta forma química de mercúrio.

Tabela 1: Concentrações mercúrio metálico que provocam efeitos no organismo humano (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003).

Concentração	Sintoma
<10 $\mu\text{g Hg.m}^{-3}$ no ar	Não se registam sintomas
10-50 $\mu\text{g Hg.m}^{-3}$ no ar	Microexposição
60-100 $\mu\text{g Hg.m}^{-3}$ no ar	Mercurialismo
100-270 $\mu\text{g Hg.m}^{-3}$ no ar	Sistema nervoso central
10-70 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (m/m)	Afeções renais
70-140 $\mu\text{g.L}^{-1}$ no sangue	Registo de sintomas de mercurialismo
300-600 $\mu\text{g.L}^{-1}$ na urina	Registo de sintomas de mercurialismo

Mercúrio Inorgânico

Especificamente o cloreto de mercúrio contido em alguns antissépticos aumenta o colesterol, pelo que, a exposição a este composto pode aumentar o risco ateromatoso em patologia preexistente da aorta (Ramírez, 2008).

A exposição a sais de pode originar acrodinia, reações de hipersensibilidade caracterizadas por descamação, cor rosa na bochechas e planta dos pés e palma das mãos, fotofobia, sudorese, irritabilidade e insónias, sabor metálico, gastroenterite e estomatite (Cunha, 2008; Ramírez, 2008).

O mercúrio inorgânico tem uma menor capacidade de atravessar a barreira placentária sendo encontrado em maior quantidade no líquido amniótico. É igualmente transportado pelo leite materno (Cunha, 2008).

A exposição a esta forma de mercúrio não produz cancro nem teratogenicidade e não está associada a afeções do sistema nervoso central devido à incapacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (Järup, 2003; Ramírez, 2008).

O mercúrio metálico pode causar lesões no fígado que são reversíveis após a cessação da exposição (Järup, 2003).

Os danos nos rins são igualmente comuns na exposição a Hg^{2+} (OPAS/OMS, 2011).

Na tabela 2 podemos verificar quais as concentrações associadas a registo de sintomas associados à exposição a esta forma química de mercúrio.

Tabela 2: Concentrações mercúrio inorgânico que provocam efeitos no organismo humano (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003).

Concentração	Sintoma
10-50 $\mu\text{g Hg.m}^{-3}$ no ar	Micromercurialismo
>100 $\mu\text{g Hg.m}^{-3}$ no ar	Mercurialismo crónico
10-40 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (m/m)	Danos temporários nos rins
>100 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (m/m)	Danos graves nos rins

Mercúrio orgânico

A exposição a esta forma de mercúrio produz cancro e teratogenicidade (aneuploidia, alterações cromossómicas variada, mal formações congénitas, aborto), como aumento da incidência de leucemia; aumento da incidência de cancro do fígado (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003; Ramírez, 2008).

A exposição pré-natal a compostos de mercúrio orgânico leva a defeitos no desenvolvimento cerebral mais intensos à medida que a exposição é mais elevada, onde existem registos de paralisia cerebral severa e microcefalia nos descendentes (Cunha, 2008).

Estão descritos diversos efeitos neurotóxicos relacionados com a exposição a metilmercúrio, nomeadamente ao nível da destreza e coordenação manual e fadiga muscular. A intoxicação por metilmercúrio caracteriza-se por ataxia (perda de coordenação dos movimentos voluntários), disartria (problemas na articulação das palavras), parestesia (perda da sensibilidade nas extremidades e em torno da boca), visão em túnel (constricção do campo visual) e perda da audição. Uma contaminação severa pode causar cegueira, coma e morte. Este metal quando presente numa mulher grávida, é transferido para a placenta e transportado para o feto (Cunha, 2008).

O mercúrio pode influenciar o estado hormonal (o eixo hipotálamo-hipofisário), podendo ser responsável por ciclos menstruais irregulares e menor número de ovulações. Estudos epidemiológicos relacionam os efeitos do mercúrio com problemas reprodutivos (Cunha, 2008).

Na exposição a fenilmercúrio verificam-se os mesmos efeitos que os descritos no caso da exposição a sais de mercúrio inorgânico (Ramírez, 2008).

Na tabela 3 podemos verificar quais as concentrações associadas a registo de sintomas associados à exposição a esta forma química de mercúrio.

Tabela 3: Concentrações mercúrio orgânico que provocam efeitos no organismo humano (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003).

Concentração	Sintoma
>6 mg.L ⁻¹ na urina	Registo de sintomas de mercurialismo
< 1250 mg de sais	Registo de distúrbios gastrointestinais

1.2.7. Mecanismos de Destoxificação

Os organismos biológicos possuem diversos mecanismos de resposta a tóxicos. Os mecanismos de destoxificação representam uma resposta celular à exposição a tóxicos e

pode envolver a conjugação com diversas moléculas. Outros mecanismos, podem tornar-los menos tóxico ou mais facilmente elimináveis (Aito, 1978; Mattison & Thomford, 1989).

Uma das formas de destoxificação do mercúrio orgânico é a complexação com o glutatíon. Assim, o complexo mercúrio-glutatíon é secretado para a bÍlis, sendo o glutatíon o tiol intracelular mais abundante e o maior antioxidante em células humanas (Ballatoni, 2007; Clarkson, Vyas & Carvalho, Chew, Hashemy, Lu & Holmyren, 2008). A estrutura do complexo glutatíon com o metal (GS-Hg-SG) é similar ao do glutatíon oxidado (GSSG), tendo capacidade para passar a membrana celular dos hepatócitos (Clarkson *et al.*, 2007). Esta reação pode ocorrer espontaneamente ou ser facilitada pela glutatíon s-transferase (Casarett & Dolls, 2001). A entrada do mercúrio nas células renais também pode envolver o transporte de membranas de complexos de tiol, nomeadamente com a metionina (Casarett & Dolls, 2001; Clarkson *et al.*, 2007).

No caso do metilmercúrio, são conhecidos dois mecanismos de destoxificação. Um, entra na célula formando um complexo com a cisteína e homocisteína através dos transportadores de aminoácidos. No outro, sai da célula complexado com o glutatíon nos seus transportadores endógenos (Clarkson *et al.*, 2007).

No primeiro mecanismo, a elevada mobilidade de metilmercúrio no organismo é devida à formação de complexos de tiol com baixo peso molecular que são transportados através das membranas, à semelhança do que acontece com o mercúrio orgânico. Contudo, a ligação do metilmercúrio aos ligandos de tiol na cisteína resulta num complexo cuja estrutura nas células é a metionina. Como resultado, o complexo metilmercúrio-cisteína entra nas células através dos transportadores de aminoácidos, sendo excretado pelo sistema gastro intestinal (figura 3) (Carvalho *et al.*, 2008; Clarkson *et al.*, 2007).

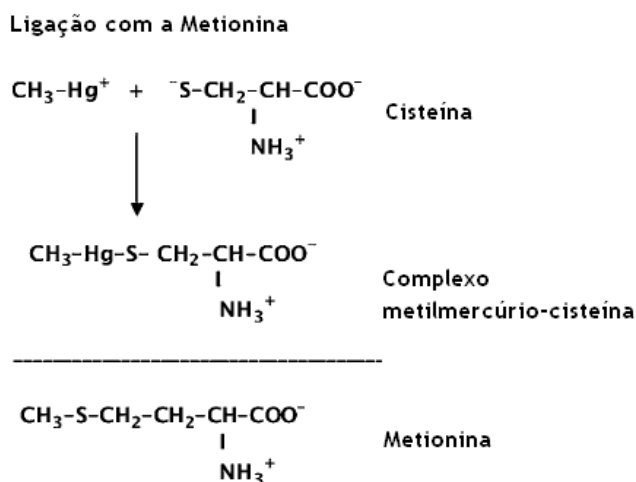


Figura 3: Fórmula química do complexo metilmercúrio com o aminoácido de cisteína, resultando na formação de metionina (Clarkson *et al.*, 2007).

No segundo mecanismo, o metilmercúrio sai das células do fígado para a biliar através de um complexo com o glutatióno nos seus transportadores endógenos. Durante a passagem pela vesícula biliar, o complexo metilHg-GSH é hidrolisado pela gama-glutamyl-transpeptidase e enzimas dipeptidases, com o objetivo de libertar os seus aminoácidos constituintes e o metilmercúrio complexado com a cisteína (Clarkson *et al.*, 2007).

O mecanismo de eliminação do mercúrio inorgânico envolve o selénio que é um micronutriente essencial para as funções biológicas e bioquímicas que está relacionado com as selenoproteínas como a glutatióno peroxidase e tem propriedades antioxidantes únicas (Chen, Hongwei, Zhao, Li, Qu, Liu, Zhang & Chai, 2006; Yoneda & Suzuki, 1996). Formam-se complexos contendo selénio e mercúrio (Hg-Se-selenoproteína P) no plasma e nas células vermelhas do sangue restringindo a toxicidade aguda do mercúrio inorgânico, prevenindo que a sua forma atinja os tecidos alvo. Em seguida, o complexo é transportado no plasma ligado à albumina e ao atingir o fígado passa a integrar os processos de síntese de selenoproteínas, que são proteínas que contem selénio na forma de selenocisteína ou selenometionina, como o glutatióno, glutatióno peroxidase e selenoproteína P. O excesso de selénio ingerido na dieta seguirá a rota para excreção urinária. Na presença de mercúrio no plasma, o Se^{2-} formado no eritrócito forma uma forte ligação com este metal e em seguida este complexo liga-se à Selenoproteína P, alterando a distribuição de mercúrio nos órgãos alvos e especialmente reduzindo sua acumulação nos rins (figura 4) (Chen *et al.*, 2006; Gailer, 2002; Yoneda & Suzuki, 1996). Após a formação do complexo, o selénio é reduzido pelo sistema dependente do glutatióno e com intervenção das metalotioninas, onde os resíduos de cisteína se ligam ao mercúrio através dos grupos sulfídricos presentes na proteína que é capaz de captar 7, 12 ou 18 átomos de metais dos grupos 11 e 12 da tabela periódica (Chen *et al.*, 2006; Gailer, 2002; Peixoto, 2006; Yoneda & Suzuki, 1996).

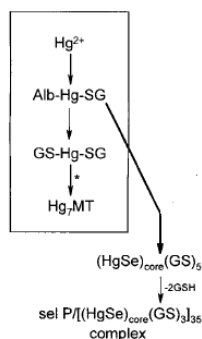


Figura 4: Esquema do metabolismo do mercúrio (Hg^{2+}). A reação assinalada com * ocorre no fígado. As restantes ocorrem no sangue (Abreviaturas: GS – Glutatióno, Alb – Albumina, MT – Metalotionina, SelP – Selenoproteína P) (Gailer, 2002).

1.2.8. Formas de tratamento

Existem vários elementos protetores dos efeitos do mercúrio no organismo. Contudo, no caso de intoxicações graves, o tratamento farmacológico depende da espécie química que causa o envenenamento.

Mercúrio metálico

A vitamina E é reportada como sendo um agente protetor. Adicionalmente, o etanol reduz a capacidade de absorção do mercúrio elementar pelo organismo humano, possivelmente pela supressão da atividade da catalase, que o oxida para produzir mercúrio divalente. O telúrio também parece ter um papel de proteção (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003).

No que diz respeito a tratamentos farmacológicos para o mercurialismo recomenda-se 2,3-dimercaptopropanol-1-sulfonato (DMPS), ácido 2,3-dimercaptosucínico (DMSA), 2,3-dimercaptopropanol (BAL) e D-penicilamina (apesar dos elevados efeitos secundários). Estes são agentes quelatantes que diminuem a absorção do cloreto de mercúrio (II) no trato gastrointestinal. Têm igualmente uma função protetora do tecido cerebral, impedindo a passagem do HgCl_2 pela barreira hematoencefálica. A biotransformação dá-se no fígado por oxidação do HgCl_2 e excreção na urina (Bernhoft, 2012; Ramírez, 2008; Rocha, 2009).

Mercúrio Inorgânico

As metalotioninas têm um papel de proteção. Vários compostos quelatantes do mercúrio (como por exemplo o dimercaptopropanol) aceleram a excreção. Finalmente, o selénio parece ter uma ação protetora através da sua ligação ao mercúrio (HgSe) e limita a sua ação aguda no intestino e nos rins. O telúrio tem, também, um papel de proteção (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003).

Mercúrio Orgânico

Estudos em animais indicam que o selénio também tem um papel de proteção contra o mercúrio orgânico. É reportado que o N-actil, produto da DL-penicilamina, acelera a excreção, mas o uso de BAL é contraindicado, uma vez que potencia a ação tóxica do mercúrio orgânico (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003; Ramírez, 2008). No caso de apresentação de insuficiência renal recomenda-se o DMSA e a L-cisteína, complementados com hemodiálise (Ramírez, 2008).

Também a vitamina E reduz a toxicidade e aumenta as hipóteses de sobrevivência após uma exposição a metilmercúrio. Provavelmente o glutatíon catalisa a rápida quebra da ligação Hg-C (Pavlogeorgatos & Vasilis, 2003).

1.3. Saúde Ocupacional

De acordo com o Decreto-Lei nº 24 de 2012, de 6 de Fevereiro, entende-se por agente químicos “qualquer elemento ou composto químico, isolado ou em mistura, que se apresente no estado natural ou seja produzido, utilizado ou libertado em consequência de uma atividade laboral, incluindo sob a forma de resíduo, seja ou não intencionalmente produzido ou comercializado.” (DL nº 24/2012).

Neste contexto, a avaliação de riscos é uma peça fundamental, usando a toxicologia para determinar os riscos em indivíduos ou populações através do procedimento para identificação dos perigos (determinando se um agente é um perigo potencial se a pessoa estiver exposta); da avaliação da exposição (considerando-se a forma como a pessoa entra em contato com o agente perigoso) que é a etapa onde se faz o controlo da exposição ocupacional. É aqui que se observa o local, forma e mecanismos de proteção durante a atividade. Nesta etapa, são feitas as monitorizações biológicas e ambientais, cujos resultados contribuem para o diagnóstico da situação associada à contaminação para posterior implementação de medidas corretivas; e da avaliação da dose-resposta (determinando as relações entre a dose do agente e as respostas biológicas adversas). Juntas, estas informações levam ao quarto passo: caracterização do risco do agente em determinadas populações (Jesus, 2011; Mota, Mena, Soto-Beltran, Tarwater, Chaidet, 2009). O objetivo da prevenção da exposição é exemplificado na hierarquia de controlo, onde as intervenções na fonte de exposição são preferidas para reduzir ou eliminar a exposição humana (Feingold, Vegosen, Davis, Leibler, Peterson & Silbergeld, 2010).

Na maioria dos países industrializados, os controlos rigorosos e o melhoramento dos métodos industriais que têm sido impostos, permitiram diminuir os casos de intoxicação por exposição ocupacional, uma vez que a maior parte da exposição humana a quantidades biologicamente significativas de mercúrio elementar, ocorre no ambiente de trabalho (Jesus, 2011; Sousa, 2010). Esforços normativos para estabelecer valores limite para a sua concentração no ar ajudaram a controlar a exposição a substâncias perigosas no local de trabalho. Atualmente, estão estabelecidos em muitos países os valores limite de exposição (VLE) para diversas substâncias libertadas no ambiente de trabalho no decurso da atividade industrial. Estes valores representam o valor máximo de concentração de uma dada substância libertada no ambiente num dado período de tempo. Segundo a *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH), para um determinado agente químico poderão existir simultaneamente diferentes tipos de valores limite de exposição ocupacional (ACGIH, 2012). Assim, é frequente utilizar a média ponderada do valor limite de exposição (VLE-MP) para a avaliação da exposição ocupacional. O VLE-MP é definido como “a concentração média ponderada para um dia de trabalho de 8 horas e uma semana de 40

horas, à qual se considera que praticamente todos os trabalhadores possam estar expostos, dia após dia, sem efeitos adversos para a saúde”. Este VLE-MP é definido a nível nacional, podendo ser vinculativo ou indicativo (Sousa, 2010). Os efeitos adversos provocados na saúde pelos químicos dependem da magnitude da exposição externa provenientes da alimentação, água bebida e ar inalado. A fixação de limites de exposição aceitáveis é baseada no princípio de que não há risco apreciável para níveis abaixo destes limites para todas ou para a maioria das pessoas expostas. Contudo, tem-se tornado evidente que vários fatores podem afetar a exposição. Estes incluem absorção adicional através da pele, diferenças dependentes da idade na tomada individual do trato gastrointestinal, comportamento no ambiente geral ou práticas de trabalho pouco cuidadas no contexto ocupacional, tomadas diferentes das mesmas concentrações de ar devido a cargas de trabalho diferentes durante os turnos, e o uso e efetividade dos equipamentos de proteção individual (EPI). Adicionalmente, nos casos em que as substâncias tóxicas mostram ter efeito cumulativo no organismo, a carga atingida no passado pode ser alta o suficiente para criar perigo, ainda que a exposição presente seja moderada (ACGIH, 2012; Jakubowski, 2012).

Desta forma, existe uma grande variação nos valores de VLE-MP de diversas agências e países (tabela 4).

Tabela 4: Valores limite de exposição a mercúrio (VLE-MP) de várias organizações mundiais.

Recomendação	VLE-MP (mg.m ⁻³)	Referência
ACGIH	0,025	Glenz, 2009
EU	0,02	Jesus, 2011
EPA	0,02	Jesus, 2011
TEM	0,04	Jesus, 2011
NIOSH	0,05	Grigoletto, 2008
OMS	0,025	Jesus, 2011
OSHA	0,05	Glenz, 2009

Apesar dos limites de exposição serem considerados seguros, manter as concentrações ambientais do metal em níveis recomendados, ou abaixo deles, não significa a ausência de riscos para a saúde dos trabalhadores (Jesus, 2011).

Na europa, a proteção dos trabalhadores contra riscos químicos é regulamentada pela União Europeia (UE), através do comitê científico para os limites de exposição ocupacional (SCOEL), que os estabelece para agentes químicos, bem como os valores limite dos marcadores biológicos (Jesus,2011). No que diz respeito a Portugal, devem ser utilizados os referenciais europeus, tendo em conta que não existe nenhum referencial normativo relativo ao mercúrio.

1.3.1. Monitorização Biológica

Contrariamente à monitorização ambiental, a monitorização biológica permite a avaliação da exposição, a quantidade de substância presentes em órgãos, tecidos e células. A monitorização biológica torna possível determinar como as concentrações dos químicos nas amostras de material biológico podem estar relacionadas com os efeitos na saúde (Jakubowski, 2012).

Os biomarcadores são fatores bioquímicos (concentrações ou medições de concentrações) mensuráveis no organismo que providenciam informação acerca de três características principais: exposição, suscetibilidade e doença. Estes são usados como indicadores de eventos ao longo das vias toxicológicas, incluindo a toxicocinética (exposição, dose interna e dose efetiva biológica) e a toxicodinâmica (efeitos biológicos precoces que alteram a estrutura e função e a doença clínica) (Feingold *et al.*, 2010).

A monitorização biológica no estudo de metais pesados pressupõe a análise de matrizes biológicas (sangue, urina, cabelo, unhas, dentes, tecidos e ossos) e tem como vantagens a possibilidade de previsão direta de riscos para a saúde no caso de biomarcadores baseados na saúde (chumbo no sangue, cádmio no sangue e urina, mercúrio e metilmercúrio no sangue, urina e cabelo); a possível avaliação combinada (exposição ocupacional e ambiental) assim como as quantidades acumuladas no organismo; os biomarcadores de efeito podem suportar conclusões no que diz respeito aos possíveis efeitos prematuros para a saúde (Apostoli, 2002; Bartell, 2000; Jakubowski, 2012). Por vezes os níveis fisiológicos elevados (ex: manganês no sangue), os resultados da determinação de alguns metais nos fluidos biológicos informam apenas acerca do intervalo de exposição interna sem a possibilidade de avaliação do risco para a saúde. No caso da exposição ocupacional e ambiental ao chumbo, cádmio e mercúrio, a monitorização biológica da exposição pode ser considerada como preferencial à monitorização ambiental, pois torna possível a avaliação direta do risco para a saúde (Jakubowski, 2012).

1.3.2. Indicadores Biológicos de Exposição

Os indicadores biológicos de exposição (IBE) indicam concentrações presentes no organismo, sendo o resultado da interação do químico com as moléculas biológicas das células dos tecidos ou fluidos corporais (Lagadic, Caquet, Amiard & Ramade, 1997).

O marcador biológico de exposição utilizado na pesquisa de mercúrio é o próprio elemento presente nos fluidos biológicos (sangue, urina, leite materno), no cabelo ou ar exalado (Jesus, 2011). Tendo em conta que o mercúrio é excretado lentamente, o sangue e a urina são os biomarcadores mais amplamente utilizados e os mais influenciados pelas exposições

recentes (Bartell, 2000). Contudo, a urina é mais utilizada para exposições crónicas, enquanto o sangue é aplicado para conhecer o grau de exposição recente, uma vez que o tempo de semi vida do mercúrio no sangue é de cerca de 3 dias. No que diz respeito ao cabelo, este mostra-nos a exposição de longa duração especialmente a metilmercúrio, uma vez que esta espécie química se mantém inalterada. Mas, não é possível afirmar se a concentração existente é de origem endógena ou exógena, pelo que, este biomarcador não deve ser utilizado para avaliação da exposição ocupacional (Jesus, 2011).

Além disso, assume-se que as exposições a este metal ocorrem com regularidade ao longo de um determinado período de tempo, levando a que os marcadores biológicos atinjam concentrações constantes. Usualmente são comparados os valores dos diferentes marcadores de forma a ser estabelecido um paralelismo. Assim, assume-se que a concentração de mercúrio no cabelo é cerca de 250 ppm por cada $\mu\text{g.L}^{-1}$ de sangue. Estas relações são estabelecidas de forma a estimar a concentração que resulta de um determinado tipo de exposição (Bartell, 2000).

