

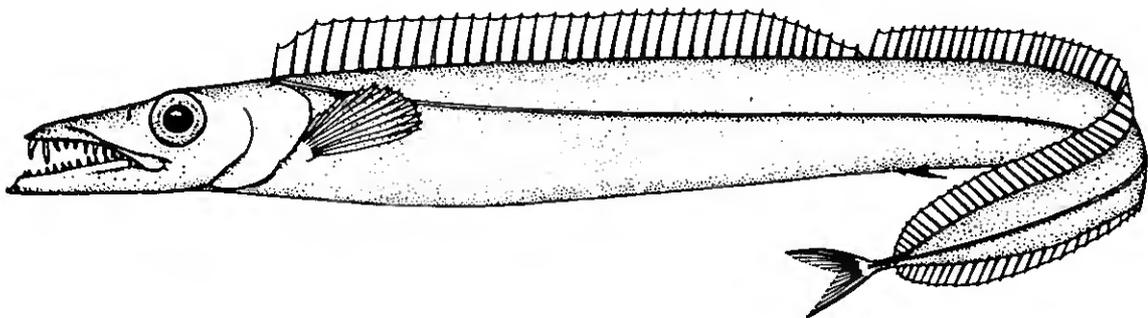


Universidade do Algarve (UAlg)

Unidade de Ciências e Tecnologias dos Recursos Aquáticos (UCTRA)

Mestrado em Estudos Marinhos e Costeiros (EMAC)

**TEORES DE MERCÚRIO TOTAL EM EXEMPLARES DE PEIXE-ESPADA-PRETO  
(*Aphanopus carbo* Lowe, 1839) CAPTURADOS NO ARQUIPÉLAGO DA MADEIRA**



**Paulo da Conceição Silva Vasconcelos**

**Faro - 1999**



**TESES  
SD**

Teores de mercúrio total  
em exemplares de peixe-  
espada-preto =  
Vasconcelos,  
Vasconcelos,



Paulo da Conceição Silva Vasconcelos

TEORES DE MERCÚRIO TOTAL EM EXEMPLARES DE PEIXE-ESPADA-PRETO  
(*Aphanopus carbo* Lowe, 1839) CAPTURADOS NO ARQUIPÉLAGO DA MADEIRA

*Paulo da Conceição Silva Vasconcelos*

Dissertação apresentada à Unidade de Ciências e Tecnologias  
dos Recursos Aquáticos da Universidade do Algarve para a  
obtenção do grau de Mestre em Estudos Marinhos e Costeiros

Faro - 1999

13.11.00 33152  
304.85  
A. Teu

24.00.3.

1

## AGRADECIMENTOS

A presente tese de mestrado resultou de contactos prévios estabelecidos entre o candidato, a Unidade de Ciências e Tecnologias dos Recursos Aquáticos (UCTRA) da Universidade do Algarve (UALg) e a Direcção de Serviços de Investigação das Pescas (DSEIP), instituição de investigação pertencente à Secretaria Regional da Agricultura Florestas e Pescas (SRAFP/RAM).

A parte laboratorial da referida tese de mestrado realizou-se no Laboratório de Estudos Ambientais Marinhos (Marine Environmental Studies Laboratory - MESL), sub-departamento do Laboratório do Ambiente Marinho (Marine Environment Laboratory - MEL) da Agência Internacional da Energia Atómica (International Atomic Energy Agency - IAEA), instituição das Nações Unidas, sediada no Principado do Mónaco.

Durante o período de realização do Mestrado em Estudos Marinhos e Costeiros (EMAC) da Universidade do Algarve (UALg), o candidato beneficiou de uma bolsa de mestrado (BM N° FMRH/4233) da Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica (JNICT), atribuída ao abrigo do Programa de Formação e Mobilidade de Recursos Humanos. Adicionalmente, e durante o período de realização da parte laboratorial da tese de mestrado, o candidato beneficiou de um subsídio de deslocação e manutenção no estrangeiro, atribuído pela Comissão de Bolsas da Secretaria Regional de Educação (SRE/RAM).

Deste modo, seguidamente gostaria de expressar os meus sinceros agradecimentos às pessoas e entidades abaixo mencionadas, sem a colaboração das quais, não teria obviamente sido possível a realização desta tese de mestrado:

- À Prof. Doutora Maria João Bebianno (UALg/UCTRA), pela aceitação deste tema de estudo e apoio na orientação da tese de mestrado, bem como pelo estabelecimento dos contactos que permitiram a realização das análises nos laboratórios do MEL/IAEA;

- Ao Ex<sup>mo</sup> Sr. Secretário Regional da Agricultura, Florestas e Pescas (SRAFP/RAM), pela autorização superior para a realização da tese de mestrado nesta temática e pela autorização superior para a cedência do material biológico para a amostragem e análises;

- À Dr<sup>a</sup> Dalila Carvalho (Directora da DSEIP/RAM), pela preciosa colaboração aquando da sugestão deste estudo e por todo o apoio concedido durante a realização da tese de mestrado;

- Ao pessoal técnico da DSEIP/RAM, pela colaboração na realização da amostragem biológica dos exemplares de peixe-espada-preto;

- Ao Prof. Doutor Murdoch Baxter (Director Geral do MEL - IAEA), pela autorização superior e consequente apoio logístico, indispensável à realização da parte laboratorial da tese de mestrado na referida instituição;

- Ao Prof. Doutor Fernando Ribeiro (Director da Secção Laboratorial do MESL), pela autorização superior para a realização da parte laboratorial da tese de mestrado no referido laboratório, pelo apoio constante, e obviamente, pela simpática companhia nos almoços;

- À Prof. Doutora Marina Coquery (Técnica Superior do MESL), pelo apoio e incentivo constantes, pela contribuição na pesquisa e cedência de material bibliográfico, e pela infindável paciência e inestimável capacidade de ensino revelada durante a realização da parte laboratorial da tese de mestrado;

- Ao pessoal técnico do MEL, particularmente à Sabinne, Sharon e Jean, e à estagiária e colega Valentina, pelo constante apoio demonstrado e pela agradável companhia nas (curtas) pausas para o café;

- À Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica (JNICT), pela atribuição da bolsa de mestrado (BM N° FMRH/4233), fundamental para a obtenção desta pós-graduação;

- À Comissão de Bolsas da Secretaria Regional de Educação (SRE/RAM), pela concessão de um subsídio de deslocação e manutenção no estrangeiro, fundamental durante o período de permanência no Mónaco;

- Aos meus pais, irmão e restante família, pelo apoio e incentivo que sempre demonstraram ao longo da minha carreira académica;

- Aos amigos e colegas da Universidade do Algarve, pelo companheirismo e colaboração durante a realização do mestrado;

- À Catarina, pelo constante e inextinguível apoio e compreensão nas fases complicadas, mas principalmente pelo importante incentivo à finalização da tese de mestrado;

- A todos os que contribuíram de algum modo para a realização deste estudo.

### RESUMO

O presente estudo teve por objectivo a determinação da concentração de mercúrio total no músculo, fígado e gónadas de peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839), espécie de profundidade (700 - 1300 metros) com elevada importância económica no sector das pescas do Arquipélago da Madeira.

As análises das amostras foram efectuadas por espectrofotometria de absorção atómica com vapor frio (CV-AAS).

A concentração média de Hg total (peso húmido) nos tecidos e órgãos dos peixes apresenta a seguinte ordem decrescente: fígado (5.26 mg/Kg) >> músculo (0.80 mg/Kg) > gónadas (0.38 mg/Kg).

As concentrações de Hg total nos tecidos e órgãos revelam que os teores de Hg total aumentam significativamente com a idade e o tamanho (peso e comprimento) dos peixes, e diminuem ligeiramente com o índice de condição fisiológica do peixe-espada-preto.

### ABSTRACT

The aim of this work is the determination of total mercury concentration in muscle, liver and gonads of a deep-water species (700 - 1300 meters) with high economic importance in the Madeira Archipelago fisheries, the black scabbard fish (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839).

Samples were analysed by cold vapour atomic absorption spectrophotometry (CV-AAS).

The mean concentration of total Hg (wet weight) in the fish tissues and organs decreased according to the following sequence: liver (5.26 mg/Kg) >> muscle (0.80 mg/Kg) > gonads (0.38 mg/Kg).

Concentrations of total Hg in the tissues and organs show that the total Hg levels increase significantly with age and size (weight and length), and that total Hg levels decrease slightly with the physiological condition index of the black scabbard fish.

## ÍNDICE GERAL

	Pág.
<b>1 – INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1 - Principais Utilizações do Mercúrio	1
1.2 - Principais Fontes de Mercúrio para o Oceano	2
1.3 - Principais Vias de Transporte e Entrada de Mercúrio no Oceano	2
1.4 - Ciclo Biogeoquímico do Mercúrio no Oceano	3
1.4.1 - Principais Formas de Mercúrio no Oceano	3
1.4.2 - Distribuição do Mercúrio no Oceano	3
1.4.3 - Metilação do Mercúrio no Oceano	4
1.5 - Bioacumulação do Mercúrio nos Peixes	6
1.5.1 - Principais Vias de Entrada e Bioacumulação do Mercúrio nos Peixes	6
1.5.2 - Principais Factores condicionantes da Bioacumulação do Mercúrio nos Peixes	7
1.5.3 - Factores de Bioconcentração do Mercúrio nos Peixes	7
1.5.4 - Principais Relações Ecológicas e Funcionais na Bioacumulação do Mercúrio nos Peixes	8
1.5.5 - Distribuição Corporal do Mercúrio nos Peixes	9
1.6 - Bioamplificação do Mercúrio nas Cadeias Tróficas Marinhas	10
1.7 - Toxicidade do Mercúrio para os Peixes	11
1.8 - Riscos para a Saúde Humana devido ao Consumo de Pescado Contaminado por Mercúrio	12
1.8.1 - Principais Episódios de Intoxicação Humana provocados pelo Consumo de Pescado Contaminado por Mercúrio	12
1.8.2 - Principais Efeitos na Saúde Humana provocados pelo Consumo de Pescado Contaminado por Mercúrio	14
1.9 - Limites Admissíveis de Contaminação do Pescado por Mercúrio e Limites Toleráveis de Ingestão Humana de Mercúrio	16
1.10 - Objectivos do Estudo	18
<b>2 – CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE E IMPORTÂNCIA DO RECURSO PESQUEIRO</b>	<b>19</b>
2.1 - Classificação Taxonómica	19
2.2 - Morfologia da Espécie	19
2.3 - Biologia da Espécie	20
2.4 - Distribuição Geográfica da Espécie	22
2.5 - Distribuição Batimétrica da Espécie	23
2.6 - Principais Áreas de Pesca	24
2.7 - Importância Sócio-Económica do Recurso Pesqueiro	24
<b>3 – MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>26</b>
3.1 - Amostragem	26
3.2 - Preparação das Amostras	27
3.3 - Determinação do Teor de Humidade das Amostras	27
3.4 - Selecção dos Materiais de Referência Certificados (CRM's)	28
3.5 - Digestão das Amostras	29
3.6 - Análise do Teor de Mercúrio Total das Amostras	30
3.7 - Determinação do Limite de Detecção do Processo Analítico	31
3.8 - Controlo de Qualidade do Processo Analítico	33
3.8.1 - Avaliação do Rigor do Processo Analítico	33
3.8.2 - Avaliação da Precisão ou Reproducibilidade do Processo Analítico	36
3.8.3 - Estabelecimento de Cartas de Controlo do Processo Analítico	38

## ÍNDICE GERAL

	Pág.
<b>3.9 - Tratamento de Dados e Análise Estatística</b>	<b>40</b>
<b>3.9.1 - Estimação da Idade dos Exemplares</b>	<b>40</b>
<b>3.9.2 - Avaliação dos Índices de Condição Fisiológica dos Exemplares</b>	<b>41</b>
<b>3.9.2.1 - Factor de Condição Geral (K)</b>	<b>41</b>
<b>3.9.2.2 - Índice Hepatosomático (I.H.S.)</b>	<b>41</b>
<b>3.9.2.3 - Índice Gonadosomático (I.G.S.)</b>	<b>41</b>
<b>3.9.3 - Estabelecimento de Relações Funcionais</b>	<b>42</b>
<b>4 – RESULTADOS</b>	<b>43</b>
<b>4.1 - Amostragem</b>	<b>43</b>
<b>4.2 - Teor de Humidade das Amostras</b>	<b>44</b>
<b>4.3 - Concentrações de Mercúrio Total das Amostras</b>	<b>44</b>
<b>4.4 - Distribuição Corporal de Mercúrio Total nos Exemplares</b>	<b>46</b>
<b>4.5 - Relações Funcionais: Parâmetros Biológicos / Concentrações de Mercúrio Total</b>	<b>47</b>
<b>4.5.1 - Relações Funcionais: Comprimento Total / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>48</b>
<b>4.5.2 - Relações Funcionais: Peso Total / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>49</b>
<b>4.5.3 - Relações Funcionais: Peso dos Órgãos / Concentração de Mercúrio Total no Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>50</b>
<b>4.5.4 - Relações Funcionais: Idade / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>50</b>
<b>4.5.5 - Relações Funcionais: Estado de Maturação / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>52</b>
<b>4.5.6 - Relações Funcionais: Índices de Condição / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>53</b>
<b>5 – DISCUSSÃO</b>	<b>55</b>
<b>5.1 - Concentrações de Mercúrio Total das Amostras</b>	<b>55</b>
<b>5.1.1 - Músculo</b>	<b>56</b>
<b>5.1.2 - Fígado</b>	<b>59</b>
<b>5.1.3 - Gónadas</b>	<b>61</b>
<b>5.2 - Distribuição Corporal de Mercúrio Total nos Exemplares</b>	<b>63</b>
<b>5.3 - Relações Funcionais: Parâmetros Biológicos / Concentrações de Mercúrio Total</b>	<b>64</b>
<b>5.3.1 - Relações Funcionais: Comprimento Total / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>64</b>
<b>5.3.2 - Relações Funcionais: Peso Total / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>66</b>
<b>5.3.3 - Relações Funcionais: Peso dos Órgãos / Concentração de Mercúrio Total no Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>66</b>
<b>5.3.4 - Relações Funcionais: Idade / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>67</b>
<b>5.3.5 - Relações Funcionais: Estado de Maturação / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>68</b>
<b>5.3.6 - Relações Funcionais: Índices de Condição / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares</b>	<b>68</b>
<b>5.3.7 - Importância do Conhecimento das Relações Funcionais entre os Parâmetros Biológicos e as Concentrações de Mercúrio Total nos Peixes</b>	<b>68</b>

## ÍNDICE GERAL

	Pág.
<b>5.4 - Principais Factores Responsáveis pela Elevada Bioacumulação de Mercúrio Total nos Exemplares de Peixe-Espada-Preto</b>	69
<b>5.4.1 - Habitat</b>	69
<b>5.4.2 - Longevidade</b>	70
<b>5.4.3 - Posição na Cadeia Trófica</b>	70
<b>5.4.4 - Hábitos Alimentares</b>	70
<b>6 – CONCLUSÃO</b>	71
<b>7 – CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS DE ESTUDO</b>	72
<b>8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	73
<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>2 – CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE E IMPORTÂNCIA DO RECURSO PESQUEIRO</b>	
<b>Figura 2.1</b> - Representação esquemática de um exemplar de peixe-espada-preto ( <i>Aphanopus carbo</i> Lowe, 1839)	20
<b>Figura 2.2</b> - Distribuição geográfica do peixe-espada-preto no Atlântico NE	23
<b>Figura 2.3</b> - Localização geográfica das principais áreas de pesca de peixe-espada-preto na Região Autónoma da Madeira (sub-área 2 da ZEE)	24
<b>Figura 2.4</b> - Volume de capturas e preço médio do peixe-espada-preto na Região Autónoma da Madeira	25
<b>3 – MATERIAL E MÉTODOS</b>	
<b>Figura 3.1</b> - Carta de controlo do processo analítico realizada com o material de referência certificado DORM-1	38
<b>Figura 3.2</b> - Carta de controlo do processo analítico realizada com o material de referência certificado DORM-2	39
<b>Figura 3.3</b> - Carta de controlo do processo analítico realizada com o material de referência certificado DOLT-2	39
<b>4 – RESULTADOS</b>	
<b>Figura 4.1</b> - Distribuição corporal das concentrações individuais de Hg total (peso húmido) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto	46
<b>Figura 4.2</b> - Distribuição corporal das concentrações individuais de Hg total (peso seco) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto	46
<b>Figura 4.3</b> - Distribuição corporal das concentrações médias ( $\pm\sigma$ ) de Hg total (peso húmido e peso seco) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto	47
<b>Figura 4.4</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no músculo e o comprimento total dos exemplares de peixe-espada-preto	48
<b>Figura 4.5</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no fígado e o comprimento total dos exemplares de peixe-espada-preto	48
<b>Figura 4.6</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) nas gónadas e o comprimento total dos exemplares de peixe-espada-preto	49
<b>Figura 4.7</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no músculo e o peso total dos exemplares de peixe espada-preto	49
<b>Figura 4.8</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) nas gónadas e o peso das gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto	50
<b>Figura 4.9</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no músculo e a idade dos exemplares de peixe-espada-preto	50
<b>Figura 4.10</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no fígado e a idade dos exemplares de peixe-espada-preto	51
<b>Figura 4.11</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) nas gónadas e a idade dos exemplares de peixe-espada-preto	51
<b>Figura 4.12</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no músculo e o estado de maturação dos exemplares de peixe-espada-preto	52
<b>Figura 4.13</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) nas gónadas e o estado de maturação dos exemplares de peixe-espada-preto	52
<b>Figura 4.14</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no músculo e o factor de condição geral (K) dos exemplares de peixe-espada-preto	53
<b>Figura 4.15</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no fígado e o factor de condição geral (K) dos exemplares de peixe-espada-preto	53
<b>Figura 4.16</b> - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) nas gónadas e o factor de condição geral (K) dos exemplares de peixe-espada-preto	54

## ÍNDICE DE TABELAS

	Pág.
<b>3 – MATERIAL E MÉTODOS</b>	
<b>Tabela 3.I</b> - Parâmetros do espectrofotômetro de absorção atômica	30
<b>Tabela 3.II</b> - Avaliação do limite absoluto de detecção do processo analítico (CV-AAS)	32
<b>Tabela 3.III</b> - Comparação das concentrações de Hg total (média, desvio padrão e gama de concentração) dos materiais de referência certificados (CRM's) com as concentrações de Hg total das análises dos CRM's realizadas no presente estudo	34
<b>Tabela 3.IV</b> - Avaliação do rigôr do processo analítico (CV-AAS) através das taxas de recuperação (T.R. - %) das análises dos CRM's	35
<b>Tabela 3.V</b> - Avaliação do rigôr do processo analítico (CV-AAS) através dos erros relativos (E.R. - %) das análises dos CRM's	36
<b>Tabela 3.VI</b> - Avaliação da precisão ou reproducibilidade do processo analítico (CV-AAS) através dos coeficientes de variação (C.V. - %) das análises dos triplicados das amostras e dos CRM's	37
<b>4 – RESULTADOS</b>	
<b>Tabela 4.I</b> - Parâmetros de amostragem (valores mínimos e máximos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação) dos exemplares de peixe-espada-preto	43
<b>Tabela 4.II</b> - Teores de humidade (%H <sub>2</sub> O) (valores mínimos e máximos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação) das amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto	44
<b>Tabela 4.III</b> - Concentrações de Hg total (valores mínimos e máximos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação) nas amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto	45
<b>Tabela 4.IV</b> - Concentrações de Hg total (valores mínimos e máximos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação) nas amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares machos e fêmeas de peixe-espada-preto	45
<b>5 – DISCUSSÃO</b>	
<b>Tabela 5.I</b> - Comparação das concentrações de Hg total no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto com os limites legais recomendados por organismos e entidades internacionais e estabelecidos na legislação comunitária e nacional relativa à contaminação por Hg total no pescado	55
<b>Tabela 5.II</b> - Comparação das concentrações de Hg total no músculo dos exemplares de peixe-espada-preto com as concentrações de Hg total no músculo de várias espécies de peixes	56

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
<b>ANEXO I:</b>	
<b>Tabela I</b> - Escala macroscópica de maturação sexual do peixe-espada-preto (Aphanopus carbo Lowe, 1839)	I-1
<b>ANEXO II:</b>	
<b>Tabela I</b> - Amostragem biológica dos exemplares de peixe-espada-preto	II-1
<b>Tabela II</b> - Teor de humidade (%H <sub>2</sub> O) das amostras (músculo, fígado e gónadas) dos exemplares de peixe-espada-preto	II-3
<b>Tabela III</b> - Concentrações de mercúrio total (mg/Kg - peso húmido e peso seco) das amostras (músculo, fígado e gónadas) dos exemplares de peixe-espada-preto	II-5
<b>Tabela IV</b> - Idade dos exemplares de peixe-espada-preto determinada através da aplicação da equação crescimento de von Bertalanffy	II-7
<b>Tabela V</b> - Índices de condição fisiológica dos exemplares de peixe-espada-preto (Factor de Condição Geral - K; Índice Hepatossomático adaptado - I.H.S.; Índice Gonadossomático adaptado - I.G.S.)	II-8

## 1 – INTRODUÇÃO

O presente capítulo pretende fornecer uma visão global e integradora dos fenómenos de contaminação por mercúrio (Hg) nos peixes e das suas implicações em termos de Saúde Pública. Deste modo, inicialmente são referidas as principais formas de utilização e fontes de poluição ambiental por Hg, o ciclo biogeoquímico do Hg no oceano, os fenómenos de bioacumulação do Hg nos organismos marinhos e de bioamplificação nas cadeias tróficas marinhas, e a toxicidade do Hg sobre a vida marinha, nomeadamente sobre os peixes. Finalmente, são mencionados os principais episódios de intoxicação humana por consumo de pescado contaminado com Hg, os efeitos dos compostos orgânicos de Hg na saúde humana, os limites máximos admissíveis de contaminação do pescado por Hg e as taxas de ingestão toleráveis para a salvaguarda da Saúde Pública.

### 1.1 - Principais Utilizações do Mercúrio

Após a descoberta, no início da década de 60, dos graves efeitos ambientais e dos perigos para a saúde humana provocados pela poluição do oceano pelo Hg, ocorreu uma redução muito significativa da sua utilização (e nalguns casos, mesmo proibição total da sua utilização) (Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990).

No entanto, devido a algumas das suas propriedades químicas, o Hg foi durante muito tempo amplamente utilizado em numerosas actividades industriais, nomeadamente na indústria química e agroquímica, cosmética e farmacêutica, eléctrica e electrónica, mineira e metalúrgica (FAO/PNUE/OMS/AIEA, 1986; Cappon, 1994; Porcella, 1994; Porcella *et al.*, 1996).

A indústria química foi desde sempre o maior utilizador de Hg (FAO/PNUE/OMS/AIEA, 1986; Fergusson, 1990). Neste âmbito, as principais utilizações do Hg foram na produção de cloro e soda cáustica (Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Paasivirta, 1991; Sadiq, 1992; Azcue, 1993; Navarro-Pedreño *et al.*, 1993; Zillioux *et al.*, 1993; Cappon, 1994; Porcella, 1994; Porcella *et al.*, 1996; Ratcliffe *et al.*, 1996), na produção de polímeros sintéticos (Sadiq, 1992; Azcue, 1993; Cappon, 1994; Porcella *et al.*, 1996), e na produção de tintas anticorrosivas e antivegetativas (Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990; Paasivirta, 1991; Sadiq, 1992; Navarro-Pedreño *et al.*, 1993; Cappon, 1994; Porcella, 1994; Porcella *et al.*, 1996; Ratcliffe *et al.*, 1996). Numerosos compostos de Hg tiveram também grande aplicação na produção de diverso material laboratorial (reagentes, fixantes histológicos, soluções de desinfecção e esterilização), cosmético, odontológico (preparações e amálgamas dentárias), farmacêutico e hospitalar (antisépticos e medicamentos) (Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990; O'Sullivan *et al.*, 1991; Paasivirta, 1991; Sadiq, 1992; Azcue, 1993; Navarro-Pedreño *et al.*, 1993; Cappon, 1994; Porcella, 1994; Porcella *et al.*, 1996; Ratcliffe *et al.*, 1996).

No âmbito da indústria agroquímica, devido às suas propriedades herbicidas, pesticidas, fungicidas e bactericidas, alguns compostos de Hg foram largamente utilizados no revestimento de sementes (para controlo de doenças) e como agentes de preservação contra a deterioração fúngica e bacteriana da madeira, da celulose e do papel (Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990; O'Sullivan *et al.*, 1991; Paasivirta, 1991; Sadiq, 1992; Navarro-Pedreño *et al.*, 1993; Cappon, 1994; Porcella, 1994; Porcella *et al.*, 1996; Ratcliffe *et al.*, 1996; Watanabe & Satoh, 1996).

Na indústria eléctrica e electrónica, o Hg foi muito frequentemente utilizado na produção de material eléctrico (lâmpadas, pilhas, baterias, interruptores, disjuntores) e instrumentos electrónicos de medição e controlo (termómetros e barómetros) (Fergusson, 1990; Sadiq, 1992; Navarro-Pedreño *et al.*, 1993; Cappon, 1994; Porcella, 1994; Porcella *et al.*, 1996; Ratcliffe *et al.*, 1996).

Finalmente, e apesar das fortes restrições e proibições, nalguns países o Hg é ainda muito utilizado pelas indústrias mineira e metalúrgica, na extracção, separação, recuperação, refinação e amalgamação de metais preciosos, nomeadamente o ouro e a prata (Paasivirta, 1991; Clark, 1992; Azcue, 1993; Cappon, 1994; Porcella, 1994; Ratcliffe *et al.*, 1996).

## 1.2 - Principais Fontes de Mercúrio para o Oceano

Diversos processos naturais e actividades humanas contribuem para a contaminação ambiental por Hg (Sadiq, 1992), nomeadamente através da actividade geológica natural e da poluição de origem antropogénica (Padberg & May, 1992; Cappon, 1994; Ratcliffe *et al.*, 1996). O conhecimento das principais fontes naturais e antropogénicas de Hg é fundamental para a compreensão do ciclo biogeoquímico deste elemento à escala global (Porcella *et al.*, 1996).

O Hg é um constituinte natural da água do mar, e as principais fontes naturais de Hg para o oceano são a erosão das rochas e dos solos, o vulcanismo e outros fenómenos tectónicos normalmente associados a zonas tectonicamente activas (geysers, fontes geotermais e processos de desgasificação da crosta terrestre) (Gerlach, 1981; Bishop, 1983; Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990; Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Padberg & May, 1992; Zillioux *et al.*, 1993; Cappon, 1994; Porcella *et al.*, 1996; Bargagli *et al.*, 1998).

Deste modo, e atendendo apenas às fontes naturais deste elemento, os níveis de Hg no oceano variam consoante a geoquímica local, o tipo de leito rochoso e o grau de mineralização (Wren *et al.*, 1995). As emissões de Hg através dos fenómenos vulcânicos e tectónicos apenas possuem impactes significativos à escala regional (Bargagli *et al.*, 1998), pelo que constituem uma fonte natural de Hg com menor importância no oceano (Paasivirta, 1991; Porcella, 1994).

As principais fontes antropogénicas de Hg incluem a exploração dos depósitos naturais, a extracção de metais, as emissões industriais, os usos agrícolas, a utilização de combustíveis fósseis, as centrais de produção de energia eléctrica e a deposição e eliminação de resíduos (aterros e incineração) (Wren *et al.*, 1995; Porcella *et al.*, 1996).

Apesar de algumas destas actividades humanas constituírem localmente importantes fontes antropogénicas de Hg (Padberg & May, 1992), o efeito do Homem no teor de Hg do oceano é desprezível, pois o *input* antropogénico de Hg para o oceano é maioritariamente depositado nos sedimentos dos estuários e águas costeiras próximas das fontes de poluição, quase não atingindo o oceano aberto (Officer & Ryther, S/D). Deste modo, as diversas fontes antropogénicas de Hg não provocam grandes alterações globais, embora possam provocar fenómenos de poluição locais, extremamente fortes e persistentes (Renzoni *et al.*, 1991; Padberg & May, 1992).

## 1.3 - Principais Vias de Transporte e Entrada de Mercúrio no Oceano

O meio marinho constitui um importante reservatório para todas as emissões de Hg, naturais e antropogénicas (Clark, 1986, 1992; Padberg & May, 1992). Em termos quantitativos, existem duas importantes vias de transporte e entrada de Hg no oceano, directamente através dos cursos de água e sistemas de águas residuais (esgotos urbanos e industriais) e indirectamente através da atmosfera (Gerlach, 1981; Bishop, 1983; FAO/PNUE/OMS/AIEA, 1986; Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990; Padberg & May, 1992; Horvat *et al.*, 1993b; Zillioux *et al.*, 1993).

Nas zonas costeiras, as principais vias de transporte e entrada de Hg no oceano são os cursos de água, as águas de escorrência superficiais e os efluentes urbanos e industriais (Bishop, 1983; Clark, 1986, 1992). Pelo contrário, nas zonas oceânicas, não afectadas directamente pela poluição, a principal forma de transporte e entrada de Hg é a atmosfera (Clark, 1986, 1992; Horvat *et al.*, 1993b).

Deste modo, em termos globais, provavelmente a mais importante via de transporte e entrada do Hg no oceano, é indirectamente através da atmosfera (Gerlach, 1981; Clark, 1986, 1992; FAO/PNUE/OMS/AIEA, 1986; Fergusson, 1990; Padberg & May, 1992; Sadiq, 1992; Porcella, 1994; Navarro-Pedreño *et al.*, 1993; Joiris *et al.*, 1995; Porcella *et al.*, 1996; Ratcliffe *et al.*, 1996). Este processo de transporte atmosférico do Hg pode ter contribuído para um aumento dos níveis de Hg à escala global (Joiris *et al.*, 1995), pois a descoberta de elevados níveis de Hg em locais remotos e muito distantes de qualquer actividade humana, nomeadamente nas zonas oceânicas, reforça a importância da deposição atmosférica de Hg (O'Sullivan *et al.*, 1991; Porcella, 1994).

## 1.4 - Ciclo Biogeoquímico do Mercúrio no Oceano

O ciclo biogeoquímico do Hg consiste numa série de *inputs* e *outputs* no sistema, e no transporte e transformação das formas de Hg no interior do sistema (Zillioux *et al.*, 1993). Este ciclo biogeoquímico é único entre os metais com efeitos ambientais potencialmente perigosos (Monteiro *et al.*, 1996), pois o Hg é um elemento extremamente reactivo e dinâmico no ambiente marinho, e o seu comportamento ambiental é muito interessante e difere da generalidade dos elementos tóxicos (Sadiq, 1992).

### 1.4.1 - Principais Formas de Mercúrio no Oceano

O Hg existe na natureza em diversas formas físicas e químicas, algumas das quais desempenham um papel importante no comportamento ambiental deste elemento no oceano (Schuhmacher *et al.*, 1994). A distinção entre as diversas formas (orgânicas e inorgânicas) de Hg presentes no oceano é fundamental, pois possuem diferentes propriedades e características (Francesconi & Lenanton, 1992), que determinam comportamentos químicos e biológicos distintos (Hudson *et al.*, 1994; Porcella, 1994).

Com efeito, as formas sob as quais o Hg se encontra presente na água e nos sedimentos determinam a sua bioacumulação nos organismos, bioamplificação nas cadeias tróficas, e os seus efeitos ecológicos, fisiológicos e toxicológicos sobre os organismos marinhos (Bishop, 1983; Francesconi & Lenanton, 1992; Padberg & May, 1992; Sadiq, 1992).

O Hg existe na água do mar maioritariamente na forma inorgânica (Mikac *et al.*, 1985; Francesconi & Lenanton, 1992; Dixon & Jones, 1994), em dois estados de oxidação: Hg (I) e Hg (II) (Sadiq, 1992). Contudo, no meio marinho, o Hg sofre transformações entre as suas principais formas químicas, nomeadamente Hg elementar [Hg(0)], Hg inorgânico [Hg(II)] e metilmercúrio (MeHg -  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ) (Porcella, 1994), processos que dependem essencialmente das características físicas, químicas e microbianas do ecossistema (Mikac *et al.*, 1985).

O Hg inorgânico liga-se preferencialmente à matéria particulada, enquanto que o Hg orgânico possui uma forte afinidade para a matéria orgânica (FAO/PNUE/OMS/AIEA, 1986), favorecendo fortemente a sua associação com o *biota* marinho (Bodaly *et al.*, 1984). Neste âmbito, entre os principais compostos organomercuriais (metil-, etil-, e fenilHg), o MeHg é a forma orgânica predominante em termos de poluição aquática (Cappon, 1994).

De facto, apesar da maioria do Hg na água do mar ser Hg inorgânico, o Hg orgânico, e principalmente o MeHg, predominam no *biota* marinho, principalmente nos organismos superiores (Bernhard, 1985; Fergusson, 1990; Bernhard & Filippelli, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992). Com efeito, o MeHg corresponde apenas a cerca de 0.1-1.5% do Hg total dos sedimentos marinhos, cerca de 2% do Hg total da água do mar, 4-12% no plâncton marinho, mas geralmente a mais de 80% do Hg total dos peixes (Mikac *et al.*, 1985; Fergusson, 1990; Branica *et al.*, 1993).

### 1.4.2 - Distribuição do Mercúrio no Oceano

Após a sua introdução no oceano, o Hg sofre alterações complexas que dependem das suas propriedades físico-químicas, sendo distribuído nos diversos compartimentos ambientais, nomeadamente na coluna de água, nos sedimentos e no *biota* (Grimalt, 1989b). Com efeito, os principais processos do ciclo biogeoquímico deste elemento ocorrem no sistema inter-activo água/sedimentos/organismos (Padberg & May, 1992).

A concentração de Hg no oceano é geralmente muito reduzida, embora nas zonas contaminadas por descargas de fontes pontuais, a concentração de Hg na água do mar possa ser eventualmente muito elevada (Wren *et al.*, 1995). De facto, as maiores concentrações de Hg são geralmente registadas nas águas costeiras sob influência de actividades humanas (Sadiq, 1992). Diversos estudos indicam que nas águas costeiras a principal fracção do Hg (75 a 80%) encontra-se associada à matéria particulada na coluna de água, enquanto que o Hg dissolvido é a principal forma de Hg presente nas águas oceânicas (FAO/PNUE/OMS/AIEA, 1986; Padberg & May, 1992).

Os processos de precipitação, absorção, adsorção e sedimentação, removem os iões da coluna de água e provocam a sua deposição (Abel, 1991), motivo pelo qual, a concentração de Hg na água do mar mantém-se relativamente reduzida (Navarro-Pedreño *et al.*, 1993). Com efeito, o Hg inorgânico introduzido no oceano, em solução na água e principalmente associado às partículas em suspensão, tende a depositar-se e acumular-se nos sedimentos dos fundo marinhos, assumindo a forma de compostos pouco solúveis (Mikac *et al.*, 1985; FAO/PNU/E/OMS/AIEA, 1986; Clark, 1986, 1992; Padberg & May, 1992).

Deste modo, os sedimentos marinhos desempenham um papel extremamente importante, funcionando como o principal depósito de Hg (Padberg & May, 1992; Sadiq, 1992), e armazenando a grande maioria do Hg existente na hidrosfera (Paasivirta, 1991). Adicionalmente, os sedimentos marinhos desempenham um papel fundamental na redução da biodisponibilidade deste elemento (Rudd & Turner, 1983a), pois uma enorme parte do Hg presente no oceano encontra-se nos sedimentos superficiais e provavelmente não contribui para os processos actuais de bioacumulação (Rudd *et al.*, 1983). De facto, apesar dos processos cíclicos de deposição e ressuspensão, a maior parte do Hg depositado ao longo do tempo (> 90%), encontra-se ainda presente nos sedimentos (Zillioux *et al.*, 1993).

Contudo, o Hg depositado e acumulado durante longos períodos de tempo, pode ser remobilizado através de várias actividades humanas, como as dragagens, a navegação ou através de processos naturais (Ramos *et al.*, S/D). Com efeito, o Hg é um elemento dinâmico e facilmente transformável nos sedimentos marinhos (Sadiq, 1992), pois as interferências e os processos metabólicos na interface água-sedimento podem remobilizar o Hg, tornando-o disponível para os processos de transformação química, nomeadamente para os processos de metilação do Hg (Padberg & May, 1992).

#### 1.4.3 - Metilação do Mercúrio no Oceano

A metilação do Hg no meio marinho é um processo chave no ciclo biogeoquímico do Hg (Horvat *et al.*, 1993b; Zillioux *et al.*, 1993; Porcella, 1994), através do qual o Hg inorgânico é transformado em Hg orgânico, nomeadamente em MeHg (Monteiro *et al.*, 1996).

Diversos estudos apontam os sedimentos aquáticos como o principal compartimento ambiental onde ocorre a metilação do Hg (Hildebrand *et al.*, 1980; Rudd & Turner, 1983a; Rudd *et al.*, 1983; Bodaly *et al.*, 1984; Mikac *et al.*, 1985; Xun *et al.*, 1987; Francesconi & Lenanton, 1992; Sadiq, 1992; Torreblanca *et al.*, 1993; Zillioux *et al.*, 1993; Schuhmacher *et al.*, 1994; Monteiro *et al.*, 1996; Raldúa & Pedrocchi, 1996; Bargagli *et al.*, 1998). Por este motivo, uma parte significativa do Hg nos sedimentos encontra-se sob a forma de MeHg (Pieters & Geuke, 1994), constituindo a principal fonte de MeHg para os ecossistemas aquáticos (Schuhmacher *et al.*, 1994). Após a metilação, o monoMeHg liberta-se dos sedimentos para a coluna de água, enquanto que o diMeHg, devido à sua volatilidade, pode atingir a atmosfera (Rudd & Turner, 1983b; Sadiq, 1992), e logo, existe em concentrações muito reduzidas no meio marinho (Porcella, 1994).

No entanto, embora a biossíntese de MeHg nos sedimentos marinhos seja bem conhecida, não é a única fonte natural de MeHg para o meio marinho (Topping & Davies, 1981). De facto, os processos de metilação do Hg, embora reduzidos, são detectáveis na coluna de água, principalmente nas águas superficiais (Topping & Davies, 1981; Rudd & Turner, 1983a; Rudd *et al.*, 1983; Mikac *et al.*, 1985; Xun *et al.*, 1987; Francesconi & Lenanton, 1992; Schuhmacher *et al.*, 1994; Porcella *et al.*, 1996; Monteiro *et al.*, 1996), facto que explica os níveis reduzidos de MeHg geralmente registados na água do mar (Bernhard & Filippelli, 1991; Zillioux *et al.*, 1993).

No ciclo biogeoquímico do Hg no ambiente marinho, a metilação do Hg é um processo essencialmente biótico (Bishop, 1983; FAO/PNU/E/OMS/AIEA, 1986; Fergusson, 1990; Bernhard & Filippelli, 1991; Johnston *et al.*, 1991; Renzoni *et al.*, 1991; Sadiq, 1992; Porcella, 1994), pelo que o MeHg existente no meio marinho é maioritariamente de origem biogénica (Ali *et al.*, *in press*). Neste processo, os microrganismos desempenham um papel fundamental, constituindo uma via activa entre as componentes bióticas e abióticas do sistema, decompondo a matéria orgânica e libertando o Hg para a água e para os sedimentos, ou seja, tomando-o disponível para os outros organismos marinhos (Johnston *et al.*, 1991; Sadiq, 1992; Navarro-Pedreño *et al.*, 1993).

Os principais grupos de microrganismos envolvidos no processo de metilação do Hg no oceano são as bactérias e os vírus (Fergusson, 1990), com nítido destaque para as bactérias (Fergusson, 1990; Sadiq, 1992). Efectivamente, estudos laboratoriais revelam que a metilação microbiana do Hg inorgânico é realizada tanto por culturas de vírus e bactérias isoladas como por matrizes complexas de microrganismos, tais como as existentes nas amostras naturais de água e de sedimentos marinhos (Bernhard & Filippelli, 1991).

No oceano, o Hg inorgânico pode ser convertido em MeHg sob diversas condições naturais (Horvat *et al.*, 1993a), pois a metilação do Hg pode ocorrer sob condições aeróbicas ou anaeróbicas (Fergusson, 1990; Bernhard & Filippelli, 1991; Dixon & Jones, 1994). Contudo, apesar de não existir um padrão geral, a metilação do Hg é aparentemente mais eficiente sob condições anaeróbicas (Rudd *et al.*, 1983; Fergusson, 1990; Zillioux *et al.*, 1993; Sellers *et al.*, 1996; Ali *et al.*, *in press*). De facto, no meio marinho, a metilação do Hg pode ser efectuada tanto pelas bactérias aeróbicas, como pelas bactérias anaeróbicas (Dixon & Jones, 1994), embora o MeHg existente no oceano seja principalmente devido à metilação pelas bactérias anaeróbicas dos sedimentos (Ali *et al.*, *in press*).

A informação acerca dos processos de metilação do Hg em organismos superiores, nomeadamente nos peixes marinhos, é muito escassa (Bernhard & Filippelli, 1991; Sadiq, 1992), sendo frequentemente considerada muito pouco significativa (Francesconi & Lenanton, 1992). Com efeito, diversos estudos indicam que os peixes não conseguem propriamente realizar a metilação do Hg, mas apenas os microrganismos existentes nos seus sistemas digestivos (Rudd *et al.*, 1983; Mikac *et al.*, 1985; Xun *et al.*, 1987; Fergusson, 1990; Bernhard & Filippelli, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992). Deste modo, vários autores afirmam que as elevadas concentrações de MeHg existentes nalguns peixes podem resultar de um processo de metilação nos órgãos viscerais, realizado pela actividade bacteriana nos respectivos conteúdos intestinais (Rudd *et al.*, 1983; Mikac *et al.*, 1985; Francesconi & Lenanton, 1992; Vukadin *et al.*, 1995), pois o MeHg produzido nos intestinos está mais disponível para a bioacumulação (Rudd *et al.*, 1983).

A metilação do Hg possui enormes implicações e impactes ambientais no meio marinho, pois enquanto que a sedimentação acumula o Hg inorgânico nos sedimentos de fundo, a biometilação liberta Hg orgânico dos sedimentos para coluna de água, sob a forma de MeHg. Deste modo, a metilação microbiana constitui uma importante via de remoção do Hg da água e dos sedimentos (Paasivirta, 1991), sendo mesmo considerado um dos principais mecanismos de descontaminação do Hg presente na coluna de água e nos sedimentos marinhos (Sadiq, 1992).

Contudo, nos ecossistemas aquáticos, o Hg inorgânico torna-se muito mais tóxico após a conversão em Hg orgânico (principalmente MeHg) (Bodaly *et al.*, 1984; Wren *et al.*, 1995; Ratcliffe *et al.*, 1996), pois pode muito mais facilmente ser absorvido e acumulado pelos organismos, nomeadamente os peixes, e bioamplificado ao longo das cadeias tróficas marinhas (Bishop, 1983; FAO/PNU/E/OMS/AIEA, 1986; Clark, 1986, 1992; Mikac *et al.*, 1989; Padberg & May, 1992; UNEP/FAO/IOC/IAEA, 1992; Horvat *et al.*, 1993a,b; Ali *et al.*, *in press*).

Assim sendo, a formação e distribuição do MeHg no meio marinho constituem processos com enorme importância (May *et al.*, 1987), motivo pelo qual a metilação do Hg é considerado um processo chave na bioacumulação deste elemento no *biota* (Zillioux *et al.*, 1993; Porcella, 1994). De facto, a metilação bacteriana do Hg inorgânico aumenta significativamente a disponibilidade de Hg para a absorção pelos peixes (Raldúa & Pedrocchi, 1996; Ratcliffe *et al.*, 1996), pois o MeHg na coluna de água está imediatamente disponível para a bioacumulação (Rudd *et al.*, 1983).

Na realidade, alguns estudos referem que o Hg acumulado pelos peixes é basicamente MeHg produzido pela metilação bacteriana nos sedimentos de fundo e posteriormente mobilizado para a coluna de água devido à sua maior solubilidade (Armstrong & Scott, 1979), motivo pelo qual, nalguns ecossistemas, a camada superficial dos sedimentos e a coluna de água, são considerados os principais contribuintes para o MeHg presente nos peixes (Rudd & Turner, 1983a).

## 1.5 - Bioacumulação do Mercúrio nos Peixes

O termo bioacumulação é empregue para descrever os casos em que uma substância é acumulada no corpo de um organismo em concentrações superiores às presentes no meio ambiente e no alimento ingerido (Bishop, 1983; Torreblanca *et al.*, 1993; Ratcliffe *et al.*, 1996). Uma das propriedades mais importantes dos poluentes tóxicos, e particularmente da maioria dos iões metálicos, é a sua capacidade de bioacumulação nos tecidos dos organismos marinhos, processo que ocorre durante um longo período de tempo e através de vários mecanismos, podendo eventualmente atingir níveis que provoquem efeitos tóxicos (Bishop, 1983; Abel, 1991).

A bioacumulação do Hg nos organismos é um processo de equilíbrio altamente dinâmico (Monteiro *et al.*, 1996), podendo ser expressa como a diferença entre as taxas de ingestão e eliminação (ou excreção) deste elemento (Bernhard, 1985), ou seja, sempre que a velocidade de entrada e incorporação excede a velocidade de eliminação, ocorre a bioacumulação de Hg pelos organismos marinhos (Torreblanca *et al.*, 1993).

As concentrações de Hg registadas nos peixes de proveniências muito diversas evidencia o fenómeno da bioacumulação do Hg (MacCrimmon *et al.*, 1983; Wren *et al.*, 1995). Com efeito, apesar dos níveis de Hg bastante reduzidos encontrados na maioria das massas de água, a bioacumulação ocorre devido ao facto do Hg, principalmente quando metilado, ser muito eficientemente absorvido por uma grande variedade de organismos marinhos, nomeadamente pelos peixes (Palmisano *et al.*, 1995; Wren *et al.*, 1995).

As taxas de bioacumulação do Hg nos peixes são determinadas principalmente pela eficácia dos sistemas de captação e entrada, transporte entre os órgãos, armazenamento e excreção, mecanismos que variam muito entre o tipo de organismos, espécies, e mesmo entre populações de uma determinada espécie (Torreblanca *et al.*, 1993).

### 1.5.1 - Principais Vias de Entrada e Bioacumulação do Mercúrio nos Peixes

Os peixes podem ingerir e acumular os compostos mercuriais (orgânicos e inorgânicos), directamente a partir da coluna de água e dos sedimentos (através da pele e das brânquias), ou indirectamente a partir do alimento presente na cadeia trófica (através do tracto digestivo) (Ramos *et al.*, S/D; Hildebrand *et al.*, 1980; MacCrimmon *et al.*, 1983; Rodgers & Beamish, 1983; Turner & Swick, 1983; FAO/PNU/OMS/AIEA, 1986; Clark, 1986, 1992; Allard & Stokes, 1989; Torreblanca *et al.*, 1993; Zillioux *et al.*, 1993; Dixon & Jones, 1994; Porcella, 1994; Oliveira Ribeiro & Torres, 1995; Wren *et al.*, 1995; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996; Raldúa & Pedrocchi, 1996).

A via de entrada do Hg nos peixes depende principalmente da forma química do Hg (orgânica ou inorgânica) e da sua concentração (Oliveira Ribeiro & Torres, 1995), enquanto que a importância das vias de entrada e de acumulação do Hg nos peixes depende do nível trófico, duração e intensidade da exposição ao Hg e de diversos factores ambientais (Zillioux *et al.*, 1993).

A bioacumulação de Hg da água através da pele é mínima (Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996), e o tracto digestivo não aparenta ser uma importante via de entrada do Hg nos peixes a partir da água, pois o Hg inorgânico é fracamente absorvido no intestino (Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996), cuja parede constitui uma barreira efectiva para o Hg inorgânico (Zillioux *et al.*, 1993). Deste modo, as brânquias constituem a principal via de entrada e acumulação de Hg e MeHg a partir da água (Rodgers & Beamish, 1983; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996), sendo estes compostos posteriormente transferidos das brânquias para o sangue e distribuídos pelos diversos tecidos e órgãos corporais (Torreblanca *et al.*, 1993; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996).

Na realidade, os peixes acumulam Hg principalmente através da ingestão do alimento (Abel, 1989; Hornung, 1991), pelo que, na generalidade das espécies, a bioacumulação do Hg ocorre a partir da dieta (Ribeyre & Boudou, 1980; Morales-Nin & Fortuño, 1990; Hornung, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992; Dixon & Jones, 1994; Joiris *et al.*, 1995; Monteiro *et al.*, 1996; Bargagli *et al.*, 1998). De facto, as taxas de bioacumulação do Hg são geralmente superiores quando este poluente é ingerido no alimento, comparativamente às taxas de bioacumulação resultantes do Hg dissolvido na água (Turner & Swick, 1983; Sadiq, 1992; Joiris *et al.*, 1995; Bargagli *et al.*, 1998).

A importância do MeHg no processo de bioacumulação a partir do alimento é reforçada pelo facto da absorção gastro-intestinal do Hg inorgânico ser muito reduzida, da ordem dos 10-20%, enquanto que a absorção gastro-intestinal do MeHg ronda os 90-95% da quantidade ingerida (Ramos *et al.*, S/D; Ribeyre & Boudou, 1980; Torreblanca *et al.*, 1993; Schuhmacher *et al.*, 1994). De facto, de acordo com algumas investigações toxicológicas recentes, a assimilação de MeHg pelos peixes a partir do alimento é 5 a 10 vezes mais eficiente que a assimilação de Hg inorgânico, enquanto que a eliminação do MeHg é 3 vezes mais lenta que a eliminação do Hg inorgânico (Bargagli *et al.*, 1998).

