



Dissertação de Mestrado

**SEPARAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO *ON-LINE* PARA
ESPECIAÇÃO DE Hg EM CHORUME POR FI-CVG AAS**

Éder Lisandro de Moraes Flores

PPGQ

Santa Maria, RS - Brasil

2005

**SEPARAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO *ON-LINE* PARA
ESPECIAÇÃO DE Hg EM CHORUME POR FI-CVG AAS**

por

Éder Lisandro de Moraes Flores

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação
em Química da Universidade Federal de Santa Maria
(RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Química

Santa Maria, RS - Brasil

2005

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**SEPARAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO *ON-LINE* PARA ESPECIAÇÃO DE Hg EM
CHORUME POR FI-CVG AAS**

elaborada por

Éder Lisandro de Moraes Flores

Como requisito parcial para a obtenção do grau de

Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Valderi Luiz Dressler

Edgard Moreira Ganzarolli

Sérgio Roberto Mortari

Santa Maria, 01 de agosto de 2005.

*Dedico este trabalho à minha família (**Érico, Gessy, Sônia e Érico Marlon**) e à **Simone**, indispensável companheira em mais uma etapa desta vida.*

AGRADECIMENTOS

Ao **Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria**, pela possibilidade de execução deste trabalho.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico**, pela concessão de bolsa de mestrado.

Ao Prof. Dr. **Valderi Luiz Dressler**, orientador e amigo pelo exemplo profissional, transmissão de conhecimentos e incentivo, de inestimável valor.

Ao Prof. Dr. **Érico Marlon de Moraes Flores**, pelas valiosas contribuições e apoio durante a elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Ayrton Figueiredo Martins**, pela amizade e conhecimento transmitidos.

Ao Prof. Dr. **José Neri Gottfried Paniz**, pela amizade, suporte oferecido, incentivo e sugestões para melhoria deste trabalho.

Aos Profs. Drs. **Sérgio Roberto Mortari e Edgard Moreira Ganzarolli**, pela amizade, participação como banca examinadora e pelas valiosas sugestões que contribuíram para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos amigos do **Setor de Química Industrial e Ambiental**, pela amizade, incentivo e companheirismo demonstrados.

Aos funcionários **Ademir e Valéria**, pela disposição e amizade demonstradas durante a execução deste trabalho.

Aos familiares **José, Lourdes e Fernanda**, pela amizade e grande apoio transmitidos.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1. Mercúrio - Aspectos Gerais.....	20
2.1.1. Espécies Inorgânicas de Hg.....	20
2.1.2. Espécies Orgânicas de Hg.....	21
2.1.3. Distribuição e Ciclo Biogeoquímico do Hg.....	21
2.1.4. Aspectos Toxicológicos do Hg.....	24
2.1.5. O Hg no Meio Aquático.....	25
2.1.6. Chorume – Características e Ocorrência de Hg.....	27
2.2. Análise de Especificação de Hg.....	29
2.2.1. Amostragem e Armazenamento de Amostras aquosas.....	30
2.2.1.1. Armazenamento de Amostras Aquosas Para Determinação de Hg Total.....	31
2.2.1.2. Armazenamento de Amostras Aquosas Para Análise de Especificação de Hg.....	32
2.2.2. Determinação de Hg por CV AAS.....	34
2.2.2.1. Mecanismo de Redução.....	35
2.2.2.2. Redução Seletiva de Espécies de Hg.....	36
2.2.2.3. Sistemas em Batelada e por Injeção em Fluxo com CV AAS.....	37
2.2.2.4. Interferências em CV AAS.....	38
2.2.3. Preparação da Amostra	39
2.2.3.1. Métodos de Extração Para a Especificação de Hg.....	40

2.3. Métodos para Especificação de Hg.....	43
2.3.1. Métodos Cromatográficos.....	44
2.3.1.1 Cromatografia à Gás.....	44
2.3.1.2. Cromatografia à Líquido de Alta Eficiência.....	45
2.3.2. Métodos Não-cromatográficos.....	46
2.3.2.1. Redução Seletiva.....	46
2.3.2.2. Extração em Fase Sólida.....	47
2.3.2.3. Troca Iônica.....	50
2.3.3. Outras Técnicas Utilizadas Para Especificação de Hg.....	53
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	55
3.1. Instrumentação.....	55
3.1.1. Sistema FI-CVG AAS.....	55
3.2. Materiais Diversos.....	58
3.3. Reagentes.....	58
3.4. Ajuste do Sistema FI-CVG AAS.....	59
3.4.1. Ajuste das Condições para Pré-concentração de Hg _{inorg}	60
3.4.2. Ajuste das Condições Para Eluição do Hg _{inorg}	60
3.4.3. Ajuste da Vazão de Argônio Para a Determinação Hg _{inorg} e MeHg	60
3.4.4. Ajuste das Condições Para Geração de MeHgH e Amalgamação do Hg.....	60
3.4.5. Dessorção Térmica do Hg Amalgamado.....	61
3.4.6. Capacidade de Retenção de Hg _{inorg} e MeHg.....	61
3.4.7. Capacidade de Separação das Espécies de Hg e Capacidade de Adsorção de Hg na CTI e na Coluna de Amalgamação.....	61
3.5. Tratamento das Amostras.....	62
3.5.1. Procedimento para Tratamento Preliminar da Amostra.....	62
3.5.2. Caracterização do Chorume.....	63
3.5.3. Determinação de Hg Total no Chorume.....	64
3.5.4. Análise de Especificação de Hg no Chorume.....	64
3.5.5. Validação do Método Proposto Para Análise de Especificação de Hg no	

Chorume.....	66
4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	67
4.1. Ajuste do Sistema FI-CVG AAS.....	67
4.1.1. Condições para Pré-concentração de Hg _{inorg}	67
4.1.2. Condições para Eluição do Hg _{inorg}	68
4.1.2.1. Concentração de HCl e NaBH ₄	69
4.1.2.2. Influência da Vazão do HCl e NaBH ₄	71
4.1.2.3. Influência da Vazão de Argônio Sobre o Sinal do Hg _{inorg}	72
4.1.3. Condições Para a Determinação de MeHg.....	73
4.1.4. Dessorção Térmica do Hg Amalgamado.....	75
4.1.5. Capacidade de Retenção de Hg _{inorg} e MeHg na CTI e na Coluna de Amalgamação.....	76
4.1.6 Influência de uma Espécie de Hg Sobre a Outra no Processo de Separação.....	77
4.1.7. Condições Estabelecidas Para o Sistema FI-CVG AAS.....	78
4.2. Determinação de Hg _{inorg} e MeHg em Chorume.....	80
4.2.1. Procedimento para Tratamento Preliminar da Amostra.....	80
4.2.2. Caracterização do Chorume.....	81
4.2.3. Determinação de Hg Total em Chorume.....	82
4.2.4. Análise de Especificação de Hg no Chorume.....	82
4.2.4.1. Análise de Especificação de Hg na Fração Líquida.....	83
4.2.4.2. Análise de Especificação de Hg no Sedimento.....	83
4.2.5. Validação do Método Proposto Para Análise de Especificação de Hg em Chorume.....	84
5. CONCLUSÕES.....	83
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Faixa de concentração dos principais componentes do chorume gerado em aterros de resíduos sólidos urbanos de origem doméstica. <i>Adaptado de Christensen(2001)¹³</i>	28
Tabela 2.	Condições adequadas para a preservação e armazenamento de espécies de Hg. <i>Adaptado de Parker (2005)²⁷</i>	33
Tabela 3.	Aplicações de GC e HPLC para especificação de Hg. <i>Adaptado de Uría et al. (1998)²⁴</i>	45
Tabela 4.	Programa de acionamento das válvulas solenóides.....	56
Tabela 5.	Condições estabelecidas para a separação/pré-concentração de Hg _{inorg} e MeHg com o sistema FI-CVG AAS.....	79
Tabela 6.	Características físico-químicas do chorume usado neste trabalho.....	81
Tabela 7.	Resultados obtidos na determinação de Hg total em chorume, empregando CV AAS. Os valores correspondem à média e o desvio-padrão para 3 replicatas.....	82
Tabela 8.	Determinação de Hg _{inorg} e MeHg nas frações do chorume com o sistema FI-CVG AAS. Os valores representam a média e o desvio padrão de três replicatas.....	84
Tabela 9.	Validação do procedimento proposto com o teste de recuperação de Hg _{inorg} e MeHg no chorume. Os valores representam a média e o desvio padrão de três medidas.....	85

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Intervalo de concentração de Hg e seus compostos em algumas amostras ambientais e biológicas. Os pontos de interrogação indicam que nenhum resultado confiável foi relatado; % indica a percentagem do Hg total nas várias formas (Hg^0 , $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ ou CH_3Hg^+) e os valores entre parênteses foram obtidos em locais contaminados. Adaptado de *Micaroni (2000)*⁶..... 22
- Figura 2.** Ciclo biogeoquímico do Hg. Adaptado de *ATSDR (1999)*⁷. Linhas tracejadas representam regiões de fronteira entre os compartimentos ambientais. (aq): meio aquoso; (s): sólido; COD: carbono orgânico dissolvido..... 23
- Figura 3.** Sistemas para determinação de Hg por CV AAS. (a) em batelada (b) em fluxo. Adaptado de *Welz (1999)*⁴⁵..... 38
- Figura 4.** Sistema FI-CVG AAS. P: bomba peristáltica; V_1, \dots, V_4 : válvulas solenóides de três vias; CTI: coluna de troca iônica; Ar: fluxo de argônio; SLG_1 e SLG_2 : separadores gás-líquido; Au: coluna de Au para amalgamação; LH: lâmpada halógena; CQ: cela de quartzo; Re: recirculação da amostra ou reagente; W: descarte; x: 1 cm; y: 1 cm; z: 10 cm; números entre parênteses: vazões das soluções, em mL min^{-1} 57
- Figura 5.** Fluxograma das etapas envolvidas no tratamento preliminar da amostra de chorume..... 63
- Figura 6.** Fluxograma do procedimento de extração de espécies de Hg do sedimento..... 65
- Figura 7.** Influência da concentração de HCl e da vazão da solução amostra sobre a intensidade do sinal de Hg. Solução contendo 500 ng L^{-1} de

- Hg_{inorg}; HCl 3 mol L⁻¹ a 3 mL min⁻¹; vazão de NaBH₄: 3 mL min⁻¹; vazão de Ar: 100 L min⁻¹ 68
- Figura 8.** Influência da concentração do NaBH₄ sobre a intensidade do sinal analítico para o Hg_{inorg}. Solução contendo 500 ng L⁻¹ de Hg_{inorg} em HCl 0,5 mol L⁻¹ a 10 mL min⁻¹; HCl 3 mol L⁻¹ a 3 mL min⁻¹; vazão de NaBH₄: 3 mL min⁻¹; vazão de Ar: 100 L min⁻¹ 70
- Figura 9.** Influência da concentração de HCl na eluição sobre a intensidade do sinal analítico para Hg_{inorg}. Solução contendo 500 ng L⁻¹ de Hg_{inorg} em HCl 0,5 mol L⁻¹ a 10 mL min⁻¹; HCl: 3 mL min⁻¹; vazão de NaBH₄: 3 mL min⁻¹; vazão de Ar: 100 L min⁻¹ 71
- Figura 10.** Influência das vazões de HCl 3 mol L⁻¹ e NaBH₄ 0,1% m/v sobre a intensidade do sinal analítico para Hg_{inorg}. Solução contendo 500 ng L⁻¹ em HCl 0,5 mol L⁻¹ a 10 mL min⁻¹; HCl 3 mol L⁻¹; NaBH₄: 0,1 % (m/v); vazão de Ar: 100 L min⁻¹ 72
- Figura 11.** Influência da vazão de Ar sobre a intensidade do sinal analítico para Hg_{inorg}. Solução de Hg_{inorg} contendo 500 ng L⁻¹ de Hg em HCl 0,5 mol L⁻¹ a 10 mL min⁻¹; HCl: 3 mol L⁻¹ a 4 mL min⁻¹; NaBH₄: 0,1% (m/v) a 4 mL min⁻¹ 73
- Figura 12.** Perfil do sinal de Hg_{inorg} nas condições pré-estabelecidas. Solução contendo de 500 ng L⁻¹ de Hg em HCl 0,5 mol L⁻¹ a 10 mL min⁻¹; HCl: 3 mol L⁻¹ a 4 mL min⁻¹; NaBH₄: 0,1% (m/v) a 4 mL min⁻¹; vazão de Ar: 100 L min⁻¹ 73
- Figura 13.** Perfil do sinal obtido a partir do MeHg, após a dessorção térmica. Condições: Amostra: 10 mL de solução contendo 500 ng L⁻¹ de Hg (na forma de MeHg) a 10 mL min⁻¹; Ar: 100 L min⁻¹; temperatura: 500 °C.... 76
- Figura 14.** Influência da concentração de MeHg sobre a separação/pré-

concentração de Hg_{inorg} . Solução contendo 100 ng L^{-1} de Hg_{inorg} e Hg (como MeHg em HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} ; HCl: 3 mol L^{-1} a 4 mL min^{-1} ; $NaBH_4$: $0,1\%$ (m/v) a 4 mL min^{-1} ; vazão de Ar: 100 L min^{-1} 77

Figura 15. Influência da concentração de Hg_{inorg} sobre a separação/pré-concentração do MeHg. Solução contendo 100 ng L^{-1} de Hg como MeHg em HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} ; HCl: 3 mol L^{-1} a 4 mL min^{-1} ; $NaBH_4$: $0,1\%$ (m/v) a 4 mL min^{-1} ; vazão de Ar: 100 L min^{-1} 78

Figura 16. Recuperação de Hg_{inorg} em função da concentração de HCl na amostra..... 83

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AAS, espectrometria de absorção atômica, do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*

CE, eletroforese capilar, do inglês *Capillary Electrophoresis*

CRM, material de referência certificado, do inglês *Certified Reference Material*

CV AAS, espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio, do inglês *Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry*

CV AFS, espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio, do inglês *Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry*

CV, vapor frio, do inglês *Cold vapor*

CVG, geração química de vapor, do inglês *Chemical Vapor Generation*

FI, injeção em fluxo, do inglês *Flow Injection*

FI-CV AAS, espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio acoplado a sistema de injeção em fluxo, do inglês *Flow Injection Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry*

FI-CVG AAS, espectrometria de absorção atômica com geração química de vapor acoplado a sistema de injeção em fluxo, do inglês *Flow Injection Chemical Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry*

GC, cromatografia gasosa, do inglês *Gas Chromatography*

HG, geração de hidretos, do inglês *Hydride Generation*

HG AAS, espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos, do inglês *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*

HPLC, cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*

ICP OES, espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado, do inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*

ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*

d.i., diâmetro interno

IUPAC, *International Union of Pure and Applied Chemistry*

LD, limite de detecção

LQ, limite de quantificação

MeHg, metilmercúrio

MIP OES, espectrometria de emissão ótica com plasma induzido por microondas, do inglês *Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry*

PTFE, politetrafluoretileno

RSD, desvio padrão relativo, do inglês, *relative standard deviation*

SPE, extração em fase sólida, do inglês *Solid Phase Extraction*

TMAH, hidróxido de tetrametilamônio, do inglês, *tetramethylammonium hydroxide*

UV, ultravioleta

RESUMO

No Brasil, os lixões constituem a principal forma de disposição de resíduos sólidos urbanos. A percolação da água da chuva através do lixo e a sua fração aquosa inerente constituem o chorume, um efluente caracterizado por elevada concentração de matéria orgânica (dissolvida e coloidal), alta salinidade, sólidos suspensos e presença de metais pesados. A análise de especiação de Hg em chorume é complexa em virtude das características da matriz envolvida e pelo fato das concentrações das principais espécies de Hg (Hg^{2+} inorgânico, Hg_{inorg} , e na forma orgânica, metilmercúrio, MeHg) estarem na ordem de ng L^{-1} . Neste trabalho, foi proposto o desenvolvimento de um método para a especiação de Hg em chorume, envolvendo a separação, pré-concentração e detecção das espécies de Hg com um sistema de injeção em fluxo acoplado a um espectrômetro de absorção atômica com geração química de vapor (FI-CVG AAS).

A amostra foi centrifugada a 15000 rpm por 10 min para separação do material particulado. O sobrenadante foi filtrado a $0,45 \mu\text{m}$, acidificado com HCl a $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e então processado em uma coluna ($l = 1,0 \text{ cm}$, i.d. = 3 mm) preenchida com 30 mg de resina de troca aniônica (Dowex 1-X8, 200-400 mesh), na qual somente o Hg_{inorg} é retido, na forma de um cloro-complexo aniônico, $[\text{HgCl}_4]^{2-}$. O MeHg, não sendo retido pela resina, reage com NaBH_4 a 0,1% (m/v) e é convertido ao seu respectivo hidreto (MeHgH), o qual é pré-concentrado por amalgamação em uma coluna preenchida com uma “tela” de Au/Pt ($l = 1 \text{ cm}$, i.d. = 3 mm). O Hg_{inorg} é removido da coluna através de eluição redutiva, sendo reduzido a Hg^0 diretamente na resina com uma mistura de NaBH_4 e HCl e carregado até a cela de quartzo com argônio. O Hg amalgamado (MeHgH) foi dessorvido termicamente da “tela” de ouro com uma lâmpada halógena à temperatura de cerca de $500 \text{ }^\circ\text{C}$, sendo carregado até a cela de quartzo com argônio. Dessa forma, é possível a detecção individual das espécies de Hg, sendo obtido um sinal analítico para cada espécie. O sedimento obtido após a centrifugação foi submetido a um processo de extração com HCl 6 mol L^{-1} e irradiação de microondas (3 min a 60 W). Com o ajuste dessas condições, obteve-se uma faixa de trabalho de 50 a 2000 ng L^{-1} para Hg_{inorg} e MeHg, com LD de 12 e 9 ng L^{-1} (1 min de pré-concentração a 10 mL min^{-1}), respectivamente. As recuperações dos testes de adição de 10 ng de Hg, como Hg_{inorg} e MeHg, variaram de 97 a 106%. O sistema FI-CVG AAS é caracterizado pela fácil implementação (uso de apenas quatro válvulas) e simplicidade (eluição redutiva), usando apenas HCl e NaBH_4 como reagentes. Portanto, o método proposto é adequado para a análise de especiação de Hg em chorume, com boa exatidão, precisão (RSD < 4%) e robustez, apesar da grande complexidade da matriz da amostra.

ABSTRACT

In Brazil, the urban solid wastes are usually discharged on landfill sites that are percolated by rainwater. This water leaches the wastes producing an effluent that is characterized by high concentration of organic matter, salts, suspended particulates and heavy metals. Mercury is one of the metals that is frequently present in different chemical forms which is an environmental concern. Since some mercury species, mainly Hg^{2+} (Hg_{inorg}) and CH_3Hg^+ (Hg_{org}), are more toxic than others, the Hg speciation in the waste leaching is very important. This analysis may be a difficult task due to low analyte concentration and high matrix complexity. In this work it is proposed a new method for Hg speciation in urban waste leachate by using a flow injection (FI) system for chemical vapor generation (CVG) and detection by atomic absorption spectrometry (AAS). The sample was centrifuged at 15,000 rpm for 10 min for separating the particulates. The supernatant was filtered at 0.45 μm , acidified up to 1 mol L^{-1} HCl and then passed through a column (l = 10 mm and i.d. = 3 mm) filled with anion exchange resin (Dowex 1-X8[®], 200-400 mesh) in order to retain only the Hg_{inorg} . Just at the column outlet the MeHg, which is not retained by the resin, is converted to volatile MeHgH by reaction with 0.1% (m/v) NaBH_4 and the MeHgH is subsequently pre-concentrated by amalgamation on a gold gauze (l = 10 mm and i.d. = 3 mm). Initially, the Hg_{inorg} that is retained on the resin is removed by reductive elution with 0.1% (m/v) NaBH_4 and 1 mol L^{-1} HCl and the resultant Hg^0 is carried by argon to the quartz cell of the AAS spectrometer. In a second step, the MeHgH is thermodesorbed from the Au net by irradiation with a halogen lamp (~500 °C) and the Hg^0 is also carried by argon to the quartz cell. In this way, is possible the individual detection of the Hg species.

The Hg in the solid fraction attained after centrifugation was acid extracted with 6 mol L^{-1} HCl and microwave irradiation (3 min at 60 W) and then centrifuged once more. The supernatant was separated and submitted to the same procedure described above.

With the proposed method it is possible to obtain calibration curves ranging from 50 to 1500 ng L^{-1} of Hg (as Hg^{2+} or CH_3Hg^+). Limits of detection (3σ) of 12 ng L^{-1} of Hg (as Hg^{2+}) and 9 ng L^{-1} of Hg (as CH_3Hg^+) by processing 10 mL of sample were achieved. The recoveries of Hg^{2+} and CH_3Hg^+ in the samples spiked with this species were quantitative (97 - 106%) and the relative standard deviation (RSD) was lower than 4% (n = 5).

1. INTRODUÇÃO

Até a década de 1980, o conceito de “problema analítico” era bastante limitado, pois apenas a quantificação da concentração total de um ou mais elementos em uma determinada amostra já era uma informação relevante. Entretanto, esta informação não permite a previsão sobre o comportamento das diferentes formas químicas em que um elemento se encontra em relação a sistemas biológicos e/ou geoquímicos. A exigência de um detalhamento analítico originou novas tendências em Química Analítica, entre elas, a análise de especiação química.

O potencial toxicológico do Hg é fortemente determinado pelo seu estado de oxidação e/ou a forma com que está ligado a outros elementos. Devido ao fato de que a biodisponibilidade depende, sobretudo, de mecanismos associados às espécies e/ou de suas solubilidades, a qual, para materiais biológicos, aumenta com o caráter lipofílico do respectivo composto, a especiação vem a ser uma ferramenta indispensável para o estabelecimento de limites de concentrações seguras - do ponto de vista toxicológico - para elementos traço, como o Hg.

As propriedades do Hg em formar ligas com vários metais, sua liquidez à temperatura ambiente, sua facilidade de vaporização, resfriamento e a sua condutividade elétrica, fazem do mercúrio um importante metal na indústria. O Hg provavelmente seja mais conhecido como um líquido prateado dos termômetros, entretanto, são conhecidas mais de 3000 aplicações industriais. Em virtude de questões relacionadas ao impacto ambiental e a toxicidade do Hg, há uma tendência global em restringir o seu uso. Entretanto, em muitos casos, devido as versáteis propriedades físico-químicas do Hg, a sua substituição torna-se praticamente inviável.

As principais formas de emissão natural de Hg são decorrentes da degaseificação natural da crosta terrestre e atividades vulcânicas. Simultaneamente, ocorrem significativas emissões de Hg⁰ e seus compostos devido a atividades antropogênicas, sendo as mais

significativas, provenientes da utilização de combustíveis fósseis, incineração de resíduos urbanos e industriais, indústrias de cloro-álcali e de equipamentos elétricos.

Os estudos de especiação de Hg são relacionados a um amplo espectro de situações, devido, principalmente, às emissões significativas desse elemento e seus compostos para o meio ambiente, devido a sua ampla aplicação do Hg na indústria. Os aspectos toxicológicos também são necessariamente considerados, pois são bastante freqüentes os casos de intoxicações, seja por exposição ocupacional ou pela cadeia alimentar, visto as características de bioacumulação e toxicidade do Hg.

No Brasil, os lixões constituem a principal forma de disposição de resíduos sólidos urbanos. A percolação da água da chuva através do lixo e a sua fração aquosa inerente constituem o chorume, um efluente caracterizado por elevada concentração de matéria orgânica (dissolvida e coloidal), alta salinidade, sólidos suspensos e presença de metais pesados.

A análise de especiação de Hg em chorume é complexa em virtude das características da matriz envolvida e pelo fato das concentrações das principais espécies de Hg (Hg^{2+} inorgânico, Hg_{inorg} , e na forma orgânica, metilmercúrio, MeHg) estarem na ordem de ng L^{-1} .

Desta forma, as principais etapas envolvidas na análise tanto de amostras ambientais e/ou biológicas são amostragem, pré-concentração, separação e a determinação das espécies separadas usando uma técnica sensível como por exemplo, a espectrometria de absorção atômica por vapor frio (CV AAS, do Inglês, *Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry*).

Atualmente, estão disponíveis muitos métodos de amostragem (coletores manuais e automáticos) que possibilitam a simultânea pré-concentração e separação das espécies de Hg contidas em amostras, as quais podem ser cromatográficas ou não. Técnicas de separação bem estabelecidas, como cromatografia líquida, gasosa e extração em fase sólida também são ferramentas utilizadas. Os detectores empregados normalmente são suficientemente seletivos e sensíveis.

Neste trabalho, foi proposto o desenvolvimento de um método para a especiação de Hg em chorume, envolvendo a separação, pré-concentração e detecção das espécies de Hg com um sistema de injeção em fluxo acoplado a um espectrômetro de absorção atômica com geração química de vapor (FI-CVG AAS).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica está basicamente dividida em três partes principais. Na primeira parte, são abordados aspectos gerais sobre as propriedades físico-químicas do Hg, seu ciclo biogeoquímico, aspectos toxicológicos e a ocorrência do elemento em ambientes aquáticos. A segunda parte trata sobre a análise de especiação de Hg, abordando técnicas para armazenamento de amostras e conservação das espécies de Hg, os métodos de preparação de amostras, com ênfase sobre as técnicas de extração e a determinação de Hg por CV AAS. Na terceira parte, serão abordados os métodos de separação cromatográficos e não-cromatográficos para especiação de Hg em amostras ambientais, como águas e sedimentos. Uma maior ênfase é dada aos métodos de separação não-cromatográficos, uma vez que o presente trabalho está baseado na separação não-cromatográfica de espécies de Hg. Apesar de a troca iônica ser considerada, em alguns casos, uma técnica cromatográfica e/ou de extração em fase sólida, ela será abordada como uma técnica não cromatográfica.