Existem diversos valores de concentração de mercúrio nos biomarcadores estipulados por diferentes agências mundiais (tabela 5).

Tabela 5: Valores limite dos marcadores biológicos de várias organizações mundiais.

Agência	Biomarcador	Concentração ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Referência
ACGIH	Urina	50	Bernhoft, 2012
EU	Sangue	10	SCOEL
EU	Urina	30	SCOEL
Queensland Government	Cabelo	1,0-5,0 $\mu\text{g.g}^{-1}$	Queensland Government

Tem havido um interesse crescente acerca da interação deste metal com outros elementos presentes nos locais de trabalho, uma vez que pode estabelecer uma exposição combinada e incrementar os efeitos nocivos para a saúde (Apostoli, 2002).

1.3.3. Indicadores Biológicos de Efeito

Os indicadores biológicos de efeito são registos de alterações periódicas dos efeitos adversos na saúde (Jesus, 2011). A especificidade destes biomarcadores depende da sua distribuição tecidual no organismo, da natureza e das propriedades do tóxico. Estes reproduzem parâmetros bioquímicos, alterações histopatológicas e celulares e respostas imunológicas. Além dos indicadores biológicos de efeito estudados, são exemplos, metalotioninas e metaloproteínas, integridade de DNA, resposta imunitária e compostos

citológicos (Lagadic *et al.*, 1997). Desta forma, neste capítulo pretende-se descrever as relações entre o mercúrio e os indicadores biológicos de efeito a estudar.

Relação entre Mercúrio e Stress Oxidativo

Os metais induzem toxicidade, apesar de este mecanismo não ser totalmente conhecido (Flora, Mittal & Mehta, 2008; Leslie & Koger, 2011). Os mais importantes são a inibição enzimática e alterações no metabolismo antioxidante (Flora *et al.*, 2008; Leslie & Koger, 2011). Recentemente tem-se dado maior atenção aos efeitos tóxicos do mercúrio no sistema cardiovascular, no que diz respeito à associação com a hipertensão, aterosclerose da carótida, enfarte do miocárdio e doença coronária. No sistema cardiovascular, a exposição aguda ao mercúrio reduz a força do miocárdio e inibe a ação da miosina na contração muscular. Além disso, a exposição crónica a este metal aumenta a resistência vascular e induz hipertensão (Wiggers, Peçanha, Briones, Pérez-Girón, Miguel, Vassalo, Cachafeiro, Alonso & Salices, 2008). Existem igualmente evidências de que os metais pesados estão associados a diversas doenças neurológicas como o Parkinson, Alzheimer, esquizofrenia, esclerose lateral amiotrófica e síndrome de Dawn (Aschner, Syversen, Souza, Rocha, Farina, 2007; Leslie & Koger, 2011). O *stress* oxidativo também tem um papel importante noutras condições patológicas como doenças autoimunes e inflamatórias (artrite reumatoide e isquémica), cancro e diabetes (Aschner *et al.*, 2007).

Os metais são capazes de interagir com proteínas nucleares, DNA, causar peroxidação lipídica e redução dos grupos tiol das proteínas, causando a deterioração oxidativa de macromoléculas biológicas (Alissa & Ferns, 2011; Flora *et al.*, 2008). O *stress* oxidativo resulta do excesso de espécies reativas de oxigénio (ROS) e de azoto (RNS), cuja geração pode ser catalisada, sobretudo, por ferro, cobre, cádmio, mercúrio, níquel, chumbo e arsénio. Contêm átomos de oxigénio ou azoto, podem ser radicais livres e causar a diminuição da atividade antioxidante devido à oxidação de diversos compostos químicos no organismo (Flora *et al.*, 2008; Leslie & Koger, 2011). Apesar de não se conhecer exatamente o mecanismo exato de geração de radicais livres, tem sido colocada a hipótese que a diminuição do glutatióno reduzido (GSH), por ação do mercúrio, pode não impedir a proliferação de ROS (Wiggers *et al.*, 2008). Para este mecanismo contribuem igualmente radicais de carbono, enxofre e azoto, que originam não só radicais superóxido, mas radicais de aminoácidos, de péptidos e proteínas complexadas com metais tóxicos (Flora *et al.*, 2008). Desta forma, a consequência resulta em danos ou morte celular, causando neurotoxicidade, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade em animais e humanos (Flora *et al.*, 2008; Leslie & Koger, 2011).

O desequilíbrio redox induzido pelo mercúrio pode ser causado pelo aumento da produção de ROS e RNS ou pela diminuição da capacidade defensiva dos antioxidantes. Desta forma,

o mercúrio pode ligar-se e formar complexos com os compostos que contêm tiol, tornando as proteínas num alvo. Mais, a sua elevada afinidade por estes grupos e a sua capacidade de ligação ao selénio para formar complexos insolúveis reduzem as defesas oxidativas e promovem o *stress* por radicais livres e peroxidação lipídica. Está demonstrado que este metal altera a integridade estrutural da membrana interna das mitocôndrias, resultando na perda da seletividade no transporte de catiões. Outro mecanismo possível, através do qual o mercúrio pode promover a peroxidação lipídica e a subsequente aterosclerose é a inibição da ativação do complexo proteico com funções de transcrição, o fator nuclear kB (NF- κ B). Também está descrito que o mercúrio suprime a produção de um radical livre, o óxido nítrico (NO) através da inibição do metabolismo do NF- κ B. Existem evidências que o mercúrio pode induzir a alterações na agregação plaquetária pela ligação aos grupos tiol presentes nas membranas das plaquetas (Alissa & Ferns, 2011).

A integridade funcional do endotélio é crucial para a manutenção da corrente sanguínea e da capacidade antitrombótica porque o endotélio liberta fatores humorais, responsáveis por mecanismos de inflamação e que controlam o relaxamento e a contração, a trombogénese e a ativação ou inibição das plaquetas. O endotélio vascular é altamente sensível ao *stress* oxidativo, e este é a principal causa da disfunção endotelial observada nas doenças cardiovasculares como a hipertensão e aterosclerose. É bem conhecido que, por interação do NO, o radical anião superóxido (O_2^-) forma peroxinitrito (NO_3^-), diminuindo a disponibilidade de NO para o relaxamento muscular do músculo liso (Wiggers *et al.*, 2008).

Relação entre o Mercúrio e a Paraoxonase Humana

A paraoxonase-1 (PON-1, E.C. 3.1.8.1) é uma proteína hidrossolúvel glicosilada, uma vez que se une a lípidos e outras moléculas orgânicas, com 355 resíduos de aminoácidos, com massa molar de 43-47 kDa, contendo três cadeias de glícidos que correspondem a 15,8% do seu peso. Tem como função fisiológica o metabolismo de lípidos oxidados na LDL e HDL, além da hidrólise de organofosfatos, ésteres aromáticos, algumas lactonas aromáticas e alifáticas e catalisa a reação inversa de ácidos γ - e δ - hidroxicarboxílicos. É sintetizada pelo fígado e secretada no sangue, onde circula com associação com as lipoproteínas de alta densidade (HDL), prevenindo a formação de LDL oxidada por inativação de fosfolípidos oxidados (figura 17) (Ferreira, 2007; Veiga *et al.*, 2011).

Os peróxidos lipídicos inibe a paraoxonase, arilesterase e as atividades antioxidantes da PON1 através de interações com o grupo tiol do enzima. A consequência é a oxidação da HDL acompanhada da diminuição da atividade da paraoxonase e, conseqüentemente, da redução da sua capacidade de proteção contra a oxidação da LDL (Tomás, Latorre, Sentí & Murrugat, 2004).

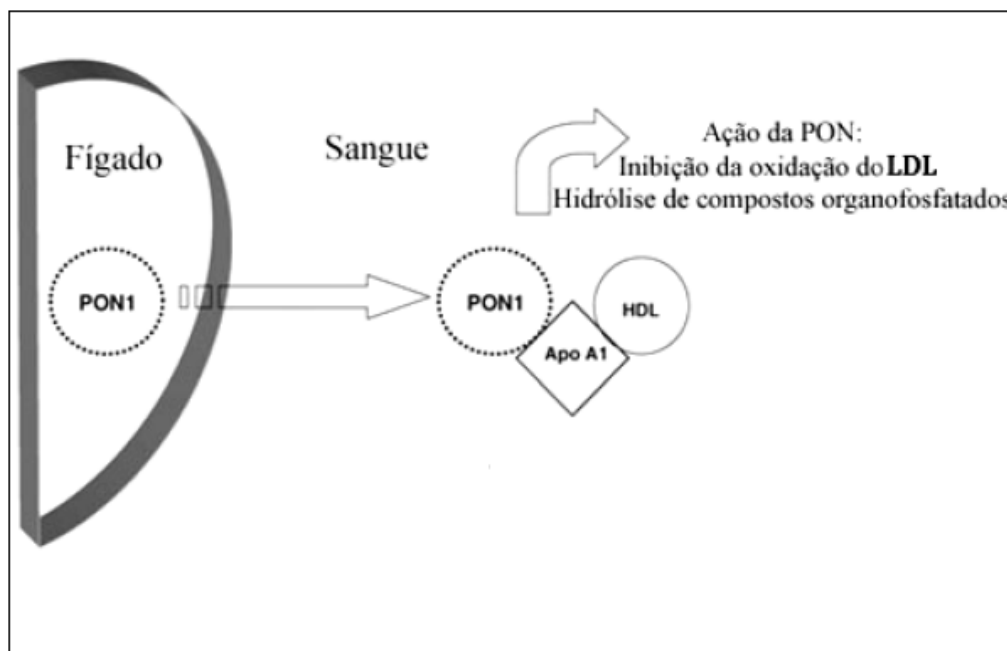


Figura 17: Esquema representativo da função biológica da PON-1 (Correia, 2009).

A PON-1 é uma estearase dependente do cálcio, possuindo um centro ativo e dois íons cálcio (Ca^{2+}), tendo um deles função estrutural e o outro catalítica em substratos de organofosfatos (Ferreira, 2007; Hernández, Gil, Leno, Rodrigo, & Pla, 2009; Veiga *et al.*, 2011).

A atividade enzimática da PON-1 tem uma elevada variabilidade entre os humanos, uma vez que vários fatores podem fazer variar a sua atividade, tais como genética, idade, uso de drogas, doenças, tabagismo, alcoolismo e químicos ambientais (Ayotte *et al.*, 2011; Veiga *et al.*, 2011). Tem sido sugerido que os indivíduos com baixa atividade enzimática podem ter um risco superior de desenvolver doenças nas quais estejam envolvidos o dano oxidativo e a peroxidação lipídica (Veiga *et al.*, 2011). Vários estudos demonstraram que a atividade antioxidante da PON-1 previne os mecanismos de *stress* oxidativo envolvidos nos processos patofisiológicos associados com a aterosclerose (prevenindo a oxidação da LDL na parede arterial) e a diabetes, entre outras patologias (Ayotte *et al.*, 2011; Veiga *et al.*, 2011). Estes factos são suportados pela diminuição da atividade da PON-1 associada ao aumento da aterosclerose e incidência de doença cardiovascular (Ayotte *et al.*, 2011).

Derivado da conhecida capacidade dos metais tóxicos na inibição enzimática, experiências *in vitro* levaram à pesquisa dos efeitos inibitórios dos metais tóxicos na atividade da PON-1. Foi reportado que o cobre e compostos de mercúrio são potentes inibidores da atividade deste enzima nos microsomas do fígado humano (Ayotte *et al.*, 2011; Hernández *et al.* 2009). Esta localização particular pode representar uma resposta seletiva das lipoproteínas celulares ao *stress* oxidativo, uma vez que a PON-1 perde atividade sob estas condições, o

que leva a crer que este enzima tem um papel como antioxidante. Assim, a PON-1 pode estar relacionada com funções de defesa contra os efeitos adversos de tóxicos ambientais com potencial impacto na saúde pública e ocupacional (Hernández *et al.* 2009).

A inibição da atividade da PON-1 está, muito provavelmente relacionada, com a ligação dos metais a grupos tiol livres do enzima localizados no resíduo Cys 284, que é essencial na proteção da oxidação da LDL. Existem estudos em trabalhadores com exposição de longa duração a chumbo que exibiram um decréscimo na atividade da PON-1, o que sugere que este metal, assim como outros iões de metais divalentes, após ligação com grupos tiol livres da PON-1 reduzem, não só a sua atividade hidrolítica, como também a sua função antioxidante. Contudo, o *stress* oxidativo induzido pelos metais pode igualmente ser um mecanismo para a inativação da PON-1 (Hernández *et al.* 2009).

Desta forma, o estudo da associação entre a exposição ocupacional ao mercúrio e a atividade deste enzima, pode ser de extrema relevância para a saúde ocupacional.

Relação entre o Mercúrio e a Vitamina A

A vitamina A pertence ao grupo das vitaminas lipossolúveis, sendo um micronutriente essencial que existe nas formas de álcool (retinol), aldeído (retinal), ácido carboxílico (ácido retinóico) e ésteres (palmitato de retinol) (Sauer, 2006). Contém um anel β -ionona e uma cadeia de hidrocarbonetos, com saturações alternadas, ligadas a um grupo funcional (figura 5). Desempenha inúmeras funções vitais no organismo desde a fase neonatal até à fase adulta, de onde se podem destacar funções na proliferação e diferenciação celular, no desenvolvimento embrionário, na regulação do mecanismo da visão e na imunidade (Rosa, 2009).



Figura 5: Estrutura química da vitamina A (Rosa, 2009).

Esta vitamina tem despertado interesse na comunidade científica pela sua capacidade de proteção contra doenças cardiovasculares, cancro, cataratas, deficiências imunitárias e envelhecimento (Sauer, 2006).

Atua nas diversas membranas celulares, devido à sua função química como agente antioxidante (Sauer, 2006; Szlayatys-Sidorkiewicz, Zaguierski, Jankowska, Luczak, Macur, Baczek, Korzon, Krzykowski, Martysiak-Zurowska & Kaminska, 2012). O seu potencial antioxidante tem sido associado à sua capacidade de interagir com os ROS através da transferência de eletrões e remoção de iões de hidrogénio (Rosa, 2009). Desta forma, pode

ser considerada como um antioxidante que quebra as ligações efetivas no início da peroxidação lipídica, travando a reação em cadeia de proliferação de ROS por sequestro de radicais livres (Alpsoy, Yildirim & Agar, 2009).

Assim, considera-se que a vitamina A protege os organismos contra os tóxicos efeitos dos químicos ambientais, onde se encontra incluída a exposição a mercúrio por via ocupacional, tendo em conta que diversos estudos mostram que os efeitos tóxicos dos metais nas células podem ser minimizados por esta vitamina (Alpsoy *et al.*, 2009; Sauer, 2006). Contudo, a utilização de vitaminas como antioxidante vai originar a sua indisponibilidade para as suas funções vitais no organismo, originando os mesmos efeitos que uma avitaminose, que pode provocar o bloqueio de uma ou mais reações metabólicas e um distúrbio no balanço metabólico do organismo (Sauer, 2006).

Relação entre o Mercúrio e a Vitamina E

Cada antioxidante tem importantes e diferentes mecanismos de ação, uma vez que o dano oxidativo pode ser causado por moléculas solúveis em lípidos ou água (Cebi, Kaya, Gungor, Demir, Yoruk, Soylemez, Gunes & Tuncer, 2011).

Na natureza, a vitamina E compreende oito compostos naturais lipossolúveis (α -, β -, γ - e δ -tocoferol) e quatro tocotrienóis (α -, β -, γ - e δ -tocotrienol) (Al-Attar, 2011). É um componente essencial na dieta humana e é um poderoso antioxidante lipossolúvel com capacidade para sequestrar os radicais livres, prevenir a peroxidação lipídica e estabilizar a membrana celular, por doação de hidrogénio fenólico e eletrões (Abd El-Aziz, El-Fark & Saleh, 2012; Alpsoy *et al.*, 2009; Rosa, 2009). Esta vitamina também tem funções anticarcinogénicas, anticlastogénicas, antimutagénicas em determinados organitos subcelulares (Agarwal, Goel, Chandra & Behari, 2010; Durak, Uzun, Kalender, Ogutu, Uzunhisarcıkl & Kalender, 2009).

Os antioxidantes solúveis em lípidos são muito importantes na prevenção da peroxidação da LDL, e esta ação pode ser de extrema importância na prevenção da aterosclerose, uma vez que as moléculas lipossolúveis como a vitamina E e o β -caroteno são incorporados nas partículas de LDL. Desta forma, a vitamina E tem um papel essencial na proteção contra os danos provocados pelos radicais livres, e consequentemente na redução do risco de doenças cardiovasculares (Cebi *et al.*, 2011).

Tem igualmente um poder protetor contra a toxicidade provocada pelo mercúrio, inibindo os danos oxidativos provocados no fígado e em outros tecidos (Agarwal *et al.*, 2010; Jin, Hidiroglou, Lok, Taylor, Kapal, Ross, Sarafin, Lau, De Souza, Chan & Mehta, 2012).

Com o aumento da preocupação, inclusive por parte da Organização Mundial de Saúde, com a da exposição ocupacional a químicos tóxicos e devido aos problemas de saúde induzidos pela exposição ocupacional ao mercúrio, o estudo da influência da vitamina E no

poder antioxidante deste metal tem um interesse considerável, nomeadamente ao nível da saúde cardiovascular (Abd El-Aziz *et al.*, 2012; Beyrouty & Chan, 2006; Jin *et al.*, 2012).

1.3.4. Indicadores Biológicos de Suscetibilidade

Os indicadores biológicos de sensibilidade estão associados à resistência do indivíduo, ou seja, à alteração da sensibilidade de origem genética, na resposta aos tóxicos (Lagadic *et al.*, 1997). Para o mercúrio são exemplos desta categoria de biomarcadores a óxido nítrico sintase endotelial, alguns polimorfismos genéticos da paraoxonase humana (L55M e Q192R), glutatono S-transferase e glutatono peroxidase. Nenhum destes foi abordado ao longo deste trabalho, mas serão estudos extremamente importantes a realizar no futuro para prosseguir o estudo desta temática.

A PON-1, tem atividade diferente consoante o polimorfismo do gene que a codifica. Assim, a presença do polimorfismo L55M tem sido associada com alterações na concentração do enzima mas com pequenos efeitos na sua atividade. Por outro lado, o polimorfismo Q192R leva a alterações na atividade enzimática da PON-1 dependendo do isoenzima presente. Estes polimorfismos têm sido relacionados com doenças coronárias e ataques cardíacos. (Peplow & Augustine, 2012; Veiga *et al.*, 2011;).

O mercúrio pode ser eliminado por conjugação com o glutatono, processo que envolve as glutatono s-transferases e depende indiretamente de enzimas presentes na sua síntese. Os polimorfismos genéticos destes genes que facilitam a distribuição, metabolismo e eliminação do mercúrio podem influenciar os níveis dos biomarcadores e ajudar a explicar a variabilidade individual da exposição a este químico (Goodrich, Wang, Gillespie, Werner, Franzblau & Basu, 2011).

Desta forma, a literatura em saúde pública e ocupacional tem aumentado a necessidade de reorganizar as interligações entre a saúde ocupacional e as diferentes disciplinas. Esta interligação deve ser explorada de forma a despertar a atenção, não apenas aos impactos mas também às necessidades de populações vulneráveis (Spiegel, 2009).

1.4. Indústria de Valorização de Lâmpadas Fluorescentes

As tecnologias de iluminação fluorescente têm tido um rápido desenvolvimento de mercado como parte de interesse social na eficiência energética (Johnson, Manchester, Sarin, Gao, Kulaots, Hurt, 2008). Uma grande parte da energia elétrica consumida nos setores público, comercial, residencial e serviços é utilizada na iluminação. Existem dois tipos principais de lâmpadas: as que contêm mercúrio (lâmpadas fluorescentes com vapor de mercúrio, vapor de mercúrio-sódio, e com outros vapores metálicos misturados), e aquelas sem mercúrio (lâmpadas incandescentes e lâmpadas de halogénio) (Durão Jr., Castro, Windmöller, 2008). As lâmpadas fluorescentes mais utilizadas são tubulares, compactas (CFL) e de descarga de alta densidade (HID) (Figura 6) (Álvarez-Caicoya, Cosme-Torres, Prtiz-Rivera, 2011; Käning, Hitzschke, Shalk, Berger, Franke, Methling, 2011).



Figura 6: Tipos de lâmpadas fluorescentes. i) Lâmpadas Fluorescentes compactas; ii) Lâmpadas fluorescentes tubulares; iii) Lâmpadas fluorescentes de descarga de alta densidade (Fonte: Unidade de reciclagem de lâmpadas fluorescentes).

A utilização de lâmpadas fluorescentes apresenta benefícios a longo prazo para o consumidor. Apesar, de serem mais dispendiosas que as lâmpadas incandescentes, a utilização a longo prazo tornar-se-á mais económica para o consumidor, uma vez que usam menos 50% a 80% energia, geram aproximadamente menos 75% de calor e têm um tempo de vida superior em mais de dez vezes. Por exemplo, se uma lâmpada fluorescente de 18W é usada para substituir uma lâmpada incandescente de 75W, o consumidor irá poupar cerca de 570 KWh ao longo do seu tempo de vida, o que equivale a uma poupança de 45,00€ tendo como base 0.08€ por KWh. Assim, existe igualmente uma poupança energética

associada à menor necessidade de arrefecimento dos espaços (Álvarez-Caicoya *et al.*, 2011). Além disso, as lâmpadas fluorescentes são também amigas do ambiente, uma vez que, a substituição de uma lâmpada incandescente por uma fluorescente diminui em meia tonelada a libertação de CO₂ para a atmosfera, por cada lâmpada (Álvarez-Caicoya *et al.*, 2011; Nance, Patterson, Willis, Foronda, Dourson, 2012). Enquanto que a maioria dos produtos que contêm mercúrio estão a ser removidos das habitações e locais de trabalho através de programas de substituição, o uso deste tipo de lâmpadas tem aumentado rapidamente devido aos benefícios ambientais, apesar dos riscos para a saúde. De facto, estas contêm muito menos mercúrio que alguns dispositivos antigos (por exemplo, 500 mg para um modelo típico de termómetro) (Johnson *et al.*, 2008).

