



Dissertação de Mestrado

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SISTEMA EM
FLUXO PARA ESPECIAÇÃO DE MERCÚRIO**

Greice Iop Tavares

PPGQ

Santa Maria, RS – Brasil

2007

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SISTEMA EM FLUXO PARA
ESPECIAÇÃO DE MERCÚRIO**

por

GREICE IOP TAVARES

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Química**.

Orientador: Prof. Dr. Valderi L. Dressler

Santa Maria, RS, Brasil

2007

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

A comissão examinadora abaixo assinada aprova a Dissertação de Mestrado:

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SISTEMA EM FLUXO PARA
ESPECIAÇÃO DE MERCÚRIO**

Elaborada por
Greice Iop Tavares

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Valderi L. Dressler
UFSM

Prof. Dr. José Neri G. Paniz
UFSM

Prof^a. Dra. Ana Paula F. Saidelles
Unipampa

Santa Maria, 29 de janeiro de 2007

AGRADECIMENTOS

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

Ao Prof. Dr. **Valderi L. Dressler**, pela oportunidade de realização deste trabalho, orientação durante o mestrado e iniciação científica e pelas inúmeras contribuições feitas para o meu crescimento profissional.

À Prof^a. Dra. **Ana Paula F. Saidelles**, pelo aceite e participação como banca examinadora e pelas sugestões feitas para o aprimoramento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **José Neri G. Paniz**, por suas sugestões como banca de qualificação e como banca examinadora, e por suas contribuições com o desenvolvimento do presente trabalho.

Ao Prof. Msc. **Julio C. Matos**, por suas sugestões como banca de qualificação e por suas contribuições para o meu crescimento científico, fica a minha admiração.

Ao Prof. Dr. **Érico M. M. Flores**, pela oportunidade e contribuição com a execução deste trabalho.

Aos demais colegas do Setor de Química Industrial e Ambiental e do LATER, meu muito obrigado pelas contribuições na realização do presente trabalho e pelo incentivo e companheirismo, em especial aos colegas e ex-colegas, os quais se tornaram meus grandes amigos: Adriane, Gabriela, Frederico, Ricardo, Daniel, Marcelo, Luiz, Eliane, Ticiane, Márcio, Diego e Janaína.

Aos demais amigos e colegas do curso de Química Industrial, pelo companheirismo, apoio e bons momentos, em especial a Pati e PC.

Aos amigos do LEO Clube, cujo apoio e incentivo foram determinantes para a continuidade deste trabalho nos momentos difíceis, especialmente ao meu namorado Vinícius, meu grande amor.

Aos colegas e amigos da UNIPAMPA, pela ajuda ao final das correções e pela próspera amizade.

À minha família, em especial aos meus pais **Oswaldo** e **Janete**, que foram a razão do meu esforço, pela compreensão com a minha ausência durante o decorrer deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Mercúrio	4
2.1.1 Aspectos gerais.....	4
2.1.2 As espécies de mercúrio e sua toxicidade	4
2.1.4 O mercúrio no ambiente	6
2.2 Análise de especiação de mercúrio.....	7
2.2.1 Pré-tratamento e armazenamento de amostras para análise de especiação de Hg.....	9
2.2.2 Extração de Hg.....	10
2.2.3 Pré-concentração e derivatização de Hg.....	12
2.2.4 Separação e detecção de Hg	12
2.3 Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio.....	13
2.3.1 Redução e liberação de Hg	14
2.3.2 Interferências na geração de vapor frio de Hg	16
2.4 Análise por injeção em fluxo.....	17
2.5 Amalgamação de mercúrio.....	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1 Instrumentação.....	24
3.1.1 Desenvolvimento do sistema FI-CVG AAS	24
3.2 Reagentes e soluções	28
3.3 Amostras	29
3.4 Ajuste do sistema FI-CVG AAS.....	29
3.4.1 Ajuste das condições de geração do vapor de Hg para a determinação de Hg(II)	30

