

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Ana Barbosa Viana

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA FI-CVG-ICP-MS PARA
DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM PEIXE**

Santa Maria, RS.

2023

Ana Barbosa Viana

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA FI-CVG-ICP-MS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM PEIXE

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Química**.

Orientador: Prof. Dr. Valderi Luiz Dressler

Santa Maria, RS.

2023

Viana, Ana Barbosa
DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA FI-CVG-ICP-MS PARA
DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM PEIXE / Ana Barbosa Viana.-
2023.
61 p.; 30 cm

Orientador: Valderi Luiz Dressler
Coorientadora: Jussiane Souza da Silva
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Química, RS, 2023

1. Mercúrio 2. Peixe 3. Rio Madeira 4. CVG 5. ICP-MS
I. Dressler, Valderi Luiz II. Souza da Silva, Jussiane
III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo
autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca
Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, ANA BARBOSA VIANA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Ana Barbosa Viana

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA FI-CVG-ICP-MS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM PEIXE

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Química**.

Aprovada em 26 de Junho de 2023

Valderi Luiz Dressler, Dr. (UFSM)

(Presidente/Orientador)

Aline Lima Hermes Müller, Dr. (UFSM)

Sergio Roberto Mortari, Dr. (UFN)

Santa Maria, RS.

2023

DECLARAÇÃO

A pesquisa descrita nesta Dissertação foi totalmente elaborada por mim e as informações retiradas da literatura estão devidamente referenciadas. Esta Dissertação não foi apresentada anteriormente para a obtenção de qualquer outro título.

Ana Barbosa Viana

Dedico ao meu filho, Pedro por tão cedo aprender a importância de lutar por um sonho e a lidar com minha ausência por dois anos na elaboração dessa pesquisa.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) e ao Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA) pela estrutura e possibilidade de execução deste trabalho.

Aos órgãos de fomento, em especial ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo incentivo a pesquisa.

Ao Prof. Dr. Valderi Luiz Dressler, pela orientação, pela amizade, pelo exemplo de profissional, pelos ensinamentos e acompanhamentos durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Edson Irineu Müller, Prof. Dra. Aline Lima Hermes Müller e ao Prof. Dr. Sergio Roberto Mortari, pela participação na banca examinadora desta dissertação, pelas sugestões e contribuições para o melhoramento do trabalho.

Ao Ademir pela amizade, pelo exemplo profissional e todas as contribuições dadas durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos colegas e professores pelo convívio e colaboração no desenvolvimento do trabalho. Em especial a Cristiane, Gustavo, Cristian, Daiana, Dylan, Viviane, Gabrielle, Flávia, Arthur, Diego, Leonardo, Giovane e Karina.

As minhas amigas e amigos que me deram todo o apoio psicológico durante todos os momentos que eu precisava durante este período envolvido com as atividades de pesquisa e escrita da dissertação: Dagliane e Patrícia, Cristiane, Daiana, Diego e, em especial, a minha psicóloga gratuita e irmã de alma Taynara.

A minha família, que de alguma maneira contribuiu para a minha evolução e crescimento pessoal e profissional, em especial a todos que ajudaram a cuidar do meu filho Pedro durante a minha ausência.

A vida não é fácil para nenhum de nós. Temos que ter persistência e, acima de tudo, confiança em nós mesmos. Devemos acreditar que somos talentosos em alguma coisa, e que essa coisa, a qualquer custo, deve ser alcançada.

MARIE CURIE

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA FI-CVG-ICP-MS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM PEIXE

AUTORA: Ana Barbosa Viana

ORIENTADOR: Valderi Luiz Dressler

O mercúrio (Hg) é um elemento tóxico que pode ficar retido no meio ambiente e na cadeia alimentar, resultado da sua biomagnificação e bioacumulação. Uma elevada concentração de Hg no organismo humano pode levar à sério risco para a saúde, comprometendo o sistema nervoso e o funcionamento de alguns órgãos. Uma das formas de contaminação por Hg é a partir da ingestão de alimentos contaminados. Diversos estudos relatam a contaminação do rio Madeira, localizado em Porto Velho – Rondônia, por Hg, o qual é utilizado na mineração do ouro em garimpos. Cabe destacar que há uma considerável população de ribeirinhos que utiliza o rio para a pesca. Portanto, o consumo de peixe contaminado pode ser uma questão de saúde pública, justificando o desenvolvimento de métodos analíticos para monitorar os níveis de concentração do Hg em peixe. Neste sentido, foi desenvolvido um sistema de introdução de amostra com geração química de vapor acoplado a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, para a determinação de Hg em músculo de peixes. No trabalho, foram avaliadas as condições reacionais e físicas do sistema proposto e analisadas 18 espécies de peixe com hábitos alimentares diferentes, tais como piscívoras, necrófagas, carnívoras, onívoras e herbívoras. Os resultados da concentração de Hg foram analisados de acordo com a legislação vigente no Brasil (ANVISA), onde são estipulados valores máximos de Hg de $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ para espécies predadoras e $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ para espécies não predadoras. A exatidão do método proposto foi avaliada utilizando material de referência certificado Dogfish Liver Certified Reference Material for Trace Metals (DOLT-4), obtendo-se uma concordância de 95% (teste t) com valor certificado. A precisão do método é melhor do que 5% (desvio padrão relativo) para dez medições consecutivas de Hg. Limites de detecção de $0,04 \mu\text{g g}^{-1}$ e quantificação de $0,06 \mu\text{g g}^{-1}$ foram obtidos pelo método proposto, o que atende a concentração máxima de Hg em peixe estabelecida pela ANVISA.

Palavras-chave: Mercúrio. Peixe. Rio Madeira. CVG. ICP-MS.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF A FI-CVG-ICP-MS SYSTEM FOR MERCURY DETERMINATION IN FISH

AUTHOR: Ana Barbosa Viana

ADVISOR: Valderi Luiz Dressler

Mercury (Hg) is a toxic element that can accumulate in the environment and in the food chain due to its biomagnification and bioaccumulation. A high concentration of Hg in the human body can lead to health complications, compromising mainly the nervous system and the functioning of some organs. One of the forms of contamination by Hg is from the ingestion of contaminated food. Several studies report the contamination of the Madeira River, located in Porto Velho - Rondônia, by Hg that is used in gold mining. It should be noted that there is a considerable population of riverine people who use the river for fishing. The consumption of contaminated fish can be a public health issue, justifying the development of analytical methods to monitor Hg concentration levels in fish. In this sense, a sample introduction system with chemical vapor generation coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry was developed for Hg determination in fish muscle. The reaction conditions and physical variables of the proposed system were evaluated and eighteen species of fish with different eating habits were analyzed, such as piscivores, scavengers, carnivores, omnivores and herbivores. The results were analyzed in accordance with current legislation in Brazil (ANVISA), which specifies maximum Hg values of $1.0 \mu\text{g g}^{-1}$ for predatory species and $0.5 \mu\text{g g}^{-1}$ for non-predatory species. The accuracy of the proposed method was evaluated using certified reference material Dogfish Liver Certified Reference Material for Trace Metals (DOLT-4) where an agreement of 95% (t-test) with certified value was achieved. The precision of the method is better than 5% (relative standard deviation) for ten consecutive measurements of Hg. The method detection and quantification limits were $0.04 \mu\text{g g}^{-1}$ and $0.06 \mu\text{g g}^{-1}$, respectively, which meets the maximum concentration of Hg in fish established by ANVISA.

Keywords: Mercury. Fish. CVG. Madeira River. ICP-MS

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Ciclo biogeoquímico do mercúrio.....	20
FIGURA 2 - Balsas (dragas), no rio Madeira, para extração do ouro.....	23
FIGURA 3 - Contaminação do Rio Madeira por Hg usado no garimpo.	24
FIGURA 4 - Esquema de um instrumento de ICP-MS (adaptado de DRESSLER, 1999). PN: nebulizador pneumático. USN: nebulizador ultrassônico. CVG: geração química de vapor. ETV: vaporização eletrotérmica. LA: ablação a laser.	28
FIGURA 5 - Esquema do sistema FI-CVG-ICP-MS proposto. B1, B2, B3, B4 mini bombas peristálticas; R1: misturador; R2: reator e separador gás/líquido (G/L); D: descarte; Ar: argônio.	31
FIGURA 6 – Fluxograma com principais etapas envolvidas na elaboração do sistema proposto	34
FIGURA 7 - Amostra de músculo de peixe (A), forno de micro-ondas utilizado no preparo das amostras (B), amostras digerida (C) e amostra digerida e aferida 20 mL (D).	37
FIGURA 8 - Fluxograma das etapas envolvidas na coleta das amostras	39
FIGURA 9 - Influência da vazão do gás carreador para a medição de Hg por FI-CVG-ICP-MS. As demais condições estão citadas na Tabela 1	40
FIGURA 10 - Separadores gás/líquido avaliadas.....	41
FIGURA 11 - Programa de acionamento das mini bombas peristálticas do sistema FI-CVG-ICP-MS usando o separador G/L da Figura 10 D e as condições da Figura 14	43
FIGURA 12 - Efeito da concentração do HCl na intensidade do sinal do Hg. A concentração do NaBH ₄ foi mantida em 0,005% (m/v) e Hg em 5,0 mg L ⁻¹	44
FIGURA 13 - Efeito da concentração do NaBH ₄ na geração de vapor de Hg. Concentração de HCl a 1% v/v e Hg a 5,0 µg L ⁻¹	45
FIGURA 14 - Perfil de sinal do Hg (5,0 µg L ⁻¹). Nas condições otimizadas.....	46
FIGURA 15 - Curva de calibração obtida no sistema proposto.....	47
FIGURA 16 - Foto do sistema FI - CVG proposto. Base polietileno (A), mini bombas peristálticas (B), separador gás/líquido (C), tubos de Tygon (D), caixa de comando (E).	49

FIGURA 17 - Concentração de mercúrio em espécies de peixes com diferentes hábitos alimentares avaliadas neste trabalho.....54

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Características de sistemas aberto e fechado para decomposição de amostras.....	25
TABELA 2 - Condições do instrumento de ICP-MS utilizadas para a determinação de Hg em peixe.	30
TABELA 3 - Tempo de acionamento das mini bombas utilizado para cada separador gás/líquido. Ti: tempo inicial, Tp: tempo de permanência, s: segundos, reagentes: HCl e NaBH ₄	32
TABELA 4 - Número da amostra, espécie, nome popular e científico, alimentação, características, comprimento e peso.	35
TABELA 5 - Características analíticas do sistema FI-CVG-ICP-MS proposto.....	47
TABELA 6 - Valor de Hg obtido do CRM com o método proposto.	48
TABELA 7 - Concentração de Hg para espécie de peixe carnívora. O resultado corresponde à média e o desvio padrão (1SD) para três replicatas.....	50
TABELA 8 - Concentração de Hg para espécie de peixe onívora. O resultado corresponde à média e o desvio padrão (1SD) para três replicatas.....	51
TABELA 9 - Concentração de Hg nas espécies de peixe herbívoro. O resultado corresponde à média e o desvio padrão (1SD) para três replicatas.....	52
TABELA 10 - Concentração de Hg para espécies de peixe piscívoras. O resultado corresponde à média e o desvio padrão (1SD) para três replicatas.....	53
TABELA 11 - Concentração de Hg para espécies de peixe necrófagas. O resultado corresponde à média e o desvio padrão (1SD) para três replicatas.....	53

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 MERCÚRIO.....	19
2.2 CICLO BIOGEOQUÍMICO DO Mercúrio	19
2.3 TOXICIDADE DO MERCÚRIO	21
2.4 MERCÚRIO EM PEIXES	22
2.5 PREPARO DE AMOSTRA PARA A DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM PEIXE	24
2.6 ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO	26
2.7 GERAÇÃO QUÍMICA DE VAPOR	27
2.8 TÉCNICAS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL.....	27
3 MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1 INSTRUMENTAÇÃO	30
3.2 DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA FI-CVG	31
3.3 REAGENTES.....	32
3.4 MATERIAIS DIVERSOS	33
3.5 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO DO SISTEMA FI-CVG-ICP-MS.....	33
3.6 COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS	35
3.7 PREPARO DAS AMOSTRAS	35
3.8 DETERMINAÇÕES DE MASSA SECA.....	38
3.9 DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM PEIXE	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1 ESTABELECIMENTO DAS CONDIÇÕES PARA A DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO.....	40
4.2 DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA FI-CVG-ICP-MS	41
4.3 EFEITOS DA CONCENTRAÇÃO DOS REAGENTES.....	44
4.4 CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DO SISTEMA PROPOSTO	46

4.5 CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA FI-CVG	48
4.6 MERCÚRIO TOTAL EM PEIXE	49
5 CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

O mercúrio (Hg) é um elemento químico pertencente à classe dos metais, que em baixas concentrações não apresenta grandes riscos de contaminação do meio ambiente ou para a saúde dos seres humanos, sendo considerado não essencial a qualquer processo metabólico (TINÔCO *et al.*, 2010). Naturalmente, o Hg pode ser encontrado tanto em sua espécie inorgânica como na orgânica. Na forma inorgânica, está presente nos estados de oxidação +1 e +2, enquanto o metilmercúrio (CH_3Hg^+) é a espécie orgânica mais comum. Destes, o CH_3Hg^+ é aproximadamente 100 vezes mais tóxico e é facilmente bioacumulado nos organismos e biomagnificado através da cadeia alimentar (ARAUJO *et al.*, 2010).

A bioacumulação está relacionada ao tempo, ou seja, um peixe na idade de um ano possui uma concentração de mercúrio e com o passar do tempo esse mercúrio vai acumular no organismo desse peixe. Portanto, esse mesmo peixe, por exemplo, após três anos terá uma concentração Hg superior ao que tinha no início. Já a biomagnificação está relacionada aos diferentes níveis tróficos, sendo que a biomagnificação é o aumento na concentração do contaminante (Hg) a cada nível trófico da cadeia alimentar (ARAUJO *et al.*, 2010). Portanto, uma das principais características do Hg é o seu potencial de bioacumulação nos organismos vivos. Sendo assim, ao consumirmos alimentos contaminados com Hg, com o passar do tempo, o nosso corpo começa a apresentar diversos sintomas decorrentes da contaminação por Hg. Os sintomas podem variar de acordo com a concentração e espécie de Hg que foi ingerida. Contaminações causadas por este elemento afetam, principalmente, os sistemas nervoso, digestivo e imunológico, bem como os pulmões, rins e olhos (TINÔCO *et al.*, 2010).

Contaminações ambientais decorrentes de despejos indevidos de Hg na natureza são bastante relatadas na literatura. Um deles foi o acidente na Baía de Minamata, no Japão, na década de 1960, em que houve o derramamento de resíduos tóxicos contendo altas concentrações de Hg na água do mar. Como consequência, toda a vida aquática foi severamente contaminada, o que posteriormente também acabou impactando na contaminação dos seres humanos, principalmente com CH_3Hg^+ , devido ao consumo de peixes daquela região contaminada com mercúrio.

Sabendo do alto potencial de toxicidade do Hg, o Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2017) promoveu em dezembro de 2017 a implantação da convenção de Minamata no Brasil. A convenção é um pacto internacional, firmado por 128 países, que determina critérios rigorosos para banir o uso completo do mercúrio, tais como para a fabricação de termômetros, em alguns processos industriais, dentre outros.