Uma lâmpada fluorescente é uma lâmpada de descarga elétrica que consiste tipicamente em elétrodos nas duas extremidades envolvidos por um tubo de vidro revestido com fósforo, uma pequena quantidade de mercúrio, parcialmente na forma de vapor e um gás inerte (usualmente árgon) selados no interior do tubo e mantidos a baixa pressão (Álvarez-Caicoya *et al.*, 2011; Hu & Cheng, 2012; Nance *et al.*, 2012). Estes elétrodos são ligados a um circuito elétrico que inclui um arrancador e um casquilho (figura 7). O casquilho regula a passagem de corrente pela lâmpada, e o arrancador é responsável por deixar a corrente passar através dos elétrodos na extremidade de cada tubo (Álvarez-Caicoya *et al.*, 2011).

Quando a lâmpada é ligada, a corrente passa através do circuito elétrico até aos elétrodos. O filamento aquecido excita os eletrões, ionizando os gases (mercúrio e árgon) no tubo de vidro selado. O vapor de mercúrio ionizado gera energia radiante ultra violeta. Depois, o fósforo que reveste o tubo, emite luz visível em resposta à radiação ultra violeta (Álvarez-Caicoya *et al.*, 2011). O vapor de mercúrio é dirigido para o vidro, pó de fósforo, e componentes metálicos durante a operação da lâmpada (Hu & Cheng, 2012).

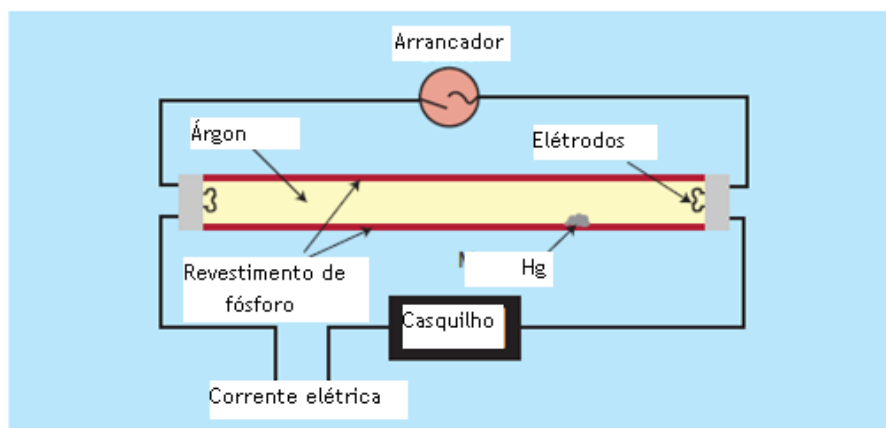


Figura 7: Diagrama de uma lâmpada fluorescente (Álvarez-Caicoya *et al.*, 2011).

O mercúrio (elementar ou óxido de mercúrio) pode ser adicionado às lâmpadas em várias formas incluindo líquida, sólida ou em amálgama. Têm sido usadas diversas amálgamas de mercúrio nas lâmpadas fluorescentes com várias combinações de ferro, bismuto, índio, estanho e chumbo. O mercúrio elementar também se torna disperso pela lâmpada durante as operações. Estes processos reduzem a quantidade de mercúrio que pode ser volatilizado e por isso os fabricantes adicionam mercúrio suficiente para assegurar que existe uma quantidade de vapor de mercúrio necessária ao tempo de vida da lâmpada (Nance *et al.*, 2012).

O mercúrio é um dos elementos mais tóxicos da Terra. Por esta razão, a Comissão Europeia, sob a Diretiva 2002/95/EC relativa à restrição do uso de determinadas substâncias perigosas em equipamento elétrico e eletrónico (RoHS), proibiu o seu uso nos equipamentos elétricos e eletrónicos (EEE). Como o uso de mercúrio nas lâmpadas fluorescentes é essencial ao seu funcionamento, esta política lista-as como EEE que podem conter mercúrio. No caso das CFL, a concentração não deverá exceder 5 mg por lâmpada (Ray-Raap & Gallardo, 2012).

A quantidade de mercúrio presente numa lâmpada fluorescente depende do tipo (linear ou compacta), marca, potência e ano de fabrico e pode atingir dezenas de miligramas (Durão *et al.*, 2008; Hu & Cheng, 2012; Nance *et al.*, 2012). A quantidade de mercúrio não vem mencionada na embalagem numa boa parte dos produtos vendidos e também não se encontra acessível nos locais de internet dos produtores. Internacionalmente, os fabricantes têm reduzido a quantidade de mercúrio usado nas lâmpadas fluorescentes. A quantidade de mercúrio integrante nestas lâmpadas constitui uma desvantagem para a sua utilização, não tendo sido ainda identificado nenhum substituto químico (Nance *et al.*, 2012) (Tabela 6).

Tabela 6: Quantidades de mercúrio presentes nas lâmpadas fluorescentes (mg por lâmpada) de fabrico em vários países (Nance *et al.*, 2012).

País	Tipo de Lâmpada	Quantidade de Hg por lâmpada (mg)
Europeus	Halofosfato	10
Europeus	Trifosfato	5-8
Canadá	Tubos fluorescentes lineares	3-50
EUA	Tubos fluorescentes lineares	0-100
Austrália	CFL	0,1-13
Canada	CFL	1-25
Reino Unido	CFL	<10
EUA	CFL	1-50

É necessária uma quantidade de vapor de mercúrio adequada para atingir os elevados tempos de vida das lâmpadas. Tipicamente as lâmpadas fluorescentes duram mais de 6000 h, mas o seu tempo de vida termina assim que não haja mercúrio suficiente na forma de vapor para contribuir para o processo de iluminação. Na exaustão das lâmpadas fluorescentes, o mercúrio está predominantemente ligado ao vidro, ao fósforo e às terminações de metal, e apenas uma pequena fração permanece na forma de vapor à temperatura ambiente (Hu & Cheng, 2012).

As lâmpadas fluorescentes intactas não produzem risco para a saúde humana ou para o ambiente, enquanto que as pessoas podem ser expostas a níveis tóxicos de vapor de mercúrio libertado de lâmpadas partidas. Apesar de cada lâmpada fluorescente apenas conter uma pequena quantidade de mercúrio, se milhões de lâmpadas forem descartadas, a massa cumulativa de mercúrio pode ser significativa (Hu & Cheng, 2012). Quando uma CFL se parte, o vapor de mercúrio, mercúrio líquido (se presente) e mercúrio adsorvido no pó de fósforo é libertado. É pouco provável que qualquer forma de mercúrio seja visível, tendo em conta o seu baixo volume, mas o pó de fósforo pode separar-se da lâmpada quando esta se parte. A quantidade de mercúrio libertado como vapor de mercúrio ou associado com o pó de fósforo depende da idade da lâmpada (Nance *et al.*, 2012).

Desta forma, o descarte das lâmpadas fluorescentes levará à eventual quebra e à libertação do mercúrio contido na cadeia de resíduos sólidos e no ambiente. Está estimado que 1,2 a 6,8% da quantidade total de mercúrio contido nas lâmpadas fluorescentes possa ser libertado para o ar após a quebra, enquanto que a água das chuvas lixivia o mercúrio

contido nas diversas partes da lâmpada ou no pó de fósforo e o transporta para o solo (Hu & Cheng, 2012). Um estudo recente reportou que as lâmpadas fluorescentes emitiam continuamente vapor de mercúrio durante mais de 10 semanas após a sua quebra e o nível de mercúrio numa sala normal poderia exceder o limite de exposição a partir da quebra de uma lâmpada sob condições de fraca ventilação. Existe um aumento brusco da concentração de mercúrio no ar quando o vapor de mercúrio é libertado, seguida de libertação mais lenta das formas sólidas e líquidas deste metal (amalgamas, mercúrio elementar líquido e mercúrio absorvido pelos componentes da lâmpada) (Hu & Cheng, 2012; Nance *et al.*, 2012).

Noutros estudos, foram estudadas lâmpadas de 13W contendo 4,5mg de mercúrio e lâmpadas de 9W contendo 5mg de mercúrio. Notou-se uma taxa inicial mais elevada na libertação do vapor de mercúrio, que foi diminuindo ao longo de 24h. Durante a primeira hora, as lâmpadas libertaram 12 a 43 μg de vapor de mercúrio (1% ou menos da quantidade total de mercúrio existente na lâmpada). Durante as primeiras 24h a lâmpada de 13W libertou 504 μg ou 11,1% do mercúrio total e a de 9W libertou 113 μg ou 1.9% (quantidades totais de mercúrio especificadas pelo fabricante). As lâmpadas partidas continuaram a libertar mercúrio durante pelo menos 4 dias. Após 4 dias a lâmpada de 13W libertou um total de 1,34 mg ou 30% da quantidade de mercúrio contido. As lâmpadas gastas libertam menos quantidade de mercúrio que as novas, sendo que a taxa de libertação do mercúrio a partir de CFL partidas é maior que a taxa de libertação de uma gota de mercúrio líquido de quantidade equivalente. Este aumento é atribuído à maior superfície de área de mercúrio adsorvido no fósforo e nos componentes da lâmpada comparativamente com uma gota de mercúrio líquido (Risher & De Rosa, 2007). Outros autores atribuíram o declínio da taxa de libertação do mercúrio a dois fatores: a libertação gradual de formas de mercúrio menos voláteis e a oxidação do Hg. A taxa de libertação do mercúrio depende da temperatura, tendo em conta a grande volatilidade do mercúrio a temperaturas elevadas. Os autores estimam que 17 a 40% do mercúrio presente num tubo fluorescente irá volatilizar num período de 14 dias com 1/3 do mercúrio volatilizado durante as primeiras 8h (Aucott, McLinden, Winka, 2003; Nance *et al.*, 2012).

O vapor de mercúrio inorgânico é a forma de mercúrio mais preocupante quando se parte uma CFL e esta libertação varia de acordo com a idade, tamanho e fabricante da lâmpada. Investigadores estudaram ou mediram a libertação de vapor de mercúrio a partir da quebra de CFL em diferentes senários e a exposição varia de acordo com o tamanho da sala, temperatura, idade da lâmpada, ventilação e tipo de pavimento da sala (Nance *et al.*, 2012; Risher & De Rosa, 2007).

O limite OSHA para exposição ocupacional é de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. A NIOSH recomenda um limite de exposição de 50 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, enquanto que a confederação americana de higienistas

governamentais e industriais recomenda $25 \mu\text{g}.\text{m}^{-3}$ nas mesmas condições. Como exemplo do efeito da quebra de uma CFL com libertação de apenas 1 mg de vapor de Hg (cerca de 20% do Hg total de uma CFL) numa sala com 500 m^3 ($10 \times 10 \times 5 \text{ m}$) leva a $2,0 \mu\text{g}.\text{m}^{-3}$ na ausência de ventilação (Johnson *et al.*, 2008). Assim, qualquer pessoa envolvida na gestão de lâmpadas fluorescentes no seu local de trabalho pode estar potencialmente exposto a mercúrio, incluindo os empregados responsáveis pelo manuseamento das novas lâmpadas, substituição das mesmas, armazenamento, transporte e reciclagem (Glenz, Brosseau, Hoffbeck, 2009).

A hierarquia internacionalmente aceite relativa à gestão dos resíduos, ou seja, reduzir, reutilizar e reciclar, prioriza as práticas de gestão de resíduos com o objetivo de melhorar as condições ambientais. Apesar de alguns componentes das lâmpadas poderem ser reutilizados, a sua totalidade não é reutilizável tornando-se resíduo perigoso (Bussi, Cabrera, Chazzaro, Canel, Veiga, Florencio, Dalchiele, Belluzzi, 2010; Käning *et al.*, 2011; Ray-Raap & Gallardo, 2012). Ao contrário de outros objetos contendo mercúrio (por exemplo baterias), as lâmpadas fluorescentes representam um caso especial na gestão de resíduos sólidos (Käning *et al.*, 2011). A gestão de resíduos de CFLs é regulado pela Diretiva 202/96/CE sobre equipamento elétrico e eletrónico e gestão de resíduos (WEEE). De acordo com esta diretiva, os estados membros devem assegurar que os produtores recuperam um mínimo de 70% em média de peso por aplicação e reutilizar e reciclar 50% em média de peso por aplicação de componentes, materiais e substância (Ray-Raap & Gallardo, 2012). Esta reciclagem dá origem a quatro produtos: pó de fósforo, filtros, vidro triturado e casquilhos de alumínio, todos contaminados com mercúrio (Bussi *et al.*, 2010).

O principal processo de tratamento é baseado num dos métodos mais desenvolvidos atualmente disponíveis, o sistema MRT suíço (Ray-Raap & Gallardo, 2012). Neste sistema, as lâmpadas fluorescentes descartadas são colocadas na máquina automaticamente e depois sujeitas a vários passos de processamento incluindo a identificação do tubo, passagem nos queimadores, corte das extremidades e descarga do mercúrio contendo fósforo do tubo de vidro por sopro de ar (Chang, Wang, You, Cheng, 2007). O sistema é operado em pressão negativa de forma a minimizar as emissões de mercúrio para a atmosfera (Bussi *et al.*, 2010).



Figura 8: Triturador separador de lâmpadas fluorescentes tubulares (Fonte: Unidade de reciclagem de lâmpadas fluorescentes).

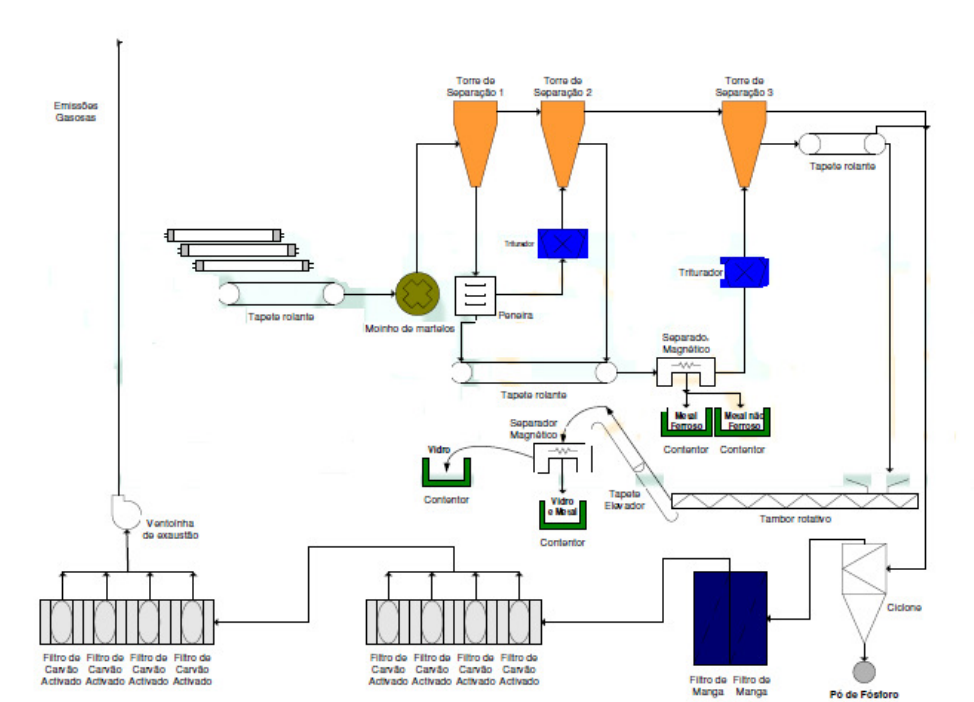


Figura 9: Esquema representativo do processo de reciclagem de lâmpadas fluorescentes tubulares. (Fonte: Unidade de reciclagem de lâmpadas fluorescentes).

No triturador separador de lâmpadas fluorescentes tubulares (figura 8) o tapete rolante é alimentado por um operador. As lâmpadas passam por um moinho de martelos onde são trituradas e encaminhadas para as torres de separação. Aí existem trituradores, peneiras e separadores magnéticos que separam o metal ferroso do não ferroso. De seguida, e após terceira trituração, é separado o restante metal do vidro. O pó de fósforo contendo mercúrio é recolhido por ciclone. O ar de exaustão passa por diversos filtros de manga e de carvão ativado antes de ser libertado para o ambiente (figura 9).

No equipamento de pré tratamento de lâmpadas fluorescentes circulares e compactas (figura 10), o contentor alimenta a máquina onde o material é encaminhado para um tambor de separação através de um parafuso sem fim. Aí o vidro e o pó de fósforo contendo mercúrio são separados dos casquilhos de plástico que vão para reciclagem (figura 11).



Figura 10: Pré tratamento de lâmpadas fluorescentes circulares e compactas (Fonte: Unidade de reciclagem de lâmpadas fluorescentes).

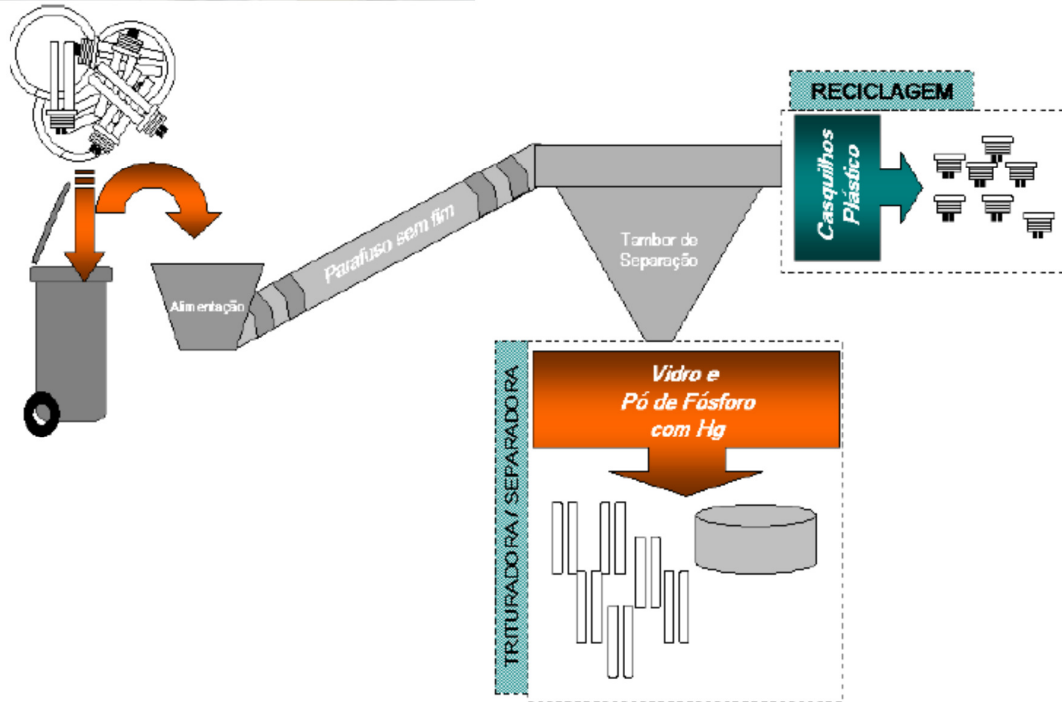


Figura 11: Esquema representativo do processo de reciclagem de lâmpadas fluorescentes circulares e compactas (Fonte: Unidade de reciclagem de lâmpadas fluorescentes).

Para as lâmpadas de alta densidade (figura 12), o processador é alimentado manualmente consoante o tamanho e o tipo de casquilho. Seguidamente, o bulbo exterior é quebrado por esmagamento e separado da ampola (que contém mercúrio) e do metal. A ampola é desmontada através de um processo de corte. O vidro da ampola contaminado, é triturado e dispensado. Finalmente, as peças magnéticas de metal são separadas e recolhidas dentro da máquina. Mais uma vez, e à semelhança do processo anteriormente descrito, o ar de exaustão passa por filtros de manga e de carvão ativado antes de ser lançado para o exterior (figura 13).



Figura 12:Processador de lâmpadas de alta densidade (Fonte: Unidade de reciclagem de lâmpadas fluorescentes).