Além disso, quando é feita a abordagem sobre as formas inorgânicas (Hg^{2+}) e orgânicas de Hg, estas serão denominadas, respectivamente, Hg_{inorg} e MeHg (metilmercúrio), mesmo que outras formas estejam presentes nas amostras. A concentração total de mercúrio será denominada por Hg_{tot} . O uso de tal terminologia foi feito apenas para facilitar a leitura, entendendo-se que, apesar de poder existir outras espécies, Hg^{2+} inorgânico e MeHg são as predominantes. Quando se tratar de outras espécies de Hg, elas serão mencionadas.

2.1. Mercúrio – Aspectos Gerais

As propriedades do mercúrio (Hg) em formar ligas com vários metais, seu estado líquido à temperatura ambiente, sua facilidade de vaporização, resfriamento e condutividade elétrica, conferem ao Hg grande destaque industrial, sendo conhecidas mais de 3000 aplicações industriais. Por exemplo, cita-se os usos do Hg em termômetros, eletrodos (indústrias de cloro-álcali) e em amálgamas (extração de ouro e em ortodontia) são de grande importância. Os compostos de Hg também são amplamente explorados em vários segmentos, fungicidas (cloreto de metilmercúrio), anti-sépticos (tiosalicilato de etilmercúrio - *timerosa*), catalisadores (sulfato mercúrico), entre outros.¹

Em virtude de questões relacionadas à toxicidade das espécies de Hg, há uma tendência global em restringir o seu uso. Entretanto, em muitos casos, devido às propriedades físico-químicas do elemento, em alguns casos, sua substituição torna-se praticamente inviável.

2.1.1. Espécies Inorgânicas de Hg

O Hg possui em compostos os números de oxidação 1+ ou 2+. Os compostos de Hg(II) são muito mais numerosos que os compostos de Hg(I). Além dos sais simples, como cloreto, nitrato e sulfato, o Hg(II) forma vários compostos organometálicos. Os compostos com o número de oxidação 1+ são raros, no qual o cátion Hg^+ é um íon diatômico ligado por covalência $(\text{Hg-Hg})^{2+}$, representado por Hg_2^{2+} .²

Entre os compostos de Hg com seus estados de oxidação positivos, a ocorrência de precipitados e complexos é bastante comum. O sulfeto de mercúrio (HgS) tem baixa solubilidade ($K_{ps} \approx 10^{-54}$), de modo a estabilizar o Hg no estado de oxidação 2+. Geralmente, o Hg(I) é estabilizado como haletos de Hg^+ insolúveis. Mais freqüentemente, o Hg^{2+} pode formar complexos de configuração eletrônica $[\text{Xe}]4f^{14}5d^{10}$, em diferentes formas de coordenação, com número de coordenação de 2 a 6.³

2.1.2. Espécies Orgânicas de Hg

Os compostos organometálicos de Hg são caracterizados por ligações covalentes do tipo σ entre o Hg e um ou dois átomos de carbono para formar compostos do tipo RHgX e RHgR' , respectivamente, onde R e R' representam grupos orgânicos e X representa um ânion. A ligação Hg—C , apesar de ser polarizada ($\text{Hg}^{\delta+}\text{—C}^{\delta-}$), é essencialmente covalente. Entretanto, a interação entre Hg e um ânion X tem caráter iônico.⁴

Os grupos alquila, R e R', ocorrem em uma grande variedade de formas, sendo exemplos mais comuns os grupos alquila, fenila e metoxietila. Os compostos de fenilmercúrio têm uma baixa volatilidade. Entretanto, os haletos de metil, etil e metoxietilmercúrio são mais voláteis. A solubilidade dos compostos organomercuriais em água é relativamente baixa, de modo que o Hg elementar e haletos de compostos alquilmercuriais são solúveis em solventes não-polares.⁵

A ligação C—Hg é relativamente estável, não se rompendo em água ou em meios fracamente ácidos ou básicos. A estabilidade da ligação não se deve somente pela força da ligação covalente, mas também devido à baixa afinidade do Hg pelo oxigênio. Entretanto, os compostos orgânicos de Hg são susceptíveis à fotodegradação. A fotólise do dimetilmercúrio ($(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$) em 254 nm, na fase gasosa, produz os radicais $\text{CH}_3\text{Hg}\cdot$ e $\text{CH}_3\cdot$, sendo degradado rapidamente, através do ataque por radicais hidroxila, com produção de Hg^0 .⁴

2.1.3. Distribuição e Ciclo Biogeoquímico do Hg

O Hg é o 16º elemento em abundância na crosta terrestre, com distribuição média de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$, sendo o cinábrio, o minério de Hg de maior ocorrência. Entretanto, a concentração do elemento é bastante variável de acordo com o tipo de ambiente, como pode ser observado na Fig. 1.^{5,6}

O ciclo biogeoquímico natural do Hg é caracterizado pela volatilização do elemento a partir do solo e de águas superficiais, seguido pelo transporte atmosférico e deposição na superfície terrestre e em águas superficiais. Desta forma, o Hg é continuamente re-volatilizado e depositado.⁷

Solo		Homem		Ar		Água de Chuva	
Total	< 200 µg/g (500 µg/g)	Sangue: Total	0,1-5ng/mL (10-300 ng/mL)	Total	0,5-10 ng/m ³ (0,7-20 µg/m ³)	Total	1-6 ng/L (até 500 ng/L)
Hg ⁰	?	CH ₃ Hg ⁺	10-95 %	Hg ⁰	70 - 99 %	Hg ⁰	?
(CH ₃) ₂ Hg	< 0,1 %			(CH ₃) ₂ Hg	0,1- 0,3 %	(CH ₃) ₂ Hg	?
CH ₃ Hg ⁺	< 1 %			CH ₃ Hg ⁺	0 - 5 %	CH ₃ Hg ⁺	< 30 %
		Urina: Total	<1,5 ng/m L	Hg ²⁺	0,1 - 5 %	Hg ²⁺	?
		CH ₃ Hg ⁺	< 1 %				
		Cabelo: Total	0,1-2 µg/g (2-300 µg/g)				
		CH ₃ Hg ⁺	70 -100 %				
Águas		Costeiras	Mar Aberto	Doce	Organismos Aquáticos		
Total	2 -15 ng/L (até 100 ng/L)		0,1 - 1 ng/L	0,1 - 3 ng/L (até 100ng/L)	Peixe de água fresca (músculo)		
Hg ⁰	< 1 %		1-30 %	?	Total 0,2 - 1µg/g		
(CH ₃) ₂ Hg	?		1-25 %	?	(até 7µg/g)		
CH ₃ Hg ⁺	< 10 %		< 10 %	< 30 %	CH ₃ Hg ⁺ 70 -100 %		
					Peixe marinho (músculo)		
					Total 0,01 -1,5 µg/g (até 50 µg/g)		
					CH ₃ Hg ⁺ 60 -100 %		
Sedimento							
Total	50 - 100 ng/g (1 - 500 µg/g)						
Hg ⁰	?						
(CH ₃) ₂ Hg	< 0,5 %						
CH ₃ Hg ⁺	?						

Figura 1. Intervalo de concentração de Hg e seus compostos em algumas amostras ambientais e biológicas. Os pontos de interrogação indicam que nenhum resultado confiável foi relatado; % indica a percentagem do Hg total nas várias formas (Hg⁰, (CH₃)₂Hg ou CH₃Hg⁺) e os valores entre parênteses foram obtidos em locais contaminados. *Adaptado de Micaroni (2000).*⁶

Observando-se a Fig. 2, o ciclo do Hg pode compreender as seguintes interações:⁸

- Despejo direto de Hg⁰ para o meio aquático (rios e oceanos);
- Volatilização de Hg⁰ através do aquecimento de amalgamas (mineração de ouro);
- Combinação do Hg⁰ volatilizado com aerossóis e transporte atmosférico;
- Deposição de Hg⁰ em solos e águas;
- Oxidação do Hg⁰ por ozônio ou radiação e deposição do Hg²⁺ em solos e

- águas;
- Metilação do Hg_{inorg} à MeHg ;
 - Adsorção de Hg_{inorg} por materiais particulados suspensos em água e sedimentação;
 - Imobilização do Hg por sulfetos na forma de HgS ;
 - Redução do Hg_{inorg} à Hg^0 , através da radiação solar e de ácidos orgânicos, seguido de volatilização na interface água-ar;
 - Solubilização do Hg^0 através da dissolução-complexação por ácidos orgânicos;
 - Lixiviação e transporte do Hg_{inorg} de solos, levando a contaminação de águas subterrâneas;
 - Demetilação do MeHg e posterior volatilização do Hg^0 na interface água-ar.

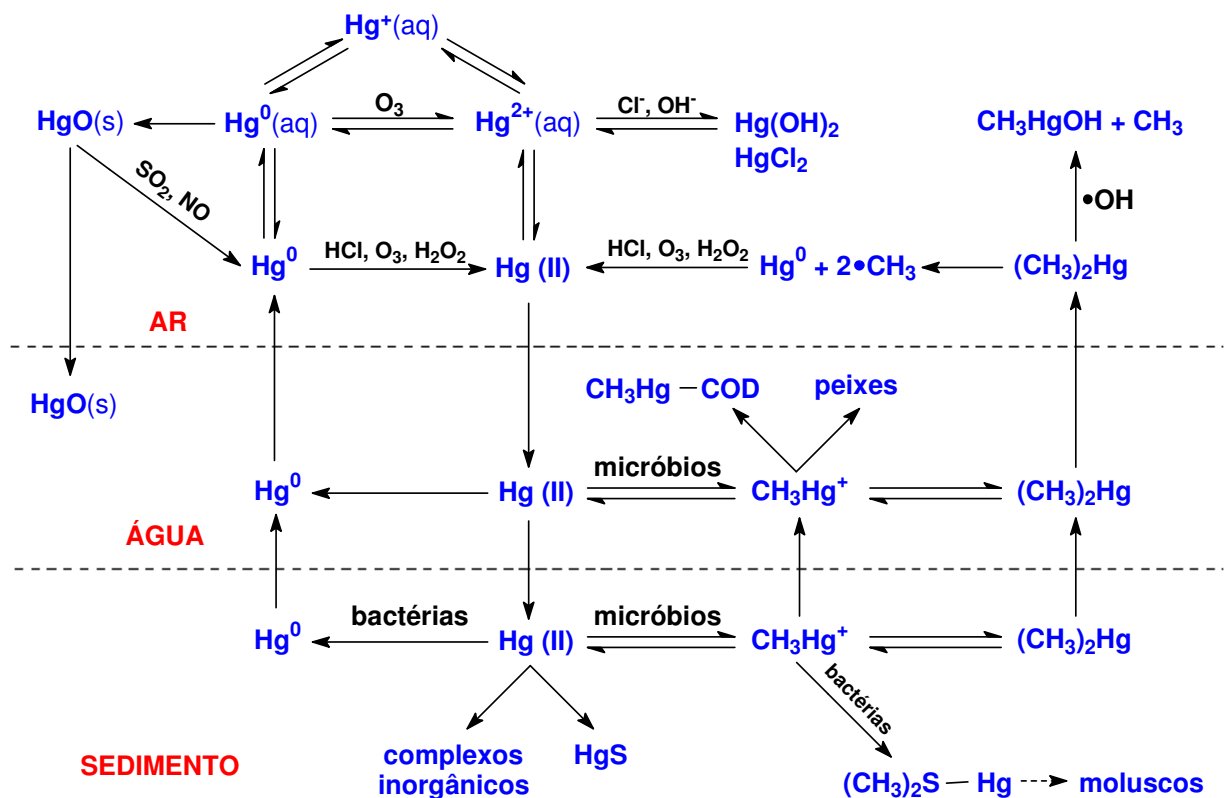


Figura 2. Ciclo biogeoquímico do Hg. Linhas tracejadas representam regiões de fronteira entre os compartimentos ambientais. (aq): meio aquoso; (s): sólido; COD: carbono orgânico dissolvido. Adaptado de ATSDR (1999).⁷

A metilação do Hg_{inorg} no solo e sedimento, presentes em ambientes aquáticos é um fenômeno importante que ocorre relacionado à atividade microbiana. De modo geral, a metilação através de microorganismos depende de diversos fatores:⁹

- A monometilação é o produto predominante da metilação biológica em pH próximo a 7;
- A taxa de metilação é mais elevada sob condições aeróbias do que sob condições anaeróbias;
- A temperatura afeta a metilação, através do seu efeito sobre a atividade microbiana;
- Altas taxas de crescimento microbiano aumentam a metilação do Hg;
- As taxas de metilação são inibidas pela presença de sulfeto em sistemas anaeróbios.

O ciclo biogeoquímico do Hg está sujeito a várias incertezas, relacionadas às quantidades médias de Hg no meio ambiente. Além disso, as várias transformações (por ex.: metilação, demetilação, oxidação, redução, difusão etc.) também estão associadas a um determinado grau de incerteza, devido a sua relação com outros fatores, como pH, temperatura, potencial redox, entre outros.¹⁰

2.1.4. Aspectos Toxicológicos do Hg

São relatados vários casos de intoxicação por Hg, destacando-se os casos ocorridos no Japão (1953), pelo consumo de peixe contaminado, e no Iraque (1971), pelo consumo de sementes de trigo contaminadas. Quanto à manipulação de MeHg, também foram registrados alguns casos de intoxicação de pesquisadores, por inalação e absorção pela pele. A síndrome de Hunter-Russel é uma doença provocada pela contaminação com metilmercúrio, cujos sintomas são a disfunção do sistema nervoso, ataxia e diminuição do campo visual. No entanto, vários outros sintomas podem ser causados, dependendo do grau de exposição.¹

O MeHg é uma das formas mais perigosas de Hg devido à sua fácil entrada

no organismo e absorção, com uma dose letal (DL_{50}) de 21 mg kg^{-1} . A absorção pela via respiratória, cutânea e pelo trato gastrointestinal atingem taxas de 80%, mesmo misturado a alimentos. No caso de ingestão de peixe, o metilmercúrio, ligado à sulfidrilas de proteínas, sofre a ação do suco gástrico, originando o cloreto de metilmercúrio.⁵

O Hg e seus compostos, dependendo da concentração no tecido animal, podem desnaturar proteínas, inativar enzimas e alterar a atividade celular, tanto pela indução de genes específicos como pela transmissão ou influência de sinais de controle da expressão gênica. O Hg pode se ligar a uma variedade de componentes citoplasmáticos e de sistemas enzimáticos, incluindo microsossomos, lisossomos e mitocôndrias, causando desde lesões inespecíficas, até a morte celular.⁷

O elemento liga-se aos grupos sulfidrilas, $-SH$ (tiol ou mercaptana) de proteínas, enzimas e de substâncias de baixo peso molecular (coenzima A, cistina, glutation, lipoato e tioglicolato), com as quais tem forte afinidade. Dessa forma, as espécies de Hg, mesmo em baixas concentrações, são capazes de inativar as enzimas sulfidriladas, interferindo no metabolismo e nas funções celulares, como por exemplo, bloquear o transporte de glicose e alterar a permeabilidade da membrana.¹

Dessa forma, cabe ressaltar a importância das condições adequadas à manipulação do Hg e de seus compostos, principalmente o MeHg. É necessário o emprego de luvas nitrílicas, as quais são praticamente impermeáveis a esta espécie, bem como sistema de exaustão eficiente. Para destruição de resíduos contendo MeHg é necessária a utilização de um oxidante forte como o cloreto de bromo, sendo que o Hg_{inorg} resultante deve ser descartado adequadamente.⁶

2.1.5. O Hg no Meio Aquático

As principais espécies de Hg presentes em ambientes aquáticos são Hg_{inorg} e MeHg. Em águas naturais, as concentrações de Hg total são relativamente baixas, estando geralmente abaixo de 1 ng L^{-1} para oceano aberto, e abaixo de 15 ng L^{-1} para águas costeiras e abaixo de 3 ng L^{-1} para lagos e rios. As variações pontuais dos níveis de Hg são consideráveis, especialmente em áreas costeiras e em lagos e

rios, onde a associação do Hg com materiais em suspensão também pode contribuir para o aumento da concentração total de Hg.⁶

As concentrações de MeHg em águas superficiais são tipicamente superiores em água doce do que em oceano aberto, ocorrendo principalmente na forma de CH_3HgOH e CH_3HgCl , respectivamente, ocorrendo esta distinção em razão da elevada concentração de cloreto (Cl^-) em água do mar. Os níveis de dimetilmercúrio são praticamente desprezíveis em razão de sua elevada volatilidade.⁴

Os complexos com carga neutra, como HgCl_2 , CH_3HgOH , entre outros, ocorrem de forma relativamente estável em água doce (neve, água da chuva, rios e lagos), entretanto em água do mar, o tetracloreto de mercúrio, $[\text{HgCl}_4]^{2-}$, é a principal forma de ocorrência do Hg.¹¹

Nos ambientes aquáticos, as transformações entre as espécies de Hg, como a metilação do Hg_{inorg} , pode ocorrer através de processos bióticos e abióticos. Dessa forma, processos como atividade microbiana, adsorção e desorção, complexação, dissolução, floculação, precipitação e degradação de substâncias orgânicas são processos que participam interativamente do transporte de Hg em ambientes aquáticos.⁴

A complexação do Hg com ácidos fúlvicos e húmicos, presentes em águas com elevado teor de carbono orgânico dissolvido (COD), é uma forma freqüente de associação do Hg no meio aquático. Em águas anóxicas, o MeHg normalmente está ligado a sulfetos. A correlação entre MeHg e COD em muitos sistemas aquáticos reflete a função complexa do COD em mediar a concentração e a distribuição de MeHg, bem como a sua biodisponibilidade. O MeHg pode ser fixado no meio aquático através de complexação com o COD, de modo que águas com elevados níveis de COD, tendem a ter níveis elevados de MeHg em água.⁴

Parte do Hg presente nos sistemas aquáticos também ocorre no sedimento, sendo a sua distribuição dependente da concentração de carbono orgânico, argila, ferro, fósforo, sulfeto, dentre outros. Os complexantes orgânicos solúveis em água, tais como humatos e fulvatos, podem quelar as espécies solúveis de Hg, de modo que os fulvatos de Hg podem precipitar diretamente no sedimento. O meio ácido favorece a adsorção do Hg pelos ácidos húmicos. No entanto, em meio básico, o Hg tem maior afinidade pela fração mineral, desfavorecendo a formação de MeHg.¹²

A capacidade adsortiva de diferentes adsorventes para Hg decresce na seguinte ordem: ácidos húmicos > MnO₂, argilas > Fe₂O₃ > SiO₂. A concentração de Cl⁻ tem influência na capacidade de adsorção de Hg devido à formação de cloro-complexos, de modo que a capacidade adsortiva de Hg decresce na seguinte ordem: Hg(OH)Cl > Hg(OH)₂ > [HgCl₃]⁻ > [HgCl₄]²⁻.¹¹

A concentrações de Cl⁻ inferiores do que 10⁻⁴ mol L⁻¹, ácidos húmicos e MnO₂ têm uma considerável capacidade de adsorção de Hg. Em concentrações de 0,5 mol L⁻¹ de Cl⁻ (características de água do mar), somente ácidos húmicos têm capacidade adsortiva para Hg. O Hg é fortemente adsorvido por particulados suspensos (diâmetro inferior a 5 µm) de sedimentos. Substâncias orgânicas com grupos tiol ou amino podem ligar-se fortemente com o Hg.¹¹

2.1.6. Chorume – Características e Ocorrência de Hg

No Brasil, os aterros para depósito lixo, popularmente conhecidos como “lixões”, constituem a principal forma de disposição de resíduos sólidos urbanos. A percolação da água da chuva através do lixo e a sua fração aquosa inerente constituem o chorume, um efluente caracterizado por elevada concentração de matéria orgânica (dissolvida e coloidal), alta salinidade, elevado teor de sólidos suspensos e presença de metais pesados.¹³

A composição do chorume é um indicador do tipo de resíduo que é disposto no aterro. É relevante a contribuição do descarte de substâncias perigosas (tintas, baterias, medicamentos, biocidas, entre outros) de origem doméstica inerente ao consumo dos mais diversos tipos de produtos pela população. Dessa forma, muitas substâncias emanadas pelos aterros têm potencial para causar contaminação ambiental, os quais podem ser classificados em quatro grupos de poluentes:¹³

- Matéria orgânica dissolvida, expressada como demanda química de oxigênio (DQO), carbono orgânico dissolvido (COD) ou carbono orgânico total (TOC), incluindo CH₄, ácidos graxos voláteis e outros compostos como ácidos húmicos e fúlvicos;
- Macrocomponentes inorgânicos, como Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, NH₄⁺, Cl⁻, SO₄²⁻ e HCO₃⁻;

- Metais pesados, como Cd, Cr, Cu, Pb, Ni, Zn e Hg;
- Compostos orgânicos xenobióticos, em concentração inferior a 1 mg L⁻¹, como hidrocarbonetos aromáticos, fenóis e organoclorados.

Na Tabela 1 são mostradas as faixas de concentração de alguns constituintes do chorume.¹⁴

Tabela 1. Faixa de concentração dos principais componentes do chorume gerado em aterros de resíduos sólidos urbanos de origem doméstica.^a *Adaptado de Christensen (2001).*¹³

Parâmetro	Intervalo
pH	4,5 - 9,0
Condutividade específica (µS cm ⁻¹)	2500 - 35000
Sólidos totais (mg L ⁻¹)	2000 - 60000
<i>Matéria orgânica</i>	
Carbono orgânico total (COT)	30 - 29000
Demanda biológica de oxigênio (DBO)	20 - 57000
Demanda química de oxigênio (DQO)	140 - 152000
DBO/DQO (razão)	0,02 - 0,80
Nitrogênio orgânico	14 - 2500
<i>Macrocomponentes inorgânicos</i>	
Fósforo total	0,1 - 23
Cloretos	150 - 4500
Sulfatos	8 - 7750
Bicarbonatos	610 - 7320
Sódio	70 - 7700
Potássio	50 - 3700
Amônio	50 - 2200
Cálcio	10 - 7200
Magnésio	30 - 15000
Ferro	3 - 5500
Manganês	0,03 - 1400
Sílica	4 - 70
<i>Elementos-traço</i>	
Arsênio	0,01 - 1
Cádmio	0,0001 - 0,4
Cromo	0,02 - 1,5
Cobalto	0,005 - 1,5
Cobre	0,005 - 10
Chumbo	0,001 - 5
Mercúrio	0,00005 - 0,16
Níquel	0,15 - 13
Zinco	0,03 - 1000

^a valores de concentração em mg L⁻¹.