Entretanto, o mercúrio é ainda largamente utilizado na mineração do ouro (Au). Neste processo, o elemento é utilizado na forma metálica e grande quantidade pode ser liberada ao ambiente, afetando o solo, sedimento, água e a vida em geral. No Brasil, o seu uso é bastante comum, principalmente na região norte. Nesta região está localizado o rio Madeira, que é um afluente do rio Amazonas, tendo 1460 km de extensão dentro do território nacional, passando pelos estados de Rondônia (RO) e Amazonas (AM). O rio Madeira é o vigésimo maior rio do mundo. A Bacia do rio Madeira está dividida em duas seções diferentes. A primeira é o alto rio Madeira, com cerca de 360 km, que se localiza entre a confluência dos rios Mamoré e Beni, originário do planalto andino, até a cidade de Porto Velho. A segunda seção é o baixo rio Madeira que possui uma extensão de 1100 km, localizada entre as cidades de Porto Velho (RO) e Itacoatiara (AM). A bacia do rio Madeira foi a segunda região de mineração de ouro mais importante da Amazônia (PESTANA *et al.*, 2022; BASTOS *et al.* 2006).

O rio Madeira, na região da cidade de Porto Velho, capital do estado de Rondônia, já é impactado pelo garimpo do ouro e outras atividades antropogênicas. A preocupação com o Hg vem do seu uso intensivo na exploração do ouro. Cabe destacar que há uma considerável população de ribeirinhos que utiliza o rio para a pesca, sendo o peixe um dos principais alimentos desta população. Portanto, o consumo de peixe contaminado pode ser uma questão de saúde pública, justificando o desenvolvimento de métodos analíticos para monitorar os níveis de concentração do elemento em peixe (PRAZERES, 2021).

Levando em consideração que o Hg é bioacumulativo e pode ser biomagnificado, ficando retido na cadeia alimentar dos peixes e que os ribeirinhos do rio Madeira, localizados na zona urbana de Porto Velho, consomem uma grande quantidade de peixe em sua alimentação, é importante avaliar os níveis de mercúrio no tecido desses peixes para averiguar se esses podem ser consumidos sem oferecer risco para a saúde (BOISCHIO; BARBOSA, 1993).

Neste sentido, este trabalho teve como objetivo principal desenvolver um sistema de introdução de amostra com geração química de vapor acoplado a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (FI-CVG-ICP-MS), para a determinação de Hg em músculo de peixes.

Avaliar os parâmetros reacionais, como as concentrações do reagente redutor (NaBH_4) e da solução ácida (HCl), e o arranjo físico do sistema, estão entre os objetivos específicos do trabalho. O efeito do tempo de reação, a vazão do gás carregador e o desenvolvimento de um separador gás/líquido, eficiente para determinação de Hg, também foram estudados. Após verificar a exatidão através do uso de material de referência certificado (CRM) e estabelecer as características analíticas do método proposto, o mesmo foi aplicado para a determinação de Hg em músculo de peixe de diferentes espécies provenientes do rio Madeira. Os resultados da concentração de Hg foram analisados de acordo com a legislação vigente no Brasil (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013), onde são estimados valores máximos de Hg de $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ para espécies predadoras e $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ para espécies não predadoras.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MERCÚRIO

O mercúrio é o único metal que à temperatura ambiente está na forma líquida. Sua emissão no meio ambiente pode ser natural, sendo proveniente da desgaseificação da crosta terrestre ou por vulcões em atividade, ou através da emissão antropogênica, ou seja, pela ação humana (BERLIN; ZALUPS; FOWLER, 2015; OUTRIDGE *et al.*, 2018).

Na natureza, o Hg é encontrado, principalmente, ligado ao enxofre, formando o minério cinabre (HgS). Já as emissões antropogênicas podem ocorrer pelo uso industrial (termômetros, barômetros, células eletrolíticas para a produção de cloro e soda, amálgamas dentárias, lâmpadas fluorescentes e como pesticidas), além do descarte incorreto de produtos eletrônicos, incineração de lixo, entre outros. Apenas no ano de 2015, cerca de 2500 toneladas de Hg foram lançadas no meio ambiente por meios antropogênicos, o que corresponde a aproximadamente 57% do total de Hg impelido de forma incorreta na natureza (MICARONI; BUENO; JARDIM, 2000; OUTRIDGE *et al.*, 2018).

No Brasil, um dos principais usos do Hg é em garimpos clandestinos. Neste caso, o Hg é usado para o processo de purificação do ouro, através da amalgamação, o qual após a utilização é descartado no rio na forma de Hg metálico e na atmosfera como vapor de Hg. Para tanto, o uso indiscriminado deste metal gera, a curto e longo prazo, sérias contaminações ambientais, principalmente nas regiões de descarte (BASTOS; LACERDA, 2004).

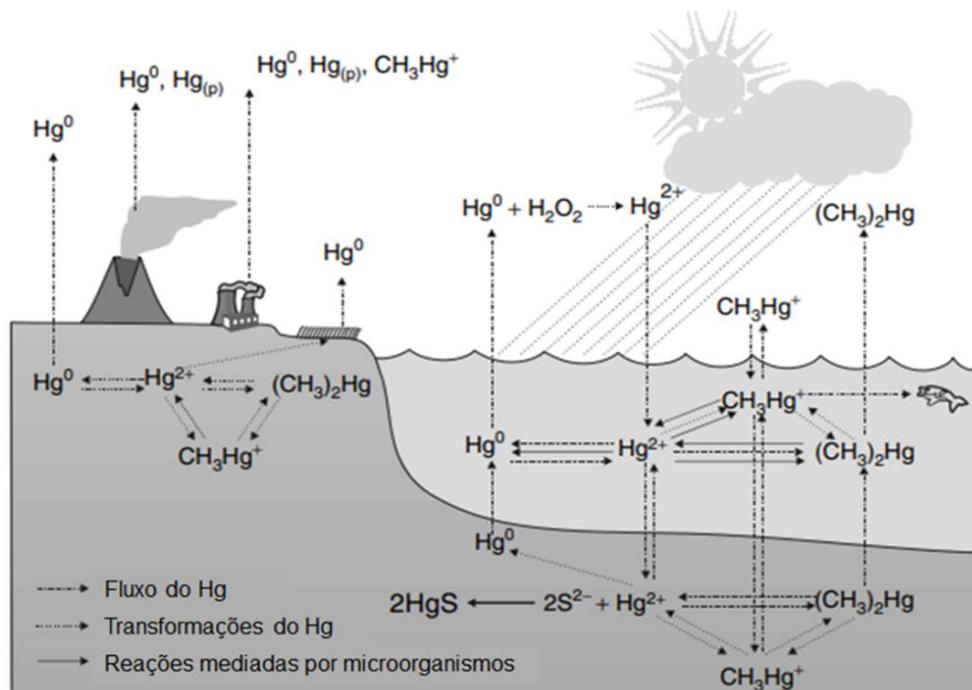
O Hg após ser lançado na natureza pode ser encontrado (ou transformado) em diferentes espécies, como Hg elementar (Hg^0), espécies inorgânicas, como os íons mercurioso (Hg_2^{2+}) e mercúrico (Hg^{2+}), e diferentes espécies orgânicas, sendo as mais comuns o metilmercúrio (CH_3Hg^+) e dimetilmercúrio ($(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$) (BJØRKLUND *et al.*, 2017; MICARONI; BUENO; JARDIM, 2000).

2.2 CICLO BIOGEOQUÍMICO DO MERCÚRIO

O Hg pode sofrer diversas transformações físicas e químicas no meio ambiente. O ciclo biogeoquímico do Hg, caracterizado pelas possíveis rotas e

conversões que esse elemento pode sofrer nos sistemas atmosférico, aquático e terrestre, está ilustrado no esquema da Figura 1.

Figura 1 - Ciclo biogeoquímico do mercúrio.



Fonte: (HORVAT; GIBIČAR, 2005).

A maior parte do Hg presente na atmosfera está na forma de mercúrio elementar (Hg^0), com um pequeno percentual na forma das espécies Hg^{2+} e CH_3Hg^+ (HORVAT; GIBIČAR, 2005). No ar, o Hg elementar é volatilizado lentamente, podendo ser carregado por longas distâncias, como Hg^0 ou convertido em outras espécies voláteis, pelo ar ou para outro sistema, como a água e o solo.

O Hg sofre conversão entre espécies na maioria dos sistemas, podendo formar espécies voláteis e não voláteis, que podem permanecer na água, solo, sedimento ou serem volatilizadas para a atmosfera (HORVAT; GIBIČAR, 2005). Na água, o Hg^0 normalmente pode ser convertido à sua espécie inorgânica, sendo a mais comum a formação de Hg^{2+} , a qual é muito solúvel. Nas águas superficiais, grande parte do Hg inorgânico é convertida em espécies orgânicas, sendo a mais comum o CH_3Hg^+ , por meio de reações mediadas por microorganismos (bactérias, plânctons e fungos) ou por ligar-se covalentemente com a matéria orgânica dissolvida (BASTOS; LACERDA, 2004).

É relatado que até 30% do Hg total presente na água de rio pode estar na forma de CH_3Hg^+ . Por outro lado, em água do mar, a espécie inorgânica é predominante, sendo o HgCl_2 a mais comum (HORVAT; GIBIČAR, 2005). Nos sedimentos de rios e oceanos, a distribuição do Hg é diretamente impactada pelo teor de carbono orgânico, argila, ferro, potencial redox, entre outros fatores.

Uma vez emitido no ambiente aquático, o Hg pode ser bioacumulado pela biota, chegando à peixes do topo da cadeia alimentar. Levando em consideração que o Hg pode ser convertido à CH_3Hg^+ por microorganismos, os peixes pequenos se alimentam de microorganismos, enquanto que os peixes maiores consomem os menores, e assim sucessivamente, ocorrendo a biomagnificação do CH_3Hg^+ (ARAÚJO *et al.*, 2010; BARBOSA *et al.*, 2003).

É relatado que cerca de 80% do Hg total presente em tecidos de peixes está na forma de CH_3Hg^+ (HORVAT; GIBIČAR, 2005). Por ser amplamente consumido por seres humanos, peixes e frutos do mar se tornam a principal fonte de contaminação por CH_3Hg^+ (BASTOS; LACERDA, 2004).

Os solos possuem alto fator de retenção do Hg, em razão, principalmente, do elevado teor de matéria orgânica, principalmente ácidos húmicos e fúlvicos. Devido à estabilidade dos complexos Hg^{2+} com ácidos húmicos, reações de metilação do Hg no solo são pouco recorrentes. Entretanto, a erosão causada pela chuva pode carrear o Hg presente no solo até as águas superficiais, onde processos de metilação ocorrem (BISINOTI; JARDIM, 2004).

2.3 TOXICIDADE DO MERCÚRIO

A toxicidade do Hg está correlacionada com as suas espécies químicas, sendo as espécies orgânicas as mais tóxicas e, na sequência, as inorgânicas e a elementar, as menos tóxicas. No organismo humano o Hg pode causar diversos problemas de saúde, podendo afetar o sistema nervoso, motor, renal e cardiovascular, além de reduzir a imunidade e a taxa de fertilidade (KHOURY *et al.*, 2013; ZAHIR *et al.*, 2005). Devido a isso, o Hg é classificado como o terceiro elemento químico de maior toxicidade à espécie humana, segundo a Agência de Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR, 2022).

Atualmente, as principais fontes de contaminação dos seres humanos por Hg são a ingestão de peixes contaminados, uso de amálgamas dentárias e outras rotas

de exposição menos significativas (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2000). No caso do Brasil, o uso do Hg pelos garimpeiros é uma das principais fontes ocupacionais de contaminação, sendo inalado, principalmente, na forma de vapor de Hg (BASTOS; LACERDA, 2004). Além da ingestão de peixes contaminados, como já mencionado.

2.4 MERCÚRIO EM PEIXES

A espécie predominante de Hg em peixes é a forma orgânica (CH_3Hg^+), o que pode corresponder, em alguns casos, a aproximadamente 95% do Hg total disponível nestes organismos, sendo que o restante do Hg encontra-se em sua forma inorgânica (SCHMIDT *et al.*, 2013; VIEIRA *et al.*, 2023). Levando em consideração que a espécie orgânica é a mais tóxica, a contaminação por Hg em peixes é uma preocupação mundial. O risco de contaminação é ainda maior para a população ribeirinha, onde o consumo da proteína de peixe é maior (OLIVEIRA *et al.*, 2010; SOARES *et al.*, 2018).

No Brasil, uma das principais causas da contaminação no ambiente aquático pode estar associada à emissão antropogênica resultante do uso do Hg na mineração do ouro, onde é estimado o uso de grande quantidade Hg. Uma vez contaminado esse ambiente, o Hg fica retido na biota (LACERDA, 1997). Na Figura 2, está mostrada a realidade atual do rio Madeira, no estado de Rondônia, onde, em sua superfície, ficam diversas balsas, que na região norte são conhecidas como dragas e que são utilizadas para a extração do ouro (PESTANA *et al.*, 2022; PFEIFFER *et al.*, 1991).

Figura 2- Balsas (dragas), no rio Madeira, para extração do ouro.

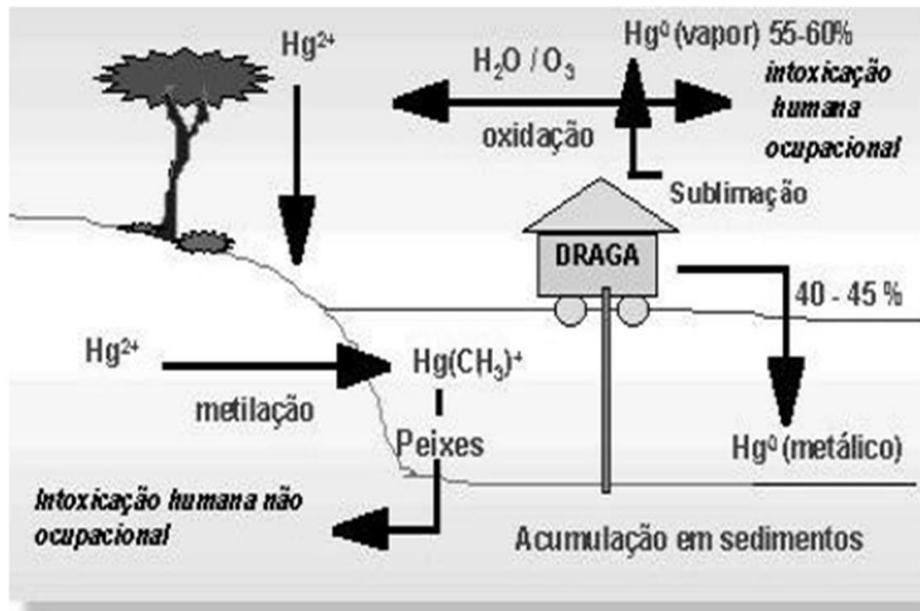


Fonte: (PESTANA *et al.*, 2022).

O Hg é utilizado na sua forma metálica para a purificação do ouro por amalgamação, onde o resíduo gerado desse processo é descartado de forma indevida no rio, gerando um grande impacto ambiental. No ambiente aquático o Hg pode passar por várias conversões formando diferentes espécies (BASTOS; LACERDA, 2004). Destaca-se que no período da pandemia (2019 a 2022), com a redução na fiscalização, o aumento do desemprego e a valorização do ouro, houve um crescimento dos garimpos no rio Madeira (PRAZERES, 2021). Na Figura 3, esta mostrado um esquema de como o Hg é usado e descartado no rio.