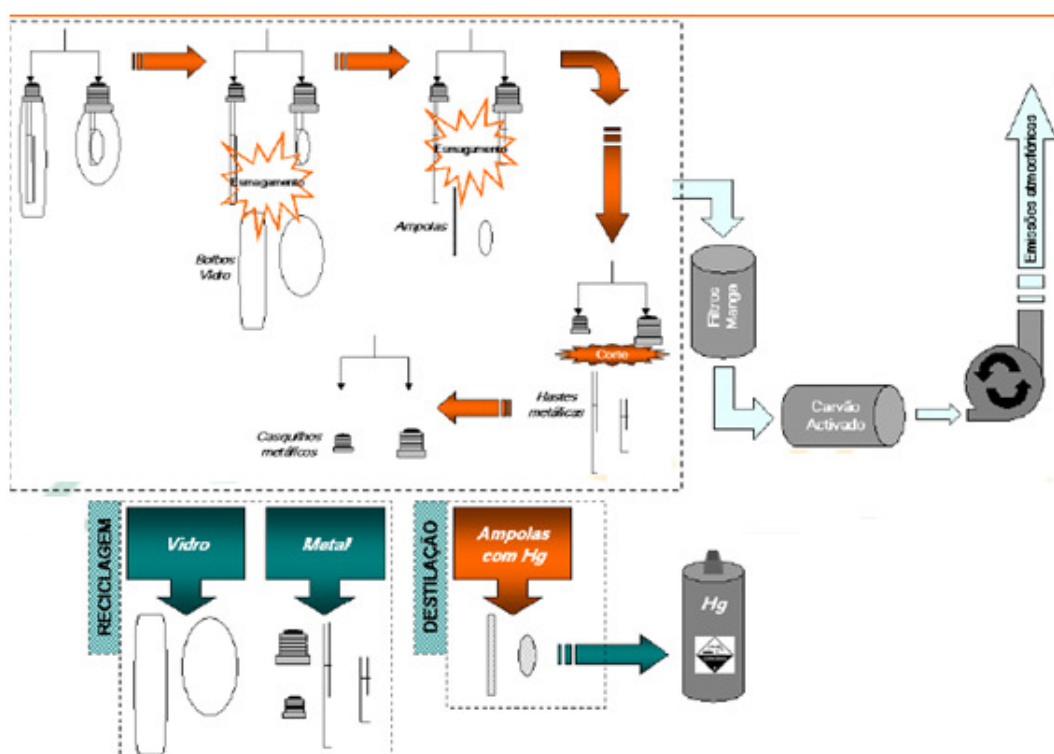


Figura 13: Esquema representativo do processo de reciclagem de lâmpadas de alta densidade (Fonte: Unidade de reciclagem de lâmpadas fluorescentes).

As lâmpadas de geometria diversa são trituradas e o pó é recolhido num bidão coletor e separado do restante material triturado (figuras 14 e 15).



Figura 14: Triturador de lâmpadas de geometria diversa
(Fonte: Unidade de reciclagem de lâmpadas fluorescentes).

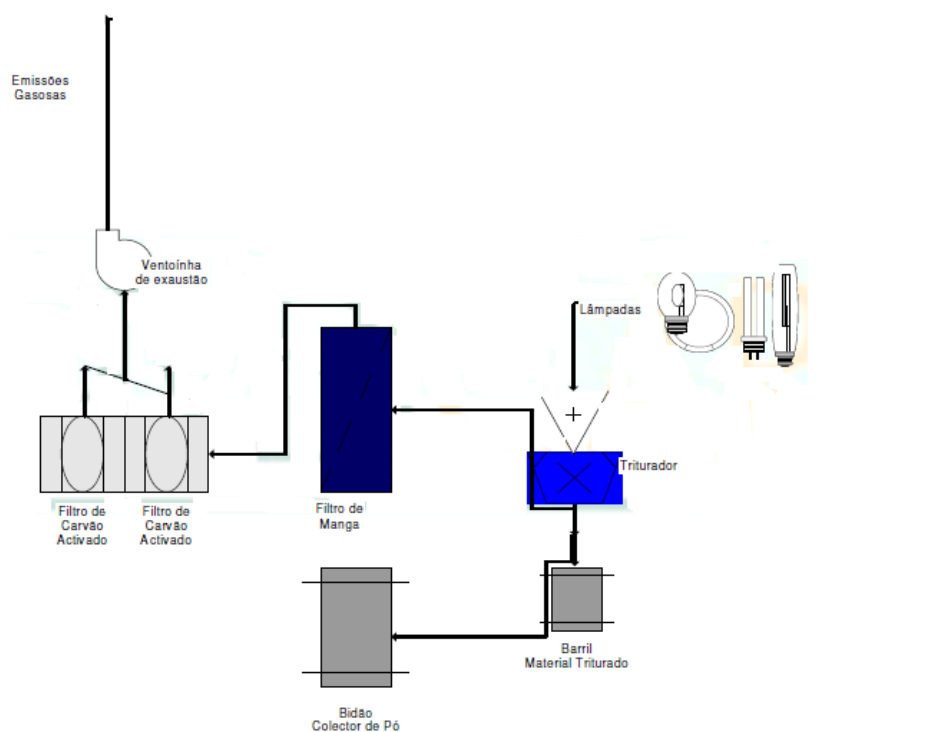


Figura 15: Esquema representativo do processo de reciclagem de lâmpadas de geometria variável
(Fonte: Unidade de reciclagem de lâmpadas fluorescentes).

O pó de fósforo, após colhido é destilado termicamente a temperaturas acima dos 375°C, correspondendo ao ponto de ebulição do mercúrio. Geralmente, são usadas temperaturas entre os 600 e os 800°C durante 4 a 20 horas, de forma a assegurar a remoção completa do mercúrio tendo em conta o tempo de uso da lâmpada que pode formar óxidos, cujas temperaturas de ebulição são superiores à do mercúrio elementar (figuras 16 e 17) (Bussi *et al.*, 2010; Chang *et al.*, 2007; Ray-Raap & Gallardo, 2012).



Figura 16: Destiladora de mercúrio (Fonte: Unidade de reciclagem de lâmpadas fluorescentes).

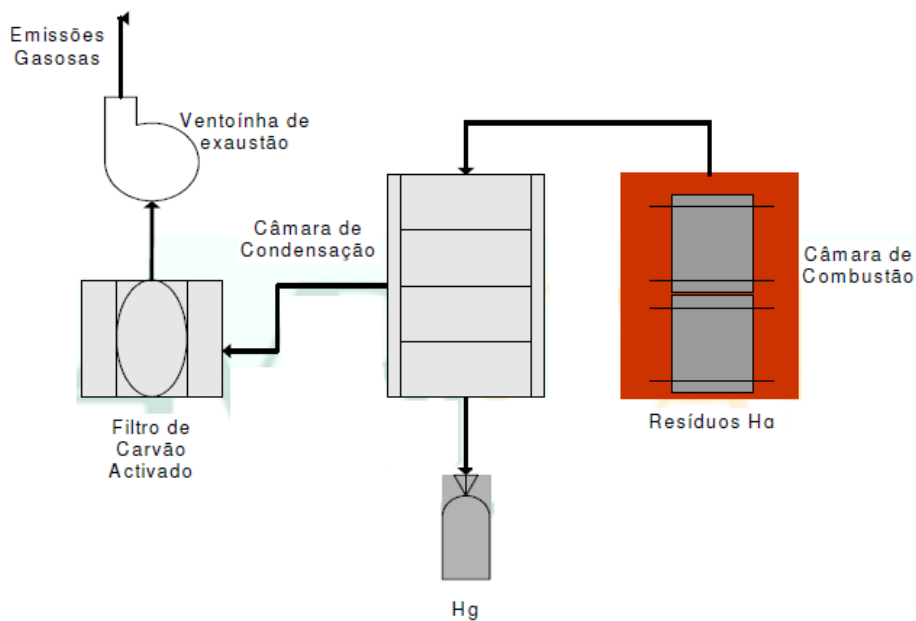


Figura 17: Esquema representativo do processo de destilação de mercúrio (Fonte: Unidade de reciclagem de lâmpadas fluorescentes).

O grande inconveniente deste processo de tratamento é que apenas o pó de fósforo é destilado e este não é removido completamente do vidro. Este fato torna a recuperação do vidro residual obtido, um processo mais complicado porque, como contém mercúrio, é rejeitado pelas empresas que o poderiam usar como material em bruto nos seus processos de produção (Ray-Raap & Gallardo, 2012).

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Este trabalho tem como principal intuito estudar a eventual relação da exposição ocupacional de trabalhadores de uma indústria de valorização e reciclagem de lâmpadas de mercúrio com a atividade da PON-1 e com as concentrações de vitaminas A e E.

O objetivo geral é conhecer a exposição a mercúrio dos trabalhadores das instalações desta indústria.

2.2. Objetivos Específicos

Com base no objetivo geral foram delineados os objetivos específicos:

1. Estudar a relação dos valores de mercúrio total com a atividade da PON-1 e concentração de vitaminas A e E nos trabalhadores e no grupo de controlo.
2. Relacionar as concentrações de mercúrio no sangue dos trabalhadores com o historial de exposição ocupacional.

3. Material e Métodos

3.1. Tipo de Estudo

Este é um estudo transversal, onde foram analisados todos os trabalhadores da indústria de reciclagem e valorização de lâmpadas de mercúrio com potencial exposição ocupacional a este elemento químico.

Para o grupo de controlo, foram integrados indivíduos que não apresentavam exposição a mercúrio.

A potencial exposição foi avaliada com base na observação da atividade dos trabalhadores na empresa e, no caso, do grupo de controlo, através do preenchimento de um inquérito (Anexo II).

O tratamento dos dados foi efetuado informaticamente através da ferramenta estatística SPSS, versão 18.

3.2. Recolha e Preparação de Amostras

3.2.1. Recolha de amostras biológicas

O sangue foi colhido por venopunção e separado em tubos com heparina sódica para separação de plasma (15 mL) e tubos secos para separação de soro (5 mL).

3.2.2. Preparação de amostras para determinação de mercúrio total

A determinação de mercúrio total foi efetuada em sangue total, por doseamento direto, não tendo sido necessário qualquer tratamento da amostra (Speváčková, Korunová, Cejchanová & Vobecky, 2004).

3.2.3. Preparação de amostras para determinação da PON-1 e Vitaminas A e E.

Para análise da atividade da paraoxonase e vitaminas extraiu-se soro a partir de sangue total, conforme descrito pela Organização Mundial de saúde (OMS, 2013).

1. Deixou-se ficar o tubo seco (soro) no frio até que o coágulo retraísse.
2. Centrifugou-se a 1500 xg durante 10 minutos.
3. Retirou-se o sobrenadante (soro).
4. Aliquotou-se o sobrenadante (2 mL)
5. Conservaram-se as alíquotas a -80°C.

3.3. Determinação das Concentrações de Mercúrio Total por Espectroscopia de Absorção Atômica Termal.

Os métodos descritos na literatura para separação e quantificação de compostos de mercúrio são baseados na combinação de técnicas de separação apropriadas, tais como cromatografia gasosa (*Gas Chromatography* - GC) ou cromatografia líquida de alta performance (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC), acopladas a sensores seletivos e altamente sensíveis, como é o caso do sistema *High Performance Liquid Chromatography – Inductible Coupled Plasma – Mass Spectrometer* (HPLC-ICP-MS), onde são utilizadas tecnologias acopladas à espectrometria de massa com plasma juntamente com HPLC (Spevácková *et al.*, 2004; Válega, Abreu, Pato, Rocha, Gomes, Pereira & Duarte, 2006). Para quantificação de rotina, usualmente é utilizada a espectrometria de absorção atômica por vapor frio (*Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry* - CVAAS) (Spevácková *et al.*, 2004).

Contudo, muitos destes sistemas envolvem elevados consumos de tempo e pré tratamentos analíticos complexos (extração quantitativa, derivatização, separação, pré concentração, deteção e quantificação), podendo introduzir maiores incertezas, e dar origem a baixas precisões e lacunas na repetibilidade (Válega *et al.*, 2006).

Desta forma, para a análise do mercúrio total e orgânico, foi escolhido um método que minimiza todos os inconvenientes descritos acima. Assim, foi usado um espectrómetro de absorção atômica com decomposição térmica (LECO, AMA 254 Mercury Analyser) (Válega *et al.*, 2006).

O princípio desta tecnologia assenta no aquecimento controlado num forno que liberta o mercúrio das amostras no interior do equipamento. A amostra é seca e, depois, térmica e quimicamente decomposta no interior de um forno de decomposição. Os produtos de decomposição são transportados através de um fluxo de oxigénio para a secção catalítica do forno. A oxidação é completada e os halogénios e óxidos de azoto e de enxofre capturados. Os restantes produtos de decomposição são então levados para um amalgamador que aprisiona seletivamente o mercúrio. Após a lavagem do sistema com oxigénio, de forma a remover quaisquer gases remanescentes ou produtos da decomposição, o amalgamador é rapidamente aquecido, libertando o vapor de mercúrio. O fluxo de oxigénio transporta o vapor de mercúrio através de células de absorvência posicionadas num detetor de UV com comprimento de onda único de 253,7 nm. A absorvência (área do pico) é medida em função da concentração de mercúrio. A sensibilidade deste método varia de 0,05 a 600 ng (EPA, 2007).

A amostra líquida (200 μL) foi colocada numa barquinha de níquel que é inserida num tubo de combustão de quartzo. A amostra foi inicialmente seca a 120°C antes da combustão a $680\text{-}700^{\circ}\text{C}$ numa atmosfera com oxigénio. O vapor de mercúrio é recolhido numa amálgama de ouro que é aquecida a 900°C . O mercúrio libertado é transportado para uma célula (120 $^{\circ}\text{C}$) e depois analisado por espectrometria de absorção (*Atomic Absortion Spectrometry* - AAS) usando um detetor de díodos de UV de silicone (figura 18) (Syrec, Subrt & Marecek, 2000; Válega *et al.*, 2006).

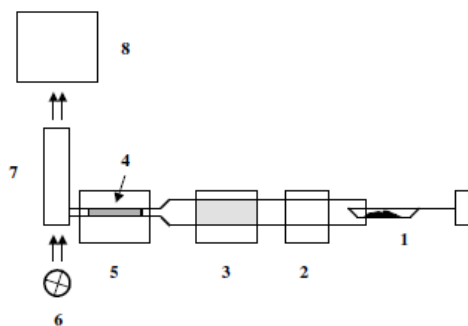


Figura 18: Representação esquemática do espectrómetro de absorção atômica com decomposição térmica (AMA 254): 1 – Barquinha de níquel, 2 – Forno de decomposição, 3 – Coluna catalítica, 4 – amálgama de ouro, 5 – Forno de libertação, 6 – Lâmpada de cátodos de mercúrio, 7 – Sistema de células óticas, 8 – Detetor (Spevácková *et al.*, 2004).

A grande vantagem da utilização desta técnica para determinação de mercúrio é a inexistência de manipulações complexas da amostra (Válega *et al.*, 2006). Além disso, permite análise de amostras líquidas ou sólidas e tem uma sensibilidade de deteção até às partes por bilião (ppb) (Syrec *et al.*, 2000).

As condições de operação usadas neste estudo para determinação das concentrações de mercúrio total e orgânico foram as seguintes (adaptado de Válega *et al.*, 2006):

- Tempo de secagem: 70 segundos
- Tempo de decomposição: 150 segundos
- Tempo de espera: 45 segundos

3.4. Determinação da Atividade de Paraoxanase-1 por Espectrofotometria.

A atividade do enzima paraoxanase – 1 foi determinada por espectrofotometria, tratando-se de uma técnica baseada na interação da radiação luminosa com a matéria em função do comprimento de onda da radiação emitida, tendo como objetivo a realização de análises qualitativas ou quantitativas (Violante, 2011).

Um espectrofotómetro é composto por uma fonte de radiação heterocromática que é fracionada por um sistema dispersivo chamado de monocromador. O comprimento de onda selecionado é dirigido para a solução a analisar que se encontra contida numa célula ou cuvete. Parte da radiação é absorvida e outra transmitida. A redução da intensidade luminosa é medida pelo detetor (célula fotoelétrica). O sinal elétrico é amplificado e interpretado como absorvência, sendo proporcional à concentração da substância absorvente existente na célula (figura 19) (Ribeiro, 2011; Violante, 2011).

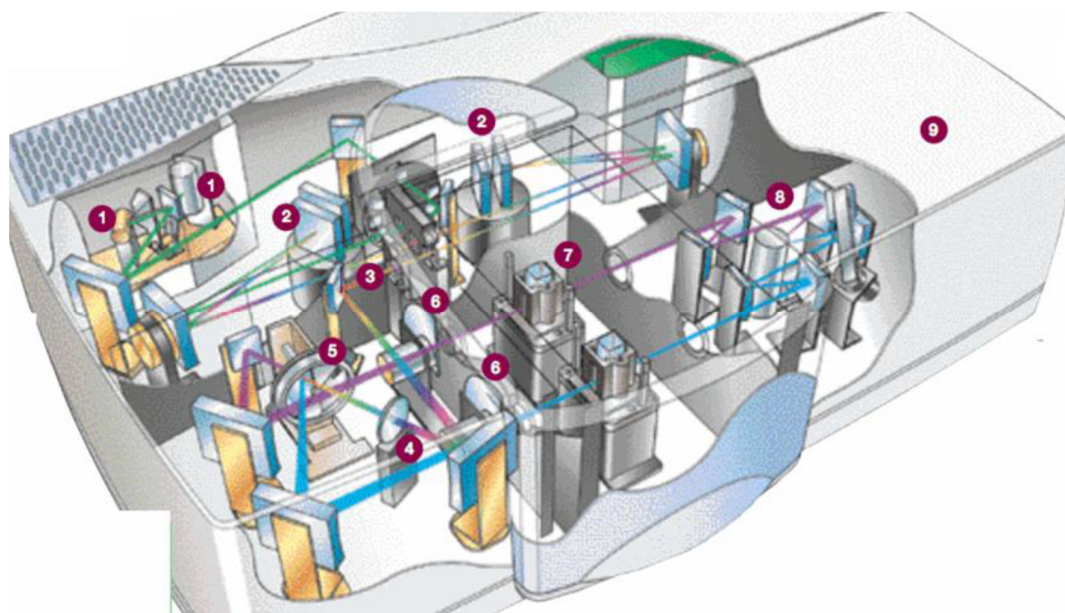


Figura 19: Composição de um espectrofotómetro: 1 – Sistema de emissão de radiação (lâmpadas); 2 – Monocromador; 3 – Sistema dispersivo; 4 – Sistema dispersivo; 5 – Chopper; 6 – Atenuadores (referência/amostra); 7 – Porta amostras; 8 – Detetores; 9 – Esfera integrada para reflexão (Violante, 2011).

Foram utilizadas amostras de soro dos trabalhadores e dos controlos e como substrato foi utilizado o paraoxon-etil (O,O-Diethyl O-(4-nitrophenyl) phosphate). A hidrólise enzimática do paraoxon liberta *p*-nitrofenol, que é medido a um comprimento de onda de 412 nm (Batuca, Ames, Amaral, Favas, Isenberg & Alves, 2009; Maselli, 2007).

O ensaio foi realizado em todas as amostras e controlos em triplicado, conforme descrito em Veiga *et al*, 2011.

1. Efetuou-se uma mistura reacional contendo 0,58 μL de 2,0 mM de Paraoxon Etil, 120 μL de 2,0 mM de cloreto de cálcio (CaCl_2), 600 μL de 100 mM de tris-HCl a pH 8 e 449, 42 μL de água bidestilada.
2. Numa célula de espectrofotómetro, colocaram-se 1170 μL de mistura reacional e 30 μL de soro.
3. Efetuou-se um branco contendo apenas mistura reacional.
4. Efetuou-se a medição da taxa de formação de *p*-nitrofenol espectrofotometricamente num espectrofotómetro Thermo scientific Evolution 300, com um comprimento de onda de 412 nm, durante 6 minutos e 40 segundos.

Para cálculo da concentração do enzima, utilizou-se a lei de Lambert-Beer (Equação 1).

Equação 1: Lei de Lambert-Beer

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c$$

Onde:

A – Média das diferenças das absorvências registadas nos replicados de cada indivíduo.

ϵ - Coeficiente de absorvidade molar do *p*-nitrofenol ($18,290 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) (2).

C – Concentração de *p*-nitrofenol em $\text{min}^{-1} \cdot \text{mM}$.

l - percurso ótico na célula (1 cm).

De seguida, calcula-se a quantidade de *p*-nitrofenol em $\text{min}^{-1} \cdot \text{nmol}$ e o valor da sua libertação em $\text{nM} \cdot \text{min}^{-1}$, que corresponde ao valor da atividade do enzima PON-1 (Veiga *et al.*, 2011).

3.5. Determinação das concentrações de vitaminas A e E por HPLC

Muitos métodos têm sido propostos para a medição do *stress* oxidativo e muitos deles descrevem determinações indiretas dos níveis de diversos antioxidantes (Khan, Khan, Iqbal, Shah, Ahmad & Watson, 2010).

A quantificação destas vitaminas por HPLC tem sido descrita com a utilização de cromatografia líquida de fase normal e de fase reversa. Estes métodos envolvem deteção por comprimento de onda fixo ou deteção UV por fotodíodos (*Diode Array Detector - DAD*), deteção por fluorescência e deteção eletroquímica (Khan *et al.*, 2010).

Um método cromatográfico consiste na separação analítica de diferentes componentes constituintes numa amostra, em que estes interagem com uma fase móvel (eluyente) e uma fase estacionária através de forças intermoleculares, sendo que a separação é feita tendo em conta a diferença de afinidade que cada composto tem com a fase estacionária e com a fase móvel. Assim, a fase estacionária retém os componentes com maior afinidade para ela, e os que possuem menor afinidade são arrastados pelo eluyente. Desta forma, a fase móvel deve dissolver a amostra, ter elevado grau de pureza, ser compatível com o detetor, e ainda possuir polaridade adequada à separação dos componentes da amostra (Tavares, 2010). No HPLC, o eluyente é forçado a atravessar a fase estacionária sob elevadas pressões, o que faz diminuir o tempo de análise e permite fases estacionárias mais compactas (Pires, 2008).

O sistema utilizado foi de fase reversa, cuja fase estacionária é apolar e a fase móvel é polar. Desta forma, a retenção dos componentes da amostra é efetuada devido às forças intermoleculares de *Van der Waals*, onde os componentes com menor afinidade com a fase estacionária e maior com a fase móvel são detetados primeiro (Pires, 2008; Tavares, 2010). Para este estudo foi utilizado um sistema de HPLC *Thermo Finnigan*, que consiste numa bomba (*LC Pump*), desgaseificador de vácuo, *autosampler* (*autosampler Surveyor*), ligado a um detetor DAD (*PDA Surveyor*). Todo o sistema é controlado pelo programa informático designado por *Xcalibur* (versão 2.0). Os dados foram adquiridos e tratados utilizando este programa e o de processamento *Qual Browser* (figura 20).