Os metais pesados presentes no chorume normalmente estão associados ao COD, sendo que cerca de 30% deste consiste de substâncias de alto peso molecular (>1000 Da). O material coloidal também apresenta afinidade pelos metais, de modo que a concentração dos metais no chorume depende do teor de material coloidal.¹⁵ Estas associações ocorrem através de fenômenos como sorção e/ou complexação. Entretanto, na fase metanogênica, pode ocorrer precipitação de alguns metais com sulfetos e carbonatos.¹⁶

O comportamento e os possíveis efeitos tóxicos dos metais pesados no chorume são dependentes de suas formas químicas e de como estão associados aos minerais, ao COD e ao material em suspensão. A determinação da biodisponibilidade teórica desses metais, normalmente é baseada em cálculos a partir de resultados obtidos em extrações com acetato de amônio ou EDTA.¹⁷

O Hg ocorre no chorume predominantemente na forma de sulfetos insolúveis. Entretanto, sob condições anaeróbicas, é possível a biometilação do Hg_{inorg} a formas mais solúveis e voláteis, como MeHg e etilmercúrio, o que remete aos aterros de resíduos serem uma significativa fonte de emissão de Hg para a atmosfera.^{18,19} A concentração de Hg total em gases emitidos por aterros é da ordem de $\mu\text{g m}^{-3}$. Entre as espécies metiladas de Hg, o MeHg ocorre em concentrações inferiores a 30 ng m^{-3} , sendo o dimetilmercúrio a espécie predominante, com concentrações de até 100 ng m^{-3} .²⁰

Embora haja estudos de especiação de Hg nos gases emitidos pelo aterro, observa-se que há poucos estudos relacionados à especiação de Hg em chorume. Alguns trabalhos referem-se apenas a estudos de fracionamento de Hg em chorume.²¹

2.2. Análise de Especiação de Hg

A definição do termo “especiação” recomendado pela “União Internacional de Química Pura e Aplicada” (IUPAC) tem sido utilizado de uma forma muito mais ampla, como por exemplo, para especificar também a “transformação e/ou distribuição de espécies”, ou “atividade analítica para identificar espécies químicas e

medir sua distribuição”. Neste caso, estes processos seriam mais adequadamente definidos como “transformação de espécies” e “distribuição de espécies”.²²

Para um melhor entendimento do significado de especiação, é útil considerar o conjunto de definições relacionadas abaixo:

- *Especiação*: determinação do composto ou forma química exata, na qual um elemento ocorre em uma amostra.
- *Espécie química; elemento químico*: forma específica de um elemento, definida pela sua composição isotópica, estado de oxidação ou eletrônico e/ou complexo ou estrutura molecular.
- *Análise de especiação*: atividade analítica de identificação e/ou medições da quantidade de uma ou mais espécies químicas individuais em uma amostra.
- *Especiação de um elemento; especiação*: distribuição da quantidade de um elemento químico de uma espécie definida em um sistema.²³

As principais etapas envolvidas na análise de especiação, tanto de amostras ambientais e/ou biológicas, são: amostragem, pré-concentração, separação e a determinação das espécies separadas usando uma técnica hifenada.²⁴

2.2.1. Amostragem e Armazenamento de Amostras Aquosas

A amostragem, geralmente, é uma das etapas críticas na análise de especiação, podendo interferir no equilíbrio das espécies, causando erros de exatidão. Portanto, o procedimento de amostragem deve preservar o equilíbrio e as informações originais das espécies na amostra.²⁵

A distribuição das espécies químicas em meios aquáticos pode variar em função da profundidade de um reservatório de água, onde a presença ou ausência de luz solar, a pressão dos gases dissolvidos (como o oxigênio e o dióxido de carbono), pH, potencial redox, íons concomitantes, entre outros, são fatores que podem levar a resultados errados, pois estes afetam a estabilidade e solubilidade de várias espécies químicas.²⁶

O material particulado deve ser removido das amostras aquosas antes do armazenamento, para evitar a adsorção e/ou transformações das espécies. O

material na forma coloidal não necessariamente deve ser removido, pois estes podem ser considerados como componentes da fração dissolvida.²⁷

Os materiais utilizados para amostragem, dispositivos para filtração e recipientes para o armazenamento de amostras normalmente devem ser descontaminados com HNO₃ a 10% (v/v), BrCl ou HCl a 50% (v/v) deixando-os em contato por pelo menos 24 h é recomendado, em alguns casos, aquecimento a 65 °C. Na descontaminação de recipientes de vidro borossilicato, também é recomendado submeter o recipiente a 475 °C por algumas horas.²⁸

O material dos recipientes pode afetar fortemente a estabilidade das espécies de Hg. Vários materiais, como polietileno (PE), polipropileno (PP), politetrafluoretileno (PTFE), vidro borossilicato, cloreto de polivinila (PVC), quartzo etc, têm sido avaliados para armazenar amostras líquidas. No caso de frascos de PE, os sítios ativos da superfície das paredes dos recipientes e aditivos (aminas, sulfetos e grupos fenólicos) podem causar perdas de Hg por adsorção ou redução. Em geral, a perda por adsorção nos recipientes de PTFE, aparentemente, é menor do que em vidro borossilicato.^{23,30}

2.2.1.1. Armazenamento de Amostras Aquosas para Determinação de Hg Total

No armazenamento de águas ou efluentes, para posterior determinação de Hg total, sem tratamento prévio, normalmente ocorrem perdas significativas de Hg das soluções, causadas por diferentes mecanismos, como adsorção nas paredes do recipiente e volatilização.³⁰

A estabilização do Hg em solução pode ser assegurada através da conservação de amostras em meio ácido e força iônica elevada, limitando, assim a adsorção nas paredes do recipiente. A adição de ácidos minerais fortes, como HNO₃, HCl, H₂SO₄ ou solução contendo ouro, normalmente é recomendada, entretanto, pode ocorrer a coagulação da matéria orgânica presente na amostra.³¹

A geração de espécies voláteis de Hg durante o período de armazenamento deve-se à redução de Hg²⁺ a Hg⁰ pela ação de agentes exógenos, como espécies redutoras, microorganismos ou ácidos húmicos. Outras causas possíveis de perda

de Hg da solução podem ser devido à adsorção de espécies de Hg nos sólidos ou colóides em suspensão, associação em complexos estáveis, ou sua redução na forma de amálgamas.³²

De modo a minimizar os mecanismos de redução e volatilização do Hg, a adição de substâncias oxidantes e/ou complexantes é outro procedimento que mantém a estabilização do Hg total. Substâncias como KMnO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e BrCl , em concentrações variáveis, são freqüentemente utilizadas.^{33,34}

Quando utiliza-se KMnO_4 como preservante, pode ocorrer a precipitação de MnO_2 (no qual o Hg pode ser adsorvido) e, no caso de soluções salinas, o KMnO_4 pode ser consumido pela oxidação de Cl^- a Cl_2 .³⁵ Como alternativa, é recomendada a adição de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ em meio ácido (por exemplo: 2 mL L^{-1} de solução $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a 20% m/v em HNO_3 8,0 mol L^{-1}).² O uso de HNO_3 como aditivo único não é recomendado pelo fato de não ter efeito oxidante em soluções diluídas.⁴

Em alguns casos, o uso de soluções de BrCl (5 mL da solução de BrCl por litro de amostra) têm sido recomendado, pois além de ser um forte oxidante e sua contaminação com Hg ser relativamente baixa, causa desagregação da matéria orgânica previamente à adsorção do Hg nas paredes do frasco e o seu descarte é menos complicado se comparado ao $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.³⁶

As perdas de Hg também podem ser minimizadas pelo uso de substâncias complexantes, como por exemplo, a adição de NaCl , o que leva a formação de cloro-complexos de Hg estáveis. Outros ânions inorgânicos, como CN^- , I^- e Br^- foram utilizados satisfatoriamente.³⁷ Entretanto, em meio ácido, o I^- forma complexos estáveis do tipo $[\text{HgI}_n]^{2-n}$, podendo interferir na determinação de Hg por CVAAS, quando utiliza-se SnCl_2 como agente redutor.³⁸

2.2.1.2. Armazenamento de Amostras Aquosas para Análise de Especiação de Hg

Para análise de especiação de Hg em amostras aquosas, de forma a manter a distribuição das espécies, o uso de oxidantes deve ser evitado. A degradação de MeHg é minimizada com adição de HCl a 0,5% (v/v) e armazenamento à temperatura entre 1 e 4 °C, sendo que o uso de HNO_3 não é recomendado por promover a degradação de MeHg. O armazenamento de amostras ao abrigo da luz

para conservação de espécies orgânicas de Hg é essencial, devido à sua susceptibilidade à degradação fotoquímica. Em alguns casos, a filtração prévia a 0,45 μm (diâmetro de poro) ajuda na preservação de MeHg dissolvido, pois a remoção do material particulado minimiza possíveis processos de demetilação.³⁶

O armazenamento de amostras para a determinação de Hg⁰ e dimetilmercúrio não é recomendado, pois os tempos de meia-vida destas espécies na amostra variam entre 10 e 20 h, principalmente em razão das suas elevadas volatilidades. No momento da amostragem, estas amostras devem ser purgadas com um gás inerte, como o argônio, e retidas em uma armadilha adequada, como por exemplo, uma coluna de ouro ou uma coluna de carvão ativado. Na Tabela 2 estão apresentadas algumas formas de tratamento para a preservação das espécies de Hg e condições adequadas para armazenamento de amostras de água.^{25,36}

Tabela 2. Condições recomendadas para a preservação e armazenamento de espécies de Hg. *Adaptado de Parker.*²⁷

Espécies	Recipiente	Preservação	Armazenamento	Estabilidade
Hg total	Vidro ^a ou PTFE	BrCl	-	> 1 ano
MeHg	Vidro ^a ou PTFE	HCl 0,4% v/v H ₂ SO ₄ 0,2% v/v	Refrigeração, escuro	6 a 12 meses
Hg ⁰	Vidro ^a	-	Refrigeração, escuro	1 dia
Dimetilmercúrio	Vidro ^a	-	Refrigeração, escuro	1 dia
Hg(II), dissolvido / em suspensão	Vidro ou Teflon [®]	-	Refrigeração, escuro	2 a 5 dias

^a Recipiente com tampa com vedante de PTFE.

Em sedimento e solo a concentração de MeHg normalmente é muito baixa em relação à concentração de Hg_{inorg}. A análise de especiação neste tipo de matriz normalmente é feita na amostra úmida. Entretanto, se o armazenamento for necessário, as amostras devem ser acondicionadas ao abrigo da luz, a baixas temperaturas ou liofilizadas.^{25,39}

2.2.2. Determinação de Hg por CV AAS

Uma ampla variedade de técnicas para a determinação de Hg em diversas matrizes ambientais têm sido utilizadas, onde pode-se destacar as seguintes: colorimetria, fluorimetria, espectrometria de absorção atômica com vapor frio (CV AAS), espectrometria de fluorescência atômica com vapor frio (CV AFS), espectrometria de emissão ótica e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP OES e ICP-MS, respectivamente), análise por ativação neutrônica ou radioquímica (INAA e RNAA, respectivamente), entre outras.⁴⁰

A determinação de Hg utilizando colorimetria com ditizona foi considerado um método de referência na década de 60, sendo baseado na detecção espectrofotométrica do complexo Hg^{2+} -ditizona, extraído da solução amostra para um solvente orgânico. Limite de detecção (LD) da ordem de 1 μg de Hg é obtido com este método.⁵ Entretanto, o método é susceptível a uma série de interferências, de modo que muitas modificações foram feitas para melhorar a sua seletividade. Após o advento da espectrometria de absorção atômica, o método colorimétrico com ditizona foi deixando de ser usado, de modo que poucos laboratórios ainda o utilizam. Entretanto, alguns avanços envolveram o uso da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), onde ditizona, ditiocarbamato e seus derivados, complexados com espécies de Hg podem ser separados em colunas de fase reversa, seguido de detecção na região do ultravioleta ou visível.⁹⁹ Alguns derivados hidrossolúveis de ditizona também têm sido usados em eletroforese capilar para determinação de Hg.^{41, 42,43}

Com relação à determinação de Hg por AAS, os sistemas com chama foram, inicialmente, usados. Entretanto, o LD desta técnica era insuficiente para a determinação de Hg na maioria das amostras ambientais.⁴⁴

Pela sua elevada pressão de vapor (0,16 Pa a 20 °C), o Hg^0 pode ser determinado por AAS sem o uso de um atomizador aquecido. As espécies de Hg são convertidas à forma elementar por reação de redução, onde o vapor de Hg gerado na fase líquida é transferido para a fase gasosa e introduzido na cela de leitura, onde o processo de absorção atômica é monitorado a 253,7 nm.⁴⁵

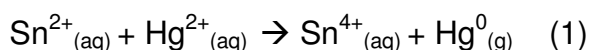
Alguns autores também demonstraram a possibilidade da determinação de

Hg por CV AAS monitorando o processo de absorção atômica a 184,9 nm, no qual é obtido um LD de cerca de trinta vezes melhor em relação à linha normalmente utilizada (253,7 nm). Porém, nesta região do espectro eletromagnético, é necessário trabalhar com o sistema ótico do espectrômetro evacuado.⁴⁶

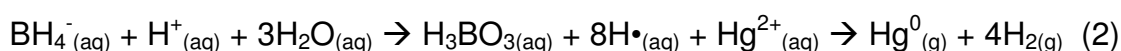
2.2.2.1. Mecanismo de Redução

A técnica de CV foi primeiramente utilizada por Woodson, em 1939, para monitoramento de Hg em ar atmosférico. Mais tarde, o uso de SnCl₂ para a geração de vapor frio foi introduzido por Kimura e Müller, sendo otimizado por Poluektov *et al.*⁴⁵ Esta técnica tornou-se popular após o trabalho de Hatch e Ott⁴⁷, os quais aplicaram esta técnica para a determinação de Hg em diversas amostras ambientais.

Atualmente, os agentes redutores mais empregados para a geração de vapor de Hg são o SnCl₂ e o tetraidroborato de sódio (NaBH₄), sendo este último um redutor mais forte. Na redução com SnCl₂, é necessária a purga da solução com um gás inerte, como argônio ou nitrogênio, para o transporte do vapor de Hg até a cela de medição. A redução com SnCl₂ ocorre segundo a reação (1):



Na redução do Hg com NaBH₄, ocorre adicionalmente a produção de H₂, o qual contribui para a remoção e transporte do vapor de Hg até a cela de leitura. Mesmo assim, é necessário o uso de um gás inerte para auxiliar no transporte do vapor de Hg. Essa reação ocorre em meio ácido, conforme descrito pela reação (2):



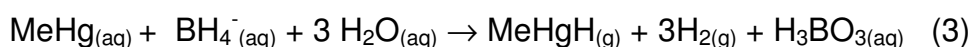
As soluções de NaBH₄ geralmente são preparadas diariamente em solução básica, por exemplo, em NaOH 0,05 a 0,1% (m/v), para melhor estabilidade do reagente. Devido à produção de H₂, os procedimentos de redução com NaBH₄ são limitados a sistemas abertos.⁴⁵

Vários autores atribuem vantagens quanto ao uso de NaBH₄ em relação ao SnCl₂, entre elas, maior sensibilidade e precisão, entretanto, em alguns casos, o SnCl₂ foi utilizado em razão da sua maior estabilidade e reação de redução menos enérgica.⁴⁸

Cabe ressaltar que antes da reação de geração de vapor de Hg é necessária a conversão de todas as espécies de Hg presentes na amostra para a forma inorgânica, para efetiva redução de todo Hg^{2+} à Hg^0 , a qual é feita normalmente através da decomposição da matriz com oxidantes fortes, como HNO_3 e/ou HClO_4 , BrCl , KMnO_4 , $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, ozônio, combinados com aquecimento convencional ou por microondas, radiação ultravioleta, sonólise e combinações destes.²⁴

2.2.2.2. Redução Seletiva de Espécies de Hg

A redução com NaBH_4 de uma espécie orgânica de Hg, como o MeHg, não leva à formação de Hg^0 . Entretanto, há a formação de outra espécie volátil, o hidreto de metilmercúrio (MeHgH), conforme pode ser observado na reação (3).⁴⁹ Conceitualmente, quando além de Hg^0 , ocorre a geração e quantificação de outras espécies voláteis (como por exemplo, MeHgH), esta técnica é denominada como geração química de vapor (CVG).



Diferentemente da redução de espécies de Hg com o NaBH_4 , na redução com SnCl_2 , não ocorre a redução de MeHg a MeHgH, sendo possível apenas a redução do Hg_{inorg} a Hg^0 . Desta maneira, usando SnCl_2 e NaBH_4 , é possível a redução seletiva das espécies de Hg.⁵⁰

A redução seletiva de espécies de Hg foi inicialmente proposta por Magos (1971)⁵¹, no qual o Hg_{inorg} é reduzido à Hg^0 pelo SnCl_2 e, em outra alíquota da amostra é adicionada uma solução de Cd^{2+} ao SnCl_2 , ocorrendo, assim, a redução total, tanto do Hg_{inorg} e do MeHg à Hg^0 . Dessa forma, a concentração de MeHg é obtida por diferença.

Diversos métodos utilizando processos de redução seletiva têm sido desenvolvidos para a discriminação de espécies de Hg, consistindo em uma ferramenta útil para análise de especiação de Hg. Os principais aspectos de algumas aplicações da redução seletiva para especiação de Hg são abordados no item 2.3.2.1 desta revisão.

2.2.2.3. Sistemas em Batelada e por Injeção em Fluxo com CV AAS

Atualmente, estão disponíveis diversos sistemas de CV AAS em batelada e em fluxo. Os sistemas em batelada consistem de reatores de vidro ou de polipropileno, normalmente com fundo cônico, com capacidade entre 20 e 50 mL. Nestes sistemas, o vapor de Hg é separado da fase líquida no próprio reator. Um sistema em batelada comercial é mostrado na Fig. 3 (a), o qual é constituído de um reservatório contendo o agente redutor e um frasco (reator) com fundo cônico onde é feita a geração de vapor frio de Hg. Pressionando-se a válvula, o gás de arraste é desviado para o reservatório do agente redutor, forçando a introdução deste para o interior do reator, onde ocorrerá a formação de Hg^0 .⁴⁵

Os sistemas de injeção em fluxo (FI) com CV AAS, caracterizam-se pela introdução de um volume definido da solução amostra em um fluxo de uma solução (denominada carregadora da amostra), onde ocorre a mistura contínua da amostra com os reagentes, com subsequente separação do vapor de Hg da fase líquida. Os sistemas FI são caracterizados pelo reduzido consumo de reagentes e amostra, uso de reagentes mais diluídos e, conseqüentemente, menor geração de resíduos. Pelo fato da reação de redução ocorrer em fluxo, não há a necessidade de atingir estado de equilíbrio químico, de modo que precisão e exatidão adequadas são obtidas em decorrência da reprodutibilidade do sistema.²⁶

Diversas configurações de sistemas FI foram propostas, com reatores e separadores gás-líquido de diferentes modelos, possibilitando a decomposição de amostras, separação e pré-concentração de espécies de Hg, eliminação de interferências, sendo muitas aplicações voltadas para a análise de especiação de Hg. Um sistema FI típico para CV AAS é mostrado na Fig. 3 (b).²⁴

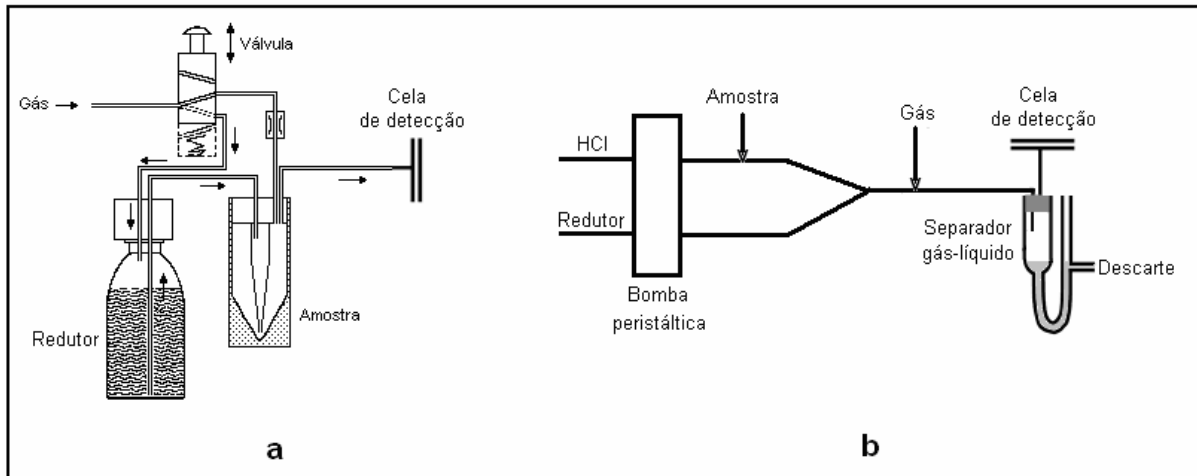


Figura 3. Sistemas para determinação de Hg por CV AAS. (a) sistema em batelada; (b) sistema em fluxo. Adaptado de *Welz (1999)*⁴⁵.

3.2.2.4. Interferências em CV AAS

Na técnica de CV AAS ocorre a separação do analito da matriz, que, apesar de ser vantajosa, não elimina todas as interferências, as quais ocorrem em diferentes fases do processo para determinação de Hg. Dessa forma, podem ocorrer interferências na reação de geração e liberação de vapor (interferências na fase condensada), no transporte do vapor (interferências na fase gasosa) e na cela de detecção (interferências na fase gasosa e interferências espectrais).⁴⁵

Na fase condensada, quando utiliza-se SnCl_2 como redutor, Te, Se(IV) e I⁻ podem tornar o Hg^{2+} indisponível para redução à Hg^0 , devido a formação de compostos estáveis com o Hg. Além disso, Au e Pt podem ser simultaneamente reduzidos e formar amálgamas com o Hg, impedindo a sua liberação da fase condensada.^{52,53}

A presença de alguns reagentes ou subprodutos resultantes do processo de decomposição ou extração, como cloreto de hidroxilamina, l-cisteína ou óxidos de nitrogênio também pode ser fonte de interferências. Entretanto, essas interferências são menos pronunciadas quando o NaBH_4 é usado como redutor. Na reação de redução do Hg^{2+} , em alguns casos, o uso de sistemas em fluxo ao invés de sistemas em batelada, pode minimizar algumas interferências através de discriminação

cinética.⁴⁵

De modo geral, não ocorrem interferências espectrais na técnica de CV AAS, com exceção de alguns compostos orgânicos voláteis, como acetona e hidrocarbonetos aromáticos (como o benzeno), que podem ser carregados pelo gás de arraste até a cela de detecção. A presença de vapor d'água na cela de detecção e/ou sua condensação podem causar interferência, porém, essas interferências não são espectrais. Esse problema pode ser contornado pela introdução de uma membrana permeável a gás ou coluna recheada com um agente secante, como o $MgClO_4$, de forma a separar ou reter a umidade do fluxo de gás contendo o analito, antes da cela de detecção.⁴⁵

2.2.3. Preparação da Amostra

De modo geral, entre a amostragem e a determinação das espécies de Hg de interesse, são necessários alguns procedimentos que incluem a etapa de preparação da amostra, possibilitando que as espécies a serem determinadas, estejam na forma disponível para a detecção. No caso da preparação de amostras para a determinação das espécies de Hg, devem ser considerados individualmente, três procedimentos:²⁴

- (i) Extração das espécies de Hg da amostra, garantindo a integridade das espécies;
- (ii) Pré-concentração das espécies de Hg presentes nos extratos obtidos (também, preservando a identidade das espécies), quando a concentração da espécie está abaixo do LD da técnica escolhida para a medição e
- (iii) Separação do Hg_{inorg} e do MeHg sem alterar as relativas concentrações originais.

Geralmente, em amostras aquosas filtradas, somente os últimos dois procedimentos são necessários. Entretanto, para a especiação de Hg em materiais não dissolvidos no ambiente aquático (sólidos em suspensão, sedimentos e solo) e biota (plantas, peixes, moluscos e plâncton), a primeira etapa torna-se necessária,

pois, convencionalmente, a fração de material particulado retida em um filtro de 0,45 μm , é considerada sedimento.⁵⁴

2.2.3.1. Métodos de Extração para a Especificação de Hg

Na preparação de amostras para especificação não é possível utilizar métodos de decomposição total, como oxidações com ácidos minerais fortes ou combustão, pois estes não preservam a informação relativa à integridade das espécies de interesse e certamente alteram os estados de oxidação e também, causam a quebra de ligações em espécies organometálicas. Desta forma, extrações em condições controladas são necessárias para a liberação das espécies da matriz da amostra.²³

Extrações podem ser usualmente feitas de forma simples ou de forma seqüencial, dependendo das necessidades. Em extrações simples, soluções de substâncias com características extratoras de espécies são freqüentemente usadas, como H_2O , HCl , KCl , NaNO_3 , NH_4NO_3 , KNO_3 , CaCl_2 , $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), CH_3COOH , hidróxido de tetrametilamônio (TMHA), etc.⁵⁵

As extrações seqüenciais podem ser feitas tratando a amostra com o uso consecutivo dos agentes extratores citados acima, por alteração da polaridade, força iônica, pH, complexação e/ou quelação, adsorção etc. Para a extração de espécies em amostras sólidas também podem ser empregadas extrações enzimáticas, com vários tipos de proteases e lisoenzimas.⁵⁶

A extração alcalina usando TMAH ou KOH/metanol têm sido proposta para extração de MeHg de sedimento e amostras biológicas.^{57,58}

Apesar da boa eficiência de extração em amostras biológicas, na extração alcalina em sedimento, alguns problemas nas etapas subseqüentes (pré-concentração, separação e detecção) podem ocorrer, devido ao elevado teor de matéria orgânica e sulfetos co-extraídos com o MeHg.⁵⁹

Na década de 60, Westöo desenvolveu uma metodologia para a extração de MeHg em sedimento e solos. Esta foi baseada na extração ácida das espécies de Hg com um haleto em meio ácido, seguida de extração seletiva de MeHg com benzeno. Uma re-extração para o meio aquoso também foi implementada para reduzir possíveis interferências na etapa de determinação com espectrometria de

emissão ótica com plasma induzido por microondas (MIP OES). Um reagente contendo um grupo tiol (como a cisteína), com elevada afinidade por compostos de Hg, pode ser utilizada para *clean-up* e/ou pré-concentração das espécies de Hg extraídas.⁶⁰

Muitas variações da metodologia original de Westöö foram desenvolvidas, como extração em meio alcalino, uso de outros extratores contendo enxofre (como tiosulfato e ditizona), ou a aplicação de diferentes métodos cromatográficos para a determinação direta em fase aquosa das espécies organomercuriais, usando HPLC.⁶¹

Derivando, portanto, da metodologia de Westöö, algumas etapas principais podem ser delineadas para a extração direta de MeHg de amostras sólidas, como sedimentos e tecidos biológicos: (i) liberação do MeHg da matriz orgânica (geralmente proteínas) por deslocamento do grupo mercapto por um íon haleto em pH ácido; (ii) extração seletiva de espécies organomercuriais em tolueno; (iii) purificação do extrato orgânico por extração com uma solução aquosa de cisteína; (iv) dissociação do complexo organomercúrio-tiol em meio ácido e (v) re-extração em solvente orgânico e pré-concentração por evaporação de solvente.⁶²

A extração de MeHg de amostras sólidas usando solventes orgânicos também é possível, entretanto, é necessário a adição de agentes complexantes, como o CuCl_2 , de forma a aumentar a eficiência da extração.¹⁰² Porém, esta metodologia não é eficiente para a extração de Hg_{inorg} e também não pode ser aplicada para a extração de MeHg em solos ou sedimentos.¹¹⁹ Para sedimentos, vários ácidos têm sido utilizados, como H_2SO_4 a 5% (m/v) em combinação com CuSO_4 e KBr , HNO_3 (4 mol L^{-1}) e HCl (4 mol L^{-1}).⁶³

A destilação por arraste de vapor com um fluxo de nitrogênio foi primeiramente proposto por Nagase *et al.* (1980)⁵⁹ e, posteriormente, por Horvat *et al.* (1993)⁵⁴, onde a destilação foi aplicada a extratos de amostras de solos e sedimentos com $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{NaCl}$ ou HCl/NaCl . Esta técnica é considerada uma técnica de extração acompanhada por separação não-cromatográfica, pois o MeHgCl é volatilizado, sendo condensado em um recipiente fechado imerso em banho de gelo. Como vantagens desta técnica pode-se destacar a separação do MeHgCl da matriz, o que elimina a possibilidade de interferências em uma etapa posterior de

derivatização (etilação), sendo adequada para determinação por GC-AFS.