Por estes motivos, as concentrações de Hg nos peixes geralmente reflectem o nível de Hg orgânico no alimento (Francesconi & Lenanton, 1992; Monteiro *et al.*, 1996), sugerindo que a dieta é o principal contribuinte para os níveis de contaminação destes organismos (Kureishy *et al.*, 1979; Denton & Burdon-Jones, 1986; Francesconi & Lenanton, 1992; Sadiq, 1992; Dixon & Jones, 1994; Andersen & Depledge, 1997), e que os principais factores na bioacumulação de Hg nos peixes são os hábitos alimentares e o metabolismo das espécies (Hornung, 1991; Schuhmacher *et al.*, 1994; Andersen & Depledge, 1997).

### 1.5.2 - Principais Factores condicionantes da Bioacumulação do Mercúrio nos Peixes

As condições físico-químicas da água influenciam a biodisponibilidade de Hg para os organismos e os respectivos processos metabólicos, e consequentemente a bioacumulação do Hg (Padberg & May, 1992). Deste modo, a bioacumulação de Hg nos peixes é condicionada pelos níveis ambientais de Hg biologicamente disponível (MacCrimmon *et al.*, 1983), pelo que, quanto maior é a concentração de Hg biodisponível, mais Hg é acumulado nos peixes (Gerlach, 1981). Por outro lado, a bioacumulação do Hg nos peixes é influenciada pela taxa de metilação do Hg no meio marinho (Rudd & Turner, 1983b), ou seja, a concentração de Hg nos peixes depende da disponibilidade de MeHg para a bioacumulação (Rudd *et al.*, 1983).

Além da concentração de Hg e MeHg na água, sedimentos e alimento, a bioacumulação deste elemento nos peixes é influenciada por diversos factores bióticos, nomeadamente as taxas metabólicas e de crescimento, a idade, a longevidade, o tamanho, o sexo, a condição fisiológica, as relações tróficas dos peixes (posição na cadeia alimentar, hábitos alimentares e o tipo de alimento), e factores abióticos como a localização geográfica, profundidade, "upwelling", luminosidade, variações sazonais, temperatura, salinidade, condutividade, dureza e pH da água, e a concentração de outros elementos químicos em solução na água (Rodgers & Beamish, 1981, 1983; MacCrimmon *et al.*, 1983; Rudd *et al.*, 1983; Wren & MacCrimmon, 1983; McMurtry *et al.*, 1989; Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Johnston *et al.*, 1991; O'Sullivan *et al.*, 1991; Padberg & May, 1992; Sadiq, 1992; Diaz *et al.*, 1994; Hudson *et al.*, 1994; Porcella, 1994; Vukadin *et al.*, 1995; Andersen & Depledge, 1997; Bargagli *et al.*, 1998; Cronin *et al.*, 1998).

### 1.5.3 - Factores de Bioconcentração do Mercúrio nos Peixes

O factor de bioconcentração pode ser definido como a razão entre a concentração de poluente num organismo e a concentração na água, assumindo que os indivíduos foram expostos ao poluente durante um período de tempo suficiente longo para ser atingido o estado de equilíbrio. Este parâmetro é geralmente considerado como um indicador válido da capacidade de acumulação de um poluente nos tecidos dos organismos (Abel, 1991).

Diversos estudos referem a ocorrência de elevados factores de bioconcentração de Hg nalguns organismos marinhos, nomeadamente nos peixes (Ramos *et al.*, S/D; Gerlach, 1981; Paasivirta, 1991; Thibaud & Noel, 1991). De facto, e apesar dos níveis de Hg e MeHg nas águas superficiais serem normalmente muito baixos ( $\approx 1$  ng Hg total/L; 0.05 ng MeHg/L), os factores de bioacumulação nos organismos marinhos podem atingir valores extraordinariamente elevados, que em casos extremos podem ser da ordem de  $10^7$  (Horvat *et al.*, 1993b).

#### 1.5.4 - Principais Relações Ecológicas e Funcionais na Bioacumulação do Mercúrio nos Peixes

A contaminação dos peixes apresenta variações espaciais e temporais intimamente relacionadas com a concentração de poluentes no meio marinho (Joiris *et al.*, 1995), pelo que, numerosos estudos revelam variações geográficas nos teores de Hg de diversas espécies, relacionadas com a poluição de origem antropogénica. Contudo, alguns estudos do teor de Hg em organismos de zonas remotas e sem fontes directas de poluição humana revelaram que este elemento é igualmente bioacumulável em ambientes aparentemente não influenciados por fontes antropogénicas de Hg (Gerlach, 1981).

Em relação ao habitat, as espécies costeiras, em particular nas águas contaminadas, contêm geralmente níveis de Hg muito maiores que as espécies oceânicas (Clark, 1986, 1992). Contudo, as concentrações de Hg total das espécies costeiras de baixa profundidade tendem a ser inferiores às concentrações de Hg total das espécies predadoras e com grande longevidade, típicas das profundidades oceânicas (Hornung *et al.*, 1993, 1994; Cronin *et al.*, 1998).

Adicionalmente, os organismos bentónicos e demersais possuem geralmente níveis de Hg mais elevados que os organismos pelágicos, e os carnívoros contêm mais Hg que os planctívoros, herbívoros, omnívoros e detritívoros (Talbot, 1990; Hossain, 1994; Porvari, 1995; Wren *et al.*, 1995), factos que revelam que o habitat, o comportamento alimentar e a dieta influenciam o conteúdo de Hg total dos peixes (Monteiro *et al.*, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992; Vukadin *et al.*, 1995).

Por outro lado, o teor de Hg dos organismos marinhos depende igualmente do tempo de exposição ao poluente e das características biológicas dos exemplares, como a idade, tamanho (peso e comprimento), sexo, hábitos alimentares e variações sazonais (Joiris *et al.*, 1995). Contudo, algumas relações funcionais entre as concentrações de Hg e os principais parâmetros biológicos dos peixes são ainda relativamente pouco compreendidas (Monteiro & Lopes, 1990) ou de difícil interpretação (Dixon & Jones, 1994).

A concentração de Hg nos tecidos dos peixes é altamente variável entre as espécies, dificultando as comparações inter-específicas (Denton & Burdon-Jones, 1986; Barak & Mason, 1990b; Grieb *et al.*, 1990; Talbot, 1990; Abel, 1991; Hornung, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992; Dixon & Jones, 1994), podendo existir também uma grande variabilidade nos teores de Hg a nível intra-específico (Gerlach, 1981; Monteiro & Lopes, 1990; Morales-Nin & Fortuño, 1990; Talbot, 1990; Hornung & Kress, 1991; Monteiro *et al.*, 1991; Tracey, 1993; Andersen & Depledge, 1997). Com efeito, nalguns casos, a concentração média de poluente é afectada pela existência de indivíduos com grandes diferenças nas taxas de crescimento, e mesmo pela existência de indivíduos muito mais velhos e maiores (Abel, 1991), que podem ser capazes de regular mais eficientemente a ingestão, armazenamento e eliminação dos metais (Cronin *et al.*, 1998).

Geralmente, a concentração de Hg varia directamente com os principais parâmetros biológicos dos peixes (idade, peso, comprimento, sexo, condição) (Hildebrand *et al.*, 1980; MacCrimmon *et al.*, 1983; Harakeh *et al.*, 1985; Casadei & Rodrigues, 1986; Chvojka, 1988; Barak & Mason, 1990a; Grieb *et al.*, 1990; Monteiro & Lopes, 1990; Al-Hashimi & Al-Zorba, 1991; Hornung, 1991; Leah *et al.*, 1991a,b, 1992; Monteiro *et al.*, 1991; Cossa *et al.*, 1992; Francesconi & Lenanton, 1992; Sadiq, 1992; De Arams *et al.*, 1993; Hornung *et al.*, 1993; Tracey, 1993; Pieters & Geuke, 1994; Joiris *et al.*, 1995; Palmisano *et al.*, 1995; Bargagli *et al.*, 1998; Cronin *et al.*, 1998), embora existam igualmente alguns estudos que não encontraram uma relação evidente entre o teor de Hg e a idade, o tamanho ou o sexo dos peixes (Ntow & Khwaja, 1989; Joiris *et al.*, 1997).

Visto que a bioacumulação de Hg é um processo cumulativo em função do tempo, o período de exposição a um poluente depende da idade dos organismos (Monteiro *et al.*, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992). Contudo, visto que a idade e o tamanho dos peixes são parâmetros inter-dependentes, por vezes é difícil determinar a importância relativa do período de exposição e do aumento de massa dos tecidos associado ao crescimento (Hildebrand *et al.*, 1980). De facto, as espécies com taxas de crescimento mais rápidas tendem a possuir níveis de Hg mais baixos, devido ao efeito de diluição do Hg nos tecidos, provocado pelo crescimento dos organismos (Rudd *et al.*, 1983; Verta, 1990; Andersen & Depledge, 1997).

De um modo geral, a concentração de Hg nos tecidos dos peixes aumenta com a idade, pelo que normalmente, são os exemplares maiores que possuem os teores de Hg mais elevados. De facto, numerosos estudos revelam que, tanto o Hg total como o Hg orgânico, nomeadamente sob a forma de MeHg, aumentam com a idade e tamanho (peso e/ou comprimento) dos peixes (MacCrimmon *et al.*, 1983; Bodaly *et al.*, 1984; Bernhard, 1985; Casadei & Rodrigues, 1986; Denton & Burdon-Jones, 1986; Perez *et al.*, 1986; Chvojka, 1988; Clark & Topping, 1989; Barak & Mason, 1990b; Marthinsen & Staveland, 1990; Monteiro & Lopes, 1990; Barghigiani *et al.*, 1991; Capelli *et al.*, 1991; Hornung, 1991; Hornung & Kress, 1991; Monteiro *et al.*, 1991, 1996; O'Sullivan, 1991; Thibaud & Noel, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992; Leah *et al.*, 1991a, 1992; Hornung *et al.*, 1993; Tracey, 1993; Pieters & Geuke, 1994; Yan *et al.*, 1994; Davenport, 1995; Joiris *et al.*, 1995; Palmisano *et al.*, 1995; Andersen & Depledge, 1997; Bargagli *et al.*, 1998; Cronin *et al.*, 1998).

No entanto, alguns estudos recentes revelaram a existência de teores de MeHg muito estáveis e teores de Hg total aumentando significativamente com o comprimento dos peixes, significando que o nível de MeHg não varia com o tamanho (ou idade) dos peixes. Estes resultados sugerem a existência de um processo lento de desmetilação, que se reflecte na heterogeneidade das percentagens de MeHg, variando entre valores muito elevados nos indivíduos menores (100%) e valores inesperadamente reduzidos nos indivíduos maiores (10-20%) (Joiris *et al.*, 1995, 1997).

Embora não esteja ainda completamente esclarecido, o sexo dos indivíduos aparenta influenciar a acumulação e a concentração de Hg nos tecidos dos peixes (Nicoletto & Hendricks, 1988; Monteiro & Lopes, 1990; Monteiro *et al.*, 1991; Sadiq, 1992; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996), embora, existam igualmente alguns estudos em que não foram detectadas diferenças significativas nos teores de Hg entre os sexos (Pellegrini & Barghigiani, 1989; Marthinsen & Staveland, 1990).

De um modo geral, os machos tendem a possuir maiores teores de Hg que as fêmeas (Monteiro & Lopes, 1990; Monteiro *et al.*, 1991), embora existam igualmente estudos que referem exactamente o oposto, ou seja, casos em que as fêmeas possuem maiores concentrações de Hg que os machos (Nicoletto & Hendricks, 1988; Monteiro *et al.*, 1991). Este fenómeno tem sido frequentemente atribuído ao crescimento diferencial entre os sexos dos peixes, que faz com que os exemplares do sexo com taxa de crescimento mais rápida possuam menores concentrações de Hg (Monteiro & Lopes, 1990; Monteiro *et al.*, 1991).

### 1.5.5 - Distribuição Corporal do Mercúrio nos Peixes

A bioacumulação do Hg é distinta entre os diversos tecidos e órgãos dos peixes (Hornung, 1991; Palmisano *et al.*, 1995). No entanto, a distribuição e bioacumulação do Hg nos diferentes tecidos dos peixes é altamente variável entre as espécies (MacCrimmon *et al.*, 1983), existindo mesmo algumas espécies que não apresentam uma variabilidade assinalável no teor de Hg dos diversos tecidos e órgãos corporais (Hernández-Hernández *et al.*, 1990).

Após a ingestão do Hg, o seu transporte e distribuição pelos diversos órgãos e tecidos é efectuado pelo sistema circulatório e reflecte o padrão de circulação e distribuição corporal e a sua maior afinidade por tecidos específicos (Rodgers & Beamish, 1981). A distribuição e bioacumulação diferencial de Hg nos diversos órgãos e tecidos depende dos hábitos alimentares das espécies (Hornung, 1991), da forma química e concentração do poluente, do tempo de exposição e das taxas de acumulação, metabolismo e eliminação do Hg nos tecidos (Rodgers & Beamish, 1981; Oliveira Ribeiro & Torres, 1995; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996).

Nos peixes, os maiores níveis de Hg são geralmente acumulados no rim e no fígado, seguidos do músculo, coração, gónadas, cérebro e brânquias (Gutiérrez & Establier, 1979; Buggiani & Vannucchi, 1980; Denton & Burdon-Jones, 1986; Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Hornung, 1991; Bloom, 1992; Dixon & Jones, 1994; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996; Bargagli *et al.*, 1998). Com efeito, as concentrações de Hg nos tecidos dos peixes geralmente acompanham a seguinte ordem decrescente: rim > fígado > músculo (Buggiani & Vannucchi, 1980; Ribeyre & Boudou, 1980; Denton & Burdon-Jones, 1986; Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Ghazaly *et al.*, 1992), pelo que, em termos de bioacumulação do Hg, o rim e o fígado são considerados os principais órgãos críticos (Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996).

Enquanto que o músculo dos peixes não é considerado especializado no armazenamento, metabolismo e desintoxicação de metais (Torreblanca *et al.*, 1993), o fígado possui uma grande capacidade de acumulação e uma reduzida capacidade de eliminação do Hg, desempenhando eventualmente um papel muito activo na desintoxicação deste elemento (Palmisano *et al.*, 1995; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996). O facto do fígado ser um órgão de acumulação preferencial do Hg, está provavelmente relacionado com uma combinação de factores, tais como a distribuição de proteínas específicas, o transporte diferencial de Hg para órgãos particulares e a peculiaridade do transporte do Hg através de determinadas barreiras celulares (Palmisano *et al.*, 1995).

Adicionalmente, os diversos órgãos corporais dos peixes acumulam diferentes formas de Hg, e aparentemente, o fígado tende a acumular preferencialmente o Hg inorgânico, enquanto que o músculo revela pouca afinidade para o Hg inorgânico e tende a acumular preferencialmente o Hg orgânico, sob a forma de MeHg (Bloom, 1992; Sadiq, 1992; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996). De facto, nalgumas espécies, grande parte do Hg total no músculo é MeHg (96%), enquanto que no fígado e gónadas a percentagem de MeHg é usualmente inferior a 50% (Bargagli *et al.*, 1998).

Com efeito, alguns estudos referem que o fígado contém maiores teores de Hg total, mas menores percentagens de MeHg que o músculo, facto que tem sido apontado como um provável mecanismo de desintoxicação do organismo por desmetilação do Hg orgânico no fígado dos peixes (Bernhard & Filippelli, 1991; Bloom, 1992; Francesconi & Lenanton, 1992; Cronin *et al.*, 1998). Deste modo, a longo-prazo, o MeHg é acumulado no músculo, enquanto que o Hg inorgânico é excretado através dos processos metabólicos do fígado do peixe, pelo que, embora a contaminação aguda seja reflectida pelos níveis de Hg no fígado, a acumulação e efeitos tóxicos do MeHg tornam-se evidentes a partir dos níveis no músculo (Padberg & May, 1992).

### 1.6 - Bioamplificação do Mercúrio nas Cadeias Tróficas Marinhas

O Hg é um dos poucos poluentes que exibem bioamplificação (Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996), sendo mesmo o único metal que é consistentemente bioamplificado nas cadeias tróficas marinhas (Mason *et al.*, 1995; Monteiro *et al.*, 1996). De facto, a generalidade dos estudos revelam que o Hg é sucessivamente concentrado das presas para os predadores, ou seja, é consistentemente bioamplificado ao longo dos níveis tróficos das cadeias alimentares marinhas (Reijnders, 1980; Thibaud & Noel, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992; Sadiq, 1992; Branica *et al.*, 1993; Diaz *et al.*, 1994; Palmisano *et al.*, 1995; Monteiro *et al.*, 1996; Ratcliffe *et al.*, 1996; Bargagli *et al.*, 1998).

No processo de bioamplificação, é mais credível que seja principalmente o Hg orgânico a ser transferido ao longo dos sucessivos níveis tróficos (Francesconi & Lenanton, 1992), nomeadamente o MeHg (Mikac *et al.*, 1985; Paasivirta, 1991; Thibaud & Noel, 1991; Sadiq, 1992; Torreblanca *et al.*, 1993; Pieters & Geuke, 1994; Mason *et al.*, 1995; Bargagli *et al.*, 1998), pois diversos estudos confirmam que a bioamplificação do MeHg é muito mais eficiente que a bioamplificação das formas inorgânicas de Hg (Mikac *et al.*, 1985; Mason *et al.*, 1995).

Devido à bioamplificação do Hg ao longo das cadeias tróficas marinhas, diferenças muito reduzidas nas concentrações de Hg na coluna de água e no plâncton implicam a ocorrência de diferenças muito grandes e muitas ordens de magnitude superiores nos organismos superiores (Monteiro & Lopes, 1990; Monteiro *et al.*, 1991). Por este motivo, os maiores níveis de Hg total nos peixes são geralmente registados nos grandes predadores carnívoros e com elevada longevidade, nomeadamente nas espécies pelágicas oceânicas, que constituem os elos terminais das cadeias tróficas marinhas (Bishop, 1983; Casadei & Rodrigues, 1986; Clark, 1986, 1992; Perez *et al.*, 1986; Ackefors *et al.*, 1989; Padberg & May, 1992; Hornung *et al.*, 1994; Porcella, 1994; Davenport, 1995; Ratcliffe *et al.*, 1996; Andersen & Depledge, 1997; Cronin *et al.*, 1998).

Deste modo, os principais problemas provocados pelo Hg no meio marinho derivam da sua assinalável capacidade de bioamplificação ao longo das cadeias tróficas, tornando-se um poluente ambiental perigoso, extremamente tóxico para os organismos marinhos e potencialmente letal para o Homem (Ramos *et al.*, S/D; Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Dixon & Jones, 1994), pois a própria importância toxicológica do Hg é intensificada pelo processo de bioamplificação (Padberg & May, 1992).

### 1.7 - Toxicidade do Mercúrio para os Peixes

O Hg é um elemento químico extremamente tóxico (Sadiq, 1992; Cappon, 1994; Oliveira Ribeiro & Torres, 1995), sendo mesmo considerado o metal pesado mais tóxico (Abel, 1989; Fergusson, 1990; Del Ramo *et al.*, 1993), motivo pelo qual é provavelmente o poluente ambiental mais perigoso, tanto para os organismos marinhos como para os seres humanos (Bishop, 1983).

A toxicidade do Hg depende de vários factores bióticos e abióticos (Del Ramo *et al.*, 1993). Em relação aos factores bióticos, a toxicidade do Hg depende do tipo de organismo (Sadiq, 1992; Zillioux *et al.*, 1993) e é fortemente influenciada pela via de entrada ou forma de administração (Abel, 1989) e pela fase do ciclo de vida, estado de desenvolvimento, idade, sexo e regime ambiental dos organismos (Sadiq, 1992). De um modo geral, a tolerância e a resistência aos compostos de Hg aumentam com a idade e tamanho dos peixes, pois os estados larvares e juvenis são mais sensíveis que os estados adultos (Abel, 1991; Del Ramo *et al.*, 1993; Wren *et al.*, 1995).

Adicionalmente, a toxicidade de um metal para um determinado organismo depende de diversos factores abióticos como a temperatura, salinidade, dureza da água, pH e potencial redox, factores que afectam a sua forma química e biodisponibilidade para os organismos marinhos (Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Sammut, 1991; Sadiq, 1992). De facto, a toxicidade potencial e o efeito biológico do Hg nos organismos marinhos dependem fortemente da sua concentração e forma química (Bishop, 1983; Fergusson, 1990; Sadiq, 1992; Cappon, 1994; Ratcliffe *et al.*, 1996).

As formas orgânicas de Hg são geralmente muito mais tóxicas para os peixes que as formas inorgânicas de Hg (Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990; Sadiq, 1992; Del Ramo *et al.*, 1993; Cappon, 1994; Diaz *et al.*, 1994; Wren *et al.*, 1995). Neste âmbito particular, entre os compostos organomercuriais, o MeHg é a forma com maior interesse do ponto de vista toxicológico (Magalhães, 1980; FAO/PNU/E/OMS/AIEA, 1986) e a forma mais tóxica deste elemento para os organismos marinhos (Magalhães, 1980; Mikac *et al.*, 1985; Clark, 1986, 1992; Padberg & May, 1992; Sadiq, 1992; Del Ramo *et al.*, 1993; Zillioux *et al.*, 1993; Cappon, 1994; Dixon & Jones, 1994; Porcella, 1994; Tahán *et al.*, 1995; Wren *et al.*, 1995; Porcella *et al.*, 1996).

Existe uma variação considerável na forma com que os organismos conseguem regular as concentrações de metais. Os peixes geralmente são capazes de regular os metais essenciais, mas os metais sem função biológica e desnecessários para a actividade metabólica, como o Hg, são muito tóxicos, mesmo em baixas concentrações (Bishop, 1983; Abel, 1989; Clark, 1986, 1992). Contudo, algumas espécies acumulam níveis elevados de Hg sem exibirem sinais de intoxicação e sem ocorrer mortalidade, o que sugere que suportam grandes contaminações de Hg, desde que acumulado em pequenas doses durante um longo período de tempo (Zillioux *et al.*, 1993).

Nos peixes, os principais sintomas de intoxicação aguda por Hg incluem danos na pele, barbatanas e nas brânquias, aumento da frequência dos movimentos respiratórios, rigidez do corpo, abertura das barbatanas, lentidão dos movimentos e perda de equilíbrio (Del Ramo *et al.*, 1993; Zillioux *et al.*, 1993; Oliveira Ribeiro & Torres, 1995; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1995, 1996). Entre os efeitos sub-letais da exposição crónica dos peixes ao Hg, incluem-se interferências no sistema neurológico, alteração do sistema enzimático e da actividade hormonal, lesões cerebrais, cataratas, aumento da susceptibilidade para o parasitismo e doenças, alteração da respiração, coordenação motora anormal e comportamentos erráticos (Bishop, 1983; Del Ramo *et al.*, 1993).

O sistema nervoso é altamente vulnerável à contaminação por Hg (Zillioux *et al.*, 1993), pois mesmo concentrações sub-letais de Hg provocam danos estruturais, fisiológicos e bioquímicos no sistema nervoso dos peixes (Oliveira Ribeiro & Torres, 1995). Os níveis sub-letais de Hg podem causar danos morfológicos e alterações funcionais irreversíveis nos órgãos olfactivos dos peixes, que podem alterar a orientação e a comunicação dos peixes, e afectar a procura de alimento e o reconhecimento de presas e predadores (Zillioux *et al.*, 1993; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1995). Por outro lado, os efeitos sub-letais do Hg na reprodução, desenvolvimento e crescimento dos peixes são muito importantes, pois possuem consequências ecológicas significativas (Abel, 1991). Com efeito, a poluição por Hg tem sido responsável por alguns declínios populacionais e diminuições da diversidade biológica (Zillioux *et al.*, 1993), devido a situações de *stress* por contaminação, com as consequentes alterações genéticas e demográficas (Mulvey *et al.*, 1995).

### **1.8 - Riscos para a Saúde Humana devido ao Consumo de Pescado Contaminado por Mercúrio**

A toxicidade do Hg para os seres humanos é conhecida há séculos (Clark, 1986, 1992) e a toxicidade do MeHg tem sido crescentemente reconhecida ao longo das últimas décadas (Liang *et al.*, 1994b), sendo provavelmente os únicos poluentes introduzidos pelo Homem no oceano que foram directamente responsáveis por mortes humanas (Clark, 1986, 1992).

Durante as últimas décadas, tem sido aplicado um considerável esforço de investigação no estudo e monitorização da poluição dos ecossistemas aquáticos por Hg e da sua bioacumulação nos organismos, principalmente nalgumas espécies de peixes explorados comercialmente, cuja principal justificação é o potencial risco para a saúde humana provocado pela ingestão de pescado contaminado com Hg (Phillips & Gregory, 1979; Bishop, 1983; Hildebrand *et al.*, 1980; Bernhard & Filippelli, 1991; Clark & Topping, 1989; Sadiq, 1992; Monteiro *et al.*, 1996).

Na realidade, como importante fonte alimentar, o pescado constitui a principal via de contaminação e intoxicação humana por Hg (Paasivirta, 1991), contribuindo com a maior parte (cerca de 80%) do Hg ingerido pelo Homem (Bernhard, 1985). Deste modo, e visto que o Hg é extremamente tóxico para o Homem, o consumo de pescado altamente contaminado por Hg, nomeadamente pelas populações com grande consumo de pescado, pode provocar problemas na saúde humana, e consequentemente, possuir fortes implicações em termos de Saúde Pública (Officer & Ryther, S/D; Bernhard, 1985; Monteiro & Lopes, 1990; Johnston *et al.*, 1991; Sadiq, 1992; Svensson *et al.*, 1992; Bahnick, *et al.*, 1994; Porcella, 1994; Mason *et al.*, 1995; Monteiro *et al.*, 1996; Ratcliffe *et al.*, 1996; Sellers *et al.*, 1996; Andersen & Depledge, 1997).

Contudo, na análise desta problemática, é necessário ter em conta que os efeitos do Hg na saúde humana dependem fundamentalmente da sua forma química (Ratcliffe *et al.*, 1996), e que neste âmbito, o pescado constitui uma fonte de exposição e contaminação por MeHg extremamente importante para os consumidores de elevadas quantidades de pescado (Fergusson, 1990; Bernhard & Filippelli, 1991; Ratcliffe *et al.*, 1996). Com efeito, actualmente, a principal forma de exposição humana ao MeHg e virtualmente a sua única fonte alimentar de MeHg, é a ingestão de pescado altamente contaminado com Hg (Clarkson, 1990; Sadiq, 1992; Svensson *et al.*, 1992; Culin & Zvonaric, 1994; Porcella, 1994; Schuhmacher *et al.*, 1994; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996; Raldúa & Pedrocchi, 1996).

#### **1.8.1 - Principais Episódios de Intoxicação Humana provocados pelo Consumo de Pescado Contaminado por Mercúrio**

A toxicidade do Hg é conhecida desde a Idade Média, mas apenas durante este século, mais precisamente no início da década de 50, é que os envenenamentos epidémicos ocorridos no Japão alertaram o público em geral para os elevados riscos de intoxicação humana pelo Hg (Aubert *et al.*, 1984; Fergusson, 1990; Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Bernhard & Filippelli, 1991; Padberg & May, 1992; Sadiq, 1992; Del Ramo *et al.*, 1993; Torreblanca *et al.*, 1993; Schuhmacher *et al.*, 1994; Wren *et al.*, 1995; Raldúa & Pedrocchi, 1996; Watanabe & Satoh, 1996).

O episódio mais divulgado e melhor documentado de grave intoxicação humana provocada por ingestão de pescado altamente contaminado por Hg é a doença de Minamata, no Japão (Officer & Ryther, S/D; Abel, 1989; Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990; Sadiq, 1992; Azcue, 1993; Dixon & Jones, 1994; Harada, 1995; Watanabe & Satoh, 1996). Esta intoxicação afectou principalmente a comunidade piscatória e as respectivas famílias, as quais consumiam quantidades substanciais de pescado contaminado (Ninomiya *et al.*, 1995; Watanabe & Satoh, 1996).

O primeiro caso desta epidemia foi relatado em 1953, e durante 1954 e 1955 foram confirmados, respectivamente 10 e 11 casos da doença (Watanabe & Satoh, 1996). Com efeito, apenas a partir de 1956 é que a doença assumiu proporções epidémicas (Officer & Ryther, S/D; Gerlach, 1981; Paasivirta, 1991; Ratcliffe *et al.*, 1996), altura em que atraiu a atenção das entidades de saúde pública, com o registo de cerca de 80 casos de intoxicação (Fergusson, 1990; Paasivirta, 1991) e que foi oficialmente anunciada pela autoridade de Saúde Pública de Minamata (Harada, 1995; Watanabe & Satoh, 1996).

Apenas durante o período da epidemia, faleceram cerca de 43 pessoas (Clark, 1986, 1992). Entre 1956 e 1958, faleceram 46 dos 116 pacientes registados oficialmente (Gerlach, 1981), e entre 1953 e 1966, faleceram 111 pessoas (Bishop, 1983). Até 1975, foram diagnosticadas 798 vítimas (Officer & Ryther, S/D; Gerlach, 1981), mas em 1977, 2800 pessoas ainda aguardavam a confirmação oficial como pacientes atingidos pela doença de Minamata (Gerlach, 1981).

Até 1991, foram diagnosticados e confirmados mais de 2.000 casos (Ratcliffe *et al.*, 1996), existindo mesmo dados que apontam para um total de 3.000 pacientes com a doença de Minamata (Dixon & Jones, 1994). O número de casos crónicos aumentou gradualmente ao longo do tempo, pelo que, até 1995, dos 2252 pacientes confirmados como doentes de Minamata, 1043 faleceram (Harada, 1995). Na totalidade, mais de 700 vítimas sobreviventes da doença ficaram paralisadas (Schuhmacher *et al.*, 1994) e/ou com deficiências graves e permanentes (Clark, 1986, 1992).

A confirmação da etiologia da doença de Minamata, demorou algum tempo devido ao desconhecimento do agente causal (Ratcliffe *et al.*, 1996). Com efeito, apesar da doença ter surgido em 1953, apenas em 1956 foi diagnosticada como envenenamento por um agente tóxico (não identificado) presente no pescado da Baía de Minamata (Officer & Ryther, S/D; Clark, 1986, 1992; Watanabe & Satoh, 1996), pelo que, no início de 1957, a pesca foi proibida (Gerlach, 1981).

Em definitivo, apenas em 1959, ficou provado que o Hg era o elemento tóxico responsável pela epidemia, e em 1960, que as descargas industriais de Hg por uma indústria de cloreto de vinil na Baía de Minamata, tinham sido responsáveis pela mortalidade (Gerlach, 1981; Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990; Paasivirta, 1991; Bernhard & Filippelli, 1991; Azcue, 1993; Dixon & Jones, 1994; Wren *et al.*, 1995; Ratcliffe *et al.*, 1996; Watanabe & Satoh, 1996). No entanto, apenas em 1968, o governo japonês declarou oficialmente que as descargas industriais de Hg tinham sido responsáveis pela doença (Officer & Ryther, S/D; Ninomiya *et al.*, 1995).

Neste caso a exposição humana aos efeitos tóxicos do Hg foi devida sobretudo à ingestão de pescado altamente contaminado com MeHg (Ratcliffe *et al.*, 1996), pelo que, o acidente de Minamata é actualmente considerado um exemplo clássico de envenenamento humano por MeHg (Clark, 1986, 1992; Watanabe & Satoh, 1996). De facto, o pescado de Minamata continha teores de Hg da ordem dos 10-55 mg/Kg, a maior parte sob a forma de MeHg (Officer & Ryther, S/D; Gerlach, 1981; Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990), níveis considerados suficientes para provocar o envenenamento por MeHg (Watanabe & Satoh, 1996).

As vítimas da doença de Minamata sofreram problemas neurológicos muito graves, que provocaram a morte de indivíduos adultos e crianças expostas *in utero* (Ratcliffe *et al.*, 1996). Os principais sintomas da doença de Minamata eram uma progressiva debilidade muscular e deterioração das actividades cerebrais (Azcue, 1993), bem como a instabilidade emocional, com alternância de momentos de euforia e depressão (Watanabe & Satoh, 1996). Todos os pacientes apresentavam sintomas semelhantes, sendo os mais frequentes, os distúrbios na visão (constricção do campo visual), audição, fala e tacto, problemas na coordenação motora, equilíbrio e andamento (Officer & Ryther, S/D; Gerlach, 1981; Azcue, 1993; Harada, 1995; Ninomiya *et al.*, 1995; Watanabe & Satoh, 1996). Nos casos mais graves, alguns pacientes revelavam ainda cegueira, surdez, convulsões e paralisia, que nalguns casos culminaram em estados de coma e morte (Azcue, 1993; Schuhmacher *et al.*, 1994; Watanabe & Satoh, 1996).

O estudo da doença de Minamata revelou que os estados pré-natais são mais susceptíveis à intoxicação por Hg que os indivíduos adultos (Clarkson, 1990). Durante esta investigação epidemiológica, a doença fetal de Minamata foi detectada em 1958, com 9 casos de crianças com sintomas semelhantes a paralisia cerebral (atraso mental, ataxia, disartria e reflexos primitivos), e em 1974 existiam já 40 casos confirmados desta doença fetal (Watanabe & Satoh, 1996). Em Minamata, mesmo as grávidas sem sintomas ou com fracos sintomas de intoxicação, deram à luz crianças extremamente afectadas (Clarkson, 1990; Watanabe & Satoh, 1996), pois a sua exposição pré-natal ao Hg provocou danos cerebrais muito graves (Clarkson, 1990). Por este motivo, e devido à gravidade do problema, o governo local recomendou a realização de abortos às mulheres grávidas que habitavam na área poluída (Watanabe & Satoh, 1996).

Em 1964-65, ocorreu no Japão um outro caso de envenenamento humano por consumo de pescado altamente contaminado por Hg (posteriormente identificado como MeHg), tendo atingido a comunidade piscatória (e as respectivas famílias) da área de Niigata, na foz do Rio Agano (Cordle, S/D; Gerlach, 1981; Clark, 1986, 1992; Clarkson, 1990; Fergusson, 1990; Paasivirta, 1991; Azcue, 1993; Ratcliffe *et al.*, 1996; Watanabe & Satoh, 1996; Andersen & Depledge, 1997).

Neste episódio, com circunstâncias extremamente semelhantes ao caso de Minamata, (Officer & Ryther, S/D), inicialmente adoeceram cerca de 30 pessoas, 5 das quais vieram a falecer com os mesmos sintomas da doença de Minamata (Gerlach, 1981). No período entre 1965 e 1970, foram ainda registados mais 47 casos desta intoxicação (Officer & Ryther, S/D; Paasivirta, 1991), dos quais resultaram 6 mortes (Paasivirta, 1991).

### **1.8.2 - Principais Efeitos na Saúde Humana provocados pelo Consumo de Pescado Contaminado por Mercúrio**

O Hg exerce diversos efeitos tóxicos ao nível dos sistemas neurológico, neurofisiológico, neurocomportamental e endócrino (Fergusson, 1990; Paasivirta, 1991; Del Ramo *et al.*, 1993; Cappon, 1994; Ratcliffe *et al.*, 1996), pelo que a ingestão de quantidades substanciais de pescado altamente contaminado com Hg pode provocar o surgimento de sintomas toxicológicos, temporários ou permanentes, com consequências sub-letais ou mesmo letais.

O conhecimento da maior parte dos sintomas de intoxicação por Hg derivam do estudo dos episódios epidémicos provocados pela ingestão de pescado contaminado, que ocorreram no Japão, particularmente em Minamata e Niigata (Del Ramo *et al.*, 1993), os quais demonstram de forma inquestionável, a associação entre o consumo de pescado contaminado com Hg e o surgimento de sintomas neurológicos, tanto nos indivíduos adultos como nas crianças expostas *in utero* através das grávidas intoxicadas (Del Ramo *et al.*, 1993; Ratcliffe *et al.*, 1996; Schoen, 1996).

Os principais sintomas neurotóxicos da exposição humana aos compostos orgânicos de Hg, particularmente ao MeHg, são inicialmente a parestesia (perda de sensibilidade circum-oral e nas extremidades dos braços e das pernas), anorexia, apatia, sensação de debilidade e fadiga, e incapacidade de concentração, seguida de ataxia generalizada (perda de coordenação motora), convulsões, distúrbios na fala, audição, visão (constricção do campo visual), cegueira, distúrbios psíquicos e emocionais, que nos casos mais graves culminam em estado de coma e morte (Haxton *et al.*, 1979; Fergusson, 1990; Paasivirta, 1991; Del Ramo *et al.*, 1993; Cappon, 1994; Dixon & Jones, 1994; Wren *et al.*, 1995). No respeitante às funções reprodutivas, alguns estudos apontam para a possibilidade de ocorrência de abortos espontâneos (Ratcliffe *et al.*, 1996).

Aparentemente, existe um período de latência entre a ingestão do MeHg e o aparecimento dos sintomas de intoxicação (Fergusson, 1990), pois a toxicidade do Hg orgânico depende da exposição crónica, ou seja, o perigo de envenenamento por MeHg reside na dose total acumulada durante o período de vida (Clark, 1986, 1992). A eliminação da fonte de contaminação provoca algumas melhorias nos indivíduos com sintomas de intoxicação por Hg, o que contudo não representa uma completa reversibilidade nos danos, pois os efeitos neurológicos podem persistir durante vários anos após a cessação da exposição ao Hg (Ratcliffe *et al.*, 1996) e os danos cerebrais são geralmente irreversíveis (Fergusson, 1990).

O Hg é um potente agente neurotóxico porque o Homem não possui sistemas internos de desintoxicação ou barreiras externas de protecção contra este poluente (Zillioux *et al.*, 1993). Com efeito, o MeHg, atravessa facilmente as membranas biológicas, acumulando-se no interior das células e reagindo directamente com os componentes celulares e nucleares (FAO/PNUE/OMS/AIEA, 1986; Padberg & May, 1992; Zillioux *et al.*, 1993; Dixon & Jones, 1994; Wren *et al.*, 1995). Esta capacidade do MeHg em atravessar as membranas celulares provoca problemas graves nos seres humanos, que possuem um sistema nervoso muito desenvolvido e fetos vulneráveis, pois as barreiras de protecção contra os compostos tóxicos (as barreiras sangue/cérebro e placenta/feto) são ineficazes para o MeHg (FAO/PNUE/OMS/AIEA, 1986).

A elevada capacidade do MeHg em atravessar as barreiras sangue/cérebro e placenta/feto está relacionada com duas propriedades das formas orgânicas de Hg, e particularmente do MeHg, nomeadamente a sua elevada lipossolubilidade e forte bioafinidade para as proteínas dos tecidos. Efectivamente, o MeHg, possui elevada lipossolubilidade (Bodaly *et al.*, 1984; Sammut, 1991; Padberg & May, 1992; Wren *et al.*, 1995), sendo facilmente armazenado nas gorduras dos tecidos (Sammut, 1991). Adicionalmente, o MeHg possui uma forte afinidade para o enxofre dos grupos nucleofílicos das enzimas e dos grupos proteicos, com os quais forma complexos muito estáveis, favorecendo a formação e o transporte de bio-complexos nos fluídos corporais e nas células, e facilitando a penetração do Hg nas membranas biológicas (Bodaly *et al.*, 1984; Thibaud & Noel, 1991; Clark, 1986, 1992; Padberg & May, 1992; Dixon & Jones, 1994; Wren *et al.*, 1995).

Como o MeHg atravessa facilmente a barreira entre os vasos sanguíneos e o cérebro (barreira sangue-cérebro), provoca danos cerebrais progressivos e quase sempre irreversíveis (Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990; Padberg & May, 1992; Zillioux *et al.*, 1993; Dixon & Jones, 1994; Wren *et al.*, 1995), motivo pelo qual, o cérebro e o sistema nervoso central são os órgãos críticos da toxicidade e dos efeitos do Hg, e particularmente dos efeitos destrutivos do MeHg (Fergusson, 1990; Paasivirta, 1991; Del Ramo *et al.*, 1993; Cappon, 1994; Dixon & Jones, 1994). O MeHg induz a desintegração (lise) das células cerebrais (Fergusson, 1990), que provoca focos de necrose neuronal que conduzem a uma atrofia cerebral generalizada (Del Ramo *et al.*, 1993). As principais áreas funcionais do cérebro danificadas pelo MeHg são as zonas responsáveis pelo controlo sensorial, visual, auditivo e da coordenação motora (Fergusson, 1990).

Por outro lado, e tal como foi convincentemente identificado nos casos de envenenamento por Hg ocorridos no Japão, o segmento mais sensível das populações expostas à toxicidade do MeHg são os embriões e os fetos (Marsh *et al.*, 1995; Ratcliffe *et al.*, 1996; Schoen, 1996; Watanabe & Satoh, 1996). De facto, os níveis de Hg registados nas mulheres grávidas e nos respectivos fetos e crianças recém-nascidas revelam que o MeHg atravessa facilmente a barreira placentar e concentra-se nos tecidos dos fetos humanos (Fergusson, 1990; Wren *et al.*, 1995).

Deste modo, o MeHg constitui uma grave ameaça ao normal desenvolvimento do cérebro e do sistema nervoso (Fergusson, 1990; Porcella *et al.*, 1996; Watanabe & Satoh, 1996), provocando interferências na divisão e migração celular dos neurónios, e conseqüentemente, provocando a destruição total da cito-arquitectura cerebral (Clarkson, 1990). Simultaneamente, os efeitos fetotóxicos são devidos à capacidade do Hg em provocar alterações histopatológicas, inclusivé no material genético, podendo causar aberrações cromossómicas (Del Ramo *et al.*, 1993).

De facto, as crianças expostas *in utero*, nascidas de mães vítimas da doença de Minamata, com exposições crónicas e elevadas taxas de ingestão de Hg, registaram diversas malformações e desenvolveram graves distúrbios mentais, incluindo atrasos no desenvolvimento físico e mental (Clarkson, 1990; Fergusson, 1990; Marsh *et al.*, 1995; Tahán *et al.*, 1995; Ratcliffe *et al.*, 1996). Por este motivo, a medição dos níveis de MeHg nas grávidas permite prever a probabilidade de ocorrência de efeitos adversos nos fetos (Clarkson, 1990; Cernichiari *et al.*, 1995; Schoen, 1996), existindo alguns estudos recentes que detectaram efeitos neurológicos mesmo em fetos e crianças recém-nascidas com exposições relativamente reduzidas ao MeHg (Fleming *et al.*, 1995).

Devido à enorme gravidade do problema, após o surgimento e conhecimento da doença de Minamata, foram realizados numerosos estudos sobre os efeitos do Hg na saúde humana (Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Ratcliffe *et al.*, 1996), a maioria dos quais tem incidido sobre as comunidades litorais com grande consumo de pescado (Clarkson, 1990), que são geralmente constituídas pelos pescadores e pelos respectivos agregados familiares (Haxton *et al.*, 1979), considerados cronicamente expostos ao Hg pelo consumo de pescado (Turner *et al.*, 1980).

Contudo, numerosos estudos epidemiológicos realizados no Canadá, Estados Unidos, Peru, Gronelândia, Ilhas Faroe, Suécia, Finlândia, Reino Unido, Alemanha e Espanha, não evidenciaram a existência de associação directa entre os níveis de Hg registados e os efeitos investigados na saúde, não tendo fornecido evidências claras da ocorrência de efeitos neurológicos (Turner *et al.*, 1980; Fox, 1984; Marsh *et al.*, 1995; Cicmanec, 1996; Ratcliffe *et al.*, 1996). No entanto, o facto dos estudos neurológicos não apresentarem sintomas de envenenamento, não permite excluir a hipótese de existência de efeitos sub-clínicos, pois os primeiros sinais de intoxicação humana por Hg nem sempre são muito facilmente detectáveis (Aubert *et al.*, 1984).

### 1.9 - Limites Admissíveis de Contaminação do Pescado por Mercúrio e Limites Toleráveis de Ingestão Humana de Mercúrio

Após os desastres ocorridos no Japão aumentou consideravelmente a preocupação com os riscos de envenenamento humano provocados pela ingestão de pescado contaminado por Hg (Clark, 1986, 1992). Deste modo, devido aos potenciais problemas e riscos para a saúde humana provocados a longo-prazo pela ingestão de pescado contaminado com elevados teores de Hg, diversos organismos internacionais e a generalidade dos países adoptaram legislação específica para a concentração máxima admissível de Hg no pescado (Gerlach, 1981; Clark, 1986, 1992; Sadiq, 1992; Cappon, 1994; Diaz *et al.*, 1994; Tahán *et al.*, 1995; Andersen & Depledge, 1997).

O Grupo de Monitorização Conjunta (JMG) das Comissões de Oslo e Paris (OSPARCOM), através do Programa Conjunto de Monitorização do Hg no *biota*, estabeleceu uma classificação do grau de contaminação do músculo do pescado por Hg, propondo três categorias de classificação: inferior (<0.1 mg Hg/Kg - peso húmido), média (0.1 - 0.3 mg Hg/Kg - peso húmido) e superior (>0.3 mg Hg/Kg - peso húmido) (O'Sullivan *et al.*, 1991; Mathieson & McLusky, 1995).

Em termos dos riscos para a saúde humana provocados pelo consumo de pescado, o padrão sanitário recomendado pelo Grupo de Monitorização Conjunta (JMG) das Comissões de Oslo e Paris (OSPARCOM) é de 0.3 mg Hg/Kg (peso húmido) para o músculo e de 1.0 mg Hg/Kg (peso húmido) para as vísceras, nomeadamente para o fígado (Gerlach, 1981; Journal Officiel des Communautés Européennes, 1982; Clark & Topping, 1989; O'Sullivan *et al.*, 1991; Mathieson & McLusky, 1995). Estes valores padrão correspondem a Objectivos de Qualidade Ambiental (EQO's) propostos pela Comunidade Europeia para o pescado para consumo humano, devendo ser adoptados como concentrações "padrão" ou de "aviso prévio" para o músculo e concentrações "guia" ou de "referência" para o fígado (O'Sullivan *et al.*, 1991; Dixon & Jones, 1994).

Assim, a partir de 1986, a Comunidade Europeia adoptou como Objectivo de Qualidade Ambiental (EQO) para o pescado para consumo humano, um padrão uniforme de 0.3 mg Hg/Kg (peso húmido) para o músculo do pescado (Journal Officiel des Communautés Européennes, 1982). A partir de 1993, a União Europeia adoptou um Nível Genérico de Acção (Decisão da Comunidade 93/351) de 0.5 mg Hg/Kg (peso húmido) nas partes comestíveis do pescado (1.0 mg Hg/Kg, nalgumas espécies listadas) (Collings *et al.*, 1996; Raldúa & Pedrocchi, 1996; Cronin *et al.*, 1998), o qual foi aplicado na legislação da maioria dos países comunitários (Schuhmacher *et al.*, 1994). Do mesmo modo, a Organização Mundial de Saúde (WHO), sugere igualmente como valor de referência, a aplicação de um limite legal de Hg no pescado de 0.5 mg Hg/Kg (peso húmido) (Monteiro & Lopes, 1990; Horvat *et al.*, 1993b; Andersen & Depledge, 1997).

Na sequência das recomendações de diversos organismos e entidades internacionais, a maioria dos países mundiais aprovou legislação relativa aos níveis de tolerância de Hg total nos produtos do pescado para consumo humano, e por diversos motivos, estabeleceram limites legais de Hg total no músculo muito variáveis, com valores compreendidos entre 0.3 e 1.5 mg Hg/Kg (peso húmido) (Gerlach, 1981; Diaz *et al.*, 1994; Tahán *et al.*, 1995).

Em Portugal, ao abrigo do disposto no N.º 1 do Artigo 1.º do Decreto-Lei N.º 3/90 de 3 de Janeiro, de acordo com a Portaria N.º 226/90 de 26 de Março, e tal como adoptado pela Comissão das Comunidades Europeias (Decisão de 11 de Maio de 1993), a tolerância máxima admissível de Hg total na parte edível do pescado é de 1.0 mg Hg/Kg (peso húmido) (Diário da República, 1990).

Contudo, o estabelecimento de limites para os níveis de Hg no pescado pode não ser suficiente para proteger a saúde pública, nomeadamente nalguns grupos de populações litorais, e particularmente nas comunidades piscatórias e respectivos agregados familiares com grande consumo de pescado (Haxton *et al.*, 1979; Clarkson, 1990; Capelli *et al.*, 1991; Bahnick *et al.*, 1994). Adicionalmente, e como factor agravante, alguns consumidores podem ingerir quantidades desproporcionalmente elevadas de pescado, o qual pode possuir níveis de Hg superiores à média. Alguns peritos avisam que, mesmo o limite de 1 mg Hg/Kg no pescado, pode permitir uma elevada ingestão de Hg pelos indivíduos que consomem muito mais pescado que a população média, podendo mesmo atingir os níveis mínimos de Hg clinicamente comprovados como passíveis de envenenamento dos indivíduos mais sensíveis ao MeHg.

Deste modo, no estabelecimento de padrões sanitários e limites legais de contaminação do pescado e na estimação dos riscos para a saúde humana provocados pelo consumo de pescado contaminado por Hg, além da concentração de Hg no pescado, é necessário conhecer o consumo diário ou semanal de pescado pela população, os limites superiores de consumo de pescado (e não apenas os valores médios) e a taxa de ingestão de Hg que provoca o surgimento de sinais clínicos de intoxicação (Officer & Ryther, S/D; Clark, 1986, 1992; Clarkson, 1990).

Através da compilação de dados acerca dos episódios de envenenamento por Hg ocorridos no Japão, a Organização Mundial de Saúde (WHO) concluiu que os efeitos tóxicos do Hg podem começar a manifestar-se, nos adultos mais sensíveis, a partir de longo um período de ingestão contínua de 1.3 - 2.9 mg de MeHg, ou seja, o equivalente a 0.02 - 0.05 mg Hg/Kg de peso corporal (Gerlach, 1981).