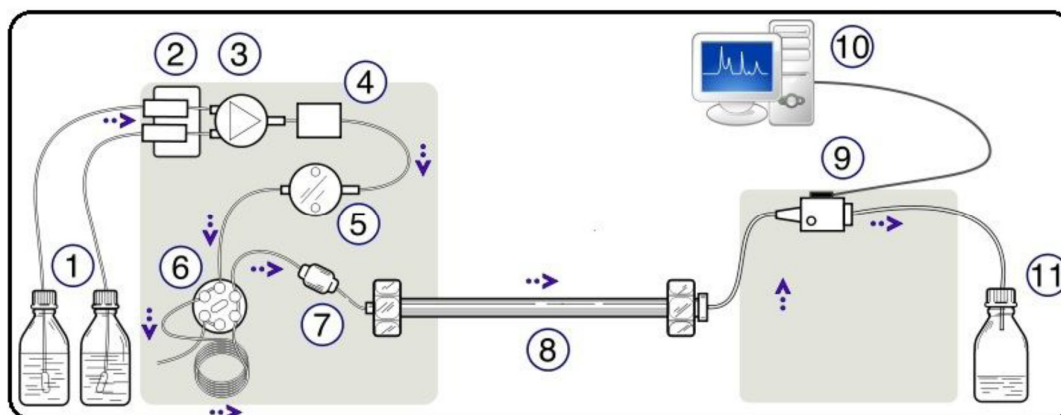


Figura 20: Esquema ilustrativo de um sistema do HPLC: 1- Reservatório de solventes; 2 - Válvulas de abertura; 3 – Bomba; 4 – Misturador; 5 - Válvula interna; 6 – Injetor; 7 - Pré-coluna; 8 – Coluna; 9 – Detentores; 10 - Estação de aquisição de dados; 11 – Reservatório de resíduos. A seta azul representa o sentido da progressão do solvente durante uma análise (Tavares, 2010).

Procedimento para preparação de padrões para elaboração de reta de calibração:

A reta de calibração foi efetuada a partir de soluções stock de vitamina E (Vit. E), 100 mM em clorofórmio (CHCl_3), de vitamina A (retinol), 100 mM em metanol e α -tocoferol (α -TF), 100 mM em metanol.

A partir das soluções padrão acima foi efetuada uma diluição para 0,05 mM de α -tocoferol e 0,017 mM de vitamina A.

Tabela 7: Diluições do padrão de α -tocoferol (Vitamina E) com vista à realização da reta de calibração. Volume injetado de 25 μL .

Nível	Quantidade de α -TA (nmol)
Branco	0
1	1,25
2	3,125
3	6,25
4	9,375
5	10,625
6	12,5

A partir destas, e com vista a efetuar uma reta de calibração, efetuaram-se diluições destas soluções de acordo com o descrito nas tabelas 7 e 8.

Tabela 8: Diluições do padrão de retinol (vitamina A) com vista à realização da reta de calibração.
Volume injetado de 25 μ L.

Nível	Quantidade de Vit. A (nmol)
Branco	0
1	0,425
2	1,0625
3	2,125
4	3,1875
5	3,6125
6	4,25

Procedimento de Extração da amostra:

Para preparação das amostras utilizou-se o seguinte procedimento, adaptado de Thibeault, Su, MacNamara & Schipper, 2009:

1. A 400 μ L de soro, adicionaram-se 25 μ L de α -TA (1 mM) e 375 μ L de metanol.
2. Homogeneizou-se em vortex.
3. Adicionaram-se 400 μ L de n-Hexano.
4. Homogeneizou-se em vortex durante 5 minutos.
5. Centrifugou-se a 13400 xg durante 5 minutos.
6. Retirou-se o sobrenadante para um vial.
7. Ao pellet que sobrou, repetiram-se passos 3, 4, 5 e 6 mais duas vezes.
8. Evaporou-se sob fluxo de azoto (N_2) em banho seco a 37°C.
9. Após evaporação total, adicionaram-se 100 μ L de metanol.
10. Homogeneizou-se no vortex.
11. Transferiu-se todo o conteúdo para um inserto que foi colocado no vial.
12. Colocou-se no sistema de HPLC para injeção de 25 μ L, no waste.

Condições cromatográficas:

A análise dos padrões para realização da reta de calibração e das amostras, foi efetuada utilizando uma coluna de fase reversa *Hypersil Keystone BDS C-18* (200x4 mm, dimensão da partícula de 25 μ m, Thermo Unicam) com uma pré coluna *Javelin BDS C-18* (10x4 mm, Thermo Unicam).

As condições cromatográficas foram as indicadas na tabela 9.

Tabela 9: Condições cromatográficas para quantificação de retinol e α -tocoferol para realização das respetivas curvas de calibração.

Condições	Descrição
Volume de injeção	25 μ L
Lavagem da agulha entre injeções	400 μ L de metanol
Corrida isocrática	100% metanol durante 20 minutos
Comprimentos de onda de leitura	290 nm (α -tocoferol), 285 nm (tocoferil acetato) e 325 nm (retinol) Total Scan de 200 a 600 nm
Fluxo	1 mL.min ⁻¹
Modo de injeção	No waste

4. Resultados

4.1. Caracterização da População

A população foi constituída por 9 trabalhadores da indústria de valorização e reciclagem de lâmpadas, que estarão eventualmente expostos aos contaminantes que resultam do processo de separação dos componentes e recolha de mercúrio em amálgama e no pó de fósforo.

Cada um destes elementos, e posteriormente ao seu consentimento informado (Anexo I), facultou material biológico para a realização do estudo, designadamente sangue.

Recolheram-se igualmente amostras de 13 indivíduos que não apresentavam atividade profissional relacionada com a manipulação de mercúrio e que preenchiam os requisitos inscritos no questionário relativo a hábitos de vida, alimentares, tabágicos e de alcoolismo (Anexo II).

Dos trabalhadores envolvidos no estudo, 8 são do sexo masculino com idades compreendidas entre os 25 e os 60 anos e 1 do sexo feminino com idade de 33 anos (tabela 10). Em média, os trabalhadores exercem atividades que envolvem manipulação de mercúrio há 5,89 anos, havendo trabalhadores que a exercem há 5 anos e outros há 10 anos.

Em média, os trabalhadores encontram-se nas instalações cerca de 8,22 horas, sendo o valor das 8h diárias de trabalho, apenas excedido em situações de pico de produção. Destas, em média são passadas 4,89 horas juntos dos equipamentos onde a exposição será potencialmente mais elevada. Contudo, existem funções administrativas, cuja exposição é menor (0,5 horas) e funções junto dos equipamentos onde o trabalhador se encontra exposto durante as 7,5h (tendo em conta que existem duas pausas de 15 minutos por dia). Note-se igualmente que não existe rotatividade nos postos de trabalho. Em situações de pico de trabalho, existem trabalhadores que são recolocados noutros postos, mas de seguida regressam ao posto de trabalho original.

Cerca de 66,67% dos trabalhadores declara a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI). Contudo, através de observações junto dos locais de trabalho foi possível constatar que além das botas de biqueira de aço, luvas com proteção mecânica, óculos e coletes, a utilização de máscaras com filtro adequado à proteção contra o mercúrio elementar volatilizado, apenas era efetuada no transporte dos contentores com mercúrio recuperado ou com a amálgama de mercúrio e pó de fósforo para a destiladora.

Importa ainda referir que 33,33% dos trabalhadores declara ser fumador, com uma média de 16,67 cigarros por dia. No que concerne ao consumo de bebidas alcoólicas, 66,67% indicam ingestão de bebidas alcoólicas, dos quais 66,67% têm um consumo de 1 a 2 vezes por

semana, incluindo ingestão de bebidas brancas como aguardente, bagaço ou whiskey, e 16,67% com ingestões de 3 a 4 vezes por semana ou mais de 5 vezes por semana.

Todos os trabalhadores indicam ingestão semanal de peixe, onde 100% ingere habitualmente peixes de superfície, como a dourada e, no que diz respeito a marisco, 88,88% dos trabalhadores consome mariscos variados 1 a 2 vezes por mês.

Tabela 10: Características do grupo de trabalhadores.

Característica	Mínimo	Máximo	Média	Percentagem
Idade	25	60	41,44	-
Sexo masculino	-	-	-	88,89%
Sexo feminino	-	-	-	11,11%
Tempo de exercício da atividade (anos)	5	10	5,89	-
Número de horas de trabalho/dia	8	10	8,22	-
Número de horas de exposição a lâmpadas com Hg	0,5	7,5	4,89	-
Utilização de EPI	-	-	-	66,67%
Fumador	-	-	-	33,33%
Número de cigarros/dia	10	20	16,67	-
Consumo de bebidas alcoólicas	-	-	-	66,67%
Quantidade semanal de consumo de bebidas alcoólicas				
1 a 2	-	-	-	66,67%
3 a 4	-	-	-	16,67%
5 ou mais	-	-	-	16,67%
Quantidade semanal de consumo de bebidas brancas				
1 a 2	-	-	-	66,67%
3 a 4	-	-	-	0,00%
5 ou mais	-	-	-	0,00%
Consumo de peixe	-	-	-	100,00%
Consumo de peixe de superfície	-	-	-	100,00%
Consumo de peixe de profundidade	-	-	-	77,78%
Número de refeições de peixe/semana				
1 a 2	-	-	-	11,11%
3 a 4	-	-	-	22,22%
5 ou mais	-	-	-	66,67%
Consumo de marisco	-	-	-	88,89%
Número de refeições de marisco/mês				
1 a 2	-	-	-	100,00%

No que respeita ao grupo controlo (tabela 11), é composto por 13 indivíduos (53,85% do sexo masculino e 46,15% do sexo feminino) com idades compreendidas entre os 18 e os 51 anos e em que a média de idades é de 34,50 anos.

Os indivíduos pertencem a uma instituição de ensino superior desenvolvendo atividades administrativa e/ou docência. Não existe ou existiu no passado qualquer tipo de exposição ocupacional a mercúrio nos indivíduos que integraram o grupo controlo.

Para este grupo controlo foram igualmente selecionados indivíduos não fumadores, e no que respeita ao consumo de bebidas alcoólicas, 38,46% indicam ingestão de bebidas alcoólicas, dos quais 60% têm um consumo de 1 a 2 vezes por semana, sendo que apenas 20% indica o consumo de bebidas brancas como aguardente, bagaço ou whiskey, e 40% com ingestões de 3 a 4 vezes por semana ou mais de 5 vezes por semana.

No que diz respeito ao consumo de peixe, 76,92% dos indivíduos consome peixe sendo que apenas de superfície e 15,38% consome mariscos variados 1 a 2 vezes por mês.

Tabela 11: Características do grupo de controlo.

Característica	Mínimo	Máximo	Média	Percentagem
Idade	18	51	34,5	-
Sexo masculino	-	-	-	53,85%
Sexo feminino	-	-	-	46,15%
Tempo de exercício da atividade (anos)	2	25	13,5	-
Número de horas de trabalho/dia	5	9	7	-
Fumador	-	-	-	0,00%
Consumo de bebidas alcoólicas	-	-	-	38,46%
Quantidade semanal de consumo de bebidas alcoólicas				
1 a 2	-	-	-	60,00%
3 a 4	-	-	-	20,00%
5 ou mais	-	-	-	20,00%
Quantidade semanal de consumo de bebidas brancas				
1 a 2	-	-	-	20,00%
3 a 4	-	-	-	0,00%
5 ou mais	-	-	-	0,00%
Consumo de peixe	-	-	-	76,92%
Consumo de peixe de superfície	-	-	-	100,00%
Consumo de peixe de profundidade	-	-	-	0,00%
Número de refeições de peixe/semana				
1 a 2	-	-	-	40,00%
3 a 4	-	-	-	50,00%
5 ou mais	-	-	-	10,00%
Consumo de marisco	-	-	-	15,38%
Número de refeições de marisco/mês				
1 a 2	-	-	-	100,00%

4.2. Determinação das Concentrações de Mercúrio Total

4.2.1. Na População de Trabalhadores

Após quantificação das concentrações de mercúrio no sangue (tabela 12) podemos verificar que os valores variam entre 1,22 e 3,61 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Não foram registados quaisquer valores acima do valor limite do marcador biológico (sangue) indicado pela Comunidade Europeia, 10,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (SCOEL, 2007).

Note-se ainda que em todos os resultados os valores do coeficiente de variação (CV) são inferiores a 10,0%, o que é consistente com a literatura (Torres, Vieira, Ribeiro & Curtius, 2005).

Tabela 12: Concentrações de mercúrio total no sangue dos trabalhadores da indústria de valorização e reciclagem de lâmpadas.

Indivíduo	Média ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Desvio padrão	CV%
1	2,16	0,164	7,62
2	3,62	0,0770	2,13
3	1,27	0,0380	3,00
4	2,91	0,251	8,64
5	1,22	0,0400	3,27
6	2,38	0,204	8,59
7	1,83	0,0120	0,650
8	2,04	0,127	6,22
9	2,79	0,0200	0,700
Média	2,25	0,104	4,47

Relativamente ao valor mais elevado, 3,62 $\mu\text{g.L}^{-1}$, o trabalhador já é funcionário na empresa com as mesmas funções há 8 anos, sendo o seu posto de trabalho na unidade de recuperação das lâmpadas. Além disso, declara igualmente uma alimentação diárias com peixe, apesar de não referir o consumo de peixe de profundidade que está muitas vezes relacionado com a exposição a mercúrio por via alimentar.

Verifica-se igualmente que o valor mais baixo, 1,22 $\mu\text{g.L}^{-1}$ pertence a um trabalhador, cujas funções são de carácter administrativo, localizando-se a maior parte do tempo nos escritórios da empresa. Além disso, no questionário preenchido, foi indicado que em média apenas se desloca à zona de produção cerca de 1,5 horas por dia. Refere igualmente consumo de peixe de superfície, mas apenas com uma frequência de 1 a 2 vezes por semana.

4.2.2. No Grupo de Controlo

Após quantificação das concentrações de mercúrio no sangue (tabela 13) podemos verificar que os valores variam entre 0,183 e 1,44 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Não foram registados quaisquer valores acima do valor limite do marcador biológico (sangue) indicado pela Comunidade Europeia (10,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$) (SCOEL, 2007).

Note-se ainda que em todos os resultados os valores do coeficiente de variação (CV) são inferiores a 10,0%, o que é, uma vez mais, consistente com a literatura (Torres, Vieira, Ribeiro & Curtius, 2005).

Tabela 13: Concentrações de mercúrio total no sangue do grupo controlo da indústria de valorização e reciclagem de lâmpadas.

Indivíduo	Média ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Desvio padrão	CV%
1	1,25	0,0399	3,18
2	0,859	0,0274	3,19
3	0,631	0,0567	8,99
4	1,44	0,0587	4,07
5	0,183	0,0113	6,19
6	0,517	0,0107	2,06
7	0,932	0,00156	0,167
8	0,768	0,00742	0,967
9	0,543	0,00205	0,378
10	0,862	0,00799	0,927
11	1,26	0,0628	4,97
12	1,40	0,00544	0,390
13	0,585	0,0435	7,43
Média	0,864	0,0258	3,30

Constata-se, desta forma que a população de trabalhadores tem, em média uma concentração de mercúrio superior ao grupo de controlo numa proporção de 61,6%.

4.3. Determinação da Atividade da Paraoxonase-1

4.3.1 Na População de Trabalhadores

Após análise das atividades da PON-1 (tabela 14), verifica-se que o valor atividade mais elevado é de $1,18 \times 10^3$ mM.min⁻¹, correspondente ao terceiro valor mais baixo dos níveis de mercúrio encontrados.

Tabela 14: Atividades de paraoxonase-1 dos trabalhadores.

Indivíduo	Atividade (mM.min ⁻¹)	Desvio Padrão	CV%
1	$9,12 \times 10^2$	0,00346	0,830
2	$6,44 \times 10^2$	0,00666	2,26
3	$6,36 \times 10^2$	0,00818	2,81
4	$2,81 \times 10^2$	0,00322	2,50
5	$7,38 \times 10^2$	0,00116	0,340
6	$1,84 \times 10^2$	0,00153	1,81
7	$1,18 \times 10^3$	0,0105	1,94
9	$1,61 \times 10^3$	0,00153	2,07
Média	$7,73 \times 10^2$	0,00453	1,82

4.3.2. No Grupo de Controlo

Após análise das atividades da paraoxonase-1 (tabela 15), verifica-se que o valor atividade mais elevado é de $1,82 \times 10^3$ mM.min⁻¹ e o valor mais baixo é de $1,44 \times 10^2$ mM.min⁻¹.

Tabela 15: Atividades de paraoxonase-1 do grupo de controlo.

Indivíduo	Atividade (mM.min ⁻¹)	Desvio Padrão	CV%
1	$1,74 \times 10^2$	0,00208	0,0261
2	$1,44 \times 10^2$	0,000577	0,00879
3	$1,64 \times 10^2$	0,00100	0,0133
4	$1,46 \times 10^2$	0,00321	0,0482
5	$7,63 \times 10^2$	0,0223	0,0640
6	$5,54 \times 10^2$	0,00777	0,0307
7	$1,82 \times 10^3$	0,0115	0,170
9	$2,56 \times 10^2$	0,0342	0,0410
10	$1,01 \times 10^3$	0,00378	0,0323
11	$7,11 \times 10^2$	0,00700	0,0152
12	$1,60 \times 10^3$	0,0105	0,0323
13	$6,16 \times 10^2$	0,0240	0,0328
Média	$6,63 \times 10^2$	0,0107	0,0429

Constata-se, assim, que a população de trabalhadores tem, em média uma atividade de PON-1 superior ao grupo de controlo numa proporção de 14,2%.

4.4. Determinação da Concentração de Vitaminas A e E

4.4.1. Nos Trabalhadores

Na quantificação por HPLC de retinol e α -tocoferol, foram obtidas as respetivas retas de calibração que se apresentam a seguir, através do método de padrão interno e cujos Limites de deteção para as vitaminas A e E são LOD = 4,00 e LOK= 1,33 e LOD=14,0 e LOK= 4,67, respetivamente.

Relativamente à reta de calibração do α -tocoferol (Vitamina E), obteve-se a seguinte equação:

Equação 1: Equação da reta de calibração obtida a partir dos padrões de α -tocoferol.

$$\text{Área do Pico} = -0,0286 + 0,426(\text{quantidade de } \alpha - TF \text{ (mol)}) , R^2 = 0,991$$

Onde, x representa a concentração de α -tocoferol (μM) nos trabalhadores e y a área do pico obtido pela análise das amostras por HPLC.

A partir desta equação foram calculadas as concentrações de α -tocoferol presentes no sangue de cada indivíduo estudado (tabela 16).

Tabela 16: Concentração de α -tocoferol no sangue dos trabalhadores.

Indivíduo	Concentração Média (μM)	Desvio Padrão	CV (%)
1	54,1	0,158	0,290
2	34,1	0,0570	0,170
3	42,9	0,0950	0,220
4	31,9	0,0410	0,130
5	34,0	0,154	0,450
6	40,0	0,169	0,430
7	33,2	0,0910	0,270
9	25,8	0,0900	0,350
Média	37,0	0,107	0,289

Pode-se verificar que a maioria das quantificações efetuadas para o grupo de trabalhadores estão dentro dos valores de referência de 12,0 a 42,0 μM (Iverson, Christianson, Flanagin, Fontanarosa, Glass, Gregoline, Lurie, Meyer, Winker & Young, 2007) onde o valor mais elevado é de 54,1 μM e o mais baixo é de 25,8 μM .

É importante referir ainda que ambos os trabalhadores estão em contacto com o processo de valorização e separação das lâmpadas de mercúrio durante 7,5h diárias há cerca de 5 anos.

Após realização da reta de calibração de retinol, obteve-se a seguinte equação:

Equação 2: Equação da reta de calibração obtida a partir dos padrões de retinol.

$$\text{Área do pico} = 0,280 + 2,26 (\text{quantidade de retinol (mol)}) , R^2 = 0,992$$

Onde x representa a concentração de retinol (μM) nos trabalhadores e y a área do pico obtido pela análise das amostras por HPLC.

A partir desta equação foram calculadas as concentrações de retinol presentes no sangue de cada indivíduo estudado (tabela 17).

Tabela 17: Concentração de retinol no sangue dos trabalhadores.

Indivíduo	Concentração Média (μM)	Desvio Padrão	CV (%)
1	2,14	0,193	9,02
2	3,31	0,153	4,62
3	3,92	0,0850	1,29
4	1,21	0,0370	0,260
5	2,66	0,0140	0,530
6	1,36	0,00400	0,290
7	0,866	0,00100	0,0600
9	0,567	0,00300	0,490
Média	2,00	0,0612	2,07

Pode-se constatar que metade das quantificações efetuadas para o grupo de trabalhadores estão dentro dos valores de referência de 1,05 a 2,80 μM (Iverson *et al.*, 2007) onde o valor mais elevado é de 3,93 μM e o mais baixo é de 0,567 μM .

Relativamente aos valores mais baixos, e que se encontram abaixo do limite de referência inferior, de 0,866 μM e 0,567 μM (amostras 7 e 9, respetivamente), estes são referentes a trabalhadores que estão expostos a mercúrio durante as 7,5h de trabalho diárias e em que o tempo de serviço na empresa e consequente exposição é de 6 e 5 anos.