3.4.2 Ajuste das condições de pré-concentração para determinação do Hg total.....	30
3.4.3 Dessorção térmica do Hg amalgamado	31
3.5 Análise de especiação de Hg em água	31
3.6 Validação da metodologia	32
4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	33
4.1 Avaliação do sistema FI-CV AAS	34
4.1.1 Influência da vazão de argônio sobre a intensidade do sinal do Hg(II)	35
4.1.2 Influência da vazão da amostra sobre a intensidade do sinal do Hg(II)	36
4.1.3 Influência do volume de amostra sobre a intensidade do sinal do Hg(II)	36
4.1.4 Influência das concentrações de HCl e NaBH ₄ sobre a intensidade do sinal do Hg(II)	37
4.1.5 Influência das concentrações de HCl e NaBH ₄ sobre a intensidade do sinal do Hg total.....	40
4.1.6 Influência da vazão do argônio sobre a intensidade do sinal do Hg total.....	42
4.2 Parâmetros operacionais do sistema FI-CVG AAS	43
4.3 Parâmetros de mérito do sistema FI-CVG AAS	44
4.4 Validação do sistema FI-CV AAS proposto para análise de especiação de Hg em água.....	44
5. CONCLUSÃO	46
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Programa de acionamento das válvulas solenóides do sistema FI da Figura 1.d.	28
Tabela 2. Parâmetros operacionais do sistema FI-CVG AAS da Figura 1.d para a determinação de Hg total e Hg(II).	43
Tabela 3. Parâmetros de mérito do sistema FI-CVG AAS.....	44
Tabela 4. Concentração de Hg determinada nas amostras. Os resultados correspondem a média e o desvio padrão de 5 determinações.....	45
Tabela 5. Teste de recuperação de Hg nas amostras de água. Os resultados correspondem a um volume de amostra de 50 mL e a média com respectivas 5 determinações.....	45

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Configurações (a, b, c, d) de sistemas FI-CVG AAS testadas no trabalho. a: amostra; P: Bomba peristáltica, W: descarte; C₁, C₂, C₃ e C₄: confluências; CTA: coluna de troca aniônica; T₁ e T₂: torneiras; V₁, V₂, V₃ e V₄: válvulas solenóides de três vias; Ar: argônio; GL: separador gás/líquido; Au: coluna de ouro; LH: lâmpada halógena; QC: cela de quartzo; x: reator (L = 36 cm); Trap: “trap” contendo H₂SO₄; Re: recirculação das soluções. 26
- Figura 2. “Trap” de vidro contendo ácido sulfúrico utilizado no sistema FI-CV AAS para a retenção de umidade. 27
- Figura 3. Influência da vazão de argônio sobre a intensidade do sinal para Hg(II). Solução de 500 ng L⁻¹ de Hg(II) em HCl 1,0 mol L⁻¹ a 10 mL min⁻¹ e NaBH₄ 0,05% (m/v) a 2 mL min⁻¹. 35
- Figura 4. Influência da vazão da amostra sobre a intensidade do sinal do Hg(II). Solução de 500 ng L⁻¹ de Hg(II) em HCl 1,0 mol L⁻¹ e NaBH₄ a 0,05% (m/v). Vazão do NaBH₄ a 2,0 mL min⁻¹. Vazão de argônio a 25 mL min⁻¹. 36
- Figura 5. Influência do volume de amostra introduzida no sistema sobre a intensidade do sinal para Hg(II). Solução de 500 ng L⁻¹ de Hg(II) em HCl 1,0 mol L⁻¹ a 10 mL min⁻¹ e NaBH₄ 0,05% (m/v) a 2,0 mL min⁻¹. Vazão de argônio a 25 mL min⁻¹. 37
- Figura 6. Influência da concentração do NaBH₄ sobre a intensidade do sinal de Hg(II). Introdução de 2 mL de solução de Hg(II) a 500 ng L⁻¹ em HCl 1,0 mol L⁻¹ a 10 mL min⁻¹ e vazão do redutor a 2 mL min⁻¹. Vazão de argônio de 25 mL min⁻¹. 38