Assim, a Organização Mundial de Saúde e diversas entidades nacionais responsáveis pela Saúde Pública recomendam uma ingestão semanal máxima tolerável (para uma pessoa de 70 Kg) de 0.3 mg Hg total/semana, das quais apenas 0.2 mg/semana devem ser na forma de MeHg (Haxton *et al.*, 1979; Gerlach, 1981; Clark, 1986, 1992; Fergusson, 1990; Capelli *et al.*, 1991; Schuhmacher *et al.*, 1994). Este valor corresponde a aproximadamente 0.005 mg Hg total/Kg de peso corporal, limite que é cerca de 10 vezes inferior à ingestão de MeHg considerada suficiente para provocar sintomas de envenenamento por Hg (Gerlach, 1981).

A partir do estudo dos pacientes vítimas da doença de Minamata, foi calculado que a ingestão média diária a longo-prazo associada com efeitos na saúde dos indivíduos adultos mais susceptíveis ao Hg (taxa de ingestão tóxica diária mínima) é de aproximadamente 0.3 mg Hg/dia, presente na dieta sob a forma de MeHg (Cordle, S/D; Officer & Ryther, S/D; Clarkson, 1990), ou seja, o correspondente a cerca de 4.3 µg Hg/dia/kg peso corporal para os adultos em geral e cerca de 0.6 a 1.1 µg Hg/dia/kg peso corporal para as mulheres grávidas (Clarkson, 1990).

No estabelecimento destes padrões toleráveis de consumo para a população em geral é frequente a aplicação de um factor de segurança, normalmente de 10 vezes. Deste modo, a partir de um valor de 0.3 mg Hg/dia para o aparecimento dos primeiros sinais clínicos de intoxicação, o nível máximo de ingestão diária tolerável foi estabelecido em cerca de 0.03 mg MeHg/dia (Cordle, S/D; Officer & Ryther, S/D; Clarkson, 1990; Porcella, 1994), ou seja, o correspondente a cerca de 0.43 µg Hg/dia/kg peso corporal para os adultos em geral (Clarkson, 1990). Outro estudo, da Organização Mundial de Saúde (WHO), obteve valores semelhantes de ingestão segura de Hg, ou seja, uma taxa de ingestão diária de Hg de 0.04 mg Hg/dia de Hg total, dos quais não mais de 0.03 mg Hg/dia devem estar sob a forma de MeHg (Officer & Ryther, S/D; Porcella, 1994).

Apesar de existir ainda muito debate acerca do nível mínimo de contaminação susceptível de provocar danos na saúde humana (Ratcliffe *et al.*, 1996), alguns estudos revelam que 1% da população tem um consumo de pescado cerca de 7 vezes superior à média, que 0.1% da população tem um consumo de pescado próximo do limite tolerável de ingestão diária de Hg recomendado pela Organização Mundial de Saúde (0.43 µg Hg/dia/kg peso corporal), e que os consumidores extremos de pescado podem mesmo exceder este valor limite (Clarkson, 1990).

Perante esta exposição, é possível constatar que o estabelecimento de legislação sobre o nível máximo de Hg admissível no pescado não é um processo completamente satisfatório. Em alternativa, é aconselhável alertar a população que algum pescado pode possuir níveis elevados de Hg, mas que não apresenta grande perigosidade desde que consumido com moderação e em reduzidas quantidades (Gerlach, 1981). Nesta linha de actuação, as autoridades sanitárias de alguns países da OCDE recomendam que o pescado com teores de Hg situados entre 0.5 e 1.0 mg Hg/Kg (peso fresco) apenas seja consumido com intervalo de duas semanas, e que o pescado com teores de Hg superiores a 1.0 mg/Kg não seja mesmo consumido (Paasivirta, 1991).

### 1.10 - Objectivos do Estudo

Um dos objectivos do presente estudo é a análise e quantificação dos teores de Hg total nos tecidos comestíveis (músculo, fígado e gónadas) do peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo*) e o estabelecimento de eventuais relações funcionais entre os teores de Hg total e os principais parâmetros biológicos dos exemplares.

Por outro lado, através da comparação dos teores de Hg total registados nos tecidos comestíveis dos exemplares com os limites admissíveis de contaminação do pescado por Hg, este estudo pretende igualmente a determinação do grau de contaminação por Hg dos exemplares desta espécie e avaliação das suas potenciais implicações em termos de Saúde Pública.

## 2 – CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE E IMPORTÂNCIA DO RECURSO PESQUEIRO

Apesar da elevada importância económica que a pescaria do peixe-espada-preto assume na Região Autónoma da Madeira, e mesmo em determinadas zonas do continente português, nomeadamente na área de Sesimbra, esta espécie é ainda relativamente desconhecida e desvalorizada, principalmente no estrangeiro, onde não é conhecida qualquer pescaria comercial dirigida a esta espécie, nomeadamente para o consumo humano.

Por este motivo, e igualmente devido à existência de relativamente poucos estudos acerca do peixe-espada-preto, são seguidamente apresentadas as principais características biológicas e ecológicas desta espécie, e mencionada a sua elevada importância sócio-económica no contexto global das pescarias da Região Autónoma da Madeira.

### 2.1 - Classificação Taxonómica

O peixe-espada-preto foi descrito em 1839 pelo naturalista britânico Richard Thomas Lowe, que adoptou para esta espécie a denominação científica de *Aphanopus carbo* (Nunes, 1974; INIP, 1980; Drummond, 1985; Leite, 1988, 1989). A designação *Aphanopus*, que provém do grego "pé não visível", é devida ao facto da espécie não possuir barbatanas ventrais, enquanto que a designação *carbo* deve-se, obviamente, à coloração negra e uniforme, exibindo apenas uns ligeiros reflexos prateados e dourados através da pigmentação negra (Nunes, 1974).

A posição sistemática do peixe-espada-preto, proposta por Hureau & Monod (1973) e por Nelson (1976), é a seguinte:

Classe: *Osteichthyes*  
 Ordem: *Perciformes*  
 Sub-Ordem: *Trichiuroidei*  
 Família: *Trichiuridae*  
 Sub-Família: *Lepidopidae*  
 Género: *Aphanopus*  
 Espécie: *Aphanopus carbo*, Lowe, 1839

Na bibliografia da especialidade, podem ainda ser encontradas outras designações científicas para o peixe-espada-preto, nomeadamente: *Aphanopus acus* Maul, 1948 (Parin, 1986; Sanches, 1989, 1991) e *Aphanopus micropthalmus* Norman, 1939 (Parin, 1986; Sanches, 1989).

Nomes comuns: Português: peixe-espada-preto ou espada-preto (Sanches, 1986, 1989; ICN, 1993); Inglês: black scabbard fish (Templeman & Squires, 1963; Bone, 1971; Parin & Becker, 1979; Parin, 1986; Leite, 1988, 1989; Martins *et al.*, 1989b; Sanches, 1989, 1991; Morales-Nin & Carvalho, 1996); Francês: sabre noir (Bauchot & Pras, 1980, 1982; Parin, 1986; Sanches, 1989, 1991); Espanhol: sable negro (Parin, 1986; Sanches, 1989, 1991).

### 2.2 - Morfologia da Espécie

Os exemplares da espécie *Aphanopus carbo* Lowe, 1839, apresentam uma forma bastante alongada e comprimida lateralmente (Nunes, 1974; Sanches, 1991) (Figura 2.1). Ao longo dos flancos observa-se nitidamente a linha lateral (Nunes, 1974; Bauchot & Pras, 1980, 1982), a qual desce suavemente desde a parte superior do opérculo, até atingir uma posição médio-lateral (Parin, 1986; Sanches, 1991).

O perfil da cabeça é recto, subindo ligeiramente desde a boca até à origem da barbatana dorsal (INIP, 1982; Parin, 1986; Martins *et al.*, 1987; Sanches, 1991). O corpo termina numa pequena barbatana caudal bifurcada (homocérquica) (Castejon, 1978; Parin, 1986; Sanches, 1991), suportada por um pedúnculo caudal muito fino (Bone, 1971; Nunes, 1974).

A barbatana dorsal estende-se ao longo de todo o corpo, sendo bastante baixa e dividida em duas partes de comprimentos semelhantes (Nunes, 1974; Parin, 1986), com recorte a separar a parte espinhosa da parte mole (Bauchot & Pras, 1980, 1982; Parin, 1986; Sanches, 1991; Saldanha, 1995).

A barbatana anal tem uma base muito mais curta que a anterior, ficando a sua origem localizada em posição posterior à divisão da barbatana dorsal (Nunes, 1974). Os exemplares apresentam dois espinhos, um dos quais é maior e mais forte, em posição posterior à abertura anal (Nunes, 1974; Castejon, 1978; Bauchot & Pras, 1980, 1982; INIP, 1982; Fernandes, 1984; Parin, 1986; Martins *et al.*, 1987; Sanches, 1991; Saldanha, 1995). Os indivíduos adultos não possuem barbatanas pélvicas (Nunes, 1974; Bauchot & Pras, 1980, 1982; INIP, 1982; Parin, 1986; Martins *et al.*, 1987; Sanches, 1991).

Os exemplares possuem pele lisa, completamente desprovida de escamas, com cor acobreada com reflexos metálicos ou irisdicentes enquanto vivo, e cor negra depois de morto (Nunes, 1974; Bauchot & Pras, 1980, 1982; INIP, 1982; Parin, 1986; Martins *et al.*, 1987; Sanches, 1991; Saldanha, 1995). Os olhos são grandes e característicos das espécies que habitam as profundidades abissais (Nunes, 1974).

A boca é de grandes dimensões e ambas as mandíbulas são armadas com dentes grandes, fortes e afiados (Nunes, 1974; INIP, 1982; Martins *et al.*, 1987; Leite, 1988, 1989; Sanches, 1991). Os indivíduos possuem vários dentes fortes na extremidade do maxilar superior e uma série de dentes laterais, mais pequenos e pontiagudos, em ambos os maxilares (Sanches, 1991).

O tamanho dos exemplares de peixe-espada-preto, quando adultos, ronda os 110-120 cm de comprimento (Nunes, 1974; Bauchot & Pras, 1980, 1982; Parin, 1986; Sanches, 1991), podendo atingir os 150 cm de comprimento total (Saldanha, 1995). O tamanho máximo e o intervalo de comprimentos dos exemplares normalmente capturados na Região Autónoma da Madeira (90-151 cm) (Morales-Nin & Carvalho, 1996), é geralmente superior ao registado na pescaria continental dirigida a esta espécie (72-134 cm) (Martins *et al.*, 1989a, 1990).

De um modo geral, os machos predominam nos comprimentos inferiores e as fêmeas predominam nos comprimentos superiores (Morales-Nin & Carvalho, 1996), pois normalmente as fêmeas atingem dimensões superiores às dos machos (INIP, 1982, 1984a,b,c; Martins *et al.*, 1987; Morales-Nin & Carvalho, 1996).

Não existe qualquer possibilidade de confusão com outras espécies da mesma Família, visto que o *Aphanopus carbo* Lowe, 1839 é a única espécie de cor negra (Martins *et al.*, 1987).

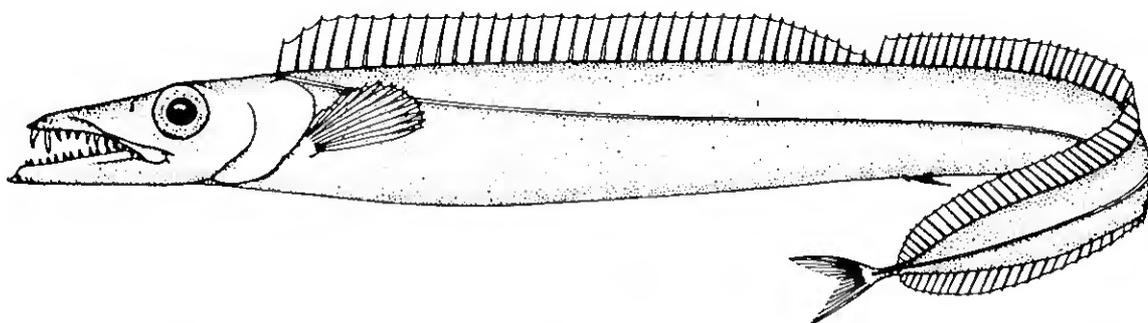


Figura 2.1 - Representação esquemática de um exemplar de peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839) (PARIN, 1986).

### 2.3 - Biologia da Espécie

A biologia do peixe-espada-preto é relativamente pouco conhecida (Martins *et al.*, 1987). Deste modo, nesta área as afirmações devem ser feitas com cautela, quer pelas características do habitat, quer pela relativa escassez de informação disponível acerca de diversos parâmetros da biologia desta espécie.

Em primeiro lugar, a investigação biológica relativa a esta espécie é limitada pelo facto de raramente serem capturados exemplares de reduzidas dimensões, e particularmente, por nunca terem sido capturados exemplares juvenis (Nunes, 1974; Fernandes, 1984; INIP, 1984a,b,c; Leite, 1988, 1989; Martins *et al.*, 1989a,b, 1990). Com efeito, raramente são capturados indivíduos com menos de 90 cm de comprimento, e mesmo quando tal acontece, por praticamente não possuírem valor comercial, os exemplares de menores dimensões são rejeitados ao mar ou consumidos pelos próprios pescadores (Morales-Nin & Carvalho, 1996).

A distribuição das formas larvares e juvenis desta espécie em águas portuguesas (continentais e insulares) é desconhecida (Martins *et al.*, 1989a; Morales-Nin & Carvalho, 1996), e os únicos dois indivíduos juvenis conhecidos, foram encontrados nos conteúdos estomacais de dois exemplares de peixe-água (*Alepisaurus ferox*), capturados ao largo do Arquipélago da Madeira (Nunes, 1974; Leite, 1988, 1989; Morales-Nin & Carvalho, 1996).

Tal como acontece na maioria dos peixes, o peixe-espada-preto apresenta os sexos separados, embora externamente não exista dimorfismo sexual, pelo que é impossível distinguir o sexo dos indivíduos apenas com base na morfologia externa (Fernandes, 1984). Relativamente à composição sexual (*sex-ratio*), apesar de uma relativa variação mensal, diversos estudos efectuados indicam uma nítida predominância do número de fêmeas relativamente ao número de machos durante a maioria do ano (INIP, 1982, 1984a,b,c; Morales-Nin & Carvalho, 1996), excepção feita ao período de desova, durante o qual o *sex-ratio* é muito equilibrado (aproximadamente 50% de ambos os sexos) (Morales-Nin & Carvalho, 1996).

Nas áreas de pesca circundantes do arquipélago da Madeira, o ciclo reprodutor do peixe-espada-preto apresenta uma periodicidade anual (Martins *et al.*, 1987). Diversos autores sugerem que estas águas constituem uma área de desova para esta espécie (Leite, 1988, 1989; Martins *et al.*, 1989a,b; Morales-Nin & Carvalho, 1996), a qual ocorre principalmente entre os meses de Outubro e Dezembro, com o pico de desova situado durante o mês de Novembro (Nunes, 1974; Carvalho, 1985; Martins *et al.*, 1987, 1989a,b, 1990, 1992; Morales-Nin & Carvalho, 1996).

Os hábitos alimentares do peixe-espada-preto são relativamente pouco conhecidos (INIP, 1980; Drummond, 1985), pelo que, sobre a alimentação desta espécie, não podem ser feitas afirmações muito específicas (Nunes, 1974). Com efeito, devido à rápida descompressão sofrida aquando da alagem até à superfície, o estômago vira-se de dentro para fora, sendo expelido pela boca, empurrado pela bexiga gasosa que sofreu forte dilatação (Nunes, 1974; Howe *et al.*, 1980; INIP, 1980, 1984c; Carvalho, 1985), fenómeno que provoca a perda total (ou quase total) dos conteúdos estomacais, impossibilitando a sua análise (Nunes, 1974; INIP, 1980; Carvalho, 1985).

Contudo, o facto de frequentemente serem encontrados bicos de cefalópodes presos nas dobras da parede interna do estômago, bem como as marcas das suas ventosas em torno da boca, permite afirmar que estes organismos desempenham um papel importante na dieta alimentar do peixe-espada-preto (Nunes, 1974; INIP, 1980; Carvalho, 1985). De facto, alguns autores referem que esta espécie alimenta-se basicamente de cefalópodes (Howe *et al.*, 1980; Parin, 1986).

Por outro lado, o facto do isco tradicional (o isco mais utilizado e mais eficaz) na pesca do peixe-espada-preto serem as potas capturadas localmente, nomeadamente as espécies *Ommastrephes pteropus*, *Ommastrephes caroli* e *Todarodes sagittatus* (INIP, 1980, 1982; Carvalho, 1985; Drummond, 1985), contribui igualmente para a confirmação de que os cefalópodes constituem uma fonte muito importante da dieta alimentar desta espécie. Com efeito, em diversos lances de pesca exploratória foram testados vários tipos de isco, tendo as maiores eficácias de captura pertencido aos aparelhos de pesca iscados com cefalópodes (*Ommastrephes pteropus*, *Ommastrephes bartrami* e *Illex illecebrosus*) (INIP, 1984b,c; Leite, 1988, 1989).

Embora raramente, têm sido encontradas no estômago desta espécie, escamas de peixes, e preso na sua dentição, um camarão de grandes dimensões (*Penaeus edwardsius*), facto que leva a concluir que a alimentação do peixe-espada-preto é complementada pela ingestão de peixes e crustáceos de profundidade (Nunes, 1974; Carvalho, 1985). Este fenómeno é confirmado por Parin (1986), que refere que a alimentação desta espécie é constituída principalmente por cefalópodes, peixes e crustáceos.



Durante muito tempo, a determinação da idade e crescimento dos exemplares de peixe-espada-preto foi inviabilizada por diversas dificuldades encontradas na leitura e interpretação dos otólitos, nomeadamente devido às suas reduzidas dimensões, fragilidade, opacidade e crescimento geralmente irregular, com alternância de faixas largas com outras mais estreitas (INIP, 1982).

No entanto, um estudo recente dos otólitos do peixe-espada-preto revelou que esta espécie possui um crescimento relativamente rápido, apresentando os machos uma taxa de crescimento ligeiramente mais lenta que as fêmeas. A taxa de crescimento desta espécie é semelhante à da generalidade dos triquiorídeos, embora relativamente mais lenta, provavelmente devido à sua ocorrência em águas com maiores profundidades. A longevidade média do peixe-espada-preto foi calculada em cerca de 8 anos, não existindo, aparentemente, diferenças na idade máxima atingida por ambos os sexos (Morales-Nin & Carvalho, 1996).

#### 2.4 - Distribuição Geográfica da Espécie

O peixe-espada-preto possui uma distribuição geográfica bastante vasta, estando presente em praticamente todos os oceanos (INIP, 1982; Drummond, 1985; Parin, 1986; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992; Batista *et al.*, 1989; Morales-Nin & Carvalho, 1996).

De facto, esta espécie é conhecida e comum em diversas zonas dos Oceanos Atlântico (NE e NW) e Pacífico (NW) (Parin & Becker, 1979; Howe *et al.*, 1980; INIP, 1982; Drummond, 1985; Parin, 1986; Leite, 1988, 1989; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992), do Oceano Índico (Drummond, 1985; Parin, 1986; Leite, 1988, 1989) e do Mar Mediterrâneo (Nunes, 1974).

No Oceano Pacífico, a existência de peixe-espada-preto foi já referida ao largo do Japão (Parin & Becker, 1979; INIP, 1982; Leite, 1988, 1989; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992) e em diversos locais dos E.U.A. (Leite, 1988, 1989), nomeadamente no Oregon, Califórnia, Estreito Juan de Fuca e no Hawaii (Howe *et al.*, 1980).

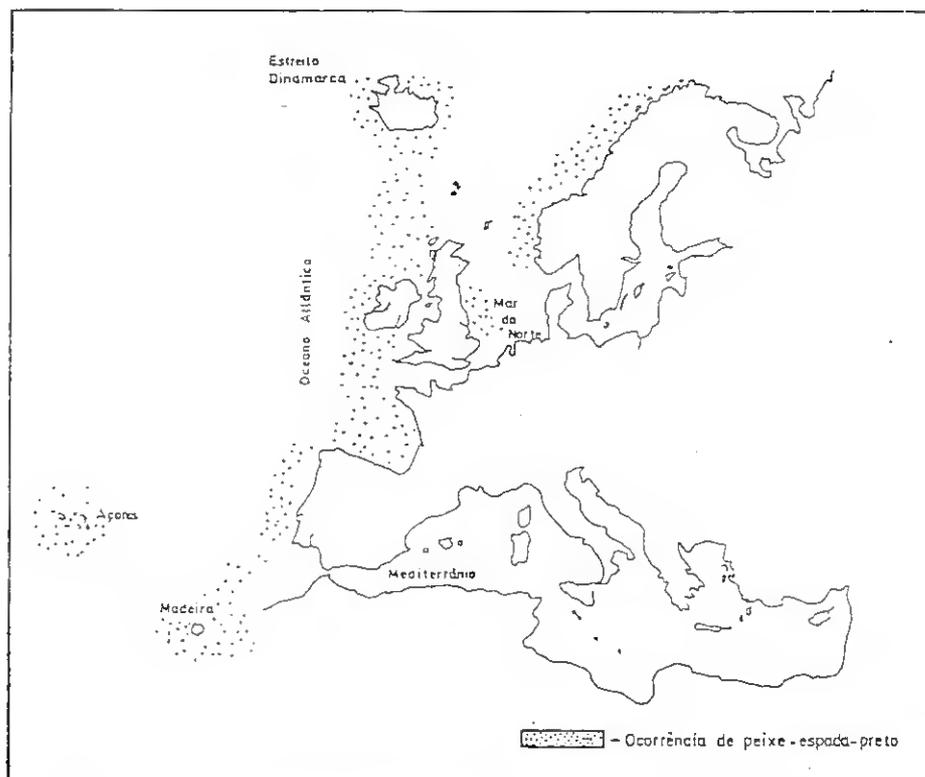
No Atlântico NW, esta espécie já foi capturada na Nova Escócia e na Terra Nova (Canadá) (Templeman & Squires, 1963), encontrando-se igualmente presente no Golfo de Aden (Templeman & Squires, 1963; Parin & Becker, 1979; INIP, 1982; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992).

No Atlântico NE, nomeadamente nas áreas mais a norte, o peixe-espada-preto existe na Groenlândia e Ilhas Faroé (Templeman & Squires, 1963; Leite, 1988, 1989), Islândia (Templeman & Squires, 1963; Parin & Becker, 1979; Parin, 1986; Leite, 1988, 1989), Noruega (Templeman & Squires, 1963; Parin & Becker, 1979; INIP, 1982; Parin, 1986; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992), Mar do Norte (Leite, 1988, 1989) e Estreito da Dinamarca (Templeman & Squires, 1963; Parin & Becker, 1979; INIP, 1982; Drummond, 1985; Parin, 1986; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992).

Esta espécie ocorre igualmente nas Ilhas Britânicas e bancos de pesca circundantes (Templeman & Squires, 1963; Bone, 1971; Parin & Becker, 1979; INIP, 1982; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992), Escócia (Templeman & Squires, 1963; Parin & Becker, 1979; INIP, 1982; Drummond, 1985; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992) e Irlanda (Nunes, 1974; INIP, 1982; Drummond, 1985; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992).

Ainda no Atlântico NE, o peixe-espada-preto foi já capturado na área do Golfo da Biscaia (Bone, 1971) e em Espanha (Templeman & Squires, 1963; Parin & Becker, 1979; INIP, 1982; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992). Em Portugal, esta espécie localiza-se principalmente nas zonas do talude da ZEE continental, de Caminha a Portimão (Martins *et al.*, 1987, 1990), e nos arquipélagos dos Açores e da Madeira, estendendo-se até às Ilhas Desertas e Selvagens (INIP, 1982; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992; Leite, 1988, 1989) (Figura 2.2).

O peixe-espada-preto foi já igualmente referido no Oceano Atlântico tropical e sub-tropical (Parin, 1986), nomeadamente no Sahara Ocidental, Serra-Leoa, Congo, Angola, Namíbia (Parin, 1990) e Guiné-Bissau (Sanches, 1991).



**Figura 2.2** - Distribuição geográfica do peixe-espada-preto no Atlântico NE (MARTINS *et al.*, 1989a).

### 2.5 - Distribuição Batimétrica da Espécie

A abundância de peixe-espada-preto possui aparente variação em função das condições atmosféricas e correntes submarinas, verificando-se igualmente que a sua profundidade de ocorrência varia com a intensidade luminosa à superfície (Fernandes, 1984), motivo provável das suas migrações verticais até meia-água durante a noite (Parin, 1986).

Tal como a maioria dos triquirióideos, o peixe-espada-preto é uma espécie batipelágica que habita principalmente no declive da plataforma continental, distribuindo-se entre os 160 e 1800 metros de profundidade (Parin & Becker, 1979; INIP, 1982; Parin, 1986; Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1990, 1992; Saldanha, 1995). Alguns outros autores referem um intervalo de batimetrias ligeiramente menor, compreendido sensivelmente entre os 200 e os 1600 metros de profundidade (Bauchot & Pras, 1980, 1982; Parin, 1986; Sanches, 1991; Morales-Nin & Carvalho, 1996). Convém ainda referir que esta espécie raramente ocorre a menos de 50-100 metros do fundo, concentrando-se na proximidade de fundos com acentuado declive (Leite, 1988, 1989).

Aparentemente, no Oceano Atlântico, a distribuição batimétrica do peixe-espada-preto aumenta de norte para sul, ocorrendo a profundidades desde 100-150 metros até 800-1000 metros nas zonas mais a norte, e entre os 600 e 2000 metros de profundidade nas regiões mais a sul (Leite, 1988; 1989). Com efeito, em zonas mais a norte, esta espécie foi já capturada a profundidades relativamente reduzidas, nomeadamente nos E.U.A. (140-180 m) (Howe *et al.*, 1980) e nas Ilhas Britânicas (180 m) (Templeman & Squires, 1963).

Na costa continental portuguesa as capturas desta espécie são efectuadas normalmente entre os 800 e 1500 metros, tendo sido já realizados lances até 1800 metros de profundidade (Martins *et al.*, 1987, 1989a,b, 1990, 1992). No entanto, o intervalo de distribuição batimétrica desta espécie nas águas continentais é muito mais restrito do que nas águas do Arquipélago da Madeira (Morales-Nin & Carvalho, 1996).

Nas águas do Arquipélago da Madeira (32°-36°N, 13°-18°W), a profundidade de ocorrência do peixe-espada-preto situa-se normalmente entre os 600 e 1500 metros profundidade (Drummond, 1985), com uma maior abundância na camada preferencial de ocorrência, compreendida, em média, entre os 800 e 1300 metros de profundidade (INIP, 1980, 1982, 1984a,b,c; Carvalho, 1985; Drummond, 1985; Leite, 1988, 1989; Martins *et al.*, 1990; Morales-Nin & Carvalho, 1996).

## 2.6 - Principais Áreas de Pesca

As principais áreas de pesca do peixe-espada-preto na ZEE da Região Autónoma da Madeira correspondem às zonas situadas na proximidade das Ilhas da Madeira, Porto Santo, Desertas e Selvagens, bem como aos pesqueiros circundantes, nomeadamente os bancos de pesca Seine, Leão, Unicórnio, Ampère, Dragão e Susana (Figura 2.3) (Carvalho, 1985).

No entanto, a frota de pesca madeirense opera com maior incidência nos bancos de pesca Leão e Unicórnio, devido à maior regularidade das respectivas topografias de fundo, e logo, ao menor risco de perda de aparelhos de pesca (Leite, 1988, 1989).

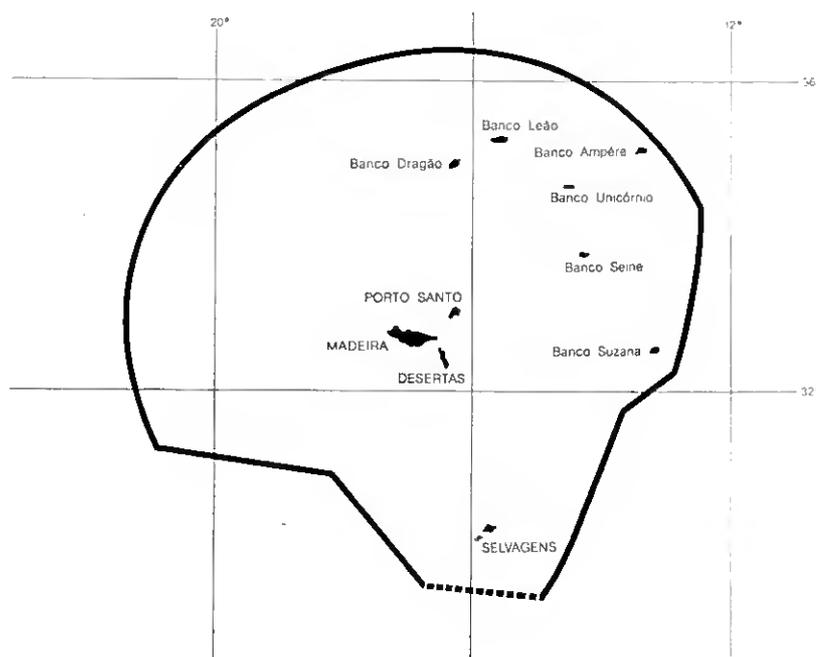


Figura 2.3 - Localização geográfica das principais áreas de pesca de peixe-espada-preto na Região Autónoma da Madeira (sub-área 2 da ZEE) (CARVALHO, 1985).

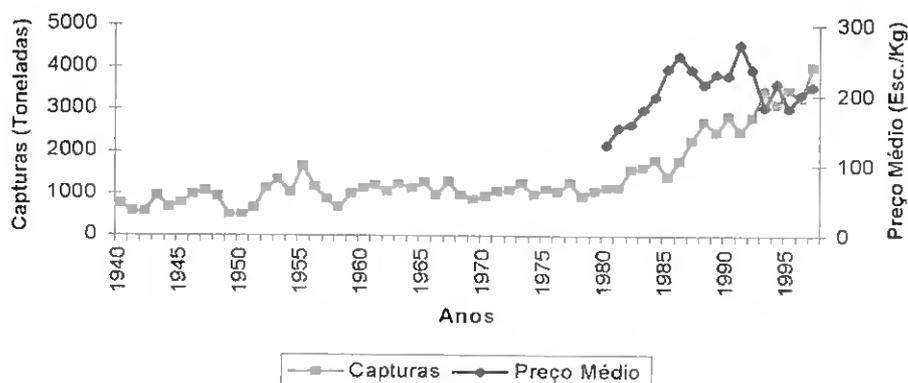
## 2.7 - Importância Sócio-Económica do Recurso Pesqueiro

A nível de exploração comercial, a principal pescaria mundial de peixe-espada-preto ocorre nas águas da Região Autónoma da Madeira (Drummond, 1985). Com efeito, apenas na Madeira, e mais recentemente na costa continental portuguesa, com descargas no porto de Sesimbra, existe uma pescaria comercial dirigida ao peixe-espada-preto (Drummond, 1985; Parin, 1986; Martins *et al.*, 1987, 1989a,b, 1990, 1992; Batista *et al.*, 1989; Morales-Nin & Carvalho, 1996).

No Arquipélago da Madeira esta actividade piscatória remonta ao século passado, encontrando-se profundamente enraizada na Vila de Câmara de Lobos (Nunes, 1974; INIP, 1980; Carvalho, 1985; Drummond, 1985; Leite, 1988, 1989; Morales-Nin & Carvalho, 1996). Trata-se de uma actividade predominantemente artesanal, exercida fundamentalmente por pescadores oriundos da referida localidade, e praticada em embarcações tradicionais de reduzidas dimensões, que utilizam como arte-de-pesca o palangre horizontal derivante (Leite, 1988, 1989).

Pelo contrário, na ZEE continental, a pesca dirigida ao peixe-espada-preto iniciou-se apenas em 1983, tendo-se registado, desde então, um aumento considerável na frota que opera nesta pescaria (Martins *et al.*, 1987, 1989a, 1992; Batista *et al.*, 1989). No território continental, a quase totalidade dos desembarques de peixe-espada-preto ocorre em Sesimbra, representando cerca de 99% do total das capturas continentais desta espécie (Batista *et al.*, 1989).

Na Região Autónoma da Madeira, a pesca do peixe-espada-preto assume uma importância sócio-económica preponderante no contexto global das pescas, particularmente quando comparada com o restante volume de capturas. Com efeito, as capturas deste recurso têm vindo a aumentar progressivamente ao longo do tempo, pelo que, nas últimas décadas, o peixe-espada-preto tem assumido uma grande importância na alimentação da população local (Leite, 1988, 1989), tendo as suas capturas ultrapassado as 4.000 toneladas no final da década de 90 (Figura 2.4), correspondendo a cerca de 30% do total do pescado desembarcado nesta região.



**Figura 2.4** - Volume de capturas e preço médio do peixe-espada-preto na Região Autónoma da Madeira (Dados: DSEIP/RAM, s/d; GEPP, 1991, 1992, 1993; DGP, 1994, 1997; INE, 1997, 1998).

A importância sócio-económica desta actividade assume ainda maior relevância se atendermos ao facto da população directamente dependente da pesca ser numericamente muito significativa, visto que, por razões sócio-culturais, as comunidades piscatórias integram geralmente agregados familiares muito numerosos (Carvalho, 1985).

Finalmente, resta ainda referir que, apesar de ser uma espécie relativamente desconhecida e nalguns casos desvalorizada, devido à sua vasta distribuição geográfica e elevada qualidade em termos nutricionais, o peixe-espada-preto, tal como a maioria das espécies da Família Trichiuridae, possui um elevado potencial de exploração pesqueira comercial em diversas regiões do Mundo (Geistdoerfer, 1982; Morales-Nin & Carvalho, 1996).

De facto, a sobre-exploração de algumas espécies costeiras tradicionais e a extensão dos limites de pesca nacionais têm provocado um nítido aumento da procura e exploração de bancos de pesca mais profundos (200 - 1500 metros), sendo capturadas novas espécies de peixes de profundidade, as quais são progressivamente introduzidas nos mercados (Geistdoerfer, 1982). Com efeito, actualmente assiste-se a um aumento do interesse na exploração pesqueira dos *stocks* de peixes de profundidade, como potenciais fontes proteicas para a alimentação humana (Davenport, 1995; Monteiro *et al.*, 1996; Cronin *et al.*, 1998), os quais podem constituir um complemento às capturas disponibilizadas pelas espécies costeiras tradicionalmente exploradas (Cronin *et al.*, 1998).

### 3 – MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 - Amostragem

A amostragem é uma etapa crucial, pois a qualidade dos dados de um estudo ambiental está inerentemente relacionada com a qualidade do processo de amostragem (Grimalt, 1989b). O planeamento de qualquer estratégia de amostragem de organismos marinhos, significativa e representativa, envolve a definição de diversos parâmetros de amostragem, nomeadamente a época ou altura da amostragem, o tamanho da amostra, o tamanho dos exemplares e o tipo de tecidos dos organismos a amostrar (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990).

A estratégia de amostragem adoptada no presente estudo visou a obtenção de amostras de músculo, fígado e gónadas de exemplares de peixe-espada-preto (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839), com diferentes proveniências em termos do local de captura, e incluindo indivíduos da maior gama de tamanho possível e com *sex-ratio* equilibrado (número de machos e fêmeas aproximado).

Nos estudos de bioacumulação de Hg total em peixes, a amostragem apenas necessita de abranger o tecido muscular, embora, devido à sua elevada capacidade de acumulação de Hg, o fígado seja também frequentemente sujeito a amostragem (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990). No presente estudo, a amostragem de músculo, fígado e gónadas, está obviamente relacionada com o facto destes tecidos constituírem as principais partes comestíveis do peixe-espada-preto, embora no caso do fígado, a inclusão deste órgão na alimentação humana assuma um carácter pontual e excepcional, ocorrendo principalmente ao nível das comunidades piscatórias locais. Por outro lado, a selecção do músculo, fígado e gónadas, pretendeu igualmente estudar a distribuição dos teores de Hg nestes tecidos e órgãos dos exemplares de peixe-espada-preto.

O período de amostragem biológica dos exemplares de peixe-espada-preto decorreu entre 15 e 28 de Janeiro de 1997. No presente caso, visto que não existe um padrão de pescaria sazonal para esta espécie, a amostragem pôde decorrer em qualquer altura do ano, e a curta duração do período de amostragem destina-se a assegurar uma imagem o mais sinóptica possível do estado de contaminação do recurso, bem como a garantir que todos os indivíduos se encontram num estado fisiológico aproximadamente semelhante (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990).

Durante o período de amostragem, foram amostrados 63 exemplares de peixe-espada-preto, capturados com palangre horizontal derivante por embarcações de pesca comercial dirigida a esta espécie, ao largo de diversas localidades da Ilha da Madeira, nomeadamente, Câmara de Lobos, Paúl do Mar, Porto Moniz, Ponta do Pargo e Ponta da Cruz. Estes exemplares foram adquiridos em lota, pois nos estudos de avaliação do nível de contaminação por Hg total de uma espécie comercial, as amostras devem ser obtidas no local de comercialização ao público em geral (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990).

Foi dispendido um considerável esforço de amostragem na obtenção de exemplares de peixe-espada-preto com um intervalo de comprimentos o mais alargado e abrangente possível, pois o tamanho dos exemplares amostrados deve cobrir o maior intervalo de comprimentos disponível, por forma a abranger os tamanhos típicos de uma população ou captura e reflectir os tamanhos de comercialização ao público em geral, bem como permitir a avaliação da existência de eventuais variações do nível de contaminação com o tamanho dos exemplares (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990).

De cada exemplar, foram registados os parâmetros morfométricos (comprimento total - cm e peso total - g) e identificado o sexo e o respectivo estado de maturação, avaliado segundo a escala de maturação macroscópica adoptada pelo Laboratório de Investigação Pesqueira da Direcção de Serviços e Investigação das Pescas (DSEIP/RAM), apresentada na Tabela I (Anexo I).

Tal como é recomendado nos procedimentos de amostragem dos exemplares e preparação de amostras de pescado para análise (UNEP/FAO/IAEA/IOC, 1984), as operações foram realizadas sob "condições limpas" e a dissecação dos tecidos e órgãos foi sempre realizada com luvas de latex e com o auxílio de instrumentos metálicos sem vestígios de oxidação ou em aço inoxidável, por forma a evitar eventuais contaminações do material biológico (UNEP/FAO/IAEA/IOC, 1984; Mathieson & McLusky, 1995).

Embora o Hg total esteja distribuído de forma praticamente uniforme no tecido muscular dos peixes, os músculos axial e dorso-lateral são os tecidos mais frequentemente usados neste tipo de análises, permitindo a padronização das operações e facilitando a comparação dos resultados. Deste modo, na amostragem dos tecidos foi tomado um cuidado particular na recolha de amostras de músculo numa posição fixa do corpo dos exemplares. O tecido muscular foi amostrado sob a forma de filete, retirado da região dorso-lateral do lado esquerdo dos exemplares (zona junto à inserção anterior da barbatana dorsal) e sujeito a pesagem, com precisão até ao centígrama. A evisceração dos exemplares foi realizada através de um corte longitudinal no abdómen, sendo os órgãos (fígado e gónadas) extraídos na totalidade e pesados, com precisão até ao centígrama.

Finalmente, e tal como é recomendado nos procedimentos de armazenamento e conservação de amostras de pescado para análise (UNEP/FAO/IAEA/IOC, 1984), as amostras de músculo, fígado e gónadas foram colocadas individualmente em sacos de plástico resistentes (polietileno de alta densidade) e devidamente identificados, acondicionadas numa embalagem isotérmica e conservadas por congelação a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até à sua preparação e análise posterior.

### 3.2 - Preparação das Amostras

Durante o processo de preparação que antecedeu a realização das análises, as amostras foram parcialmente descongeladas num frigorífico ( $-2^{\circ}\text{C}$  a  $4^{\circ}\text{C}$ ), pois são muito mais fáceis de processar que as amostras frescas ou totalmente descongeladas (UNEP/FAO/IAEA/IOC, 1984; UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990). A preparação prévia das amostras foi realizada em ambiente descontaminado e sob condições assépticas, numa câmara de fluxo laminar (ADS LAMINAIRE<sup>®</sup>), cuja bancada foi previamente limpa com acetona e álcool a 90%, procedimento repetido entre a preparação de amostras consecutivas, por forma a evitar eventuais contaminações entre amostras (UNEP/FAO/IAEA/IOC, 1984).

As amostras (músculo, fígado e gónadas) foram cortadas individualmente em porções de reduzidas dimensões ( $\pm 1\text{ cm}^2$ ), de modo a obter-se uma sub-amostra homogénea e representativa. As amostras de fígado e gónadas foram processadas na totalidade (órgãos inteiros), enquanto que nas amostras de tecido muscular, foi extraída a pele dos filetes de modo a evitar a contaminação do músculo por Hg eventualmente presente na pele dos exemplares.

Durante esta preparação, o manuseamento das amostras foi efectuado com luvas de latex, e o seu corte realizado com material de dissecação (pinça e bisturi), desinfectados com acetona e álcool a 90% entre a preparação de cada amostra (para evitar a contaminação entre amostras). Por outro lado, a extracção da pele das amostras de tecido muscular foi sempre realizada com um conjunto de material de dissecação diferente do utilizado no corte do tecido muscular (para evitar a contaminação entre a pele e o tecido muscular dos exemplares).

Finalmente, após esta preparação, e tal como é recomendado neste tipo de procedimentos, (Capon, 1994; UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990), sempre que as amostras não puderam ser sujeitas a digestão no próprio dia de preparação, foram acondicionadas em sacos de plástico devidamente identificados e conservadas novamente a  $-20^{\circ}\text{C}$ , onde permaneceram até à fase de digestão.

### 3.3 - Determinação do Teor de Humidade das Amostras

Visto que pode existir interesse na referência do teor de Hg total em relação ao peso seco das amostras, imediatamente após a preparação das amostras realizou-se a determinação do respectivo teor de humidade. Este procedimento corresponde basicamente à desidratação das amostras pelo calor, para que, através da diferença entre o peso inicial e final das amostras, seja obtida a respectiva percentagem de água nos tecidos.

Inicialmente, procedeu-se à secagem dos cadinhos de folha de alumínio descartáveis, processo realizado na estufa (MEMMERT UL 30<sup>®</sup>) a  $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante aproximadamente 1 hora (IPQ, 1991). Seguidamente, estes recipientes foram arrefecidos no excicador até atingirem a temperatura ambiente e pesados na balança de precisão (SARTORIUS MC 210S<sup>®</sup>), até à obtenção de peso constante.

Nestes cadinhos, previamente tarados, foram pesados com precisão, aproximadamente 2 gramas de amostra (músculo, fígado ou gónadas), sendo o conjunto introduzido novamente na estufa a  $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  (IPQ, 1991). O teor de humidade foi determinado individualmente na totalidade das amostras analisadas, motivo pelo qual não foram utilizados replicados das amostras.

O ciclo de secagens e pesagens sucessivas foi efectuado até à obtenção de um peso aproximadamente constante, ou seja, até que não exista uma diferença superior a 0.5% do peso total entre pesagens sucessivas (UNEP/FAO/IOC/IAEA, 1992). Deste modo, e após períodos de secagem de cerca de 24 e 48 horas (IPQ, 1991), os cadinhos com a amostra desidratada foram novamente arrefecidos no excicador e pesados na balança de precisão (SARTORIUS MC 210S®).

O cálculo do teor de humidade das amostras - H(%), expresso em percentagem de peso, foi efectuado mediante a aplicação da seguinte equação:

$$H(\%) = \frac{(P_2 - P_3)}{(P_2 - P_1)} * 100$$

em que: H(%) - teor de humidade (%)

P<sub>1</sub> - peso do cadinho

P<sub>2</sub> - peso do conjunto: cadinho + amostra húmida

P<sub>3</sub> - peso do conjunto: cadinho + amostra seca (24/48 horas)

### 3.4 - Selecção dos Materiais de Referência Certificados (CRM's)

A utilização de materiais de referência certificados (CRM's), com teor de Hg total rigorosamente definido, tem por objectivo a validação do método e do operador e a avaliação da qualidade analítica (em termos de rigôr e precisão), permitindo simultaneamente, por comparação, a validação do teor de Hg total das amostras.

Com efeito, idealmente, devem ser realizadas análises diárias dos materiais de referência, para que, caso as análises não satisfaçam os requisitos de qualidade indispensáveis, apenas seja perdida uma sequência (lote) de análises. Por outro lado, é frequentemente necessário utilizar dois materiais de referência, por forma a cobrir os limites inferior e superior das concentrações esperadas nas amostras, facto que assegura que o método analítico pode fornecer dados precisos e fidedignos em todo o intervalo de concentrações esperadas (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990).

As características dos materiais de referência devem ser razoavelmente semelhantes às características das amostras, nomeadamente em termos de matriz e composição química, e devem conter concentrações de Hg total aproximadas dos teores de Hg total esperados nas amostras (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990; MESL, 1997a).

Existem diversos CRM's específicos para a análise de Hg total no pescado (Cappon, 1994). No presente caso, consoante as análises, e de acordo com a sua maior adequação aos diferentes tipos de amostras (músculo, fígado e gónadas), foram utilizados os seguintes materiais de referência: DORM-1, DORM-2 e DOLT-2 (NRC-CNRC®). Estes materiais de referência são preparados homogenizados de músculo (DORM-1 e DORM-2) e de fígado (DOLT-2) de cação (dogfish - *Squalus acanthias*) (NRCC, 1986, 1993, 1994a,b).

A selecção destes materiais de referência (DORM-1, DORM-2 e DOLT-2) foi devida às semelhanças, a nível químico e nutricional, entre os organismos em análise (peixe-espada-preto) e os organismos a partir dos quais são preparados os referidos materiais de referência (cação). De facto, ambas as espécies apresentam características nutricionais extremamente aproximadas, pois o peixe-espada-preto possui um teor lipídico de 0.5% a 5.1% no músculo (Batista *et al.*, 1989) e de 20% no fígado (Bone, 1971), enquanto que o cação possui um teor lipídico de 5% no músculo e de 24% no fígado (NRCC, 1986, 1993, 1994a,b).

### 3.5 - Digestão das Amostras

Neste estudo, foi utilizado o método de digestão de materiais biológicos por via húmida, correntemente empregue nas análises do teor de Hg total no pescado efectuadas no MEL/IAEA. Este processo de digestão é aplicável a todas as amostras biológicas com concentrações de Hg total superiores a cerca de 0.05 mg/Kg (peso húmido) (MESL, 1997a).

Visto que uma fonte de contaminação das amostras provém dos materiais laboratoriais (Fergusson, 1990; Tahán *et al.*, 1995), previamente à digestão das amostras, foi realizada a descontaminação do material, procedimento extremamente importante, particularmente quando são analisadas amostras com baixas concentrações de Hg em material laboratorial susceptível de ter sido anteriormente empregue em análises de amostras com elevadas concentrações de Hg ("efeito de memória") (Horvat *et al.*, 1993b).

Deste modo, o material laboratorial utilizado na digestão das amostras foi inicialmente lavado com detergente laboratorial, sendo seguidamente colocado em recipientes com soluções de lavagem de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) a 30% e 10%, respectivamente, durante cerca de 24 horas. Finalmente, o material laboratorial foi repetidamente lavado com água destilada e desionizada (MILLIPORE® - Milli-Q Plus) e seco na câmara de fluxo laminar (ADS LAMINAIRE®).

Em cada série de análises foi seleccionada aleatoriamente uma amostra, a qual foi preparada em triplicado. Simultaneamente, foram preparados materiais de referência certificados (CRM's) e brancos (para avaliar a pureza dos reagentes e eventuais fenómenos de contaminação), ambos preparados igualmente em triplicado e do mesmo modo que as amostras, ou seja, sujeitos à realização do procedimento completo de digestão.

A digestão das amostras foi efectuada em tubos de digestão plásticos de tampa enroscável (Teflon - SAVILLEX®) com 57.5 ml de capacidade. Em cada tubo de digestão, previamente tarado, foram pesadas aproximadamente 2 gramas de amostra (músculo, fígado ou gónadas) com uma balança de precisão (SARTORIUS MC 210S®). No caso dos materiais de referência certificados, devido ao seu elevado custo e por ser uma quantidade considerada suficiente, apenas foram pesadas cerca de 200 mg de CRM's (DORM-1, DORM-2 ou DOLT-2, consoante as análises).

Seguidamente, foram adicionados aos tubos de digestão, contendo as amostras (músculo, fígado ou gónadas), os brancos ou os materiais de referência, 40 mg de pentóxido de vanádio (V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - extra puro, MERCK®), reagente químico que funciona como agente catalizador da reacção de digestão ácida das amostras biológicas.

Posteriormente, foram adicionados aos tubos de digestão 5 ml de ácido nítrico concentrado (HNO<sub>3</sub> a 65% - pro-análise, máx: 0.0000005% Hg, MERCK®). Este volume de agente oxidante é adicionado em excesso, por forma a oxidar a totalidade do material orgânico e mantê-lo sob a forma de Hg oxidado (Hg<sup>2+</sup>), e consequentemente evitar as perdas de Hg (Fergusson, 1990). Após serem suavemente agitados durante alguns momentos para facilitar a mistura, os tubos de digestão ficaram em repouso, à temperatura ambiente, durante cerca de 1 hora, período após o qual foram colocados no bloco de alumínio da placa de aquecimento (CERAN 500, 22SR®), regulada a 90°C, onde permaneceram aproximadamente 3 horas, período considerado suficiente para a decomposição total da matéria orgânica das amostras, sem que ocorram perdas de Hg (Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Fergusson, 1990; Horvat *et al.*, 1993a).