Em relação aos valores que se encontram acima do limite de referência, de 3,31 μM e 3,92 μM , referentes às amostras 2 e 3 respetivamente, referem-se a um trabalhador que em média está em contacto com o processo produtivo da empresa 4h por dia há 8 anos (amostra 2) e a um trabalhador que se encontra 7,5h diárias exposto a mercúrio há 5 anos (amostra 3).

4.4.2. No Grupo de Controlo

Na quantificação por HPLC do retinol e α -tocoferol, foram obtidas as respetivas retas de calibração que se apresentam a seguir, através do método de padrão interno.

Utilizando a reta de calibração apresentada na equação 2, calcularam-se as concentrações de α -tocoferol presentes no sangue de cada indivíduo do grupo de controlos (tabela 18).

Tabela 18: Concentração de α -tocoferol no sangue dos indivíduos do grupo de controlo.

Indivíduo	Concentração Média (μM)	Desvio Padrão	CV (%)
1	47,2	0,157	3,32
2	53,6	0,147	2,74
3	51,6	0,0510	1,00
4	28,9	0,108	3,76
5	46,2	0,127	2,75
6	60,2	0,155	2,58
7	37,9	0,0950	2,58
8	28,3	0,0450	1,60
9	32,8	0,197	6,01
10	50,7	0,156	3,09
11	33,7	0,0170	0,49
12	40,3	0,0310	0,78
13	55,9	0,106	1,90
Média	43,6	0,107	2,51

Pode-se verificar que existem valores dentro do intervalo de referência de 12,0 μM a 42,0 μM (Iverson, Christianson, Flanagin, Fontanarosa, Glass, Gregoline, Lurie, Meyer, Winker & Young, 2007), mas que a maioria está acima do limite superior do referido intervalo. Não existem valores abaixo do limite inferior do intervalo. O valor mais elevado é de 60,2 μM e o mais baixo é de 28,3 μM .

A partir da equação da reta de calibração para o retinol (equação 3) foram calculadas as concentrações de retinol presentes no sangue de cada indivíduo estudado do grupo controlo (tabela 19).

Tabela 19: Concentração de retinol no sangue dos indivíduos do grupo de controlo.

Indivíduo	Concentração Média (μM)	Desvio Padrão	CV (%)
1	1,29	0,060	4,67
2	1,17	0,040	3,41
3	1,21	0,0510	4,22
4	0,868	0,0130	1,52
5	1,02	0,0580	5,69
6	0,699	0,0230	3,30
7	0,782	0,0230	2,94
8	1,09	0,0170	1,52
9	0,767	0,0220	2,82
10	0,921	0,0266	2,87
11	1,07	0,0230	2,11
12	0,821	0,0100	1,26
13	1,03	0,0610	5,92
Média	0,980	0,033	3,25

Pode-se constatar que a maioria das quantificações efetuadas para o grupo de controlo estão abaixo dos valores de referência de 1,05 a 2,80 μM (Iverson *et al.*, 2007) onde o valor mais elevado é de 1,29 μM e o mais baixo é de 0,767 μM .

4.5. Comparação da concentração de mercúrio entre trabalhadores e controlos

Após verificada a condição de normalidade no grupo de trabalhadores e no grupo de controlo (tabela 20), procedeu-se à aplicação do teste t para duas amostras independentes, para se verificar se existem, ou não, diferenças estatisticamente significativas da concentração de mercúrio no sangue entre estes dois grupos (tabela 21).

Tabela 20: Teste de normalidade de *Shapiro-Wilk* realizado com o programa estatístico SPSS.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	Gl	Sig.
Concentração de Hg no grupo de trabalhadores ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,964	9,00	0,835
Concentração de Hg no grupo de controlos ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,949	13,00	0,588

Da sua aplicação conclui-se, a existência de diferenças estatisticamente significativas nas concentrações médias de mercúrio no sangue entre trabalhadores e controlos ($t(10,7)=4,92$, $p=0,000$), verificando-se que os trabalhadores apresentam concentrações médias significativamente mais elevadas que no grupo de controlos de $2,24 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $0,864 \mu\text{g.L}^{-1}$ respetivamente.

Tabela 21: Resultados do teste t para duas amostras independentes para comparar as concentrações médias de mercúrio no sangue, entre trabalhadores e controlos.

		Teste de <i>Levene</i> para a Igualdade das Variâncias		Teste t para duas amostras independentes		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (2-tailed)
		Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior
Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Igualdade de variâncias assumida	4,41	,0490	5,58	20,0	0,000
	Igualdade de variâncias não assumida			4,92	10,7	0,000

4.6. Comparação das atividades de PON-1 entre trabalhadores e controlos

Tendo em conta que a normalidade não se verifica nas duas populações (tabela 22), para a comparação das atividades de PON-1 entre trabalhadores e controlos, recorreu-se ao teste de *Mann-Whitney* (tabela 23).

Tabela 22: Teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	gl	Sig.
Atividade PON-1 nos trabalhadores ($\mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$)	0,932	8,00	0,530
Atividade PON-1 no grupo de controlo ($\mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$)	0,835	13,0	0,0140

Tabela 23: Resultados do teste de *Mann-Whitney* para a comparação das atividades de PON-1 entre trabalhadores e controlos.

	Atividade PON ($\mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$)
<i>Mann-Whitney U</i>	44,0
<i>Wilcoxon W</i>	135
Z	-0,579
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,562
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,595(a)

Da aplicação do teste, não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas das atividades de PON-1 entre trabalhadores e controlos ($U=44,0$, $z=-0,579$, $p=0,562$).

4.7. Forma e intensidade da relação entre a concentração de mercúrio e a atividade da PON-1

4.7.1. Nos Trabalhadores

A partir da análise da tabela 24 verificamos que da aplicação do teste de ajustamento de *Shapiro-Wilk*, os dados se ajustam a uma distribuição normal ($p > 0,0500$).

Tabela 24: Resultados do teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	gl	Sig.
Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,964	9	0,835
Atividade PON-1 ($\text{nmol.min}^{-1}.\text{ml}^{-1}$)	0,932	8	0,530

Tabela 25: Resultados do coeficiente de correlação de *Pearson* para avaliar a forma e intensidade da relação entre a concentração de mercúrio e a atividade do enzima PON-1 nos trabalhadores.

		Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Atividade PON-1 ($\mu\text{M.min}^{-1}$)
Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Correlação de <i>Pearson</i>	1,00	-0,422
	Sig. (2-tailed)		0,298
	N	9,00	8,00
Atividade PON-1 ($\mu\text{M.min}^{-1}$)	Correlação de <i>Pearson</i>	-0,422	1,00
	Sig. (2-tailed)	0,298	
	N	8,00	8,00

Da análise dos resultados da tabela 25, conclui-se que no grupo dos trabalhadores foi encontrada uma correlação negativa fraca ($r = -0,422$), mas não significativa ($p = 0,298$), entre a concentração de mercúrio e a atividade do enzima PON-1. Estes resultados apontam para uma tendência, mesmo que não significativa, o que pode dever-se à dimensão da amostra,

para que maiores concentrações de mercúrio correspondam a diminuição das atividades do enzima.

4.7.2. No Grupo de Controlo

A partir da análise da tabela 26 verificamos que da aplicação do teste de ajustamento de *Shapiro-Wilk*, os dados não se ajustam a uma distribuição normal ($p < 0,0500$). Por este motivo, irá aplicar-se o coeficiente de correlação de *Spearman* para estudar a relação entre a concentração de mercúrio e a atividade do enzima PON-1 no grupo de controlo.

Tabela 26: Resultados do teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	gl	Sig.
Atividade PON-1 ($\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$)	0,861	21,0	0,00700
Concentração de Hg ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	0,907	21,0	0,0470

Tabela 27: Resultados do coeficiente de correlação de *Spearman*, para avaliar a forma e intensidade da relação entre a concentração de mercúrio e a atividade do enzima PON-1.

			Concentração de Hg ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Atividade PON ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$)
<i>Spearman's rho</i>	Concentração de Hg ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Coeficiente de Correlação	1,00	-0,0130
		Sig. (2-tailed)	.	0,955
		N	22,0	21,0
	Atividade PON-1 ($\mu\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$)	Coeficiente de Correlação	-0,0130	1,00
		Sig. (2-tailed)	0,955	.
		N	21,0	21,0

Da análise dos resultados da tabela 27, conclui-se que no grupo de controlo não foi encontrada uma qualquer relação entre a concentração de mercúrio e a atividade do enzima PON-1 ($r_s = -0,0130$, $p = 0,955$).

4.8. Comparar a concentração de vitamina E entre trabalhadores e grupo de controlo

Tendo em conta que os dados se ajustam a uma distribuição normal (tabela 28), comparou-se a concentração de α -tocoferol no soro entre trabalhadores e o grupo de controlo, utilizando o teste t para duas amostras independentes (tabela 29).

Tabela 28: Resultados do teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	gl	Sig.
Concentração de α -tocoferol nos trabalhadores (μM)	0,914	8,00	0,383
Concentração de α -tocoferol no grupo de controlo (μM)	0,940	13,0	0,456

Tabela 29: Resultados do teste t para duas amostras independentes para comparação da concentração de α -tocoferol entre trabalhadores e controlos.

	Teste de <i>Levene</i> para a Igualdade das Variâncias	Teste t				
		F	Sig.	t	gl	Sig. (2-tailed)
		Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior
Concentração de α -tocoferol (μM)	Igualdade de variâncias assumida	1,68	0,211	-1,46	19,0	0,160
	Igualdade de variâncias não assumida			-1,54	17,4	0,141

Da aplicação do teste, não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de α -tocoferol entre trabalhadores e controlos ($p=0,160$)

4.8. Forma e intensidade da relação entre a concentração de mercúrio e a concentração de vitamina E

Tendo em conta o papel protetor e antioxidante da Vitamina E, na ação negativa provocada pelo mercúrio, pesquisou-se também a relação entre as concentrações deste metal e concentrações desta, quer nos trabalhadores desta indústria quer nos controlos.

4.9.1. Nos Trabalhadores

Procedeu-se em primeiro lugar à verificação do pressuposto da condição de normalidade, através do teste de ajustamento de *Shapiro-Wilk*, a partir da qual se conclui que os dados quer da concentração de mercúrio, quer da concentração de vitamina E se ajustam a uma distribuição Normal (tabela 30).

Tabela 30: Resultados do teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	gl	Sig.
Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,964	9,00	0,835
Concentração de α -tocoferol no sangue (μM)	0,914	8,00	0,383

Desta forma, para avaliar a forma e intensidade da relação entre concentrações, recorreu-se ao coeficiente de correlação de *Pearson* (tabela 31), a partir do qual se conclui pela existência de uma correlação negativa fraca, mas não significativa, entre as concentrações de mercúrio e de α -tocoferol no sangue ($r=-0,312$, $p=0,452$). Contudo, estes resultados sugerem uma tendência para que na presença de maiores concentrações de mercúrio, haja uma diminuição da concentração de α -tocoferol no sangue dos indivíduos expostos.

Tabela 31: Resultados do coeficiente de correlação de *Pearson*, para determinar a forma e intensidade da relação entre as concentrações de mercúrio e de α -tocoferol no sangue, no grupo dos trabalhadores.

		Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Concentração de α -tocoferol no sangue (μM)
Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Correlação de <i>Pearson</i>	1,00	-0,312
	Sig. (2-tailed)		0,452
	N	9,00	8,00
Concentração de α -tocoferol no sangue (μM)	Correlação de <i>Pearson</i>	-0,312	1,00
	Sig. (2-tailed)	0,452	
	N	8,00	8,00

4.9.2. No Grupo de Controlo

A partir da análise da tabela 32 verificamos que da aplicação do teste de ajustamento de *Shapiro-Wilk*, os dados ajustam-se a uma distribuição Normal ($p > 0,0500$).

Tabela 32: Resultados do teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	gl	Sig.
Concentração de α -tocoferol no grupo de controlo (μM)	0,940	13,0	0,456
Concentração de Hg no grupo de controlo ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,949	13,0	0,588

Tabela 33: Resultados do coeficiente de correlação de *Pearson*, para determinar a forma e intensidade da relação entre as concentrações de mercúrio e de α -tocoferol no sangue dos indivíduos do grupo de controlo.

		Concentração de Hg no grupo de controlo ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Concentração de α -tocoferol no grupo de controlo (μM)
Concentração de Hg no grupo de controlo ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Correlação de <i>Pearson</i>	1,00	0,153
	Sig. (2-tailed)		0,618
	N	13,0	13,0
Concentração de α -tocoferol no grupo de controlo (μM)	Correlação de <i>Pearson</i>	0,153	1,00
	Sig. (2-tailed)	0,618	
	N	13,00	13,00

Da análise dos resultados apresentados na tabela 33, foi encontrada uma correlação positiva muito fraca, mas não significativa, entre as concentrações de mercúrio e α -tocoferol no grupo de controlo ($r=0,153$, $p=0,618$). Estes resultados sugerem que maiores concentrações de mercúrio estejam relacionadas, apesar de forma não significativa, com maiores concentrações de α -tocoferol em indivíduos não expostos.

4.10. Comparação da concentração de vitamina A entre trabalhadores e controlos

A partir da análise da tabela 34 verificamos que da aplicação do teste de ajustamento de *Shapiro-Wilk*, os dados ajustam-se a uma distribuição Normal ($p > 0,0500$).

Tabela 34: Teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	Gl	Sig.
Concentração de retinol no sangue do grupo de trabalhadores (μM)	0,939	8,00	0,602
Concentração de retinol no sangue do grupo de controlo (μM)	0,963	13,0	0,793

Tabela 35: Resultados do teste t para duas amostras independentes para a comparação da concentração de **retinol** entre trabalhadores e controlos.

		Teste de <i>Levene</i> para a Igualdade das Variâncias		Teste t		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (2-tailed)
		Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior
Concentração de retinol (μM)	Igualdade de variâncias assumida	29,7	0,000	3,05	19,0	0,00700
	Igualdade de variâncias não assumida			2,38	17,4	0,0480

Comparou-se a concentração de retinol no soro entre trabalhadores e o grupo de controlo, utilizando o teste t para duas amostras independentes (tabela 35). Da sua aplicação, foram detetadas diferenças estatisticamente significativas da concentração média de retinol entre os dois grupos ($t_{(19)} = 3,05$, $p = 0,007$).

4.11. Determinação da relação entre a concentração de mercúrio e a concentração de vitamina A

4.11.1. Nos Trabalhadores

Estudou-se a associação entre a disponibilidade de vitamina A e a presença de mercúrio no sangue dos trabalhadores estudados (tabela 37). Os dados dispunham-se através de uma distribuição normal para estas variáveis (tabela 36).

Tabela 36: Teste de normalidade de *Shapiro-Wilk* realizado com o programa estatístico SPSS.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	gl	Sig.
Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,964	9,00	0,835
Concentração de retinol no sangue (μM)	0,939	8,00	0,602

Tabela 37: Teste de relação entre a concentração de mercúrio e a concentração de vitamina A nos trabalhadores através do coeficiente de correlação de *Pearson* realizado com o programa estatístico SPSS.

		Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Concentração de retinol no sangue (μM)
Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Correlação de <i>Pearson</i>	1,00	-0,239
	Sig. (2-tailed)		0,568
	N	9,00	8,00
Concentração de retinol no sangue (μM)	Correlação de <i>Pearson</i>	-0,239	1,00
	Sig. (2-tailed)	0,568	
	N	8,00	8,00

Da análise da correlação de *Pearson*, e tal como no α -tocoferol, não foi encontrada relação

estatisticamente significativa entre as concentrações de mercúrio e de retinol ($p=0,568$). Contudo, parece haver uma correlação negativa de intensidade fraca ($r=-0,239$) que sugere uma tendência para que na presença de maiores concentrações de mercúrio, haja uma diminuição da concentração de vitamina A no sangue dos indivíduos expostos.

4.11.2.No Grupo de Controlo

A partir da análise da tabela 38 verificamos que da aplicação do teste de ajustamento de *Shapiro-Wilk*, os dados ajustam-se a uma distribuição normal ($p>0,0500$).

Tabela 38: Teste de normalidade de *Shapiro-Wilk* realizado com o programa estatístico SPSS.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	gl	Sig.
Concentração de retinol no grupo de controlo (μM)	0,963	13,0	0,793
Concentração de Hg no grupo de controlo ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,949	13,0	0,588

Tabela 39: Teste de relação entre as concentrações de mercúrio e de vitamina A no grupo de controlo através do coeficiente de correlação de *Pearson* realizado com o programa estatístico SPSS.

		Concentração de Hg no grupo de controlo ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Concentração de retinol no grupo de controlo (μM)
Concentração de Hg no grupo de controlo ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Correlação de <i>Pearson</i>	1,00	0,097
	Sig. (2-tailed)		0,753
	N	13,0	13,0
Concentração de retinol no grupo de controlo (μM)	Correlação de <i>Pearson</i>	0,097	1,00
	Sig. (2-tailed)	0,753	
	N	13,00	13,00

Na tabela 39, podemos estudar a relação entre as concentrações de mercúrio e de retinol no grupo de controlo, recorrendo-se ao coeficiente de correlação de *Pearson*, a partir do qual se obteve uma correlação positiva de intensidade fraca ínfima ($r=0,097$) não significativa ($p=0,753$).

4.12. Determinação da relação entre a concentração de mercúrio e o número de horas de exposição a mercúrio no grupo de trabalhadores

Estudou-se a eventual relação entre o aumento das concentrações deste metal no sangue dos profissionais e o número de horas de exposição ocupacional ao mesmo.

Daqui, foram excluídos dois profissionais que apenas se encontram expostos a mercúrio por um muito curto período de tempo (30 minutos diários).

Tabela 40: Teste de normalidade de *Shapiro-Wilk* realizado com o programa estatístico SPSS.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	gl	Sig.
Número de horas de exposição a lâmpadas com Hg	0,651	7,00	0,001
Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,927	7,00	0,525

Da análise da tabela 40 verifica-se que a variável relativa ao número de horas de exposição a lâmpadas de mercúrio não obedece a uma distribuição normal, pelo que foi aplicado o teste de *spearman* para determinar a relação entre elas (tabela 41).

Tabela 41: Teste de relação entre a concentração de mercúrio e o número de horas de exposição a lâmpadas de Hg através do coeficiente de correlação de *Spearman* realizado com o programa estatístico SPSS.

			Número de horas de exposição a lâmpadas com Hg	Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
<i>Spearman's rho</i>	Número de horas de exposição a lâmpadas com Hg	Coeficiente de Correlação	1,00	0,134
		Sig. (2-tailed)	.	0,775
		N	7,00	7,00
	Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Coeficiente de Correlação	0,134	1,00
		Sig. (2-tailed)	0,775	.
		N	7,00	7,00

Através da tabela 41, verificamos que não existe relação estatisticamente significativa entre o número de horas de exposição a este metal pesado e a sua concentração no sangue dos trabalhadores. Contudo, verifica-se igualmente uma correlação positiva fraca, o que sugere

um aumento da concentração de mercúrio no sangue com o aumento do número de horas de exposição a este metal.

4.13. Determinação da relação entre a concentração de mercúrio e a antiguidade nos trabalhadores

É conhecido que a exposição a metais pesados tem um efeito cumulativo nos organismos. Ou seja, quanto maior for o período de exposição ao longo do tempo, maior será a probabilidade de encontrarmos concentrações de mercúrio mais elevadas. Desta forma, estudámos esta relação, tendo em conta que na empresa existem trabalhadores que têm contacto com estas lâmpadas desde o início do processo. Foram excluídos os trabalhadores, que apesar de estarem na empresa há alguns anos, não fazem parte do processo produtivo e estão pouco tempo em contacto com o mesmo.

Tabela 42: Teste de normalidade de *Shapiro-Wilk* realizado com o programa estatístico SPSS.

	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Estatística	gl	Sig.
Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,994	7,00	0,999
Tempo de exercício da atividade (anos)	0,744	7,00	0,011

Da análise da tabela 42 verifica-se que a variável relativa ao tempo de exercício na atividade não obedece a uma distribuição normal ($p < 0,0500$), pelo que foi aplicado o teste de *spearman* para determinar a relação entre elas (tabela 43).

Tabela 43: Teste de relação entre a concentração de mercúrio e a antiguidade dos trabalhadores com funções expostas a mercúrio através do coeficiente de correlação de *Spearman rho* realizado com o programa estatístico SPSS.

			Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Tempo de exercício da atividade (anos)
<i>Spearman's rho</i>	Concentração de Hg ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Coeficiente de Correlação	1,00	0,217
		Sig. (2-tailed)	.	0,641
		N	7,00	7,00
	Tempo de exercício da atividade (anos)	Coeficiente de Correlação	0,217	1,00
		Sig. (2-tailed)	0,641	.
		N	7,00	7,00

Através da tabela 43, verificamos que não existe relação estatisticamente significativa entre

a antiguidade dos trabalhadores que têm funções com exposição a mercúrio e a sua concentração no sangue. Contudo, verifica-se igualmente uma correlação positiva fraca, o que sugere um aumento da concentração de mercúrio no sangue com o aumento da antiguidade na empresa.

5. Discussão

O mercúrio é um tóxico bioacumulável e poderá estar presente na zona de produção da empresa estudada. Assim, há contacto deste elemento químico com os trabalhadores por via dérmica e inalatória, provocada pela quebra das lâmpadas fluorescentes, quer seja accidental durante o processo de triagem ou durante a separação dos diversos componentes para reciclagem.

Considerando a área de atividade da empresa e a situação de trabalho em que decorrem as atividades pressupõem-se que ocorra exposição ocupacional a mercúrio.

Após a análise da concentração de mercúrio no sangue do grupo de trabalhadores e no grupo de controlo, verificou-se que os trabalhadores têm em média uma concentração deste elemento químico superior em 61,6% (gráfico 1). Além disso, foi possível constatar diferenças estatisticamente significativas nas concentrações médias entre trabalhadores e controlos ($t(10,7)=4,92$, $p=0,000$).