A concentração de Hg presente nas espécies de peixes está relacionada, principalmente, aos hábitos alimentares de cada espécie, visto que peixes de topo da cadeia trófica acumulam mais Hg do que aqueles em níveis tróficos inferiores. Neste sentido, os níveis tróficos estão classificados como herbívoros e destrutivos (baixo), onívoros (médio) e os piscívoros e carnívoros (topo da cadeia alimentar). Outro fator importante está associado às características da região aquática em que o peixe habita, podendo ser próximo ao fundo (perto do sedimento), ou, então, perto da superfície. Desta forma, peixes que habitam regiões próximas aos sedimentos, estão sujeitos à maior contaminação e bioacumulação do Hg, visto que nos sedimentos aquáticos a concentração de Hg é mais elevada, em comparação com a superfície do rio (BASTOS *et al.*, 2015; DE CASTRO PAIVA *et al.*, 2022).

Figura 3- Contaminação do Rio Madeira por Hg usado no garimpo.



Fonte: (BASTO; LACERDA, 2004).

Devido a toxicidade, o Ministério da Saúde (Brasil, 2013) estabelece limites máximos de concentração de Hg total em peixe, de acordo com o nível trófico das espécies. Sendo assim, para espécies não predadoras o limite máximo não deve exceder $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ e para espécies predadoras a concentração de Hg total não deve ultrapassar $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$.

2.5 PREPARO DE AMOSTRA PARA A DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM PEIXE

O preparo da amostra pode consistir em várias etapas, como seleção do material a ser analisado, secagem, moagem, peneiramento, digestão ou decomposição por via úmida, extração ou combustão. É uma etapa importante do processo analítico e, no caso específico da decomposição da amostra, esta é normalmente realizada com auxílio de aquecimento e na presença de ácidos concentrados. O aquecimento pode ser feito tanto em sistemas abertos como em sistemas fechados. Os sistemas abertos geralmente possibilitam a utilização de maior massa de amostra, entretanto a eficiência de decomposição é limitada à temperatura de ebulição dos reagentes. A decomposição de amostras em sistemas

abertos pode ser feita em frascos abertos (béquer, tubo de vidro, etc.) aquecidos em chapa aquecedora, bloco digestor ou por radiação micro-ondas. Por outro lado, a decomposição por via úmida em sistema fechado melhora a eficiência da decomposição de amostras biológicas. Isso ocorre pelo fato de ser possível atingir pressões e temperaturas mais elevadas dentro do frasco reacional quando comparado aos sistemas abertos. Como, normalmente, a eficiência da reação é maior, menor quantidade de reagentes é necessário, bem como o tempo de decomposição é menor. Entretanto, geralmente os sistemas fechados permitem usar massas de amostra menores do que nos sistemas abertos, além de serem de custo mais elevado (BASTOS, 1997; KRUG; ROCHA, 2019; MORAES et al., 2016; MÜLLER *et al.*, 2014).

A decomposição por via úmida, tanto em sistemas abertos ou fechados, consiste na utilização de reagentes líquidos, geralmente ácidos fortes e concentrados como o HNO_3 , HCl , HF e H_2SO_4 , e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Estes reagentes são utilizados de forma individual ou combinada, que depende da natureza da amostra e do analito que se deseja determinar. Outros reagentes também podem ser utilizados como os agentes solubilizantes, geralmente bases como o hidróxido de sódio (NaOH) e o hidróxido de potássio (KOH) (KRUG; ROCHA, 2019; MORAES et al., 2016).

No Tabela 1 é possível observar as principais características dos sistemas abertos e fechados para a decomposição de amostra (KRUG; ROCHA, 2019; MORAES *et al.*, 2016).

Tabela 1 - Características de sistemas aberto e fechado para decomposição de amostras.

Parâmetro	Sistema aberto	Sistema fechado
Massa de amostra	Alta	Média
Consumo de reagentes	Alto	Médio
Eficiência de digestão	Baixa	Alta
Tempo de digestão	Alto	Baixo
Risco de perdas/ contaminação	Alto	Baixo
Segurança	Média	Média
Compatibilidade do digerido	Médio	Alto
Custo	Baixo	Alto

Fonte: (Krug; Rocha, 2019).

2.6 ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

A técnica de análise por injeção em fluxo (FI) está associada à injeção definida de um volume de amostra em solução. Esse volume pode ser selecionado por meio de uma alça de amostragem ou por meio de tempo de injeção definido. A injeção em fluxo é uma forma de se manusear a amostra que, após ser injetada, pode passar por vários processos físicos e químicos, como dispersão, reação química, entre outros, até chegar ao detector. Os detectores podem ser diversos, como técnicas baseadas na espectrometria atômica, molecular, eletroanalíticas, entre outras (RUZICKA; HANSEN, 1988, 2008).

De forma geral, um sistema FI para a CVG é constituído basicamente por uma unidade propulsora, um injetor, um reator e um separador gás/líquido acoplado a um detector. Para impulsionar as soluções podem ser utilizadas bombas peristálticas, mini bombas solenoides, gás pressurizado ou uma seringa. A injeção da solução da amostra pode ser feita por meio de um comutador ou válvulas solenóide ou rotatória, que podem ser configuradas de diversas formas, podendo ser dispositivos eletrônicos ou manuais (RUZICKA; HANSEN, 2008; SANTOS *et al.*, 2011).

De maneira geral, quando comparado com sistemas de análise em batelada ou em fluxo contínuo, os sistemas FI requerem menor volume de amostra e reagentes, possibilitam o uso de reagentes mais diluídos, em consequência um menor volume de resíduos é gerado. Também, nos sistemas FI as reações químicas ocorrem isoladas do meio externo. Essa característica é de suma importância quando o processo analítico é baseado na geração de espécies gasosas, como o caso do Hg^0 , pois evita perdas do analito para o ambiente, reduzindo problemas de contaminação (ROCHA; ZAGATTO, 2020; TROJANOWICZ, 2016; VAN STADEN; STEFAN-VAN STADEN, 2010).

Os sistemas FI são bastantes versáteis em virtude da sua facilidade de acoplamento a diversos tipos de detectores, podendo ter inúmeras configurações. Para tanto, o detector deve permitir que o fluxo da solução ou gás passe por ele, possibilitando a detecção do analito (ROCHA; ZAGATTO, 2020; VAN STADEN; STEFAN-VAN STADEN, 2010).

2.7 GERAÇÃO QUÍMICA DE VAPOR

A geração química de vapor consiste na derivatização química de elementos, que devido às suas propriedades, geram espécies voláteis. Sabe-se que apenas oito elementos podem gerar hidretos voláteis, sendo eles o As, Bi, Ge, Hg, Pb, Sb, Se e Sn. Para o Hg essa reação é mediante a redução do Hg^{2+} para Hg^0 por meio de um reagente redutor, sendo o NaBH_4 ou SnCl_2 os mais utilizados. Dentre estes o NaBH_4 é mais utilizado por possuir um potencial de redução maior, podendo reduzir as espécies inorgânicas e orgânicas de Hg (D'ULIVO, 2016; D'ULIVO *et al.*, 2011; HU *et al.*, 2022; RÍO SEGADE; TYSON, 2003).

Para tanto, a utilização da CVG para a quantificação de Hg recebe atenção especial devido às suas vantagens como a separação eficiente do analito da matriz, o que acaba minimizando algumas interferências, bem como melhorando os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ). A melhora no LOD e LOQ é decorrente da eficiência da geração de vapor e do transporte do analito (perto de 100%) até o detector. Além disso, em determinadas condições, a CVG pode ser seletiva, permitindo a diferenciação de espécies químicas de alguns elementos, como, por exemplo, as do Hg. Ademais, a CVG pode ser acoplada em diferentes técnicas que permitem a quantificação do Hg, como ICP-MS, a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de fluorescência atômica (AFS), dentre outras (DENMARK *et al.*, 2018; D'ULIVO, 2016; D'ULIVO; LIU; STURGEON, 2022; HU *et al.*, 2022; STURGEON; GUO; MESTER, 2005; WU *et al.*, 2007; WU *et al.*, 2012).

2.8 TÉCNICAS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL

Para a determinação de Hg podem ser empregadas diversas técnicas analíticas, podendo ser por análise direta da amostra sólida, sem uma etapa de preparo, ou por análise em solução, após etapas de preparo. Entretanto, diversos estudos relatam o emprego de uma ampla variedade de técnicas para a determinação de Hg baseadas na geração de vapor químico acoplado a técnicas espectrométricas, tais como a espectrometria de absorção atômica (CVG-AAS), espectrometria de emissão atômica (CVG-AES), espectrometria de fluorescência atômica (CVG-AFS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente

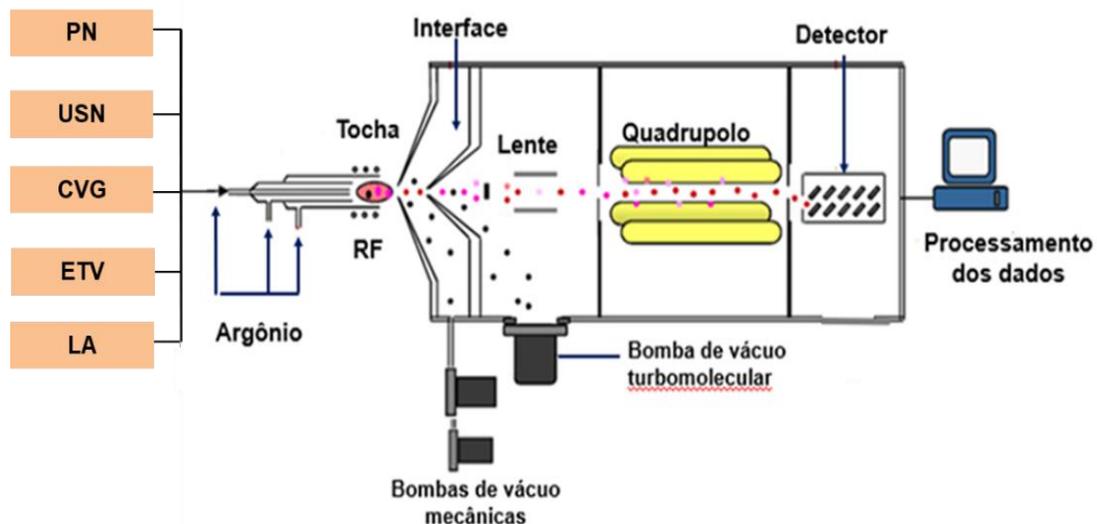
acoplado (CVG-ICP OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (CVG-ICP-MS), (DRESSLER *et al.*, 2002; ENGEL *et al.*, 2000; PROCH; NIEDZIELSKI, 2022; WU *et al.*, 2007; ZHENG *et al.*, 2005).

A técnica de ICP-MS consiste na utilização de um plasma com fonte de íons com temperatura próxima a 10.000 K. O plasma formado consegue fornecer energia suficiente para atomizar e ionizar total ou parcialmente a maioria dos elementos químicos. Os íons formados são separados por um analisador de massa de acordo com a razão massa/carga (m/z) e são detectados por uma eletromultiplicadora.

A técnica de ICP-MS é multielementar e possibilita diversas formas para introdução da amostra, podendo ser em solução, sólida ou gasosa. Entretanto, a mais utilizada é a nebulização pneumática (PN), com a amostra na forma líquida. Portanto, sendo necessário um preparo da amostra, principalmente quando a mostra é sólida.

Na Figura 4 está mostrado o esquema de um instrumento de ICP-MS com os principais componentes (AMMANN, 2007; DRESSLER *et al.*, 2002).

Figura 4 - Esquema de um instrumento de ICP-MS (adaptado de DRESSLER, 1999). PN: nebulizador pneumático. USN: nebulizador ultrassônico. CVG: geração química de vapor. ETV: vaporização eletrotérmica. LA: ablação a laser.



Fonte: (DRESSLER, 1999).

Como esta mostrada na Figura 4, também podem ser empregadas outras formas de introdução de amostra tais como, a geração de vapor químico (CVG), nebulização ultrassônica (USN) e, para técnicas de introdução de amostras sólidas,

a ablação a laser (LA) e a vaporização eletrotérmica (ETV). Além disso, podem ser usadas técnicas cromatográficas e eletroforéticas, as quais usualmente são acopladas a um nebulizador pneumático ou diretamente a tocha, como no caso da cromatografia a gás (GC) (AMMANN, 2007; BEAUCHEMIN, 2020).

Outras características da técnica de ICP-MS incluem a possibilidade de determinação isotópica, poucas interferências espectrais e a alta sensibilidade, podendo alcançar limites de detecção da ordem, de ng g^{-1} ou pg g^{-1} . Essas características fazem com que a técnica de ICP-MS seja uma das mais usadas para a determinação multielementar, elementos presentes em baixas concentrações na amostra e para a análise de especiação química, incluído espécies de Hg quando associada a alguma técnica de separação prévia (AMMANN, 2007; VIEIRA; RIBEIRO; CURTIUS, 2006).

Quanto a análise isotópica da técnica de ICP-MS, o Hg possui sete isótopos. Destes, os dois mais abundantes são o ^{202}Hg (29,8%) e ^{200}Hg (23,13%), usualmente monitorados nas determinações de Hg, por resultar numa maior sensibilidade. Além disso, essa característica da técnica de ICP-MS permite a análise da razão isotópica, bem como quantificação por diluição isotópica (ID) (THOMAS, 2003).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

O vapor de Hg gerado foi introduzido diretamente no equipamento de ICP-MS por um fluxo de argônio (99,998% de pureza, White Martins, <http://www.praxair.com>, Brasil), utilizado como gás carregador. A vazão de argônio foi controlada pelo software do equipamento de ICP-MS.

A determinação de mercúrio foi feita em um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado da PerkinElmer SCIEX (modelo ELAN[®] DRC II, <http://www.perkinelmer.com>, Norwalk, Connecticut, USA), equipado com uma tocha de quartzo com tubo injetor com 2 mm de diâmetro interno e cones de platina. A avaliação e os ajustes das principais condições de operação do equipamento de ICP-MS foram feitos diariamente, de modo a se obter a maior razão sinal/ruído para Hg usando o isótopo ²⁰²Hg. As condições instrumentais estão elencadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Condições do instrumento de ICP-MS utilizadas para a determinação de Hg em peixe.

Parâmetros	ICP-MS
Potência do gerador de rádio frequência, W	1300
Vazão de argônio principal, L min ⁻¹	12,0
Vazão de argônio auxiliar, L min ⁻¹	1,30
Vazão de argônio do gás carregador, L min ⁻¹	0,98 a 1,22
Introdução da amostra	CVG
Cone de amostragem e skimmer	Pt
Dwell time, ms	20
Varreduras por replicata	1
Leituras por replicata	800
Replicatas	1

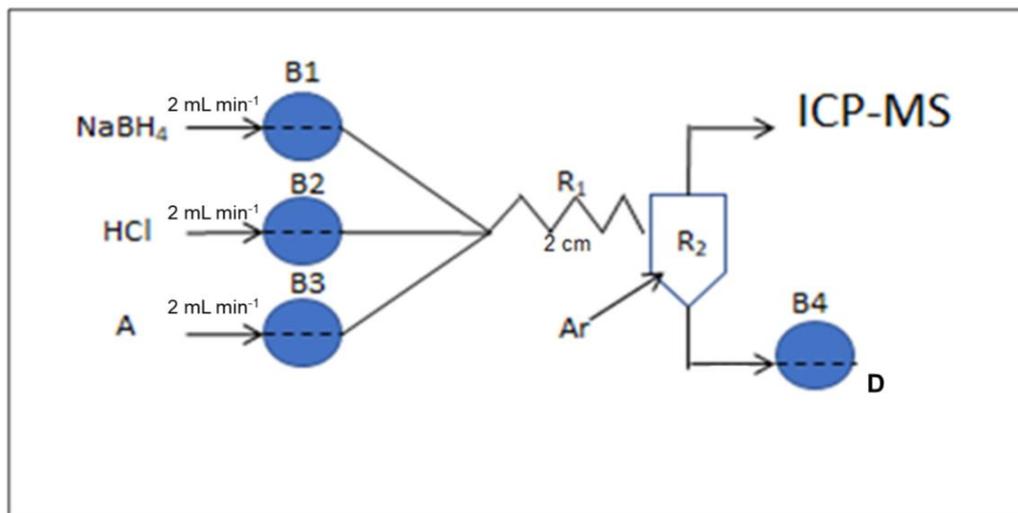
Fonte: (Autor, 2022)

3.2 DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA FI-CVG

O sistema proposto consiste em quatro mini bombas peristálticas, sendo B₁ para o redutor (NaBH₄), B₂ para HCl, B₃ para a amostra e B₄ para o resíduo (Figura 5). Para propulsão dos reagentes e amostra, as mini bombas foram equipadas com tubos de Tygon com 0,44 mm de diâmetro interno, o que resulta numa vazão constante de 2 mL min⁻¹. Para o acionamento das mini bombas foi utilizado um dispositivo eletrônico com software desenvolvido e descrito por Dullius (2011).