Seguidamente, e após o arrefecimento à temperatura ambiente, os tubos de digestão foram abertos na câmara de fluxo laminar (ADS LAMINAIRE®), para evitar os fumos tóxicos, sendo adicionados cerca de 20 ml de água desionizada (MILLIPORE® - Milli-Q Plus) e 1 ml de solução oxidante de dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 2% v/v - Suprapuro, MERCK®), perfazendo-se o volume total dos tubos de digestão (57.5 ml) com água desionizada (MILLIPORE® - Milli-Q Plus).

Finalmente, os tubos de digestão foram agitados, aguardando-se o período necessário à sedimentação das impurezas em suspensão antes da realização das análises. De referir que, embora no presente caso as análises tenham sido realizadas, quase invariavelmente, no dia seguinte à digestão das amostras, os tubos de digestão podem ser mantidos nesta fase durante alguns dias, desde que sejam conservados no frigorífico (± 4°C) e ao abrigo da luz directa.

### 3.6 - Análise do Teor de Mercúrio Total das Amostras

No presente estudo, as análises do teor de Hg total das amostras de peixe-espada-preto foram realizadas por espectrofotometria de absorção atômica com vapor frio (CV-AAS), de acordo com o procedimento aplicado nas análises de Hg total efectuadas no MEL/IAEA (MESL, 1997b).

Esta técnica analítica (CV-AAS) praticamente não tem interferências, possui uma excelente especificidade e sensibilidade, com reduzido limite de detecção, elevado rigôr e precisão, e com relativa simplicidade e elevada rapidez (Grimalt, 1989a,b; Fergusson, 1990; Paasivirta, 1991; Cappon, 1994; Diaz *et al.*, 1994; Tahán *et al.*, 1995), sendo o método de referência para a análise do teor de Hg total na parte edível do pescado (Journal Officiel des Communautés Européennes, 1982; Diário da República, 1990), tal como está estabelecido pela Norma Portuguesa - NP 2928 (IPQ, 1988).

Neste estudo, as análises foram efectuadas no espectrofotómetro de absorção atômica (SpectrAA-10 - VARIAN<sup>®</sup>), acoplado com o acessório gerador de vapor (VGA-76- VARIAN<sup>®</sup>), e com o espectrofotómetro programado de acordo com os parâmetros apresentados na Tabela 3.I.

Tabela 3.I - Parâmetros do espectrofotómetro de absorção atômica

PARÂMETROS:	
Modo do Instrumento	Absorvância
Modo de Calibração	Concentração
Modo de Medição	Integração
Introdução das Amostras	Manual
Número de Replicados	3
Posição da Lâmpada	2
Corrente da Lâmpada	4 mA
Comprimento de Onda	253.7 nm
Tempo de Espera	70 segundos
Tempo de Medição	5 segundos
Correcção (Background Correction)	ON

Neste tipo de análises, o gás inerte de transporte das amostras para leitura é o argon. O agente redutor, destinado à redução selectiva do Hg inorgânico divalente ( $Hg^{2+}$ ) à forma metálica de Hg elementar ( $Hg^0$ ), ou seja, à formação de Hg livre, é uma solução de cloreto estano (SnCl<sub>2</sub> a 20% w/v - pro-análise, MERCK<sup>®</sup>; em 20% v/v de ácido clorídrico - HCl a 30% - Suprapuro, MERCK<sup>®</sup>), preparada de fresco e com um fluxo de aproximadamente 1 ml/minuto (MESL, 1997b). No acessório gerador de vapor, a solução de mistura da amostra é água desionizada (MILLIPORE<sup>®</sup> - Milli-Q Plus), com um fluxo de cerca de 1 ml/minuto, e a solução de limpeza do equipamento é uma solução de ácido nítrico a 10% (HNO<sub>3</sub> a 65% - pro-análise, máx: 0.000005% Hg, MERCK<sup>®</sup>), com um fluxo de aproximadamente 6.5 ml/minuto (MESL, 1997b).

Em cada sequência diária de análises, para a realização da curva de calibração foram preparadas soluções padrão de Hg, a partir de diluições em série de uma solução original (*stock*) de cloreto de mercúrio (1 mg Hg/ml) (HgCl<sub>2</sub> - MERCK<sup>®</sup>). Esta solução *stock* manteve-se sempre armazenada num frasco escuro, devidamente fechado e refrigerado, enquanto que as soluções padrão da curva de calibração foram preparadas de fresco, diariamente ou sempre que ocorreram alterações nas condições operacionais das análises. De referir ainda que estas soluções padrão foram mantidas em solução ácida (pH ácido), para evitar potenciais riscos de perdas de Hg por adsorção e co-precipitação (Sammut, 1991).

Para a realização de cada curva de calibração, foi preparado um ensaio em branco e 4 ou 5 soluções padrão, com concentrações variáveis (compreendidas entre 5 µg Hg/L e 50 µg Hg/L), consoante os teores de Hg esperados nas amostras dos diferentes tipos de tecidos ou órgãos (músculo, fígado ou gónadas). Durante a leitura das amostras, sempre que o teor de Hg de uma amostra excedeu os limites da curva de calibração, procedeu-se à respectiva diluição.

Em cada sequência de análises das amostras, foram efectuadas leituras do branco, da solução padrão requerida pelo aparelho para o ajuste da curva de calibração, e de pelo menos um material de referência certificado (DORM-1, DORM-2 e DOLT-2, consoante o tipo de amostra). Estas leituras dos CRM's foram efectuadas periodicamente a intervalos regulares, geralmente entre 4 ou 5 amostras consecutivas.

As concentrações de Hg total das amostras, expressas em mg Hg/Kg (peso húmido) e apresentadas com arredondamento às centésimas (IPQ, 1988), foram calculadas mediante a aplicação da seguinte equação (MESL, 1997b):

$$[Hg] = \frac{(C_a - C_b)}{W} * V * 1000$$

em que: [Hg] - concentração de Hg total na amostra (mg Hg/Kg - peso húmido)

$C_a$  - concentração de Hg total na solução da amostra ( $\mu\text{g Hg/ml}$ )

$C_b$  - concentração média de Hg total nos brancos ( $\mu\text{g Hg/ml}$ )

V - volume de diluição dos tubos de digestão das amostras (57.5 ml)

W - peso húmido da amostra (g)

Consoante a conveniência, as concentrações de Hg total podem ser expressas em relação ao peso húmido ou ao peso seco das amostras. Deste modo, e conhecendo o teor de humidade das amostras - H(%), é possível fazer a conversão entre as concentrações de Hg total expressas em peso húmido e peso seco das amostras, através da seguinte equação (Monteiro, 1991):

$$[Hg]_{ph} = [Hg]_{ps} * [1 - H(\%)]$$

em que:  $[Hg]_{ph}$  - concentração de Hg total da amostra (mg Hg/Kg peso húmido)

$[Hg]_{ps}$  - concentração de Hg total da amostra (mg Hg/Kg peso seco)

H(%) - teor de humidade da amostra (%)

### 3.7 - Determinação do Limite de Detecção do Processo Analítico

O limite de detecção (L.D.) é uma medida da sensibilidade analítica, podendo ser definido como a concentração mínima que pode ser estimada fidedignamente, ou seja, a concentração mínima que pode ser quantificada com determinado rigôr, precisão e grau de confiança.

Na prática, o limite de detecção do método analítico é controlado através de ensaios em branco dos reagentes. Este controlo das fontes externas às amostras (ambiente de trabalho, material laboratorial, reagentes e do próprio operador), é muito importante para a diminuição do limite de detecção das análises e para a eventual necessidade de "correção" dos resultados (Taylor, 1987; Grimalt, 1989b).

A correção das concentrações obtidas na análise das amostras (através da subtração das concentrações obtidas na análise dos brancos) é particularmente importante no caso das amostras com níveis de Hg próximos do limite de detecção do processo analítico. Contudo, uma regra empírica recomenda que esta correção das concentrações das amostras não deve ultrapassar 10 vezes o limite de erro aceitável nas análises, e obviamente, não deve exceder as concentrações esperadas nas amostras (Taylor, 1987).

A generalidade dos autores define o limite de detecção como o triplo do desvio padrão ( $3\sigma$ ) de análises em triplicado do ensaio em branco (Horvat *et al.*, 1993a,b; Tahán *et al.*, 1995), existindo ainda autores que restringem o limite de detecção do método analítico ao dobro do desvio padrão ( $2\sigma$ ) de análises em triplicado dos ensaios em branco (McFarlane & Franzin, 1980; Liang *et al.*, 1994a,b; Monteiro, 1996; Monteiro *et al.*, 1996), denominando-se este valor de limite absoluto de detecção (Liang *et al.*, 1994a,b; Palmisano *et al.*, 1995; Andersen & Depledge, 1997; Bargagli *et al.*, 1998; Cronin *et al.*, 1998).

No presente estudo, foi avaliado o limite absoluto de detecção (L.D.) do método analítico, determinado através da seguinte expressão (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990):

$$\left( [Hg]_a - [Hg]_b \right)_{\min} = 2\sigma_b$$

ou seja,

$$[Hg]_a = [Hg]_b + 2\sigma_b$$

pelo que, na prática, o limite absoluto de detecção (L.D.) é expresso pela seguinte equação:

$$L.D. = [Hg]_b + 2\sigma_b$$

em que: L.D. - limite absoluto de detecção

$[Hg]_a$  - concentração mínima de Hg total nas amostras

$[Hg]_b$  - concentração média de Hg total nos brancos

$\sigma_b$  - desvio padrão dos brancos

De referir ainda que, na avaliação do limite absoluto de detecção, as análises com um valor abaixo de  $2\sigma$  devem ser referidas como não detectadas (n.d.), e as medições compreendidas entre  $2\sigma$  e  $10\sigma$  devem ser referidas como detectadas (d.), sempre com o valor do limite de detecção apresentado entre parêntesis (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990).

No presente estudo, o limite absoluto de detecção (L.D.) do processo analítico (CV-AAS) foi avaliado através da análise de triplicados do ensaio em branco dos reagentes, tendo sido estimado individualmente para cada sequência de análises (lotes de amostras) e para a totalidade das 7 sequências de análises realizadas. De referir que o valor do L.D. para a totalidade das sequências de análises não corresponde à média dos L.D.'s das diversas sequências de análises, mas a um cálculo separado e independente do L.D. para a totalidade do processo analítico (totalidade das sequências de análises das amostras) (Tabela 3.II).

**Tabela 3.II** - Avaliação do limite absoluto de detecção do processo analítico (CV-AAS)

Sequência de Análises	Limite de Detecção (L.D.)	
	$\mu\text{g Hg/ml}$	$\text{Mg Hg/Kg}$
Análise 1	0,21	0,006
Análise 2	0,30	0,009
Análise 3	0,10	0,003
Análise 4	0,10	0,003
Análise 5	0,32	0,009
Análise 6	0,17	0,005
Análise 7	0,31	0,009
<b>Total das Análises</b>	0,34	0,010

O limite absoluto de detecção (L.D.) oscilou ligeiramente ao longo do processo analítico, estando compreendido entre o valor mínimo registado nas 3ª e 4ª sequências de análises (0.003 mg Hg/Kg) e o valor máximo registado na 5ª sequência de análises (0.010 mg Hg/Kg). Na totalidade do processo analítico (7 sequências de análises de amostras) o limite absoluto de detecção foi de 0.010 mg Hg/Kg (peso húmido), para o volume de amostra utilizado nas análises (2 gramas de amostra de músculo, fígado ou gónadas de peixe-espada-preto).

Estes valores do limite absoluto de detecção do processo analítico (compreendidos entre 0.003 mg Hg/Kg e 0.010 mg Hg/Kg - peso húmido) revelam uma elevada sensibilidade analítica, sendo perfeitamente normais e aceitáveis em análises de amostras biológicas, e particularmente em análises dos teores de Hg total em amostras de tecidos de pescado.

### 3.8 - Controlo de Qualidade do Processo Analítico

Os dados dos estudos ambientais possuem sempre um determinado grau de incerteza resultante de erros efectuados durante a amostragem, o processamento e a análise das amostras. Esta incerteza pode ser expressa em termos de rigôr e precisão do processo analítico, devidos respectivamente aos erros sistemáticos e aleatórios associados aos resultados (Grimalt, 1989b).

Todos os procedimentos analíticos devem ser acompanhados por um sistema de controlo da qualidade (procedimento destinado à minimização dos erros) e de um sistema de avaliação da qualidade (procedimento adoptado na verificação se os erros estão dentro dos limites aceitáveis) (Fergusson, 1990; UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990; Cappon, 1994).

O controlo, monitorização e avaliação da qualidade analítica (em termos de rigôr e precisão) é realizado através da análise periódica de materiais de referência certificados (CRM's), com concentrações certificadas do elemento, uma matriz e composição química conhecidas e relativamente semelhantes à amostra, e sujeitos ao mesmo procedimento de digestão e análise (Fergusson, 1990; Monteiro & Lopes, 1990; UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990; Monteiro *et al.*, 1991; Bloom, 1992; UNEP/FAO/IOC/IAEA, 1992; Horvat *et al.*, 1993a,b; Cappon, 1994; Dixon & Jones, 1994; Mathieson & McLusky, 1995; Raldúa & Pedrocchi, 1996; Andersen & Depledge, 1997).

No presente estudo, o controlo e avaliação da qualidade do processo analítico foi efectuado através da análise de triplicados das amostras (músculo, fígado ou gónadas) seleccionadas aleatoriamente, análise de materiais de referência certificados (DORM-1, DORM-2 ou DOLT-2, consoante o tipo de amostra e entre cada sequência de análise de 4 ou 5 amostras consecutivas) e posterior realização de cartas de controlo do processo analítico, mediante a aplicação das metodologias apresentadas seguidamente.

#### 3.8.1 - Avaliação do Rigôr do Processo Analítico

O rigôr do processo analítico é geralmente avaliado por comparação directa entre as concentrações certificadas de Hg total dos materiais de referência certificados (CRM's) e as concentrações de Hg total efectivamente obtidas nas análises dos CRM's (Monteiro *et al.*, 1991). No presente caso, o rigôr do processo analítico foi monitorizado ao longo do estudo através da análise dos materiais de referência certificados (ver capítulo 3.4 do presente relatório).

As concentrações de Hg total obtidas nas análises dos CRM's utilizados durante as sequências de análises (CRM's: DORM-1, DORM-2 e DOLT-2) encontram-se apresentadas na Tabela 3.III. De referir que, devido à necessidade de um enorme rigôr na determinação das concentrações de Hg total dos materiais de referência certificados (CRM's), os resultados das suas análises foram corrigidos com os respectivos teores de humidade, previamente determinados (DORM-1: 7.30 %H<sub>2</sub>O; DORM-2: 5.17 %H<sub>2</sub>O e DOLT-2: 6.50 %H<sub>2</sub>O).

Esta avaliação preliminar do rigôr do processo analítico, permite constatar que as concentrações de Hg total das análises dos CRM's são bastante semelhantes aos respectivos valores certificados\* (DORM-1: 0.87±0.04 / 0.80±0.07\*; DORM-2: 4.22±0.17 / 4.64±0.26\*; DOLT-2: 2.33±0.03 / 1.99±0.10\*), o que se reflecte, obviamente, num elevado rigôr do processo analítico.

Adicionalmente, é também possível verificar que no caso dos CRM's com menores concentrações certificadas de Hg total (DORM-1 e DOLT-2), existe uma ligeira tendência para a sobre-estimação dos resultados das análises, enquanto que no caso do CRM com maior concentração certificada de Hg total (DORM-2), assiste-se a uma ligeira tendência para a sub-estimação dos resultados das análises.

**Tabela 3.III** - Comparação das concentrações de Hg total (média, desvio padrão e gama de concentração) dos materiais de referência certificados (CRM's) com as concentrações de Hg total das análises dos CRM's realizadas no presente estudo (dados: NRCC, 1986, 1993, 1994a,b)

	CRM's		
	DORM-1 (mg Hg/Kg) (peso seco)	DORM-2 (mg Hg/Kg) (peso seco)	DOLT-2 (mg Hg/Kg) (peso seco)
<b>Concentração Certificada*</b>	0,80 ± 0,07 (0,73 - 0,87)	4,64 ± 0,26 (4,38 - 4,90)	1,99 ± 0,10 (1,89 - 2,09)
<b>Sequências de Análises</b>			
<b>Análise 1</b>	0,82 ± 0,03 (0,79 - 0,85)	4,52 ± 0,05 (4,47 - 4,57)	- -
<b>Análise 2</b>	- -	4,32 ± 0,03 (4,29 - 4,35)	- -
<b>Análise 3</b>	- -	4,15 ± 0,09 (4,06 - 4,24)	2,34 ± 0,05 (2,29 - 2,39)
<b>Análise 4</b>	- -	4,24 ± 0,10 (4,14 - 4,34)	2,33 ± 0,03 (2,30 - 2,36)
<b>Análise 5</b>	0,89 ± 0,01 (0,88 - 0,90)	4,26 ± 0,06 (4,20 - 4,32)	- -
<b>Análise 6</b>	- -	4,18 ± 0,11 (4,07 - 4,29)	- -
<b>Análise 7</b>	- -	4,03 ± 0,12 (3,91 - 4,15)	- -
<b>Total das Análises</b>	0,87 ± 0,04 (0,83 - 0,91)	4,22 ± 0,17 (4,05 - 4,39)	2,33 ± 0,03 (2,30 - 2,36)

\* NOTA - Nas concentrações certificadas dos CRM's, os valores de desvio padrão representam os limites de tolerância (95%) para uma sub-amostra de 250 mg.

O rigôr do processo analítico pode também ser avaliado através das taxas de recuperação (T.R. - %) registadas nas análises dos diversos materiais de referência certificados (CRM's), expressas através da seguinte equação:

$$T.R. = \frac{[Hg]_{obs}}{[Hg]_{esp}} * 100$$

em que: T. R. - taxa de recuperação (%)

[Hg]<sub>obs</sub> - concentração média de Hg total nas análises do CRM

[Hg]<sub>esp</sub> - concentração certificada de Hg total do CRM

Deste modo, no presente estudo, o rigôr do processo analítico foi igualmente monitorizado através das taxas de recuperação (T.R. - %) das análises dos materiais de referência certificados (CRM's: DORM-1, DORM-2 ou DOLT-2, consoante o tipo de amostras) (Tabela 3.IV).

Tal como referido anteriormente, os resultados das análises dos CRM's foram devidamente corrigidos com os valores dos respectivos teores de humidade, previamente determinados (DORM-1: 7.30 %H<sub>2</sub>O; DORM-2: 5.17 %H<sub>2</sub>O e DOLT-2: 6.50 %H<sub>2</sub>O). Convém ainda salientar que, o valor das taxas de recuperação (T.R. - %) para a totalidade das análises não corresponde à média das T.R.'s das várias sequências de análises, mas a um cálculo separado e independente da T.R. para a totalidade do processo analítico (totalidade das sequências de análises), ou seja, corresponde à T.R. registada para a totalidade das análises em que foram utilizados esses CRM's.

Tabela 3.IV - Avaliação do rigôr do processo analítico (CV-AAS) através das taxas de recuperação (T.R. - %) das análises dos CRM's

Sequência de Análises	CRM's		
	DORM-1 (T.R. - %)	DORM-2 (T.R. - %)	DOLT-2 (T.R. - %)
Análise 1	102,65	97,46	-
Análise 2	-	93,11	-
Análise 3	-	89,47	117,40
Análise 4	-	91,34	117,07
Análise 5	111,60	91,80	-
Análise 6	-	90,09	-
Análise 7	-	86,85	-
Total das Análises	109,36	90,99	117,24

A taxa de recuperação (T.R.) das análises dos materiais de referência certificados (CRM's), e consequentemente o rigôr do processo analítico varia ligeiramente nas sequências de análises e entre sequências de análises. Por outro lado, o rigôr do processo analítico depende também da concentração de Hg total dos CRM's, pois enquanto que nas concentrações reduzidas e intermédias de Hg total (DORM-1 = 0.80 mg/Kg e DOLT-2 = 1.99 mg/Kg) ocorrem sobre-estimações dos níveis de Hg total (taxas de recuperação de 109.36% e 117.24%, ou seja, sobrestimações de 9.36% e 17.24%, respectivamente), nas concentrações mais elevadas de Hg total (DORM-2 = 4.64 mg/Kg) existe uma ligeira sub-estimação dos níveis de Hg total (taxa de recuperação de 90.99%, ou seja, uma sub-estimação de 9.01%).

Tendo em conta que a generalidade destas taxas de recuperação são próximas dos 100%, ou seja, não existem sub-estimações ou sobre-estimações muito elevadas nas análises de Hg total, facto que reflecte um rigôr analítico aceitável, não foram introduzidos quaisquer factores de correcção nos resultados das análises de Hg total das amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto.

O rigôr do processo analítico é também geralmente expresso como erro relativo (E.R.) (Monteiro & Lopes, 1990; Monteiro *et al.*, 1991, 1996; Monteiro, 1996; Andersen & Depledge, 1997), o qual é calculado através da seguinte equação:

$$E.R. = \frac{[Hg]_{obs} - [Hg]_{esp}}{[Hg]_{esp}} * 100$$

em que: E.R. - erro relativo (%)

$[Hg]_{esp}$  - concentração certificada de Hg total do CRM

$[Hg]_{obs}$  - concentração média de Hg total nas análises do CRM

Nesta avaliação do rigôr do processo analítico, o erro relativo (E.R.) das análises dos materiais de referência certificados (CRM's) deve ser idealmente inferior a  $\pm 10\%$  (Monteiro, 1996; Monteiro *et al.*, 1996; Andersen & Depledge, 1997), e preferencialmente, mesmo inferior a  $\pm 5\%$  (UNEP/FAO/IOC/IAEA, 1992).

No presente estudo, o rigôr do processo analítico foi monitorizado estatisticamente através do erro relativo (E.R. - %) das análises dos diversos materiais de referência certificados (CRM's: DORM-1, DORM-2 ou DOLT-2, consoante o tipo de amostras) (Tabela 3.V).

Tal como anteriormente mencionado, devido à necessidade de um elevado rigôr na determinação das concentrações de Hg total dos materiais de referência certificados (CRM's), os resultados das suas análises foram corrigidos com os respectivos teores de humidade, previamente determinados (DORM-1: 7.30 %H<sub>2</sub>O; DORM-2: 5.17 %H<sub>2</sub>O e DOLT-2: 6.50 %H<sub>2</sub>O).

De referir que, o valor do erro relativo (E.R. - %) para a totalidade das análises não corresponde à média dos E.R.'s das várias sequências de análises, mas a um cálculo separado e independente do E.R. para a totalidade do processo analítico (totalidade das sequências de análises), ou seja, corresponde ao E.R. obtido para a totalidade das análises em que foram utilizados esses CRM's.

**Tabela 3.V - Avaliação do rigôr do processo analítico (CV-AAS) através dos erros relativos (E.R. - %) das análises dos CRM's**

Sequência de Análises	CRM's		
	DORM-1 (E.R. - %)	DORM-2 (E.R. - %)	DOLT-2 (E.R. - %)
Análise 1	+ 2,65	- 2,54	-
Análise 2	-	- 6,89	-
Análise 3	-	- 10,5	+ 17,4
Análise 4	-	- 8,66	+ 17,1
Análise 5	+ 11,6	- 8,20	-
Análise 6	-	- 9,91	-
Análise 7	-	- 13,2	-
<b>Total das Análises</b>	<b>+ 9,36</b>	<b>- 9,01</b>	<b>+ 17,2</b>

O erro relativo (E.R.) das análises dos materiais de referência certificados (CRM's), e consequentemente o rigôr do processo analítico varia ligeiramente nas sequências de análises e entre sequências de análises. Por outro lado, o rigôr do processo analítico depende da concentração de Hg total dos CRM's, pois enquanto que nas concentrações reduzidas e intermédias de Hg total (DORM-1 = 0.80 mg/Kg e DOLT-2 = 1.99 mg/Kg) ocorreram sobre-estimações dos níveis de Hg total (+9.36% e +17.2%, respectivamente), nas concentrações mais elevadas de Hg total (DORM-2 = 4.64 mg/Kg) ocorreu uma ligeira sub-estimação dos níveis de Hg total (-9.01%).

Na generalidade das análises dos CRM's, o erro relativo médio foi sensivelmente reduzido, rondando valores da ordem dos 10%, o que corresponde a um rigôr analítico bastante aceitável, motivo pelo qual não foram aplicados quaisquer factores de correcção nos resultados das análises de Hg total das amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto.

### 3.8.2 - Avaliação da Precisão ou Reproducibilidade do Processo Analítico

A precisão ou reproducibilidade do processo analítico pode ser avaliada através de uma sequência de análises repetidas de uma amostra (Phillips & Gregory, 1979), através da análise de replicados de uma amostra (Renzoni *et al.*, 1991; Monteiro, 1996), e mais frequentemente, através da análise de replicados de materiais de referência certificados (CRM's) (Monteiro, 1996; Monteiro *et al.*, 1996; Joiris *et al.*, 1995, 1997; Ali *et al.*, *in press*).

Mais concretamente, a precisão ou reproducibilidade do processo analítico é estimada pelo intervalo de magnitude do desvio padrão, ou seja, é expressa pelo coeficiente de variação (C.V.) das análises dos replicados das amostras e/ou CRM's (nas sequências de análises e entre sequências de análises) (Monteiro & Lopes, 1990; Renzoni *et al.*, 1991; Monteiro *et al.*, 1991; Monteiro, 1996; Monteiro *et al.*, 1996; Joiris *et al.*, 1995, 1997; Andersen & Depledge, 1997; Bargagli *et al.*, 1998), definido pela seguinte equação:

$$C.V. = \frac{\sigma}{x} * 100$$

em que: C.V. - coeficiente de variação (%)

$\sigma$  - desvio padrão das análises dos replicados das amostras ou CRM's

x - concentração média de Hg total nas análises dos replicados das amostras ou CRM's

Geralmente, a precisão (ou reproducibilidade) do método varia consoante a matriz e a concentração de Hg total das amostras (May *et al.*, 1987; Mikac *et al.*, 1989; Padberg & May, 1992). Contudo, o coeficiente de variação (C.V.) dos replicados das amostras e CRM's, nas sequências de análises diárias e entre sequências de análises diárias, deve estar dentro do limite de 10% usual nas determinações de Hg total em amostras biológicas (May *et al.*, 1987; Mikac *et al.*, 1989; Verta, 1990; Monteiro, 1991; Monteiro *et al.*, 1991; Padberg & May, 1992; Joiris *et al.*, 1995; Monteiro, 1996; Monteiro *et al.*, 1996; Raldúa & Pedrocchi, 1996; Andersen & Depledge, 1997), e idealmente, deve mesmo ser inferior a 5% (Horvat *et al.*, 1990; Liang *et al.*, 1994a,b). De referir que, apenas devem ser aplicados factores de correcção nos resultados das análises, quando o coeficiente de variação (C.V.) ultrapassa os limites aceitáveis, normalmente de 10% (Joiris *et al.*, 1995; Ali *et al.*, *in press*). Por outro lado, caso o coeficiente de variação (C.V.) ultrapasse os 20%, pode constituir um indicador de eventuais erros ou problemas de contaminação (UNEP/FAO/IOC/IAEA, 1992).

No presente estudo, a precisão ou reproducibilidade do processo analítico foi monitorizada ao longo do estudo, através do coeficiente de variação (C.V.) da análise de triplicados de uma amostra seleccionada aleatoriamente (músculo, fígado ou gónadas, consoante as análises) e através do coeficiente de variação (C.V.) da análise de triplicados dos materiais de referência certificados (CRM's: DORM-1, DORM-2 ou DOLT-2, consoante o tipo de amostras) (Tabela 3.VI).

**Tabela 3.VI** - Avaliação da precisão ou reproducibilidade do processo analítico (CV-AAS) através dos coeficientes de variação (C.V. - %) das análises dos triplicados das amostras e dos CRM's

Sequência de Análises	Amostra (C.V. - %)	CRM's		
		DORM-1 (C.V. - %)	DORM-2 (C.V. - %)	DOLT-2 (C.V. - %)
Análise 1	1,70	3,21	1,15	-
Análise 2	2,58	-	1,16	-
Análise 3	1,32	-	2,78	1,94
Análise 4	1,06	-	1,27	1,25
Análise 5	6,88	0,67	1,44	-
Análise 6	1,62	-	1,33	-
Análise 7	3,56	-	2,27	-
<b>Total das Análises</b>	<b>2,67</b>	<b>5,62</b>	<b>4,55</b>	<b>1,47</b>

De referir que, no caso dos triplicados dos materiais de referência certificados (CRM's) o valor do coeficiente de variação (C.V.- %) para a totalidade das sequências de análises não corresponde à média dos C.V.'s das diversas sequências de análises, mas a um cálculo separado e independente do C.V. para a totalidade do processo analítico (totalidade das sequências de análises), ou seja, corresponde ao C.V. obtido para a totalidade das análises em que esses CRM's foram utilizados (DORM-1: C.V. = 5.62%; DORM-2: C.V. = 4.55%; DOLT-2: C.V. = 1.47%). Pelo contrário, no caso dos triplicados das amostras seleccionadas aleatoriamente (C.V. = 2.67%), por tratarem-se de amostras (músculo, fígado ou gónadas, consoante as análises) com níveis de Hg total distintos, os coeficientes de variação correspondem, obviamente, a valores médios.

Os coeficientes de variação (C.V. - %) das análises dos triplicados dos CRM's e das amostras seleccionadas aleatoriamente são invariavelmente reduzidos, facto que indica que as análises possuem uma elevada precisão e as condições analíticas são facilmente reproduzíveis. De salientar que, praticamente na totalidade das análises dos triplicados dos CRM's e dos triplicados das amostras seleccionadas aleatoriamente, foi obtido um coeficiente de variação (C.V.) inferior a 5% (exceptuando o CRM: DORM-1, com um C.V. = 5.62%). Do mesmo modo, no caso das análises dos triplicados das amostras, foi registado um coeficiente de variação muito reduzido (C.V. = 2.67%) e ligeiramente inferior ao valor de 3% considerado adequado para a precisão ou reproducibilidade das análises de amostras reais, tanto para as sequências de análises diárias, como para comparação entre sequências de análises (Tahán *et al.*, 1995).

Devido a estes reduzidos coeficientes de variação (C.V. - %) registados nas análises dos triplicados dos diversos CRM's e dos triplicados das amostras, os quais indicam uma elevada precisão do processo analítico, não foram aplicados quaisquer factores de correcção aos resultados das análises das amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto.

### 3.8.3 - Estabelecimento de Cartas de Controlo do Processo Analítico

O estabelecimento de um sistema de cartas de controlo é o principal elemento da técnica de avaliação da qualidade, sendo a realização regular de análises para a elaboração de cartas de controlo essencial para evitar o dispêndio de tempo e esforço valiosos no processo analítico (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990). De facto, as cartas de controlo são instrumentos essenciais para garantir a qualidade das análises, pois fornecem um meio gráfico de demonstrar o controlo estatístico, monitorizar um processo de medição, diagnosticar problemas de medição, documentar incertezas na medição e ajudar no desenvolvimento de metodologias de análise (Taylor, 1987).

Estas cartas de controlo são representações gráficas dos resultados das análises de uma amostra ou de um material de referência certificado num gráfico simples, que contém os limites que permitem uma decisão objectiva acerca da qualidade (rigor e precisão) dos dados, e as quais são denominadas por "cartas de controlo da qualidade analítica" (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990).

Nas cartas de controlo realizadas no presente estudo, foram graficados os valores das análises consecutivas dos materiais de referência (CRM's: DORM-1, DORM-2 ou DOLT-2, consoante o tipo de amostras analisado), comparativamente ao seu valor *standart* certificado ( $\bar{x}$ ) e aos limites de aviso e de controlo, inferior e superior (Taylor, 1987), respectivamente:

- limite inferior de aviso (Lower Warning Limit - LWL =  $\bar{x} - 2\sigma$ );
- limite superior de aviso (Upper Warning Limit - UWL =  $\bar{x} + 2\sigma$ );
- limite inferior de controlo (Lower Control Limit - LCL =  $\bar{x} - 3\sigma$ );
- limite superior de controlo (Upper Control Limit - UCL =  $\bar{x} + 3\sigma$ )

Estes limites de aviso (LWL e UWL) e controlo (LCL e UCL), reflectem o grau de incerteza admissível no processo analítico e são baseados em considerações probabilísticas, correspondendo aos limites dentro dos quais devem situar-se os valores das análises. Os limites de aviso ( $\bar{x} \pm 2\sigma$ ) devem conter cerca de 95% dos valores das análises, enquanto que os limites de controlo ( $\bar{x} \pm 3\sigma$ ) devem englobar virtualmente a totalidade (99.7%) dos valores obtidos nas análises (Taylor, 1987; Grimalt, 1989b; UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990).

No presente estudo foram realizadas cartas de controlo do processo analítico (CV-AAS), com base a variação dos valores das análises de Hg total dos materiais de referência certificados (CRM's: DORM-1, DORM-2 e DOLT-2), utilizados em simultâneo com as análises das amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto (Figuras 3.1 a 3.3).

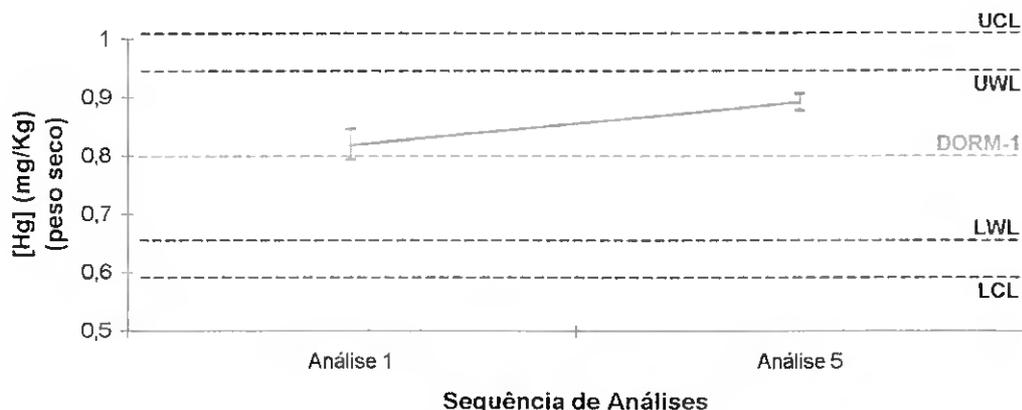


Figura 3.1 - Carta de controlo do processo analítico realizada com o material de referência certificado DORM-1 ( $0.80 \pm 0.07$  mg Hg/Kg - peso seco)

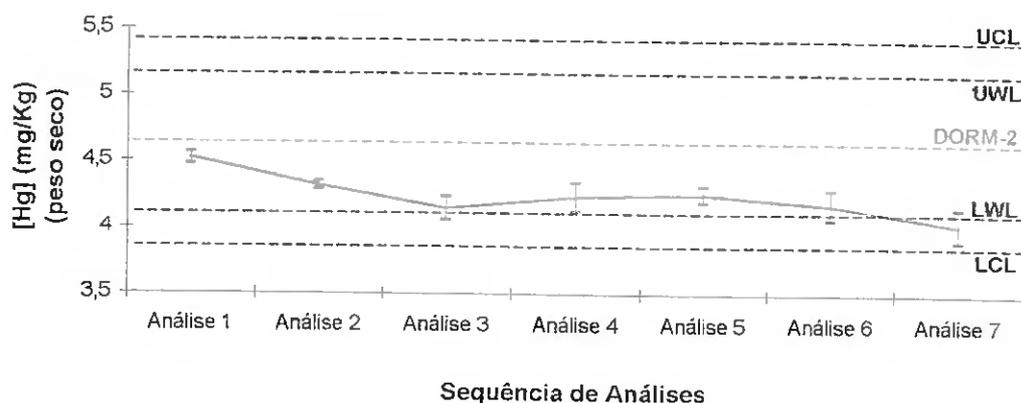


Figura 3.2 - Carta de controle do processo analítico realizada com o material de referência certificado DORM-2 ( $4.64 \pm 0.26$  mg Hg/Kg - peso seco)

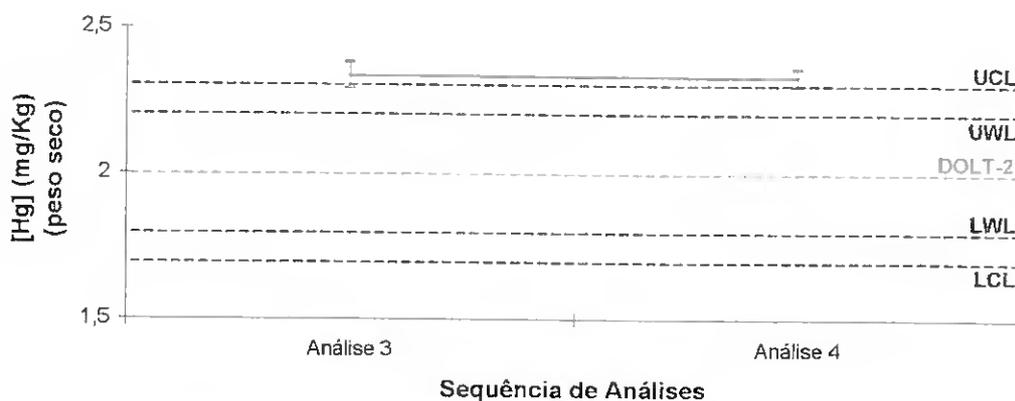


Figura 3.3 - Carta de controle do processo analítico realizada com o material de referência certificado DOLT-2 ( $1.99 \pm 0.10$  mg Hg/Kg - peso seco)

As cartas de controle do processo analítico realizadas no presente estudo revelam novamente que o controle estatístico das análises dos materiais de referência certificados (CRM's: DORM-1, DORM-2 e DOLT-2) varia consoante as respectivas concentrações de Hg total. De facto, o controle do processo analítico foi mais preciso e correcto nas análises do CRM com menor concentração certificada de Hg total (DORM-1), comparativamente às análises dos CRM's com maiores concentrações certificadas de Hg total (DORM-2 e DOLT-2).

Nas análises do CRM: DORM-1 (Figura 3.1) constata-se a existência de uma ligeira tendência para a sobre-estimação dos valores das análises dos CRM's e um suave aumento das concentrações de Hg total dos CRM's ao longo da sequência de análises. No entanto, e apesar do reduzido número de sequências de análises, a globalidade das análises foi sempre realizada sob um perfeito controlo estatístico, ou seja, com a totalidade das concentrações de Hg total das análises dos CRM's compreendidas entre o respectivo valor certificado ( $0.80 \pm 0.07$  mg Hg/Kg) e o limite superior de aviso ( $UWL = 0.80 + 2\sigma = 0.94$  mg Hg/Kg).

Por outro lado, nas análises do CRM: DORM-2 (Figura 3.2) verifica-se uma ligeira tendência para a sub-estimação e uma ligeira oscilação das concentrações de Hg total dos CRM's ao longo da sequência de análises. Contudo, praticamente a totalidade das análises foi efectuada sob um perfeito e rigoroso controlo estatístico, com a maioria das concentrações de Hg total das análises dos CRM's compreendidas entre o respectivo valor certificado ( $4.64 \pm 0.26$  mg Hg/Kg) e o limite inferior de aviso ( $LWL = 4.64 - 2\sigma = 4.12$  mg Hg/Kg), e apenas com uma sequência de análises situada entre o limite inferior de aviso ( $LWL = 4.64 - 2\sigma = 4.12$  mg Hg/Kg) e o limite inferior de controlo ( $LCL = 4.64 - 3\sigma = 3.86$  mg Hg/Kg).

O facto de uma única sequência de análises ultrapassar o limite inferior de aviso (LWL = 4.64 - 2 $\sigma$ ), não implica necessariamente a existência de problemas no processo analítico, desde que a análise seguinte não ultrapasse o referido limite inferior de aviso (LWL). De facto, apenas quando os limites de aviso (no presente caso, o limite inferior de aviso - LWL = 4.64 - 2 $\sigma$ ) são muito frequentemente ultrapassados, e particularmente, se o mesmo limite de aviso (LWL ou UWL) é ultrapassado mais que uma vez em sequências de análises consecutivas, pode indicar a existência de um erro sistemático no procedimento analítico (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990).

Contudo, convém ainda mencionar que, devido à nítida tendência para uma ligeira diminuição das concentrações de Hg total do CRM: DORM-2 ao longo da sequência de análises, o presente processo analítico pode ficar fora de controlo estatístico, pois a existência de qualquer tendência sistemática, mesmo que a totalidade dos valores estejam dentro dos limites de controlo (no presente caso, o limite inferior de controlo - LCL = 4.64 - 3 $\sigma$ ), é um indicador de um sistema fora de controlo estatístico (Taylor, 1987). De facto, caso os resultados de 10 análises consecutivas estejam situados no mesmo lado da carta de controlo (entre x e LWL e/ou entre x e UWL), pode constituir um indicador da existência de um erro sistemático no procedimento analítico (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990).

Finalmente, nas análises do CRM: DOLT-2 (Figura 3.3) constata-se uma nítida tendência para a sobre-estimação e uma assinalável estabilidade dos valores das análises dos CRM's entre as sequências de análises. No entanto, todas as análises deste material de referência certificado estiveram sempre fora do desejável controlo estatístico rigoroso, pois registaram invariavelmente concentrações superiores ao limite superior de controlo (UCL = 1.99 + 3 $\sigma$  = 2.29 mg Hg/Kg).

Com efeito, os pressupostos probabilísticos das cartas de controlo do processo analítico consideram que, num sistema sob rigoroso controlo estatístico, os limites de aviso (no presente caso o limite superior de aviso - UWL = 1.99 + 2 $\sigma$ ) e os limites de controlo (no presente caso, o limite superior de controlo - UCL = 1.99 + 3 $\sigma$ ) apenas devem muito raramente ser excedidos (Taylor, 1987; UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990). Do mesmo modo, a existência de dois valores sucessivos fora dos limites de aviso (neste caso, o limite superior de aviso - UWL = 1.99 + 2 $\sigma$ ), constitui um indicador da existência de um erro no processo analítico (UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990) ou de um sistema ligeiramente fora de controlo estatístico (Taylor, 1987).

### 3.9 - Tratamento de Dados e Análise Estatística

#### 3.9.1 - Estimação da Idade dos Exemplares

A idade dos peixes pode ser avaliada directamente através da leitura das estruturas duras, nomeadamente os otólitos, ou pode ser estimada indirectamente através da aplicação da equação de crescimento de von Bertalanffy:

$$L_t = L_\infty \left[ 1 - e^{-K(t-t_0)} \right]$$

em que:  $L_t$  - comprimento total do exemplar (cm)  
 $L_\infty$  - comprimento assintótico da espécie (cm)  
 $K$  - constante de crescimento da espécie  
 $t$  - idade do exemplar (anos)  
 $t_0$  - idade do exemplar (anos)

Deste modo, no presente estudo, devido à impossibilidade de avaliação directa das idades dos peixes através da leitura dos otólitos, a idade dos exemplares de peixe-espada-preto foi estimada indirectamente através dos parâmetros da curva de crescimento de von Bertalanffy para esta espécie, determinados recentemente por Morales-Nin & Carvalho (1996):

$$L_t = 138.6 \left[ 1 - e^{-0.251(t+2.284)} \right]$$

Através desta equação de crescimento de von Bertalanffy, por substituição dos valores dos comprimentos totais registados na amostragem dos exemplares (parâmetro  $L_t$ ), são obtidas as idades médias dos diversos exemplares de peixe-espada-preto (parâmetro  $t$ ).

### 3.9.2 - Avaliação dos Índices de Condição Fisiológica dos Exemplares

#### 3.9.2.1 - Factor de Condição Geral (K)

O factor de condição (K) reflecte o estado nutricional de um peixe a nível individual e o estado médio do ciclo reprodutivo do manancial (Busacker *et al.*, 1990; King, 1995). De facto, nos períodos em que os peixes possuem muita energia acumulada, factores como o crescimento dos tecidos e o armazenamento de energia nos músculos e no fígado, podem conduzir a que um indivíduo possua um peso ligeiramente superior ao usual para o respectivo comprimento, situação que é normalmente avaliada através do factor de condição geral (K) (Busacker *et al.*, 1990).

No cálculo do factor de condição (K), é geralmente utilizado o peso eviscerado dos peixes, pois o fígado, o conteúdo estomacal e as gónadas podem constituir uma porção considerável do peso total dos exemplares (Busacker *et al.*, 1990). No entanto, no presente estudo, devido à indisponibilidade deste parâmetro, o factor de condição geral (K) foi necessariamente adaptado, sendo expresso pela seguinte equação:

$$K = \frac{P_t}{C_t^3} * 1000$$

em que: K - factor de condição geral (adaptado)

$P_t$  - peso total do exemplar (g)

$C_t$  - comprimento total do exemplar (cm)

#### 3.9.2.2 - Índice Hepatosomático (I.H.S.)

Os peixes armazenam energia no tecido muscular, mas é principalmente o fígado que funciona como um local dinâmico de armazenamento de glicogénio, constituindo um órgão particularmente sensível à taxa de alimentação em curtos períodos de tempo. Por este motivo, o tamanho do fígado pode ser correlacionado com o estado nutricional e com a taxa de crescimento do peixe, processo que é normalmente efectuado através do índice hepatossomático (I.H.S.) (Anderson & Gutreuter, 1983; Busacker *et al.*, 1990).

No cálculo do índice hepatossomático é geralmente utilizado o peso eviscerado dos peixes (Anderson & Gutreuter, 1983; Busacker *et al.*, 1990). No entanto, no presente estudo, devido à indisponibilidade deste parâmetro, o índice hepatossomático (I.H.S.) foi obrigatoriamente adaptado, sendo expresso pela seguinte equação:

$$I.H.S. = \frac{P_{fig}}{P_t - P_{fig}} * 100$$

em que: I.H.S. - índice hepatossomático (adaptado)

$P_t$  - peso total do exemplar (g)

$P_{fig}$  - peso do fígado do exemplar (g)

#### 3.9.2.3 - Índice Gonadossomático (I.G.S.)

O índice gonadossomático (I.G.S.), também denominado por coeficiente de maturidade, é usualmente utilizado na avaliação do ciclo reprodutivo das espécies ao longo do tempo (King, 1995). Nos peixes com desova sazonal, o tamanho das gónadas varia ao longo das sucessivas fases de maturação, pelo que, o índice gonadossomático (I.G.S.) assume que as gónadas aumentam de peso durante o seu desenvolvimento (Snyder, 1983; King, 1995).

Tal como no caso anterior, no cálculo do índice gonadossomático é geralmente utilizado o peso eviscerado dos peixes (Snyder, 1983; King, 1995). No entanto, no presente estudo, devido à impossibilidade de obtenção deste parâmetro, o índice gonadossomático (I.H.S.) foi igualmente sujeito a uma ligeira adaptação, sendo expresso pela seguinte equação:

$$I.G.S. = \frac{P_{gon}}{P_t - P_{gon}} * 100$$

em que: I.G.S. - índice gonadossomático (adaptado)

$P_t$  - peso total do exemplar (g)

$P_{gon}$  - peso das gónadas do exemplar (g)

### 3.9.3 - Estabelecimento de Relações Funcionais

No presente estudo, o registo dos principais parâmetros morfométricos e a identificação do sexo e estado de maturação dos exemplares, teve por principal objectivo a detecção de eventuais correlações com os teores de Hg total detectados ao nível do tecido muscular, fígado e gónadas. De modo a averiguar a existência destas potenciais relações funcionais entre os teores de Hg total das amostras e os parâmetros biológicos dos exemplares, foram realizadas regressões lineares entre o comprimento total, peso total, peso dos órgãos (fígado e gónadas), sexo, estado de maturação e índices de condição fisiológica e reprodutiva dos exemplares (K, I.H.S. e I.G.S.), e as concentrações de Hg total nos diferentes tecidos e órgãos (músculo, fígado e gónadas).

As regressões lineares foram efectuadas pelo método dos mínimos quadrados (Modelo I) (Sokal & Rohlf, 1981, 1987), sem qualquer transformação de dados por logaritmização de valores, em que a variável independente (X) foram os diversos parâmetros biológicos dos exemplares e a variável dependente (Y) foram as respectivas concentrações de Hg total nos tecidos e órgãos (músculo, fígado e gónadas) dos exemplares de peixe-espada-preto. Estas regressões lineares permitem obter os parâmetros da recta de regressão e o respectivo coeficiente de correlação (r), parâmetro que reflecte a qualidade do ajuste da recta de regressão linear.

As regressões lineares foram validadas estatisticamente através da Análise de Variância (ANOVA), sendo os ajustes das regressões considerados significativos para um intervalo de confiança ou nível de significância de 95% ( $\alpha = 0.05$ ), através da comparação dos valores de  $F$  obtidos na ANOVA com os valores críticos tabelados da distribuição  $F$  (Sokal & Rohlf, 1981, 1987).