Gráfico 1: Comparação das médias das concentrações de mercúrio total entre o grupo de trabalhadores e o grupo de controlos

Visando estes resultados, pode concluir-se que os trabalhadores desta empresa de reciclagem e valorização de lâmpadas de mercúrio estão expostos a este elemento químico e apresentam uma acumulação do mesmo no organismo significativamente superior, quando comparados com indivíduos não expostos, o que se encontra de acordo com o espetável (Apostoli, 2002; Alvarez-Caicoya *et al.*, 2011). Assim, mostra-se que a importância da monitorização biológica no contexto ocupacional, torna já possível uma avaliação direta do risco para a saúde destes trabalhadores (Aucot *et al.*, 2003; Jakubowski, 2012).

A concentração de mercúrio no sangue é indicativo da exposição recente (exposição de cerca de três dias), enquanto que a urina mostra concentrações associadas a exposições crónicas. Contudo, a maioria destes trabalhadores têm uma exposição diária a este elemento químico superior a 6 horas diárias. Além disso, a colheita do material biológico foi

realizada no final da semana, permitindo assim avaliar a exposição ocupacional relacionada com as atividades diárias dos trabalhadores (Apostoli, 2002; Bartell, 2000; Jakubowski, 2012).

As lâmpadas fluorescentes seguem um percurso desde a manufatura, transporte, distribuição, venda, consumo, instalação e gestão de resíduos e reciclagem. Em qualquer local ao longo deste percurso, as lâmpadas podem partir-se e expor a população e o ambiente a mercúrio (Glenz *et al.*, 2009; Hu & Cheng, 2012; Johnson, *et al.*, 2008). Johnson *et al.* (2008) descreve que quando uma lâmpada se parte, inicialmente existe uma libertação rápida do vapor de mercúrio de 200-800 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ na primeira hora (Johnson, *et al.*, 2008). Este facto pode explicar a significância dos resultados obtidos, levando a que os trabalhadores apresentem concentrações de mercúrio, em média, mais elevadas. Estes valores podem variar de acordo com o tamanho e temperatura da área de produção, idade das lâmpadas, limpeza da sala e tipo de pavimento. Contudo, estes fatores não minimizam a exposição ocupacional dos trabalhadores com riscos potenciais para a saúde (Nance *et al.*, 2012).

Da análise efetuada à atividade, verificou-se que na triagem e desembalagem das lâmpadas existe um elevado número de quebras, o que leva a um aumento da exposição dos trabalhadores. Isto é demonstrado quando é analisada a concentração mais elevada de mercúrio no sangue de um dos trabalhadores (3,62 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Este trabalhador desenvolve a atividade de triagem das lâmpadas durante as 8h de trabalho há cerca de 6 anos. De acordo com Glenz *et al.* (2009), outro tipo de acondicionamento e o material das embalagens e dos contentores de transporte, poderia minimizar estas quebras e a exposição destes trabalhadores, de forma a prevenir as quebras das lâmpadas.

Pretendeu-se, determinar a relação entre a exposição, do ponto de vista da concentração de mercúrio determinada no sangue dos trabalhadores, com a atividade do enzima PON-1. Não foram detetadas diferenças significativas entre as atividades do enzima no grupo de trabalhadores e no grupo de controlo ($p=0,562$). Ayotte *et al.*, (2011), mostra que um aumento da concentração de mercúrio no sangue, levará a uma diminuição da atividade do enzima, o que não se verificou neste trabalho ($p=0,298$). Contudo, neste trabalho demonstrou-se uma tendência para que maiores concentrações de mercúrio levem a menores atividades de PON-1 ($r=-0,422$). Além disso, o valor mais baixo de atividade deste enzima ($1,84 \times 10^2 \text{ mM}\cdot\text{min}^{-1}$) corresponde a um dos valores mais elevados de concentração de mercúrio encontrados no sangue dos trabalhadores (2,38 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$).

No grupo de controlo esta tendência é praticamente nula ($r=-0,0130$), não havendo igualmente qualquer significância entre os dois parâmetros estudados ($p=0,955$), o que pode estar relacionado com valores muito baixos de mercúrio, que não são suficientes para provocar qualquer alteração na atividade do enzima.

O facto de não haver relação entre a atividade da PON-1, quando comparados trabalhadores e grupo de controlo (gráfico 2), pode estar relacionado com outros fatores, tais como genética, idade, tabagismo, alcoolismo ou outros fatores ambientais (Ayotte *et al.*, 2011; Peplow & Augustine, 2012; Veiga *et al.*, 2011).

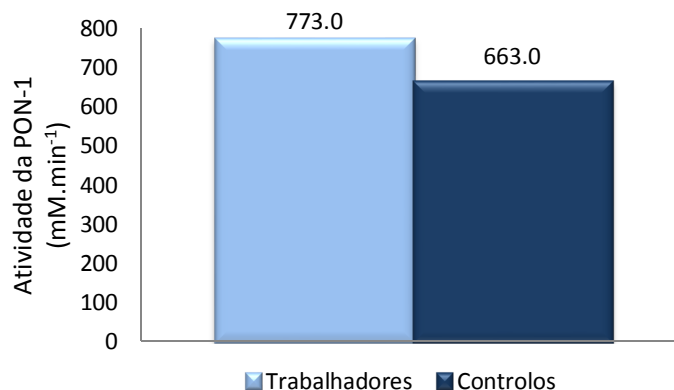


Gráfico 2: Comparação das médias das atividades de PON-1 entre o grupo de trabalhadores e o grupo de controlos

As concentrações de mercúrio, tanto para a população de trabalhadores como para a de controlo, não são suficientes para provocar uma diminuição de α -tocoferol ($p=0,160$) relacionado com *stress* oxidativo, apesar da média da concentração de α -tocoferol ser inferior nos indivíduos expostos ($37,0 \mu\text{M}$) relativamente ao grupo de controlo ($43,6 \mu\text{M}$) (gráfico 3) (Agarwal *et al.*, 2010).

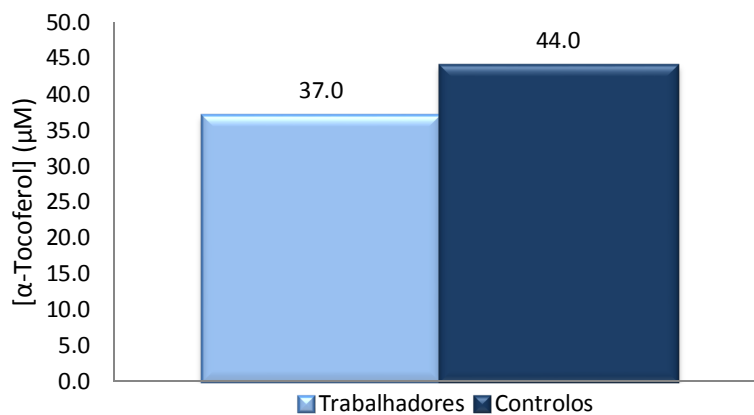


Gráfico 3: Comparação das médias das concentrações de α -tocoferol entre o grupo de trabalhadores e o grupo de controlos

Contudo, o valor mais baixo de α -tocoferol ($25,78 \mu\text{M}$) está abaixo do limite inferior de referência para esta vitamina, corresponde igualmente ao valor mais baixo de atividade da

PON-1 e a um valor dos mais elevados de mercúrio. Este facto é consistente com o descrito na literatura e é sugestivo de *stress* oxidativo. Estes dados também são suportados pela atividade do trabalhador que tem uma exposição diária a este metal pesado de 7,5 horas e exerce funções há 5 anos. Por outro lado, o valor mais elevado de α -tocoferol (54,13 μM) encontra-se acima do limite superior encontrado na literatura, mas corresponde a um dos valores mais elevados de concentração de mercúrio, o que é contrária o descrito. Uma vez que a concentração de vitaminas é altamente dependente da alimentação e, dado que, desconhecemos a ingestão diária de alimentos ricos em vitamina E, esta poderá ser a razão para esta concentração mais elevada desta vitamina (Chandra *et al.*, 2010; Abd El-Aziz *et al.*, 2012).

Existe uma correlação negativa fraca ($r=-0,312$) não significativa ($p=0,452$) entre as concentrações de α -tocoferol e de mercúrio no sangue dos trabalhadores, mostrando que existe uma tendência para que maiores concentrações de mercúrio provoquem uma diminuição das de α -tocoferol no sangue dos indivíduos expostos.

Não existe relação entre as concentrações de mercúrio e α -tocoferol na população de controlo ($p=0,618$) e os resultados sugerem uma correlação positiva de intensidade fraca ($r=0,153$). Contudo, esta intensidade de correlação deverá ser desprezível tendo em conta a média dos valores da concentração de mercúrio na população controlo, que poderá não ter expressividade suficiente para provocar qualquer alteração ao nível desta vitamina. Além disso, esta correlação também poderá ser devida à alimentação do grupo de controlo, dados de que não dispomos.

Contrariamente ao que se verificou com a vitamina E, existe uma relação significativa entre a concentração de retinol e a concentração de mercúrio entre os trabalhadores e o grupo de controlo ($p=0,007$). Contudo, a média da concentração de retinol no grupo de trabalhadores (2,00 μM) é superior à média da concentração no grupo de controlo (0,980 μM), contrariamente ao descrito na literatura (gráfico 4) (Alpsoy *et al.*, 2009; Sauer, 2006).

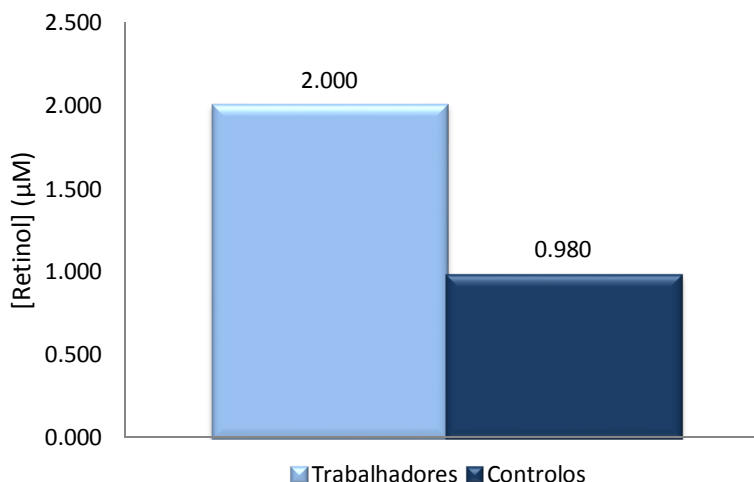


Gráfico 4: Comparação das médias das concentrações de retinol entre o grupo de trabalhadores e o grupo de controlos

Contudo, os valores mais baixos e que se encontram abaixo do limite inferior de referência para esta vitamina são de 0,567 µM e 0,866 µM. O primeiro corresponde igualmente ao valor mais baixo de atividade da PON-1, a um valor relativamente elevado da concentração de mercúrio e ao valor mais baixo de vitamina E. Assim, verificamos que este trabalhador se encontra sujeito a *stress* oxidativo provocado pela exposição ocupacional a mercúrio. No caso do segundo valor, este é consistente com os resultados encontrados para este trabalhador, com um valor elevado de PON-1 e um baixo valor da concentração de mercúrio. Tendo em conta que este trabalhador se encontra ao serviço da empresa há 6 anos com uma exposição diária de 7,5h, este facto provavelmente dever-se-á a questões de ingestão de vitaminas através da alimentação, o que lhe confere uma proteção adicional contra o *stress* oxidativo.

Uma outra explicação para este resultado, poderá estar ao nível de uma possível inibição da metabolização do retinol no fígado, provocando uma acumulação deste no sangue.

Tendo em conta que as vitaminas estudadas têm um poder antioxidante com proteção ativa contra a peroxidação lipídica seria importante recorrer a estudos de quantificação da peroxidação lipídica por forma a determinar quais as interações entre estas e as células (Alpsoy *et al.*, 2009). Além disso, a concentração de vitaminas no sangue é altamente dependente da alimentação, da qual não possuímos dados relativos aos indivíduos estudados. Um estudo acerca da peroxidação lipídica permitir-nos-ia aferir a intervenção destas vitaminas na proteção celular (Rosa, 2009).

Apesar de não se verificar significância estatística entre a concentração de mercúrio e o número de horas de exposição diária dos trabalhadores ($p=0,775$), sabe-se que uma exposição mais prolongada leva a um aumento destas concentrações ($r=0,134$) (Bartell,

2000; Grigoletto, *et al.*, 2009). Desta forma, esta correlação está de acordo com o esperado. De facto, e apesar dos equipamentos de proteção individual utilizados pelos trabalhadores, estes encontram-se expostos e com acumulação de mercúrio no sangue, o que potencia o risco de incidência de patologias relacionadas. Por outro lado, foram observados alguns comportamentos que potenciam a exposição por via dérmica, como é o caso da utilização de mangas curtas durante o período de verão ou a colocação de objetos pessoais em locais com elevado risco de contaminação (carteiras, relógios, garrafas de água, telemóveis em bancadas ou armários junto dos locais de triagem ou de maquinaria).

Na relação entre a antiguidade na empresa e a concentração de mercúrio, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,641$). Contudo, e tal como o previsto, existe uma correlação positiva fraca entre as duas variáveis ($r=0,217$), o que sugere um aumento da concentração de mercúrio ao longo dos anos de trabalho dos indivíduos. Além disso, o trabalhador que tem maiores concentrações de mercúrio no sangue ($3,62 \mu\text{g.L}^{-1}$) exerce funções desde o início das atividades da empresa nesta área com uma exposição de 4 a 6 horas diárias há 8 anos. Por outro lado, o trabalhador com valores mais baixos de mercúrio ($1,22 \mu\text{g.L}^{-1}$) exerce funções na área administrativa da empresa, tendo uma fraca exposição ao processo produtivo com exposição a este metal (cerca de 1h30 por dia), apesar de também exercer funções desde o início deste processo.

De acordo com os dados apresentados, todos os trabalhadores estão expostos a este metal pesado, responsável por diversas anomalias metabólicas, nomeadamente ao nível do *stress* oxidativo que podem levar a repercussões variadas na saúde (Jesus, 2011; Nance *et al.*, 2012). Assim, recomendam-se estudos mais aprofundados e com amostragem superior, no sentido de se obter um maior esclarecimento acerca da eventual relação entre a exposição a este metal e as consequências metabólicas e, conseqüentemente, de saúde para os indivíduos expostos em contexto laboral.

6. Conclusões

Apesar da concentração de mercúrio no sangue dos trabalhadores ser inferior a $10 \mu\text{g.L}^{-1}$, conforme definido como valor limite pela UE (SCOEL, 2007) foi possível observar na população estudada respostas biológicas adversas relativas a esta exposição.

No caso concreto da atividade da PON-1 e relação com a exposição a mercúrio, não se observou uma diminuição da atividade do enzima. Este facto sugere que, para estes valores de concentração de mercúrio e nesta população, não se verifica o aumento do risco de doença cardiovascular devido à diminuição da proteção por metabolização dos lípidos tóxicos oxidados associados à LDL, provocado pela exposição ocupacional a mercúrio, nestes indivíduos.

Na comparação entre as concentrações de vitamina E na população de trabalhadores e na de controlo, não há evidências de risco agravado por danos provocados por radicais livres, o que leva a uma inexistência do aumento do risco de doenças cardiovasculares nesta população. Uma vez que esta vitamina tem igualmente um papel protetor contra danos oxidativos no fígado e noutros tecidos, esta ausência de relação leva a verificar que a exposição a mercúrio, neste contexto profissional, não levará a um aumento desse risco. Estes resultados são consistentes com os anteriormente apresentados relativamente à PON-1.

Relativamente aos resultados obtidos para a vitamina A, as médias de concentração de vitamina A nos trabalhadores são superiores às médias verificadas no grupo de controlo. Este facto pode dever-se a questões relacionadas com a alimentação e estilos de vida de cada um dos grupos, ou à inibição do metabolismo do retinol no fígado. No último caso, seria necessário complementar o estudo da vitamina A com a peroxidação lipídica de forma a aferir potenciais danos hepáticos nestes trabalhadores relacionados com a exposição ocupacional a mercúrio.

Após o estudo da relação entre o número de horas de trabalho diário com exposição a mercúrio e a respetiva concentração, não se determinou qualquer correspondência estatística entre as duas variáveis.

Relativamente à relação entre a antiguidade na empresa com exposição a mercúrio e a concentração do metal no sangue dos trabalhadores, conclui-se que não existe relação estatisticamente significativa, e que eventualmente as análises deverão ser repetidas em urina, tendo em conta ser o indicador biológico de exposição crónica mais adequado.

Assim, pode concluir-se que os trabalhadores desta indústria de valorização e reciclagem de lâmpadas de mercúrio não se encontram em risco de desenvolver doenças cardiovasculares, metabólicas, ou outras associadas à exposição crónica a mercúrio num curto espaço de tempo. Contudo, a forte evidência de aumento da concentração de mercúrio

nos trabalhadores, juntamente com as correlações associadas a possíveis indicadores de danos provocados por esta exposição, não permite excluir a possibilidade dos trabalhadores poderem desenvolver patologia decorrente da exposição a longo prazo.

Referências Bibliográficas

- Abd El-Aziz, G. S., El-Fark, M. M., Saleh, H. A. (2012). The Prenatal Toxic Effect of Methylmercury on the Development of the Appendicular Skeleton of Rat Fetuses and the Protective Role of Vitamin E. *Anatomical record*, 295(6), 939-949.
- ACGIH - American Conference of Industrial Hygienists (2012). *TLV/BEI Introduction*. Ohio. Recuperado em Julho 30, 2012 a partir de http://www.acgih.org/PRODUCTS/TLV_BEI_INTRO.HTM.
- Agarwal, R., Goel, S. K., Chandra, R., Behari, J. R. (2010). Role of vitamin E in preventing acute mercury toxicity in rat. *Environmental Toxicology and Farmacology*, 29(1), 70-78
- Aito, A. (1978). *Conjugation reactions in drug biotransformation*. New York: Elsevier
- Al-Attar, A. M. (2011). Vitamin E attenuates liver injury induced by exposure to lead, mercury, cadmium and copper in albino mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18, 293-401.
- Alissa, E. M., Ferns, G. A. (2011). Heavy Metal Poisoning and Cardiovascular Disease. *Journal of Toxicology*, 2011, 1-21.
- Alloway, B. J. (1995). *Heavy Metals in Soils*. Germany: Springer
- Almeida, E. M. M. (2011). *Efeito do mercúrio em comunidades bacterianas associadas a plantas*. Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto Universitário de Lisboa, Lisboa.
- Alpsoy, L., Yildirim, A., Agar, G. (2009). The antioxidant effects of vitamin A, C, and E on aflatoxin B1-induced oxidative stress in human lymphocytes. *Toxicology and Industrial Health*, 25(2), 121-127.
- Álvarez-Caicoya, J., Cosme-Torres, A. J., Ortiz-Rivera, E. I. (2011). Compact fluorescent lamps, an anticipatory mind to Mercury. *IEEE Potentials*, 30(1), 35-38.
- APA – Agência Portuguesa do Ambiente, I. P. (2011). *Emissões totais por Concelho em 2009 (formato Excel)*. Versão de Novembro de 2011. Recuperado em Setembro 9, 2012 a partir de <http://www.apambiente.pt/index.php?ref=17&subref=150>.
- Andrew, M., Nriagu, J. O. (1979). *Global Cycle of Mercury – The Biochemistry of Mercury in the Environment*, Netherlands: Holland Biomedical Press.
- Apostoli, P. (2002). Elements in Environmental and Occupational Medicine. *Journal of Chromatography B*, 778, 63-97.
- Aschner, M., Syversen, T., Souza, D. O., Rocha J. B. T., Farina, M. (2007). Involvement of glutamate and reactive oxygen species in methylmercury neurotoxicity. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40(3), 285-291.

- Aucott, M., McLinden, M., Winka, M. (2003). Release of mercury from broken fluorescent lamps. *Journal of Air & Waste Management Association*, 53 (2), 143-151.
- Ayotte, P., Carrier, A., Ouellet, N., Boiteau, V., Abdous, B., Sidi, E. A. L., et al. (2011). Relation between methylmercury exposure and plasma paraoxonase activity in inuit adults from Nunavik. *Environmental Health Perspectives*, 119(8):1077–83.
- Baêta, A. P. (2004). *Mercúrio Total e Metilmercúrio em Diferentes Espécies de Peixes da Baía de Guanabara*. Dissertação de mestrado apresentada à PUC-Rio, Rio de Janeiro, Brasil.
- Bank, M. S. (2012). *Mercury in the Environment: Pattern as process*. Berkley: University of California Press.
- Bartell, S. M., Ponce, R. A., Sanga, R. N., Faustman, E. M. (2000). Human variability in Mercury toxicokinetics and steady state biomarker ratios. *Environmental Research*, 84(2), 127-132.
- Batuca, J. R., Ames, P. R. J., Amaral, M., Favas, C., Isenberg, D. A., Alves, J. D. (2009). Anti-atherogenic and anti-inflammatory properties of high-density lipoprotein are affected by specific antibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*, 48(1), 26-31.
- Bernhoft, R. A. (2012). Mercury toxicity and treatment: A review of literature. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012, 1-10.
- Besser, R. E. (2009). *Children's Exposure to Elemental Mercury: A national review of exposure events*. Atlanta, USA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR).
- Beyrouthy, P.; Chan, H. M. (2006). Co-consumption of selenium and vitamin E altered the reproductive and developmental toxicity of methylmercury in rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 28(1), 49-58.
- Branco, V., Canário, J., Lu, J., Holmgren, A., Carvalho, C. (2012). Mercury and selenium interaction in vivo: Effects on thioredoxin reductase and glutathione peroxidase. *Free Radical Biology & Medicine*, 52, 781-793.
- Bussi, J., Cabrera, M. N., Chazzaro J., Canel C., Veiga S., Florencio C., Dalchiele E. A., Belluzzi M. (2010). The recovery and recycling of Mercury from fluorescent lamps using photocatalytic techniques. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 85, 478-484.
- Carvalho, M. L., Chew E. H., Hashemy, S. I., Lu, J., Holmyren, A. (2008). Inhibition of the human Thioredoxin system – A molecular mechanism of mercury toxicity. *The journal of biological chemistry*, 283(18), 11913-11923.