As variáveis inerentes à geração de vapor de Hg foram avaliadas, as quais compreendem o tempo inicial e final de acionamento das mini bombas e a concentração dos reagentes, de forma a obter o melhor perfil do sinal transiente para o Hg e maior sensibilidade (avaliada como a maior razão sinal/ruído). Na Figura 5 está mostrado o esquema do sistema proposto.

Figura 5 - Esquema do sistema FI-CVG-ICP-MS proposto. B₁, B₂, B₃, B₄: mini bombas peristálticas; R₁: misturador; R₂: reator e separador gás/líquido (G/L); D: descarte; Ar: argônio.



Fonte: (Autor, 2023).

Além do próprio arranjo do sistema FI, foram desenvolvidos e avaliados quatro separadores gás/líquido, com diferentes configurações e tamanhos. Para o acionamento das mini bomba peristálticas foi feita uma avaliação do tempo para ligar e desligar cada mini bomba. Na Tabela 3 está descrito o tempo de acionamento e parada (programação) das mini bombas, o qual foi gerenciado pelo software do sistema (DULLIUS, 2011), para cada separador gás/líquido testado.

Tabela 3 - Tempo de acionamento das mini bombas utilizado para cada separador gás/líquido. T_i : tempo inicial, T_p : tempo de permanência, s: segundos, reagentes: HCl e NaBH_4 .

Separador gás/líquido	Amostra (B_3)	Reagentes (B_1 e B_2)	Descarte (B_4)	Tempo total (s)
	T_i - T_p (s)	T_i - T_p (s)	T_i - T_p (s)	
1	1-1	0-5	8-5	13
2	5-3	0-10	13-8	21
3	5-5	0-16	20 -8	28
4	7-5	0-26	30-10	40

Fonte: (Autor,2022).

Como pode ser observado na Tabela 3, para cada separador gás/líquido foi necessário ajustar o tempo de acionamento e parada das mini bombas.

3.3 REAGENTES

A água utilizada para o preparo de todas as soluções de trabalho foi previamente destilada, deionizada em coluna de troca iônica e posteriormente purificada em um sistema Milli-Q[®] (Millipore, <http://www.millipore.com>, EUA), com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. Os ácidos nítrico concentrado (P.A., $65\% \text{ m m}^{-1}$, $1,4 \text{ kg L}^{-1}$, Merck, <http://www.merck.de>, Alemanha) e clorídrico concentrado (P.A., $37\% \text{ m m}^{-1}$, $1,19 \text{ kg L}^{-1}$, Merck) foram purificados usando um sistema de sub-ebulição da Milestone (modelo duoPUR[®] 2.01 E, <http://www.milestonesrl.com>, Itália). A solução estoque de Hg^{2+} (1000 mg L^{-1}) foi preparada a partir de uma solução Titrisol[®] (Merck, ($\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ Cat. N° 1.09969, com $1000 \pm 0,002 \text{ mg L}^{-1}$ de Hg em HNO_3 2% (v v⁻¹)). Todas as soluções foram armazenadas sob refrigeração, à $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Soluções apropriadas de trabalho foram preparadas diariamente pela diluição de solução de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Hg em HCl ou HNO_3 , de acordo com os testes a serem realizados.

As soluções de HCl e HNO_3 foram preparadas a partir da diluição do ácido concentrado em água. A solução de NaBH_4 (VETEC, Brasil, 98% de pureza) a $1\% \text{ (m v}^{-1}\text{)}$ foi preparada diariamente pela dissolução do reagente sólido em solução de NaOH (pureza mínima de 99%, Vetec, <http://www.vetecquimica.com.br>, Brasil) $0,1\% \text{ (m v}^{-1}\text{)}$. A partir desta solução estoque foram preparadas soluções diluídas, também em NaOH $0,1\% \text{ (m v}^{-1}\text{)}$, de acordo com os experimentos realizados.

3.4 MATERIAIS DIVERSOS

Para a montagem do sistema foram utilizadas placas de acrílico e de polietileno para fixar as mini bombas, separador gás/líquido e outras partes do sistema. Para carrear os reagentes foram utilizadas mini bombas peristálticas de 12 V. Os quatro separadores gás/líquido avaliados tem volumes diferentes.

As amostras de tecido de peixe foram cortadas com auxílio de um bisturi e pesadas em uma balança analítica com resolução de 0,0001 g.

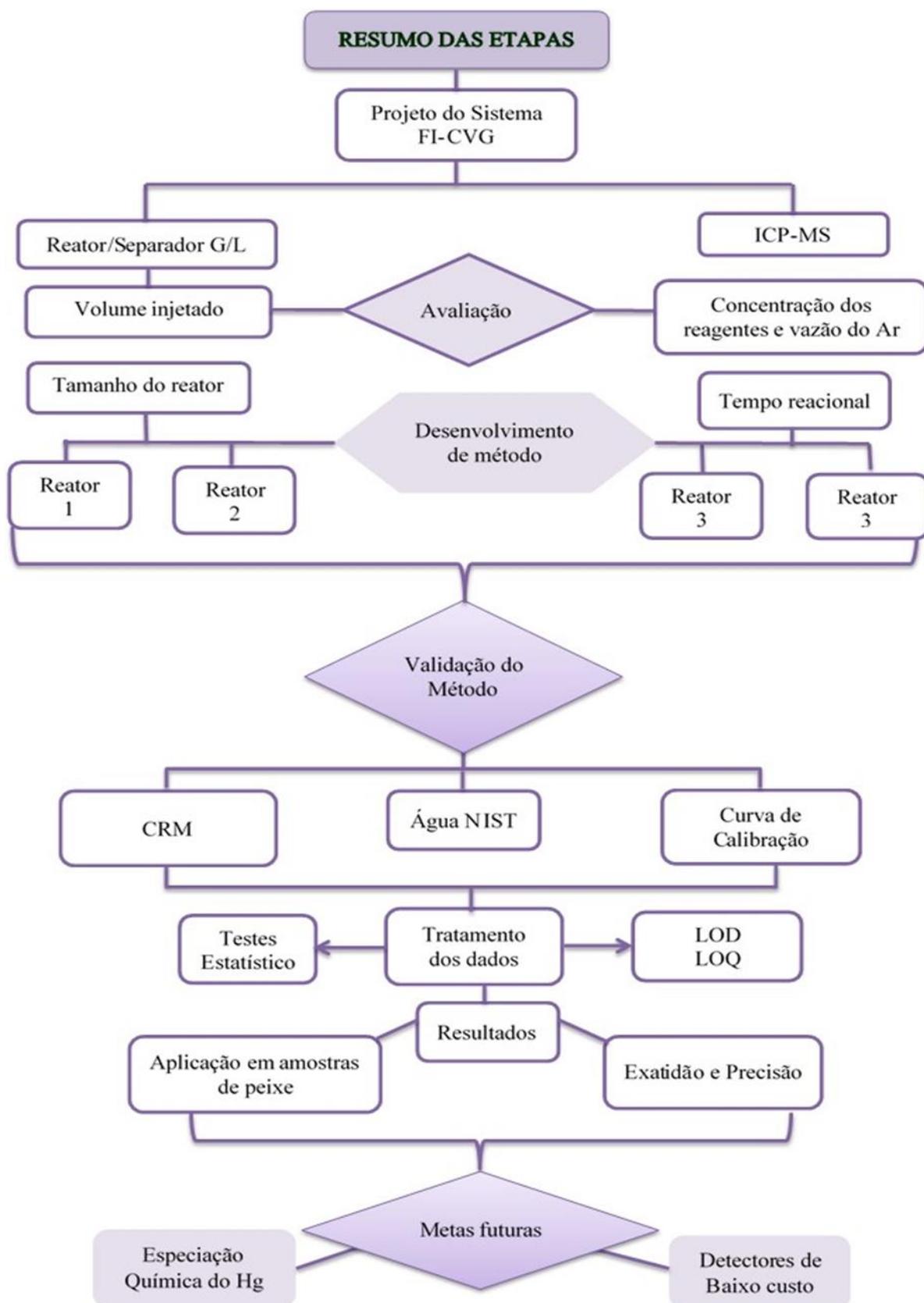
Para a determinação da massa seca das amostras foram utilizadas placas de Petri e estufa (Nova ética, SP, Brasil), à temperatura de 100 ± 5 °C. A decomposição das amostras de peixe foi feita em um forno de micro-ondas modelo MULTIWAVE 3000® (Anton Paar, Áustria), com capacidade de oito frascos de quartzo de 80 mL de capacidade, atuando sob condições máximas de 280 °C e 80 bar de temperatura e pressão, respectivamente.

3.5 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO DO SISTEMA FI-CVG-ICP-MS

As variáveis químicas e físicas do sistema FI-CVG-ICP-MS para a geração de vapor químico de Hg foram otimizadas tendo-se em vista a obtenção da melhor razão sinal/ruído para o isótopo ^{202}Hg . A concentração da solução NaBH_4 foi variada entre 0,0001 e 1,2% (m v^{-1}), mantendo-se a concentração de NaOH em 0,1% (m v^{-1}). A concentração de HCl foi avaliada entre 0,5 e 2,0 mol L^{-1} (v v^{-1}). A influência da vazão de Ar sobre o perfil do sinal analítico do ^{202}Hg e sensibilidade foi avaliada entre 0,98 e 1,22 L min^{-1} . Em todas as otimizações foi usada uma solução de Hg^{2+} a 5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Além disso, foram avaliados diferentes arranjos do sistema FI, principalmente em relação à mistura dos reagentes, tempos de acionamento das mini bombas peristálticas e diferentes modelos do separador gás/líquido.

Na Figura 6 esta mostrado um fluxograma de forma resumida com as principais etapas envolvidas na elaboração do sistema proposto, onde também são elencadas as avaliações e etapas da validação do método proposto, finalizando com metas futuras para a complementação do sistema desenvolvido.

Figura 6 – Fluxograma com as principais etapas envolvidas na elaboração do sistema proposto.



Fonte: autor, 2023

3.6 COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras foram adquiridas em cinco feiras situadas no município de Porto Velho-RO. No momento da coleta eram anotadas algumas características, tais como o nome popular de cada espécie conhecida na região, comprimento e peso dos peixes, conforme descrito na Tabela 4. As amostras foram cortadas com um auxílio de uma faca, onde foram retirados, aproximadamente, 5 gramas de músculo de cada espécie disponível, sendo o total 18 espécies coletadas. Após a coleta, as amostras foram mantidas e transportadas à baixa temperatura (congeladas) até o momento do preparo.

3.7 PREPARO DAS AMOSTRAS

Inicialmente, para melhor compreender sobre a concentração de mercúrio nas diferentes espécies de peixe, foi realizado um estudo das características de cada espécie, sendo elas o hábito alimentar e as características físicas (peixe de couro ou escamas), conforme descrito na Tabela 4, para posteriormente correlacionar com a concentração de Hg presente nessas amostras (QUEIROZ, 2013). Na Tabela 4 estão descritas as principais características das espécies de peixes.

Tabela 4 - Número da amostra, espécie, nome popular e científico, alimentação, características, comprimento e peso.

Nº	Espécie (nome científico)	Alimentação	Características	Tamanho	Peso
1	Pirarucu (<i>Arapaima Gigas</i>)	Onívoro	Escamas	1,60 cm	130 kg
2	Tucunaré (<i>Cichla Ocellaris</i>)	Carnívoro	Escamas	36 cm	0,710 kg
3	Jaraqui (<i>Semaprochilodus</i>)	Herbívoro	Escamas	33 cm	0,480 kg
4	Carauaçu (<i>Astronotus Ocellatus</i>)	Onívoro	Escamas	29 cm	0,635 kg
5	Branquinha (<i>Psectrogaster</i>)	Herbívoro	Escamas	25 cm	0,255 kg

<i>Amazonica</i>					
6	Pintado (<i>Pseudoplatystoma</i>)	Carnívoro	Couro	65 cm	1,510 kg
7	Aruanã (<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>)	Carnívoro	Escamas	65 cm	1,685 kg
8	Babão (<i>Brachyplatystoma platynema</i>)	Carnívoro	Couro	99 cm	6,230 kg
9	Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	Onívoro	Escamas	55 cm	3,085 kg
10	Pirapitinga (<i>Piaractus brachypomus</i>)	Herbívoro	Escamas	54 cm	3,130 kg
11	Barbado (<i>Salminus maxillosus</i>)	Piscívoro	Couro	49 cm	0,870 kg
12	Lírio (<i>Seriola dumerili</i>)	Onívoro	Escamas	42 cm	0,470 kg
13	Zebra (<i>Danio rerio</i>)	Onívoro	Escamas	58 cm	1,140 kg
14	Dourado (<i>Salminus maxillosus</i>)	Carnívoro	Escamas	72 cm	8 kg
15	Piracatinga (<i>Callophysus macropterus</i>)	Necrófagas	Couro	22 cm	0,330 kg
16	Jaú (<i>Paulicea luetkeni</i>)	Piscívoro	Couro	100 cm	12 kg
17	Pirarara (<i>Phractocephalus hemeliopterus</i>)	Onívoro	Couro	118 cm	15 kg
18	Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>)	Onívoro	Escamas	17 cm	0,145 kg

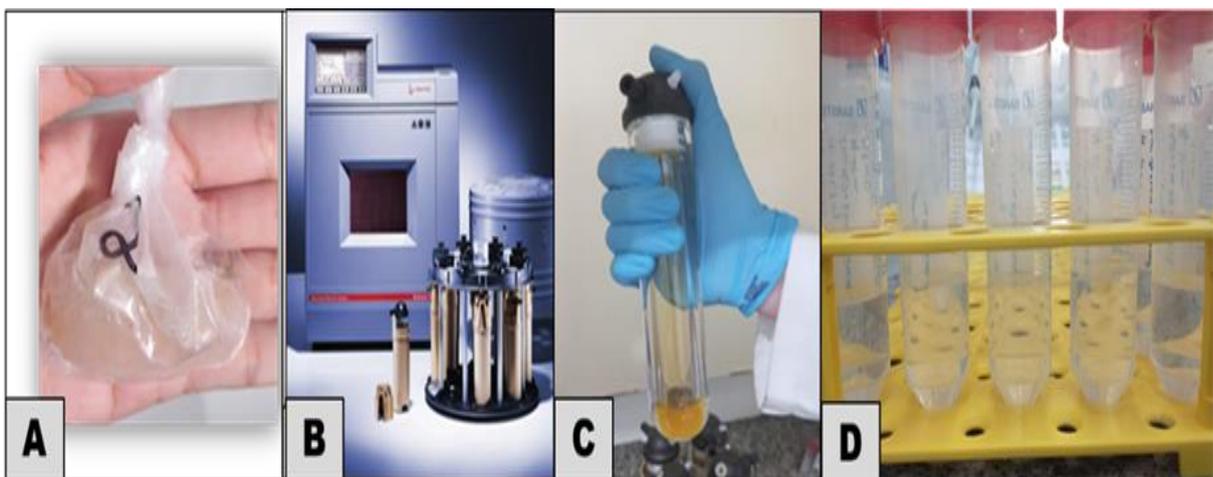
Fonte: (Autor,2022).