Deste modo, as técnicas de destilação e extração têm sido as mais comuns entre as técnicas utilizadas em exercícios interlaboratoriais, organizados pela “European Commission’s Community Bureau of Reference” (BCR), e aplicadas também na certificação de materiais de referência.⁶⁵

Entretanto, apesar do uso da técnica de destilação em estudos de especiação de Hg em solos e sedimentos ser bastante difundido, foi constatada a conversão de Hg_{inorg} em MeHg durante o processo de destilação.⁶⁶

Em alguns estudos em que a conversão de Hg_{inorg} em MeHg durante a destilação foi verificada, os autores concluíram que a magnitude do processo de destilação aumenta linearmente com a concentração de Hg total e de COD (amostras de água). Além disso, este problema é mais crítico em presença de ácidos carboxílicos e húmicos. A metilação acidental do Hg_{inorg} também foi observada em procedimentos de extração alcalina e extração com fluido supercrítico (SFE).^{66,68}

A técnica de separação por GC acoplada a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (GC-ICP-MS) com diluição isotópica tem sido usada para estudos de metilação acidental durante as etapas do preparo de amostras. Com o uso desta técnica, Rodriguez *et al.* (2003)⁶⁹ concluíram que a quantidade de Hg_{inorg} presente durante as etapas de derivatização e extração é o principal fator determinante sobre a metilação artificial.

O uso de SFE é uma metodologia mais recente para a extração de espécies de Hg em solo e sedimento. A SFE é caracterizada pela facilidade de automação e baixo consumo de reagentes. Entretanto, algumas limitações têm sido observadas, principalmente interferências devido a matriz da amostra. Assim, para sedimentos com diferentes concentrações de enxofre e matéria orgânica, foi observado que o processo de extração não é reprodutível.⁷⁰

Também, a utilização de SFE para extração de compostos iônicos de amostras aquosas não pode ser feita diretamente com CO₂, devido à necessidade de neutralização de carga e a fraca interação soluto-fluido supercrítico. Por isso, a extração direta de espécies organometálicas de amostras aquosas com fluido supercrítico não tem sido implementada.⁷¹

A extração assistida por microondas (MAE) é um procedimento bastante

aceito para análise de especiação. As vantagens sobre sistemas que empregam aquecimento convencional, compreendem na distribuição mais uniforme do calor na amostra, a ausência de inércia durante o aquecimento e o aumento da velocidade de extração.^{72,73}

Sob condições usuais (alta energia aplicada, alta pressão e temperatura), este procedimento pode não ser aplicado para a análise de organometálicos, pois a maioria desses compostos é decomposta e toda a informação necessária para a especiação é perdida. Apesar desta restrição, alguns trabalhos foram desenvolvidos para especiação de Hg em tecidos de peixes e sedimentos, com sistema de irradiação de microondas sob condições controladas.⁷⁴¹

Comparando com outros procedimentos de decomposição, a decomposição com aquecimento por microondas é significativamente rápida (minutos ao invés de horas) e a eficiência da decomposição pode ser ajustada a uma matriz em particular, através de uma programação adequada da potência aplicada e do tempo de irradiação de microondas.⁷⁰

2.3. Métodos Para Especiação de Hg

A análise de especiação de Hg normalmente consiste na separação preliminar das espécies presentes na amostra com a posterior detecção destas espécies com técnicas sensíveis e seletivas. As técnicas de separação de espécies de Hg mais empregadas atualmente incluem HPLC, cromatografia por filtração em gel, GC, cromatografia por partição, extração seletiva (por ex., extração em fase sólida), eletroforese, diálise, filtração, co-precipitação, decomposição térmica, reações seletivas (redução seletiva) e amalgamação.²³

Inúmeros métodos estão disponíveis na literatura, combinando técnicas de detecção com os vários métodos de separação, porém, somente uma minoria destes métodos é amplamente aplicada, devido a questões como custo para implementação, complexidade de operação e baixa frequência analítica.

2.3.1. Métodos Cromatográficos

Admitindo que as técnicas não-cromatográficas simples possam ser usadas para a análise de especiação de alguns elementos específicos, é indiscutível que a ferramenta mais adequada para especiação consiste de separação cromatográfica acoplada a um detector sensível, como por exemplo, CV AAS, CV AFS ou ICP-MS.²⁴

2.3.1.1 Cromatografia à Gás

A separação de Hg em amostras ambientais usando técnicas de separação cromatográfica, particularmente a GC, tem grande utilidade para este propósito. Isto se deve pelo fato das espécies de Hg serem bastante voláteis, principalmente, após a sua derivatização. No caso de soluções de cloreto de MeHg, utilizando tetraidroborato de sódio, pode-se converter o MeHg para uma forma mais volátil, pela formação de hidreto de MeHg (MeHgH). Entretanto, Hg⁰ também é formado. Geralmente, o tetraetilborato de sódio (NaBEt₄) é usado como reagente para derivatização, convertendo as espécies iônicas em espécies não-iônicas. Entretanto, com este reagente não é possível distinguir entre Hg_{inorg} e EtHg⁺, pois tem como produto da derivatização o dietilmercúrio.⁶⁵

Normalmente, as reações de derivatização são de difícil controle e os mecanismos de reação não são bem compreendidos, o que ocorre também, para alguns procedimentos de geração de hidretos. Em geral, o risco de produzir resultados incorretos aumenta com o número de etapas e com a complexidade do procedimento analítico.⁷⁵

De modo geral, os detectores para GC mais comuns têm pouca seletividade para serem usados na especiação de Hg. O detector de captura de elétrons (ECD) foi proposto para especiação de Hg. Contudo, o ECD tem uma resposta não-seletiva, necessitando processos de *clean-up* laboriosos, principalmente de extração na fase orgânica, usada para extração de espécies de Hg.²⁴

2.3.1.2. Cromatografia à Líquido de Alta Eficiência

De modo a solucionar alguns problemas associados a separações por GC, alguns autores têm desenvolvido procedimentos de separação alternativos. Particularmente, a HPLC tem sido atualmente usada para a separação de Hg e outros elementos em amostras ambientais.²⁵

A técnica de HPLC usual com detector UV é menos sensível, porém é mais adequada do que GC para a separação de espécies polares, sendo, portanto, vantajosa para especiação de Hg orgânico e inorgânico. Além disso, a flexibilidade da cromatografia à líquido, com mais possibilidades de separação disponíveis, é considerada melhor que a GC, em ordem a obter separações satisfatórias de compostos orgânicos e inorgânicos de Hg em amostras ambientais complexas.⁷⁶

Quanto ao sistema de detecção em HPLC, são propostos diferentes detectores incluindo UV-Vis, eletroquímica etc. Entretanto, detectores bastante sensíveis e muito usados atualmente são os baseados na espectrometria atômica, tais como, CV AFS, CVG AAS, ICP OES, ICP-MS e MIP-OES. A baixa sensibilidade é usualmente a principal limitação do detector. Entretanto, o uso de CV AFS possibilita obter melhores LD's.²³ A Tabela 3 apresenta alguns exemplos das principais aplicações de GC e HPLC em estudos de especiação de Hg.

Tabela 3. Aplicações de GC e HPLC para especiação de Hg. *Adaptado de Uría et al (1998).*²⁴

Separação	Detector	Limite de detecção
GC	CV-AAS	5-167 pg
HPLC	CV-AAS	4-16 $\mu\text{g L}^{-1}$
GC	ETI-AAS	0,04 ng
GC	CV-AFS	0,01-100 ng L^{-1} ; 0,6-1,3 pg
HPLC	CV-AFS	0,015-0,1 μg
GC	MIP-OES	0,04-10 ng L^{-1}
HPLC	CV-MIP-OES	0,35 ng mL^{-1}
GC	ICP-OES	3 pg; 0,6 ng L^{-1}
HPLC	ICP-OES	0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$
GC	ICP-MS	0,12-1 pg
HPLC	ICP-MS	16-400 ng L^{-1}

2.3.2. Métodos Não-Cromatográficos

2.3.2.1. Redução Seletiva

A especiação de Hg através de reações de redução seletiva usando CV AAS como detector é possível, sendo primeiramente proposta por Magos (1971) e mais tarde, por Baltisberger (1974) e El-Awady (1976).⁷⁷

O método proposto por Magos (1971)⁵¹ consiste basicamente na utilização de dois meios de redução: SnCl_2 em meio básico, onde somente o Hg_{inorg} é reduzido a Hg^0 , e SnCl_2 em meio básico e na presença de Cd^{2+} , onde Hg_{inorg} e MeHg são reduzidos à Hg^0 . Algumas modificações deste método foram propostas posteriormente.

Goulden e Anthony (1980)⁷⁸ desenvolveram um sistema automatizado para a extração e redução de três classes de compostos - Hg_{inorg} , alquimercuriais (como MeHg) e arilmercuriais (como fenilmercúrio), sendo proposta a modificação das condições de redução. Com detecção por CV AAS é obtido um LD de 1 ng L^{-1} , sendo possível sua aplicação para a determinação de espécies de Hg em águas naturais.

Oda e Iangle (1981)⁷⁹ propuseram a redução seletiva com o uso seqüencial de redutores, empregando NaBH_4 para Hg total e SnCl_2 para Hg_{inorg} . A detecção foi feita por CV AAS, com LD's para Hg_{inorg} e MeHg entre 3 e 5 ng L^{-1} .

Estudando a redução de MeHg com NaBH_4 em meio aquoso, Filippelli (1994)⁸⁰ observou, além da formação de Hg^0 , a formação de MeHgH, o qual não é detectado por CV AAS, sendo assim possível determinar somente o Hg_{inorg} .

Puk e Weber (1994)⁴⁹ confirmaram a formação de MeHgH a partir da redução do MeHg com NaBH_4 , entretanto, concluíram que o meio em que ocorre a redução e, principalmente, a concentração do NaBH_4 , são fatores determinantes para a formação de MeHgH.

Dessa forma, alguns autores também observaram a redução direta de MeHg à Hg^0 na redução com NaBH_4 . Río-Segade e Tyson (2003)⁸¹ desenvolveram um método envolvendo redução seletiva apenas com o uso de NaBH_4 em diferentes concentrações. Para a determinação de espécies de Hg em sedimento e amostras

biológicas usaram um sistema FI-CV AAS, após a extração das espécies com HCl ou TMHA. O Hg total foi determinado pela redução com NaBH_4 a 0,75% (m/v) e o Hg_{inorg} foi determinado após a redução com NaBH_4 a 0,0001% (m/v). Nesta condição, o MeHg não é reduzido à Hg^0 .

2.3.2.2. Extração em Fase Sólida

A determinação direta de espécies de Hg em águas e efluentes é bastante complexa, devido, principalmente as baixas concentrações dessas espécies e as possíveis interferências causadas pelos constituintes da matriz. Dessa forma, normalmente, é necessária uma etapa de separação do(s) analito(s) da matriz e/ou sua pré-concentração, simultaneamente. Assim, a extração em fase sólida (SPE) é amplamente utilizada para especiação de Hg.⁷²

O princípio da SPE, similar ao da extração líquido-líquido, envolve a partição de solutos entre duas fases, uma líquida (amostra) e outra sólida (sorbente). Basicamente, a SPE consiste na passagem da amostra através de uma coluna, cartucho, tubo ou disco, o qual contém um adsorvente que retém os analitos. Após a passagem de um volume definido de amostra pela fase sólida, os analitos retidos são removidos através de eluição com um solvente apropriado.²³

A técnica de SPE possui uma série de vantagens sobre a extração líquido-líquido clássica, destacando-se (i) o processamento da amostra de forma simples e rápida, (ii) a possibilidade de pré-concentração de analitos e eliminação de interferências de matriz simultaneamente, (iii) a minimização da geração de resíduos, quando comparada à extração líquido-líquido; (iv) a possibilidade de interfaciamento com técnicas cromatográficas; (v) a redução de tempo e custo de análise.⁶⁶ A técnica de SPE para pré-concentração de espécies de Hg tem sido implementada com sistemas em batelada e sistemas em fluxo.⁸²

Geralmente, os extratores em fase sólida são caracterizados pela imobilização de substâncias orgânicas sobre a superfície de suportes sólidos, os quais podem ser resinas poliméricas, espumas de poliuretano, papel filtro, celulose, resinas de troca iônica e alguns materiais inorgânicos.⁸³ Entre os suportes inorgânicos mais utilizados para imobilizar compostos orgânicos, a sílica gel têm sido

amplamente utilizada, possuindo estabilidades térmica, química e mecânica adequada para esta finalidade.⁸⁴

Os processos de extração e pré-concentração seletivos para cátions metálicos na técnica de SPE são obtidos principalmente pela imobilização de substâncias orgânicas contendo certos átomos doadores, como oxigênio, nitrogênio e enxofre, sobre o suporte sólido. A incorporação de um grupo funcional adequado em uma matriz polimérica normalmente envolve a adsorção de um ligante quelante ou uma ligação covalente do ligante com os grupos $-N=N-$ ou $-CH_2-$ da matriz polimérica.⁸⁵

A incorporação do ligante através de ligação covalente minimiza problemas associados à lixiviação do ligante, particularmente, quando um solvente orgânico é usado para a desorção do analito. Para a pré-concentração de espécies de Hg através de resinas quelantes, o uso de ligantes como cisteína, ditiocarbamato ou ditizona são apropriados, devido a sua seletividade e habilidade em formar quelatos estáveis com espécies de Hg. A eluição do analito desses materiais envolve a quebra de uma ligação covalente entre o átomo doador e o Hg, formada durante a retenção do metal.⁷²

Vários procedimentos *on-line* de SPE para pré-concentração de espécies de Hg têm sido propostos utilizando quelação de espécies de Hg em fase líquida, seguida de adsorção dos quelatos em colunas contendo sílica recoberta com grupos C_{18} ⁸⁶, carvão ativo⁸⁷ e resinas quelantes⁸⁸.

As resinas contendo grupos iminodiacetato, como a Chelex-100 e a Muromac A-1, têm sido utilizadas amplamente para pré-concentração de metais a partir de soluções aquosas, uma vez que os metais são retidos fortemente neste tipo de resina, com cinéticas de sorção favoráveis. Vários modelos comerciais de micro-colunas preenchidas com resinas iminodiacetato são disponíveis, evitando um procedimento de preparação manual de uma coluna de SPE.⁸⁸

Minagawa *et al.* (1980)⁸⁹, usaram uma resina quelante contendo ditiocarbamato imobilizado sobre uma resina vinílica para pré-concentrar Hg_{inorg} e MeHg em águas naturais, usando detecção por CV AAS. Ambas espécies foram retidas com melhor eficiência na faixa de pH 1 a 11 e as espécies foram eluídas com uma solução ácida de tiuréia a 5% (m/v). Com esse sistema, foi alcançado um fator

de enriquecimento da ordem de 600 vezes, com LD de $0,2 \text{ ng L}^{-1}$ para ambas espécies.

Monteiro *et al.* (2001)⁹⁰ desenvolveram um procedimento para quelação de Hg_{inorg} e MeHg com dietilditiofosfato de amônio (DDTP) e pré-concentração em coluna contendo sílica- C_{18} , obtendo um fator de enriquecimento de 20 vezes. A etapa de SPE foi feita em um sistema FI, o qual foi acoplado com CV AAS, obtendo um LD de 10 ng L^{-1} .

Sanz-Medell *et al.* (1994)⁹¹ fizeram um estudo comparativo da performance de três reagentes [dietilditiocarbamato, (DDTC); pirrolidina-1-ditioformato e ditizona] para pré-concentrar Hg_{inorg} e MeHg em água de mar em coluna C_{18} , empregando um sistema FI-CV AAS. Segundo os autores, o carbamato foi mais eficiente do que a ditizona na pré-concentração das espécies de Hg, de modo que usando o DDTC, volumes de 100 mL de amostra podem ser processados com 100% de eficiência de retenção para Hg_{inorg} e MeHg. A eluição quantitativa dos quelatos de DDTC retidos na coluna foi possível com 50 μL de etanol. De acordo com o procedimento proposto, para a pré-concentração de 25 mL de amostra obtiveram um LD de 16 ng L^{-1} e desvio padrão relativo (RSD) de 3,4% para uma solução de Hg com 500 ng L^{-1} .

O uso de microorganismos em SPE também é possível, como mostrado em um método proposto por Câmara *et al.* (1998)⁹², onde um substrato de *Saccharomyces cerevisiae* foi imobilizado sobre sílica-gel. Quando foi processada uma amostra de água do mar contendo Hg_{inorg} e MeHg através da coluna, as espécies foram simultaneamente retidas, com eficiência superior a 95% em uma ampla faixa de pH. A eluição das espécies foi feita seqüencialmente, com HCl $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e CN^- $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ para MeHg e Hg_{inorg} , respectivamente. Com esse sistema obtiveram fatores de enriquecimento da ordem de 15 vezes para MeHg e de 100 vezes para Hg_{inorg} .⁹²

Wang *et al.* (1997)⁹³ utilizaram uma coluna polimérica com quitosana para sorção seletiva de Hg_{inorg} na forma de quelato com EDTA. O procedimento foi aplicado para a especiação de Hg em águas naturais, de modo que somente o Hg_{inorg} era retido na coluna. A concentração de Hg total foi determinada convertendo previamente o Hg orgânico em Hg_{inorg} através de oxidação com KMnO_4 . A concentração de Hg orgânico foi obtida por diferença entre Hg total e Hg_{inorg} .

Diferentemente de outros trabalhos com SPE, a remoção do Hg da resina foi feita através de eluição redutiva, com passagem de solução de KBH_4 a 1% (m/v) em meio ácido, reduzindo o Hg^{2+} a Hg^0 diretamente na resina, com detecção por CV AAS. A faixa de trabalho foi de 30 a 400 ng L^{-1} e o LD obtido para Hg foi de 12 ng L^{-1} , com RSD menor do que 5% (para uma solução contendo 50 ng L^{-1}).⁹³

2.3.2.3. Troca iônica

A troca iônica consiste em um sistema de duas fases em contato (normalmente uma fase sólida e uma fase líquida), no qual ocorre uma troca de íons entre essas fases, até o estabelecimento de um equilíbrio. A fase sólida normalmente é uma resina polimérica contendo grupos funcionais ionizados, como por exemplo, aminas quaternárias, ácidos sulfônicos, ou grupos funcionais ionizáveis, como aminas primárias e secundárias, ou ácidos carboxílicos. A associação do grupo funcional da resina com íons de carga oposta (contra-íons) da fase líquida caracteriza-se por uma interação eletrostática, cuja intensidade depende dos íons envolvidos, do pH da fase líquida, da presença de outros íons em solução, da temperatura e outros fatores. Por definição, a troca de ânions entre as duas fases é denominada troca aniônica e a troca de cátions é denominada troca catiônica.⁹⁴

A complexação de Hg_{inorg} com vários ânions, como SCN^- , CH_3COO^- , I^- , Br^- e, principalmente, Cl^- , levando a formação de complexos aniônicos estáveis, é um fenômeno bastante conhecido e amplamente relatado. Baseado na forte retenção de complexos aniônicos de Hg_{inorg} em resinas de troca aniônica, vários métodos para a separação e/ou pré-concentração de espécies de Hg em estudos de especiação nas mais diversas amostras, têm sido desenvolvidos. Entretanto, espécies orgânicas de Hg, como o MeHg não são retidas em resinas aniônicas, havendo, então, a necessidade de conversão dessas espécies para Hg_{inorg} , o qual pode ser retido na forma de complexos inorgânicos aniônicos. Para a conversão de MeHg em Hg_{inorg} , geralmente utiliza-se oxidantes, como HNO_3 , Cl_2 , O_3 , KMnO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, radiação UV, entre outros.⁹⁴

Grande parte dos trabalhos de especiação de Hg com sistemas de troca

iônica envolvem a formação de clorocomplexos aniônicos com o Hg em meio de HCl. Sua ocorrência é observada em uma ampla faixa de concentração de HCl, de 0,001 a 12 mol L⁻¹, sendo fortemente retidos em resinas aniônicas, como Dowex 1-X8[®] e a IRA 400[®].^{95,96}

Sobre estas resinas, o Hg_{inorg} é provavelmente retido como [HgCl₄]²⁻ e/ou [HHgCl₄]⁻ e as prováveis espécies predominantes são [HgCl₃]⁻, [HgCl₄]²⁻, [HHgCl₄]⁻ e H₂HgCl₄ em concentrações de HCl 0,1 a 0,5; 0,5 a 2; 2 a 4 e 4 a 6 mol L⁻¹, respectivamente. Os clorocomplexos aniônicos de Hg são muito mais fortemente retidos nas resinas aniônicas do que os clorocomplexos de Cd e Zn, de modo que não é possível a eluição de Hg baseada na alteração da concentração de HCl.⁹⁴

Para a determinação do Hg com CV AAS ou outras técnicas, é necessária uma etapa de redução do Hg_{inorg} à Hg⁰ e sua remoção da resina. Um dos eluentes mais comumente utilizados é a tiouréia em concentrações de 0,02 a 0,1 mol L⁻¹ em HCl 0,01 mol L⁻¹.^{97,98}

A tiouréia complexa com o Hg_{inorg}, formando um complexo catiônico muito estável, eluindo completamente o Hg_{inorg} da resina. Outros eluentes utilizados para eluição de Hg_{inorg} incluem HNO₃ 7 mol L⁻¹ e HClO₄ 0,5 mol L⁻¹.^{99,100} Excepcionalmente, a eluição com HCl 5 mol L⁻¹ é possível utilizando uma resina aniônica fracamente básica (a XAD-4[®], por exemplo).¹⁰¹

Alguns trabalhos relatam o uso de eluição redutiva do Hg_{inorg}, baseada na redução do Hg_{inorg} a Hg⁰ através de um redutor apropriado (como o SnCl₂ em meio de HCl), ocorrendo a remoção do Hg⁰ da resina e seu transporte até o sistema de detecção com auxílio de um fluxo de gás inerte.¹⁰²

No caso da utilização de técnicas que possibilitem a detecção de Hg diretamente em amostras sólidas, como INAA, não é necessária a etapa de eluição, pois o Hg_{inorg} pode ser pré-concentrado e sua medição ser feita diretamente na resina, após uma etapa de irradiação da amostra com nêutrons. Este tipo de procedimento tem sido bastante utilizado em trabalhos envolvendo pré-concentração e especiação de Hg.^{57,103}

Becknell *et al.* (1971)¹⁰⁴ desenvolveram um método para a determinação de Hg em águas por INAA usando uma resina trocadora de ânions suportada em papel filtro. A etapa de pré-concentração era feita com a adição prévia de HCl, de modo

que o Hg_{inorg} era pré-concentrado na forma de cloro-complexos aniônicos. O MeHg era previamente decomposto com Cl_2 . Segundo os autores, o Hg era retido na resina com uma eficiência de 100%. Para a detecção por INNA, o próprio disco de papel filtro era irradiado com nêutrons. O método foi aplicado para a determinação de Hg na faixa de concentração de 0,03 a 6,6 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Sanemasa *et al.* (1981)¹⁰² desenvolveram um sistema em batelada para a pré-concentração de Hg_{inorg} em resina trocadora de ânions Dowex 1-X8[®], aplicando o método para a determinação de Hg em águas na faixa de 5 a 50 ng L^{-1} de Hg. Cerca de 200 mg da resina contendo o Hg_{inorg} pré-concentrado era introduzida em um reator contendo SnCl_2 em meio ácido, de modo que o Hg^0 gerado era purgado do reator com um fluxo de N_2 , e a detecção feita por CV AAS. Apesar da simplicidade deste método, a etapa de redução e purga do Hg_{inorg} retido na resina era responsável por grande consumo de tempo (cerca de 6 min).

Wuillound *et al.* (2003)¹⁰⁵ desenvolveram um método para determinação, separação e pré-concentração de Hg_{inorg} e MeHg usando FI-CV AAS. O Hg_{inorg} foi retido em uma coluna contendo resina Dowex 1-X8[®] (50-100 mesh), na forma de um complexo aniônico formado *on-line* com azul de metiltimol em pH 6,3. Para a determinação do Hg total foi feita a oxidação *off-line* do MeHg na amostra, sendo a concentração de MeHg determinada por diferença. A eluição do Hg_{inorg} da resina foi feita com HNO_3 a 3 mol L^{-1} e a detecção por CV AAS, posteriormente à geração de Hg^0 com SnCl_2 a 7% (m/v) e HCl 20% (v/v). Com este sistema, foi possível a pré-concentração de Hg_{inorg} em águas usando vazões de até 15 mL min^{-1} . Para 250 mL de amostra, foi obtido um fator de aumento de 180 e LD de 0,8 ng L^{-1} .

Gomes Neto *et al.* (2000)¹⁰⁶ desenvolveram um sistema FI para a determinação de Hg_{inorg} por CV AAS em amostras agro-industriais usando uma coluna recheada com resina de troca catiônica Chelite-S[®], seguido de uma etapa de eluição redutiva, com SnCl_2 a 10% (m/v) em HCl 6 mol L^{-1} . Segundo os autores, para amostras digeridas contendo Cl^- em concentração superior a 0,1 mol L^{-1} , o Hg não era pré-concentrado na resina catiônica devido à formação de cloro-complexos aniônicos. De modo a contornar este problema, na etapa de decomposição das amostras, foi necessário o uso de KMnO_4 para eliminação do Cl^- como Cl_2 . Usando um tempo de pré-concentração de 120 s, o Hg pode ser determinado em uma faixa

de 50 a 500 ng L⁻¹.