## 4 - RESULTADOS

## 4.1 - Amostragem

Durante a amostragem dos exemplares de peixe-espada-preto registaram-se os principais parâmetros biológicos dos indivíduos (comprimento total, peso total, sexo e estado de maturação), e ainda alguma informação acerca das amostras dos tecidos e órgãos (peso do filete de músculo e peso total do fígado e das gónadas), cujos resultados estão compilados na Tabela I (Anexo II). Os resultados da análise estatística (valores máximos e mínimos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação) dos referidos parâmetros de amostragem dos exemplares encontram-se compilados na Tabela 4.1, apresentada seguidamente:

**Tabela 4.1** - Parâmetros de amostragem (valores mínimos e máximos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação) dos exemplares de peixe-espada-preto

Parâmetros		Exemplares		
		Machos	Fêmeas	Total
Exemplares	Nº / (%)	32 / 50,8	31 / 49,2	63 / 100,0
Comprimento Total (cm)	(Mín. - Máx.)	(104 - 124)	(103 - 138)	(103 - 138)
	Média	113	121	117
	D. Padrão	6	8	8
	C.V. (%)	5,0	6,3	6,8
Peso Total (g)	(Mín. - Máx.)	(1540 - 2402)	(1410 - 3290)	(1410 - 3290)
	Média	1878	2455	2162
	D. Padrão	246	426	450
	C.V. (%)	13,1	17,3	20,8
Peso do Músculo (g)	(Mín. - Máx.)	(42,1 - 66,0)	(7,6 - 78,1)	(7,6 - 78,1)
	Média	55,7	61,7	58,7
	D. Padrão	6,9	13,0	10,7
	C.V. (%)	12,4	21,1	18,3
Peso do Fígado (g)	(Mín. - Máx.)	(6,1 - 48,3)	(7,9 - 36,1)	(6,1 - 48,3)
	Média	13,4	21,5	17,5
	D. Padrão	7,4	6,2	7,9
	C.V. (%)	55,1	28,9	45,0
Peso das Gónadas (g)	(Mín. - Máx.)	(9,8 - 52,6)	(3,44 - 221,8)	(3,44 - 221,8)
	Média	23,3	35,9	29,5
	D. Padrão	10,3	40,9	30,0
	C.V. (%)	44,1	114,0	101,8
Estado de Maturação	(Mín. - Máx.)	(2 - 7)	(1B - 8)	(1B - 8)
	Média	4	5	4
	D. Padrão	2	2	2
	C.V. (%)	57,9	44,0	53,3

Na totalidade, foram amostrados 63 exemplares de peixe-espada-preto, com um "sex-ratio" muito equilibrado, de 32 machos (50.8%) e 31 fêmeas (49.2%). Em relação às dimensões (comprimento total e peso total), os exemplares possuíam comprimentos totais compreendidos entre 103 cm e 138 cm e pesos totais compreendidos entre 1410 g e 3290 g. Em termos médios, as fêmeas apresentaram dimensões ligeiramente maiores (comprimento - 121 cm e peso - 2455 g) comparativamente aos machos (comprimento - 113 cm e peso - 1878 g). Por outro lado, as fêmeas apresentaram igualmente maior variabilidade em termos de tamanho (comprimento - C.V. = 6.3% e peso - C.V. = 17.3%) do que os machos (comprimento - C.V. = 5.0% e peso - C.V. = 13.1%). Os exemplares apresentaram estados de maturação extremos, com estados de desenvolvimento das gónadas compreendidos entre os estados 1B e 8, com as fêmeas a apresentarem, em média, estados de maturação mais avançados (estado 5) comparativamente aos machos (estado 4) (Tabela 4.1).

Na amostragem dos tecidos e órgãos dos exemplares, os filetes de músculo apresentaram um peso médio de 58.7 g, os fígados um peso médio de 17.5 g e as gónadas um peso médio de 29.5 g, sendo o peso médio dos órgãos das fêmeas (fígado: 21.5 g e gónadas: 35.9 g) ligeiramente superior ao peso médio dos órgãos dos machos (fígado: 13.4 g e gónadas: 23.3 g). No caso particular das gónadas, a variabilidade do peso das gónadas femininas (C.V. = 114.0%) foi muito superior à variabilidade do peso das gónadas masculinas (C.V. = 44.1%), facto que resulta obviamente da maior amplitude de estados de maturação das gónadas das fêmeas (1B - 8) comparativamente aos estados de maturação dos machos (2 - 7) (Tabela 4.I).

#### 4.2 - Teor de Humidade das Amostras

A determinação do teor de humidade (%H<sub>2</sub>O) das amostras (músculo, fígado e gónadas), foi efectuada individualmente para a totalidade das amostras, encontrando-se os respectivos resultados compilados na Tabela II (Anexo II).

A análise da Tabela II (Anexo II) permite constatar uma variabilidade muito reduzida nos teores de humidade das amostras após 24 ou 48 horas de secagem na estufa, e em termos médios, todos os tipos de amostras revelaram um ligeiro aumento nos teores de humidade registados após 48 horas de desidratação: +0.10% no músculo, +0.70% no fígado e +0.10% nas gónadas. De salientar ainda que, apesar desta reduzida variabilidade, na determinação das concentrações de Hg total das amostras de músculo, fígado e gónadas relativamente ao peso seco, foram sempre utilizados os maiores teores de humidade registados individualmente em cada amostra (após 24 ou 48 horas de secagem).

Os resultados da análise estatística (valores mínimos e máximos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação) dos teores de humidade (%H<sub>2</sub>O) das amostras de músculo, fígado e gónadas, efectivamente aplicados na determinação das concentrações de Hg total em relação ao peso seco das amostras, encontram-se compilados na Tabela 4.II, apresentada seguidamente:

**Tabela 4.II** - Teores de humidade (%H<sub>2</sub>O) (valores mínimos e máximos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação) das amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto

	Amostra		
	Músculo (%H <sub>2</sub> O)	Fígado (%H <sub>2</sub> O)	Gónadas (%H <sub>2</sub> O)
(Mín. - Máx.)	(38,3 - 63,6)	(9,51 - 53,0)	(11,0 - 73,7)
Média	57,7	40,0	57,1
D. Padrão	4,9	13,1	16,5
C.V. (%)	8,6%	32,9%	28,9%

Os filetes de músculo e as gónadas dos exemplares apresentaram teores médios de humidade extremamente semelhantes (57.7% e 57.1%, respectivamente) e bastante superiores ao teor médio de humidade dos fígados dos exemplares (40.0%). Em termos de variabilidade, o fígado foi o órgão que apresentou uma maior variação no teor de humidade (C.V. = 32.9%), logo seguido das gónadas (C.V. = 28.9%) e do tecido muscular dos exemplares (C.V. = 8.6%) (Tabela 4.II).

#### 4.3 - Concentrações de Mercúrio Total das Amostras

As concentrações de Hg total (peso húmido e peso seco) nas amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto estão compiladas na Tabela III (Anexo II). Os resultados da análise estatística (valores mínimos e máximos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação) das concentrações de Hg total obtidas nas amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto encontram-se compilados na Tabela 4.III, apresentada seguidamente:

**Tabela 4.III** - Concentrações de Hg total (valores mínimos e máximos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação) nas amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto

	Músculo (mg/Kg)		Fígado (mg/Kg)		Gónadas (mg/Kg)	
	peso húmido	peso seco	peso húmido	peso seco	peso húmido	peso seco
(Mín. - Máx.)	(0,43 - 1,72)	(0,96 - 4,46)	(0,31 - 47,30)	(0,62 - 90,9)	(0,06 - 1,05)	(0,07 - 2,94)
Média	0,80	1,92	5,26	9,72	0,38	1,03
D. Padrão	0,25	0,68	10,51	20,24	0,28	0,78
C.V. (%)	31,8	35,7	199,7	208,2	73,3	75,8

As concentrações médias de Hg total no fígado são superiores (5.26 mg/Kg peso húmido; 9.72 mg/Kg peso seco) às concentrações médias de Hg total no músculo (0.80 mg/Kg peso húmido; 1.92 mg/Kg peso seco) e principalmente às concentrações médias de Hg total nas gónadas (0.38 mg/Kg peso húmido; 1.03 mg/Kg peso seco). Por outro lado, entre todos os tipos de amostras, o fígado apresentou a maior variabilidade nas concentrações de Hg total (p.h. - C.V. = 199.7% / p.s. - C.V. = 208.2%), seguido das gónadas (p.h. - C.V. = 73.3% / p.s. - C.V. = 75.8%) e do tecido muscular dos exemplares (p.h. - C.V. = 31.8% / p.s. - C.V. = 35.7%) (Tabela 4.III).

Após a separação por sexos, os resultados das concentrações de Hg total nas amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de ambos os sexos de peixe-espada-preto, os valores mínimos e máximos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação, encontram-se compilados na Tabela 4.IV, apresentada seguidamente:

**Tabela 4.IV** - Concentrações de Hg total (valores mínimos e máximos, médias, desvios padrão e coeficientes de variação) nas amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares machos e fêmeas de peixe-espada-preto

	Músculo (mg/Kg)			
	Machos		Fêmeas	
	peso húmido	peso seco	peso húmido	peso seco
(Mín. - Máx.)	(0,53 - 1,27)	(0,84 - 2,06)	(0,43 - 1,72)	(0,66 - 2,78)
Média	0,79	1,24	0,81	1,28
D. Padrão	0,19	0,31	0,31	0,50
C.V. (%)	24,2	25,1	38,2	39,0
	Fígado (mg/Kg)			
	Machos		Fêmeas	
	peso húmido	peso seco	peso húmido	peso seco
(Mín. - Máx.)	(0,37 - 9,27)	(0,55 - 14,1)	(0,31 - 47,3)	(0,47 - 69,7)
Média	3,10	4,47	7,43	10,7
D. Padrão	2,65	4,03	14,69	21,66
C.V. (%)	85,5	90,1	197,8	202,1
	Gónadas (mg/Kg)			
	Machos		Fêmeas	
	peso húmido	peso seco	peso húmido	peso seco
(Mín. - Máx.)	(0,11 - 0,75)	(0,19 - 1,25)	(0,06 - 1,05)	(0,07 - 1,73)
Média	0,34	0,57	0,42	0,66
D. Padrão	0,20	0,34	0,35	0,55
C.V. (%)	60,1	60,5	82,0	84,2

É possível constatar que, independentemente do tecido ou órgão, as fêmeas apresentam invariavelmente maiores concentrações médias de Hg total (músculo: 0.81 mg/Kg p.h. / 1.28 mg/Kg p.s.; fígado: 7.43 mg/Kg p.h. / 10.7 mg/Kg p.s.; gónadas: 0.42 mg/Kg p.h. / 0.66 mg/Kg p.s.), comparativamente aos machos (músculo: 0.79 mg/Kg p.h. / 1.24 mg/Kg p.s.; fígado: 3.10 mg/Kg p.h. / 4.47 mg/Kg p.s.; gónadas: 0.34 mg/Kg p.h. / 0.57 mg/Kg p.s.) (Tabela 4.IV).

De referir que, devido à maior variabilidade em termos de valores máximos e mínimos, os coeficientes de variação das concentrações médias de Hg total nos tecidos e órgãos das fêmeas (músculo: C.V.= 38.2% p.h. / C.V.= 39.0% p.s.; fígado: C.V.= 197.8% p.h. / C.V.= 202.1% p.s.; gónadas: C.V.= 82.0% p.h. / C.V.= 84.2% p.s.), são igualmente sempre superiores aos coeficientes de variação das concentrações médias de Hg total nos tecidos e órgãos dos machos (músculo: C.V.= 24.2% p.h. / C.V.= 25.1% p.s.; fígado: C.V.= 85.5% p.h. / C.V.= 90.1% p.s.; gónadas: C.V.= 60.1% p.h. / C.V.= 60.5% p.s.) (Tabela 4.IV).

#### 4.4 - Distribuição Corporal de Mercúrio Total nos Exemplares

A distribuição corporal das concentrações individuais de Hg total (peso húmido ; peso seco) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto (Tabela III - Anexo II), encontra-se representada respectivamente nas Figuras 4.1 e 4.2, apresentadas seguidamente:

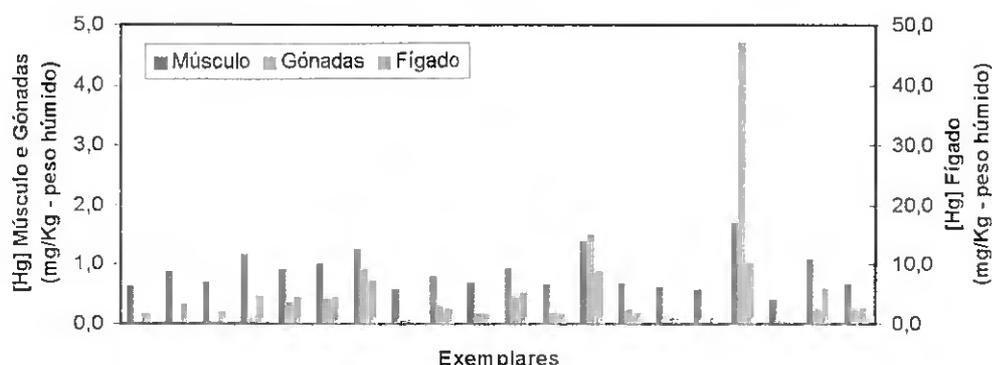


Figura 4.1 - Distribuição corporal das concentrações individuais de Hg total (peso húmido) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto

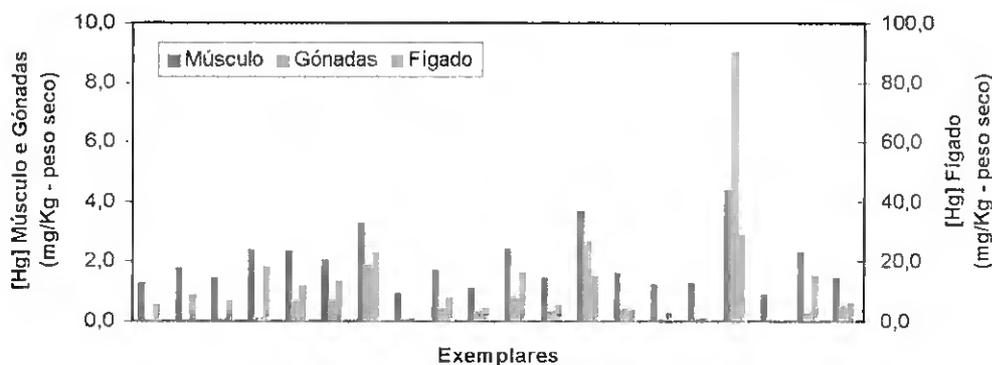


Figura 4.2 - Distribuição corporal das concentrações individuais de Hg total (peso seco) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto

Em relação ao peso húmido das amostras (Figura 4.1), na grande maioria dos exemplares (16 exemplares = 80%), o fígado possui uma maior concentração de Hg total que o músculo (4 exemplares = 20%). As gónadas apresentam praticamente sempre as menores concentrações de Hg total, as quais são sempre inferiores às concentrações de Hg no músculo, e apenas no caso de um único exemplar foram superiores às concentrações de Hg total do fígado (1 exemplar = 5%). Em relação ao peso seco das amostras (Figura 4.2), devido à conversão das concentrações de Hg total através dos teores de humidade das amostras (%H<sub>2</sub>O), a situação altera-se ligeiramente, embora na generalidade dos exemplares (14 exemplares = 70%) o fígado apresente uma maior concentração de Hg total que o músculo (6 exemplares = 30%). Tal como no caso anterior, as gónadas apresentam também quase sempre as menores concentrações de Hg total, as quais são sempre inferiores às concentrações de Hg total no músculo, e apenas no caso de dois exemplares são superiores às concentrações de Hg total do fígado (2 exemplares = 10%).

A distribuição corporal das concentrações médias de Hg total (peso húmido e peso seco) (Tabela 4.III) no tecido muscular, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto, encontra-se representada na Figura 4.3, apresentada seguidamente:

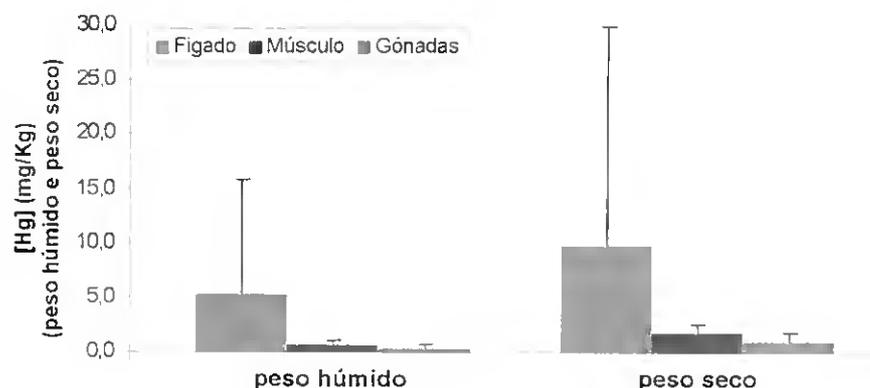


Figura 4.3 - Distribuição corporal das concentrações médias ( $\pm\sigma$ ) de Hg total (peso húmido e peso seco) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto

Em termos médios, a distribuição corporal das concentrações de Hg total (peso húmido e peso seco) nos diversos tecidos e órgãos dos exemplares de peixe-espada-preto possui a seguinte ordem decrescente de importância relativa: Fígado >> Músculo > Gónadas (Figura 4.3). Adicionalmente, a análise desta figura permite ainda denotar, que tal como referido anteriormente, a variabilidade das concentrações médias de Hg total (expressa pelo desvio padrão -  $\sigma$ ) é muito distinta entre os tecidos e órgãos, sendo extremamente superior no fígado, comparativamente ao músculo e às gonadas dos exemplares de peixe-espada-preto.

#### 4.5 - Relações Funcionais: Parâmetros Biológicos / Concentrações de Mercúrio Total

No presente estudo, determinou-se a eventual existência de relações funcionais entre os principais parâmetros biológicos (comprimento, peso, peso dos órgãos, idade, sexo, estado de maturação e índices de condição fisiológica) e as concentrações de Hg total nos tecidos e órgãos (músculo, fígado e gónadas) dos exemplares de peixe-espada-preto.

Neste tipo de estudos, as relações funcionais são normalmente realizadas em função do peso húmido das amostras. Por este motivo, e igualmente devido ao facto da conversão das concentrações de Hg total em peso seco das amostras geralmente aumentar a sua variabilidade, no presente estudo apenas são apresentadas relações funcionais entre os parâmetros biológicos e as concentrações de Hg total (peso húmido) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto.

De referir ainda que, no presente estudo foram experimentados diversos tipos de relações funcionais entre os parâmetros biológicos e as concentrações de Hg total nos tecidos e órgãos (modelos lineares, logarítmicos e exponenciais, com e sem transformação de dados), apenas tendo sido obtidas relações funcionais estatisticamente significativas nas regressões lineares sem logaritmização de dados. Adicionalmente, convém ainda salientar que apenas são apresentadas as rectas de regressão linear, parâmetros da recta e coeficientes de correlação ( $r$ ) das relações funcionais estatisticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

#### 4.5.1 - Relações Funcionais: Comprimento Total / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares

As relações funcionais entre o comprimento total e as concentrações de Hg total (peso húmido) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares (em separado para cada sexo), encontram-se representadas nas Figuras 4.4 a 4.6, apresentadas seguidamente:

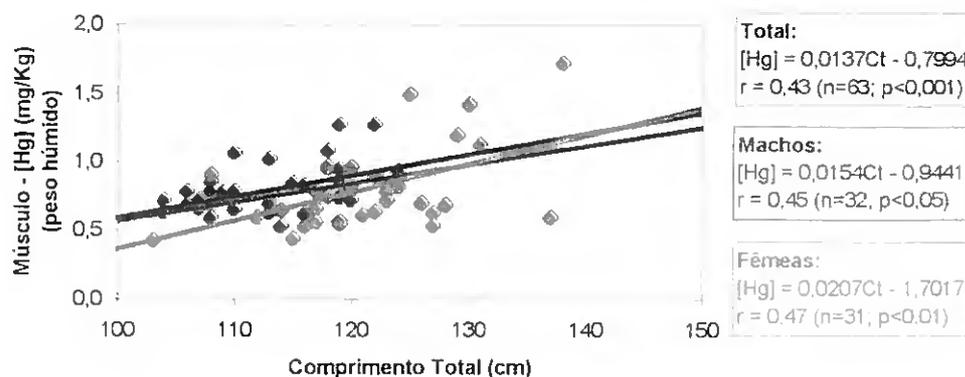


Figura 4.4 - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no músculo e o comprimento total dos exemplares de peixe-espada-preto

Da observação da Figura 4.4 constata-se que a concentração de Hg total no músculo aumenta linearmente com o comprimento total dos exemplares, ou seja, existe um incremento nos teores de Hg total no músculo dos exemplares com o respectivo crescimento em comprimento. As diversas regressões lineares apresentam declives e coeficientes de correlação ( $r$ ) semelhantes (total:  $r=0.43$ ; machos:  $r=0.45$ ; fêmeas:  $r=0.47$ ), enquanto que as análises de variância (ANOVA) e os respectivos testes F revelam que o nível de significância da regressão linear relativa à totalidade dos exemplares ( $p<0.001$ ) é ligeiramente superior aos níveis de significância das regressões lineares respeitantes às fêmeas ( $p<0.01$ ) e aos machos ( $p<0.05$ ).

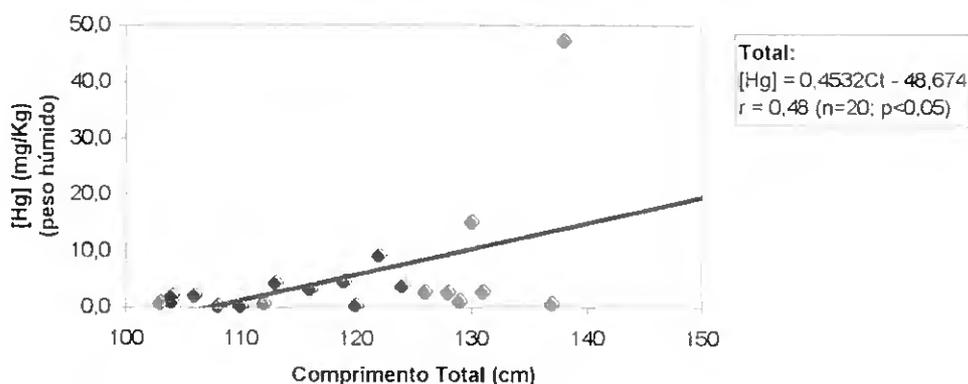
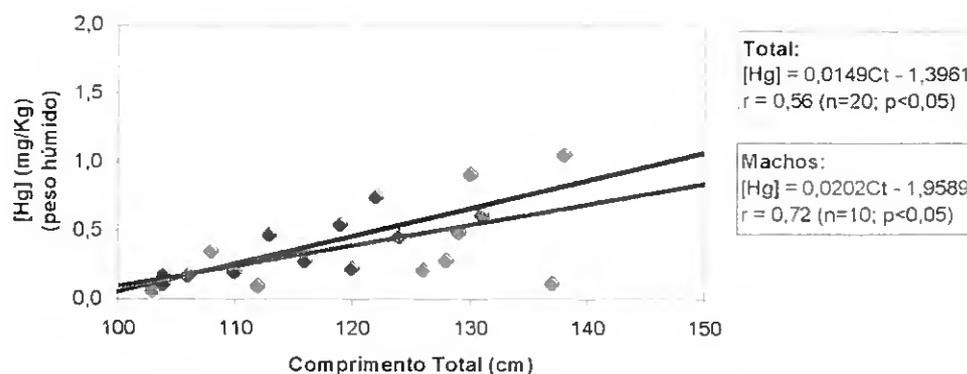


Figura 4.5 - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no fígado e o comprimento total dos exemplares de peixe-espada-preto

A visualização da Figura 4.5 permite verificar que as concentrações de Hg total no fígado aumentam linearmente com o comprimento total dos exemplares, ou seja, ocorre um aumento nos teores de Hg total no fígado dos exemplares com o respectivo crescimento em comprimento. No entanto, as análises de variância (ANOVA) e os respectivos testes F, revelam que apenas a regressão linear da totalidade dos exemplares é significativa ( $p<0.05$ ), provavelmente devido ao maior número de indivíduos ( $n=20$ ), comparativamente às regressões lineares relativas aos machos ( $n=10$ ) e às fêmeas ( $n=10$ ).

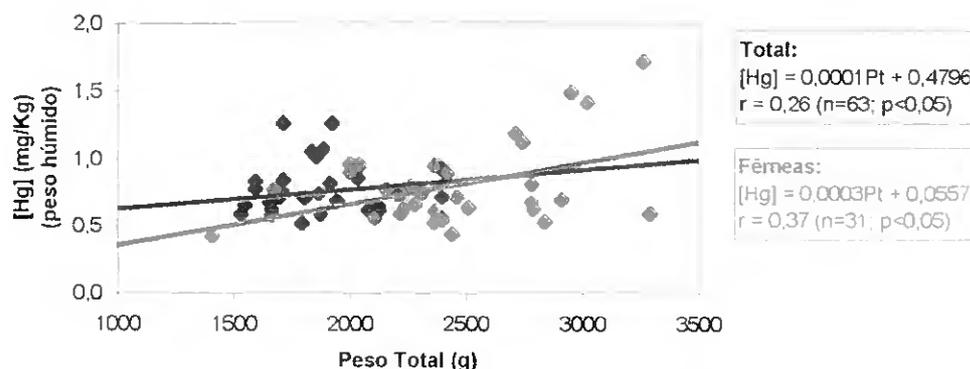


**Figura 4.6** - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) nas gónadas e o comprimento total dos exemplares de peixe-espada-preto

Da observação da Figura 4.6 constata-se que as concentrações de Hg total nas gónadas aumentam linearmente com o comprimento total dos exemplares, ou seja, ocorre um incremento nas concentrações de Hg total nas gónadas com o crescimento em comprimento dos indivíduos. No entanto, as análises de variância (ANOVA) e os respectivos testes F, revelam que apenas as regressões lineares relativas aos machos e à totalidade dos exemplares são significativas ( $p<0,05$ ), sendo os seus coeficientes de correlação ( $r$ ) ligeiramente distintos (machos:  $r=0,72$ ; total:  $r=0,56$ ).

#### 4.5.2 - Relações Funcionais: Peso Total / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares

A relação funcional entre o peso total e as concentrações de Hg total (peso húmido) no músculo dos exemplares (em separado para cada sexo), encontra-se representada na Figura 4.7, apresentada seguidamente:



**Figura 4.7** - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no músculo e o peso total dos exemplares de peixe-espada-preto

A Figura 4.7 permite verificar que apenas existem relações funcionais entre o peso total e a concentração de Hg total no músculo dos exemplares fêmeas e da totalidade dos exemplares, cujas respectivas regressões lineares revelam que as concentrações de Hg total no músculo aumentam linearmente com o peso total dos exemplares. Ambas as regressões lineares possuem coeficientes de correlação relativamente reduzidos (total:  $r=0,26$ ; fêmeas:  $r=0,37$ ), para um mesmo nível de significância (ANOVA: total e fêmeas -  $p<0,05$ ).

As relações funcionais entre o peso total e as concentrações de Hg total (peso húmido) no fígado e nas gónadas (em separado para cada sexo), não revelaram a existência de qualquer relação linear estatisticamente significativa entre os referidos parâmetros ( $p<0,05$ ).

#### 4.5.3 - Relações Funcionais: Peso dos Órgãos / Concentração de Mercúrio Total no Fígado e Gónadas dos Exemplares

A relação entre o peso das gónadas e as concentrações de Hg total (peso húmido) nestes órgãos reprodutores (em separado para cada sexo), encontra-se representada na Figura 4.8, apresentada seguidamente:



Figura 4.8 - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) nas gónadas e o peso das gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto

Da observação da Figura 4.8 constata-se que as concentrações de Hg total nas gónadas dos exemplares machos diminuem linearmente com o aumento de peso dos órgãos reprodutores, sendo o coeficiente de correlação da respectiva regressão linear relativamente elevado ( $r=0.67$ ). Pelo contrário, não existem quaisquer relações lineares estatisticamente significativas ( $p<0.05$ ) entre a concentração de Hg total nas gónadas e o peso destes órgãos nos exemplares fêmeas e na totalidade dos exemplares.

As relações funcionais entre o peso do fígado dos exemplares e as concentrações de Hg total (peso húmido) neste órgão (em separado para cada sexo), não revelaram a existência de qualquer relação linear estatisticamente significativa entre os referidos parâmetros ( $p<0.05$ ).

#### 4.5.4 - Relações Funcionais: Idade / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares

As relações funcionais entre a idade dos exemplares determinada através da aplicação da equação de von Bertalanffy (Tabela IV - Anexo II) e as concentrações de Hg total (peso húmido) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares (em separado para cada sexo), encontram-se representadas nas Figura 4.9 a 4.11, apresentadas seguidamente:

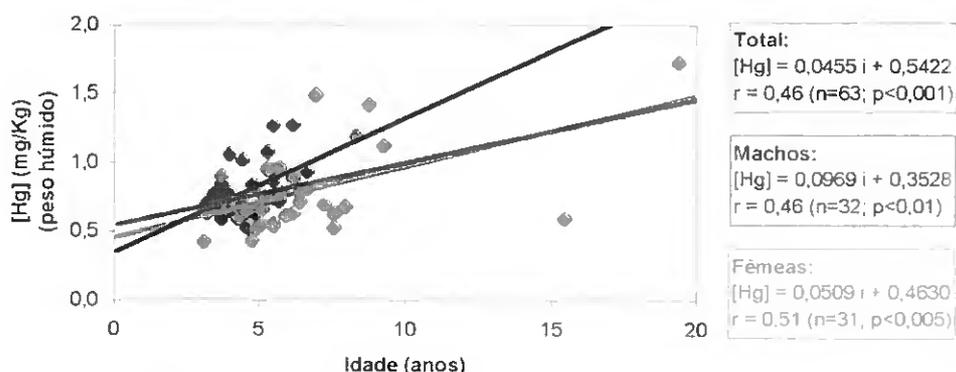


Figura 4.9 - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no músculo e a idade dos exemplares de peixe-espada-preto

A análise da Figura 4.9 permite verificar que as concentrações de Hg total no músculo aumentam linearmente com a idade dos exemplares, ou seja, com o respectivo envelhecimento. Os coeficientes de correlação ( $r$ ) das diversas regressões lineares são muito semelhantes (total:  $r=0.46$ ; machos:  $r=0.46$ ; fêmeas:  $r=0.51$ ), enquanto que as análises de variância (ANOVA) e os respectivos testes F revelam que os níveis de significância das regressões lineares são muito elevados, sendo mais significativo na regressão linear da totalidade dos exemplares ( $p<0.001$ ), comparativamente às regressões lineares das fêmeas ( $p<0.005$ ) e dos machos ( $p<0.01$ ).

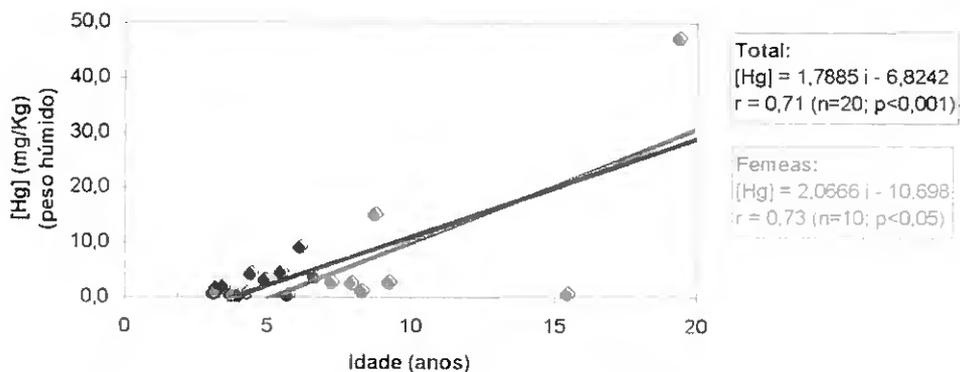


Figura 4.10 - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no fígado e a idade dos exemplares de peixe-espada-preto

Da visualização da Figura 4.10 constata-se que as concentrações de Hg total no fígado aumentam linearmente com a idade dos exemplares fêmeas ( $r=0.73$ ;  $p<0.05$ ) e com a idade do conjunto total dos exemplares (machos e fêmeas:  $r=0.71$ ;  $p<0.001$ ), ou seja, ocorre um incremento progressivo nos teores de Hg total no fígado com o envelhecimento dos exemplares desta espécie. Pelo contrário, não existe qualquer relação funcional estatisticamente significativa ( $p<0.05$ ) entre o teor de Hg total no fígado e a idade dos exemplares machos de peixe-espada-preto.

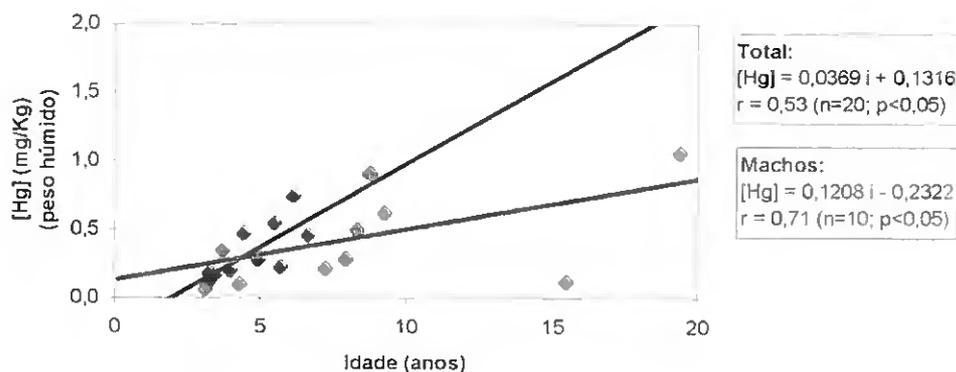


Figura 4.11 - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) nas gónadas e a idade dos exemplares de peixe-espada-preto

A Figura 4.11 permite verificar que as concentrações de Hg total nas gónadas aumentam linearmente com a idade dos exemplares, ou seja, ocorre um aumento progressivo nos teores de Hg total nas gónadas dos exemplares de ambos os sexos com o envelhecimento dos indivíduos. No entanto, as regressões lineares apenas são estatisticamente significativas no caso dos machos ( $r=0.71$ ;  $p<0.05$ ) e na totalidade dos exemplares (machos e fêmeas:  $r=0.53$ ;  $p<0.05$ ).

#### 4.5.5 - Relações Funcionais: Estado de Maturação / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares

As relações funcionais entre o estado de maturação sexual dos indivíduos (Tabela I - Anexo II) e as concentrações de Hg total (peso húmido) no músculo e nas gónadas dos exemplares (em separado para cada sexo), encontram-se representadas nas Figuras 4.12 e 4.13, apresentadas seguidamente:

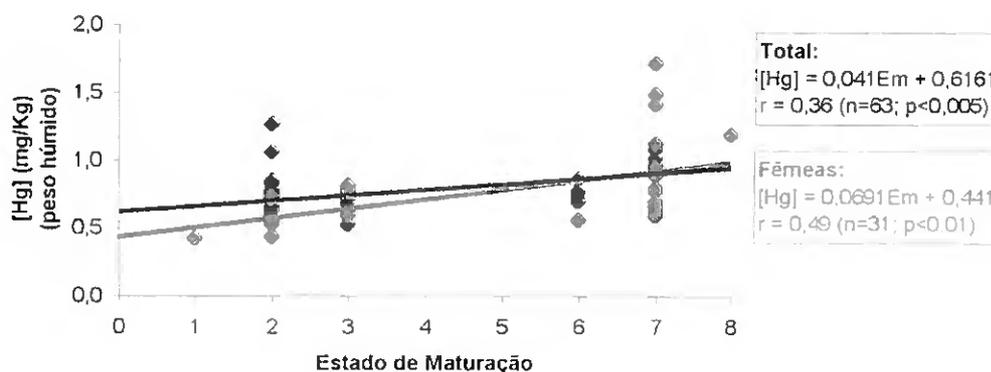


Figura 4.12 - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no músculo e o estado de maturação dos exemplares de peixe-espada-preto

Da análise da Figura 4.12 verifica-se que as concentrações de Hg total no músculo aumentam linearmente com o estado de maturação sexual das fêmeas ( $r=0.49$ ;  $p<0.01$ ) e da totalidade dos exemplares ( $r=0.36$ ;  $p<0.005$ ), ou seja, ocorre um incremento nos teores de Hg total no músculo com a maturação das gónadas dos referidos exemplares. Em oposição, não existe qualquer regressão linear estatisticamente significativa ( $p<0.05$ ) entre as concentrações de Hg total no músculo dos exemplares machos e os respectivos estados de maturação.

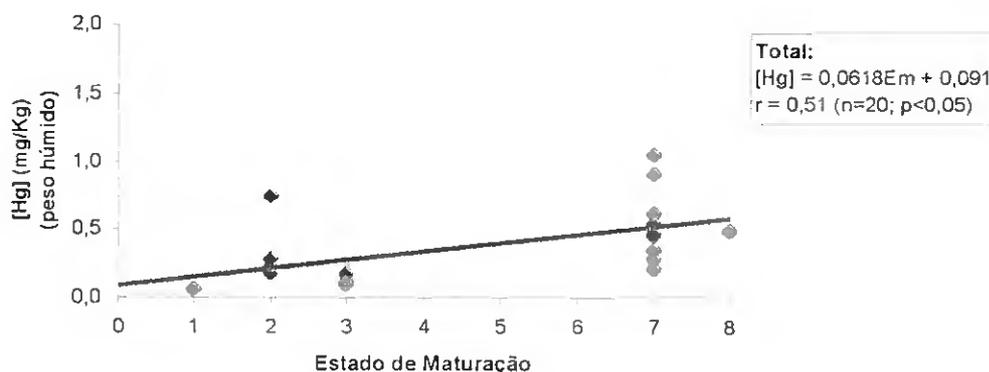


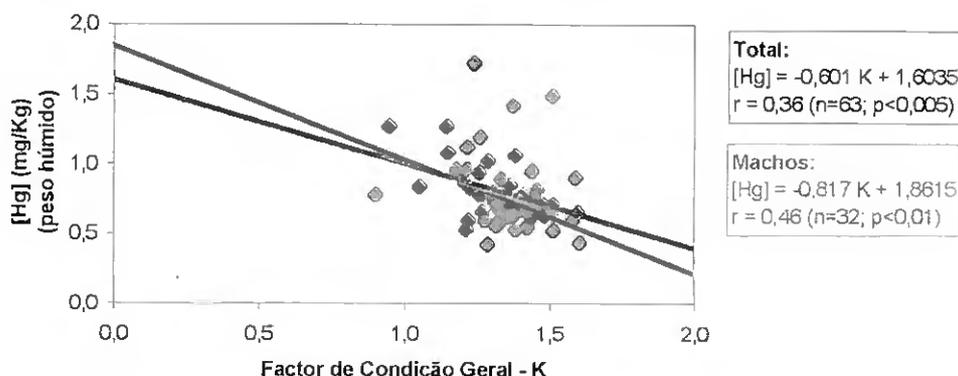
Figura 4.13 - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) nas gónadas e o estado de maturação dos exemplares de peixe-espada-preto

Através da observação da Figura 4.13 constata-se que as concentrações de Hg total nas gónadas apenas aumentam linearmente com o estado de maturação do total dos exemplares ( $r=0.51$ ;  $p<0.05$ ), ou seja, apenas quando são tratados exemplares machos e fêmeas em conjunto, ocorre um aumento nos teores de Hg total nas gónadas com a maturação sexual exemplares. Pelo contrário, não existem quaisquer relações funcionais estatisticamente significativas ( $p<0.05$ ) entre o estado de maturação sexual e os teores de Hg total nas gónadas dos machos e das fêmeas.

As relações funcionais entre o estado de maturação sexual e as concentrações de Hg total (peso húmido) no fígado dos exemplares (separado para cada sexo), não revelaram a existência de qualquer relação linear estatisticamente significativa entre os referidos parâmetros ( $p<0.05$ ).

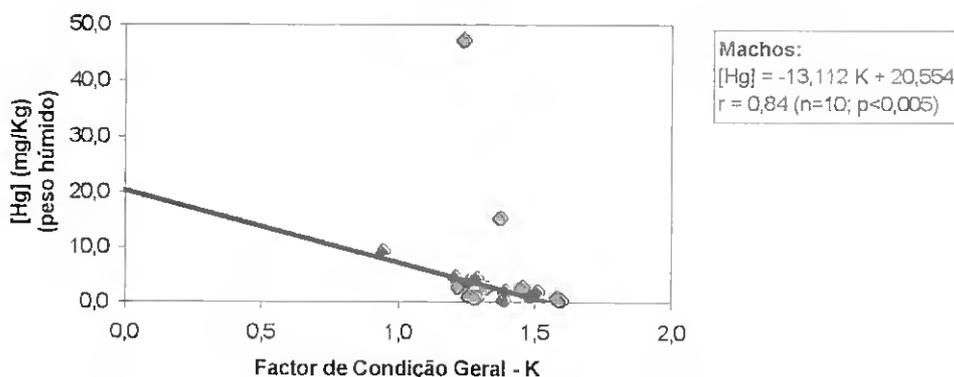
#### 4.5.6 - Relações Funcionais: Índices de Condição / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares

Os resultados obtidos na avaliação dos índices de condição fisiológica dos exemplares de peixe-espada-preto (Factor de Condição Geral - K; Índice Hepatosomático adaptado - I.H.S.; Índice Gonadosomático adaptado - I.G.S.), encontram-se compilados na Tabela V (Anexo II). As relações funcionais entre o factor de condição geral (K) e as concentrações de Hg total (peso húmido) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares (em separado para cada sexo), encontram-se representadas nas Figuras 4.14 a 4.16, apresentadas seguidamente:



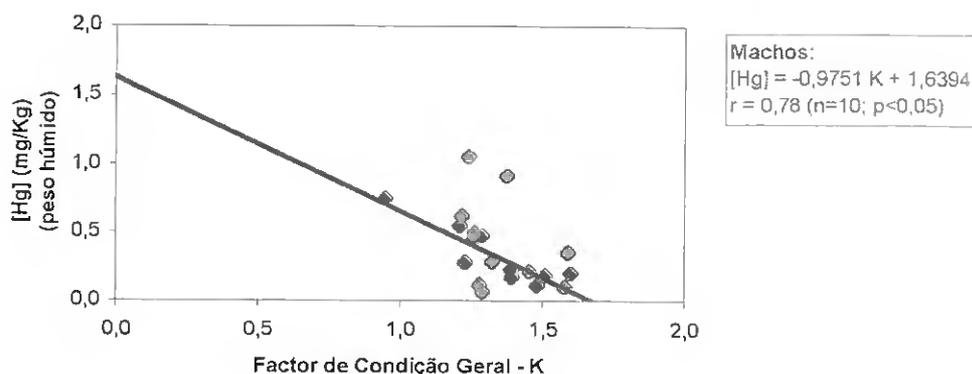
**Figura 4.14** - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no músculo e o factor de condição geral (K) dos exemplares de peixe-espada-preto

A observação da Figura 4.14 permite constatar uma diminuição linear do factor de condição fisiológica geral (K) com aumento das concentrações de Hg total no músculo dos machos ( $r=0.46$ ;  $p<0.01$ ) e do conjunto total dos exemplares (machos e fêmeas:  $r=0.36$ ;  $p<0.005$ ). Adicionalmente, não existe qualquer relação funcional estatisticamente significativa ( $p<0.05$ ) entre o índice de condição (K) e as concentrações de Hg total no músculo das fêmeas.



**Figura 4.15** - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) no fígado e o factor de condição geral (K) dos exemplares de peixe-espada-preto

Da visualização da Figura 4.15 constata-se a ocorrência de uma diminuição linear do factor de condição geral (K) com aumento dos teores de Hg total no fígado dos machos ( $r=0.84$ ;  $p<0.005$ ). Em oposição, não existe relação funcional estatisticamente significativa para as concentrações de Hg total no fígado das fêmeas, cujo teor aumenta independentemente do factor de condição (K), pelo que, analogamente, não existe também qualquer relação entre o factor de condição geral (K) e as concentrações de Hg total no fígado da totalidade dos exemplares (machos e fêmeas).



**Figura 4.16** - Relação entre a concentração de Hg total (peso húmido) nas gónadas e o factor de condição geral (K) dos exemplares de peixe-espada-preto

Na análise da Figura 4.16, constata-se a ocorrência de uma nítida diminuição do factor de condição geral (K) com aumento das concentrações de Hg total nas gónadas dos machos ( $r=0.78$ ;  $p<0.05$ ). Pelo contrário, e tal como no caso imediatamente anterior, não existem quaisquer relações funcionais estatisticamente significativas ( $p<0.05$ ) entre o factor de condição geral (K) e as concentrações de Hg total nas gónadas das fêmeas e do conjunto total dos exemplares, cujos teores de Hg total aumentam independentemente deste índice de condição fisiológica (K).

As regressões lineares entre o índice hepatossomático adaptado (I.H.S.), o índice gonadossomático adaptado (I.G.S.) e as concentrações de Hg total (peso húmido) no músculo, fígado e gónadas dos exemplares (em separado para cada sexo), não revelaram a existência de qualquer relação estatisticamente significativa entre os referidos parâmetros ( $p<0.05$ ).

## 5 – DISCUSSÃO

### 5.1 - Concentrações de Mercúrio Total das Amostras

Um dos objectivos deste estudo consiste na comparação dos teores de Hg total registados no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto com os limites admissíveis de Hg total no pescado recomendados por diversos organismos e entidades internacionais e com os limites legais de contaminação por Hg total no pescado estabelecidos pela legislação comunitária, posteriormente transposta para a legislação nacional (Tabela 5.1).

Os resultados do presente estudo foram comparados com a classificação do grau de contaminação do músculo pescado por Hg (categorias: inferior: <0.1 mg Hg/Kg - peso húmido; média: 0.1 - 0.3 mg Hg/Kg - peso húmido; superior: >0.3 mg Hg/Kg - peso húmido), proposta pelo Grupo de Monitorização Conjunta (JMG) das Comissões de Oslo e Paris (OSPARCOM) (O'Sullivan *et al.*, 1991; Mathieson & McLusky, 1995). Igualmente de acordo com as sugestões propostas por este organismo internacional (OSPARCOM), os resultados deste estudo foram comparados com os Objectivos de Qualidade Ambiental (EQO's) de Hg total no pescado para consumo humano adoptados pela Comunidade Europeia (músculo: <0.3 mg Hg/Kg - peso húmido; fígado: <1.0 mg Hg/Kg - peso húmido) (Gerlach, 1981; Journal Officiel des Communautés Européennes, 1982; Clark, 1986, 1992; Clark & Topping, 1989; O'Sullivan *et al.*, 1991; Dixon & Jones, 1994; Mathieson & McLusky, 1995) (Tabela 5.1).

Ainda no âmbito das recomendações propostas por organismos e entidades internacionais, os resultados do presente estudo foram comparados com o valor de referência sugerido pela Organização Mundial de Saúde (WHO) como limite legal de Hg total no pescado (0.5 mg Hg/Kg - peso húmido) (Monteiro & Lopes, 1990; Horvat *et al.*, 1993b; Andersen & Depledge, 1997). valor correspondente ao Nível de Acção Genérico para as partes comestíveis do pescado (<0.5 mg Hg/Kg - peso húmido), adoptado pela Comunidade Europeia (Decisão da Comunidade 93/351) (Collings *et al.*, 1996; Raldúa & Pedrocchi, 1996; Cronin *et al.*, 1998) e transposto para a legislação da grande maioria dos países comunitários (Schuhmacher *et al.*, 1994) (Tabela 5.1).

No respeitante à legislação nacional, os resultados do presente estudo foram comparados com a Portaria Nº 226/90 e com o Decreto-Lei Nº 3/90, relativos à tolerância máxima admissível de Hg total nas partes comestíveis do pescado para consumo humano (<1.0 mg Hg/Kg - peso húmido) (Diário da República, 1990) (Tabela 5.1).

**Tabela 5.1** - Comparação das concentrações de Hg total no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto com os limites legais recomendados por organismos e entidades internacionais e estabelecidos na legislação comunitária e nacional relativa à contaminação por Hg total no pescado

Limites Legais	(peso húmido)	Músculo		Fígado		Gónadas	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
OSPARCOM / CEE (EQO)	<0,1 mg/Kg	0	0%	0	0%	1	5%
	0,1 - 0,3 mg/Kg	0	0%	0	0%	10	50%
	>0,3 mg/Kg	63	100%	20	100%	9	45%
WHO / CEE	<0,5 mg/Kg	2	3%	2	10%	15	75%
	>0,5 mg/kg	61	97%	18	90%	5	25%
Portugal	<1,0 mg/Kg	53	84%	6	30%	19	95%
	>1,0 mg/Kg	10	16%	14	70%	1	5%

A comparação das concentrações de Hg total registadas nas análises dos tecidos e órgãos dos exemplares de peixe-espada-preto com os limites admissíveis de contaminação por Hg total no pescado, permite constatar a existência de diferenças assinaláveis e muito significativas no grau de contaminação por Hg total do músculo, fígado e gónadas dos exemplares desta espécie.

### 5.1.1 - Músculo

Em termos da classificação do grau de contaminação do pescado sugerido para os países OSPARCOM e adoptado pela CEE como Objectivo de Qualidade Ambiental (EQO) do pescado para consumo humano (0.3 mg/Kg - peso húmido), a nível individual, a totalidade das amostras de músculo estão classificadas na categoria superior (>0.3 mg/Kg - peso húmido) (Tabela 5.I). Ainda em termos individuais, é possível verificar que 97% das amostras de músculo possuem níveis de Hg total que ultrapassam o padrão sanitário recomendado pela WHO (0.5 mg Hg/Kg - peso húmido) e definido pela CEE como Nível de Acção Genérico para o pescado destinado ao consumo humano (0.5 mg Hg/Kg - peso húmido) (Tabela 5.I).