Para a decomposição das amostras foi adaptado o procedimento descrito por (SCHMIDT, 2011). Inicialmente todas as amostras foram cortadas com o auxílio de um bisturi em pequenas partes, posteriormente pesou-se uma massa de aproximadamente 500 mg. A massa pesada foi transferida para frasco de quartzo com capacidade de 80 mL e em seguida adicionados 3 mL de ácido nítrico concentrado, 2 mL de água e 1 mL de ácido clorídrico concentrado.

Para a decomposição das amostras foi utilizado um forno de micro-ondas (sistema fechado) com o programa de aquecimento com uma rampa de 5 min e 10 min de permanência à temperatura e pressão máxima de 250 °C e de 80 bar, respectivamente. O CRM DOLT-4 (Dogfish Liver) foi preparado nas mesmas condições das amostras, utilizando uma massa de 100 mg. Os brancos também foram preparados nas mesmas condições das amostras. Na Figura 7 (A) está mostrada a amostra, na (B) o forno de micro-ondas, na (C) a amostra de peixe digerida e (D) a solução final.

Após as amostras serem decompostas, as soluções foram transferidas para frascos de polipropileno com capacidade de 50 mL, aferidos a 20 mL com água ultrapura e posteriormente determinado Hg total no sistema proposto.

Figura 7 - Amostra de músculo de peixe (A), forno de micro-ondas utilizado no preparo das amostras (B), amostras digerida (C) e amostra digerida e aferida 20 mL (D).



(Fonte: Autor, 2022).

3.8 DETERMINAÇÕES DE MASSA SECA

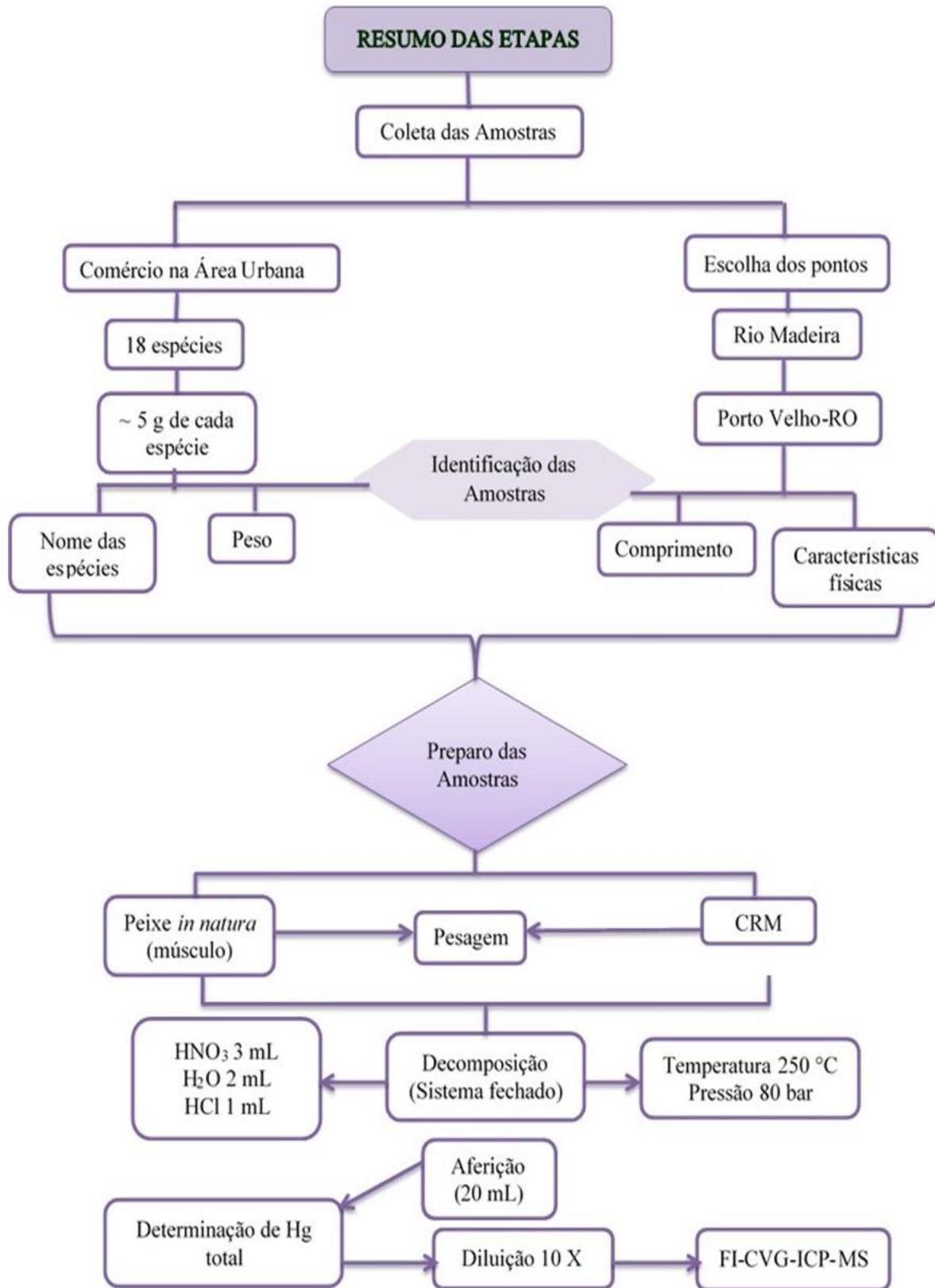
Para a determinação da massa seca foram escolhidas 6 amostras de forma aleatória, as quais foram cortadas e porções de 500 mg e foram secas. As amostras foram dispostas em placas de Petri e a secagem foi feita em estufa sob temperatura de 100 ± 5 °C até obter massa constante, perfazendo aproximadamente 4 h. A diferença entre a massa da amostra úmida e a massa após a secagem resulta no percentual de umidade.

3.9 DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM PEIXE

Após a decomposição das amostras de peixe, conforme descrito no item 3.7 (Preparo de amostras), procedeu-se à determinação de Hg no sistema FI-CVG-ICP-MS. As determinações de Hg foram feitas conforme descrito no item 3.2 (Desenvolvimento do sistema FI-CVG-ICP-MS), empregando o programa de acionamento das mini bombas descrito na Tabela 3 e com as condições operacionais estabelecidas.

As determinações de Hg foram feitas após a calibração externa do ICP-MS, processando as soluções das amostras da mesma forma que as da curva de calibração. Foram preparadas soluções de referências de Hg^{2+} em concentrações entre 0,15 e 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, onde foi levado em consideração as condições de preparo das amostras, afim de manter condições similares para todas as soluções dentro do reator e separador gás/liquido e também a estabilidade do detector. Ou seja, a concentração do HCl e HNO_3 da curva de calibração foi similar a concentração destes ácidos presente nas amostras. Vale ressaltar que a intensidade do sinal do branco foi descontada de todas as amostras. Na Figura 8 está mostrado um fluxograma com as principais etapas envolvidas na coleta das amostras e na determinação de Hg em peixe.

Figura 8 – Fluxograma das etapas envolvidas da coleta das amostras e determinação de mercúrio



Fonte: (Autor, 2022)

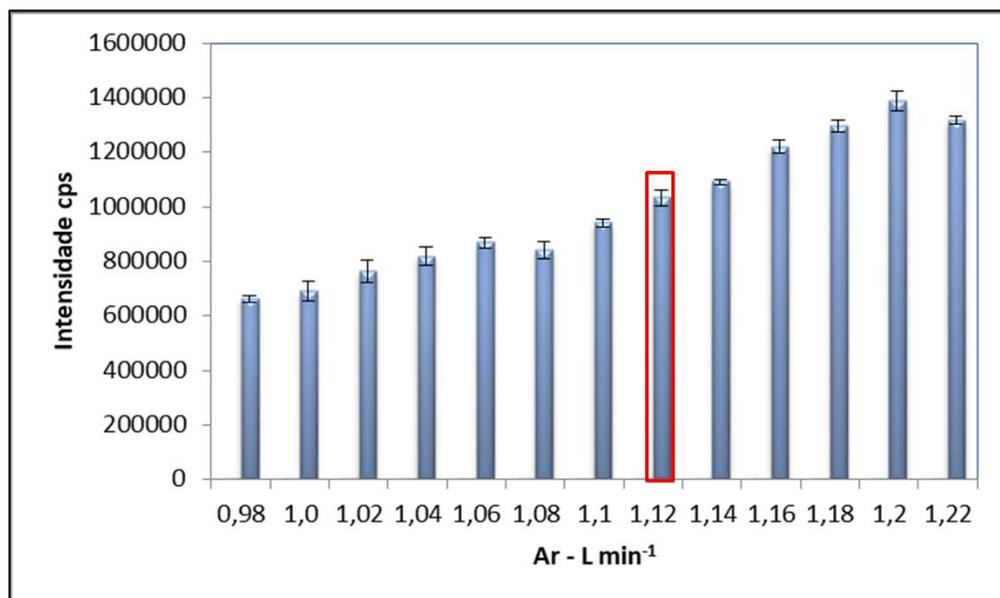
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESTABELECIMENTO DAS CONDIÇÕES PARA A DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO

As determinações de Hg total por FI-CVG-ICP-MS foram feitas monitorando o ^{202}Hg , isótopo mais abundante e sensível do elemento. Sendo que inicialmente o equipamento de ICP-MS foi ajustado no modo convencional de introdução de soluções (nebulização pneumática), com a finalidade de obter a máxima sensibilidade, menor formação de óxidos e de carga dupla (< 3%), conforme descrito no item 3.1. (Instrumentação).

Após o acoplamento do sistema FI-CVG ao instrumento de ICP-MS foi otimizada a vazão do gás carreador, na faixa de 0,98 a 1,22 L min⁻¹, enquanto a potência da radiofrequência foi fixada em 1300 W, como pode ser observado na Tabela 2. O ajuste da vazão do gás carreador é fundamental para conseguir definir uma condição de máxima sensibilidade (melhor razão sinal/ruído) para as determinações de Hg. Na vazão de 1,12 L min⁻¹ se obteve as melhores condições para o isótopo ^{202}Hg para a análise e assim foi utilizada para as demais otimizações e posterior quantificação do Hg nas amostras de peixes.

Figura 9 - Influência da vazão do gás carreador para a medição de Hg por FI-CVG-ICP-MS. As demais condições estão citadas na Tabela 1

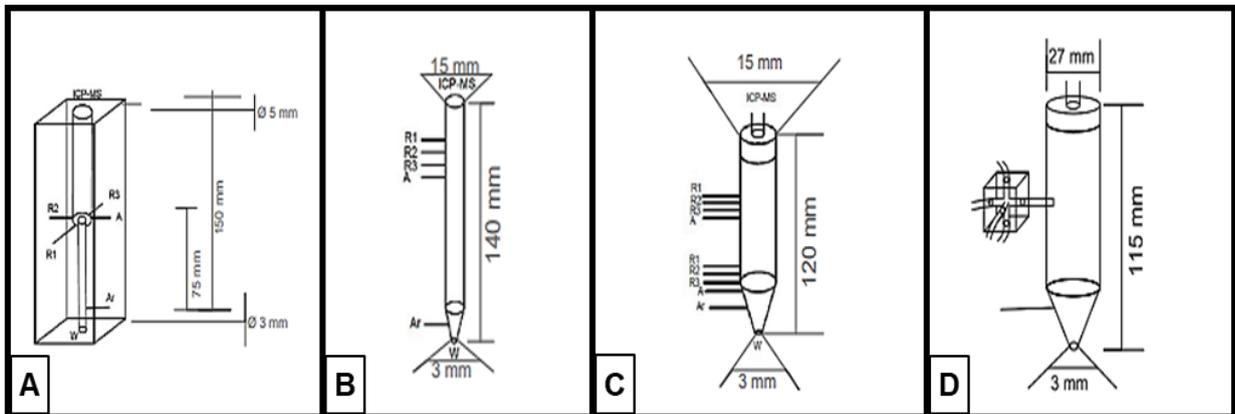


Fonte: (Autor, 2023).

4.2 DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA FI-CVG-ICP-MS

Várias configurações do sistema FI foram testadas, sendo àquela mostrada na Figura 5 a que levou a um melhor desempenho analítico. O intuito era desenvolver um sistema que permitisse a determinação de Hg utilizando o menor volume possível de reagentes e amostra, da ordem de alguns μL . Além da configuração do sistema FI, foram testados diferentes separadores gás/líquido, visto que é um dos componentes importantes do sistema. Na Figura 10 estão mostrados os reatores e separadores gás/líquido avaliados.

Figura 10 - Separadores gás/líquido avaliadas.



Fonte: (Autor, 2022)

O separador A, da Figura 10, feito num bloco de acrílico, tem 150 mm de comprimento, tendo na metade inferior um orifício de 3 mm de diâmetro e 5 mm a partir da metade superior. Quatro entradas estão localizadas na metade do comprimento (75 mm) onde são introduzidos os reagentes, amostra e/ou gás de carreador. Outra entrada está situada na parte inferior, na lateral, onde também pode ser introduzido o gás de carreador. A solução residual (500 μL) da reação é drenada através do orifício na parte inferior com o auxílio de uma mini bomba peristáltica, enquanto que o gás de carreador contendo o vapor de Hg é direcionado para parte superior do dispositivo.

No separador gás/líquido mostrado na Figura 10 A, apesar de se obter bons perfis de sinal para o Hg e boa precisão, este separador não foi eficiente na separação gás/líquido. Esse fato pode estar associado as dimensões (orifícios) do

separador, que devido ao diâmetro interno pequeno, as bolhas geradas eram carregadas para o plasma, prejudicando a estabilidade. Desta forma, nas condições avaliadas, não foram feitos mais testes com este separador G/L.

O separador gás/líquido mostrado na Figura 10 B, feito a partir de um tubo de polietileno, tem 140 mm de comprimento, com o diâmetro interno na parte superior de 15 mm e inferior de 3 mm, com as entradas dos reagentes localizadas na lateral da parte superior do tubo e a entrada do gás carreador na parte inferior. A solução residual (aproximadamente 1000 μL) da reação é drenada por uma saída situada na parte inferior.

Com este separador obteve-se um bom perfil de sinal para Hg, utilizando um volume pequeno de amostra e reagente (1000 μL) e nestas condições o tempo reacional foi de apenas 21 segundos. Entretanto, também não houve uma separação eficiente do gás e líquido, impossibilitando o uso deste separador.