Em um recente trabalho, Sanz *et al.* (2004)⁸³ relataram o desenvolvimento de um sistema *on-line* para separação de Hg_{inorg} e MeHg com troca iônica e detecção por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS). Um volume pré-definido de amostra era inserido no sistema FI e o Hg_{inorg} era retido na resina de troca aniônica na forma de [HgCl₄]²⁻, enquanto o MeHg passava pela coluna sem sofrer retenção, sendo reduzido a MeHgH com HCl 0,1 mol L⁻¹ e NaBH₄ a 0,2% (m/v). A detecção do MeHg era possível através da degradação térmica do MeHgH na cela de quartzo aquecida. Quatro tipos de resinas trocadoras de ânions e sete reagentes para eluição foram testados, sendo escolhidos a resina Dowex M-41[®] e cisteína/HCl para pré-concentração de Hg_{inorg} e sua eluição, respectivamente. Após a eluição do Hg_{inorg}, ocorria sua redução com os mesmos reagentes utilizados para redução do MeHg. Um LD de 0,4 µg L⁻¹ foi obtido para as duas espécies. Este LD é relativamente elevado para determinação de Hg por ETAAS, entretanto o objetivo principal do trabalho, segundo os autores, foi a separação das espécies, de modo que o LD poderia ser melhorado pré-concentrando um volume maior de amostra.

2.3.3. Outras Técnicas Utilizadas para Especificação de Hg

A especificação de Hg fazendo a diferenciação entre Hg total e Hg_{inorg} usando detecção por CV AAS têm sido proposta em diversos trabalhos. Normalmente, a primeira etapa envolve a redução do Hg_{inorg} a Hg⁰, sendo determinado o Hg_{inorg}. Subseqüentemente, as espécies orgânicas de Hg são degradadas *on-line*, sendo convertidas a Hg_{inorg}. Então, após uma etapa de redução à Hg⁰, o Hg total é determinado. A concentração de Hg orgânico é determinada por diferença. A degradação das espécies orgânicas de Hg pode ser feita usando irradiação por microondas na presença de KMnO₄/H₂SO₄¹⁰⁷, K₂S₂O₈⁵², com irradiação UV¹⁰⁸ e por sonicação⁵⁶.

Em outros trabalhos sobre especificação de Hg, foi utilizada a cela de detecção aquecida para atomização de espécies orgânicas de Hg previamente geradas.^{109,110}

Kaercher (2003)¹¹¹ desenvolveu um método para a determinação seletiva de espécies de Hg por CVG AAS, usando, também, NaBH₄ como único agente redutor.

Usando concentração fixa de NaBH₄, o Hg_{inorg} e o MeHg formam Hg⁰ e MeHgH, respectivamente, sendo possível determinar o Hg_{inorg} nesta condição. Em outra alíquota de amostra, com a cela de detecção aquecida a 700 °C, o MeHgH é decomposto, formando Hg⁰, sendo determinado o Hg total nesta condição. Deste modo, a concentração de MeHg era obtida por diferença entre a concentração de Hg total e Hg_{inorg}.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Instrumentação

A análise de especiação de Hg em chorume, envolvendo a separação, pré-concentração e detecção das espécies de Hg foi feita com um sistema de injeção em fluxo acoplado a espectrometria de absorção atômica com geração química de vapor (FI-CVG AAS).

Utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica Analytik Jena Vario 6 (Alemanha), equipado com cela de quartzo em forma de "T" (L = 10 cm, i.d. = 0,8 cm), o qual foi acoplado a um sistema de injeção em fluxo (FI), desenvolvido no próprio laboratório. Como fonte de radiação específica para mercúrio foi utilizada uma lâmpada de cátodo oco (comprimento de onda: 253,7 nm; corrente da lâmpada: 4,0 mA), fenda espectral 0,8 nm e para a correção de fundo foi utilizada uma lâmpada de arco de deutério. As medições para estabelecer as condições de trabalho do sistema foram feitas em área e altura de sinal. Entretanto, para a quantificação das espécies de Hg, as medições foram feitas em área de sinal.

3.1.1. Sistema FI-CVG AAS

O sistema FI-CVG AAS proposto neste trabalho, está representado na Fig. 4. O sistema FI consistiu de uma bomba peristáltica com oito canais (Gilson MiniPlus 3, França), quatro válvulas solenóides de três vias (Cole-Parmer, cat. No. 01367-72),

controladas por um regulador de potência, o qual foi conectado a um computador através da saída paralela.

Utilizou-se dois separadores gás-líquido (SGL₁ e SGL₂), construídos no Laboratório de Hialotecnica do Departamento de Química. O SGL₂ (L = 3 cm; i.d. = 0,7 cm) foi necessário para reter gotículas de água que não foram retidas pelo SGL₁ (L = 10 cm; i.d. = 1 cm). Tubos de Tygon[®] de diversos diâmetros foram utilizados para a propulsão das soluções e o transporte das mesmas foi feito com tubos de PTFE (i.d. = 0,8 mm).

Para a separação e pré-concentração das espécies de Hg, processou-se a amostra previamente acidificada com HCl através da coluna (L = 1,0 cm, i.d. = 3 mm) preenchida com 30 mg de resina de troca aniônica fortemente básica (Dowex 1-X8[®], 200-400 mesh), na qual somente o Hg_{inorg} é retido, na forma de um cloro-complexo aniônico, [HgCl₄]²⁻. O MeHg passa pela resina sem sofrer retenção, sendo posteriormente convertido a MeHgH, o qual é pré-concentrado em uma coluna “preenchida” com uma “tela” de ouro (L = 1cm, i.d. = 3 mm) na forma de amálgama.

Na etapa de eluição, as duas etapas foram eluídas separadamente das colunas. O Hg_{inorg} é removido através da eluição redutiva diretamente na coluna com uma mistura de NaBH₄ e HCl. O vapor de Hg⁰ gerado é separado da solução no SGL₁ e transportado até a cela de quartzo com um fluxo de argônio (99,996% de pureza, AGA, Brasil) como gás carregador. O Hg amalgamado foi dessorvido termicamente da coluna de ouro com uma lâmpada halógena (250 W) à temperatura de cerca de 500 °C, sendo carregado até a cela de quartzo com um fluxo de argônio. Todo o processo de separação, pré-concentração e determinação das espécies de Hg é feito em 164 s, sendo o programa de acionamento das válvulas está mostrado na Tabela 4.

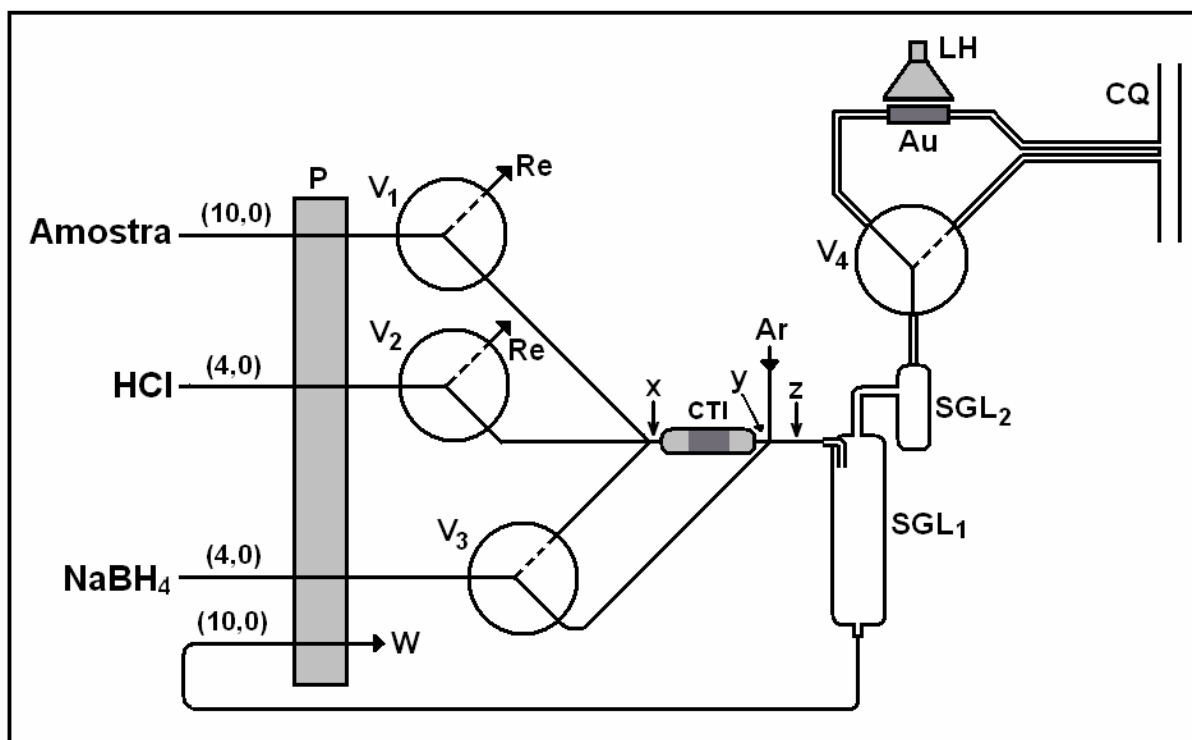


Figura 4 – Sistema FI-CVG AAS. P: bomba peristáltica; V_1, \dots, V_4 : válvulas solenóides de três vias; válvulas: (—) ligada, (---) desligada; CTI: coluna de troca iônica; Ar: fluxo de argônio; SGL₁ e SGL₂: separadores gás-líquido; Au: coluna de Au para amalgamação; LH: lâmpada halógena; CQ: cela de quartzo; Re: recirculação da amostra ou reagente; W: descarte; x: 1 cm; y: 1 cm; z: 10 cm; números entre parênteses: vazões das soluções, em mL min⁻¹.

Tabela 4. Programa de acionamento das válvulas solenóides.

Tempo	Válvula ligada	Ação
0 - 10	V_2	Condicionamento da CTI
11 - 71	V_1, V_4	Separação e pré-concentração do Hg _{inorg} (CTI) e do MeHg (amalgamação)
72 - 82	V_2	Condicionamento da CTI
83 - 123	V_2, V_3	Eluição redutiva do Hg _{inorg} e detecção
124-164	V_4	Dessorção térmica do MeHg e detecção

3.2. Materiais Diversos

Todas as pesagens foram feitas em uma balança eletro mecânica com resolução de 0,0001 g e tara máxima de 245 g Metler Toledo (mod. AG245, Alemanha).

Uma centrífuga Sigma[®] (mod. 3k30, Alemanha) de velocidade variável (freqüência máx. de 16500 rpm) com capacidade para 4 frascos de polipropileno de 40 mL foi utilizada para a separação dos sólidos em suspensão da amostra de chorume.

Um sistema de filtração Millipore (EUA) foi usado para a remoção dos sólidos suspensos presentes na amostra após a centrifugação. As amostras foram filtradas com filtro de poliacetato de celulose de 0,45 µm de diâmetro de poro (diâmetro = 5 cm).

Para decomposição da amostra de chorume para posterior determinação de Hg total, foi empregado um sistema de decomposição pressurizado com aquecimento por irradiação de microondas *Multiwave 3000*[®] (Anton Paar, Áustria) equipado com oito frascos de quartzo de 80 mL de capacidade, temperatura máxima de 280 °C, pressão máxima de 80 bar, com controladores de tempo, temperatura, pressão e potência.

No procedimento de extração das espécies de Hg do sedimento, foi empregado um forno de microondas doméstico Panasonic, modelo NN7809BK.

Toda vidraria utilizada neste trabalho foi descontaminada por imersão em HCl 6 mol L⁻¹ por um período de 24 horas e, posteriormente, enxaguada com água.

3.3. Reagentes

A água utilizada foi previamente destilada e deionizada em uma coluna trocadora de íons e purificada em um sistema Milli-Q[®] (Millipore, EUA). Usou-se H₂O₂ a 30% (m/v) (Merck, Alemanha), ácido nítrico a 65% (m/v), 1,4 kg L⁻¹ (Merck, Alemanha) e ácido clorídrico a 37% (m/v), 1,19 kg L⁻¹ (Merck, Alemanha), os quais

foram bidestilados em sistema de sub-ebulição Milestone (mod. duoPUR[®] 2.01E, Itália).

A solução estoque de Hg_{inorg} (1000 mg L⁻¹) foi preparada a partir de solução Titrisol[®] (Merck, Alemanha) com 1000 ± 0,002 mg L⁻¹ de Hg em HNO₃ a 2% (v/v). A solução estoque contendo 1000 mg L⁻¹ de Hg como MeHg foi preparada a partir da dissolução de CH₃HgCl em metanol e armazenada (por no máximo dois meses) sob refrigeração e protegida da luz. Para preparar soluções de calibração, foram feitas diluições da solução estoque em HCl 0,5 mol L⁻¹.

As soluções do redutor NaBH₄ (Vetec, Brasil) foram preparadas diariamente, em solução de NaOH 0,05% (m/v). Como solução antiespumante, utilizou-se solução de dimeticona (75 mg L⁻¹), a qual foi adicionada à solução de NaBH₄ a uma concentração final de 0,02% (m/v). As soluções de HCl foram preparadas a partir de diluição dos respectivos ácidos concentrados. Os demais reagentes utilizados foram de grau analítico e marca Merck.

Para a separação das espécies de Hg e pré-concentração do Hg_{inorg}, utilizou-se resina aniônica fortemente básica Dowex 1-X8[®], condicionada na forma de Cl⁻, com capacidade de troca de 1,3 mEq g⁻¹ e granulometria de 200-400 mesh. O MeHg foi pré-concentrado usando um tubo de quartzo contendo uma gaze de ouro (L = 10 mm; i.d. = 3 mm), PerkinElmer, Alemanha.

3.4. Ajuste do Sistema FI-CVG AAS

De forma a obter o melhor desempenho do sistema FI-CVG AAS foi necessário ajustar os principais parâmetros que influenciam sobre a separação das espécies de Hg, bem como sua pré-concentração e posterior transporte até o sistema de detecção, para obter condições adequadas para a quantificação dessas espécies, com boa exatidão, precisão e sensibilidade.

3.4.1. Ajuste das Condições para Pré-concentração de Hg_{inorg}

Inicialmente, verificou-se a melhor condição para pré-concentração do Hg_{inorg} na CTI, processando 10 mL de uma solução contendo 500 ng L^{-1} de Hg_{inorg} através da CTI, com variação da vazão desta solução de $2,5$ a 15 mL min^{-1} . Para cada vazão testada, testou-se a influência da concentração de HCl na solução de Hg_{inorg} , em concentrações finais de 0 a 6 mol L^{-1} . O Hg_{inorg} foi eluído através de eluição redutiva com HCl 3 mol L^{-1} (3 mL min^{-1}) e $NaBH_4$ $0,1\%$ m/v (3 mL min^{-1}), com vazão de argônio de $0,1\text{ L min}^{-1}$.

3.4.2. Ajuste das Condições para Eluição do Hg_{inorg}

Após obter as melhores condições para pré-concentração do Hg_{inorg} , variou-se as concentrações e vazões das soluções de HCl e $NaBH_4$ sobre a eluição do Hg_{inorg} , observando-se a relação entre a área e a altura do sinal, de forma a obter um perfil de sinal analítico adequado no menor espaço de tempo possível, evitando-se sinais arrastados. A concentração de HCl foi variada de $0,5$ a 6 mol L^{-1} e a de $NaBH_4$ de $0,05$ a $0,4\%$ m/v. As vazões dos dois reagentes foram variadas de 1 a 6 mL min^{-1} .

3.4.3. Ajuste da Vazão de Argônio Para a Determinação de Hg_{inorg} e MeHg

A vazão do argônio foi variada de $0,05$ a $0,4\text{ L min}^{-1}$, de modo a verificar sua influência sobre os sinais analíticos para o Hg_{inorg} e MeHg.

3.4.4. Ajuste das Condições para Geração e Amalgamação de MeHg

Para verificar os parâmetros que influenciam sobre a intensidade do sinal do Hg (MeHg), processou-se 10 mL de uma solução de 500 ng L^{-1} de Hg como MeHg em HCl $0,5\text{ mol L}^{-1}$, no sistema FI-CVG AAS. Para tal, foi avaliado o perfil do sinal para MeHg, em função da variação das vazões (1 a 6 mL min^{-1}) e concentração do HCl ($0,5$ a 6 mol L^{-1} e do $NaBH_4$ ($0,05$ a $0,4\%$, m/v)

3.4.5. Dessorção Térmica do Hg Amalgamado

A temperatura utilizada para a dessorção térmica do Hg da coluna de amalgamação não foi avaliada, devido à ausência de um sistema adequado para controle de potência da lâmpada halógena. Então, utilizou-se a potência máxima da lâmpada halógena (250 W), sendo que a temperatura média na coluna de amalgamação foi de aproximadamente 500 °C, alcançada em aproximadamente 15 s após seu acionamento.

3.4.6. Capacidade de Retenção de Hg_{inorg} e MeHg

A capacidade de retenção de Hg_{inorg} pela CTI foi verificada através do processamento de 10 mL (vazão de 10 mL min⁻¹) de soluções de referência em concentrações crescentes de Hg_{inorg} em HCl 0,5 mol L⁻¹. A capacidade de retenção de Hg (na forma de MeHgH) pela coluna de amalgamação foi verificada com soluções de referência em concentrações crescentes de MeHg em HCl 0,5 mol L⁻¹.

3.4.7. Capacidade de separação das espécies de Hg e capacidade de adsorção de Hg na CTI e na coluna de amalgamação

Para avaliar a possível interferência de uma espécie de Hg sobre a outra, foram utilizadas soluções de Hg mistas, preparadas em HCl 0,5 mol L⁻¹, fixando-se a concentração de uma espécie e variando-se a concentração da outra da seguinte maneira:

- Interferência sobre o Hg_{inorg}: Solução de Hg_{inorg} de 100 ng L⁻¹ na presença de soluções de 250, 500, 1000 e 1500 ng L⁻¹ de Hg como MeHg.
- Interferência sobre o MeHg: Solução de Hg como MeHg de 100 ng L⁻¹ na presença de soluções de 250, 500, 1000 e 1500 ng L⁻¹ de Hg_{inorg}.

3.5. Tratamento das Amostras

As amostras de chorume foram obtidas em um aterro controlado para resíduos sólidos urbanos. A coleta foi feita em uma das lagoas de estabilização do sistema de tratamento de efluentes do aterro, sendo o chorume amostrado de uma profundidade de cerca de 30 cm. A temperatura média na lagoa no momento da coleta foi de 28 °C. O chorume foi acondicionado em recipientes de vidro borossilicato de cor âmbar, sem sofrer adição de nenhum conservante. As amostras coletadas para estudo foram armazenadas sob refrigeração a 4 °C e sob o abrigo da luz.

3.5.1. Procedimento para Tratamento Preliminar da Amostra

Em razão do elevado teor de sólidos na amostra de chorume, a amostra foi agitada levemente para homogeneização e deixada em repouso por 1 h para separação dos sólidos sedimentáveis. Retirou-se a fração do sobrenadante da amostra para os procedimentos posteriores. Para remoção dos sólidos suspensos do chorume, as amostras foram submetidas a um processo de centrifugação por 10 min a 15000 rpm (26000 g,) em frascos de polipropileno com capacidade de 40 mL.

O sobrenadante foi removido dos frascos e foi submetido ao processo de filtração a 0,45 µm, usando vácuo (pressão < 3 psi), para remoção dos sólidos que permaneceram em suspensão após a centrifugação. A fração sólida obtida nas etapas de centrifugação e na filtração foi considerada como sedimento. Um esquema deste procedimento está mostrado na Fig. 5.

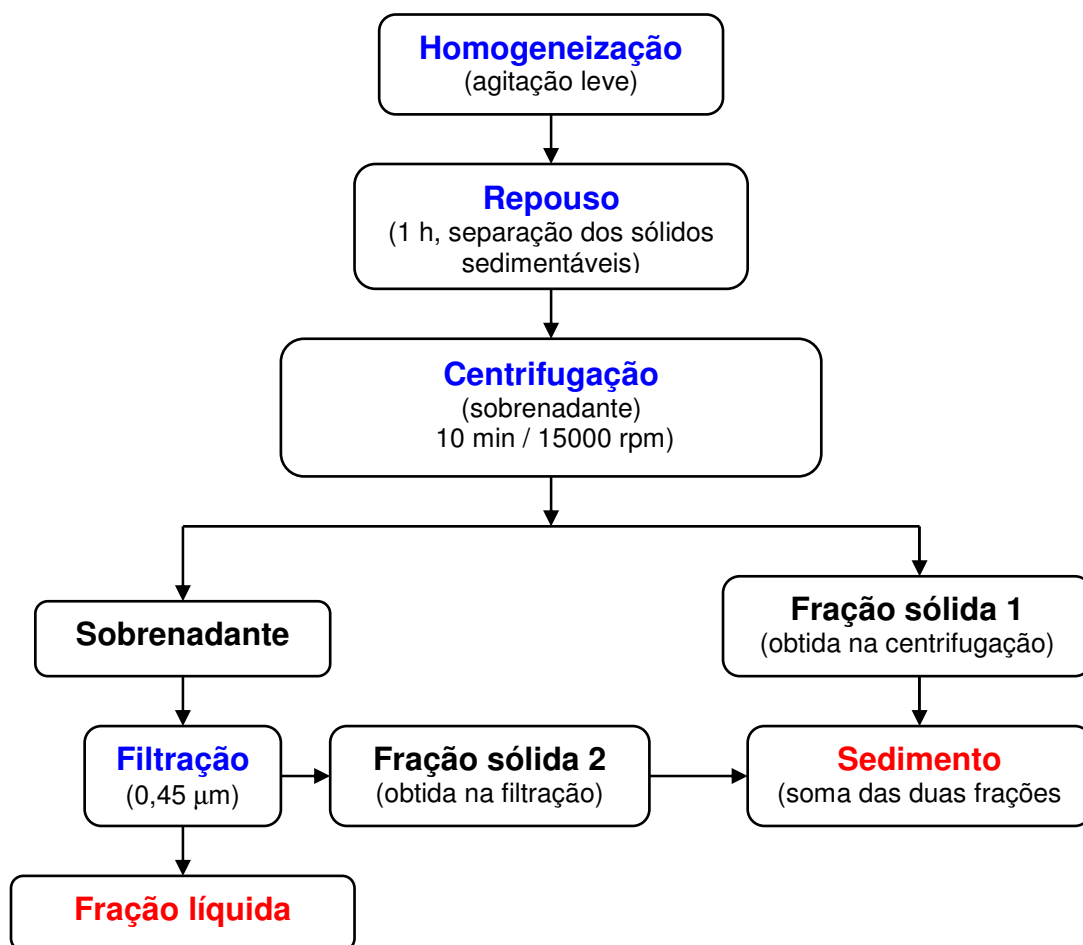


Figura 5. Fluxograma das etapas envolvidas no tratamento preliminar da amostra de chorume.

3.5.2. Caracterização do Chorume

Inicialmente, foi feita uma análise química da amostra de chorume para determinação dos principais componentes de forma a caracterizar a mesma. Primeiramente, foram determinados o pH, sólidos suspensos e sedimentáveis, Cl^- e DQO, segundo metodologias oficiais.²

Para a determinação de outros componentes na amostra filtrada, fez-se a decomposição do chorume em sistema fechado com forno de microondas. Para isso, em alíquotas de 20 mL de amostra adicionou-se 6 mL de HNO_3 e 1 mL de H_2O_2 . Após, a adição dos reagentes, as amostras foram decompostas, aplicando-se o

seguinte programa de tempo e potência da radiação microondas: 10 min a 1000 W + 5 min a 1200 W. Após o arrefecimento dos frascos, o conteúdo dos frascos de decomposição foi transferido para balões volumétricos de 50 mL, aferindo-se a esse volume com água. De acordo com a necessidade, foram feitas diluições subseqüentes desta solução. Estas determinações foram feitas por ICP-MS (ELAN DRC-II[®], PerkinElmer - Sciex, Canadá), empregando as condições recomendadas pelo fabricante.

3.5.3. Determinação de Hg Total no Chorume

A determinação de Hg total no chorume foi feita nas duas frações obtidas após as etapas de centrifugação/filtração (fração líquida e sedimento). Na fração líquida, após o mesmo processo de decomposição descrito no item 3.5.2, fez-se a determinação de Hg total por CV AAS.

O sedimento obtido na centrifugação foi removido do tubo da centrífuga através de adição de 20 mL de HNO₃ 1:1 v/v e agitação leve. O conteúdo foi transferido para o frasco do forno de microondas e submetido ao processo de decomposição descrito no item 3.5.2 e posterior determinação por CV AAS. De forma a avaliar a eficiência do processo de decomposição por microondas, foram adicionados aos frascos de decomposição 50 ng de Hg_{inorg} e 50 ng de Hg como MeHg, a partir das soluções de referência destas espécies. As determinações de Hg total foram feitas por CV AAS.

3.5.4. Análise de Especificação de Hg no Chorume

Após o procedimento de tratamento preliminar do chorume (Item 3.5.1), foi necessária uma etapa posterior de tratamento em ambas as frações obtidas, como descrito a seguir.

Fração líquida – Alíquotas de 25 mL de amostra foram transferidas para frascos de polipropileno de 50 mL, aferindo-se o volume com HCl 2 mol L⁻¹, tendo-se o cuidado de proteger as amostras da incidência direta de luz.