Apenas 16% destas amostras de músculo tinham concentrações de Hg total superiores ao limite máximo admissível de contaminação do pescado por Hg total (1.0 mg/Kg - peso húmido), definido na legislação nacional específica (Portaria Nº 226/90 e Decreto-Lei Nº 3/90) (Tabela 5.I). Esta percentagem de amostras de músculo com teores de Hg total acima do limite legal (16%) é inferior ao resultado obtido nas análises realizadas em 1995 e 1996 pelo Departamento de Oceanografia e Pescas da Universidade dos Açores (e cujos dados não se encontram publicados), nas quais 32% das amostras de músculo de peixe-espada-preto registaram um teor de Hg total superior ao limite máximo admissível para o pescado (1.0 mg/Kg - peso húmido) (DN, 1996).

De um modo geral, em numerosos estudos sobre os teores de Hg total do músculo de várias espécies de peixes marinhos, os limites de contaminação são raramente ultrapassados, e neste âmbito podem ser referidos a título demonstrativo os estudos realizados por vários autores, nomeadamente Dixon & Jones (1994), Schuhmacher *et al.* (1994) e Andersen & Depledge (1997). No entanto, o registo de concentrações de Hg total que em termos individuais ultrapassam muito frequentemente os limites legais é habitual no caso dos grandes predadores do oceano, podendo ser mencionados a título exemplificativo, alguns estudos realizados por Hall *et al.* (1977), Gerlach (1981) e Monteiro & Lopes (1990) (Tabela 5.II).

Tabela 5.II - Comparação das concentrações de Hg total no músculo dos exemplares de peixe-espada-preto com as concentrações de Hg total no músculo de várias espécies de peixes

Espécie	Local	>0.3 mg/Kg	>0.5 mg/Kg	>1.0 mg/Kg	Referência
Várias espécies	Inglaterra	2.1%	-	-	Dixon & Jones (1994)
Várias espécies	Espanha	22%	10%	3%	Schuhmacher <i>et al.</i> (1994)
Várias espécies	Açores	-	6.5% a 38%	-	Andersen & Depledge (1997)
Cação <i>Squalus acanthias</i>	Pacífico NE	-	72% a 93%	-	Hall <i>et al.</i> (1977)
Tubarão <i>Galeorhinus sp.</i>	Austrália	-	81%	-	Gerlach (1981)
Espadarte <i>Xiphias gladius</i>	Açores	-	71%	-	Monteiro & Lopes (1990)
Peixe-espada-preto <i>Aphanopus carbo</i>	Arquipélago da Madeira	100%	97%	16%	Vasconcelos (1999) * (este estudo)

A concentração média de Hg total no músculo dos exemplares de peixe-espada-preto (0.80 mg Hg/Kg - peso húmido) (Tabela 4.III) é relativamente alta, sendo muito superior aos níveis de referência ("background levels") de Hg total no músculo do pescado de águas despoluídas, os quais são geralmente inferiores a 0.2 mg Hg/Kg (Raldúa & Pedrocchi, 1996).

Esta concentração média de Hg total no músculo é bastante superior ao nível de referência sugerido pela OSPARCOM e adoptado pela CEE como Objectivo de Qualidade Ambiental (EQO) no pescado para consumo humano (0.3 mg/Kg - peso húmido) e superior ao limite de contaminação por Hg total no pescado, proposto pela WHO e adoptado pela CEE como Nível de Acção Genérico (0.5 mg/Kg - peso húmido). No entanto, esta concentração média de Hg total no tecido muscular é ainda ligeiramente inferior ao limite de contaminação estabelecido na legislação nacional, particularmente na Portaria Nº 226/90 e no Decreto-Lei Nº 3/90, relativos ao nível máximo admissível de Hg total na parte edível do pescado (1.0 mg Hg/Kg - peso húmido).

Em termos de variabilidade das concentrações médias de Hg total, o músculo apresentou um coeficiente de variação reduzido (C.V. = 31.8%), e que reflecte uma certa estabilidade nos teores de Hg total (0.43 - 1.72 mg Hg/Kg - peso húmido) (Tabela 4.III). Esta reduzida variabilidade nos teores médios de Hg total no músculo dos exemplares desta espécie pode estar eventualmente relacionada com os tamanhos dos exemplares, e mais concretamente, com o intervalo de comprimentos relativamente limitado dos indivíduos analisados, devido à impossibilidade de captura de exemplares de reduzidas dimensões (a qual, tal como referido anteriormente, é característica desta pescaria) (Nunes, 1974; Fernandes, 1984; INIP, 1984a,b,c; Leite, 1988, 1989; Martins *et al.*, 1989a,b, 1990; Morales-Nin & Carvalho, 1996).

Existem relativamente poucos estudos acerca do grau de contaminação por Hg total dos exemplares de peixe-espada-preto. No entanto, os resultados registados nas análises do músculo realizadas no presente estudo, quer em termos de valores médios (0.80 mg Hg/Kg - peso húmido), quer em termos de valores mínimos e máximos (0.43 - 1.72 mg/Kg - peso húmido) (Tabela 4.III), estão perfeitamente enquadrados e são comparáveis com os escassos dados disponíveis.

Neste âmbito, o primeiro estudo conhecido, foi realizado em 1980 pelo Instituto Nacional de Investigação das Pescas (INIP), o qual revelou que as amostras de músculo dos exemplares desta espécie apresentaram teores de Hg total superiores aos detectados na maioria das espécies de peixes originárias de zonas oceânicas e não poluídas, mas ainda assim inferiores aos limites máximos recomendados (1.0 mg Hg/Kg - peso húmido) (DN, 1996). Do mesmo modo, segundo estudos realizados durante 1995 e 1996 pelo Departamento de Oceanografia e Pescas da Universidade dos Açores (e cujos dados não se encontram publicados), o teor médio de Hg total registado no músculo de 72 exemplares de peixe-espada-preto foi de 0.90 mg Hg/Kg - peso húmido (0.33 - 1.71 mg/Kg - peso húmido) (DN, 1996).

Devido à grande variabilidade nas concentrações de Hg total de diferentes espécies de peixes, a comparação de resultados ao nível inter-específico é extremamente complexa e delicada (Denton & Burdon-Jones, 1986; Barak & Mason, 1990b; Grieb *et al.*, 1990; Talbot, 1990; Abel, 1991; Hornung, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992; Dixon & Jones, 1994; Diaz *et al.*, 1994; Andersen & Depledge, 1997), pelo que apenas devem ser feitas comparações entre espécies relativamente semelhantes, quer em termos de habitat, quer em termos taxonómicos, e por vezes, mesmo as comparações inter-específicas numa base filogenética são bastante complexas.

Por outro lado, visto que o Hg é um poluente cumulativo com o tempo, de um modo geral as concentrações de Hg total variam em função da idade dos peixes (Hildebrand *et al.*, 1980; McFarlane & Franzin, 1980; Clark & Topping, 1989; Monteiro & Lopes, 1990; Morales-Nin & Fortuño, 1990; Verta, 1990; Monteiro *et al.*, 1991; O'Sullivan *et al.*, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992; Monteiro *et al.*, 1996; Cronin *et al.*, 1998), pelo que apenas devem ser feitas comparações inter-específicas entre espécies com aproximadamente a mesma idade.

Deste modo, e devido à escassez de estudos acerca dos teores de Hg total dos exemplares de peixe-espada-preto, os resultados obtidos no presente estudo apenas podem ser validamente comparados com os resultados registados noutras espécies de peixes de profundidade, e em particular, com os resultados disponíveis acerca do peixe-espada-branco (*Lepidopus caudatus*). Com efeito, o peixe-espada-branco é uma espécie com habitat relativamente semelhante (espécie mesopelágica, presente na plataforma e no declive da plataforma continental, até cerca de 450 metros de profundidade - Andersen & Depledge, 1997), filogeneticamente muito aproximada (ambas as espécies pertencem à Família *Trichiuridae*), com uma longevidade bastante semelhante e com composição química idêntica (Martins *et al.*, 1987), factos que permitem a comparação dos resultados registados no presente estudo com os resultados obtidos nalguns estudos realizados com a referida espécie.

No respeitante à comparação dos resultados obtidos neste estudo com os resultados registados noutras espécies de peixes de profundidade, num estudo muito recente, realizado no Atlântico Norte (Cronin *et al.*, 1998), a concentração média de Hg total nos peixes de profundidade (*Coryphoenoides rupestris*, *C. mediterranea*, *C. armatus*, *Coelorhynchus labiatus*, *Hoplostethus atlanticus* e *Macrourus berglax*) foi sempre inferior a 0.5 mg Hg/Kg, e apenas nalguns exemplares de metade das espécies foi superior a 0.5 mg Hg/Kg, mas sempre inferior a 1.0 mg Hg/Kg.

No entanto, convém referir que, de um modo geral, os níveis de Hg total nos tecidos dos peixes predadores de profundidade são normalmente elevados. A título meramente exemplificativo, podem ser mencionados alguns estudos realizados com tubarões de profundidade, nomeadamente no Mediterrâneo Oriental (*Centrophorus granulosus* e *Galeus melastomus*: 1300 - 1500 metros) (Hornung *et al.*, 1993, 1994) e na Austrália (*Deania calcea*, *Prionace glauca* e *Centroscymnus* sp.) (Davenport, 1995), nos quais foram detectados níveis muito elevados de Hg total nos exemplares, nalguns casos demasiado elevados para a utilização destas espécies na alimentação humana.

Em termos de comparação com o peixe-espada-branco (*Lepidopus caudatus*), num estudo realizado nas águas costeiras da Irlanda (O'Sullivan *et al.*, 1991), os exemplares desta espécie apresentaram um teor médio de Hg total no músculo de 0.47 mg Hg/Kg (peso húmido), o qual é ligeiramente inferior ao teor médio de Hg total no músculo do peixe-espada-preto neste estudo (0.80 mg/Kg - peso húmido), e que foi atribuído ao tipo de fisiologia característico da espécie.

Noutro estudo, efectuado no Arquipélago das Canárias (Diaz *et al.*, 1994), os exemplares de peixe-espada-branco (*Lepidopus caudatus*) registaram as maiores concentrações de Hg total de todas as espécies analisadas, com um teor médio de Hg total no músculo de 0.97 mg Hg/Kg - (peso húmido) (0.40 - 1.82 mg Hg/Kg - peso húmido). De referir ainda que, neste estudo, cerca de 15% dos exemplares desta espécie possuíam concentrações de Hg total no músculo superiores a 1.0 mg Hg/Kg (peso húmido).

Finalmente, num estudo realizado nos Açores, os exemplares de peixe-espada-branco (*Lepidopus caudatus*) registaram um teor médio de Hg total no tecido muscular de 0.277 mg Hg/Kg (0.123 - 0.590 mg Hg/Kg - peso húmido), sendo uma das espécies com maior teor médio de Hg total do conjunto de espécies analisadas. De salientar que, neste estudo, 8.3% dos exemplares de peixe-espada-branco apresentaram teores de Hg total no músculo superiores a 0.5 mg Hg/Kg (Andersen & Depledge, 1997).

Perante estes resultados, é possível constatar que estas espécies (peixe-espada-branco: *Lepidopus caudatus* e peixe-espada-preto: *Aphanopus carbo*) possuem concentrações de Hg total no músculo algo semelhantes e facilmente comparáveis, tanto em termos de valores médios, como em termos de valores extremos (mínimos e máximos). Este facto é provavelmente devido à relativa semelhança de habitat (espécies de profundidade), longevidade e tipo de vida (nomeadamente ao nível da posição na cadeia trófica e dos hábitos alimentares) e ainda devido à elevada proximidade filogenética (ambas as espécies pertencem à Família *Trichiuridae*).

Outro factor que pode eventualmente contribuir para a proximidade nas concentrações de Hg total entre estas duas espécies é a relativa semelhança das respectivas taxas de crescimento. No entanto, provavelmente devido à sua distribuição batimétrica a profundidades relativamente superiores, o peixe-espada-preto possui uma taxa de crescimento ligeiramente menor que outras espécies da Família *Trichiuridae*, (nomeadamente o peixe-espada-branco: *Lepidopus caudatus*) (Morales-Nin & Carvalho, 1996). Este facto está em plena concordância com um padrão geral, nomeadamente o facto das espécies com distribuição batimétrica mais profunda apresentarem geralmente um crescimento mais lento (Morales-Nin & Carvalho, 1996), o qual pode contribuir para que as concentrações de Hg total registadas no músculo do peixe-espada-preto sejam ligeiramente superiores às concentrações obtidas por alguns autores no músculo do peixe-espada-branco.

A comparação das concentrações médias de Hg total entre os sexos dos exemplares de peixe-espada-preto permite verificar que este parâmetro biológico aparentemente não influencia o teor de Hg total no músculo, pois ambos os sexos apresentaram concentrações médias de Hg total extremamente aproximadas (machos = 0.79 mg Hg/Kg; fêmeas = 0.81 mg Hg/Kg) (Tabela 4.IV). Esta ínfima variação dos teores médios de Hg total no músculo consoante o sexo dos indivíduos está provavelmente relacionada com o tamanho dos exemplares amostrados e analisados, pois a menor variabilidade nos machos (C.V. = 24.2%) (Tabela 4.IV) coincide com um intervalo de comprimentos e pesos totais menos abrangente (104 cm - 124 cm / 1540 g - 2402 g) (Tabela 4.I), comparativamente às fêmeas (C.V. = 38.2%) (Tabela 4.IV), com um intervalo de comprimentos e pesos totais ligeiramente mais alargado (103 cm - 138 cm / 1410 g - 3290 g) (Tabela 4.I).

Alguns estudos apontam para a existência de variações no grau de bioacumulação de Hg total consoante o sexo dos indivíduos, facto que é frequentemente atribuído ao crescimento diferencial entre os sexos, ou seja, a diferenças nas taxas de crescimento entre ambos os sexos (Hall *et al.*, 1977; Shultz & Ito, 1979; Monteiro & Lopes, 1990; Verta, 1990; Monteiro *et al.*, 1991). No entanto, existem igualmente exemplos do contrário, ou seja, casos em que o sexo dos indivíduos aparentemente não afecta as concentrações de Hg total no músculo dos exemplares (Pellegrini & Barghigiani, 1989; Marthinsen & Staveland, 1990).

O peixe-espada-preto exhibe um ligeiro crescimento diferencial entre os sexos, pois as fêmeas possuem uma maior taxa de crescimento, ou seja, um crescimento ligeiramente mais rápido que os machos (Morales-Nin & Carvalho, 1996). Por este motivo, e devido ao maior período disponível para a bioacumulação, seria de esperar que nesta espécie os machos possuíssem concentrações de Hg total no músculo ligeiramente superiores às fêmeas.

De facto, de um modo geral, em diversas espécies que exibem crescimento diferencial entre os sexos, quando as fêmeas possuem maior taxa de crescimento, são os machos que apresentam maiores teores de Hg total no músculo (Hall *et al.*, 1977; Monteiro & Lopes, 1990). No entanto, e apesar dos valores serem muitíssimo aproximados, no presente estudo registou-se precisamente o contrário, ou seja, as fêmeas apresentaram uma concentração média de Hg total no músculo muito ligeiramente superior aos machos (fêmeas: 0.81 mg Hg/Kg - peso húmido; machos: 0.79 mg Hg/Kg - peso húmido) (Tabela 4.IV).

Neste caso particular, e apesar da diferença ínfima, a ligeira diferença nas concentrações de Hg total entre os sexos dos exemplares de peixe-espada-preto pode ser devida a diferenças ecológicas e fisiológicas entre os sexos, que provocam uma acumulação de Hg total ligeiramente mais rápida no músculo das fêmeas desta espécie (Monteiro *et al.*, 1991). Efectivamente, alguns autores referem que as ligeiras diferenças nos teores de Hg total entre os sexos ocorrem na idade a partir da qual os peixes tornam-se reprodutivamente activos, pelo que os maiores teores de Hg total no músculo das fêmeas podem ser devidas ao esforço reprodutivo (Nicoletto & Hendricks, 1988).

Adicionalmente, estes níveis de Hg total no músculo das fêmeas podem ser devidos ao aumento da ingestão de alimento para enfrentar as carências fisiológicas associadas à reprodução (Monteiro *et al.*, 1991), pelo que podem existir ligeiras variações sazonais nos níveis de Hg total entre os sexos, associadas aos períodos de desova (Marthinsen & Staveland, 1990). Com efeito, nalgumas espécies, o aumento das taxas de acumulação de Hg total no músculo coincide com uma aceleração das taxas de crescimento, associada a alterações na dieta (MacCrimmon *et al.*, 1983). Por outro lado, a existência de diferenças assinaláveis nas taxas de crescimento entre indivíduos do mesmo sexo pode complicar a análise do processo de bioacumulação do Hg entre os sexos, pois as elevadas taxas de crescimento provocam uma ligeira diluição das concentrações de Hg total por crescimento e aumento de massa dos tecidos (Verta, 1990; Monteiro & Lopes, 1990; Dixon *et al.*, 1994; Andersen & Depledge, 1997).

### 5.1.2 - Fígado

Em termos individuais, é possível verificar que apenas 10% das amostras de fígado dos exemplares de peixe-espada-preto registaram concentrações de Hg total inferiores ao valor recomendado pela WHO como limite de contaminação por Hg total no pescado e adoptado pela CEE como Nível Genérico de Acção para o pescado comestível (0.5 mg Hg/Kg - peso húmido) (Tabela 5.I).

Por outro lado, devido às elevadas concentrações de Hg total no fígado dos exemplares de peixe-espada-preto, 70% das amostras deste órgão ultrapassam o nível de referência para as vísceras do pescado sugerido pela OSPARCOM (1.0 mg Hg/Kg - peso húmido), o qual coincide com o limite legal de contaminação por Hg total no pescado definido na legislação nacional (1.0 mg Hg/Kg - peso húmido) (Tabela 5.I).

Em termos médios, o fígado foi o órgão que apresentou maior concentração de Hg total (5.26 mg/Kg - peso húmido) (Tabela 4.III), a qual é extremamente elevada e muito superior a qualquer valor de referência ou limite legal de contaminação por Hg total no pescado, nomeadamente o nível máximo de contaminação do pescado proposto pela WHO (0.5 mg Hg/Kg - peso húmido) e adoptado pela CEE como Nível de Acção Genérico nas partes edíveis do pescado (0.5 mg Hg/Kg - peso húmido), o padrão sanitário sugerido pela OSPARCOM como nível de referência para as vísceras do pescado (1.0 mg/Kg - peso húmido) e o limite de contaminação por Hg total no pescado estabelecido na legislação nacional (1.0 mg/Kg - peso húmido).

No respeitante à variabilidade dos teores médios de Hg total, os fígados apresentaram igualmente um coeficiente de variação muito elevado (C.V. = 199.7%) (Tabela 4.III), facto que pode estar relacionado com a existência de exemplares com pesos do fígado muito distintos, que podem reflectir-se na acumulação de Hg total nestes órgãos e provocar eventuais fenómenos de diluição das concentrações do poluente por aumento de peso do fígado. No entanto, convém referir que a variação intra-específica das concentrações de Hg total no fígado pode ser extremamente elevada, pelo que, nalguns casos, o fígado é o órgão com maior variabilidade nas concentrações médias de Hg total, podendo inclusivé atingir um factor de variação da ordem de 10x, mesmo em peixes da mesma proveniência e com o mesmo grau de exposição ao Hg (Hornung, 1991).

Estas elevadas concentrações de Hg total no fígado dos exemplares de peixe-espada-preto são aparentemente frequentes nesta espécie, pois também no estudo realizado pelo INIP em 1980, as análises das amostras de fígado de peixe-espada-preto revelaram a existência de teores de Hg total muitíssimo elevados (DN, 1996). Por outro lado, este teor médio de Hg total no fígado dos exemplares de peixe-espada-preto (5.26 mg Hg/Kg - peso húmido) é relativamente semelhante (ainda que ligeiramente superior) aos resultados obtidos em 1995 e 1996 no Departamento de Oceanografia e Pescas da Universidade dos Açores, com um teor médio de 4.52 mg Hg/Kg (peso húmido) no fígado de 63 exemplares desta espécie (DN, 1996).

As elevadas concentrações de Hg total no fígado devem estar provavelmente associadas à sua grande importância nos processos metabólicos dos organismos, fenómeno ainda agravado pelo facto do fígado constituir um órgão extremamente significativo nos processos toxicológicos (McFarlane & Franzin, 1980). Com efeito, de um modo geral, os estudos acerca da bioacumulação de Hg em numerosas espécies de peixes revelam que os maiores teores de Hg total ocorrem no fígado dos exemplares (Gutiérrez & Establier, 1979; Shultz & Ito, 1979; Buggiani & Vannucchi, 1980; Ribeyre & Boudou, 1980; Denton & Burdon-Jones, 1986; Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Hornung, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992; Ghazaly *et al.*, 1992).

No presente caso, o facto da amostragem dos exemplares ter decorrido durante o Inverno (durante o mês de Janeiro), pode ter igualmente contribuído para as elevadas concentrações de Hg total no fígado dos exemplares de peixe-espada-preto. De facto, durante o Inverno, época em que o teor lipídico é mais reduzido, a composição de gordura do fígado afecta a respectiva concentração dos contaminantes (ICES, 1991). Deste modo, o Hg geralmente exerce impactes mais negativos durante o Inverno, devido à maior mobilização das reservas lipídicas contaminadas por este poluente (Wren *et al.*, 1995).

Por outro lado, e apesar de não estar ainda completamente comprovado, o sexo aparenta influenciar a acumulação de Hg nos diferentes órgãos e tecidos dos peixes de algumas espécies (Sadiq, 1992; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1996). No presente estudo, a comparação das concentrações médias de Hg total entre os sexos dos exemplares de peixe-espada-preto permite verificar que este parâmetro aparentemente influencia fortemente o nível de Hg total no fígado, pois os sexos apresentam teores médios de Hg total muito distintos (machos = 3.10 mg Hg/Kg - peso húmido; fêmeas = 7.43 mg Hg/Kg - peso húmido) (Tabela 4.IV).

Esta variação dos teores médios de Hg total no fígado consoante o sexo dos indivíduos está provavelmente relacionada com o tamanho dos exemplares amostrados e analisados, pois a menor variabilidade dos machos (C.V. = 85.5%) (Tabela 4.IV) coincide com um intervalo de comprimentos e pesos totais menos abrangente (104 cm - 124 cm / 1540 g - 2402 g) (Tabela 4.I), comparativamente às fêmeas (C.V. = 197.8%) (Tabela 4.IV), com um intervalo de comprimentos e pesos totais ligeiramente mais alargado (103 cm - 138 cm / 1410 g - 3290 g) (Tabela 4.I).

Simultaneamente, o facto da amostragem dos exemplares de peixe-espada-preto ter decorrido durante o mês de Janeiro, ou seja, em plena época de Inverno e imediatamente após o período de desova desta espécie (compreendido entre os meses de Outubro e Dezembro, com o pico de desova durante o mês de Novembro) (Nunes, 1974; Carvalho, 1985; Martins et al., 1987, 1989a,b, 1990, 1992; Morales-Nin & Carvalho, 1996), pode ter igualmente contribuído para as diferenças nítidas registadas entre os sexos nos respectivos teores de Hg total no fígado.

Com efeito, e particularmente no caso das fêmeas, as exigências fisiológicas do processo de reprodução podem provocar uma aceleração do metabolismo e um incremento das requisições das substâncias energéticas acumuladas preferencialmente no fígado, nomeadamente os lípidos, com o conseqüente aumento das concentrações relativas de Hg total neste órgão. Deste modo, no presente caso, o facto dos exemplares terem sido capturados imediatamente após o período de desova, pode ter implicado uma diminuição da condição fisiológica das fêmeas e a mobilização das reservas lipídicas acumuladas no fígado, com o conseqüente aumento das concentrações relativas de Hg total neste órgão. De facto, alguns estudos referem a ocorrência de variações sazonais nas concentrações de Hg total nos tecidos de algumas espécies de peixes, as quais são praticamente coincidentes com os períodos de desova (Marthinsen & Staveland, 1990).

Finalmente, convém referir que o facto dos teores de Hg total no fígado dos exemplares de peixe-espada-preto serem muito elevados é ainda agravado pela sua grande variabilidade (0.31 - 47.3 mg Hg/Kg - peso húmido, ou seja, um C.V. = 199.7%) (Tabela 4.III), pois num conjunto de exemplares com teores médios de Hg total no fígado já muito elevados, podem existir indivíduos com níveis de Hg total no fígado muitíssimo superiores à média. No entanto, este fenómeno é frequente e pode ser considerado normal, pois em muitas populações, a concentração média de poluente é afectada pela existência de indivíduos significativamente mais velhos e maiores (Abel, 1991), os quais podem possuir uma maior capacidade de regulação do armazenamento e eliminação do Hg (Cronin *et al.*, 1998).

### 5.1.3 - Gónadas

A nível individual, no respeitante à classificação do grau de contaminação do pescado sugerida pela OSPARCOM, é possível constatar que apenas 5% das amostras de gónadas estão na categoria inferior (<0.1 mg/Kg - peso húmido), enquanto que 50% estão classificadas na categoria média (0.1 mg/Kg a 0.3 mg/Kg - peso húmido) e as restantes 45% na categoria superior (>0.3 mg/Kg - peso húmido) (Tabela 5.I). No entanto, é necessário mencionar que o nível de referência sugerido pela OSPARCOM para as vísceras do pescado é de 1.0 mg Hg/Kg (peso húmido), pelo que esta comparação apenas é aceitável visto que as gónadas femininas (ovas) são frequentemente utilizadas na alimentação humana, podendo deste modo o seu grau de contaminação ser comparado com os níveis de referência adoptados para o músculo do pescado.

Ainda em termos individuais, é possível verificar que 75% das amostras de gónadas possuem concentrações de Hg total inferiores ao limite de contaminação por Hg total no pescado recomendado pela WHO (0.5 mg Hg/Kg) e adoptado pela CEE como Nível de Acção Genérico nas partes comestíveis do pescado destinado ao consumo humano (0.5 mg Hg/Kg) (Tabela 5.I). Do mesmo modo, devido aos reduzidos teores de Hg total registados na maioria das amostras, 95% das gónadas apresentaram concentrações de Hg total inferiores ao limite máximo de contaminação do pescado por Hg total aplicado na legislação nacional (1.0 mg Hg/Kg) (Tabela 5.1).

Em termos médios, as gónadas foram os órgãos que apresentaram menor concentração de Hg total (0.38 mg/Kg - peso húmido) (Tabela 4.III), a qual é ligeiramente superior ao nível de referência da OSPARCOM, adoptado pela CEE como Objectivo de Qualidade Ambiental (EQO) para o Hg total no pescado para consumo humano (0.3 mg/Kg - peso húmido), mas encontra-se abaixo do limite de contaminação por Hg total no pescado proposto pela WHO (0.5 mg Hg/Kg - peso húmido) e adoptado pela CEE como Nível de Acção Genérico para o pescado comestível (0.5 mg/Kg - peso húmido). Adicionalmente, esta concentração média de Hg total nas gónadas (0.38 mg Hg/Kg - peso húmido) (Tabela 4.III), é ainda inferior ao padrão sanitário sugerido pela OSPARCOM como nível de referência para as vísceras do pescado (1.0 mg/Kg - peso húmido), valor coincidente com o limite máximo de contaminação do pescado por Hg total estabelecido na legislação nacional (1.0 mg Hg/Kg - peso húmido).

Em termos de variabilidade dos teores médios de Hg total, as gónadas apresentaram um coeficiente de variação bastante elevado (C.V. = 73.3%) (Tabela 4.III), facto que pode estar eventualmente relacionado com a existência de exemplares com estados de maturação muito distintos, ou seja, com estados de desenvolvimento das gónadas muito variáveis, e que podem reflectir-se na duração da exposição e acumulação de Hg total nestes órgãos reprodutores. Por outro lado, com o desenvolvimento e maturação das gónadas, pode ocorrer uma diluição das concentrações de Hg total devido ao crescimento e aumento de peso destes órgãos reprodutores.

O facto das gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto possuírem teores de Hg total relativamente reduzidos, está de acordo com a grande maioria da bibliografia da especialidade. De facto, de um modo geral, as gónadas dos peixes apresentam normalmente níveis de Hg total bastante reduzidos, existindo diversos estudos de várias espécies de peixes em que as gónadas constituem mesmo os órgãos com menor grau de acumulação de Hg total (Shultz & Ito, 1979; Hernández-Hernández et al., 1990; Hornung, 1991).

Por outro lado, o reduzido teor médio de Hg total nas gónadas de peixe-espada-preto (0.38 mg Hg/Kg - peso húmido) (Tabela 4.III), além de característico da maioria dos peixes, é aparentemente frequente nesta espécie, pois nas análises efectuadas em 1995 e 1996 no Departamento de Oceanografia e Pescas da Universidade dos Açores, as gónadas femininas (ovas) de peixe-espada-preto revelaram igualmente teores de Hg total bastante reduzidos (DN, 1996).

Os níveis reduzidos de Hg total nas gónadas dos peixes, e nesta espécie em particular, devem estar eventualmente associadas à curta duração da exposição destes órgãos ao Hg. Com efeito, visto que o Hg é um poluente cumulativo ao longo do tempo, e tendo em conta que os órgãos reprodutores possuem um desenvolvimento periódico e sazonal correspondente aos períodos de maturação, devido ao reduzido período de exposição ao poluente, as gónadas devem possuir um mecanismo diferente de acumulação de Hg total. Adicionalmente, durante as fases de desenvolvimento e maturação, ocorre um aumento muito significativo do peso das gónadas, o qual pode ainda provocar uma diluição das concentrações de Hg total nestes órgãos reprodutores.

A comparação das concentrações médias de Hg total entre os sexos dos exemplares de peixe-espada-preto permite verificar que este parâmetro biológico aparentemente influencia o nível de Hg total nas gónadas, pois os sexos apresentam teores médios de Hg total ligeiramente distintos (machos = 0.34 mg Hg/Kg - peso húmido; fêmeas = 0.42 mg Hg/Kg - peso húmido) (Tabela 4.IV).

Nalguns casos, os níveis de Hg total nas fêmeas podem ser reduzidos pela transferência de Hg para as gónadas maduras (ovas) e embriões em desenvolvimento (Monteiro *et al.*, 1991). No entanto, no presente caso, devido às baixas concentrações de Hg total nas gónadas e ainda devido à reduzida variabilidade entre as gónadas femininas e masculinas dos exemplares de peixe-espada-preto, é pouco provável que este processo contribua muito significativamente para as ligeiras diferenças nas concentrações de Hg total registadas entre as gónadas de ambos os sexos.

Deste modo, no presente caso é mais credível que a ligeira variação dos teores médios de Hg total nas gónadas consoante o sexo dos indivíduos esteja relacionada com o tamanho dos exemplares amostrados e analisados, pois a menor variabilidade nos machos (C.V. = 60.1%) (Tabela 4.IV) coincide com um intervalo de comprimentos e pesos totais menos abrangente (104 cm - 124 cm / 1540 g - 2402 g) (Tabela 4.I), comparativamente às fêmeas (C.V. = 82.0%) (Tabela 4.IV), cujo intervalo de comprimentos e pesos totais é ligeiramente mais alargado (103 cm - 138 cm / 1410 g - 3290 g) (Tabela 4.I).

Simultaneamente, esta variação dos teores médios de Hg total nas gónadas consoante o sexo dos indivíduos, pode igualmente estar associada às diferenças de variabilidade no peso e estado de maturação das gónadas entre os sexos. De facto, as gónadas masculinas possuem um peso médio mais constante (C.V. = 44.1%) e estados de desenvolvimento menos abrangentes (estados de maturação 2 a 7) (Tabela 4.I), comparativamente às fêmeas, que apresentam um peso médio das gónadas bastante mais variável (C.V. = 114.0%) e estados de desenvolvimento ligeiramente mais abrangentes (e avançados) (estados de maturação 1B a 8) (Tabela 4.I).

## 5.2 - Distribuição Corporal de Mercúrio Total nos Exemplares

No presente estudo, em termos individuais, é possível verificar que 80% dos exemplares apresentaram as maiores concentrações de Hg total no fígado, enquanto que apenas 20% dos exemplares apresentaram as maiores concentrações de Hg total no tecido muscular (Figura 4.1). As gónadas apresentaram quase sempre as menores concentrações de Hg total, as quais foram invariavelmente inferiores aos teores de Hg total no músculo, e apenas no caso excepcional de um único indivíduo foram superiores aos teores de Hg total no fígado (Figura 4.1).

Do mesmo modo, mas em termos médios, as análises do músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto revelaram que as concentrações médias de Hg total foram muito variáveis consoante os tecidos e órgãos analisados. Com efeito, a distribuição corporal das concentrações médias de Hg total nos tecidos e órgãos apresentou a seguinte ordem decrescente de importância relativa: fígado >> músculo > gónadas (Figura 4.3).

Esta distribuição diferencial dos níveis de Hg total no tecido muscular, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto é frequente nos peixes, pois apesar da elevada variação inter-específica, os estudos revelam invariavelmente que os níveis de Hg total estão distribuídos desigualmente entre os vários tecidos e órgãos dos peixes (MacCrimmon *et al.*, 1983; Abel, 1991). Com efeito, este tipo de distribuição corporal diferencial das concentrações médias de Hg total (fígado >> músculo > gónadas) está de acordo com a generalidade da bibliografia da especialidade, segundo a qual, em numerosas espécies de peixes, as maiores concentrações médias de Hg total são normalmente registadas no fígado, seguidas do tecido muscular e das gónadas dos exemplares (Shultz & Ito, 1979; Buggiani & Vannucchi, 1980; Ribeyre & Boudou, 1980; Gerlach, 1981; Denton & Burdon-Jones, 1986; Hernández-Hernández *et al.*, 1990; Hornung, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992; Ghazaly *et al.*, 1992).

De facto, o tecido muscular e as gónadas dos exemplares geralmente não possuem tão grande capacidade de acumulação de Hg como outros tecidos e órgãos, nomeadamente o fígado. Este facto é frequentemente atribuído à elevada taxa metabólica do fígado e à sua elevada importância nos processos toxicológicos, constituindo um órgão fundamental na desintoxicação de substâncias associadas ao "stress", pelo que as concentrações de Hg no fígado representam um efeito de desintoxicação por sequestro deste metal neste órgão (McFarlane & Franzin, 1980). Adicionalmente, o facto do fígado ser um órgão de acumulação preferencial do Hg está muito provavelmente relacionado com uma combinação de diversos factores, tais como a distribuição de proteínas específicas, o transporte de Hg numa base diferencial para órgãos particulares e a peculiaridade do transporte de Hg através de determinadas barreiras celulares (Palmisano *et al.*, 1995).

Por outro lado, os diferentes órgãos corporais dos peixes acumulam formas distintas de Hg, e aparentemente, o fígado tende a acumular preferencialmente o Hg inorgânico, enquanto que o tecido muscular tende a acumular preferencialmente o MeHg (Bloom, 1992; Sadiq, 1992). Segundo vários autores, o facto do fígado possuir maiores concentrações de Hg total e menores percentagens de Hg orgânico do que o tecido muscular, sugere que este órgão realiza um processo lento de desmetilação do Hg (mineralização do MeHg) e possui mecanismos de desintoxicação e eliminação deste poluente (Bloom, 1992; Francesconi & Lenanton, 1992; Joiris *et al.*, 1995, 1997; Cronin *et al.*, 1998).

No presente estudo não foi analisada a especiação dos compostos de Hg nos diferentes tecidos e órgãos dos indivíduos, nomeadamente ao nível das concentrações de MeHg no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto. No entanto, as elevadas concentrações médias de Hg total (5.26 mg Hg/Kg - peso húmido) (Tabela 4.III) permitem supor a existência de um processo de desmetilação do Hg orgânico no fígado dos exemplares desta espécie. Contudo, convém referir que o eventual esclarecimento desta especiação apenas é possível através da quantificação das concentrações e das percentagens relativas de Hg orgânico (nomeadamente MeHg), principalmente ao nível do fígado e do tecido muscular dos exemplares de peixe-espada-preto.

### 5.3 - Relações Funcionais: Parâmetros Biológicos / Concentrações de Mercúrio Total

A variabilidade inter e intra-específica nas concentrações de Hg total dos tecidos e órgãos dos peixes resultam do próprio processo de bioacumulação do Hg e da interacção com diversos parâmetros bióticos, tais como o sexo, a longevidade, a idade, o tamanho, a taxa de crescimento, a posição trófica e os hábitos alimentares das espécies (Andersen & Depledge, 1997). No entanto, as relações funcionais entre diversos parâmetros bióticos (nomeadamente o comprimento, o peso, a idade e o sexo dos exemplares) e as concentrações de Hg nos peixes são ainda relativamente pouco compreendidas (Monteiro & Lopes, 1990).

No presente caso, existe um nítido crescimento diferencial entre os sexos e aparentemente existem ligeiras diferenças no grau de bioacumulação de Hg total nos diferentes tecidos e órgãos consoante o sexo dos exemplares de peixe-espada-preto. Por estes motivos, e tal como sugerido por alguns autores (Monteiro *et al.*, 1991; Renzoni *et al.*, 1991), o estabelecimento de relações funcionais entre os principais parâmetros biológicos dos exemplares e as concentrações de Hg total no músculo, fígado e gónadas desta espécie foi efectuado em separado para os sexos.

Os resultados obtidos no estabelecimento destas relações funcionais permitem constatar a existência de algumas correlações lineares distintas (e com diferentes níveis de significância) entre os diversos parâmetros biológicos e as concentrações de Hg total, quer consoante o sexo dos exemplares, quer consoante o tipo de tecido ou órgão analisado (músculo, fígado e gónadas). Contudo, convém mencionar que nalguns casos, não existem quaisquer relações estatisticamente significativas entre os parâmetros biológicos e as concentrações de Hg total, facto provavelmente devido ao tamanho relativamente limitado da amostra (particularmente no caso da separação sexual dos indivíduos) e à impossibilidade de obtenção de exemplares de reduzidas dimensões.

Com efeito, segundo diversos autores, nalguns estudos não foram detectadas correlações funcionais e noutros estudos as correlações funcionais não são muito claras e evidentes, quer devido ao tamanho insuficiente da amostragem, quer devido à fraca representatividade de determinadas classes de comprimento (nomeadamente nos tamanhos extremos dos exemplares) e/ou de classes etárias (Hildebrand *et al.*, 1980; Dixon & Jones, 1994; Mathieson & McLusky, 1995; Joiris *et al.*, 1997; Ali *et al.*, *in press*).

#### 5.3.1 - Relações Funcionais: Comprimento Total / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares

A regressão linear: comprimento total/[Hg]<sub>músculo</sub> (Figura 4.4) apresenta uma correlação positiva e altamente significativa ( $r=0.43$ ;  $p<0.001$ ), facto que revela que as concentrações de Hg total no músculo aumentam linearmente com o crescimento em comprimento dos exemplares. Com efeito, de um modo geral, o comprimento dos peixes é um dos principais factores bióticos que controlam o grau de contaminação dos tecidos dos peixes (Cossa *et al.*, 1992), sendo mesmo considerado, nalguns casos, o factor biótico mais importante na acumulação de Hg total nos peixes (Barak & Mason, 1990a; Hornung, 1991).

De facto, a generalidade da bibliografia refere a existência de relações funcionais positivas e significativas entre estes parâmetros, que reflectem um aumento linear das concentrações de Hg total no músculo em função do comprimento total dos exemplares, ou seja, que indicam que os peixes maiores tendem a possuir maiores níveis de Hg total no músculo (Barak & Mason, 1990a,b; Grieb *et al.*, 1990; Monteiro & Lopes, 1990; Al-Hashimi & Al-Zorba, 1991; Barghigiani *et al.*, 1991; Capelli *et al.*, 1991; Hornung, 1991; Hornung & Kress, 1991; Leah *et al.*, 1991a,b; O'Sullivan *et al.*, 1991; Monteiro *et al.*, 1991, 1996; Cossa *et al.*, 1992; Francesconi & Lenanton, 1992; Leah *et al.*, 1992; Hornung *et al.*, 1993; Tracey, 1993; Yan *et al.*, 1994; Davenport, 1995; Joiris *et al.*, 1995; Mathieson & McLusky, 1995; Andersen & Depledge, 1997; Cronin *et al.*, 1998).

Devido à variabilidade inter-específica na bioacumulação do Hg nos peixes e devido à variabilidade inter-específica nas relações entre os parâmetros bióticos e os teores de Hg total, a comparação de correlações a nível inter-específico é complexa, pelo que, no presente estudo, as comparações de resultados são apenas efectuadas com espécies relativamente semelhantes, tanto em termos do tipo de habitat (espécies de profundidade), como em termos taxonómicos (espécies filogeneticamente muito aproximadas, nomeadamente o peixe-espada-branco).

As concentrações de Hg total no músculo aumentaram com o comprimento dos peixes de diversas espécies de profundidade do Atlântico Norte (1000-3000 metros: *Coryphoenoides rupestris*, *Coryphoenoides mediterranea*, *Coelorhynchus labiatus*, *Hoplostethus atlanticus* e *Macrourus berglax*), tendo sido registadas correlações significativas nas regressões lineares comprimento/[Hg]<sub>músculo</sub>. Em espécies de profundidade do Arquipélago dos Açores (100-1000 metros) foram igualmente detectadas correlações positivas e significativas entre o comprimento e os teores de Hg total no músculo de várias espécies: *Pontinus kuhlii* (Monteiro *et al.*, 1991), *Helicolenus dactylopterus* (Monteiro *et al.*, 1991; Andersen & Depledge, 1997), *Capros aper* (Monteiro *et al.*, 1996) e *Pagellus bogaraveo* (Andersen & Depledge, 1997).

Em termos comparativos, convém referir que os exemplares de peixe-espada-branco (*Lepidopus caudatus*) do Arquipélago dos Açores registaram igualmente uma correlação positiva e significativa entre o comprimento e os teores de Hg total no músculo (Andersen & Depledge, 1997). De salientar que, os parâmetros desta regressão linear ([Hg] = 0.008Ct - 0.816; r=0.48; p<0.05) são bastante próximos dos obtidos neste estudo para os exemplares de peixe-espada-preto ([Hg] = 0.014Ct - 0.800; r=0.43; p<0.001) (Figura 4.4), facto que reforça as semelhanças no processo de bioacumulação de Hg total entre estas espécies, as quais são certamente indissociáveis das suas fortes semelhanças ecológicas (habitat de profundidade) e biológicas (longevidade, posição na cadeia trófica e hábitos alimentares).

A regressão linear comprimento total/[Hg]<sub>fígado</sub> (Figura 4.5) apresenta igualmente uma correlação positiva e significativa (r=0.48; p<0.05), facto que revela que as concentrações de Hg total no fígado aumentam sensivelmente com o crescimento em comprimento dos exemplares. Este tipo de relação funcional está de acordo com a informação disponível na bibliografia, pois alguns estudos registaram correlações positivas e significativas entre o comprimento total e os teores de Hg total no fígado de diversas espécies (Barak & Mason, 1990a; Hornung, 1991; Hornung *et al.*, 1993).

Comparativamente à acumulação de Hg total no músculo em função do comprimento (Figura 4.4), é possível verificar que a relação entre o comprimento e o teor de Hg total no fígado (Figura 4.5) possui um declive muito mais acentuado, facto que revela que o processo de bioacumulação do Hg durante o crescimento é muito mais rápido no fígado do que no músculo. Deste modo, é novamente possível concluir que, tal como na generalidade das espécies de peixes, o fígado constitui um órgão de acumulação preferencial de Hg total no peixe-espada-preto.

Por outro lado, os declives das rectas de regressão linear podem constituir um indicador do nível de Hg ambientalmente disponível (Dixon & Jones, 1994), pelo que o acentuado declive desta regressão linear pode eventualmente reflectir uma elevada disponibilidade ambiental de Hg na coluna de água. Este facto pode estar relacionado com a distribuição batimétrica do peixe-espada-preto (profundidade de ocorrência entre os 800 e os 1300 metros de profundidade) (INIP, 1980, 1982, 1984a,b,c; Carvalho, 1985; Drummond, 1985; Leite, 1988, 1989; Martins *et al.*, 1990; Morales-Nin & Carvalho, 1996), em massas de água com níveis de MeHg potencialmente elevados, que contribuem para uma forte bioacumulação de Hg total nos peixes de profundidade (Renzoni *et al.*, 1991; Monteiro *et al.*, 1996; Bargagli *et al.*, 1998; Cronin *et al.*, 1998).

Tal como nos casos anteriores, a regressão linear comprimento total/[Hg]<sub>gónadas</sub> (Figura 4.6) apresenta também uma correlação positiva e significativa (r=0.56; p<0.05), facto que revela que os teores de Hg total nas gónadas aumentam linearmente com o crescimento em comprimento. No entanto, apenas existe uma relação linear positiva e significativa entre as concentrações de Hg total nas gónadas dos machos e o comprimento total dos exemplares (r=0.72; p<0.05), inclusivé com um maior coeficiente de correlação do que a regressão da totalidade dos exemplares (r=0.56; p<0.05), facto que aparenta indicar que o aumento das concentrações de Hg total com o crescimento em comprimento dos exemplares é mais assinalável nas gónadas masculinas. O facto de não existir qualquer relação estatisticamente significativa entre o teor de Hg total nas gónadas das fêmeas e o respectivo comprimento total, pode estar eventualmente associado ao rápido desenvolvimento e aumento de peso destes órgãos reprodutores durante a maturação, o qual implica um curto período de exposição ao Hg.

### 5.3.2 - Relações Funcionais: Peso Total / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares

As concentrações de Hg total nos diversos tecidos e órgãos dos exemplares de peixe-espada-preto revelam a existência de relações muito distintas entre o peso total dos peixes e os teores de Hg total no músculo, fígado e gónadas dos exemplares desta espécie. De facto, apenas existe uma relação funcional positiva e significativa entre o peso total e as concentrações de Hg total no músculo ( $r=0.26$ ;  $p<0.05$ ) (Figura 4.7), facto que aparentemente indica que apenas no tecido muscular do peixe-espada-preto é que os teores de Hg total aumentam linearmente com o peso dos indivíduos.

Este tipo de relação funcional está em concordância com a generalidade da bibliografia, pois normalmente as regressões lineares entre o peso dos peixes e as concentrações de Hg total no músculo apresentam correlações positivas e significativas, ou seja, revelam que os níveis de Hg total aumentam em função do aumento de peso dos exemplares (Harakeh *et al.*, 1985; Casadei & Rodrigues, 1986; Perez *et al.*, 1986; Clark & Topping, 1989; Monteiro & Lopes, 1990; Morales-Nin & Fortuño, 1990; Verta, 1990; Capelli *et al.*, 1991; Hornung, 1991; Hornung & Kress, 1991; Monteiro *et al.*, 1991; De Arams *et al.*, 1993; Yan *et al.*, 1994; Cronin *et al.*, 1998).

O coeficiente de correlação linear é relativamente reduzido ( $r=0.26$ ;  $p<0.05$ ) (Figura 4.7) facto que revela que o peso dos peixes não constitui um indicador muito correcto do conteúdo potencial de Hg total no tecido muscular dos exemplares de peixe-espada-preto. Este problema pode ser devido ao facto do peso dos exemplares, ao contrário do comprimento, ser um parâmetro biótico mais sujeito a variações (nomeadamente de carácter sazonal), associadas às flutuações no índice de condição fisiológica dos indivíduos, que ocorrem principalmente durante os períodos de maior escassez de alimento e durante as fases de maturação e reprodução dos indivíduos.

No respeitante à comparação de resultados com outras espécies com habitat semelhante, num estudo realizado no Atlântico Norte, todas as espécies de profundidade (1000-3000 metros: *Coryphenoides mediterranea*, *Coryphenoides rupestris*, *Coelorhynchus labiatus*, *Hoplostethus atlanticus* e *Macrourus berglax*) revelaram um aumento nítido e significativo das concentrações de Hg total no músculo em função do incremento de peso total dos exemplares (Cronin *et al.*, 1998). Noutro estudo, realizado no Arquipélago dos Açores por Monteiro *et al.* (1991), os peixes de profundidade (*Pontinus kuhlii*: 100-450 metros e *Helicolenus dactylopterus*: 250-600 metros) apresentaram igualmente correlações funcionais positivas e altamente significativas entre o peso total dos exemplares e as respectivas concentrações de Hg total no músculo.

No respeitante às diferenças na bioacumulação de Hg total no músculo consoante o sexo, o facto do peixe-espada-preto possuir um crescimento diferencial entre os sexos, e apenas ter sido obtida uma relação funcional significativa entre o peso total e as concentrações de Hg total no músculo das fêmeas ( $r=0.37$ ;  $p<0.05$ ) (Figura 4.7), permite especular acerca de uma hipotética existência de diferenças sexuais na bioacumulação de Hg total no tecido muscular em função do peso dos exemplares desta espécie. Com efeito, esta acumulação diferencial de Hg total consoante o sexo tem sido detectada em diversas espécies de peixes (Hall *et al.*, 1977; Shultz & Ito, 1979; Monteiro & Lopes, 1990), tendo inclusivé sido registada num peixe de profundidade do Arquipélago dos Açores, nomeadamente na espécie *Pontinus kuhlii* (Monteiro *et al.*, 1991).

### 5.3.3 - Relações Funcionais: Peso dos Órgãos / Concentração de Mercúrio Total no Fígado e Gónadas dos Exemplares

Neste caso, apenas existe uma relação funcional entre o peso das gónadas dos machos de peixe-espada-preto e a respectiva concentração de Hg total ( $r=0.67$ ;  $p<0.05$ ) (Figura 4.8), a qual revela que o aumento de peso das gónadas provoca uma diminuição linear nos respectivos teores de Hg total e sugere a existência de um eventual processo de diluição das concentrações de Hg total com o crescimento e maturação dos órgãos reprodutores masculinos desta espécie. Com efeito, as relações funcionais com declive negativo são pouco frequentes e podem resultar de fenómenos de diluição por crescimento (Dixon & Jones, 1994), embora possam ser igualmente devidas à escassa representatividade de tamanhos e/ou idades na amostragem dos exemplares (Dixon & Jones, 1994; Mathieson & McLusky, 1995).