Na Figura 10 C está mostrado o separador gás/líquido feito a partir de um frasco de polipropileno de 15 mL e com 120 mm de comprimento, com diâmetro interno na parte superior de 15 mm e inferior 3 mm. Este separador foi desenhado de forma a se ter mais possibilidades para entrada dos reagentes, amostra e gás carreador, a fim de obter um bom perfil de sinal para Hg, com boa sensibilidade e precisão.

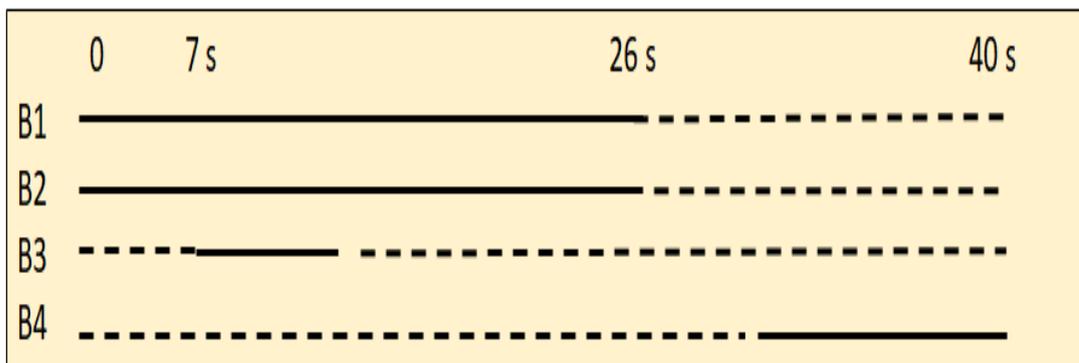
Para o separador gás/líquido mostrado na Figura 10 C, com os devidos ajustes, o tempo reacional aumentou para 28 segundos em decorrência do aumento de volume de amostra e reagentes utilizados quando comparado aos separadores da Figura 10 A e 10 B. Este separador leva a melhor eficiência na separação gás/líquido em relação aos separadores 10 A e 10 B, sendo assim realizadas as otimizações do sistema proposto, além de uma curva de calibração com concentração de Hg de 0,15 a 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Porém, quando foi utilizada a solução da amostra houve formação de espuma, provavelmente em razão da presença de matéria orgânica residual da decomposição da amostra. Devido ao diâmetro do frasco, a espuma era carregada até o plasma, prejudicando a sua estabilidade. Desta forma, foi testado o separador G/L mostrado na Figura 10 D. Conforme mostrado na Figura 10 D, este separador consiste de um frasco de polipropileno com a capacidade de 50 mL, com 115 mm de comprimento e diâmetro interno de 27 mm na parte superior e de 3 mm na parte inferior.

Para o quarto separador gás/líquido testado (Figura 10 D), foi necessário um tempo reacional de 32 segundos, o qual pode estar associado ao maior diâmetro deste separador, quando comparado aos separadores 10 A, 10 B e 10 C. Este separador é mais eficiente na separação gás/líquido, tanto para as soluções de calibração quanto para as amostras. Para as amostras, apesar de gerar espuma, esta não alcança a parte superior do separador G/L, evitando que a mesma seja conduzida até o plasma. Para tanto, em cada leitura são utilizados 166 μL de amostra e 2 mL do reagente. Devido ao seu melhor desempenho, tanto para as soluções de referência de Hg, como para as amostras, este foi escolhido para ser utilizado neste trabalho.

Diferentes separadores gás/líquido já foram propostos, sendo os mais usados os do tipo tubo em formato de “U”. O separador usado no ICP da Agilent e da PerkinElmer é uma opção, entretanto o custo para aquisição deste separadores gás/líquido é alto, aproximadamente US\$ 500, sendo que os que foram desenvolvidos neste trabalho possuem um bom desempenho e são de baixo custo para confecção (aproximadamente de R\$ 5).

A programação para o acionamento das mini bombas peristálticas, utilizadas quando é usado o separador da Figura 10 D, está apresentado na Figura 11. Onde B1 a B4 está representando as mini bombas peristálticas, a linha contínua indica que a bomba esta acionada e a linha tracejada a bomba desligada. Como podem ser verificado, somente 40 segundos são necessários para fazer a determinação de Hg.

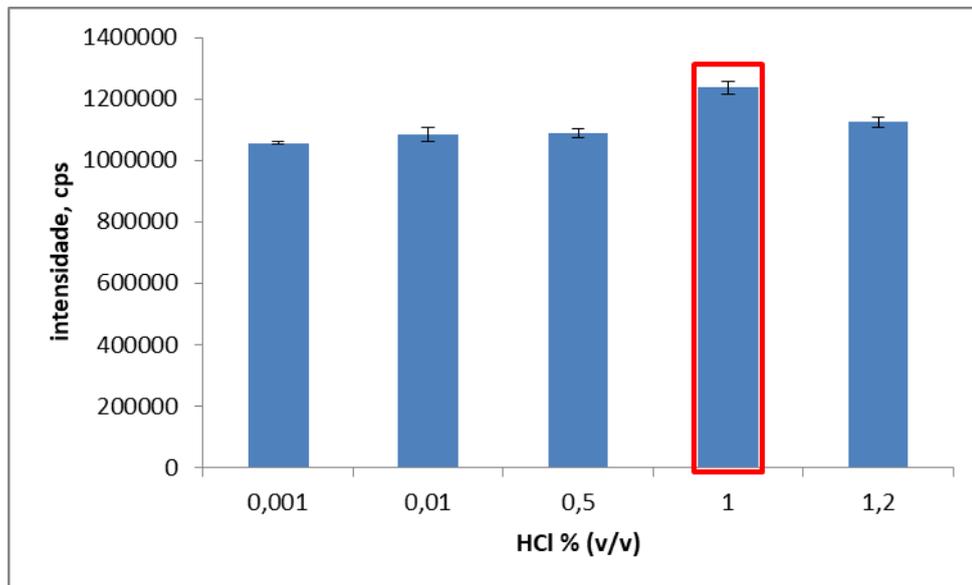
Figura 11 - Programa de acionamento das mini bombas peristálticas do sistema FI-CVG-ICP-MS usando o separador G/L da Figura 10 D e as condições da Figura 14



4.3 EFEITOS DA CONCENTRAÇÃO DOS REAGENTES

Foi avaliado o efeito da concentração do redutor e do HCl na geração de vapor de Hg. Inicialmente, a concentração do HCl foi variada de 0,0001 até 1,2% v v⁻¹, mantendo-se a concentração de NaBH₄ em 0,005% (v v⁻¹) e o Hg em 5,0 µg L⁻¹. As intensidades do sinal para Hg mantiveram-se mais estáveis a partir de HCl 1%, sendo assim escolhida essa concentração de HCl para as demais determinações. A intensidade do sinal de Hg para as diferentes concentrações de HCl testadas são mostradas na Figura 12.

Figura 12 - Efeito da concentração do HCl na intensidade do sinal do Hg. A concentração do NaBH₄ foi mantida em 0,005% (m v⁻¹) e Hg em 5,0 mg L⁻¹.



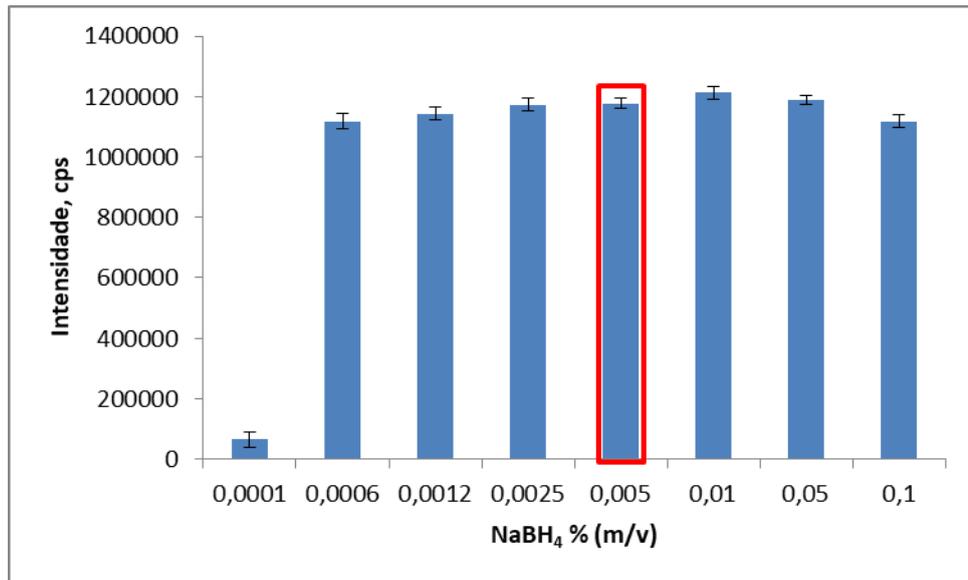
Fonte: (Autor, 2022).

Na avaliação da concentração dos reagentes foi observado que ocorreu um aumento da linha base do sinal do Hg e também nos brancos, indicando uma possível contaminação. Desta forma, a partir de uma investigação foi constatado a contaminação do HCl com Hg, sendo, portanto, necessário realizar a purificação deste com NaBH₄. Para tanto, o redutor (2 mL) foi adicionado em 500 mL de HCl e a solução purgada com Ar durante 2 min.

A concentração de NaBH₄ é importante no processo de geração de vapor de Hg. Onde elevadas concentrações de NaBH₄ podem desestabilizar o plasma devido à grande quantidade de H₂ formada durante a reação. Portanto, a concentração do

NaBH₄ foi avaliada de 0,0001 a 0,1% (m v⁻¹), cujas soluções foram preparadas em NaOH a 1% (m v⁻¹). Os testes foram feitos mantendo-se a concentração de HCl em 1% e a do Hg em 5,0 µg L⁻¹. Na Figura 13 está mostrado o efeito da concentração do redutor sobre a intensidade do sinal de Hg, sendo escolhida para dar continuidade no trabalho a de 0,005% (m v⁻¹).

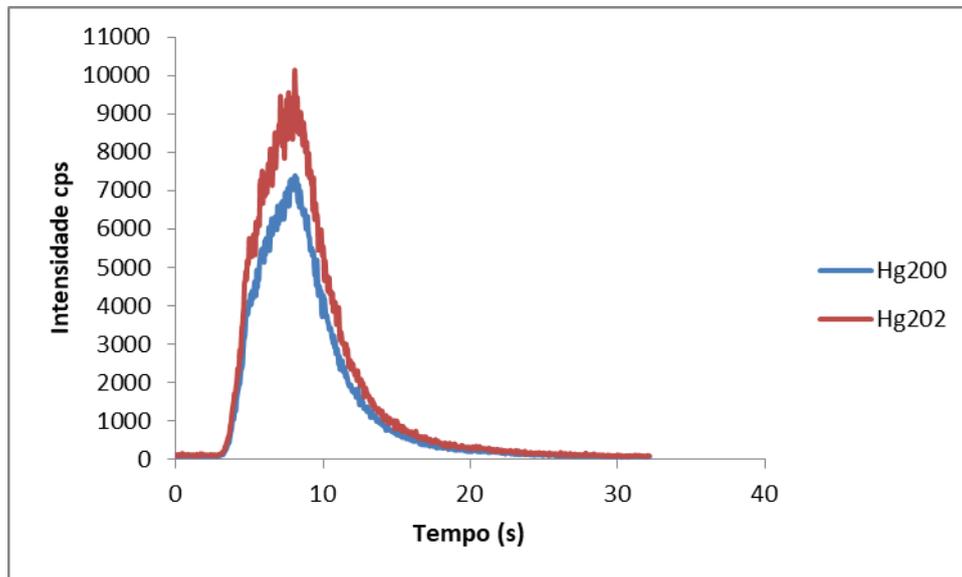
Figura 13 - Efeito da concentração do NaBH₄ na geração de vapor de Hg. Concentração de HCl a 1% v v⁻¹ e Hg a 5,0 µg L⁻¹.



Fonte: (Autor, 2022)

Na Figura 14 está mostrando o perfil de sinal obtido nas condições otimizadas para a determinação de Hg. Assim sendo, a concentração dos reagentes, HCl 1% (v v⁻¹) e NaBH₄ 0,005% (m v⁻¹), solução de referência de Hg²⁺ de 5,0 µg L⁻¹ e a vazão do gás carreador em 1,12 L min⁻¹, foram fixadas. Estas condições foram escolhidas para dar continuidade no trabalho.

Figura 14 - Perfil de sinal do Hg ($5,0 \mu\text{g L}^{-1}$) nas condições otimizadas



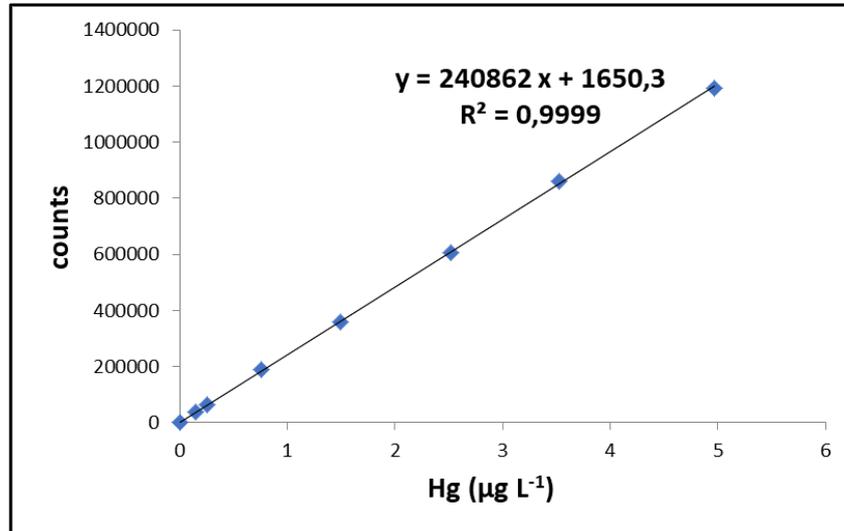
Fonte: (Autor, 2022).

4.4 CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DO SISTEMA PROPOSTO

As condições otimizadas do sistema de introdução de amostra por injeção em fluxo para geração de vapor químico acoplado a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, para a obtenção das curvas de calibração para a determinação de Hg total, foram de $1,12 \text{ L min}^{-1}$ para a vazão do gás carreador e concentração do ácido a $1\% (\text{v v}^{-1})$ e do redutor a $0,005\% (\text{m v}^{-1})$.

O coeficiente de correlação (R^2) da curva de calibração (Figura 15) para Hg foi de 0,9999, o que mostra a boa resposta linear do sistema na faixa de concentração avaliada. Com o sistema proposto é possível fazer até 60 medições por hora, o que corresponde às leituras das soluções e as etapas de limpeza, sendo somente 32 segundos a medição, 10 s para retirada do resíduo e limpeza do sistema. O volume de amostra requerido por medição é de 0,16 mL e o dos reagentes é de 1 mL de NaBH_4 e 1 mL de HCl, gerando 2,16 mL de resíduo final.

Figura 15 - Curva de calibração para Hg obtida no sistema proposto.



Fonte: (Autor, 2022).

As soluções de referência para a curva de calibração foram preparadas nas mesmas condições das amostras descritas no item 3.7 (Preparo de amostras). Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram calculados a partir de 10 medidas dos brancos. Os limites de detecção e quantificação foram calculados de acordo com a recomendação da IUPAC. Para estimar o LOD usou-se a média dos brancos + 3 vezes o desvio padrão e para o LOQ a média dos brancos + 10 vezes o desvio padrão. Estas características estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Características analíticas do sistema FI-CVG-ICP-MS proposto.