Sedimento – Adicionou-se 10 mL de HCl 6 mol L⁻¹ no próprio tubo da centrífuga, agitando-se lentamente o tubo, de forma a suspender o sedimento na solução de HCl. As amostras de sedimento foram submetidas a um processo de extração nos próprios tubos, com o HCl previamente adicionado. Para esta etapa de extração, fez-se uma etapa de aquecimento com irradiação de microondas utilizando-se forno de microondas doméstico, por um tempo de 3 minutos a 60 W. Após o arrefecimento dos frascos, a solução foi submetida novamente a uma etapa de centrifugação a 15000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi transferido para um frasco de polipropileno de 50 mL e aferido com água. Este procedimento é mostrado no fluxograma da Fig. 6.⁸¹

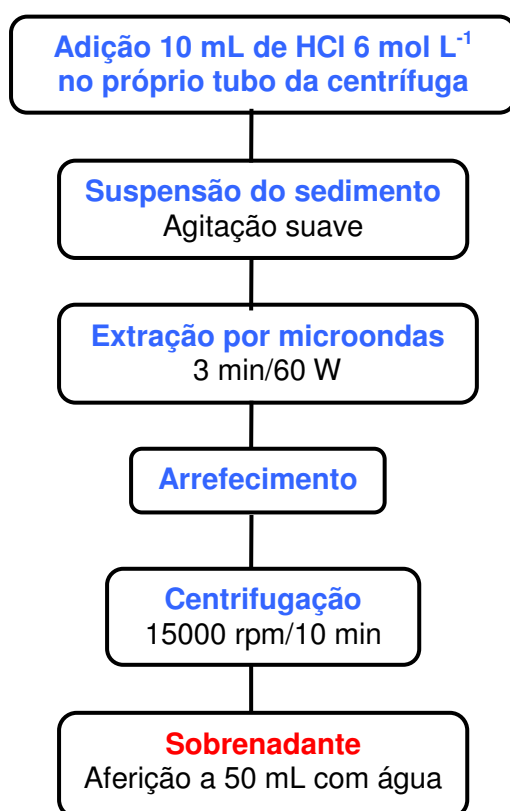


Figura 6. Fluxograma do procedimento de extração de espécies de Hg do sedimento.

Após as etapas de tratamento anteriores, as amostras foram processadas no sistema FI-CVG AAS (Fig. 4), empregando o programa descrito na Tabela 4. Cada amostra foi processada em triplicata. Para calibração do sistema, empregou-se o método de calibração externa, processando as soluções de calibração da mesma forma que as amostras. Foram preparadas soluções de calibração mistas contendo Hg_{inorg} e MeHg em HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Os brancos da calibração e da amostra foram soluções de HCl $0,5$ e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

3.5.5. Validação do Método Proposto para Análise de Especificação de Hg no Chorume

Para a validação do método proposto, empregou-se a adição Hg_{inorg} e MeHg às amostras de chorume. Para isso, as espécies de Hg foram adicionadas na etapa de homogeneização da amostra, de forma a avaliar as etapas subseqüentes do procedimento, como centrifugação, filtração, acidificação e extração (para o sedimento). Para testar a recuperação das espécies de Hg, foram adicionados 20 ng de Hg_{inorg} e 20 ng Hg como MeHg em alíquotas de 35 mL de chorume no tubo utilizado durante a etapa de centrifugação.

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1. Ajuste do Sistema FI-CVG AAS

4.1.1. Condições para Pré-concentração de Hg_{inorg}

O processo de pré-concentração de Hg_{inorg} na CTI foi significativamente influenciado pela concentração de HCl na amostra, sendo necessária uma concentração mínima de 0,1 mol L⁻¹ para a retenção efetiva do Hg_{inorg}. Conforme mostrado na Fig. 6, uma concentração mínima de HCl é necessária para a formação de clorocomplexos com Hg_{inorg}, os quais foram retidos na resina de troca aniônica. Um comportamento semelhante também foi verificado por outros autores.⁸³

Foi observada uma pequena capacidade de retenção do Hg_{inorg} pela resina mesmo em ausência de HCl (cerca de 30%), provavelmente devido ao condicionamento prévio da resina com HCl 3 mol L⁻¹. A pré-concentração de Hg_{inorg} também foi possível em concentrações superiores a 0,1 mol L⁻¹, com uma eficiência de cerca de 100%. Entretanto, apesar de não estar mostrada na Fig. 7, a variação das medidas foi menor em concentrações de HCl superiores a 0,5 mol L⁻¹. Também pode ser observado na Fig. 7 que a vazão não influenciou sobre o processo de pré-concentração quando variada de 2,5 a 15 mL min⁻¹, porém, vazões superiores a 12,5 mL min⁻¹ causaram instabilidade no sistema FI. Dessa forma optou-se por empregar soluções com concentrações finais de HCl na amostra de 0,5 e 1,0 mol L⁻¹ e vazão da solução amostra de 10 mL min⁻¹.

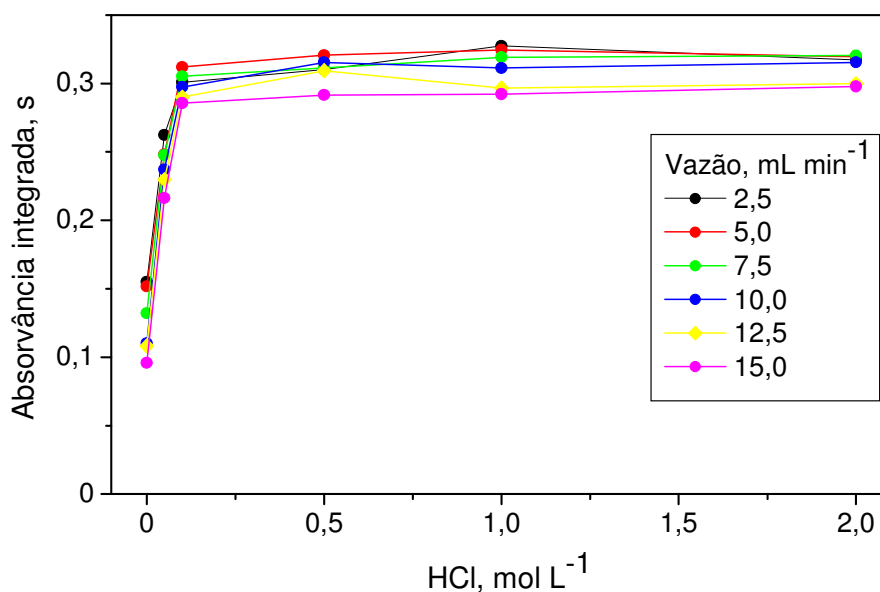


Figura 7. Influência da concentração de HCl e da vazão da solução amostra sobre a intensidade do sinal de Hg. Solução contendo 500 ng L⁻¹ de Hg_{inorg}; HCl 3 mol L⁻¹ a 3 mL min⁻¹; vazão de NaBH₄ 0,1% (m/v): 3 mL min⁻¹; vazão de Ar: 100 mL min⁻¹.

4.1.2. Condições para Eluição do Hg_{inorg}

A retenção de clorocomplexos aniônicos de Hg em resina de troca iônica fortemente básica (Dowex 1-X8[®]) foi bastante eficiente, viabilizando a pré-concentração de Hg_{inorg} mesmo a elevadas vazões da solução amostra (10 mL min⁻¹). Isso pode ser explicado pela forte interação destes complexos com a resina.¹¹² Entretanto, essa forte interação limita o processo de eluição do Hg ao uso de alguns poucos reagentes que tenham grande afinidade pelo Hg²⁺ ou que transformem os clorocomplexos de Hg_{inorg} em outra espécie, reduzindo desta maneira a sua interação com a resina.⁹⁴ Entre os reagentes que apresentam essas propriedades, pode-se destacar a eluição do Hg com solução de L-cisteína⁸³ ou com reagentes redutores, como soluções de SnCl₂/HCl¹⁰².

Para maior simplicidade do sistema proposto, optou-se pela eluição do Hg_{inorg} da CTI através da redução do Hg_{inorg} a Hg⁰ na própria resina e subsequente remoção do vapor gerado com Ar, sendo este processo denominado eluição

reduzida.

Inicialmente, testou-se o processo de eluição redutiva com SnCl_2 em meio de HCl, entretanto, devido à cinética de redução com SnCl_2 ser lenta, este processo de eluição tornou-se muito moroso, necessitando mais de 2 min para a eluição do analito. Isto também foi verificado por outros autores.¹⁰² Além disso, observou-se a formação de um precipitado sobre na CTI, o que causa o entupimento da coluna.

Com o objetivo de tornar o processo de eluição do Hg_{inorg} mais rápido e evitar a formação de material precipitado na coluna, decidiu-se testar a eluição com solução de NaBH_4 na presença de HCl. Verificou-se que a eluição é mais rápida e o perfil do sinal analítico é melhor quando comparado com o obtido quando a eluição é feita com SnCl_2 . Com NaBH_4 é possível eluir o Hg^{2+} em menos de 60 s, enquanto que com o cloreto de estanho é superior a 120 s.

Além da redução do Hg^{2+} , ocorre a geração de H_2 , a qual depende, principalmente, da concentração e vazão da solução redutora e do HCl. Observou-se que com o aumento da concentração ou vazão da solução redutora o desempenho do sistema FI-CVG AAS piora devido ao aumento da pressão interna (isto dificulta o fluxo das soluções no sistema), bem como, há um decréscimo na intensidade (principalmente em altura) do sinal para Hg, provavelmente devido à diluição da nuvem atômica. Assim, a concentração de HCl e de NaBH_4 e suas vazões foram ajustadas de forma a obter a eluição quantitativa do Hg associado com a mínima geração de pressão no sistema e máxima intensidade de sinal.

Cabe ressaltar a boa resistência ao ataque químico da resina Dowex 1-X8[®], o que foi comprovado durante a sua utilização para o ajuste do sistema FI-CVG AAS. Mesmo após um grande número de ciclos ($n > 100$) utilizando eluição redutiva com NaBH_4/HCl em concentrações variadas, a capacidade de retenção de Hg_{inorg} não variou significativamente.

4.1.2.1. Concentração de HCl e NaBH_4

As concentrações de HCl e NaBH_4 foram variadas individualmente até obter uma condição de compromisso entre o perfil de sinal desejado (maior altura de pico e melhor definição) e o tempo de eluição, evitando situações muito drásticas, que

pudessem levar a eluições muito turbulentas. Para avaliar estes parâmetros, os sinais foram registrados em área e altura de pico.

De acordo com a Fig. 8, quanto à influência da concentração de NaBH_4 , foi necessária uma concentração em torno de 0,1% (m/v), pois em concentrações mais baixas, a altura do pico foi menor e o sinal mais arrastado. Porém, em concentrações superiores a 0,2% (m/v) ocorreu uma redução significativa do sinal, tanto em altura como em área (19 e 24%, respectivamente), devido, possivelmente, à maior geração de H_2 e a conseqüente diluição da nuvem atômica na cela de leitura.

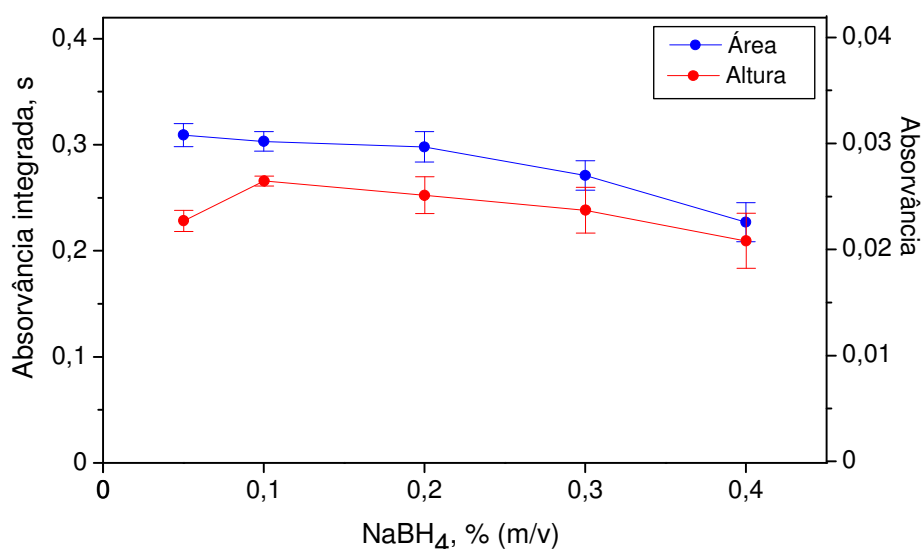


Figura 8. Influência da concentração do NaBH_4 sobre a intensidade do sinal analítico para o Hg_{inorg} . Solução de contendo 500 ng L^{-1} de Hg_{inorg} em $\text{HCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} ; $\text{HCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$ a 3 mL min^{-1} ; vazão de NaBH_4 : 3 mL min^{-1} ; vazão de Ar : 100 mL min^{-1} .

A concentração de HCl também teve influência sobre o processo de eluição como mostrado na Fig. 9, pois a ação redutora do NaBH_4 é dependente do meio ácido. Assim, foi verificado que é necessário o uso de HCl a 3 mol L^{-1} para evitar sinais arrastados, além do possível efeito do HCl na diminuição da interação entre o cloro-complexo aniônico de Hg e a resina, devido ao aumento da acidez e o aumento da concentração de Cl^- ¹¹³. Além disso, foi observado que com concentrações mais elevadas de HCl , também houve um aumento na geração de H_2 e

conseqüentemente maior turbulência no sistema FI-CVG AAS.

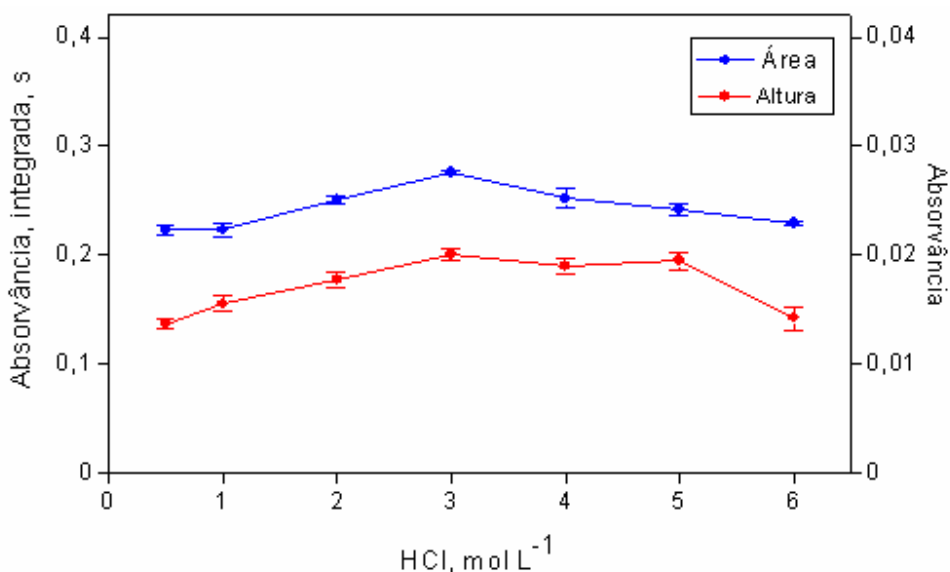


Figura 9. Influência da concentração de HCl na eluição redutiva do Hg_{inorg} . Solução contendo 500 ng L^{-1} de Hg_{inorg} em HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} ; vazão do HCl: 3 mL min^{-1} ; vazão de $NaBH_4$ 0,1% (m/v): 3 mL min^{-1} ; vazão de Ar: 100 mL min^{-1} .

4.1.2.2. Influência da vazão do HCl e $NaBH_4$

As vazões do HCl e do $NaBH_4$ tiveram influência apenas sobre a altura do sinal, o que também está relacionado ao tempo de integração do sinal. Vazões muito baixas resultaram em sinais menos definidos e vazões muito elevadas, causaram turbulência no sistema, com conseqüente aumento da flutuação do sinal analítico (aumentando o RSD). A condição mais adequada, foi com 4 mL min^{-1} para cada reagente da mistura eluente (HCl e $NaBH_4$), como pode ser observado na Fig. 10.

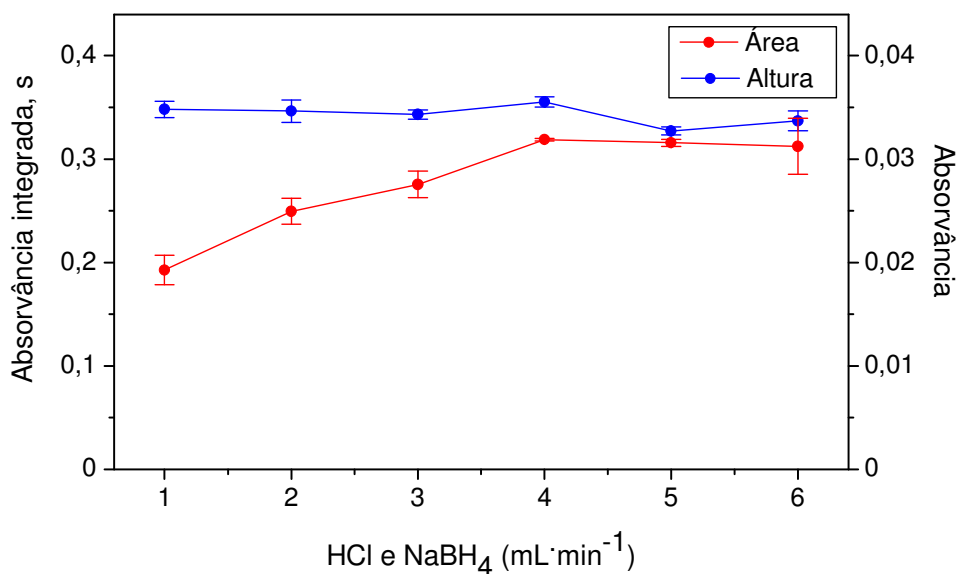


Figura 10. Influência das vazões de HCl e NaBH₄ sobre a intensidade do sinal analítico para Hg_{inorg}. Solução contendo 500 ng L⁻¹ em HCl 0,5 mol L⁻¹ a 10 mL min⁻¹; HCl 3 mol L⁻¹; NaBH₄: 0,1 % (m/v); vazão de Ar: 100 mL min⁻¹.

4.1.2.3. Influência da Vazão de Argônio Sobre o Sinal do Hg_{inorg}

A absorvância integrada e a altura do pico foram significativamente influenciadas pela vazão de argônio (Fig. 11), o qual tem a função de transportar o vapor de Hg⁰ gerado na eluição redutiva até a cela de detecção do espectrômetro. Vazões elevadas de argônio causaram um acentuado decréscimo na intensidade do sinal. Além disso, vazões acima de 200 mL min⁻¹ causaram um arraste de gotículas de água dos separadores SGL₁ e SGL₂ para as partes seguintes do sistema FI-CVG AAS, causando um aumento no sinal de absorção não específica. Entretanto, não se utilizou vazões abaixo de 100 mL min⁻¹ devido ao sinal ser muito arrastado.

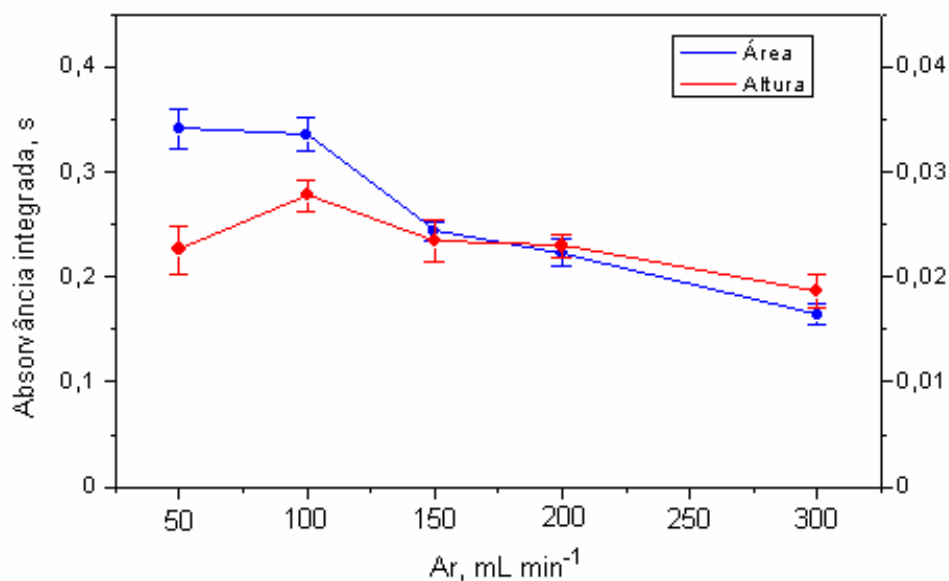


Figura 11. Influência da vazão de Ar sobre a intensidade do sinal analítico para Hg_{inorg} . Solução contendo 500 ng L^{-1} em $HCl\ 0,5\text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} ; HCl : 3 mol L^{-1} a 4 mL min^{-1} ; $NaBH_4$: $0,1\%$ (m/v) a 4 mL min^{-1} .

Após o ajuste destes parâmetros, foi possível a pré-concentração e a eluição quantitativa do Hg_{inorg} e a integração do sinal em 40 s. Um exemplo de sinal típico para o Hg_{inorg} está mostrado na Fig. 12.

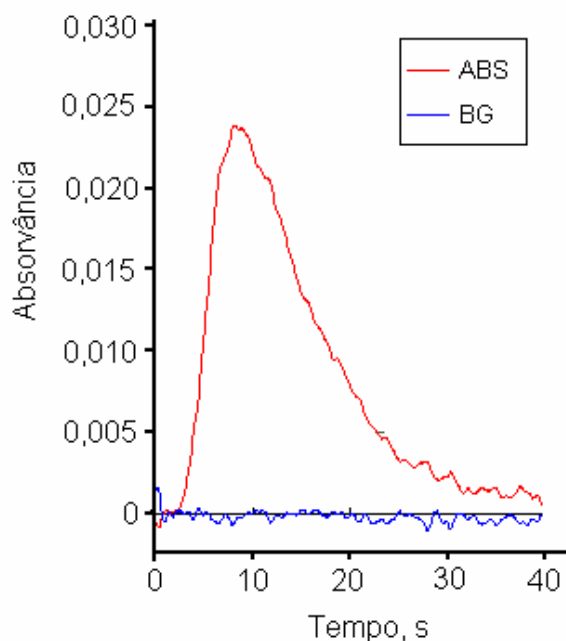


Figura 12. Perfil do sinal de Hg_{inorg} nas condições pré-estabelecidas. Solução contendo de 500 ng L^{-1} de Hg em $HCl\ 0,5\text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} ; HCl : 3 mol L^{-1} a 4 mL min^{-1} ; $NaBH_4$: $0,1\%$ (m/v) a 4 mL min^{-1} ; vazão de Ar: 100 mL min^{-1} .

4.1.3 Condições para a Determinação de MeHg

Subseqüentemente, após a geração do MeHgH (a partir do MeHg), a vazão do argônio e a eficiência do separador gás-líquido são os principais parâmetros que podem influenciar sobre o transporte do vapor.

No sistema FI-CVG AAS proposto, manteve-se a vazão da solução amostra a 10 mL min^{-1} para a pré-concentração do Hg_{inorg} em HCl, já que neste meio o MeHg está na forma neutra, como CH_3HgCl , portanto, não sendo retido na CTI. Além disso, o meio ácido é necessário para facilitar a subseqüente geração de MeHgH com o NaBH_4 (a partir da confluência “y” na Fig. 4). Desta maneira, foi possível usar as mesmas condições para a retenção e geração do Hg_{inorg} e geração do MeHgH, o que tornou o sistema FI-CVG simples e possibilitou a determinação seqüencial de ambas as espécies de Hg em uma mesma alíquota de amostra.

Para avaliar a influência dos parâmetros citados acima sobre a geração do MeHgH, utilizou-se solução contendo 500 ng L^{-1} de Hg (como MeHg) em meio de HCl. Deste modo, inicialmente variou-se a concentração de HCl ($0,5$ a 3 mol L^{-1}) e de NaBH_4 ($0,05$ e $0,3\% \text{ m/v}$) e a vazão ($2,0$ e $6,0 \text{ mL min}^{-1}$) da mistura eluente, respectivamente. Entretanto, não foram observados variações significativas (variação inferior a 5%) sobre a intensidade do sinal de Hg (gerado a partir do MeHgH), significando que há pouca dependência destes parâmetros sobre a geração e retenção do MeHgH na coluna de amalgamação.

Para o transporte do MeHgH até a coluna e posteriormente à cela de detecção, a vazão do argônio foi variada de 50 a 300 mL min^{-1} , onde foi verificado que há pouca influencia sobre a intensidade em área do sinal para o Hg.

Em vazões de argônio acima de 200 mL min^{-1} , juntamente com o MeHg, ocorreu o arraste de gotículas de água do separador gás-líquido (SGL_1) para as partes seguintes do sistema e a condensação dessas gotículas na tubulação entre o separador gás-líquido e a coluna de amalgamação. Isto causou um aumento na flutuação dos sinais de MeHg.

O arraste das gotículas de água para a gaze de Au/Pt prejudica a amalgamação do Hg, sendo, portanto, necessária a introdução de outro separador gás/líquido (SGL_2) entre o SGL_1 e a coluna de amalgamação. A introdução deste separador permitiu a retenção das gotículas de água, evitando assim o uso de

agentes secantes, os quais, em muitos casos, podem reter o próprio Hg (no caso, MeHgH).¹¹⁴

Mesmo com o uso do SGL₂, manteve-se a vazão do argônio a 100 L min⁻¹, utilizando-se assim a mesma vazão de Ar para a determinação de Hg_{inorg} e MeHgH.

Para o processo de amalgamação, utilizou-se uma coluna disponível comercialmente (na forma de gaze de Au/Pt), não sendo necessário verificar a influência de parâmetros, como geometria da coluna ou uso de outros metais para amalgamação. Além disso, a aplicabilidade deste modelo de coluna encontra-se bastante fundamentada na literatura, sendo adequada para a pré-concentração de espécies Hg na forma gasosa.^{115,116}

Durante a retenção do MeHg, a temperatura da coluna de amalgamação foi mantida entre 25 e 50 °C. Uma etapa de resfriamento da coluna com ar comprimido foi necessária após cada processo de dessorção térmica do Hg. O leve aquecimento da coluna a 50 °C ocorreu devido ao aquecimento do sistema após vários ciclos de aquecimento para dessorção do Hg, não sendo observada a redução da eficiência do processo de amalgamação nestas condições.