### 5.3.4 - Relações Funcionais: Idade / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares

Apesar das idades médias, obtidas através da aplicação das equações de crescimento, constituírem apenas uma mera aproximação (Francesconi & Lenanton, 1992), a informação acerca da idade e crescimento das espécies é fundamental, devido à influência da taxa de crescimento e da longevidade na bioacumulação de Hg total nos peixes (Andersen & Depledge, 1997).

No presente estudo, as relações funcionais obtidas entre a idade média e as concentrações de Hg total no músculo, fígado e gónadas do peixe-espada-preto (Figuras 4.9, 4.10 e 4.11), permitem afirmar que, aparentemente, a idade é o parâmetro biótico que condiciona mais fortemente os teores de Hg total nos tecidos e órgãos desta espécie. No entanto, visto que a idade e o tamanho dos exemplares não são parâmetros independentes, é difícil determinar a importância relativa do período de exposição (idade/longevidade) e do aumento de massa dos tecidos e órgãos (crescimento/tamanho) na bioacumulação de Hg total nos peixes (Hildebrand *et al.*, 1980).

A relação funcional entre a idade e os teores de Hg total no músculo (Figura 4.9) apresenta uma correlação positiva e altamente significativa entre os parâmetros ( $r=0.46$ ;  $p<0.001$ ), facto que revela um aumento linear das concentrações de Hg total com o envelhecimento e reflecte uma acumulação gradual e progressiva de Hg total no músculo dos peixes ao longo do tempo. Com efeito, a bioacumulação do Hg é um processo cumulativo com o tempo (Monteiro *et al.*, 1991), que geralmente resulta em concentrações de Hg total crescentes com a idade dos exemplares (Hildebrand *et al.*, 1980; Clark, 1986, 1992; Clark & Topping, 1989; Marthinsen & Staveland, 1990; Morales-Nin & Fortuño, 1990; O'Sullivan *et al.*, 1991; Monteiro *et al.*, 1991, 1996; Francesconi & Lenanton, 1992; Yan *et al.*, 1994; Cronin *et al.*, 1998), pelo que a maioria dos estudos registam correlações altamente significativas entre estes parâmetros (Grieb *et al.*, 1990; Monteiro & Lopes, 1990; Verta, 1990; Al-Hashimi & Al-Zorba, 1991; Monteiro *et al.*, 1991; Cronin *et al.*, 1998).

No respeitante à comparação de resultados com outras espécies com habitat semelhante, num estudo com várias espécies de profundidade (1000-3000 metros: *Coryphenoides mediterranea*, *Coryphenoides rupestris*, *Coelorrhynchus labiatus*, *Hoplostethus atlanticus* e *Macrourus berglax*) do Atlântico Norte foram também obtidas relações funcionais muito significativas entre a idade e as concentrações de Hg total no músculo da totalidade das espécies analisadas (Cronin *et al.*, 1998). No Arquipélago dos Açores, foram igualmente obtidas relações funcionais positivas e significativas, que reflectem um nítido aumento linear dos teores de Hg total com a idade dos peixes de algumas espécies de profundidade (*Helicolenus dactylopterus* e *Pontinus kuhlii*) (Monteiro *et al.*, 1991).

Neste estudo foram obtidas relações funcionais idade/[Hg]<sub>músculo</sub> ligeiramente distintas entre os machos e fêmeas de peixe-espada-preto (machos:  $[Hg] = 0.097i + 0.353$ ;  $r=0.46$ ;  $p<0.01$  / fêmeas:  $[Hg] = 0.051i + 0.463$ ;  $r=0.51$ ;  $p<0.005$ ) (Figura 4.9), que revelam que aparentemente os machos acumulam o Hg total mais rapidamente que as fêmeas, o que sugere a existência de um processo distinto de bioacumulação de Hg total consoante o sexo. Este fenómeno pode estar relacionado com o crescimento diferencial entre os sexos do peixe-espada-preto, com as fêmeas a crescerem mais rapidamente e a atingirem tamanhos significativamente maiores que os machos (INIP, 1982, 1984a,b,c; Martins *et al.*, 1987; Morales-Nin & Carvalho, 1996).

Por este motivo, em exemplares com a mesma idade, ou seja, com o mesmo período de exposição ao Hg, as fêmeas tendem a possuir menores concentrações de Hg total no músculo, devido a possuírem maior taxa de crescimento e maiores dimensões, facto que pode provocar uma ligeira diminuição dos níveis de Hg total por crescimento e aumento de massa do tecido muscular. De facto, nalguns estudos foram registadas diferenças significativas nas relações entre a idade e os teores de Hg total no músculo consoante o sexo, as quais podem reflectir diferenças nas taxas de crescimento entre os sexos (Monteiro & Lopes, 1990; Monteiro *et al.*, 1991).

As relações funcionais a idade e as concentrações de Hg total no fígado e nas gónadas do peixe-espada-preto (Figuras 4.10 e 4.11), revelam igualmente que o envelhecimento dos peixes provoca um aumento significativo das concentrações de Hg total nos órgãos desta espécie. Este facto resulta dum processo de bioacumulação de Hg total nos órgãos em função do tempo, pelo que, as concentrações de Hg total aumentam com a idade dos peixes, tanto no músculo, como nos restantes tecidos e órgãos, nomeadamente no fígado (McFarlane & Franzin, 1980).

### 5.3.5 - Relações Funcionais: Estado de Maturação / Concentração de Mercúrio Total no Músculo e Gónadas dos Exemplares

As relações funcionais entre o estado de maturação dos exemplares de peixe-espada-preto e as respectivas concentrações de Hg total no músculo e nas gónadas (Figuras 4.12 e 4.13) revelam que as concentrações de Hg total no tecido muscular e nestes órgãos reprodutores aumentam ligeiramente em função do estado de maturação sexual dos peixes desta espécie. De facto, em ambos os casos foram obtidas relações lineares significativas entre os parâmetros: estado de maturação/[Hg]<sub>músculo</sub> ( $r=0.36$ ;  $p<0.005$ ) (Figura 4.12) e estado de maturação/[Hg]<sub>gónadas</sub> ( $r=0.51$ ;  $p<0.05$ ) (Figura 4.13), que reflectem um ligeiro aumento dos níveis de Hg total no músculo e nas gónadas associado ao desenvolvimento reprodutor e à maturação sexual das gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto.

### 5.3.6 - Relações Funcionais: Índices de Condição / Concentração de Mercúrio Total no Músculo, Fígado e Gónadas dos Exemplares

As relações funcionais entre o factor de condição geral (K) e as concentrações de Hg total no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto (Figuras 4.14, 4.15 e 4.16), apresentam um acentuado declive negativo, que revela que o grau de contaminação por Hg total nos peixes pode provocar uma diminuição do respectivo índice de condição fisiológica geral (K).

De facto, a relação funcional: factor de condição geral/[Hg]<sub>músculo</sub> é altamente significativa ( $r=0.36$ ;  $p<0.005$ ) (Figura 4.14), ou seja, existe uma relação linear inversa entre os parâmetros, facto que aparentemente indica que um aumento das concentrações de Hg total no músculo pode provocar uma diminuição deste índice de condição fisiológica (factor de condição geral - K). Na realidade, existem evidências que o Hg pode diminuir a condição fisiológica dos peixes, provocando uma diminuição significativa dos seus índices de condição (Monteiro *et al.*, 1991), ou seja, induzindo a ocorrência de uma correlação inversa entre o índice de condição e os níveis de Hg total nos peixes (Suns & Hitchin, 1990).

Por outro lado, na relação: factor de condição geral/[Hg]<sub>fígado</sub> (Figura 4.15) e na relação: factor de condição geral/[Hg]<sub>gónadas</sub> (Figura 4.16), apenas os machos apresentam uma relação funcional significativa e inversa entre o factor de condição geral (K) e as concentrações de Hg total no fígado e nas gónadas dos exemplares ( $r=0.84$ ;  $p<0.005$  e  $r=0.78$ ,  $p<0.05$ , respectivamente). Este fenómeno revela uma aparente contradição, pois os machos possuem geralmente menores concentrações médias de Hg total no fígado e gónadas, mas curiosamente os seus índices de condição fisiológica (factor de condição geral - K) são mais significativamente afectados pela contaminação por Hg total nestes órgãos.

### 5.3.7 - Importância do Conhecimento das Relações Funcionais entre os Parâmetros Biológicos e as Concentrações de Mercúrio Total nos Peixes

Nesta fase do estudo, convém realçar a enorme utilidade do conhecimento das relações funcionais entre os diversos parâmetros bióticos e as concentrações de Hg total nos exemplares. De facto, enquanto que a simples previsão dos níveis de Hg total através das médias é muito falível e arriscada (devido à elevada variabilidade intra-específica), o estabelecimento de relações funcionais permite prever o intervalo de tamanhos dos peixes com concentrações de Hg total acima dos limites legais de contaminação do pescado. Por este motivo, alguns autores sugerem que a caracterização das concentrações de Hg total dos peixes deve ser efectuada mediante a utilização das equações de distribuição que descrevem os níveis de Hg em função do tamanho, o que, ao contrário dos simples teores médios de Hg total, permite a comparação de dados normalizados (Monteiro *et al.*, 1991).

Deste modo, convém referir que o aumento de fiabilidade das previsões das concentrações de Hg total através das relações funcionais, a confirmação de algumas relações funcionais entre os parâmetros bióticos e os níveis de Hg total e a clarificação acerca da eventual existência de diferenças nítidas na bioacumulação de Hg total entre os sexos, apenas é possível com a continuação dos estudos, e particularmente através da realização de análises regulares de amostras de músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto.

#### 5.4 - Principais Factores Responsáveis pela Elevada Bioacumulação de Mercúrio Total nos Exemplares de Peixe-Espada-Preto

Os elevados teores de Hg total registados nalguns exemplares de peixe-espada-preto não têm origem em fenómenos de poluição de origem antropogénica na Região Autónoma da Madeira, pois não existe indústria pesada e extremamente poluente e não são conhecidas descargas significativas de Hg provenientes de fontes industriais nesta região.

Contudo, é necessário salvaguardar a hipótese de alguns exemplares individualmente, ou mesmo algumas populações desta espécie, terem estado presentes em áreas com maiores níveis naturais de Hg ou com maiores *inputs* antropogénicos de Hg a partir de fontes industriais. Com efeito, o facto dos exemplares capturados nos bancos de pesca do Arquipélago da Madeira serem geralmente maiores que os exemplares capturados nos pesqueiros do Continente, onde existe uma muito maior ocorrência de exemplares de reduzidas dimensões (40 cm - 60 cm), juntamente com o facto de normalmente não serem encontrados indivíduos em avançado estado de maturação (fase de desova) nas águas continentais portuguesas (Martins *et al.*, 1989a,b, 1990; Morales-Nin & Carvalho, 1996), permite admitir a hipótese do peixe-espada-preto tratar-se de uma espécie altamente migratória e com zona de desova situada na zona do Arquipélago da Madeira (Leite, 1988, 1989; Martins *et al.*, 1989a,b; Morales-Nin & Carvalho, 1996).

Perante este hipotético comportamento migratório dos exemplares de peixe-espada-preto, é possível admitir que, durante uma parte significativa do seu ciclo de vida, alguns exemplares a nível individual, ou mesmo algumas populações desta espécie, tenham habitado em águas com maiores concentrações de Hg, quer devido a processos naturais, quer devido a fenómenos de poluição com origem antropogénica. Com efeito, nalguns estudos, foram detectadas concentrações de Hg total muito elevadas em diversos exemplares e uma extrema variabilidade intra-específica (inter-individual), facto que foi atribuído à sua permanência junto a "hot-spots" locais com níveis ambientais de Hg muito elevados (Andersen & Depledge, 1997).

##### 5.4.1 - Habitat

Diversos avanços recentes no conhecimento da distribuição e especiação do Hg nas águas oceânicas revelam um aumento progressivo nas concentrações de MeHg (e logo, de Hg total) nas águas pouco oxigenadas situadas abaixo da termoclina, o qual implica um elevado potencial para a bioacumulação de Hg, tanto nos ambientes pelágicos, como nos ambientes profundos (Mason & Fitzgerald, 1990; Monteiro *et al.*, 1996).

Este fenómeno pode ser parcialmente explicado pela diminuição da fotodegradação do Hg orgânico (nomeadamente o MeHg) com o aumento da profundidade, o que conduz à existência de concentrações elevadas de MeHg nos ambientes de profundidade (Renzoni *et al.*, 1991). De facto, devido à impossibilidade de ocorrência de fotodegradação do MeHg nas águas profundas (processo muito importante no ciclo global deste metal e que provavelmente constitui a principal via de eliminação de Hg no oceano), a disponibilidade de MeHg é superior nos ambientes profundos (Renzoni *et al.*, 1991; Monteiro *et al.*, 1996; Bargagli *et al.*, 1998).

Perante estas condições ambientais, as concentrações de Hg total nos organismos aumentam geralmente com a profundidade, e alguns estudos revelam um aumento significativo dos níveis de Hg no pescado com o aumento progressivo da profundidade dos bancos de pesca (Renzoni *et al.*, 1991; Fabris *et al.*, 1992; Hornung *et al.*, 1993, 1994; Hossain, 1994; Monteiro *et al.*, 1996). Nestes casos, as elevadas concentrações de Hg total registadas nos predadores de profundidade devem ser determinadas pelos níveis de Hg na água e no alimento, bem como pela bioacumulação de Hg nos organismos mesopelágicos de baixo nível trófico (Monteiro *et al.*, 1996; Cronin *et al.*, 1998).

Deste modo, o facto do peixe-espada-preto ser uma espécie batipelágica, que nas águas do Arquipélago da Madeira apresenta uma distribuição batimétrica compreendida entre os 600 e 1500 metros de profundidade (Drummond, 1985) e uma camada preferencial de ocorrência situada entre os 800 e 1300 metros de profundidade (INIP, 1980, 1982, 1984a,b,c; Carvalho, 1985; Drummond, 1985; Leite, 1988, 1989; Martins *et al.*, 1990; Morales-Nin & Carvalho, 1996), deve contribuir para os elevados níveis de Hg total registados nalguns exemplares desta espécie.

#### 5.4.2 - Longevidade

Visto que o Hg é um poluente cumulativo ao longo do tempo, a longevidade, ou seja, a idade atingida por um determinado organismo é fundamental na bioacumulação deste poluente. Este fenómeno foi plenamente confirmado neste estudo, particularmente através das relações funcionais significativas estabelecidas entre a idade média e as concentrações de Hg total no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto.

Com efeito, o peixe-espada-preto possui uma taxa de crescimento relativamente rápida e a sua longevidade média é de cerca de 8 anos (Morales-Nin & Carvalho, 1996), a qual permite a bioacumulação de níveis significativos de Hg total ao longo do período de vida desta espécie, principalmente nos peixes mais velhos e com uma longevidade superior à média da população.

#### 5.4.3 - Posição na Cadeia Trófica

Existe uma relação nítida entre as concentrações de Hg total e o nível trófico dos peixes (Denton & Burdon-Jones, 1986; Monteiro *et al.*, 1991; Francesconi & Lenanton, 1992), pois praticamente todos os estudos revelam a ocorrência de bioamplificação do Hg no oceano, com um aumento progressivo e significativo dos níveis de Hg total dos organismos ao longo das cadeias alimentares, culminando nos grandes predadores que ocupam o topo das cadeias tróficas marinhas (Sadiq, 1992; Bargagli *et al.*, 1998).

Deste modo, de uma forma geral, as concentrações de Hg total no pescado capturado em águas oceânicas, são superiores nos peixes de grandes dimensões e com elevada longevidade, ou seja, nas espécies predadoras situadas no topo da cadeia trófica (Casadei & Rodrigues, 1986; Perez *et al.*, 1986; Ackefors *et al.*, 1989; Sikorski *et al.*, 1990; O'Sullivan *et al.*, 1991; Sadiq, 1992; Hornung *et al.*, 1993; Davenport, 1995; Cronin *et al.*, 1998), cujos exemplares tendem a possuir elevadas concentrações de Hg total, inclusivamente superiores aos níveis legalmente aceitáveis (>1.0 mg Hg/Kg - peso húmido) (Casadei & Rodrigues, 1986; Cronin *et al.*, 1998).

Por estes motivos, devido ao facto do peixe-espada-preto ocupar um elevado nível trófico (numa posição terminal ou sub-terminal da cadeia alimentar batipelágica), é perfeitamente natural que os exemplares desta espécie possuam uma forte tendência natural para a bioacumulação de elevadas concentrações de Hg total. Com efeito, os peixes da plataforma e da vertente da plataforma continental tendem a ser grandes predadores e a alimentar-se no topo das cadeias tróficas, pelo que o potencial de bioacumulação de Hg é superior nestas espécies de profundidade (Cronin *et al.*, 1998) e as elevadas concentrações de Hg total podem ser interpretadas como uma consequência da bioamplificação ao longo da cadeia alimentar (Monteiro *et al.*, 1991).

#### 5.4.4 - Hábitos Alimentares

De um modo geral, a influência dos hábitos alimentares na bioacumulação de Hg é superior à influência das concentrações de Hg na coluna de água e nos sedimentos (Kureishy *et al.*, 1979; Andersen & Depledge, 1997). Por outro lado, os peixes predadores (carnívoros) tendem a possuir maiores concentrações de Hg total que os peixes planctívoros, herbívoros, detritívoros e omnívoros (Talbot, 1990; Francesconi & Lenanton, 1992; Porvari, 1995; Wren *et al.*, 1995).

Assim sendo, os hábitos alimentares do peixe-espada-preto, nomeadamente o facto de tratar-se de uma espécie predadora carnívora (situada numa posição terminal ou sub-terminal da cadeia trófica), com uma dieta baseada em cefalópodes, peixes e crustáceos de profundidade (Nunes, 1974; Howe *et al.*, 1980; INIP, 1980, 1982, 1984b,c; Carvalho, 1985; Drummond, 1985; Parin, 1986; Leite, 1988, 1989), devem igualmente contribuir para as elevadas concentrações de Hg total registadas nalguns exemplares desta espécie.

Por outro lado, o peixe-espada-preto realiza migrações verticais diárias na coluna de água (Parin, 1986), provavelmente associadas às suas actividades predadoras em busca de alimento. Caso durante estas migrações verticais os indivíduos atinjam batimetrias ainda mais profundas e capturem presas de grande profundidade, este fenómeno pode reflectir-se nos níveis de Hg total desta espécie, pois a migração dos peixes para águas profundas e a alteração de dietas pode aumentar a taxa de bioacumulação de Hg total (MacCrimmon *et al.*, 1983; Cronin *et al.*, 1998).

## 6 – CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo apontam indiscutivelmente para a ocorrência de concentrações médias de Hg total nos exemplares de peixe-espada-preto com a seguinte ordem decrescente nos tecidos e órgãos dos indivíduos: [Hg] fígado >> [Hg] músculo > [Hg] gónadas.

Contudo, neste contexto é fundamental distinguir entre duas situações completamente distintas, pois os teores de Hg total no fígado são incomparavelmente superiores aos teores de Hg total no músculo e nas gónadas. Com efeito, enquanto que as concentrações médias de Hg total no fígado excedem muito largamente o limite máximo de contaminação por Hg total no pescado aplicado na legislação nacional (1.0 mg Hg/Kg - peso húmido), as concentrações médias de Hg total do músculo e nas gónadas são sensivelmente inferiores ao referido limite legal de contaminação, e no caso particular das gónadas, os níveis médios de Hg total são ainda significativamente inferiores ao padrão recomendado pela Organização Mundial de Saúde como valor de referência para o limite de contaminação por Hg total no pescado para consumo humano (0.5 mg Hg/Kg - peso húmido).

Perante estes factos, e devido à elevada toxicidade e perigosidade da ingestão humana de pescado contaminado por Hg, é obviamente necessário considerar separadamente as implicações e consequências do consumo dos diferentes tecidos e órgãos de peixe-espada-preto em termos de potenciais riscos para a Saúde Pública.

Deste modo, no caso do músculo e das gónadas (que constituem os principais tecidos e órgãos comestíveis do peixe-espada-preto, visto que as respectivas concentrações médias de Hg total são inferiores ao limite máximo admissível de contaminação do pescado (1.0 mg Hg/Kg - peso húmido), a sua inclusão na alimentação humana não se afigura grave ou inconveniente, embora seja aconselhável uma certa moderação, nomeadamente através da diminuição e limitação das refeições diárias consecutivas, e duma ligeira restrição da sua ingestão por grávidas, crianças e adolescentes, ou mesmo por adultos afectados ou em convalescença de doenças.

Por outro lado, no caso particular do fígado (que aparentemente apenas é consumido esporadicamente nas comunidades piscatórias locais), visto que as respectivas concentrações de Hg total ultrapassam largamente o nível máximo admissível de contaminação por Hg total no pescado para consumo humano (1.0 mg Hg/Kg - peso húmido), por forma a evitar potenciais riscos para a saúde humana provocados pela elevada persistência e toxicidade deste elemento, é altamente desaconselhável a sua inclusão na alimentação humana, e novamente em especial por grávidas, crianças, adolescentes, ou adultos afectados ou em convalescença de doenças. Neste âmbito, convém realçar que devido ao efeito neuro-tóxico do Hg, os consumos extremos de pescado contaminado são particularmente graves durante a gravidez, e principalmente durante o início da gravidez, quando o desenvolvimento cerebral do feto pode ser mais gravemente afectado.

Tal como na generalidade das espécies, as relações funcionais estabelecidas por regressão linear entre os diversos parâmetros biológicos e as concentrações de Hg total no músculo, fígado e gónadas dos exemplares de peixe-espada-preto revelam que o nível de contaminação por Hg total aumenta linearmente com a idade e tamanho (peso e comprimento) dos indivíduos. Por outro lado, as concentrações de Hg total nos tecidos e órgãos do peixe-espada-preto aparentam diminuir sensivelmente o factor de condição de alguns exemplares, facto que revela que a bioacumulação de níveis elevados de Hg total no músculo, fígado e gónadas pode afectar consideravelmente a condição fisiológica dos peixes desta espécie.

Finalmente, convém referir que a elevada bioacumulação de Hg total nos tecidos e órgãos dos exemplares de peixe-espada-preto é aparentemente um fenómeno perfeitamente natural e bastante frequente nalgumas espécies de peixes predadores de profundidade. Com efeito, as elevadas concentrações de Hg total registadas nos exemplares de peixe-espada-preto são provavelmente devidas ao seu habitat batipelágico, à sua longevidade média, à sua elevada posição na cadeia alimentar e aos seus hábitos alimentares de predador carnívoro, factores que intensificam a influência do fenómeno de bioamplificação do Hg nas cadeias tróficas marinhas.

## 7 – CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS DE ESTUDO

A generalidade dos resultados obtidos no presente estudo, e em particular as elevadas concentrações de Hg total registadas nalguns exemplares de peixe-espada-preto, implicam uma necessidade imperiosa de continuação dos estudos acerca da contaminação desta espécie pelo Hg. Com efeito, visto que nalguns exemplares desta espécie foram registados níveis de Hg total que excedem largamente os limites máximos legalmente admissíveis para a contaminação do pescado, sugere-se a continuação dos estudos, eventualmente através da implementação de um programa intensivo de monitorização do grau de contaminação do peixe-espada-preto por Hg, que contemple análises periódicas e intensivas das concentrações de Hg total nos tecidos e órgãos desta espécie.

Adicionalmente, este aprofundamento dos estudos, através da continuação e intensificação das análises dos níveis de Hg total nos exemplares de peixe-espada-preto, permitiria uma eventual confirmação e clarificação das relações funcionais existentes entre os diversos parâmetros bióticos e as concentrações de Hg total nos tecidos e órgãos dos peixes, aumentando significativamente o rigor e a precisão das previsões do grau de contaminação em função da idade e/ou tamanho (peso e comprimento) dos exemplares desta espécie, cuja informação é muito mais segura e fiável que a previsão através da utilização de simples concentrações médias de Hg total.

Por outro lado, devido à elevada persistência, toxicidade e perigosidade dos compostos organomercuriais, que implicam fortes riscos para a saúde humana através da ingestão de pescado altamente contaminado por Hg orgânico (principalmente sob a forma de MeHg), a análise dos níveis de Hg total nos peixes não é completamente adequada e satisfatória, pois apenas fornece uma visão parcial dos potenciais impactes deste poluente na Saúde Pública. Deste modo, e tal como na generalidade dos trabalhos mais recentes nesta área, a continuação dos estudos acerca do grau de contaminação desta espécie deve englobar a problemática da especiação dos compostos de Hg, e mais concretamente, deve incluir a análise das concentrações e distribuições corporais de MeHg nos diversos tecidos e órgãos dos exemplares de peixe-espada-preto.

Finalmente, os resultados do presente trabalho sugerem a necessidade da realização de um estudo epidemiológico acerca do grau de exposição ao Hg através do consumo de pescado por parte da população da Região Autónoma da Madeira (com particular incidência nas comunidades piscatórias locais com grande consumo de pescado, e nomeadamente de peixe-espada-preto). Este estudo poderia eventualmente complementar a informação disponibilizada pelo programa de monitorização do grau de contaminação do peixe-espada-preto pelo Hg (Hg total e MeHg) através do estabelecimento de eventuais relações: grau de exposição/efeitos na saúde humana, cujos resultados permitiriam efectuar uma avaliação mais correcta e aprofundada das implicações e dos potenciais riscos provocados pela ingestão de pescado contaminado por Hg ao nível da Saúde Pública.

## 8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abel, P. D., 1989. Water Pollution Biology. Ellis Horwood Books in Water and Wastewater Technology, Ellis Horwood Limited (Publishers), Chichester, 231 p.
- Abel, P. D., 1991. Approaches to Measuring the Toxicity of Pollutants to Marine Organisms *In Ecotoxicology and the Marine Environment* (Ed. P. D. Abel & V. Axiak), Ellis Horwood Limited (Publishers), Chichester, 19-38 pp.
- Ackefors, H.; Hilge, V.; Linden, O., 1989. Contaminants in Fish and Shellfish Products. *Special Publication of the European Aquaculture Society.*, Nº 10, 263 p.
- Al-Hashimi, A. H.; Al-Zorba, M. A., 1991. Mercury in Some Commercial Fish from Kuwait: A Pilot Study. *Science of the Total Environment*, 106 (1/2): 71-82.
- Ali, I. B.; Joiris, C. R.; Holsbeek, L., (*in press*). Total and Organic Mercury in the Starfish *Ctenodiscus crispatus* and the Polychaete *Maldanes sarsi* from the Barents Sea. *Science of the Total Environment* (*in press*).
- Allard, M.; Stokes, P. M., 1989. Mercury in Crayfish Species from Thirteen Ontario Lakes in Relation to Water Chemistry and Smallmouth Bass (*Micropterus dolomieu*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46: 1040-1046.
- Andersen, J. L.; Depledge, M. H., 1997. A Survey of Total and Methylmercury in Edible Fish and Invertebrates from Azorean Waters. *Marine Environmental Research*, 44(3): 331-350.
- Anderson, R.; Gutreuter, S., 1983. Length, Weight, and Associated Structural Indices *In Fisheries Techniques* (Ed. L. Nielsen & D. Johnson). *American Fisheries Society*, 283-300 pp.
- Armstrong, F. A. J.; Scott, D. P., 1979. Decrease in Mercury Content of Fishes in Ball Lake, Ontario, Since Imposition of Controls on Mercury Discharges. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*. 36: 670-672.
- Aubert, M.; Augier, H.; Aubert, J.; Michote-de-Welle, P., 1984. The Effect on Health of the Mercury-Contaminated Fish. *J. Rech. Oceanogr.*, 9 (2): 81-83.
- Azcue, J. M., 1993. Contaminacion por Efecto de la Actividad Humana *In Metales en Sistemas Biológicos* (Ed. A. Mas & J. M. Azcue), Promociones y Publicaciones Universitarias (PPU S.A.), Barcelona, 275-296 pp.
- Bahnick, D.; Sauer, C.; Butterworth, B.; Kuehl, D. W., 1994. A National Study of Mercury Contamination of Fish. *Chemosphere*, 29 (3): 537-546.
- Barak, N. A. E.; Mason, C. F., 1990a. Mercury, Cadmium and Lead in Eels and Roach: The Effects of Size, Season and Locality on Metal Concentrations in Flesh and Liver. *Science of the Total Environment*, 92: 249-256.
- Barak, N. A. E.; Mason, C. F., 1990b. Mercury, Cadmium and Lead Concentrations in Five Species of Freshwater Fish from Eastern England. *Science of the Total Environment*, 92: 257-263.
- Bargagli, R.; Monaci, F.; Sanchez-Hernandez, J. C.; Cateni, D., 1998. Biomagnification of Mercury in an Antarctic Marine Coastal Food Web. *Marine Ecology Progress Series*, 169: 65-76.
- Barghigiani, G.; Pellegrini, D.; D'Ulivo, A.; de Ranieri, S., 1991. Mercury Assessment and its Relation to Selenium Levels in Edible Species of the Northern Tyrrhenian Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 22 (8): 406-409.

- Batista, I.; Campos, R. M.; Nunes, M. L., 1989.** Peixe-Espada-Preto (*Aphanopus carbo*). Composição Química e Preparação de Filetes. *Relatório Técnico e Científico do INIP*, Nº 14, Lisboa, 14 p.
- Bauchot, M. L.; Pras, A., 1980.** Guide des Poissons Marins d'Europe. Ed. Delachaux & Niestlé, Paris, 427 p.
- Bauchot, M. L.; Pras, A., 1982.** Guía de los Peces de Mar de España y de Europa. Ediciones Omega, S. A., Barcelona, 432 p.
- Bernhard, M., 1985.** Mercury Accumulation in a Pelagic Food Chain. *In Environmental Inorganic Chemistry* (Eds. Irgolic, K. J. & Martell, A. E.), VCH Publishers, Inc., 349-358 pp.
- Bernhard, M.; Filippelli, M., 1991.** Biotic and Abiotic Methylation and Demethylation of Mercury in Aquatic Environments; A Review. *In Proceedings of the FAO/UNEP/IAEA Consultation Meeting on the Accumulation and Transformation of Chemical Contaminants by Biotic and Abiotic Processes in the Marine Environment.* (Ed. G. P. Gabrielides). Mediterranean Action Plan (MED POL). United Nations Environment Programme (UNEP). Food and Agriculture Organization of the United Nations. *MAP Technical Reports Series*, 59: 99-151.
- Bishop, P. L., 1983.** Marine Pollution and its Control. McGraw-Hill, Inc, New York, 357 p.
- Bloom, N. S., 1992.** On the Chemical Form of Mercury in Edible Fish and Marine Invertebrate Tissue. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49 (5): 1010-1017.
- Bodaly, R. A.; Hecky, R. E.; Fudge, R. J. P., 1984.** Increases in Fish Mercury Levels in Lakes Flooded by the Churchill River Diversion, Northern Manitoba. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41: 682-691.
- Bone, Q., 1971.** On the Scabbard Fish *Aphanopus carbo*. *Journal of the Marine Biology Association of the United Kingdom*, 51 (1): 219-225.
- Branica, M.; Mikac, N.; Kwokal, Z., 1993.** Biogeochemical Cycle of Mercury Species in the Marine Environment. Final Reports on the Research Projects Dealing with the Effects of Pollutants on Marine Communities and Organisms. UNEP - Mediterranean Action Plan. *MAP Technical Reports Series*, 73: 153-173.
- Buggiani, S. S.; Vannucchi, C., 1980.** Mercury and Lead Concentrations in Some Species of Fish from the Tuscan Coasts (Italy). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 25 (1): 90-92.
- Busacker, G.; Adelman, I.; Goolish, E., 1990.** Growth *In Methods for Fish Biology* (Ed. M. Schreck & P. Moyle). *American Fisheries Society*, 363-387 pp.
- Capelli, R.; Minganti, V.; De Pellegrini, R., 1991.** Determination of Mercury (Total and Organic) and Selenium in Seafood from the Ligurian Sea for the Study of the Correlation Hg Total / Hg Organic / Se. *In Final Reports on Research Projects Dealing with Mercury, Toxicity and Analytical Techniques.* Mediterranean Action Plan (MED POL). United Nations Environment Programme (UNEP). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *MAP Technical Reports Series*, 51: 37-55.
- Cappon, C. J., 1994.** Mercury and Organomercurials *In Analysis of Contaminants in Edible Aquatic Resources: General Considerations, Metals, Organometallics, Tainting, and Organics* (Ed. J. W. Kiceniuk & S. Ray), VCH Publishers, Inc., New York, 175-204 pp.
- Carvalho, D. M., 1985.** As Pescas e a Investigação Aplicada ao Sector na Região Autónoma da Madeira. *Relatório da 5ª Semana das Pescas dos Açores*, 77-90 pp.

- Casadei, E.; Rodrigues, P. C., 1986. Mercury Contamination Levels in the Sharks of the Mozambican Channel. *FAO Fisheries Report*, 329: 463-470.
- Castejon, L. G., 1978. Vertebrados Ibéricos, 1: "Peces". Ed. Copisteria - Imprenta Andalucia, Sevilla, 100 p.
- Cernichiari, E.; Brewer, R.; Myers, G. J.; Marsh, D. O.; Lapham, L. W.; Cox, C.; Shamlaye, C. F.; Berlin, M.; Davidson, P. W.; Clarkson, T. W., 1995. Monitoring Methylmercury During Pregnancy - Maternal Hair Predicts Fetal Brain Exposure. *Neurotoxicology*, 16 (4): 705-709.
- Chvojka, R., 1988. Mercury and Selenium in Axial White Muscle of Yellowtail Kingfish from Sydney, Australia. *Marine Pollution Bulletin*, 19 (5): 210-213.
- Cicmanec, J., 1996. Comparison of Four Human Studies of Perinatal Exposure to Methylmercury for Use in Risk Assessment. *Toxicology*, 111 (1-3): 157-162.
- Clark, R. B., 1986. *Marine Pollution*. Clarendon Press, Oxford, 215 p.
- Clark, R. B., 1992. *Marine Pollution (Third Edition)*. Clarendon Press, Oxford, 172 p.
- Clark, G.; Topping, G., 1989. Mercury Concentrations in Fish from Contaminated Areas in Scottish Waters. *Journal of the Marine Biology Association of the United Kingdom*, 69 (2): 437-445.
- Clarkson, T. H., 1990. Human Health Risks from Methylmercury in Fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9 (7): 957-961.
- Collings, S. E.; Johnson, M. S.; Leah, R. T., 1996. Metal Contamination of Angler-Caught Fish from the Mersey Estuary. *Marine Environmental Research*, 41 (3): 281-297.
- Cordle, F., S/D. The FDA Responds: Mercury Levels in Fish. Bureau of Foods. Food and Drug Administration, 42-43 pp.
- Cossa, D.; Auger, D.; Averty, B.; Lucon, M.; Masselin, P.; Noël, J., 1992. Flounder (*Platichthys flesus*) Muscle as an Indicator of Metal and Organochlorine Contamination of French Atlantic Coastal Waters. *Ambio*, 21 (2): 176-182.
- Cronin, M.; Davies, I. M.; Newton, A.; Pirie, J. M.; Topping, G.; Swan, S., 1998. Trace Metal Concentrations in Deep Sea Fish from the North Atlantic. *Marine Environmental Research*, 45 (3): 225-238.
- Culin, S.; Zvonaric, T., 1994. Mercury and Methylmercury in Fish from the Eastern Central Adriatic. *Acta Adriatica*, 35 (1/2): 3-13.
- Davenport, S., 1995. Mercury in Blue Sharks and Deepwater Dogfish from around Tasmania. *Australian Fisheries*, 54 (3): 20-22.
- De Arams, J. D.; Diaz, C.; Galan, J. M., 1993. Mercury Content of the Skipjack, *Katsuwonus pelamis*, off the Canary Islands and Adjacent Waters. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, 9 (1): 9-14.
- Del Ramo, J.; Torreblanca, A.; Díaz Mayans, J., 1993. Toxicidad de los Metales *In* Metales en Sistemas Biológicos (Ed. A. Mas & J. M. Azcue), Promociones y Publicaciones Universitarias (PPU S.A.), Barcelona, 143-162 pp.
- Denton, G. R. W.; Burdon-Jones, C., 1986. Trace Metals in Fish from the Great Barrier Reef. *Marine Pollution Bulletin*, 17 (5): 201-209.
- DGP, 1994. Recursos da Pesca. Série Estatística 1993, Vol. 7 A-B. Direcção Geral das Pescas (DGP), Lisboa, 173 p.

- DGP, 1997.** Datapescas - Difusão (Janeiro-Dezembro de 1996), Nº 31. Direcção Geral das Pescas (DGP), Lisboa, 11 p.
- Diário da República, 1990.** Portaria Nº 226/90 de 26 de Março. *Diário da República*. I Série, Nº 71 - 26/3/90, 1485 pp.
- Diaz, C.; González Padrón, A.; Frias, I.; Hardisson, A.; Lozano, G., 1994.** Concentrations of Mercury in Fresh and Salted Marine Fish from the Canary Islands. *Journal of Food Protection*, 57 (3): 246-248.
- DN, 1996.** Diário de Notícias (16 de Abril de 1996), Funchal, 17pp.
- Dixon, R.; Jones, B., 1994.** Mercury Concentrations in Stomach Contents and Muscle of Five Fish Species from the North East Coast of England. *Marine Pollution Bulletin*, 28 (12): 741-745.
- Drummond, J., 1985.** Artes de Pesca na Região Autónoma da Madeira. *Relatório da 5ª Semana das Pescas dos Açores*, 99-103 pp.
- Fabris, G. J.; Monahan, C.; Nicholson, G.; Walker, T. I., 1992.** Total Mercury Concentrations in Sand Flathead, *Platycephalus bassensis* Cuvier and Valenciennes, from Port Phillip Bay, Victoria. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 43 (6): 1393-1402.
- FAO/PNUE/OMS/AIEA, 1986.** Rapport de la Réunion FAO/PNUE/OMS/AIEA sur le Cycle Biogéochimique du Mercure en Méditerranée. Sienna, Italie, 27-31 Août 1984. *FAO, Rapport sur les Pêches*, Nº 325, 17 p.
- Fergusson, J. E., 1990.** The Heavy Elements. Chemistry, Environmental Impact and Health Effects. Pergamon Press, Oxford, 614 p.
- Fernandes, A. M., 1984.** Estudo Preliminar da Dinâmica da População de *Aphanopus carbo* Lowe, 1839 (Peixe-Espada-Preto), no Arquipélago da Madeira. *Relatório de Estágio do Curso de Licenciatura em Biologia. Faculdade de Ciências de Lisboa*, 200 p.
- Fleming, L. E.; Watkins, S.; Kaderman, R.; Levin, B.; Ayyar, D. R.; Bizzio, M.; Stephens, D.; Bean, J. A., 1995.** Mercury Exposure in Humans Through Food Consumption from the Everglades of Florida. *Water, Air and Soil Pollution*, 80 (1/4): 41-48.
- Fox, J. P., 1984.** Mercury, Fish, and the Peruvian Diet. *Bol. Invest. Inst. Tecnol. Pesq. Peru*, 2 (1): 97-116.
- Francesconi, K. A.; Lenanton, R. C. J., 1992.** Mercury Contamination in a Semi-Enclosed Marine Embayment: Organic and Inorganic Mercury Content of Biota, and Factors Influencing Mercury Levels in Fish. *Marine Environmental Research*, 33: 189-212.
- Geistdoerfer, P., 1982.** The Commercial Fishery of Deep-Sea Fishes in the North Atlantic. *Oceanis Doc. Oceanogr.*, 8 (1): 29-55.
- GEPP, 1991.** Recursos da Pesca. Série Estatística 1990, Vol. 4 A-B. Gabinete de Estudos e Planeamento das Pescas (GEPP), Lisboa, 203 p.
- GEPP, 1992.** Recursos da Pesca. Série Estatística 1991, Vol. 5 A-B. Gabinete de Estudos e Planeamento das Pescas (GEPP), Lisboa, 179 p.
- GEPP, 1993.** Recursos da Pesca. Série Estatística 1992, Vol. 6 A-B. Gabinete de Estudos e Planeamento das Pescas (GEPP), Lisboa, 169 p.
- Gerlach, S. A., 1981.** Marine Pollution. Diagnosis and Therapy. Springer-Verlag, Berlin, 218 p.

- Ghazaly, K. S.; El-Mofty, M. M.; Attia, S. I., 1992.** Effects and Locality and Tissue Type on Heavy Metal Levels of Some Commercial Fishes from Alexandria - Egypt. *Bull. Natl. Inst. Oceanogr. Fish. Egypt*, 18: 43-52.
- Grieb, T. M.; Driscoll, C. T.; Gloss, S. P.; Schofield, C. L.; Bowie, G. L.; Porcella, D. B., 1990.** Factors Affecting Mercury Accumulation in Fish in the Upper Michigan Peninsula. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9 (7): 919-930.
- Grimalt, J. O., 1989a.** Instrumental Techniques for the Analysis of Trace Pollutants *In* Marine Pollution (Ed. J. Albaigés), Hemisphere Publishing Corporation, New York, 201-221 pp.
- Grimalt, J. O., 1989b.** Sampling, Sample Handling, and Operational Methods for the Analysis of Trace Pollutants in the Marine Environment *In* Marine Pollution (Ed. J. Albaigés), Hemisphere Publishing Corporation, New York, 223-277 pp.
- Gutiérrez, M.; Establier, R., 1979.** Acumulación de Mercurio Inorgánico e Orgánico a partir del Agua de Mar por la Dorada, *Sparus aurata* L., y sus Efectos Histopatológicos. *Inv. Pesq.* 43 (2): 533-543.
- Hall, A. S.; Teeny, F. M.; Gauglitz, E. J. Jr., 1977.** Mercury in Fish and Shellfish of the Northeast Pacific. III. Spiny Dogfish, *Squalus acanthias*. *Fisheries Bulletin*, 75 (3)642-645.
- Harada, M., 1995.** Minamata Disease: Methylmercury Poisoning in Japan Caused by Environmental Pollution. *Critical Reviews on Toxicology*, 25 (1): 1-24.
- Harakeh, M. S.; Acra, A.; Jurdi, M.; Karahagopian, Y., 1985.** Mercury Levels in Some Species of Fish from the Coast of Lebanon. *Marine Environmental Research*, 16 (1): 13-22.
- Haxton, J.; Lindsay, D. G.; Hislop, J. S.; Salmon, L.; Dixon, E. J.; Evans, W. H.; Reid, J. R.; Hewitt, C. J.; Jeffries, D. F., 1979.** Duplicate Diet Study on Fishing Communities in the United Kingdom: Mercury Exposure in a "Critical Group". *Environmental Research*, 18: 351-368.
- Hernández-Hernández, F.; Medina, J.; Ansuátegui, J.; Conesa, M., 1990.** Heavy Metal Concentrations in Some Marine Organisms from the Mediterranean Sea (Castellón, Spain): Metal Accumulation in Different Tissues. *Scientia Marina*, 54 (2): 113-129.
- Hildebrand, S. G.; Strand, R. H.; Huckabee, J. W., 1980.** Mercury Accumulation in Fish and Invertebrates of the North Fork Holston River, Virginia and Tennessee. *Journal of Environmental Quality*, 9 (3): 393-400.
- Hornung, H., 1991.** Bioaccumulation of Mercury and its Distribution in Various Organs of Some Shore Fishes off the Mediterranean Sea Coast (Israel). *In* Final Reports on Research Projects Dealing with Mercury, Toxicity and Analytical Techniques. Mediterranean Action Plan (MED POL). United Nations Environment Programme (UNEP). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *MAP Technical Reports Series*, 51: 57-83.
- Hornung, H.; Kress, N., 1991.** Trace Elements in Offshore and Inshore Fish from the Mediterranean Coast of Israel. *Toxicology and Environmental Chemistry*, 31/32: 135-145.
- Hornung, H.; Krom, M. D.; Cohen, Y.; Bernhard, M., 1993.** Trace Metal Content in Deep-Water Sharks from the Eastern Mediterranean Sea. *Marine Biology*, 115 (2): 331-338.
- Hornung, H.; Sukenik, A.; Gabrielides, G. P., 1994.** Distribution and Composition of Fatty Acids in Muscle Lipids of Inshore Fish and Deep Water Sharks from the Eastern Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, 28 (7): 448-450.
- Horvat, M.; Byrne, A. R.; May, K., 1990.** A Modified Method for the Determination of Methylmercury by Gas Chromatography. *Talanta*, 37 (2): 207-212.

- Horvat, M.; Bloom, N. S.; Liang, L., 1993a.** Comparison of Distillation with other Current Isolation Methods for the Determination of Methyl Mercury Compounds in Low Level Environmental Samples. Part I. Sediments. *Analytica Chimica Acta*, 281: 135-152.
- Horvat, M.; Liang, L.; Bloom, N. S., 1993b.** Comparison of Distillation with other Current Isolation Methods for the Determination of Methyl Mercury Compounds in Low Level Environmental Samples. Part II. Water. *Analytica Chimica Acta*, 282: 153-168.
- Hossain, M. M., 1994.** Concentration of Total Mercury in Shrimps and Fishes from the Bay of Bengal, Bangladesh. *Marine Research*, 3 (2): 27-32.
- Howe, K. M.; Stein, D. L.; Bond, C. E., 1980.** First Records off Oregon of the Pelagic Fishes *Paralepis atlantica*, *Gonostoma atlanticum*, and *Aphanopus carbo*, with Notes on the Anatomy of *Aphanopus carbo*. *Fisheries Bulletin*, 77 (3): 700-703.
- Hudson, R. J. M.; Gherini, S. A.; Watras, C. J.; Porcella, D. B., 1994.** Modeling the Biogeochemical Cycle of Mercury in Lakes: The Mercury Cycling Model (MCM) and its Application to the MTL Study Lakes. In *Mercury Pollution. Integration and Synthesis* (Eds. Watras, C. J. & Huckabee, J. W.), Lewis Publishers, Boca Raton, 473-523 pp.
- Hureau, J. C., Monod, T., 1973.** Check-List of the Fishes of the North-Eastern Atlantic and Mediterranean. CLOFNAM, Vol. 2, Unesco, Paris, s/p.
- ICES, 1991.** Statistical Analysis of the ICES Cooperative Monitoring Programme Data on Contaminant in Fish Liver Tissue and *Mytilus edulis* (1978-1988) for the Determination of Temporal Trends. *ICES Cooperative Research Report* N° 176, 189 p.
- ICN, 1993.** Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal: Vol. III - Peixes Marinhos e Estuarinos. Instituto da Conservação da Natureza (I.C.N.), Lisboa, 146 p.
- INE, 1997.** Estatísticas da Pesca - 1996. Instituto Nacional de Estatística (INE), Lisboa, 96 p.
- INE, 1998.** Estatísticas da Pesca - 1997. Instituto Nacional de Estatística (INE), Lisboa, 95 p.
- INIP, 1980.** Programa de Apoio às Pescas na Madeira - I. Cruzeiro de Reconhecimento de Pesca e Oceanografia 020080779. *Relatório Técnico e Administrativo* N° 3, Instituto Nacional de Investigação das Pescas (I.N.I.P.), Lisboa, 141 p.
- INIP, 1982.** Programa de Apoio às Pescas na Madeira - II. Cruzeiro de Reconhecimento de Pesca e Oceanografia 020170680. Cruzeiro de Reconhecimento de Pesca e Oceanografia 020241180. *Relatório do INIP*, N° 11, Instituto Nacional de Investigação das Pescas (I.N.I.P.), Lisboa, 220 p.
- INIP, 1984a.** Programa de Apoio às Pescas na Madeira - III. Cruzeiro de Reconhecimento de Pesca e Oceanografia 020330981. *Relatório do INIP*, N° 22, Instituto Nacional de Investigação das Pescas (I.N.I.P.), Lisboa, 132 p.
- INIP, 1984b.** Programa de Apoio às Pescas na Madeira - IV. Cruzeiro de Reconhecimento de Pesca e Oceanografia 020390582. *Relatório do INIP*, N° 25, Instituto Nacional de Investigação das Pescas (I.N.I.P.), Lisboa, 125 p.
- INIP, 1984c.** Programa de Apoio às Pescas na Madeira - V. Cruzeiro de Reconhecimento de Pesca e Oceanografia 020451182. *Relatório do INIP*, N° 31, Instituto Nacional de Investigação das Pescas (I.N.I.P.), Lisboa, 124 p.
- IPQ, 1988.** Pescado. Determinação do Teor de Mercúrio. Método Espectrofotométrico de Absorção Atômica sem Chama. Instituto Português da Qualidade, Lisboa. *Norma Portuguesa* NP 2928, 5 p.
- IPQ, 1991.** Pescado. Determinação da Humidade. Processo de Referência. Instituto Português da Qualidade, Lisboa. *Norma Portuguesa* NP 2282, 4 p.