Parâmetros instrumentais	Resultados
Limites de detecção (LOD), µg L ⁻¹	0,18
Limites de quantificação (LOQ), µg L ⁻¹	0,06
Desvio padrão relativo (RSD), %	<5
Parâmetros do método (massa seca)	
Limites de detecção (LOD), µg g ⁻¹	0,04
Limites de quantificação (LOQ), µg g ⁻¹	0,06

Parâmetros instrumentais	Resultados
Desvio padrão relativo (RSD), %	<5

Fonte: (Autor, 2022).

O sistema desenvolvido tem boa repetitividade e linearidade. Para os limites de detecção e quantificação instrumental utilizou-se o branco da curva de calibração e para estimar os limites de detecção e quantificação do método usou-se o branco das amostras. Como pode ser observado, o LOQ do método é da ordem de $0,06 \mu\text{g g}^{-1}$ de Hg.

Para avaliar a exatidão do método foi utilizado o CRM DOLT-4 (Dogfish Liver), cuja decomposição foi feita nas mesmas condições das amostras, procedimento descrito no item 3.7 (Preparo de amostras). Foi aplicado um tratamento estatístico onde foi verificado que não houve diferença significativa entre os resultados obtidos e o resultado certificado para $p > 0,05$ (teste *t-student*).

Tabela 6 - Valor de Hg obtido no CRM com o método proposto.

CRM – DOLT 4 (Dogfish Liver)		
Elemento	Valor obtido, $\mu\text{g g}^{-1}$	Valor certificado, $\mu\text{g g}^{-1}$
Hg	$2,85 \pm 0,07$	$2,58 \pm 0,22$

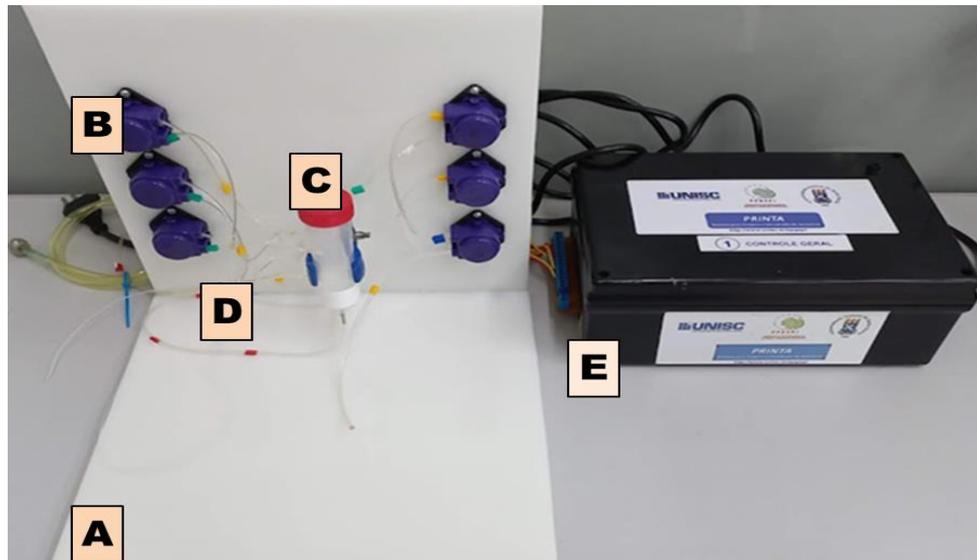
Fonte: (Autor, 2022).

4.5 CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA FI-CVG

O sistema FI-CVG proposto possui como característica principal o baixo custo para ser confeccionado em relação aos sistemas comerciais, além de ser simples. Além disso, com o sistema se obteve resultados precisos, com desvio padrão relativo (RSD) inferior a 5%. No mais, o sistema permite fazer análises com volume de reagentes e de amostra bastante reduzido, o que, conseqüentemente, acaba gerando um baixo volume de resíduo. Além do mais, o sistema FI-CVG permite que se use em diferentes configurações e é versátil, podendo ser acoplado a outras técnicas de detecção, além da espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), técnica disponível e escolhida para a referida pesquisa. Assim sendo, o sistema pode ser facilmente utilizado com a espectrometria de absorção

atômica (AAS), espectrometria de fluorescência atômica (AFS), espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), dentre outras técnicas analíticas. Para cada uma destas técnicas seria necessário apenas fazer alguns ajustes para obter a melhor condição para quantificar o Hg. Na Figura 16 está mostrado a foto do sistema desenvolvido.

Figura 16 - Foto do sistema FI-CVG proposto. Base polietileno (A), mini bombas peristálticas (B), separador gás/líquido (C), tubos de Tygon (D) e caixa de comando (E).



Fonte: (Autor, 2022).

Outra possibilidade é a utilização do sistema desenvolvido para a análise de especiação química do Hg, sendo possível separar e quantificar as espécies inorgânica e orgânica de mercúrio. Para tal, podem ser estabelecidas as condições reacionais, podendo assim ser feita a quantificação seletiva das espécies com apenas um redutor, variando apenas a sua concentração, ou ainda a utilizando-se dois redutores, um para a espécie inorgânica e outro para espécie orgânica de Hg. A análise de especiação de Hg com o sistema proposto fica como sugestão para trabalhos futuros.

4.6 MERCÚRIO TOTAL EM PEIXE

Conforme descrito na Tabela 4, as espécies de peixe coletadas possuem hábitos alimentares diferentes. Portanto, para melhor apresentar a concentração de Hg presente nos peixes, as espécies foram divididas em grupos conforme seu hábito

alimentar, sendo carnívora, onívora, herbívora, piscívora e necrófaga, e classificados como predador ou não predador.

Das cinco amostras de peixe com hábitos alimentares carnívoras, que só se alimentam de proteína animal, quatro tem a concentração de Hg acima do permitido pela legislação vigente, que fixa em $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ para as espécies predadoras. Desta forma, a alta concentração de Hg nesses peixes pode estar associada, principalmente, ao nível trófico dessas espécies, fato do Hg ser bioacumulativo sofrer biomagnificação.

Além do hábito alimentar, também deve ser levado em consideração o ambiente onde vivem essas espécies e suas características. Neste sentido, a espécie de peixe babão é a que tem a maior concentração de Hg entre as analisadas, o que pode ser relacionado ao seu tamanho e por ser um peixe de couro que vive próximo aos sedimentos. Bastos *et al.* (2015) relatam que a concentração de Hg está associada às características como os hábitos alimentares, o tamanho da espécie e o ambiente onde essa espécie vive. Portanto, com o aumento do nível trófico, maior a concentração de Hg.

Na Tabela 7 estão descritas as espécies e as concentrações de Hg presentes nos peixes com hábito alimentar carnívoro. Como esperado, a espécie que possui menor concentração de Hg é o tucunaré, visto que é um peixe de escamas e que vive próxima à superfície onde, segundo estudos de Lechler *et al.* (2000), comparando os peixes que vivem próximo à superfície ou sedimento. As concentrações de Hg nestes ambientes variam, sendo que na superfície o teor de Hg é menor do que no sedimento e, conseqüentemente, isso contribui para uma maior ou menor concentração de Hg presente nas espécies de peixe.

Tabela 7 - Concentração de Hg nas espécie de peixe carnívora. Os resultados correspondem à média e o desvio padrão (1SD) de três replicatas.

Espécie de peixe	Hg, $\mu\text{g g}^{-1}$
Tucunaré	$0,56 \pm 0,01$
Pintado	$1,99 \pm 0,00$
Aruanã	$1,24 \pm 0,05$

Babão	4,20 ± 0,00
Dourado	2,46 ± 0,01

Fonte: (Autor, 2022).

Os peixes onívoros possuem hábitos alimentares com maior diversidade, podendo ser de origem animal ou vegetal. Das sete espécies estudadas, cinco estão com concentrações acima das permitidas pela legislação vigente e as outras duas espécies estão abaixo das concentrações permitidas. Na Tabela 8, estão apresentadas as concentrações de Hg presentes nestas espécies. Como mencionado, nas espécies carnívoras se repete o perfil de concentração de Hg para as onívoras, ou seja peixe de couro e que vive próximo aos sedimentos possui maior teor de Hg do que os de escama e que vivem próximo à superfície.

Tabela 8 - Concentração de Hg na espécie de peixe onívora. Os resultados correspondem à média e o desvio padrão (1SD) de três replicatas.

Espécie de peixe	Hg, $\mu\text{g g}^{-1}$
Pirarucu	4,23 ± 0,04
Caraaçu	2,07 ± 0,05
Tambaqui	0,74 ± 0,00
Lírio	3,63 ± 0,04
Zebra	5,15 ± 0,09
Pirara	2,19 ± 0,00
Pacu	0,15 ± 0,01

Fonte: (Autor, 2022).

As espécies que tem hábitos alimentares herbívoras possuem uma dieta baseada apenas na ingestão de plantas. Sendo assim, das três espécies avaliadas, apenas uma está com concentração acima do permitido pela legislação vigente, que é 0,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ para espécies não predadoras. As outras duas espécies, branquinha e

pirapitinga, estão dentro do limite permitido. Na Tabela 9, estão mostradas as concentrações de Hg presentes nessas espécies. Como pode ser visto, entre todas as espécies de peixe estudadas apenas a Branquinha tem concentração de Hg abaixo do LOQ. Levando em consideração suas características, sendo uma espécie de escamas de pequeno porte, que vive próxima à superfície e só se alimenta de plantas, é esperado que a concentração de Hg seja inferior as outras espécies estudadas.

Tabela 9 - Concentração de Hg na espécie de peixe herbívoro. Os resultados correspondem à média e o desvio padrão (1SD) de três replicatas.

Espécie de peixe	Hg, $\mu\text{g g}^{-1}$
Jaraqui	1,14 \pm 0,01
Branquinha	< LQ
Pirapitinga	0,09 \pm 0,10

Fonte: (Autor, 2022).

A concentração de Hg presente nas espécies de peixes com hábitos alimentares piscívoras, ou seja, que se alimentam exclusivamente de peixes, são as que possuem maior concentração de Hg. As duas espécies de peixe possuem as mesmas características alimentares, sendo ambas peixe de couro e que vivem próximo aos sedimentos. Na Tabela 10 consta a respectiva concentração de Hg nestas amostras.

No ano de 2000, os pesquisadores Maurice-Bourgoin *et al.* (2000), encontraram concentrações de Hg para espécies piscívoras quatro vezes maior do que as permitidas pelo limite de segurança estipulado pela organização mundial da saúde (OMS) (1976). Após 23 anos, observa-se que as concentrações de Hg nessas espécies tendem a ser maiores, possivelmente devido ao ciclo biogeoquímico do Hg, a capacidade do Hg biomagnificar e bioacumular na cadeia trófica ou a um possível aumento da concentração de Hg no ambiente.

Tabela 10 - Concentração de Hg nas espécies de peixe piscívoras. Os resultados correspondem à média e o desvio padrão (1SD) para três replicatas.

Espécie de peixe	Hg, $\mu\text{g g}^{-1}$
Barbado	8,55 \pm 0,00
Jaú	20,7 \pm 0,0

Fonte: (Autor, 2022).

As espécies de peixe necrófagas, as quais possuem hábitos alimentares baseados em animais em estado de decomposição, a Portaria SAP/Mapa nº271, (2021) estabelece a proibição da pesca e comercialização, como é o caso da piracatinga. Em 2023 houve uma renovação da portaria (SAP/MAPA n.º 1.082) e é recomendado que essa espécie de peixe não deve ser pescada e comercializada. Entretanto, esta espécie pode ser adquirida em feiras comerciais juntamente com as outras espécies que possuem hábitos alimentares diferentes. A concentração de Hg presente nessa espécie também está acima do permitido pela legislação vigente. Na Tabela 11 está descrita a concentração de Hg determinada nesta espécie.

Tabela 11 - Concentração de Hg na espécie de peixe necrófaga. Os resultados correspondem à média e o desvio padrão (1SD) de três replicatas.

Espécie de peixe	Hg, $\mu\text{g g}^{-1}$
Piracatinga	8,37 \pm 0,00

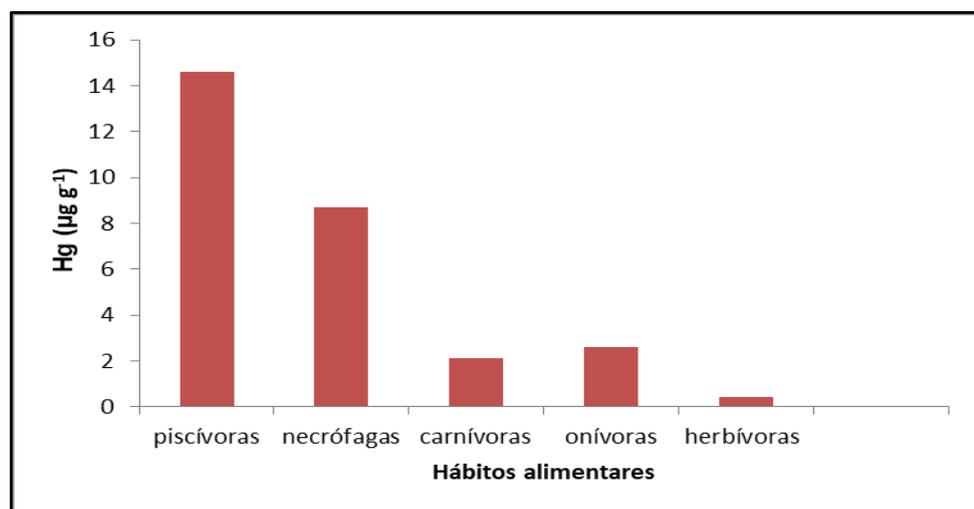
Fonte: (Autor, 2022).

Dorea *et al.* (2006), estudaram onze espécies de peixes com hábitos alimentares diferentes oriundas do Rio Negro, no estado do Amazonas, e observaram que a concentração de Hg nessas espécies está associada aos seus hábitos alimentares, tamanho e ao período de seca ou cheia do rio. Eles também identificaram que a bioacumulação do Hg está associada mais aos hábitos alimentares e tamanho das espécies do que a variação dos níveis do rio. As variações das concentrações de Hg foram maiores para espécies carnívoras do que para espécies onívoras, detritívoras e herbívoras, o que está de acordo com os resultados obtidos no presente estudo.

Devido ao uso do mercúrio na mineração do ouro ao longo dos anos, a contaminação por Hg em peixe é algo recorrente no Rio Madeira. Pfeiffer *et al.* (1991), encontraram concentrações de Hg em peixes cerca de cinco vezes maior do que o permitido pela legislação brasileira daquele ano. Levando em consideração o ciclo biogeoquímico do Hg no ambiente aquático e sua capacidade de bioacumular e biomagnificar, como já mencionado, são justificáveis das concentrações de Hg presente nas amostras analisadas. Neste sentido, a concentração de Hg encontrada nas espécies estudadas neste trabalho são semelhantes com àquelas encontradas em outros estudos realizados com peixes do Rio Madeira. Assim, Bastos *et al.* (2006), avaliaram a relação entre as concentrações de Hg em diferentes espécies de peixe, em sedimentos e na população ribeirinha. Os resultados obtidos por eles indicam que as espécies com hábitos alimentares carnívoras possuem maior concentração de Hg quando comparada com as herbívoras. Além disso, as concentrações de Hg nas espécies carnívoras e onívoras estão acima dos limites permitidos pela legislação vigente, o que também está de acordo com o presente estudo.