Baseando-se nos testes descritos acima para geração do MeHgH, optou-se pela utilização de HCl 1,0 mol L⁻¹ (previamente adicionado na amostra) e NaBH₄ 0,1% (m/v) com vazão de 4,0 mL min⁻¹ para ambas as soluções. Dessa forma, essas condições são iguais às usadas para a pré-concentração e eluição redutiva do Hg_{inorg}, o que também implicou em tornar o sistema FI-CVG AAS bem mais simples. Foi possível, então, a operação das etapas de separação/pré-concentração e eluição/dessorção de ambas as espécies, com o uso de apenas quatro válvulas solenóides para conduzir a amostra, o HCl, o NaBH₄ e o vapor de Hg no sistema.

4.1.4. Dessorção Térmica do Hg amalgamado

Após a etapa de amalgamação do MeHgH, foi necessário aquecer a coluna de amalgamação para a dessorção do Hg para posterior medição do Hg⁰ formado. O aquecimento da coluna foi feito com uma única lâmpada halógena, ao invés do emprego de duas lâmpadas¹¹⁷ ou aquecimento eletrotérmico usados em trabalhos similares¹¹⁸, sendo necessário aproximadamente 500 °C para a completa dessorção

do Hg.

A vazão do argônio também exerceu efeito sobre o perfil do sinal analítico, de modo que vazões superiores a 200 mL min^{-1} causam diminuição da área do sinal. De modo a obter melhor sensibilidade com melhor perfil do sinal, utilizou-se vazão de argônio de 100 mL min^{-1} .

Segundo as condições estabelecidas para dessorção térmica do Hg, foi necessário um tempo de integração de 40 s do sinal analítico, após o acionamento da lâmpada halógena. Em média, o tempo de integração à meia-altura do sinal foi de 11 s. Um perfil característico para o MeHg pode ser observado na Fig. 13.

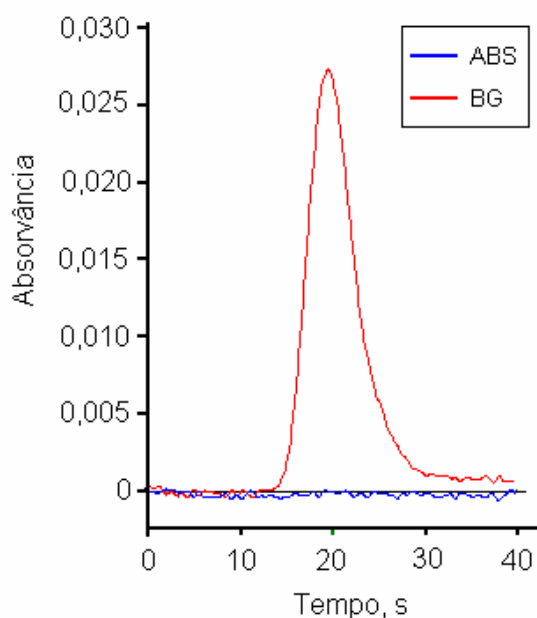


Figura 13. Perfil do sinal obtido a partir do MeHg, após a dessorção térmica. Condições: Amostra: 10 mL de solução contendo 500 ng L^{-1} de Hg (na forma de MeHg) em $\text{HCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} ; Ar: 100 mL min^{-1} ; temperatura de dessorção térmica: $500 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.1.5. Capacidade de Retenção de Hg_{inorg} e MeHg na CTI e na Coluna de Amalgamação

A capacidade de retenção de Hg_{inorg} e MeHg nas respectivas colunas foi avaliada aumentando-se a quantidade do analito submetido a cada coluna. Isto foi

avaliado aumentando-se o volume de solução contendo 500 ng L^{-1} de Hg, onde se verificou que há uma relação linear entre a massa de Hg e o sinal até 20 ng e 25 ng de Hg_{inorg} e MeHg, respectivamente.

4.1.6 Influência de uma Espécie de Hg Sobre a Outra no Processo de Separação

Para avaliar a influência de uma espécie de Hg sobre a outra, inicialmente fixou-se a concentração de Hg_{inorg} em 100 ng L^{-1} e aumentou-se a concentração de MeHg até 1500 ng L^{-1} , mantendo-se constante a concentração de HCl a $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Na Fig. 14 pode ser observada a variação do sinal analítico para ambas espécies, onde pode-se verificar a eficiência do processo de separação das espécies de Hg, confirmando a não-retenção de MeHg na CTI, estando de acordo com outros trabalhos¹³ onde foi utilizada a mesma resina (Dowex 1-X8[®]) para a separação de Hg_{inorg} e MeHg.

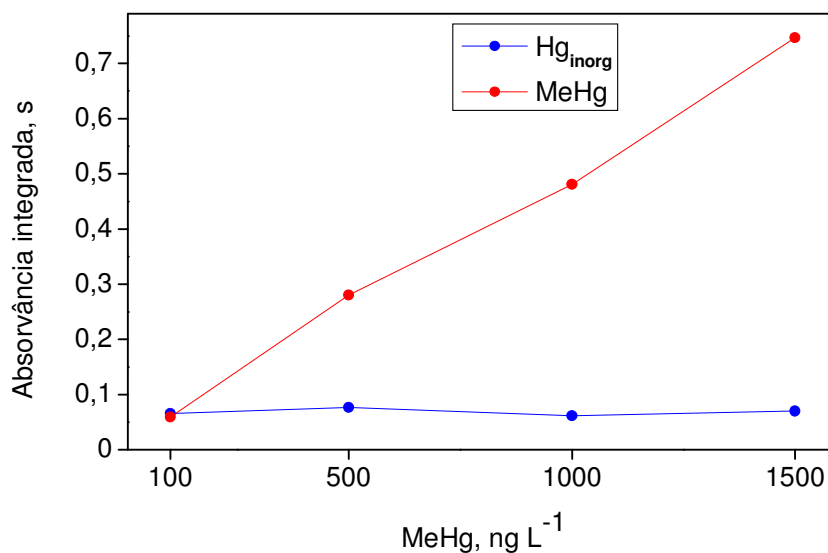


Figura 14. Influência da concentração de MeHg sobre a separação/pré-concentração de Hg_{inorg} . Solução contendo 100 ng L^{-1} de Hg_{inorg} a 10 mL min^{-1} ; HCl: 3 mol L^{-1} a 4 mL min^{-1} ; NaBH_4 : $0,1\%$ (m/v) a 4 mL min^{-1} ; vazão de Ar: 100 mL min^{-1} .

O mesmo teste foi feito em relação ao MeHg, mantendo-se fixa a concentração de MeHg (100 ng L^{-1}) e aumentando-se a concentração de Hg_{inorg} (de 100 a 1500 ng L^{-1}). Conforme pode ser observado na Fig. 15, também foi possível a separação adequada das espécies nestas condições. Entretanto, pode-se afirmar que a condição limite para a separação destas espécies de Hg com o sistema proposto é a saturação da capacidade da CTI de reter de Hg_{inorg} , o que ocorre com quantidades superiores a 40 ng ou através da retenção de outros íons (presentes na matriz) pela CTI. Para as condições investigadas, não foram observados estes problemas.

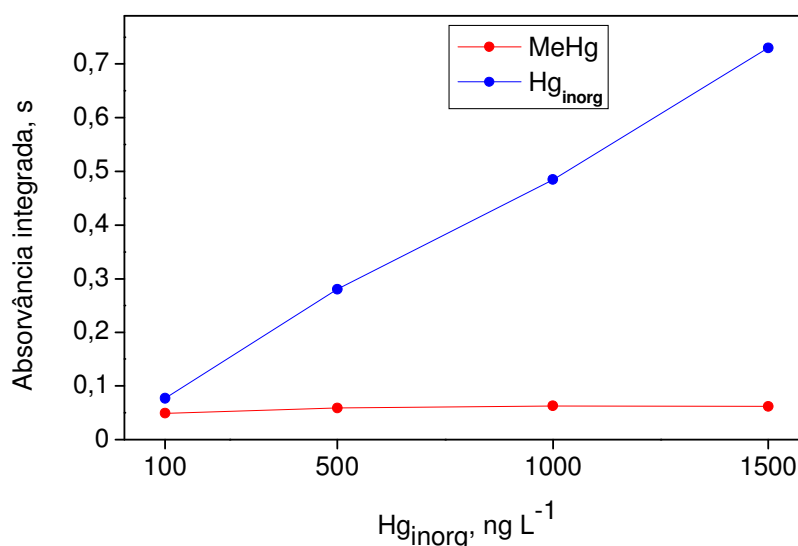


Figura 15. Influência da concentração de Hg_{inorg} sobre a separação/pré-concentração do MeHg. Solução contendo 100 ng L^{-1} de Hg como MeHg em $\text{HCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} ; $\text{HCl}: 3 \text{ mol L}^{-1}$ a 4 mL min^{-1} ; $\text{NaBH}_4: 0,1\% \text{ (m/v)}$ a 4 mL min^{-1} ; vazão de Ar: 100 mL min^{-1} .

4.1.7. Condições Estabelecidas para o Sistema FI-CVG AAS

Após estabelecer os parâmetros que influenciam na performance do sistema FI-CVG AAS, estabeleceram-se as condições adequadas para a separação, pré-concentração e quantificação das espécies de Hg em chorume, as quais estão resumidas na Tabela 5.

Tabela 5. Condições estabelecidas para a separação/pré-concentração de Hg_{inorg} e MeHg com o sistema FI-CVG AAS.

Parâmetro	Condição
Concentração de HCl na amostra, mol L ⁻¹	1,0
Concentração de HCl, mol L ⁻¹ ^a	3
Concentração de NaBH ₄ , % (m/v) ^b	0,1
Vazão da amostra, mL min ⁻¹	10
Vazão de HCl e NaBH ₄ , mL min ⁻¹	4 (HCl) e 4 (NaBH ₄)
Vazão de argônio, mL min ⁻¹	100
Temperatura de dessorção térmica (MeHg), °C	~ 500
Tempo de pré-concentração, s	60
Tempo de integração do sinal, s	40 s
Frequência de determinação, h ⁻¹	20
Massa característica, ng	
Hg_{inorg}	79
MeHg	85
Faixa de trabalho para Hg_{inorg} e MeHg, ng L ⁻¹	50 – 1500
Limite de detecção, ng L ^{-1c}	
Hg_{inorg}	12
MeHg	9
Equações da calibração linear ^d	
Hg_{inorg}	$Y = 0,00051.X - 0,0013$
MeHg	$Y = 0,00042.X + 0,0071$
Coeficientes de correlação linear para, r	
Hg_{inorg}	0,998
MeHg	0,995
Desvio-padrão relativo (Hg_{inorg} e MeHg), %	< 4

^a Condicionamento da CTI e eluição do Hg_{inorg} ;

^b Geração do MeHgH e eluição do Hg_{inorg} ;

^c Calculado de acordo com as recomendações da IUPAC;

^d Y: absorvância integrada (s); X: s (ng L⁻¹)⁻¹

Dessa forma, foi possível o desenvolvimento do sistema FI-CVG AAS caracterizado pela relativa simplicidade, possibilitando as etapas de separação, pré-concentração, eluição com o uso de apenas quatro válvulas solenóides para direcionamento das soluções e do Ar, assim como o transporte do Hg até a cela de leitura.

Em razão das concentrações relativamente baixas de Hg_{inorg} e MeHg no chorume, as condições analíticas estabelecidas, como a eficiência de separação das espécies e sua pré-concentração, faixas de trabalho, LD's e RSD's, foram suficientes. Além disso, para uma alíquota de amostra, é possível efetuar todas as etapas em um espaço de tempo relativamente baixo (164 s).

4.2. Determinação de Hg_{inorg} e MeHg em Chorume

4.2.1. Procedimento para Tratamento Preliminar da Amostra

Devido ao elevado teor de sólidos em suspensão no chorume, foi necessária uma etapa de separação da fração líquida dos sólidos em suspensão, pois a introdução da amostra contendo material particulado no sistema FI-CVG AAS causaria o entupimento da CTI. Além disso, foram consideradas as recomendações de compêndios oficiais sobre a análise físico-química de amostras desta natureza. Isto é, os métodos publicados em compêndios oficiais para a quantificação de metais pesados em águas e efluentes, fazem referência à necessidade de filtração, caracterizando a fração líquida como aquela submetida a um processo de filtração a $0,45 \mu m$ (diâmetro de poro).¹¹⁹

Entretanto, para o procedimento de filtração do chorume, de forma a evitar a saturação do filtro, foi necessária uma etapa preliminar de centrifugação, o que também é recomendado para efluentes contendo elevado teor de sólidos em suspensão. Cabe ressaltar, que no programa utilizado, usou-se a maior frequência de rotação possível para o modelo de centrífuga utilizado. O tempo de centrifugação foi ajustado de modo a ocorrer a separação da maior quantidade de sólidos possível. Entretanto, com períodos de centrifugação superiores a 10 min não foram observadas diferenças no aumento de massa na fração sólida.

Após a etapa de centrifugação, a fração líquida foi submetida ao processo de filtração a $0,45 \mu m$. Obteve-se, então, uma fração líquida e uma fração sólida obtida na etapa de centrifugação, a qual foi considerada como sedimento.

A quantidade de sedimento no chorume foi obtida a partir da centrifugação, secando-se a fração sólida a $100 \text{ }^\circ C$ até peso constante. Em média a concentração

de sólidos suspensos é de 340 mg L^{-1} . Cabe ressaltar, que o sedimento é constituído, em sua maioria, por material coloidal orgânico, com baixo teor de constituintes inorgânicos. O material retido no filtro de $0,45 \mu\text{m}$ não foi considerado uma vez que a massa de sólidos retida no filtro foi desprezível (aproximadamente 2% do total).

4.2.2. Caracterização do Chorume

Devido à matriz do chorume ser muito complexa, fez-se uma análise físico-química para sua caracterização. As determinações de Cl^- e de outros elementos foram feitas na solução filtrada a $0,45 \mu\text{m}$ e após a etapa de decomposição, conforme o item 3.5.2. Os parâmetros determinados estão relacionados na Tabela 6.

Tabela 6. Características físico-químicas do chorume usado neste trabalho.

Parâmetro	Valor obtido ^a
pH	7,9
Sólidos suspensos, mg L^{-1}	340
DQO, $\text{mg L}^{-1} \text{O}_2$	2485
Cl^-	708
Mn	0,84
Fe	9,96
Al	0,41
Cu	0,03
Cr	0,23
Ni	0,14
Zn	0,39
Cd	0,001
As	0,02
Se	0,007

^a Concentrações para os metais e não-metais em mg L^{-1}

4.2.3. Determinação de Hg Total em Chorume

A concentração de Hg total, usando CV AAS, foi determinada na fração líquida e no sedimento após a etapa de decomposição, conforme descrito no item 3.5.3. Os resultados estão mostrados na Tabela 7. Para a verificação da eficiência da decomposição e determinação do Hg, fez-se teste de adição de Hg_{inorg} e MeHg na amostra de chorume.

Tabela 7. Resultados obtidos na determinação de Hg total em chorume, empregando CV AAS. Os valores correspondem à média e o desvio-padrão para 3 replicatas.

Amostra "in natura"	Recuperação, % ^a		
	Hg total	Hg _{inorg}	MeHg
Fração líquida	289 ± 7 ng L ⁻¹	101	103
Sedimento	727 ± 12 ng g ⁻¹	99	102

^a Adição de 50 ng de Hg_{inorg} e 50 ng de MeHg.

Conforme mostrado na Tabela 7, obteve-se recuperações quantitativas, tanto para Hg_{inorg} e MeHg, comprovando a eficiência da decomposição, principalmente quanto à degradação do MeHg, usando a mistura de HNO₃ e H₂O₂. Isto também foi observado em outros trabalhos, onde foi necessária a degradação prévia do MeHg para a determinação de Hg total em amostras ambientais diversas.^{120,121}

4.2.4 Análise de Especificação de Hg no Chorume

As concentrações de Hg_{inorg} e MeHg foram determinadas na fração líquida e no sedimento, porém, após a obtenção das duas frações, foram necessários os procedimentos descritos no item 5.3.4 para condicionar as amostras antes do processamento no sistema FI-CVG AAS. A validação dos procedimentos foi feita através de testes de recuperação de Hg_{inorg} e MeHg, tendo-se em vista que não há material de referência certificado de chorume disponível.

4.2.4.1. Análise de especiação de Hg na Fração Líquida

A diluição da amostra com HCl até uma concentração final de 1 mol L^{-1} foi necessária para a complexação do Hg_{inorg} com o Cl^- , tornando possível a separação do Hg_{inorg} e do MeHg , conforme mostrado na Fig. 16. Não foi possível o uso de concentrações finais de HCl superiores a $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, devido à coagulação da matéria orgânica e a subsequente precipitação dos ácidos húmicos presentes no chorume¹²².

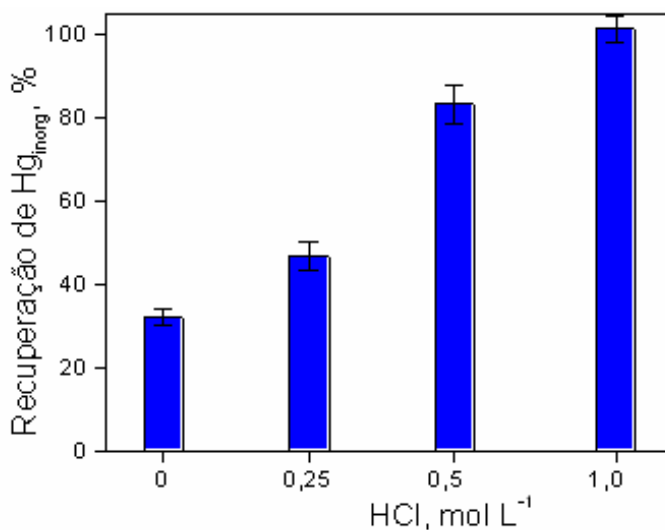


Figura 16. Recuperação de Hg_{inorg} em função da concentração de HCl na amostra.

4.2.4.2. Análise de Especiação de Hg no Sedimento

No sedimento foi necessário o uso de um procedimento de extração que não causasse a degradação ou a transformação de espécies de Hg no chorume. Neste caso, adaptou-se o procedimento de extração desenvolvido por outros autores, para a especiação de Hg.⁸¹

A extração com $\text{HCl } 6 \text{ mol L}^{-1}$ e aquecimento com microondas foi aplicada ao sedimento úmido no próprio tubo de polipropileno utilizado na etapa de centrifugação, de forma a minimizar problemas como contaminação ou perda dos analitos. Após a etapa de extração submeteu-se as alíquotas novamente à uma etapa de centrifugação ($15000 \text{ rpm}/10 \text{ min}$) para a separação da solução do sedimento, não sendo necessária a etapa de filtração. Os extratos foram transferidos

para frascos de polipropileno de 50 mL e aferidos com água, de modo que a concentração final de HCl fosse de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

Após os procedimentos de preparação das amostras foi possível o processamento das amostras no sistema FI-CVG AAS e a quantificação de Hg_{inorg} e MeHg na fração aquosa e no sedimento. As concentrações de Hg_{inorg} e MeHg determinadas na fração líquida e no sedimento estão mostrados na Tabela 8.

Tabela 8. Determinação de Hg_{inorg} e MeHg nas frações do chorume com o sistema FI-CVG AAS. Os valores representam a média e o desvio padrão de três medições.

Espécie de Hg	Fração líquida, ng L^{-1}	Sedimento, ng g^{-1}
Hg_{inorg}	213 ± 6	472 ± 9
MeHg	61 ± 2	217 ± 4
$\text{Hg}_{\text{inorg}} + \text{MeHg}$	274 ± 6	689 ± 10

No Brasil, a Legislação vigente sobre o limite máximo de Hg em efluentes refere-se apenas à concentração de Hg total, especificando um limite de $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Conforme pode ser observado na Tabela 8, a soma das espécies de Hg_{inorg} e MeHg e a determinação de Hg total na Tabela 7, a concentração de Hg determinada na fração líquida do chorume está abaixo do limite estabelecido pela Legislação.¹²³

Entretanto, para as amostras de sedimento, a concentração de Hg total (Tabela 7) e as concentrações de Hg_{inorg} e MeHg (Tabela 8) são relativamente elevadas, mostrando que a maior parte do Hg no chorume *in natura* está presente no sedimento. Valores semelhantes aos mostrados nas Tabelas 7 e 8 para o sedimento também foram confirmadas por outros autores, em amostras similares.⁹⁰

4.2.5. Validação do Método Proposto para Análise de Especificação de Hg em Chorume

Para validação do método proposto, fez-se testes de adição de analito (20 ng de Hg_{inorg} e 20 ng de Hg, como MeHg) em alíquotas de 35 mL de chorume diretamente no tubo da centrífuga. Os resultados obtidos com o método proposto estão mostrados na Tabela 9.

Tabela 9. Validação do método proposto com o teste de recuperação de Hg_{inorg} e MeHg no chorume.* Os valores representam a média e o desvio padrão de três medidas.

	Massa de Hg determinada, ng	Massa de Hg adicionada, ng	Massa total, ng	Recuperação, %
Hg_{inorg}	15,7 ± 0,7	20	34,9 ± 1,8	98
MeHg	5,4 ± 0,3	20	26,9 ± 1,5	106

* Massas de Hg, em ng, em alíquota de 35 mL do chorume.

Apesar do uso de materiais de referência certificados ser mais apropriado para a validação de métodos, não há disponibilidade de amostras de chorume ou efluentes com as concentrações de Hg certificadas. Dessa forma, optou-se pela utilização de testes de adição de analito, já que também não havia outro método de especificação de Hg disponível para teste de comparação de métodos.

As recuperações obtidas para Hg_{inorg} e MeHg foram adequadas, mesmo tratando-se de concentrações relativamente baixas em uma matriz complexa. Entretanto, não foi possível a verificação da interconversão das espécies de Hg durante as várias etapas envolvidas.

5. CONCLUSÕES

O sistema FI-CVG AAS desenvolvido neste trabalho foi adequado para separação e pré-concentração de Hg_{inorg} e MeHg, possibilitando a análise de especiação de Hg em chorume.

Com o ajuste dos principais parâmetros que têm influência sobre o sistema FI, obteve-se uma faixa de trabalho de 50 a 1500 $ng\ L^{-1}$ para Hg_{inorg} e MeHg, com LD's de 12 e 9 $ng\ L^{-1}$ (1 min de pré-concentração a 10 $mL\ min^{-1}$) respectivamente. Melhores LD's podem ser obtidos aumentando o volume de amostra processada.

Os procedimentos para obtenção das frações líquida e sedimento (centrifugação e filtração) envolvem poucas etapas e são relativamente rápidos. Além disso, a acidificação das amostras para introdução no sistema FI-CVG AAS foi necessária para ocorrer a separação e a pré-concentração das espécies de Hg.

No processo de extração para o sedimento utilizando irradiação por microondas, obteve-se boas recuperações para ambas as espécies de Hg nos testes de recuperação, de modo que não foram observadas perdas de analito ou degradação das espécies de Hg durante a etapa de extração.

Apesar da indisponibilidade de materiais de referência certificados para amostras de chorume, foi possível a validação do método com adição de analito de modo que as recuperações dos testes de adição de 20 ng de Hg de cada espécie (Hg_{inorg} e MeHg) variaram de 97 a 106 %.