- Casarett & Dolls. (2001). *Toxicology, basic science of poisons, 7th edition*. McGraw-Hill.
- Cebi, A., Kaya, Y., Gungor, H., Demir, H., Yoruk, I. H., Soylemez, N., Gunes, Y., Tuncer, M. (2011). Trace elements, heavy metals and vitamin levels in patients with coronary artery disease. *International Journal of Medical Sciences*, 8(6), 456-460.
- Chang, T. C., Wang, S. F., You, S. J., Cheng A. (2007). Characterization of halophosphate phosphor powders recovered from the spent fluorescent lamps. *Journal of Environmental Engineering & Management*, 17 (8), 435-439.
- Chen, C., Hongwei, Y., Zhao, J., Li, B., Qu, L., Liu, S., Zhang, P., Chai, Z. (2006). The roles of serum selenium and selenoproteins on mercury toxicity in environmental and occupational exposure. *Environmental Health Perspectives*, 114(2), 2197-301.
- Clarkson, T. W., Vyas, J. B., Ballatoni, N. (2007). Mechanisms of mercury disposition in the body. *American Journal of industrial medicine*, 50, 757-764.
- Correia, J. D. (2009). *Modulação dietética das paraoxonases: revisão de estudos em humanos*. Dissertação de licenciatura apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.
- Cunha, M. E. da S. (2008). *Interação entre Mercúrio e Sistemas Biológicos*. Dissertação de Doutoramento apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto, Porto.
- Decreto-Lei nº 24 de 2012, de 6 de Fevereiro
- Duffus, J. H. (2002). «Heavy metals» a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 793-807.
- Durão Jr, W. A., Castro . A., Windmöller, C. C. (2008). Mercury reduction studies to facilitate the thermal decontamination of phosphor powder residues from spent fluorescent lamps. *Waste Management*, 28, 2311-2319.
- Durak, D., Uzun, F. G., Kalender, S., Ogutu, A., Uzunhisarcikli, M., Kalender, Y. (2009). Malathion-induced oxidative stress in human erythrocytes and the protective effect of vitamins C and E in vitro. *Environmental Toxicology*, 24(3), 235-242.
- Feingold, B. J., Vegosen, L., Davis, M., Leibler, J., Peterson, A., Silbergeld, E. (2010). A niche for infectious disease in environmental health: rethinking the toxicological paradigm. *Environmental Health Perspectives*, 8 (118), 1165-1172.
- Ferreira, P. R. S. (2007). *Frequência das mutações Gln192Arg e Leu55Met no gene da paraoxonase 1 e das mutações Ser311Cis e A148G no gene da paraoxonase 2 em brasileiros de diferentes origens étnicas*. Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil.

- Friberg, L., Nordber, G. F., Vouk, V. B. (1979). *Handbook of toxicology of metals*. Amsterdam: Elsevier.
- Gailer, J. (2002). Reactive selenium metabolites as targets of toxic metal/metalloids in mammals: a molecular toxicological perspective. *Applied Organometallic Chemistry*, 16, 701-707.
- Gidlow, D. (2004). Lead Toxicity. *Occupational Medicine*, 54, 76-81.
- Flora, S. J. S., Mittal, M., Mehta, A. (2008). Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian Journal of Medical Research*, 128, 501-523.
- Glenz, T. T., Brosseau L. M., Hoffbeck, R. W. (2009). Preventing mercury vapor release from broken fluorescent lamps during shipping. *Journal of Air & Waste Management Association*, 59, 266-272.
- Goodrich, J. M., Wang, Y., Gillespie, B., Werner, R., Franzblau A., Basu N. (2011). Glutathione enzyme and selenoprotein polymorphisms associate with mercury biomarker levels in Michigan dental professionals. *Toxicology and Applied Pharmacology* 257(2), 301-308.
- Grandjean, P., Satoh, H., Murata, K., Eto, K. (2010). Adverse effects of methylmercury: environmental health research implications. *Environmental health perspectives*, 118(8), 1137-1145.
- Grigoletto, J. C., Oliveira, A. S., Muñoz, S. I. S., Alberguini, L. B. A., Takayanagui, A. M. M. (2008). Exposição ocupacional por uso de mercúrio em odontologia: uma revisão bibliográfica. *Ciência & Saúde Coletiva*, 13 (2), 533-542.
- Guilherme, S. I. A. G. (2007). *Indicadores químicos, bioquímicos e citogenéticos em Liza aurata após exposição ambiental a mercúrio*. Dissertação de mestrado apresentada à Universidade de Aveiro, Aveiro.
- Hu, Y., Cheng, H. (2012). Mercury risk from fluorescent lamps in China: Current status and future perspective. *Environment International*, 44, 141-150.
- His, H., Chem, S., Rostam-Abadi, M., Rood, M., Son, C., Carey, T., Chang, R. (1998). Preparation and evaluation of coal-derived carbons for removal of mercury vapor from simulated coal combustion fuel gases. *Energy & Fuels*, 12(6), 1061-1070.
- Iverson, C., Christiansen, S., Flanagan, A., Fontanarosa, P., Glass, R., Gregoline, B., Lurie, S., Meyer, H., Winker, M., Young, R. (2007). *AMA Manual of Style: A Guide for Authors and Editors, 10th Ed*. New York: Oxford University Press – American Medical Association.

- Jakubowski, M. (2012). Biological monitoring *versus* air monitoring strategies in assessing environmental-occupational exposure. *Journal of Environmental Monitoring*, 14 (2), 348-352.
- Järup, L. (2003). Hazards of Heavy Metal Contamination. *British Medical Bulletin*, 68, 167-182.
- Jesus, L. D. F. (2011). *Exposição ocupacional ao mercúrio em trabalhadores do ambulatório odontológico de um posto de atendimento médico*. Dissertação de mestrado apresentada à Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro.
- Jin, X., Hidiroglou, N., Lok, E., Taylor, M., Kapal, K., Ross, N., Sarafin, K., Lau, A., De Souza, A., Chan, H. M., Mehta, R. (2012). Dietary Selenium (Se) and Vitamin E (VE) Supplementation Modulated Methylmercury-Mediated Changes in Markers of Cardiovascular Diseases in Rats. *Cardiovascular Toxicology*, 12(1), 10-24.
- Johnson, N. C., Manchester, S., Sarin, L., Gao, Y., Kulaots, I., Hurt, R. H. (2008). Mercury vapor release from broken compact fluorescent lamps and in situ capture by new nanomaterial sorbents. *Environmental Science & Technology*, 15 (42), 5772-5775.
- Käning, M., Hitzschke L., Schalk B., Berger, M., Franke, St., Methlinh, R. (2011). Mercury-free high pressure discharge lamps dominated by molecular radiation. *Journal of Physics D: Applied physics*, 44, 224005-224015.
- Khan, A., Khan M. I., Igbal, Z., Shah, Y., Ahmad, L., Watson, D. G. (2010). An optimized and validated RP-HPLC/UV detection method for simultaneous determination of all-trans-Retinol (Vitamin A) and α -Tocopherol (Vitamin E) in human serum: Comparison of different particulate reversed-phase HPLC columns. *Journal of Chromatography B. Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 878(25), 2339-2347.
- Klaassen, C. D. (2001). *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 6th Edition. McGraw-Hill.
- Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J. C., Ramade, F. (1997). *Biomarqueurs en Ecotoxicologie – Aspects Fundamentaux*. Masson, Paris.
- Leslie, K. E., Koger, S. M. (2011). A Significant Factor in Autism: Methyl Mercury Induced Oxidative Stress in Genetically Susceptible Individuals. *Journal of Developmental and physical disabilities*, 23, 313-324.
- Liu, G., Cai Y., O'Driscoll, N. (2010). *Environmental Chemistry and Toxicology of Mercury*. New Jersey: Wiley.

- Marco, K. C., Antunes, L. M., Tanos-Santos, J. E., Barbosa F. Jr. (2012). Intron 4 polymorphism of the endothelial nitro oxide synthase (eNOS) gene is associated with decreased NO production in a mercury-exposed population. *The Science of Total Environment*, 414: 708-712.
- Marco, K. C., Braga, G. U., Barbosa F. Jr. (2011). Determination of the effects of eNOS gene polymorphisms (T-786C and Glu298Asp) on nitric oxide levels in a methylmercury-exposed population. *Journal of toxicology and environmental health, part A*, 74(20): 1323-1333.
- Marques, B. A. M. (2010). *Dinâmica do mercúrio bioacumulado na parte subterrânea de plantas de sapal*. Dissertação de mestrado apresentada à Universidade de Aveiro, Aveiro.
- Maseli, L. M. F. (2007). *Estudo dos polimorfismos das paraoxonases 1 e 2 em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana e avaliação do potencial de peroxidação lipídica*. Tese de Doutoramento apresentada à Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Mattison, D. R., Thomford, P. J. (1989). The mechanisms of action of reproductive toxicants. *Toxicologic Pathology*, 17(2), 364-376.
- Meadows-Oliver, M. (2012). Environmental Toxicants: Lead and Mercury. *Journal of Pediatric Health Care*, 26(3), 213-215.
- Mota, A., Mena, k. D., Soto-Beltran, M., Tarwater, P. M., Chaidez, C. (2009). Risk assessment of *Cryptosporidium* and *Giardia* in water irrigating fresh produce in Mexico. *Journal of Food Protection* 72 (10), 2184-2188.
- Nance, P., Patterson, J., Willis, A., Foronda, N., Dourson, M. (2012). Human health risks from mercury exposure from broken compact fluorescent lamps (CFLs). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 62, 543-552.
- Nunes, B. L. O. (2009). *Quantificação de emissões de mercúrio provenientes de fontes naturais*. Dissertação de mestrado apresentada à Universidade de Aveiro, Aveiro.
- Oliveira, J. R. C. (2011). *Remoção de mercúrio (II) de soluções aquosas utilizando cortiça*. Dissertação de mestrado apresentada à Universidade de Aveiro, Aveiro.
- Organização mundial de saúde (OMS). (2013). Common Minimum Technical Standards and Protocols for Biological Resource. Lyon: International Agency for Research on Cancer. Recuperado em 30 de Janeiro, 2013, a partir de <http://w2.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wrk/wrk2/>

- Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS/OMS). (2011). *Cooperação técnica entre Brasil, Bolívia e Colômbia: Teoria e prática para o fortalecimento da vigilância em saúde de populações expostas a mercúrio*. Brasília: OPAS/OMS.
- Paletti, G. (1999). *Determinação de mercúrio e metilmercúrio em cabelos de populações residentes no parque indígena do Xingu*. Dissertação de mestrado apresentada à Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Pavlogeorgatos, G., Vasilis, K. (2003). The importance of mercury determination and speciation to the health of the general population. *Global NEST: The International Journal*, 4, 107-125.
- Peixoto, N. C. (2006). *Prevenção dos efeitos tóxicos do cloreto de mercúrio em ratos jovens pelo cloreto de zinco: papel das metalotioninas*. Tese de doutoramento apresentada à Universidade Federal de Santa Maria, Brasil.
- Peplow, D., Augustine. S. (2012). Community-Led Assessment of Risk from Exposure to Mercury by Native Amerindian Wayana in Southeast Suriname. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012:1–10.
- Pires, A. S. S. (2008). *Citotoxicidade da vitamina C em células tumorais: Estudos in vitro e in vivo através de métodos bioquímicos e de imagiologia nuclear*. Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra.
- Poissant, L., Dommergue, A., Ferrari, C. P. (2002). Mercury as global pollutant. *European Research Course on Atmospheres (ERCA)*. Vol. 5.
- Queensland Government (2002). Public Health Guidance Note – Mercury. Queensland: Environmental Health Unit. Recuperado em Novembro 29, 2012 a partir de www.health.qld.gov.au/ph/documents/ehu/2666.pdf.
- Ramírez, A. V. (2008). Intoxicación ocupacional por mercurio. *Anales de la Facultad de Medicina*. 69 (1), 46-51.
- Ray-Raap, N., Gallardo, A. (2012). Determination of mercury distribution inside spent compact fluorescent lamps by atomic absorption spectrometry. *Waste Management*, 32, 944-948.
- Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for Elemental Mercury and Inorganic Divalent Mercury Compounds, SCOEL/SUM/84, Maio de 2007.
- Ribeiro, P. A. S. (2011). *Espectrofotometria em Medicina Dentária*. Tese de mestrado apresentada à Universidade Fernando Pessoa, Porto.
- Risher, J. F., De Rosa, C. T. (2007). Inorganic: The other Mercury. *Journal of Environmental Health*, 70 (4), 9-16.

- Rocha, A. F. (2009). *Cádmio, chumbo, mercúrio: a problemática destes metais pesados na Saúde Pública?* Monografia de licenciatura apresentada à Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade de Porto, Porto.
- Rosa, F. R. (2009). *Deficiência de vitamina A altera o status de ferro e de estresse oxidativo em ratos.* Dissertação de mestrado apresentada à Universidade de Brasília, Brasil.
- Sauer, M. P. (2006). *Estudo da interação entre as vitaminas lipossolúveis com cádmio e chumbo por ASV em meio orgânico.* Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Federal de Santa Maria, Brasil.
- Sherameti I., Varma A. (2010). *Soil Heavy metals.* Germany:Springer
- Sousa, J. M. D. (2010). *Exposição a metais pesados no ambiente de trabalho: estabelecimento de bioindicadores de exposição a poluentes.* Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa.
- Souza, M. V. de, Vianna, M. W. de S., Zandim, B. M., Fernandes, R. B. A., Fontes, M. P. F. (2009). Heavy metals in cattle biological samples. *Ciência Rural*, 39 (6), 1774-1781.
- Spevácková V., Korunová, V., Cejchanová, M., Vobecky, M. (2004). Sampling procedure and a radio-indicator study of mercury determination in whole blood by using an AMA 254 atomic absorption spectrometer. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 380(2), 346-350.
- Spiegel, S. J. (2009). Occupational Health, Mercury Exposure, and Environmental Justice: Learning from Experiences in Tanzania. *American Journal of Public Health*, 99 (S3), S550-S558.
- Syrec, V., Subrt, P., Marecek, J. (2000). Uncertainties of mercury determinations in biological materials using an atomic absorption spectrometer – AMA 254. *Accreditation and Quality Assurance: Journal for Quality, Comparability and Reliability in Chemical Measurement*, 5(2), 58-66.
- Szlayatys-Sidorkiewicz, A., Zaguierski, M., Jankowska, A., Luczak, G., Macur, K., Baczek, T., Korzon, M., Krzykowskig, G., Martysiak-Zurowska, D., Kaminska, B. (2012). Longitudinal study of vitamins A, E and lipid oxidative damage in human milk throughout lactation. *Early Human Development*, 88(6), 421-424.
- Tavares, S. D. G. (2010). *Vitamina C, Cancro e Citotoxicidade: Marcação e estabilidade in vitro e in vivo.* Dissertação de mestrado apresentada à Universidade de Coimbra, Coimbra.

- Thibeault, D., Su, H., MacNamara, E., Schipper, H. M. (2009). Isocratic rapid liquid chromatographic method for simultaneous determination of carotenoids, retinol, and tocopherols in human serum. *Journal of Chromatography B*, 877, 1077-1083.
- Tomás, M., Latorre, G., Sentí, M., Murrugat, J. (2004). The antioxidant function of High Density Lipoproteins: A new paradigm in Atherosclerosis. *Revista Española de Cardiología*, 57, 557-569.
- Tong, S., Schirnding, E., Prapamontol, T. (2000). Environmental lead exposure: A public health problem of global dimensions. *Bulletin of the World Health Organization*, 78, 1068-1078.
- Torres, D. P., Vieira, M. A., Ribeiro, A. S., Curtius, A. J. (2005). Determination of inorganic and total Mercury in biological samples treated with tetramethylammonium hydroxide by cold vapor atomic absorption spectrometry using different temperatures in the quartz cell. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 20, 289-294.
- United States Environmental Protection Agency (EPA). (2007). Method 7473 – Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry. United States: Environmental Protection Agency. Recuperado em 08 de Julho, 2013, a partir de www.epa.gov.
- Válega, M., Abreu, S., Pato, P., Rocha, L., Gomes, A. R., Pereira, M. E., Duarte, A. C. (2006). Determination of organic Mercury in Biota, Plants and Contaminated Sediments using a Thermal Atomic Absorption Spectrometry Technique. *Water, Air & Soil Pollution*, 174, 223-234.
- Válega, M. S. G. A. (2009). *Mobilidade, acumulação e transformação do mercúrio em sapais*. Tese de doutoramento apresentada à Universidade de Aveiro, Aveiro.
- Veiga, L., Silva-Nunes, J., Melão, A., Oliveira, A., Duarte, L., Brito, M. (2011). Q192R polymorphism of the paraoxanase-1 gene as a risk factor for obesity in Portuguese women. *European Journal of Endocrinology*, 164(2), 213-218.
- Violante, J. P. P. (2011). *Calibração de filtros de factor de transmissão e reflexão por espectrofotómetros*. Tese de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Almada.
- Watt, S. (2004). *Mercury*. New York: Marshall Cavendish.
- Wiggers, G. A., Peçanha, F. M., Briones A. M., Pérez-Girón J. V., Miguel M., Vassalo D. V., Cachofeiro V., Alonso M. J., Salaices M. (2008). Low mercury concentrations cause oxidative stress and endothelial dysfunction in conductance and resistance arteries. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 295(3), 1033-1043.

- Yoneda, S., Suzuki, K. T. (1996). Detoxification of mercury by selenium by binding of equimolar Hg-Se complex to a specific plasma protein. *Toxicology and applied pharmacology*, 143, 274-280.

Anexo I – Termo de Consentimento Informado

A Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa encontra-se a desenvolver um projeto de investigação, no âmbito do mestrado em Segurança e Higiene no Trabalho com o tema: “Exposição ocupacional a mercúrio (Hg) e a sua associação com a atividade da paraoxonase humana (PON-1)”.

Este projecto tem como objetivos primordiais a caracterização da exposição deste grupo de agentes químicos em trabalhadores de empresa de valorização de mercúrio, bem como a investigação de eventuais relações com a paraoxonase humana.

De modo à concretização dos nossos objetivos, pretendemos recolher amostras de sangue periférico, 1 urina do dia e mecha de cabelo, a indivíduos expostos profissionalmente a mercúrio.

A metodologia a utilizar é a referenciada por diversos autores, que tem como objetivo analisar detalhadamente a exposição dos trabalhadores a mercúrio e, conseqüentemente, contribuir para minimizar essa exposição.

Acresce-se que a privacidade assim como a completa confidencialidade dos dados obtidos será assegurada.

Se tiver alguma dúvida poderá esclarecê-la com os responsáveis pelo projeto.

Obrigada pela atenção e disponibilidade.

Eu, _____
(preencha com o seu nome completo), dou o meu consentimento livre e informado, para participar na realização das colheitas acima referidas, autorizando posterior uso e publicação de dados.

Data ____/____/____

Assinatura

Anexo II – Questionário para Avaliação da Exposição a Mercúrio

Questionário para Avaliação da Exposição a Mercúrio

1. Identificação

1.1 Nome: _____

1.2 Amostra nº: _____

1.2 Data de Nascimento: ____/____/____

1.3 Sexo: Masculino Feminino

1.4 Freguesia de Residência: _____

2. Historial Ocupacional

2.1 Atividade Principal: _____

2.2 Desempenha outras atividades na empresa? Sim Não

2.2.1 Se sim quais? _____

2.3. Tempo de exercício nesta atividade (anos): _____

2.4. Quantas horas trabalha por dia? _____

2.4.1. Quantas horas por dia, em média, manipula lâmpadas com mercúrio?

2.5. Utiliza Equipamentos de Proteção Individuais? Sim Não

2.5.1. Se sim quais? _____

2.6. Desenvolve o mesmo tipo de atividade noutra local? Sim Não

2.6.1. Se sim quantas horas por dia? _____

2.6.2. Há quanto tempo? _____

2.7. Já trabalhou noutra local? Sim Não

2.7.1. Se sim, em que atividade? _____

2.7.2. Há quanto tempo? _____

2.7.3. Durante quanto tempo? _____

2.8. Já foi afastado do trabalho devido a uma doença relacionada com mesmo?

Sim Não

2.8.1. Se sim, qual foi a doença? _____

2.8.2. Quanto tempo ficou afastado? _____

3. Hábitos de Vida

3.1. É fumador? Sim Não

3.1.1. Se sim quantos cigarros fuma por dia? _____

3.1.2. Há quanto tempo fuma? _____

3.2. Consome bebidas alcoólicas? Sim Não

3.2.1. Quantas doses semanais em média? 1 a 2 3 a 4 5 ou mais

3.2.2. Das doses anteriores quantas são de bebidas brancas (ex. Aguardente)?

4. Hábitos Alimentares

4.1. Consome peixe habitualmente? Sim Não

4.1.1. Se sim, qual? _____

4.1.2. Com que frequência? _____

4.2. Consome marisco habitualmente? Sim Não

4.2.1. Se sim, qual? _____

4.2.2. Com que frequência? _____

5. Tempos livres

5.1. Que passatempos tem? _____