Na Figura 17 pode ser observada a distribuição de Hg em relação aos hábitos alimentares nas amostras de peixe. Pode ser observado que as espécies com hábitos alimentares carnívoras, piscívoras, onívoras e necrófagas possuem mais Hg quando comparada às que possuem hábitos alimentares herbívoras.

Figura 17 - Concentração de mercúrio nas espécies de peixes com diferentes hábitos alimentares avaliadas neste trabalho.



Fonte: (Autor, 2023).

Perante a contaminação de Hg no Rio Madeira e, conseqüentemente, às altas concentrações de Hg nas espécies de peixe, a população ribeirinha, incluindo crianças na fase de amamentação, estão expostos ao Hg, onde são encontradas altas concentrações do elemento em cabelo, sangue, urina, leite materno etc. (BASTOS *et al.*, 2006; HA *et al.*, 2017; MARQUES *et al.*, 2007; MAURICE-BOURGOIN *et al.*, 2000).

5 CONCLUSÕES

O sistema de introdução de amostra com geração química de vapor acoplado a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado proposto foi efetivo para a determinação de Hg total nas amostras de peixes estudadas, pois o limite de quantificação para Hg de $0,06 \mu\text{g g}^{-1}$ atende a concentração máxima estabelecida pela ANVISA em peixe.

O sistema FI-CVG-ICP-MS desenvolvido possui características importantes, como pequeno volume de amostra e reagentes necessário por determinação, tempo por determinação de somente 40 s, boa precisão, exatidão e baixo LOQ. Além disso, o sistema proposto é de baixo custo e pode ser usado para análise de rotina.

Das concentrações de Hg total nas 18 espécies de peixe do Rio Madeira, 13 estão acima do limite permitido pela legislação vigente, ou seja, em concentração superior a $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ para espécies não predadoras e $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ para espécies predadoras, sendo, portanto, não recomendável o consumo destes peixes.

Devido ao ciclo biogeoquímico do Hg e ao aumento da extração do ouro no Rio Madeira, seria importante investigar sobre os níveis de Hg nos sedimentos, água e na população ribeirinha. Outro aspecto importante seria o estudo sobre a presença das espécies de Hg, como Hg^0 , Hg^{2+} , Hg^+ e CH_3Hg^+ , presente neste ambiente, visto que a maior fonte de emissão antropogênica é, provavelmente, o mercúrio elementar. Desta forma, é possível avaliar as relações existentes nas concentrações e espécies de Hg presentes no ambiente e verificar se ocorre bioacumulação e biomagnificação no organismo humano. Para tal, se faz necessário o estudo periódico e mais amplo.

REFERÊNCIAS

- AMMANN, A. A. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): a versatile tool. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 42, n. 4, p. 419–427, 2007.
- ARAÚJO, B. F. *et al.* Distribuição de Hg total e suas associações com diferentes suportes geoquímicos em sedimentos marinhos da margem continental brasileira: Bacia de Campos - Rio de Janeiro. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 501–507, 2010.
- ATSDR. **Mercury | Toxicological Profile | ATSDR**. Disponível em: <<https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=115&tid=24>>. Acesso em: 1 fev. 2023.
- BARBOSA, A. C. *et al.* Mercury Biomagnification in a Tropical Black Water, Rio Negro, Brazil. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 45, n. 2, p. 235–246, 2003.
- BASTOS, W. R. Métodos de digestão utilizando microondas para determinação automatizada de hg em amostras ambientais e humanas: implantação de laboratórios e avaliação da qualidade analítica. **Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro**, 1997.
- BASTOS, W. R. *et al.* Mercury in the environment and riverside population in the Madeira River Basin, Amazon, Brazil. **Science of The Total Environment**, Selected papers from the 7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Ljubljana, Slovenia June 27 -. v. 368, n. 1, p. 344–351, 2006.
- BASTOS, W. R. *et al.* Mercury in fish of the Madeira river (temporal and spatial assessment), Brazilian Amazon. **Environmental Research**, v. 140, p. 191–197, 2015.
- BASTOS, W. R.; LACERDA, L. D. DE. A contaminação por mercúrio na bacia do Rio Madeira: uma breve revisão. 2004.
- BEAUCHEMIN, D. **Sample Introduction Systems in ICPMS and ICPOES**. Elsevier; 1st edition, 586 p., 2020.
- BERLIN, M.; ZALUPS, R. K.; FOWLER, B. A. Chapter 46 - Mercury. In: NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M. (Eds.). **Handbook on the Toxicology of Metals (Fourth Edition)**. San Diego: Academic Press, 2015. p. 1013–1075.
- BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente. **Química Nova**, v. 27, n. 4, 2004.
- BJØRKLUND, G. *et al.* The toxicology of mercury: Current research and emerging trends. **Environmental Research**, v. 159, p. 545–554, 2017.
- BOISCHIO, A. A. P.; BARBOSA, A. Exposição ao mercúrio orgânico em populações ribeirinhas do Alto Madeira, Rondônia, 1991: resultados preliminares. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 9, n. 2, p. 155–160, 1993.

DE CASTRO PAIVA, T. *et al.* Flood-pulse and trophic position modulate mercury concentrations in fishes from an Amazon floodplain lake. **Environmental Research**, v. 215, p. 114307, 2022.

DENMARK, I. S. *et al.* Removal of inorganic mercury by selective extraction and coprecipitation for determination of methylmercury in mercury-contaminated soils by chemical vapor generation inductively coupled plasma mass spectrometry (CVG-ICP-MS). **Analytica Chimica Acta**, v. 1041, p. 68–77, 2018.

DOREA, J. G.; BARBOSA, A. C.; SILVA, G. S. Fish mercury bioaccumulation as a function of feeding behavior and hydrological cycles of the Rio Negro, Amazon. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, Special issue of CBP dedicated to “The Face of Latin American Comparative Biochemistry and Physiology”. v. 142, n. 3, p. 275–283, 2006.

DRESSLER, Valderi Luiz. **Emprego do dietilditiofosfato de amônio para separação da matriz e pré-concentração do analito em sistema FI-ICP-MS**. 1999. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 1999.

DRESSLER, V. L. *et al.* On-line pre-concentration of Hg in blood and urine and determination by CVAAS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, n. 8, p. 790–793, 2002.

D’ULIVO, A. *et al.* Mechanisms of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 83, n. 6, p. 1283–1340, 2011.

D’ULIVO, A. Mechanisms of chemical vapor generation by aqueous tetrahydridoborate. Recent developments toward the definition of a more general reaction model. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 119, p. 91–107, 2016.

D’ULIVO, A.; LIU, Y.; STURGEON, R. E. Chapter 5 - Other chemical vapor generation techniques. In: D’ULIVO, A.; STURGEON, R. E. (Eds.). **Vapor Generation Techniques for Trace Element Analysis**. [s.l.] Elsevier, 2022. p. 153–190.

DULLIUS, Eduardo. **Desenvolvimento de um vaporizador eletrotérmico para determinação direta de cloro em coque de petróleo por ICP-MS**. 2011. Dissertação (Mestrado em Sistemas e Processos Industriais) - Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, RS, 2011.

ENGEL, U. *et al.* A microwave-induced plasma based on microstrip technology and its use for the atomic emission spectrometric determination of mercury with the aid of the cold-vapor technique. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 1, p. 193–197, 2000.

HA, E. *et al.* Current progress on understanding the impact of mercury on human health. **Environmental Research**, v. 152, p. 419–433, 2017.

HORVAT, M.; GIBIČAR, D. Speciation of Mercury: Environment, Food, Clinical, and Occupational Health. Em: CORNELIS, R. et al. (Eds.). **Handbook of Elemental Speciation II - Species in the Environment, Food, Medicine and Occupational Health**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2005. p. 281–304.

HU, J. *et al.* Current advances of chemical vapor generation in non-tetrahydroborate media for analytical atomic spectrometry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 155, p. 116677, 1 out. 2022.

JUNIOR, J. J. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Aquicultura e da Pesca. disponível em: <<https://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-sap/mapa-n-271-de-1-de-julho-de-2021-329476680>>. Acesso em: 28 fev. 2023.

KHOURY, E. D. T. *et al.* Manifestações neurológicas em ribeirinhos de áreas expostas ao mercúrio na Amazônia brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 29, n. 11, p. 2307–2318, 2013.

KRUG, F. J.; ROCHA, F. P. Métodos de preparo de amostras para análise elementar. **EditSBQ, Sociedade Brasileira de Química, São Paulo, 572 p.**, 2016.

LACERDA, L. D. Contaminação por mercúrio no Brasil: fontes industriais vs garimpo de ouro. **Química Nova**, v. 20, p. 196–199, 1997.

LECHLER, P. J. *et al.* Elevated mercury concentrations in soils, sediments, water, and fish of the Madeira River basin, Brazilian Amazon: a function of natural enrichments? **Science of The Total Environment**, Proceedings of the Fifth. v. 260, n. 1, p. 87–96, 2000.

MARQUES, R. C. *et al.* Maternal mercury exposure and neuro-motor development in breastfed infants from Porto Velho (Amazon), Brazil. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 210, n. 1, p. 51–60, 2007.

MAURICE-BOURGOIN, L. *et al.* Mercury distribution in waters and fishes of the upper Madeira rivers and mercury exposure in riparian Amazonian populations. **Science of the Total Environment**, v. 260, n. 1, p. 73–86, 9 out. 2000.

MICARONI, R. C. DA C. M.; BUENO, M. I. M. S.; JARDIM, W. DE F. Compostos de mercúrio. Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 487–495, 2000.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Dispõe sobre o regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos: RESOLUÇÃO - RDC Nº 42, DE 29 DE AGOSTO DE 2013**. 2013.

MMA. **Ministério do Meio Ambiente - Curso apresenta ferramenta de medição de mercúrio**. Disponível em: <<https://www.gov.br/mma/pt-br/noticias/noticia-acom-2017-12-2741>>. Acesso em: 01 fev. 2023.

Ministério da Agricultura e Pecuária. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/pesca-e-comercializacao-da-piracatinga-ficam-proibidas-ate-2-de-julho-de-2023>> acesso em: 28 fev. 2023.

MORAES, D. P. *et al.* Preparo de amostras assistido por radiação micro-ondas. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, p. 315–372, 2016.

MÜLLER, E. I. *et al.* Chapter 4 - Wet Digestion Using Microwave Heating. In: FLORES, É. M. M. (Ed.). **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis**. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 99–142.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Toxicological Effects of Methylmercury - National Research Council, Commission on Life Sciences, Board on Environmental Studies and Toxicology, Committee on the Toxicological Effects of Methylmercury - Google Livros**. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=FNuu6Sm3wHIC&printsec=copyright&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 01 fev. 2023.

OLIVEIRA, R. C. *et al.* Fish consumption by traditional subsistence villagers of the Rio Madeira (Amazon): impact on hair mercury. **Annals of Human Biology**, v. 37, n. 5, p. 629–642, 2010.

OUTRIDGE, P. M. *et al.* Updated Global and Oceanic Mercury Budgets for the United Nations Global Mercury Assessment 2018. **Environmental Science & Technology**, v. 52, n. 20, p. 11466–11477, 2018.

PESTANA, I. A. *et al.* Let's talk about mercury contamination in the Amazon (again): The case of the floating gold miners' village on the Madeira River. **The Extractive Industries and Society**, v. 11, p. 101122, 2022.

PFEIFFER, W. C. *et al.* Mercury in the Madeira River ecosystem, Rondônia, Brazil. **Forest Ecology and Management**, Amazonia: Deforestation and Possible Effects. v. 38, n. 3, p. 239–245, 1991.

PRAZERES, L. **Garimpo na Amazônia: o que está por trás da invasão do rio Madeira | Amazonas | G1**. Disponível em: <<https://g1.globo.com/am/amazonas/noticia/2021/11/25/garimpo-na-amazonia-o-que-esta-por-tras-da-invasao-do-rio-madeira.ghtml>>. Acesso em: 01 fev. 2023.

PROCH, J.; NIEDZIELSKI, P. Recent applications of continuous flow chemical vapor and hydride generation (CVG, HG) coupled to plasma-based optical emission spectrometry (ICP OES, MIP OES). **Talanta**, v. 243, p. 123372, 2022.

QUEIROZ, L. J. (org.). **Peixes do Rio Madeira**. São Paulo: Dialeto Latin American Documentary, 2013.

RÍO SEGADE, S.; TYSON, J. F. Determination of inorganic mercury and total mercury in biological and environmental samples by flow injection-cold vapor-atomic

absorption spectrometry using sodium borohydride as the sole reducing agent. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 58, n. 5, p. 797–807, 2003.

ROCHA, F. R. P.; ZAGATTO, E. A. G. Flow analysis during the 60 years of Talanta. **Talanta**, v. 206, p. 120185, 2020.

RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. **Flow Injection Analysis**. John Wiley & Sons, 1988.

RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Retro-review of flow-injection analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 5, p. 390–393, 2008.

SANTOS, W. T. P. *et al.* Análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos: potencialidades e aplicações. **Química Nova**, v. 34, p. 1753–1761, 2011.

SCHMIDT, Lucas. **Avaliação do comportamento de espécies de mercúrio em peixes após diferentes métodos de cocção**. 2011. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2011.

SCHMIDT, L. *et al.* Evaluation of drying conditions of fish tissues for inorganic mercury and methylmercury speciation analysis. **Microchemical Journal**, v. 108, p. 53–59, 2013.

SOARES, J. M. *et al.* Mercury in fish from the Madeira River and health risk to Amazonian and riverine populations. **Food Research International**, v. 109, p. 537–543, 2018.

STURGEON, R. E.; GUO, X.; MESTER, Z. Chemical vapor generation: are further advances yet possible? **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, n. 4, p. 881–883, 2005.

THOMAS, R. **Practical Guide to ICP-MS**. CRC Press, 2003.

TINÔCO, A. A. P. *et al.* Avaliação de contaminação por mercúrio em Descoberto, MG. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 15, n. 4, p. 305–314, 2010.

TROJANOWICZ, M. Flow chemistry vs. flow analysis. **Talanta**, v. 146, p. 621–640, 2016.

VAN STADEN, J. F.; STEFAN-VAN STADEN, R. I. Application of porphyrins in flow-injection analysis: A review. **Talanta**, v. 80, n. 5, p. 1598–1605, 2010.

VIEIRA, J. C. S. *et al.* The effects of mercury exposure on Amazonian fishes: An investigation of potential biomarkers. **Chemosphere**, v. 316, p. 137779, 2023.

VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; CURTIUS, A. J. Determination of As, Ge, Hg, Pb, Sb, Se and Sn in coal slurries by CVG-ETV-ICP-MS using external or isotopic dilution calibration. **Microchemical Journal**, Selected Papers Presented at the 13th National Analytical Chemistry Meeting and the 1st Ibero-American Analytical Chemistry Congress. v. 82, n. 2, p. 127–136, 2006.

WU, L. *et al.* Chemical Vapor Generation for Determination of Mercury by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 42, n. 2, p. 79–102, 2007.

WU, Y. *et al.* Simple mercury speciation analysis by CVG-ICP-MS following TMAH pre-treatment and microwave-assisted digestion. **Microchemical Journal**, v. 103, p. 105–109, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION **Environmental health criteria. 1. Mercury.** 1976.

ZAHIR, F. *et al.* Low dose mercury toxicity and human health. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 20, n. 2, p. 351–360, 2005.

ZHENG, C. *et al.* Photo-induced chemical vapor generation with formic acid for ultrasensitive atomic fluorescence spectrometric determination of mercury: potential application to mercury speciation in water. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 20, n. 8, p. 746–750, 2005.