O sistema FI-CVG AAS é caracterizado pela fácil implementação (uso de apenas quatro válvulas) e simplicidade (eluição redutiva), usando apenas HCl e $NaBH_4$ como reagentes. Portanto, o método proposto é adequado para a análise de especiação de Hg em chorume, com boa exatidão, precisão (RSD < 4%) e robustez, apesar da grande complexidade da matriz da amostra.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AZEVEDO, F.A. "*Toxicologia do Mercúrio*". RiMa Editora, São Carlos, Brasil, 2003, 274 p..
2. HOUSECROFT, C.E.; SHARPE, A.G. "*Inorganic Chemistry*". Ed. Pearson Education Limited, 1st ed., 2001.
3. International Programme on Chemical Safety (IPCS), Chemical Environmental Health Criteria: Mercury, EHC 86, 1989.
4. CRAIG, P. J. "*Organometallic Compounds in the Environment*". John Wiley & Sons, 2nd Ed., Guildford, UK, 2003, 398 p..
5. International Programme on Chemical Safety (IPCS). "*Chemical Environmental Health Criteria: Mercury - environmental aspects*". EHC 118, 1991.
6. MICARONI, R.C.C.M., BUENO, M.I.M.S., JARDIM, W.F. "Compostos de mercúrio: Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte", *Quim. Nova*, 23 (2000) 487-495.
7. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR), U.S. Department of Health and Human Services. "*Toxicological profile for mercury*". EUA, 1999. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.html> (acessado em dezembro / 2004).
8. MELAMED, R.; VILLAS BOAS, R.C.. "Application of physico-chemical amendments for the counteraction of mercury pollution". *Sci. Tot. Environ.* 261 (2000), 203-209.
9. International Programme on Chemical Safety (IPCS), "*Chemical Environmental Health Criteria: Mercury*", EHC 86, 1989.
10. KOTNIK, J; HORVAT, M; JEREB, V. "Modelling of mercury geochemical cycle in Lake Velenje, Slovenia". *Environ. Modell. Soft.* 17 (2002) 593-611.
11. IRGOLIC, K.J; MARTELL, A.E. "*Environmental inorganic chemistry*". Ed. VHC

- Publishers, 1st ed., 1985.
12. TURNER A.; MILLWARD G.E.; Le ROUX S.M. "Sediment-Water Partitioning of Inorganic Mercury in Estuaries". *Environ. Sci. Technol.* 35 (2001) 4648-4654.
 13. CHRISTENSEN T.H.; KJELDSEN P.; BJERG P.L.; JENSEN D.L.; CHRISTENSEN J.B.; BAUN A. "Biogeochemistry of landfill leachate plumes". *Appl. Geochem.* 16 (2001) 659-718.
 14. SLACK R.J.; GRONOW J.; VULVULIS N. "Household hazardous waste in municipal landfills: contaminants in leachate". *Sci. Tot. Environ.* 337 (2005) 119-137.
 15. GOUNARIS V.; ANDERSON P.R.; HOLSEN T.M. "Characteristics and environmental significance of colloids in landfill leachate". *Environ. Sci. Tech.* 27, 7 (1993) 1381-387.
 16. KJELDSEN P.; BARLAZ M.A.; ROOKER A.P.; BAUN A.; LEDIN A.; CHRISTENSEN T.H. "Present and long-term composition of MSW landfill leachate: a review". *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 32 (2002) 297-336.
 17. KRASNODEBSKA-OSTREGA, B.; GOLIMOWSKI, J. "Element fractionation in suspended matter in landfill leachate using single extractions". *Microchim. Acta* 146 (2004) 7-11.
 18. COMPEAU, C.G.; BARTHA, R. "Sulfate-reducing bacteria: principal methylators of mercury in anoxic estuarine sediment". *Appl. Environ. Microbiol.* 50 (1985) 498-502.
 19. JONES C.J.; MCGUGAN P.J. "Evaporation of mercury from domestic waste leachate". *J. Hazard Mater.* 2 (1978) 253-258.
 20. LINDBERG, S.E.; WALLSCHLAGER, D.; PRESTBO, E.M.; BLOOM, N.S.; PRICE, J.; REINHART, D. "Methylated mercury species in municipal waste landfill gas sampled in Florida, USA". *At. Environ.* 35 (2001) 4011-4015.
 21. BAUN D.L.; CHRISTENSEN T.H. "Speciation of heavy metals in landfill leachate: a review". *Waste Man. Res.* 22, 1 (2004) 3-23.
 22. KOT, A.; NAMIESNĚIK, J. "The role of speciation in analytical chemistry". *Trends Anal. Chem.* 19, 2-3 (2000), 69-79.
 23. EBDON, L.; PITTS, L; CORNELIS, R.; CREWS, H.; DONARD, O.F.X.; QUEVAUVILLER, Ph. "*Trace Element Speciation for Environment, Food and Health*", Ed. Royal Society of Chemistry, 1st ed., 2001.
 24. URIA, J.E.S.; SANZ-MEDEL, A. "Inorganic and methylmercury speciation in environmental samples". *Talanta* 47 (1998) 509-524.
 25. LEERMAKERS, M.; BAEYENS, W.; QUEVAUVILLER, P.; HORVAT, M.. "Mercury in environmental samples: Speciation, artifacts and validation". *Trends Anal. Chem.* 24 (2005) 383-393.

26. DAS, A.K.; DE LA GUARDIA, M.; CERVERA, M.L. "Literature survey of on-line elemental speciation in aqueous solutions". *Talanta* 55 (2001) 1-28.
27. PARKER, J.L.; BLOOM, N.S. "Preservation and storage techniques for low-level aqueous mercury speciation". *Sci. Tot. Environ.* 337 (2005) 253-263.
28. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, "Mercury Preservation Techniques". disponível em <http://www.epa.gov/esd/factsheets/mpt.pdf> (acessado em 03/2005).
29. WURL, O.; ELSHOLZ, O.; EBINGHAUS, R. "Flow system device for the on-line determination of total mercury in seawater". *Talanta* 52 (2000) 51-57.
30. LEERMAKERS, M.; LANSENS, P.; BAEYENS, W. "Storage and stability of inorganic and methylmercury solutions". *Fresenius J. Anal. Chem.* 336 (1990) 655-662.
31. WATRAS, C.; HACKABEE, J. "Mercury Pollution Integration and Synthesis". Boca Raton, FL, USA, (1994), 541-552. in: PARKER, J. L.; BLOOM, N. S. "Preservation and storage techniques for low-level aqueous mercury speciation". *Sci. Tot. Environ.* 337 (2005) 253-263.
32. FELDMAN, C. "Preservation of dilute mercury solutions". *Anal. Chem.* 46 (1974) 99-102.
33. ARIZA, J.L.G.; MORALES, E.; SANCHEZ-RODAS, D. "Stability of chemical species in environmental matrices". *Trends Anal. Chem.*, 19 (2000) 200-209.
34. CAROLI S.; FORTE G.; IAMICELI A.L. "Stability of Mercury Dilute Aqueous Solutions: An Open Issue". *Microchem. J.* 54 (1996) 418-428.
35. CHRISTMANN, D. R.; INGLE, J.D. Jr. "Problems with sub-ppb mercury determinations – preservation of standards and prevention of water mist interferences". *Anal. Chim. Acta* 86 (1976), 53-62.
36. PARKER, J.L.; BLOOM, N.S. "Preservation and storage techniques for low-level aqueous mercury speciation". *Sci. Tot. Environ.* 337 (2005) 253-263.
37. KAISER, G.; GÖTZ, D.; SCHOCH, P.; TOLG, G. "Emission spectrometric element determination in nano and pictogram region after volatilization of elements in gas plasmas induced with microwaves. 1. Extremely strong mercury determination in aqueous-solutions, air, organic and inorganic matrices". *Talanta* 22 (1975) 889-899.
38. KULDVERE, A. "Indirect determination of iodine by cold vapor atomic-absorption spectrometry utilizing the interfering effect of iodine against mercury. 1. General study and application to the determination of iodine in seaweed". *Analyst* 107 (1982) 1343-1349.
39. MUHAYA, B.B.M.; LEERMAKERS, M.; BAEYENS, W. "Influence of sediment

- preservation on total mercury and methylmercury analyses". *Water Air Soil Pollut.* 107 (1998) 277-288.
40. CLEVINGER, W. L.; SMITH, B. W.; WINEFORDNER, J. D. "Trace determination of mercury: a review". *Crit. Rev. Anal. Chem.* 27 (1997) 1-26.
 41. CARRO-DIAZ, A. M.; LORENZO-FERREIRA, R. A.; CALA-TORRIJOS, R. "Capillary electrophoresis of methylmercury with injection by sample stacking". *J. Chromatogr. A.*, 730 (1996) 345-351.
 42. JONES P.; HARDY, S. "Development of a capillary electrophoretic method for the separation and determination of trace inorganic and organomercury species utilizing the formation of highly absorbing water soluble dithizone sulphonate complexes". *J. Chromatogr. A* 765 (1997) 345-352.
 43. MELAMED, R.; VILLAS BOAS, R.C. "Application of physico-chemical amendments for the counteraction of mercury pollution". *Sci. Tot. Environ.* 261 (2000), 203-209.
 44. MORITA, H.; TANAKA, H.; SHINOMURA, S. "Atomic fluorescence spectrometry of mercury: principles and developments". *Spectrochim. Acta Part B* 50 (1995) 69-84.
 45. WELZ, B., SPERLING, M. "*Atomic Absorption Spectrometry*". Ed. VCH, 3th ed, Weinheim, Germany, 1999.
 46. ROBINSON, J.W.; SKELLY, E. M. "The direct determination of mercury in hair by atomic-absorption spectroscopy at the 184.9 nm resonance line". *Spectrosc. Lett.* 14 (1981) 519-551.
 47. HATCH, W. R.; OTT, W. L. "Determination of sub-microgram quantities of mercury by atomic absorption spectrometry". *Anal. Chem.* 40 (1968) 2085.
 48. TOFFALETTI, J.; SAVORY, J. "Use of sodium borohydride for determination of total mercury in urine by atomic-absorption spectrometry". *Anal. Chem.* 47 (1975) 2091-2095.
 49. PUK, R.; WEBER, J.H. "Determination of mercury (II), monomethylmercury cation, dimethylmercury and diethylmercury by hydride generation, cryogenic trapping and atomic absorption spectrometric detection". *Anal. Chim. Acta* 292 (1994) 175-183.
 50. RÍO-SEGADE, S.; BENDICHO, C. "Selective reduction method for separated determination of inorganic and total mercury in mussel by flow-injection cold vapour technique". *Ecotox. Environ. Safe.* 42 (1999) 245-252.
 51. MAGOS, L., "Selective atomic-absorption determination of inorganic mercury and methylmercury in undigested biological samples", *Analyst* 96 (1971) 847-853
 52. PSZONICKI, K.; SKWARA, W.; DUDEK, J. "Interference effects and their

- elimination by standard addition method and successive dilution method at the mercury determination by continuous-flow cold vapor atomic-absorption spectrometry". *Chem. Anal.* 39 (1994) 205-215.
53. SZMYD, E.; BARANOWSKA, I. "Elimination of interferences from Cu, Pb, Pt, Pd e Se in the determination of mercury by CV AAS using sodium tetrahydroborate (III) reduction in copper concentrates". *Fresen. J. Anal. Chem.* 350 (1994) 178-180.
 54. HOROWITZ, A.J.; LUM, K. R.; GARBARINO, J.R.; HALL, G.E.M.; LEMIEUX, C.; DEMAS, C.R. "Problems Associated with using filtration to define dissolved trace element concentrations in natural water samples". *Environ. Sci. Technol.* 30 (1996) 954-963.
 55. BAEYENS, W.; MONTENY, F. LEERMAKERS, L.; BOUILLON, S. "Evaluation of sequential extractions on dry and wet sediments". *Anal. Bioanal. Chem.* 376 (2003) 890-901.
 56. CAPELO, J.L.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. "Room temperature sonolysis-based advanced oxidation process for degradation of organomercurials: Application to determination of inorganic and total mercury in waters by flow injection-cold vapor atomic absorption spectrometry". *Anal. Chem.* 72 (2000) 4979-4984.
 57. CANARIO, J.; ANTUNES, P.; LAVRADO, J.; VALE, C. "Simple method for monomethylmercury determination in estuarine sediments". *Trends Anal. Chem.* 23 (2004) 799-806.
 58. TSENG, C. M.; DIEGO, A., MARTIN, F.M.; AMOUROUX, D.; DONARD, O. F. X. "Rapid determination of inorganic mercury and methylmercury in biological reference materials by hydride generation, cryofocusing, atomic absorption spectrometry after open focused microwave-assisted alkaline digestion". *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 743-750.
 59. HORVAT, M.; BLOOM, N.S.; LIANG, L. "Comparison of distillation with other current isolation methods for the determination of methylmercury compounds in low-level environmental samples.1. Sediments". *Anal. Chim. Acta*, 281 (1993), 135-152.
 60. WESTOO, G. "Determination of methylmercury compounds in foodstuffs: Methylmercury compounds in fish identification and determination". *Acta Chem. Scand.* 20 (1966) 2131-2137.
 61. GERBERSMANN, C.; HEISTERKAMP, M.; ADAMS, F. C.; BROEKAERT, J. A. C. "Two methods for the speciation analysis of mercury in fish involving microwave-assisted digestion and gas chromatography atomic emission spectrometry". *Anal. Chim. Acta* 350 (1997) 273-285.
 62. GAONA, X.; VALIENTE, M. "Stability study on a Westoo-based methodology to determine organomercury compounds in polluted soil samples". *Anal. Chim. Acta* 480 (2003), 219-230.

63. LEERMAKERS, M.; NGUYEN, H.L.; KURUNCZI, S.; VANNESTE, B.; GALLETI, S.; BAEYENS, W. "Determination of methylmercury in environmental samples using static headspace gas chromatography and atomic fluorescence detection after aqueous phase ethylation". *Anal. Bioanal. Chem.* 377 (2003) 327-333.
64. NAGASE, H.; OSE, Y.; SATO, T.; ISHIKAWA, T.; MITANI, K. "Differential determination of alkylmercury and inorganic mercury in river sediment" *Int. J. Envir. Anal. Chem.* 7 (1980) 261-271.
65. QUEVAUVILLER, P. "Improvement of quality control of speciation analysis using hyphenated techniques - A decade of progress within the European Community". *J. Chromatogr. A*, 750 (1996) 25-33.
66. VAZQUEZ, M.J.; CARRO, A.M.; LORENZO, R.A.; CELA, R. "Optimization of methylmercury microwave-assisted extraction from aquatic sediments". *Anal. Chem.* 69 (1997) 221-225.
67. BAEYENS, W.; LEERMAKERS, M.; MOLINA, R.; HOLSBEEK, L.; JOIRIS, C.; "Investigation of headspace and solvent extraction methods for the determination of dimethyl- and monomethylmercury in environmental matrices". *Chemosph.* 7 (1999) 1107-1117.
68. HAMMERSCHMIDT, C.R.; FITZGERALD, W.F. "Formation of artifact methylmercury during extraction from a sediment reference material". *Anal. Chem.* 73 (2001) 5930-5936.
69. RODRIGUEZ MARTIN-DOIMEADIOS; R.C., MONPERRUS, M.; KRUPP, E.; AMOUROUX, D.; DONARD, O. F. X. "Using Speciated Isotope Dilution with GC-Inductively Coupled Plasma MS To Determine and Unravel the Artificial Formation of Monomethylmercury in Certified Reference Sediments". *Anal. Chem.* 75 (2003) 3202-3211.
70. LORENZO, R.; VAZQUEZ, M.; CARRO, A.; CELA, R. "Methylmercury extraction from aquatic sediments: A comparison between manual, supercritical fluid and microwave-assisted techniques". *Trends Anal. Chem.* 18 (1999) 410-416.
71. BAIONA, J. M. "Supercritical fluid extraction in speciation studies". *Trends Anal. Chem.* 19 (2000) 107-112.
72. LISKA, I. "Fifty years of solid-phase extraction in water analysis-historical development and overview". *J. Chromatogr. A* 885 (2000) 3-16.
73. NOBREGA, J.A., TREVIZAN, L.C., ARAUJO, G.C.L., NOGUEIRA A.R.A., "Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation", *Spectrochim. Acta. Part B* 57 (2002) 1855-1876.
74. JONES P.; HARDY, S. "Development of a capillary electrophoretic method for the separation and determination of trace inorganic and organomercury species utilizing the formation of highly absorbing water soluble dithizone sulphonate complexes". *J. Chromatogr. A* 765 (1997) 345-352.

75. CAI, Y. "Speciation and analysis of mercury, arsenic, and selenium by atomic fluorescence spectrometry". *Trends Anal. Chem.* 2000, 19 (2000) 62-66.
76. WELZ, B. "Speciation analysis. The future of atomic absorption spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 413-417.
77. REZENDE, M. C. R.; CAMPOS, R. C.; CURTIUS, A. J. "Speciation of mercury in fish samples by solvent extraction, methyl-mercury reduction directly in the organic medium and cold vapour atomic absorption spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.* 8 (1993) 247-251.
78. GOULDEN, P.D.; ANTHONY, D.H.J. "Chemical speciation of mercury in natural waters". *Anal. Chim. Acta* 120 (1980) 129-139.
79. ODA, C.E.; INGLE J.D. "Speciation of mercury by cold vapor atomic absorption spectrometry with selective reduction". *Anal. Chem.* 53 (1981) 2305-2309.
80. FILIPPELLI, M. "Methylmercury determination by purge and trap-GC-FTIR-AAS after NaBH₄ derivatization of an environmental thiosulfate extract". *Appl. Organomet. Chem.* 8 (1994) 687-691.
81. 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". *Spectrochim. Acta Part B* 58 (2003) 797-807.
82. LIU, Y.W.; CHANG, X.J.; YANG, D.; GUO, Y.; MENG, S.M. "Highly selective determination of inorganic mercury(II) after preconcentration with Hg(II)-imprinted diazoaminobenzene-vinylpyridine copolymers". *Anal. Chim. Acta* 538 (2005) 85-91.
83. SANZ, J.; RAPOSO, J.C.; LARRETA, J.; MARTINEZ-ARKARAZO, I.; DE DIEGO, A.; MADARIAGA, J.M. "On-line separation for the speciation of mercury in natural waters by flow injection-cold vapour-atomic absorption spectrometry". *J. Sep. Sci.*, 27 (2004) 1202-1210.
84. SOLIMAN, E.M.; SALEH, M.B.; AHMED, S.A. "New solid phase extractors for selective separation and preconcentration of mercury(II) based on silica gel immobilized aliphatic amines 2-thiophenecarboxaldehyde Schiff's bases". *Anal. Chim. Acta* 523 (2004) 133-140.
85. MAHMOUD, M.E.; EL-ESSAWI, M.M.; KHOLEIF, S.A.; FATHALLA, E.M.I. "Aspects of surface modification, structure characterization, thermal stability and metal selectivity properties of silica gel phases-immobilized-amine derivatives". *Anal. Chim. Acta* 525 (2004) 123-132.
86. SANCHEZ, D.M.; MARTIN, R.; MORANTE, R.; MARIN, J.; MUNUERA, M.L. "Preconcentration speciation method for mercury compounds in water samples using solid phase extraction followed by reversed phase high performance liquid chromatography". *Talanta* 52 (2000) 671-679.

87. PERANIEMI, S.; HANNONEN, S.; MUSTALAHTI, H.; AHLGREN, M. "Zirconium-loaded activated-charcoal as an adsorbent for arsenic, selenium and mercury". *Fresen. J. Anal. Chem.* 349 (1994) 510-515.
88. BRAVO-SANCHEZ, L.R.; DE LA RIVA, B.S.; COSTA-FERNANDEZ, J.M.; PEREIRO, R.; SANZ-MEDEL, A. "Determination of lead and mercury in sea water by preconcentration in a flow injection system followed by atomic absorption spectrometry detection". *Talanta* 55 (2001) 1071-1078.
89. MINAGAWA, K.; TAKIZAWA, Y.; KIFUNE, I. "Determination of very low levels of inorganic and organic mercury in natural waters by cold-vapor atomic absorption spectrometry after pre-concentration on a chelating resin". *Anal. Chim. Acta* 115 (1980) 103-110.
90. MONTEIRO, A.C.P.; ANDRADE, L.S.N.; CAMPOS, R.C. "Online mercury and methylmercury pre-concentration by adsorption of their dithiophosphoric acid diacyl ester chelates on a C column and cold-vapor atomic-absorption detection". *Fresen. J. Anal. Chem.* 371 (2001) 353-357.
91. SANZ-MEDEL, A.; GARCIA, M.F.; GARCIA, R.P.; GARCIA, N.B. "On-line preconcentration of inorganic mercury and methylmercury in sea-water by sorbent extraction and total mercury determination by cold vapor atomic absorption spectrometry". *Talanta* 41 (1994) 1833-1839.
92. CAMARA, C.; PEREZ-CORONA, T.; MADRID-ALBAMIN, Y.; BECEIRO, E. "Living organisms as an alternative to hyphenated techniques for metal speciation. Evaluation of baker's yeast immobilized on silica gel for Hg speciation". *Spectrochim. Acta Part B* 53 (1998) 321-329.
93. WANG, M.L.; HUANG, G.Q.; QIAN, S.H.; JIANG, J.S.; WAN, Y.T.; CHAN, Y.K. "A novel preconcentration technique using crosslinked chitosan for the determination of mercury by CVAAS". *Fresen. J. Anal. Chem.* 358 (1997) 856-858.
94. KORKISCH, J. "*Handbook of Ion Exchange Resins: Their Application to Inorganic Analytical Chemistry*". Vol. IV, Ed. CRC, 1st ed., 1989.
95. CHLECHET, P.; ESCHALIER, G.; RAMPON, C.; VALLOUY, C. "Trace analysis for mercury in water by X-ray fluorescence after concentration on ion exchange paper". *Analisis* 5 (1977) 366.
96. MANDAL, S.; DAS, A.K. "Application of an anion exchange resin to the determination of trace mercury in mineral waters by cold vapor atomic absorption spectrometry". *At. Spectrosc.* 3(1982) 56.
97. ANAND, S.J.S. "Determination of mercury in food by neutron activation". *Radiochem. Radioanal. Lett.*, 27 (1976) 313.
98. GUPTA, C.B.; TANDON, S.N. "Ion-exchange behavior of mercury(II) in mixed solvents: separation from zinc(II), cadmium(II), gold(III) and thallium(III)". *Sep. Sci.* 7 (1972) 513-525.

99. HUSAIN, S.W.; CHARANDABI, M.D. "Anion-exchange behavior of several elements in systems containing formic acid". *Talanta* 22 (1975) 601.
100. KIESL, W. "Determination of trace elements in meteorites by activation analysis. I. Selenium, arsenic, antimony, tin and mercury". *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 227 (1967) 13.
101. GJERDE, D.T.; FRITZ, J.S. "Chromatographic separation of metal ions on macroreticular anion-exchange resins of a low capacity". *J. Chromatogr.* 188 (1980) 391-399.
102. SANEMASA, I.; TAKAGI, E.; DEGUCHI, T.; NAGAI, H. "Preconcentration of inorganic mercury with a anion exchange resin and direct reduction-aeration measurements by cold vapor atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta* 130 (1981) 149-156.
103. LIN, X.L.; HENKELMANN, R. "Contents of arsenic, mercury and other trace elements in Napoleon's hair determined by INAA using the k(0)-method". *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 257 (2003) 615-620.
104. BECKNELL, D.E.; MARSH, R. H.; ALLIE, W. "Use of Anion Exchange Resin-Loaded Paper in the Determination of Trace Mercury in Water by Neutron Activation Analysis". *Anal. Chem.* 43 (1971) 1230-1233.
105. MARTINEZ, L. D.; WUILLOUD, J.C.A.; WUILLOUD, R. G.; OLSINAA, R. A., "Separation and preconcentration of inorganic and organomercury species in water samples using a selective reagent and an anion exchange resin and determination by flow injection-cold vapor atomic absorption spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.* 17 (2002) 389-394.
106. NETO, J.A.G.; ZARA, L. F.; ROCHA, J.C.; SANTOS, A.; DAKUZAKU, C.S. NÓBREGA, J.A. "Determination of mercury in agroindustrial samples by flow-injection cold vapor atomic absorption spectrometry using ion exchange and reductive elution". *Talanta* 51 (2000) 587-594.
107. HANNA, C.P.; TYSON, J.F., MCINTOSH, S., "Determination of total mercury in waters and urine by flow injection atomic absorption spectrometry procedures involving on-line and off-line oxidation of organomercury species". *Anal. Chem.* 65 (1993) 653-656.
108. BAGHERI, H.; GHOLAMI, A. "Determination of very low levels of dissolved mercury(II) and methylmercury in river waters by continuous flow with on-line UV decomposition and cold-vapor atomic fluorescence spectrometry after pre-concentration on a silica gel-2-mercaptopbenzimidazol sorbent". *Talanta* 55 (2001) 1141-1150.
109. DRESSLER, V.L.; KAERCHER, L.E.; GOLDSCHMIDT F.; PANIZ, J.N.G.; FLORES, E.M.M. "Determination of inorganic and total mercury by vapor generation atomic absorption spectrometry using different temperatures of the measurement cell". *Spectrochimica Acta Part B*, 60 (2005) 705-710.

110. TORRES, D.P.; PEREIRA, M.A.; RIBEIRO A.S.; CURTIUS A.J.; "Determination of inorganic and total mercury in biological samples treated with tetramethylammonium hydroxide by cold vapor atomic absorption spectrometry using different temperatures in the quartz cell". *J. Anal. At. Spectrom* 20 (2005) 289-294.
111. KAERCHER, L.E. "Sistema para a determinação seletiva de espécies de mercúrio em amostras biológicas" *Programa de Pós-Graduação em Química*, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, 2003.
112. BECKER, N.S.C.; ELDRIDGE, R.J. "Selective recovery of mercury(II) from industrial wastewaters. II. Anion exchange of Hg(II) chlorocomplexes". *React. Polym.* 22 (1994) 131-138.
113. MARCUS, Y.; ELIEZER, I. "The anion exchange of metal complexes – XII – The cadmium and mercury – halide systems". *J. Inorg. Nucl. Chem.* 25 (1963) 867-874.
114. CORNS, W.T.; EBDON, L.; HILL, S.J.; STOCKWELL, P.B. "Effects of moisture on the cold vapor determination of mercury and its removal by use of membrane dryer tubes". *Analyst* 117 (1992) 717-719.
115. BAEYENS, W.; LEERMAKERS, M. "Determination of metallic mercury and some organomercury compounds using atomic absorption spectrometry after amalgamation on a gold column". *J. Anal. At. Spectrom.* 4 (1989) 635-640.
116. FITZGERALD, W.F.; GILL, G.A. "Sub-nanogram determination of mercury by 2-stage gold amalgamation and gas-phase detection applied to atmospheric analysis". *Anal. Chem.* 51 (1979) 1714-1720.
117. WURL, O.; ELSHOLZ, O.; EBINGHAUS, R. "Flow system device for the on-line determination of total mercury in seawater". *Talanta* 52 (2000) 51–57.
118. BRUHN, C.G.; RODRIGUEZ, A.A.; BARRIOS, C. "Determination of total mercury in scalp hair of humans by gold amalgamation cold vapor atomic absorption spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.* 9 (1994) 535-541.
119. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. "*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*". APHA, AWWA, WEF; 19th ed. Baltimore, Maryland, USA, 1995.
120. NGUYEN, T.H.; BOMAN, J.; LEERMAKERS, M.; BAEYENS, W. "Mercury analysis in environmental samples by EDXRF and CV-AAS". *Fresen. J. Anal. Chem.* 360 (1998) 199-204.
121. TSENG, C.M.; DIEGO, A.D.; PINALY, H.; AMOUROUX, D.; DONARD, O.F.X. "Open focused microwave-assisted sample preparation for rapid total and mercury species determination in environmental solid samples". *J. Aut. Chem.* 20 (1998) 99-108.

122. BAUN D.L.; CHRISTENSEN T.H. "Speciation of heavy metals in landfill leachate: a review". *Waste Man. Res.* 22, 1 (2004) 3-23.
123. BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução N° 357 / 2005.