- Johnston, T. A.; Bodaly, R. A.; Mathias, J. A., 1991.** Predicting Fish Mercury Levels from Physical Characteristics of Boreal Reservoirs. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48: 1468-1475.
- Joiris, C. R.; Ali, I. B.; Holsbeek, L.; Bossicart, M.; Tapia, G., 1995.** Total and Organic Mercury in Barents Sea Pelagic Fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 55: 674-681.
- Joiris, C. R.; Ali, I. B.; Holsbeek, L.; Kanuya-Kinoti, M.; Tekele-Michael, Y., 1997.** Total and Organic Mercury in Greenland and Barents Seas Demersal Fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 58: 101-107.
- Journal Officiel des Communautés Européennes, 1982.** Directive du Conseil du 22 Mars 1982. Valeurs Limites et les Objectifs de Qualité pour les Rejets de Mercure du Secteur de L'électrolyse des Chlorures Alcalins. Journal Officiel des Communautés Européennes N° L 81 - 27/03/82, 29-34 pp.
- King, M., 1995.** Fisheries Biology, Assessment and Management. Fishing News Books, London, 314 p.
- Kureishy, T. W.; George, M. D.; Sen Gupta, R., 1979.** Total Mercury Content in Some Marine Fish from the Indian Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 10 (12): 357-360.
- Leah, R. T.; Evans, S. J.; Johnson, M. S.; Collings, S., 1991a.** Spatial Patterns in Accumulation of Mercury by Fish from the NE Irish Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 22 (4): 172-175.
- Leah, R. T.; Evans, S. J.; Johnson, M. S., 1991b.** Mercury in Muscle Tissue of Lesser-Spotted Dogfish (*Scyliorhinus caniculus* L.) from the North-East Irish Sea. *Science of the Total Environment*, 108 (3): 215-224.
- Leah, R. T.; Evans, S. J.; Johnson, M. S., 1992.** Mercury in Flounder (*Platichthys flesus* L.) from Estuaries and Coastal Waters of the North-East Irish Sea. *Environmental Pollution*, 75 (3): 317-322.
- Leite, A. M., 1988.** The Deep-Sea Fishery of the Black Scabbard Fish *Aphanopus carbo* Lowe, 1839 in the Madeira Island Waters. *World Symposium on Fishing Gear and Fishing Vessel Design*, St. John's Newfoundland, Canada, 240-243 pp.
- Leite, A. M. L., 1989.** A Pescaria de Profundidade do Peixe-Espada-Preto *Aphanopus carbo* Lowe, 1989 em Águas da Ilha da Madeira. *Pesca e Navegação* (Junho-Julho), 15-22 pp.
- Liang, L.; Bloom, N. S.; Horvat, M., 1994a.** Simultaneous Determination of Mercury Speciation in Biological Materials by GC/CVAFS After Ethylation and Room-Temperature Precollection. *Clinical Chemistry*, 40 (4): 602-607.
- Liang, L.; Horvat, M.; Bloom, N. S., 1994b.** An Improved Speciation Method for Mercury by GC/CVAFS After Aqueous Phase Ethylation and Room Temperature Precollection. *Talanta*, 41 (3): 371-379.
- MacCrimmon, H. R.; Wren, C. D.; Gots, B. L., 1983.** Mercury Uptake by Lake Trout, *Salvelinus namaycush*, Relative to Age, Growth, and Diet in Tadenac Lake with Comparative Data from Other PreCambrian Shiel Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40: 114-120.
- Magalhães, M. J., 1980.** Aplicação da Técnica de Cromatografia Gás-Líquido a Compostos Organomercuriais. Estudo do Método da Cisteína de Westöö. Ministério da Agricultura e Pescas. Direcção-Geral de Protecção da Produção Agrícola. Direcção de Serviços de Toxicologia e Análises. Divisão de Contaminação, Lisboa, 14 p.

- Marsh, D. O.; Turner, M. D.; Smith, J. C.; Allen, P.; Richdale, N., 1995. Fetal Methylmercury in a Peruvian Fish-Eating Population. *Neurotoxicology*, 16 (4): 717-725.
- Marthinsen, I.; Staveland, G.; 1990. Levels of Mercury in Flounder (*Platichthys flesus* L.) and Cod (*Gadus morhua* L.) Caught During the Year 1988 in the Hvaler Archipelago, Southern Norway. *ICES Council Meeting 1990 - Collected Papers*, 8 p.
- Martins, M. R.; Leite, A. M.; Nunes, M. L., 1987. Peixe-Espada-Preto. Algumas Notas Acerca da Pescaria do Peixe-Espada-Preto. *Relatório Técnico e Científico do INIP*, S/N, Lisboa, 13 p.
- Martins, M. R.; Martins, M. M.; Cardador, F., 1989a. Pescaria do Peixe-Espada-Preto (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839) na Costa Continental Portuguesa. In Colóquio: "Conservação dos Recursos Vivos Marinhos", INIP, Lisboa, 8 p.
- Martins, M. R.; Martins, M. M.; Cardador, F., 1989b. Portuguese Fishery of Black Scabbard Fish (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839) off Sesimbra Waters. ICES. Demersal Fish Committee, C.M. 1989/G:38, 14 p.
- Martins, M. R.; Cavaco, M. H.; Martins, M. M.; Pissarra, J. L., 1990. Pescarias de Profundidade. I - Peixe-Espada-Preto. *Relatório Técnico e Científico do INIP*, S/N, Lisboa, 11 p.
- Martins, M. R.; Martins, M. M.; Cardador, F., 1992. Pescaria do Peixe-Espada-Preto (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839) nas Águas ao Largo de Sesimbra. In Colóquio: "Conservação dos Recursos Vivos Marinhos", INIP, Lisboa. *Publicações Avulsas do I.N.I.P.*, 17: 131-152.
- Mason, R. P.; Fitzgerald, W. F., 1990. Alkylmercury Species in the Equatorial Pacific. *Nature*, 347 (6292): 457-459.
- Mason, R. P.; Reinfelder, J. R.; Morel, F. M. M., 1995. Bioaccumulation of Mercury and Methylmercury. *Water, Air, and Soil Pollution*, 80: 915-921.
- Mathieson, S.; McLuski, D. S., 1995. Inter-Species Variation of Mercury in Skeletal Muscle of Five Fish Species from Inshore Waters of the Firth of Clyde, Scotland. *Marine Pollution Bulletin*, 30 (4): 283-286.
- May, K.; Stoeppler, M.; Reisinger, K., 1987. Studies in the Ratio Total Mercury / Methylmercury in the Aquatic Food Chain. *Toxicology and Environmental Chemistry*, 13: 153-159.
- McFarlane, G. A.; Franzin, W. G., 1980. An Examination of Cd, Cu, and Hg Concentrations in Livers of Northern Pike, *Esox lucius*, and White Sucker, *Catostomus commersoni*, from Five Lakes near a Base Metal Smelter at Flin Flon, Manitoba. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37: 1573-1578.
- McMurtry, M. J.; Wales, D. L.; Scheider, W. A.; Beggs, G. L.; Dimond, P. E., 1989. Relationship of Mercury Concentrations in Lake Trout (*Salvelinus namaycush*) and Smallmouth Bass (*Micropterus dolomieu*) to the Physical and Chemical Characteristics of Ontario Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46: 426-434.
- MESL, 1997a. Procedure III-5. Digestion of Biological Material for Total Mercury Analysis by VGA-AAS. Marine Environmental Studies Laboratory (MESL). International Atomic Energy Agency (IAEA), Monaco, 11-13 pp.
- MESL, 1997b. Procedure V-3. Determination of Total Mercury in Sediment and Biological Samples by VGA-AAS. Marine Environmental Studies Laboratory (MESL). International Atomic Energy Agency (IAEA), Monaco, 14-20 pp.
- Mikac, N.; Picer, M.; Stegnar, P.; Tusek-Znidaric, M., 1985. Mercury Distribution in a Polluted Marine Area, Ratio of Total Mercury, Methyl Mercury and Selenium in Sediments, Mussels and Fish. *Water Research*, 19 (11): 1387-1392.

- Mikac, N.; Kwokal, Z.; May, K.; Branica, M., 1989. Mercury Distribution in the Krka River Estuary (Eastern Adriatic Coast). *Marine Chemistry*, 28: 109-129.
- Monteiro, L. R.; Lopes, H. D., 1990. Mercury Content of Swordfish, *Xiphias gladius*, in Relation to Length, Weight, Age, and Sex. *Marine Pollution Bulletin*, 21 (6): 293-296.
- Monteiro, L. R., 1991. O Mercúrio no Ambiente Marinho. Trabalho de síntese elaborado no âmbito das provas de acesso à categoria de Assistente de Investigação. Universidade dos Açores. Departamento de Oceanografia e Pescas, 145 p.
- Monteiro, L. R.; Isidro, E. J.; Lopes, H. D., 1991. Mercury Content in Relation to Sex, Size, Age and Growth in two Scorpionfish (*Helicolenus dactylopterus* and *Pontinus kuhlii*) from Azorean Waters. *Water, Air, and Soil Pollution*, 56: 359-367.
- Monteiro, L. R., 1996. Seabirds as Monitors of Mercury Contamination in the Portuguese Atlantic. Thesis Presented in Candidature for the Degree of Doctor of Philosophy to the Faculty of Science, University of Glasgow, 305 p.
- Monteiro, L. R.; Costa, V.; Furness, R. W.; Santos, R. S., 1996. Mercury Concentrations in Prey Fish Indicate Enhanced Bioaccumulation in Mesopelagic Environments. *Marine Ecology Progress Series*, 141: 21-25.
- Morales-Nin, B.; Fortuño, J. M., 1990. Mercury Body Burden and Otolith Characteristics of Bluefin Tuna from the Northwest Mediterranean (Balearic Sea). *Scientia Marina*, 54 (3): 277-285.
- Morales-Nin, B.; Carvalho, D. S., 1996. Age and Growth of the Black Scabbard Fish (*Aphanopus carbo*) off Madeira. *Fisheries Research*, 25: 239-251.
- Mulvey, M.; Newman, M. C.; Chazal, A.; Keklak, M. M.; Heagler, M. G.; Hales Jr., L. S., 1995. Genetic and Demographic Responses of Mosquitofish (*Gambusia holbrooki* Girard 1859) Populations Stressed by Mercury. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14 (8): 1411-1418.
- Navarro-Pedreño, J.; Gómez, I.; Mataix, J., 1993. Ciclos Biogeoquímicos de Oligoelementos Metálicos *In* Metales en Sistemas Biológicos (Ed. A. Mas & J. M. Azcue), Promociones y Publicaciones Universitarias (PPU S.A.), Barcelona, 297-324 pp.
- Nelson, J. S., 1976. Fishes of the World. A Wiley-Interscience Publication. Ed. John Wiley & Sons, New York.
- Nicoletto, P. F.; Hendricks, A. C., 1988. Sexual Differences in Accumulation of Mercury in Four Species of Centrarchid Fishes. *Canadian Journal of Zoology*, 66 (4): 944-949.
- Ninomiya, T.; Ohmori, H.; Hashimoto, K.; Tsuruta, K.; Ekino, S., 1995. Expansion of Methylmercury Poisoning Outside of Minamata - An Epidemiological Study on Chronic Methylmercury Poisoning Outside of Minamata. *Environmental Research*, 70 (1): 47-50.
- NRCC, 1986. DORM-1 and DOLT-1. Dogfish Muscle and Liver Certified Reference Materials for Trace Metals. Description Sheet. National Research Council Canada, Division of Chemistry, Ottawa, Canada, 2 p.
- NRCC, 1993. DORM-1 and DOLT-2. Dogfish Muscle and Liver Certified Reference Materials for Trace Metals. Description Sheet. National Research Council Canada, Institute for Environmental Chemistry, Ottawa, Canada, 4 p.
- NRCC, 1994a. DORM-2 and DOLT-2. Dogfish Muscle and Liver Certified Reference Materials for Trace Metals. Description Sheet. National Research Council Canada, Institute for National Measurements Standards, Ottawa, Canada, 4 p.

- NRCC, 1994b. DORM-2 and DOLT-2. Dogfish Muscle and Liver Certified Reference Materials for Trace Metals. Description Sheet. National Research Council Canada, Institute for Environment Research and Technology, Ottawa, Canada, 2 p.
- Ntow, W. J.; Khwaja, M. A., 1989. Mercury Pollution in Ghana (West Africa) Coastal Commercial Fish. *Environmental Technology Letters*, 10 (1): 109-116.
- Nunes, A. A., 1974. Peixes da Madeira. 2ª Edição. Junta Geral do Distrito Autónomo do Funchal, 285 p.
- Officer, C. B.; Ryther, J. H., S/D. Swordfish and Mercury: A Case History. *S/P*: 34-41.
- Oliveira Ribeiro, C. A.; Torres, R. F., 1995. Acute Effects of HgCl<sub>2</sub> on Epidermis of *Trichomycterus brasiliensis* (Siluroidei; Trichomycteridae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 32: 260-266.
- Oliveira Ribeiro, C. A.; Fernandes, L. M.; Carvalho, C. S.; Cardoso, R. I.; Turcatti, N. M., 1995. Acute Effects of Mercuric Chloride on the Olfactory Epithelium of *Trichomycterus brasiliensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 31: 104-109.
- Oliveira Ribeiro, C. A.; Guimarães, J. R. D.; Pfeiffer, W. C., 1996. Accumulation and Distribution of Inorganic Mercury in a Tropical Fish (*Trichomycterus zonatus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 34: 190-195.
- O'Sullivan, M. P.; Nixon, E. R.; McLaughlin, D.; O'Sullivan, M. L.; O'Sullivan, D., 1991. Chemical Contaminants in the Irish Estuarine and Coastal Waters 1978 to 1988. *Fisheries Bulletin*, Nº 10, 34 p.
- Paasivirta, J., 1991. Chemical Ecotoxicology. Lewis Publishers, Inc., Boca Raton, Florida, 210 p.
- Padberg, S.; May, K., 1992. Occurrence and Behaviour of Mercury and Methylmercury in the Aquatic and Terrestrial Environment. In Specimen Banking (Eds. Rossbach, Schladot & Ostapczuk), Springer-Verlag, Berlin, 195-215 pp.
- Palmisano, F.; Cardellicchio, N.; Zambonin, P. G., 1995. Speciation of Mercury in Dolphin Liver: A Two-Stage Mechanism for the Demethylation Accumulation Process and Role of Selenium. *Marine Environmental Research*, 40 (2): 109-121.
- Parin, N. V., 1986. Trichiuridae. In Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean. Volume II. (Eds. Whitehead, Bauchot, Hureau, Nielsen & Tortonese). CLOFNAM. Unesco, Paris, 976-977 pp.
- Parin, N. V., 1990. Trichiuridae. In Check-List of the Fishes of the Eastern Tropical Atlantic. Volume II. (Eds. Quéro, Hureau, Karrer, Post & Saldanha). CLOFETA. Unesco, Paris, 974 pp.
- Parin, N. V.; Becker, V. E., 1979. Trichiuridae. In Check-List of the Fishes of the North-Eastern Atlantic and of Mediterranean. Volume I. (Eds. Hureau & Monod). CLOFNAM. Unesco, Paris, 462-463 pp.
- Pellegrini, D.; Barghigiani, C., 1989. Feeding Behaviour and Mercury Content in Two Flat Fish in the Northern Tyrrhenian Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 20 (9): 443-447.
- Perez, A.; Moreno, V. J.; De Moreno, J. E. A.; Malaspina, A. M., 1986. Total Mercury Distribution in Fish and Shellfish from the Argentine Sea. *Rev. Invest. Desarr. Pesq.*, 6: 103-115.
- Phillips, G. R.; Gregory, R. W., 1979. Assimilation Efficiency of Dietary Methylmercury by Northern Pike (*Esox lucius*). *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, 36: 1516-1519.

- Pieters, H.; Geuke, V., 1994. Methyl Mercury in the Dutch Rhine Delta. *Water Science Technology*, 30 (10): 213-219.
- Porcella, D. B., 1994. Mercury in the Environment: Biogeochemistry. *In Mercury Pollution. Integration and Synthesis* (Eds. Watras, C. J. & Huckabee, J. W.), Lewis Publishers, Boca Raton, 3-19 pp.
- Porcella, D. B.; Chu, P.; Allan, M. A., 1996. Inventory of North American Hg Emissions to the Atmosphere: Relationship to the Global Mercury Cycle. *In Global and Regional Mercury Cycles: Sources, Fluxes and Mass Balances.* (Eds. Baeyens *et al.*), Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 179-190 pp.
- Porvari, P., 1995. Mercury Levels of Fish in Tucuruí Hydroelectric Reservoir and in River Moju in Amazonia, in the State of Para, Brazil. *Science of the Total Environment*, 175 (2): 109-117.
- Raldúa, D.; Pedrocchi, C., 1996. Mercury Concentrations in Three Species of Freshwater Fishes from the Lower Gállego and Cinca Rivers, Spain. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 57: 597-602.
- Ramos, L. N.; Silva, M. C.; Ferreira, J. G., S/D. A Contaminação por Mercúrio no Estuário do Tejo. Uma Aproximação Conceptual. Seminário sobre Gestão e Modelação Matemática da Qualidade da Água em Rios. 11 p.
- Ratcliffe, H. E.; Swanson, G. M.; Fischer, L. J., 1996. Human Exposure to Mercury: A Critical Assessment of the Evidence of Adverse Health Effects. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 49 (3): 221-270.
- Reijnders, P. J. H., 1980. Organochlorine and Heavy Metals Residues in Harbour Seals from the Wadden Sea and their Possible Effects on Reproduction. *Netherlands Journal of Sea Research*, 14 (1): 30-65.
- Renzoni, A.; Chemello, G.; Gaggi, C.; Bargagli, R.; Bacci, E., 1991. Methylmercury in Deep-Sea Organisms from the Mediterranean. *In Proceedings of the FAO/UNEP/IAEA Consultation Meeting on the Accumulation and Transformation of Chemical Contaminants by Biotic and Abiotic Processes in the Marine Environment.* (Ed. G. P. Gabrielides). Mediterranean Action Plan (MED POL). United Nations Environment Programme (UNEP). Food and Agriculture Organization of the United Nations. *MAP Technical Reports Series*, 59: 303-318.
- Ribeyre, F.; Boudou, A., 1980. Experimental Trophic Chain in the Freshwater Environment: Direct and Trophic Contamination of a Third Order Consumer (*Salmo gairdneri*) by Methylmercury. Tissue Distribution of the Metal and Effects of Routes of Contamination and Environmental Temperature. *Water, Air and Soil Pollution*, 14: 349-357.
- Rodgers, D. W.; Beamish, F. W. H., 1981. Uptake of Waterborne Methylmercury by Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) in Relation to Oxygen Consumption and Methylmercury Concentration. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38 (11): 1309-1315.
- Rodgers, D. W.; Beamish, F. W. H., 1983. Water Quality Modifies Uptake of Waterborne Methylmercury by Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40: 824-828.
- Rudd, J. W. M.; Turner, M. A., 1983a. The English - Wabigoon River System: II. Suppression of Mercury and Selenium Bioaccumulation by Suspended and Bottom Sediments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40: 2218-2227.
- Rudd, J. W. M.; Turner, M. A., 1983b. The English - Wabigoon River System: V. Mercury and Selenium Bioaccumulation as a Function of Aquatic Primary Productivity. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40: 2251-2259.

- Rudd, J. W. M.; Turner, M. A.; Furutani, A.; Swick, A. L.; Townsend, B. E., 1983. The English - Wabigoon River System: I. A Synthesis of Recent Research with a View towards Mercury Amelioration. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40: 2206-2217.
- Sadiq, M., 1992. Toxic Metal Chemistry in Marine Environments. Marcel Dekker, Inc., New York, 390 p.
- Saldanha, L., 1995. Fauna Submarina Atlântica. Portugal Continental, Açores e Madeira. Publicações Europa-América, Lisboa, 364 p.
- Sammut, M., 1991. Aspects of Analytical Chemistry in Marine Toxicity Testing *In* Ecotoxicology and the Marine Environment (Ed. P. D. Abel & V. Axiak), Ellis Horwood Limited (Publishers), Chichester, 103-110 pp.
- Sanches, J. G., 1986. Peixes de Interesse Comercial (Lista de Nomes Portugueses). *Publicações Avulsas do I.N.I.P.*, Nº 8, Lisboa, 67 p.
- Sanches, J. G., 1989. Nomenclatura Portuguesa de Organismos Aquáticos (Proposta para Normalização Estatística). *Publicações Avulsas do I.N.I.P.*, Nº 14, Lisboa, 322 p.
- Sanches, J. G., 1991. Catálogo dos Principais Peixes Marinhos da República da Guiné-Bissau. *Publicações Avulsas do I.N.I.P.*, Nº 16, Lisboa, 429 p.
- Schoen, D., 1996. Methylmercury in Fish. A Case Study of the Analysis of Toxicological Risk. *Vecteur Environnement*, 29 (1): 43-53.
- Schuhmacher, M.; Batiste, J.; Bosque, M. A.; Domingo, J. L.; Corbella, J., 1994. Mercury Concentrations in Marine Species from the Coastal Area of Tarragona Province, Spain. Dietary Intake of Mercury through Fish and Seafood Consumption. *Science of the Total Environment*, 156: 269-273.
- Sellers, P.; Kelly, C. A.; Rudd, J. W. M.; MaChutchon, A. R., 1996. Photodegradation of Methylmercury in Lakes. *Nature*, 380 (6576): 694-697.
- Shultz, C. D.; Ito, B. M., 1979. Mercury and Selenium in Blue Marlin, *Makaira nigricans*, from the Hawaiian Islands. *Fisheries Bulletin*, 76 (4): 872-879.
- Sikorski, Z. E.; Kolakowska, A.; Sun Pan, B., 1990. The Nutritive Composition of the Major Groups of Marine Food Organisms. *In* Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation (Ed. Z. E. Sikorski), CRC Press Inc., Florida, 29-54 pp.
- Snyder, D., 1983. Fish Eggs and Larvae *In* Fisheries Techniques (Ed. L. Nielsen & D. Johnson). American Fisheries Society, 165-197 pp.
- Sokal, R. R.; Rohlf, F. J., 1981. Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research (2<sup>nd</sup> Edition). W. H. Freeman and Company, New York, 859 p.
- Sokal, R. R.; Rohlf, F. J., 1987. Introduction to Biostatistics (2<sup>nd</sup> Edition). W. H. Freeman and Company, New York, 363 p.
- Suns, K.; Hitchin, G., 1990. Interrelationships Between Mercury Levels in Yearling Yellow Perch, Fish Condition and Water Quality. *Water, Air and Soil Pollution*, 50 (3/4): 255-265.
- Svensson, B. G.; Schutz, A.; Nilsson, A.; Akesson, I.; Akesson, B.; Skerfving, B., 1992. Fish as a Source of Exposure to Mercury and Selenium. *Science of the Total Environment*, 126 (1/2): 61-74.

- Tahán, J. E.; Sánchez, J. M.; Granadillo, V. A.; Cubillán, H. S.; Romero, R. A., 1995.** Concentration of Total Al, Cr, Cu, Fe, Hg, Na, Pb and Zn in Commercial Canned Seafood Determined by Atomic Spectrometric Means after Mineralization by Microwave Heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43 (4): 910-915.
- Talbot, V., 1990.** Mercury Levels in Biota and Sediments of Princess Royal Harbour, Albany, Western Australia: Interpretation and Management Applications. *Journal of Coastal Research*, 6 (3): 545-557.
- Taylor, J. K., 1987.** Quality Assurance of Chemical Measurements. Lewis Publishers, CRC Press, Inc., Florida, s/p.
- Templeman, W.; Squires, H. J., 1963.** Three Records of the Black Scabbard Fish, *Aphanopus carbo* Lowe, from the Canadian Region of the Western Atlantic. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, 20 (2): 273-278.
- Thibaud, Y.; Noel, J., 1991.** Evaluation des Teneurs en Mercure, Methylmercure et Selenium dans les Poissons et Coquillages des Cotes Francaises de la Mediterranee. In Final Reports on Research Projects Dealing with Mercury, Toxicity and Analytical Techniques. Mediterranean Action Plan (MED POL). United Nations Environment Programme (UNEP). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *MAP Technical Reports Series*, 51: 1-18.
- Topping, G.; Davies, I. M., 1981.** Methylmercury Production in the Marine Water Column. *Nature*, 290 (5803): 243-244.
- Torreblanca, A.; Díaz Mayans, J.; Del Ramo, J., 1993.** Acumulacion de Metales In Metales en Sistemas Biológicos (Ed. A. Mas & J. M. Azcue), Promociones y Publicaciones Universitarias (PPU S.A.), Barcelona, 257-274 pp.
- Tracey, D. M., 1993.** Mercury Levels in Black Cardinalfish (*Epigonus telescopus*). *New Zeland Journal of Marine and Freshwater Research*, 27 (2): 177-181.
- Turner, M. D.; Marsh, D. O.; Smith, J. C.; Inglis, J. B.; Clarkson, T. W.; Rubio, C. E.; Chiroboga, J., 1980.** Methylmercury in Populations Eating Large Quantities of Marine Fish. *Archives of Environmental Health*, 35 (6): 367-378.
- Turner, M. A.; Swick, A., 1983.** The English - Wabigoon River System: IV. Interaction Between Mercury and Selenium Accumulated from Waterborne and Dietary Sources by Northern Pike (*Esox lucius*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40: 2241-2250.
- UNEP/FAO/IAEA/IOC, 1984.** Sampling of Selected Marine Organisms and Sample Preparation for Trace Metal Analysis. Reference Methods for Marine Pollution Studies N° 7, Rev. 2, United Nations Environment Programme (UNEP), 15 p.
- UNEP/IOC/IAEA/FAO, 1990.** Contaminant Monitoring Programmes using Marine Organisms: Quality Assurance and Good Laboratory Practice. Reference Methods for Marine Pollution Studies N° 57, United Nations Environment Programme (UNEP), 27 p.
- UNEP/FAO/IOC/IAEA, 1992.** Determination of Methylmercury in Marine Organisms. Reference Methods for Marine Pollution Studies N° 13, Rev. 1, United Nations Environment Programme (UNEP), 19 p.
- Verta, M., 1990.** Changes in Fish Mercury Concentrations in an Intensively Fished Lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47: 1888-1897.
- Vukadin, I.; Zvonaric, T.; Odzak, N., 1995.** Fate and Distribution of Toxic Heavy Metals in Some Marine Organisms from the Eastern Adriatic Coast. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 49: 679-688.

- Watanabe, C.; Satoh, H., 1996.** Evolution of Our Understanding of Methylmercury as a Health Threat. *Environmental Health Perspectives*, 104 (2): 367-379.
- Wren, C. D.; MacCrimmon, H. R., 1983.** Mercury Levels in the Sunfish, *Lepomis gibbosus*, Relative to pH and Other Environmental Variables of Precambrian Shield Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40: 1737-1744.
- Wren, C. D.; Harris, S.; Harttrup, N., 1995.** Ecotoxicology of Mercury and Cadmium *In Handbook of Ecotoxicology* (Eds. Hoffman, D. J.; Rattner, B. A.; Burton Jr., G. A.; Cairns Jr., J.), Lewis Publishers, London, 392-423 pp.
- Xun, L.; Campbell, N. E. R.; Rudd, J. W. M., 1987.** Measurements of Specific Rates of Net Methyl Mercury Production in the Water Column and Surface Sediments of Acidified and Circumneutral Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44: 750-757.
- Yan, C. T. D. C.; Schofield, C. L.; Munson, R.; Holsapple, J., 1994.** The Mercury Cycle and Fish in the Adirondack Lakes. *Environmental Science & Technology*, 28 (3): 136A-143A.
- Zillioux, E. J.; Porcella, D. B.; Benoit, J. M., 1993.** Mercury Cycling and Effects in Freshwater Wetland Ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12: 2245-2264.

**ANEXOS**

**ANEXO I**

Tabela I - Escala Macroscópica de Maturação Sexual do Peixe-Espada-Preto (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839)  
(Fonte: Direcção de Serviços de Estudos e Investigação das Pescas - D.S.E.I.P. / R.A.M.)

ESTADOS DE MATURAÇÃO	GÓNADAS FEMININAS	GÓNADAS MASCULINAS
ESTADO 1-A (Imaturo)	pequenas; finas; roliças; translúcido-transparentes; rosadas; sem oócitos visíveis externamente; membrana não individualizada do restante tecido.	pequenas; finas; achatadas; translúcido-transparentes; rosadas; sem esperma.
ESTADO 1-B (Início do Desenvolvimento)	pequenas; finas; roliças; translúcido-opacas; rosadas; oócitos muito pouco visíveis externamente, mas bem visíveis à lupa; membrana fina, mas bem individualizada do restante tecido.	pequenas; finas; achatadas; translúcido-opacas; rosadas; sem esperma.
ESTADO 2 (Desenvolvimento)	roliças; opacas; branco-rosadas; oócitos pontuais, brancos e opacos, bem visíveis externamente, mas não individualizáveis; membrana fina.	achatadas; branco-rosadas; com algum esperma a ser produzido, formando manchas brancas, especialmente nas extremidades; não flácidas.
ESTADO 3 (Desenvolvimento)	grandes; +/- grossas; opacas; branco-rosadas; óvulos redondos, com cerca de 1mm de diâmetro, bem individualizáveis e opacos, podendo alguns estar já transparentes, formando manchas hialinas externamente; membrana fina.	grandes; +/- grossas; branco-rosadas; com algum esperma a ser produzido e canalizado; não flácidas.
ESTADO 4 (Pré-Postura)	muito grandes; grossas; branco-hialino e opacas; óvulos com cerca de 1.5mm de diâmetro, bem individualizáveis, maioritariamente transparentes, formando grandes manchas, hialinas externamente; membrana fina.	muito grandes e grossas, especialmente nas extremidades; brancas; com muito esperma a sair fluentemente pelo canal (à mínima pressão e por corte do tecido).
ESTADO 5 (Postura)	muitíssimo grandes, ocupando toda a cavidade abdominal; muito grossas; completamente hialinas; óvulos transparentes, com cerca de 2mm de diâmetro; membrana muito fina, facilmente rebentável.	muito grandes, ocupando toda a cavidade abdominal; muito grossas; brancas; com esperma saindo abundantemente, por vezes até para fora da cavidade abdominal.
ESTADO 6 (Pós-Postura)	ainda grossas; com óvulos transparentes, mas opacas externamente; membrana grossa; flácidas.	ainda +/- grandes e grossas; branco-avermelhadas, especialmente na zona distal, com manchas vermelhas devido a zonas com elevada vascularização; ainda com muito esperma saindo pelo canal; muitas vezes com lobos.
ESTADO 7 (Pós-Postura)	+/- pequenas; +/- finas; com uma massa ensanguentada e arroxeadada, misturada com óvulos transparentes e em degeneração; por vezes com outros óvulos amarelos e em degeneração; membrana grossa; flácidas.	+/- finas; achatadas; vermelhas e arroxeadadas, especialmente na zona distal; ainda com algum esperma no canal; por vezes com muitos lobos ligados pelo canal.
ESTADO 8 (Repouso)	finíssimas; roliças ao tacto (tubulares); completamente vazias; flácidas.	finíssimas; completamente vazias; flácidas.

NOTA: No estado de Maturação 1-A, a identificação do sexo não é fácil, nem a olho nú, nem à lupa;  
Nos restantes estados de maturação, a identificação do sexo é frequentemente fácil.

**ANEXO II**

Tabela I - Amostragem biológica dos exemplares de peixe-espada-preto (Fonte: DSEIP / RAM)

Exemplar (Nº)	Parâmetros						
	Comprimento Total (cm)	Peso Total (g)	Sexo (M / F)	Estado de Maturação	Músculo (Peso) (g)	Fígado (Peso) (g)	Gónadas (Peso) (g)
1	110	2128	M	2	46,12	14,15	14,79
2	107	1556	M	2	50,61	12,92	13,24
3	108	2004	F	7	62,69	20,35	16,28
4	116	2364	F	2	61,03	17,59	12,73
5	109	1872	M	6	49,52	9,26	28,14
6	113	2085	M	2	60,39	13,04	13,47
7	120	2402	M	2	61,44	13,82	29,56
8	119	2041	M	6	49,73	14,50	32,25
9	118	2365	F	7	51,54	24,87	29,65
10	115	2442	F	2	56,04	26,20	36,09
11	116	2130	M	2	47,68	48,31	16,97
12	109	1710	M	2	45,71	17,07	19,09
13	120	2040	F	7	45,44	26,91	20,84
14	117	2110	F	6	60,96	18,72	50,92
15	119	2210	M	6	66,00	7,67	37,16
16	121	2370	F	7	56,59	36,08	23,75
17	118	1890	M	7	53,74	9,74	13,58
18	108	1670	M	2	42,11	10,34	11,92
19	118	2000	F	7	51,81	17,31	17,76
20	117	2160	F	7	50,94	14,03	20,38
21	129	2710	F	8	57,10	21,35	3,44
22	124	2400	M	7	64,77	14,02	16,92
23	119	2400	M	2	61,73	22,39	19,58
24	108	1720	M	2	48,56	10,95	28,29
25	114	2240	F	7	71,09	16,35	22,28
26	113	1860	M	7	52,02	19,55	12,81
27	112	1880	M	2	57,63	10,10	12,57
28	125	2950	F	7	76,02	26,91	24,92
29	110	1680	M	6	51,87	11,06	17,16
30	127	2790	F	7	62,30	18,39	26,95
31	106	1680	M	3	61,01	12,13	37,63
32	122	1720	M	2	61,23	10,01	14,35
33	119	2400	F	2	57,08	18,00	24,56
34	122	2510	F	7	65,73	20,80	22,34
35	118	2310	F	2	69,67	17,63	12,53
36	112	2220	F	3	53,96	24,26	46,13
37	107	1810	M	3	60,06	11,20	33,40
38	108	1600	M	2	65,18	11,92	9,80
39	110	1840	M	2	58,64	11,50	24,50
40	116	1920	M	2	46,80	9,12	19,77
41	119	1930	M	2	66,03	13,12	33,66
42	104	1700	M	2	61,80	9,37	36,48
43	120	2260	F	7	72,61	11,65	19,01
44	108	1540	M	7	49,84	10,52	17,06
45	117	2280	F	7	72,22	16,45	19,16
46	113	1950	M	6	57,99	11,38	34,50
47	123	1680	F	3	69,00	28,72	122,7
48	119	2040	M	7	59,82	15,45	18,39
49	122	2420	F	7	78,08	15,71	22,49
50	106	1660	M	3	54,70	6,08	32,17

(continua)

Tabela I - Amostragem biológica dos exemplares de peixe-espada-preto (Fonte: DSEIP / RAM)  
(continuação)

Exemplar (Nº)	Parâmetros						
	Comprimento Total (cm)	Peso Total (g)	Sexo (M / F)	Estado de Maturação	Músculo (Peso) (g)	Fígado (Peso) (g)	Gónadas (Peso) (g)
51	124	2780	F	3	72,14	34,16	59,51
52	115	1600	M	2	49,32	-	16,76
53	123	2460	F	2	62,81	19,90	15,91
54	127	2840	F	2	64,43	22,63	19,91
55	130	3020	F	7	65,40	25,73	51,01
56	126	2910	F	7	75,08	22,11	41,60
57	104	1670	M	3	63,44	11,42	27,89
58	137	3290	F	3	7,64	29,06	221,8
59	114	1800	M	3	57,67	-	52,57
60	138	3260	F	7	72,38	23,63	46,94
61	103	1410	F	1B	57,52	7,94	3,99
62	131	2740	F	7	65,75	25,74	31,28
63	128	2780	F	7	68,42	16,29	25,05
Média	117	2162	32 M / 31 F	4	58,7	17,5	29,5
D. Padrão	8	450	-	2	10,7	7,9	30,0
C.V. (%)	6,8	20,8	-	53,3	18,3	45,0	101,8

Tabela II - Teor de humidade (%H<sub>2</sub>O) das amostras (músculo, fígado e gónadas) dos exemplares de peixe-espada-preto

Exemplar (Nº)	Amostra								
	Músculo			Fígado			Gónadas		
	% H <sub>2</sub> O (24 h.)	% H <sub>2</sub> O (48 h.)	Diferença (% H <sub>2</sub> O)	% H <sub>2</sub> O (24 h.)	% H <sub>2</sub> O (48 h.)	Diferença (% H <sub>2</sub> O)	% H <sub>2</sub> O (24 h.)	% H <sub>2</sub> O (48 h.)	Diferença (% H <sub>2</sub> O)
1	50,48	50,72	0,24	50,14	50,67	0,53	65,43	65,60	0,17
2	60,52	60,72	0,20	-	-	-	-	-	-
3	49,95	50,24	0,29	49,22	49,76	0,54	63,22	63,17	-0,05
4	53,63	53,79	0,16	-	-	-	-	-	-
5	58,93	59,24	0,31	-	-	-	-	-	-
6	58,97	59,19	0,22	-	-	-	-	-	-
7	52,62	52,80	0,18	52,52	52,98	0,46	68,42	68,55	0,13
8	57,79	57,97	0,18	-	-	-	-	-	-
9	63,58	63,51	-0,07	-	-	-	-	-	-
10	54,61	54,49	-0,12	-	-	-	-	-	-
11	58,64	58,85	0,21	-	-	-	-	-	-
12	57,82	58,02	0,20	-	-	-	-	-	-
13	62,17	62,50	0,33	-	-	-	-	-	-
14	61,25	61,45	0,20	-	-	-	-	-	-
15	59,82	59,79	-0,03	-	-	-	-	-	-
16	62,30	62,58	0,28	-	-	-	-	-	-
17	58,18	58,32	0,14	-	-	-	-	-	-
18	60,91	61,11	0,20	-	-	-	-	-	-
19	60,55	60,64	0,09	-	-	-	-	-	-
20	62,14	62,38	0,24	-	-	-	-	-	-
21	50,67	51,05	0,38	20,22	21,04	0,82	73,70	73,66	-0,04
22	60,73	60,94	0,21	47,24	47,78	0,54	63,08	63,20	0,12
23	58,18	58,13	-0,05	-	-	-	-	-	-
24	61,89	62,10	0,21	-	-	-	-	-	-
25	59,38	59,29	-0,09	-	-	-	-	-	-
26	51,30	51,62	0,32	39,28	40,08	0,80	65,77	65,74	-0,03
27	61,51	61,48	-0,03	-	-	-	-	-	-
28	59,42	59,61	0,19	-	-	-	-	-	-
29	60,85	60,75	-0,10	-	-	-	-	-	-
30	60,28	60,33	0,05	-	-	-	-	-	-
31	60,54	60,53	-0,01	-	-	-	-	-	-
32	61,77	61,84	0,07	51,94	52,42	0,48	67,80	68,20	0,40
33	55,65	55,61	-0,04	-	-	-	-	-	-
34	61,41	61,37	-0,04	-	-	-	-	-	-
35	57,89	57,92	0,03	-	-	-	-	-	-
36	40,43	40,41	-0,02	22,68	23,31	0,63	32,99	32,88	-0,11
37	58,76	58,74	-0,02	-	-	-	-	-	-
38	62,20	62,18	-0,02	-	-	-	-	-	-
39	61,98	62,04	0,06	-	-	-	-	-	-
40	53,00	53,01	0,01	34,34	34,87	0,53	65,74	65,64	-0,10
41	58,81	58,88	0,07	-	-	-	-	-	-
42	37,91	38,25	0,34	43,88	44,52	0,64	63,36	63,60	0,24
43	60,35	60,41	0,06	-	-	-	-	-	-
44	59,98	60,03	0,05	-	-	-	-	-	-
45	63,41	63,43	0,02	-	-	-	-	-	-
46	55,97	55,92	-0,05	-	-	-	-	-	-
47	58,48	58,50	0,02	-	-	-	-	-	-
48	61,92	62,00	0,08	45,42	45,84	0,42	67,16	67,12	-0,04
49	60,74	60,81	0,07	-	-	-	-	-	-
50	54,72	54,95	0,23	44,92	45,45	0,53	69,72	69,81	0,09

(continua)

Tabela II - Teor de humidade (%H<sub>2</sub>O) das amostras (músculo, fígado e gónadas) dos exemplares de peixe-espada-preto (continuação)

Exemplar (Nº)	Amostra								
	Músculo			Fígado			Gónadas		
	% H <sub>2</sub> O (24 h.)	% H <sub>2</sub> O (48 h.)	Diferença (% H <sub>2</sub> O)	% H <sub>2</sub> O (24 h.)	% H <sub>2</sub> O (48 h.)	Diferença (% H <sub>2</sub> O)	% H <sub>2</sub> O (24 h.)	% H <sub>2</sub> O (48 h.)	Diferença (% H <sub>2</sub> O)
51	51,11	51,23	0,12	-	-	-	-	-	-
52	58,78	58,80	0,02	-	-	-	-	-	-
53	58,11	58,18	0,07	-	-	-	-	-	-
54	57,16	57,24	0,08	-	-	-	-	-	-
55	61,49	61,73	0,24	43,68	44,29	0,61	42,06	41,99	-0,07
56	57,78	57,92	0,14	42,02	42,62	0,60	50,38	50,36	-0,02
57	50,13	50,39	0,26	8,68	9,51	0,83	64,59	64,59	0,00
58	55,24	55,38	0,14	40,72	41,50	0,78	26,05	25,71	-0,34
59	57,59	57,61	0,02	-	-	-	-	-	-
60	61,16	61,34	0,18	47,26	47,93	0,67	64,21	63,99	-0,22
61	54,97	55,23	0,26	39,67	40,42	0,75	10,90	11,02	0,12
62	52,11	52,19	0,08	11,37	12,30	0,93	60,56	60,50	-0,06
63	53,53	53,68	0,15	51,68	52,16	0,48	55,95	55,96	0,01
<b>Média</b>	57,5	57,6	0,10	39,3	40,0	0,70	57,0	57,1	0,10
<b>D. Padrão</b>	5,0	4,9	0,10	13,2	13,1	0,10	16,5	16,6	0,10
<b>C.V. (%)</b>	8,6	8,6	-	33,7	32,9	-	28,9	29,0	-

Tabela III - Concentrações de mercúrio total (mg/Kg - peso húmido e peso seco) das amostras (músculo, fígado e gónadas) dos exemplares de peixe-espada-preto

Exemplar Nº	Concentrações de Mercúrio					
	Músculo (peso húmido)	Músculo (peso seco)	Fígado (peso húmido)	Fígado (peso seco)	Gónadas (peso húmido)	Gónadas (peso seco)
1	0,65	1,33	0,37	0,74	0,20	0,58
2	0,66	1,68	-	-	-	-
3	0,91	1,82	0,31	0,62	0,35	0,96
4	0,53	1,14	-	-	-	-
5	0,75	1,84	-	-	-	-
6	0,63	1,54	-	-	-	-
7	0,72	1,52	0,50	1,06	0,23	0,73
8	0,87	2,07	-	-	-	-
9	0,95	2,61	-	-	-	-
10	0,44	0,97	-	-	-	-
11	0,63	1,52	-	-	-	-
12	0,77	1,84	-	-	-	-
13	0,96	2,57	-	-	-	-
14	0,56	1,45	-	-	-	-
15	0,74	1,84	-	-	-	-
16	0,62	1,64	-	-	-	-
17	1,08	2,59	-	-	-	-
18	0,59	1,51	-	-	-	-
19	0,96	2,45	-	-	-	-
20	0,78	2,07	-	-	-	-
21	1,19	2,44	1,10	1,39	0,49	1,88
22	0,94	2,40	3,80	7,28	0,46	1,25
23	0,57	1,35	-	-	-	-
24	0,85	2,25	-	-	-	-
25	0,65	1,60	-	-	-	-
26	1,02	2,11	4,33	7,23	0,47	1,38
27	0,60	1,55	-	-	-	-
28	1,49	3,69	-	-	-	-
29	0,78	1,99	-	-	-	-
30	0,63	1,59	-	-	-	-
31	0,78	1,98	-	-	-	-
32	1,27	3,34	9,27	19,5	0,75	2,34
33	0,55	1,23	-	-	-	-
34	0,64	1,65	-	-	-	-
35	0,75	1,78	-	-	-	-
36	0,60	1,00	0,79	1,04	0,10	0,15
37	0,72	1,74	-	-	-	-
38	0,79	2,08	-	-	-	-
39	1,06	2,80	-	-	-	-
40	0,83	1,77	3,14	4,82	0,28	0,83
41	1,27	3,09	-	-	-	-
42	0,72	1,16	1,95	3,52	0,18	0,50
43	0,80	2,02	-	-	-	-
44	0,60	1,49	-	-	-	-
45	0,66	1,80	-	-	-	-
46	0,70	1,58	-	-	-	-
47	0,78	1,88	-	-	-	-
48	0,95	2,49	4,52	8,34	0,55	1,67
49	0,89	2,28	-	-	-	-
50	0,68	1,52	2,06	3,77	0,18	0,58

(continua)

**Tabela III - Concentrações de mercúrio total (mg/Kg - peso húmido e peso seco) das amostras (músculo, fígado e gónadas) dos exemplares de peixe-espada-preto (continuação)**

Exemplar Nº	Concentrações de Mercúrio					
	Músculo (peso húmido)	Músculo (peso seco)	Fígado (peso húmido)	Fígado (peso seco)	Gónadas (peso húmido)	Gónadas (peso seco)
51	0,82	1,67	-	-	-	-
52	0,84	2,04	-	-	-	-
53	0,72	1,72	-	-	-	-
54	0,53	1,25	-	-	-	-
55	1,42	3,70	15,2	27,2	0,91	1,57
56	0,70	1,66	2,68	4,68	0,21	0,43
57	0,63	1,28	1,03	1,14	0,11	0,32
58	0,60	1,33	0,70	1,20	0,12	0,16
59	0,53	1,25	-	-	-	-
60	1,72	4,46	47,3	90,9	1,05	2,94
61	0,43	0,96	0,75	1,27	0,06	0,07
62	1,12	2,35	2,78	3,17	0,62	1,57
63	0,68	1,47	2,66	5,57	0,29	0,65
<b>Média</b>	0,80	1,92	5,26	9,72	0,38	1,03
<b>D. Padrão</b>	0,25	0,68	10,51	20,24	0,28	0,78
<b>C. V. (%)</b>	31,8	35,7	199,7	208,2	73,3	75,8

**Tabela IV** - Idade dos exemplares de peixe-espada-preto determinada através da aplicação da equação de crescimento de von Bertalanffy

Exemplar (Nº)	Comprimento Total (cm)	Idade (anos)	Exemplar (Nº)	Comprimento Total (cm)	Idade (anos)
1	110	4	36	112	4
2	107	4	37	107	4
3	108	4	38	108	4
4	116	5	39	110	4
5	109	4	40	116	5
6	113	4	41	119	6
7	120	6	42	104	3
8	119	6	43	120	6
9	118	5	44	108	4
10	115	5	45	117	5
11	116	5	46	113	4
12	109	4	47	123	6
13	120	6	48	119	6
14	117	5	49	122	6
15	119	6	50	106	3
16	121	6	51	124	7
17	118	5	52	115	5
18	108	4	53	123	6
19	118	5	54	127	8
20	117	5	55	130	9
21	129	8	56	126	7
22	124	7	57	104	3
23	119	6	58	137	15
24	108	4	59	114	5
25	114	5	60	138	19
26	113	4	61	103	3
27	112	4	62	131	9
28	125	7	63	128	8
29	110	4			
30	127	8			
31	106	3			
32	122	6			
33	119	6			
34	122	6			
35	118	5			

Média	117	6
D. Padrão	8	3
C.V. (%)	6,8	46,4

(continua)

Tabela V - Índices de condição fisiológica dos exemplares de peixe-espada-preto (Factor de Condição Geral - K; Índice Hepatosomático adaptado - I.H.S.; Índice Gonadosomático adaptado - I.G.S.)

Exemplar (Nº)	Factor de Condição Geral (K)	Índice Hepatosomático (I.H.S.)	Índice Gonadosomático (I.G.S.)
1	1,60	0,67	0,70
2	1,27	0,84	0,86
3	1,59	1,03	0,82
4	1,51	0,75	0,54
5	1,45	0,50	1,53
6	1,45	0,63	0,65
7	1,39	0,58	1,25
8	1,21	0,72	1,61
9	1,44	1,06	1,27
10	1,61	1,08	1,50
11	1,36	2,32	0,80
12	1,32	1,01	1,13
13	1,18	1,34	1,03
14	1,32	0,90	2,47
15	1,31	0,35	1,71
16	1,34	1,55	1,01
17	1,15	0,52	0,72
18	1,33	0,62	0,72
19	1,22	0,87	0,90
20	1,35	0,65	0,95
21	1,26	0,79	0,13
22	1,26	0,59	0,71
23	1,42	0,94	0,82
24	1,37	0,64	1,67
25	1,51	0,74	1,00
26	1,29	1,06	0,69
27	1,34	0,54	0,67
28	1,51	0,92	0,85
29	1,26	0,66	1,03
30	1,36	0,66	0,98
31	1,41	0,73	2,29
32	0,95	0,59	0,84
33	1,42	0,76	1,03
34	1,38	0,84	0,90
35	1,41	0,77	0,55
36	1,58	1,10	2,12
37	1,48	0,62	1,88
38	1,27	0,75	0,62
39	1,38	0,63	1,35
40	1,23	0,48	1,04
41	1,15	0,68	1,77
42	1,51	0,55	2,19
43	1,31	0,52	0,85
44	1,22	0,69	1,12
45	1,42	0,73	0,85
46	1,35	0,59	1,80
47	0,90	1,74	7,88
48	1,21	0,76	0,91
49	1,33	0,65	0,94
50	1,39	0,37	1,98

(continua)

**Tabela V** - Índices de condição fisiológica dos exemplares de peixe-espada-preto (Factor de Condição Geral - K; Índice Hepatossomático adaptado - I.H.S.; Índice Gonadossomático adaptado - I.G.S.) (continuação)

Exemplar (Nº)	Factor de Condição Geral (K)	Índice Hepatossomático (I.H.S.)	Índice Gonadossomático (I.G.S.)
51	1,46	1,24	2,19
52	1,05	-	1,06
53	1,32	0,82	0,65
54	1,39	0,80	0,71
55	1,37	0,86	1,72
56	1,45	0,77	1,45
57	1,48	0,69	1,70
58	1,28	0,89	7,23
59	1,21	-	3,01
60	1,24	0,73	1,46
61	1,29	0,57	0,28
62	1,22	0,95	1,15
63	1,33	0,59	0,91
<b>Média</b>	1,34	0,80	1,38
<b>D. Padrão</b>	0,14	0,32	1,26
<b>C.V. (%)</b>	10,4	40,1	91,0