- Figura 7. Influência da concentração de HCl sobre a intensidade do sinal do Hg(II).
Introdução de 2 mL de solução de Hg(II) a 500 ng L^{-1} a 10 mL min^{-1} e NaBH_4 de 0,1% (m/v) a 2 mL min^{-1} . Vazão de argônio a 25 mL min^{-1} 39
- Figura 8. Influência da concentração de NaBH_4 na geração de Hg^0 a partir do MeHg.
Introdução de 2 mL de solução de MeHg a 500 ng L^{-1} (como Hg) em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} . Vazão de argônio de 25 mL min^{-1} e vazão de NaBH_4 a $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ 40
- Figura 9. Influência da concentração de NaBH_4 na geração de vapor de Hg (Hg^0 e MeHgH) e retenção na coluna de Au. Introdução de 5 mL de solução de Hg(II) a 1000 ng L^{-1} e 1000 ng L^{-1} de MeHg (como Hg) em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ a uma vazão de 10 mL min^{-1} . Vazão de argônio de 25 mL min^{-1} e vazão do redutor a $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ 41
- Figura 10. Influência da concentração de HCl na geração de vapor de Hg (Hg^0 e MeHgH) e retenção na coluna de Au. Introdução de 5 mL de solução de Hg(II) a 1000 ng L^{-1} e 1000 ng L^{-1} de MeHg (como Hg) a uma vazão de 10 mL min^{-1} , NaBH_4 a 0,1% (m/v) com vazão de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Vazão de argônio de 25 mL min^{-1} 41
- Figura 11. Influência do branco sobre a intensidade do sinal do Hg total para diferentes volumes de solução processados. Soluções de 100 ng L^{-1} de Hg(II) e 100 ng L^{-1} de MeHg em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} e NaBH_4 a 0,1% (m/v) a 2 mL min^{-1} e vazão de argônio de 25 mL min^{-1} 42
- Figura 12. Influência da vazão de argônio sobre a intensidade do sinal do Hg total. 6,8 mL de solução 100 ng L^{-1} de Hg (II) e 100 ng L^{-1} de MeHg em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} e NaBH_4 a 0,1% (m/v) a 2 mL min^{-1} 43

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

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

AFS, espectrometria de fluorescência atômica, do inglês, *Atomic Fluorescence Spectrometry*

APDC, pirrolidina ditiocarbamato de amônio, do inglês, *Ammonium Pirrolidine Ditiocarbamate*

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*

DMHg, dimetilmercúrio

DOC, carbono orgânico dissolvido, do inglês, *Dissolved Organic Carbon*

EtHg, etilmercúrio

FAAS, espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectrometry*

FEP, Etileno-Propileno-Fluorado, do inglês, *Fluoroethylene-Propilene*

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

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 a gás, do inglês, *Gas Chromatography*

GC-ECD, cromatografia a gás com detector por captura de elétrons, do inglês, *Gas Chromatography Electron Capture Detector*

GD-AES, *Glow Discharge Atomic Emission Spectrometry*

GL, separador gás-líquido

HPLC, cromatografia a líquido 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*

ICP-TOFMS, espectrometria de massa por tempo de voo com plasma indutivamente acoplado, do inglês, *Inductively Coupled Plasma Time of Flight Mass Spectrometry*

i.d., diâmetro interno

IUPAC, União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry*

LD, limite de detecção

MCGC, cromatografia a gás multicapilar, do inglês, *Multicapillary Gas Chromatography*

MeHg, metilmercúrio

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

MW, microondas, do inglês *Microwave*

PTFE, politetrafluoretileno, do inglês, *Polytetrafluorethylene*

RSD, desvio padrão relativo, do inglês, *Relative Standard Deviation*

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

SPME, microextração em fase sólida, do inglês, *Solid Phase Microextraction*

TMAH, hidróxido de tetrametilamônio, do inglês, *Tetramethylammonium Hydroxide*

US, ultra-som, do inglês, *Ultrasound*

RESUMO

Desenvolvimento e Avaliação de Sistema em Fluxo para Especiação de Mercúrio

Neste trabalho foi desenvolvido um sistema em fluxo para análise de especiação de mercúrio envolvendo a separação e pré-concentração das espécies de Hg. O sistema foi acoplado a um espectrômetro de absorção atômica. A especiação de Hg é conduzida a partir das determinações seqüenciais de mercúrio (II) e mercúrio total. Na primeira etapa são gerados os vapores de Hg^0 a partir de Hg(II) e hidreto de metilmercúrio (HMeHg) a partir do MeHg. Nesta etapa é feita somente a medição de Hg^0 . Na segunda etapa também são gerados Hg^0 e HMeHg, porém as duas espécies na fase vapor são adsorvidas numa coluna de ouro. Após é feita a dessorção térmica das espécies de Hg da coluna e a detecção do Hg^0 formado. Desta forma obtém-se a concentração total das espécies voláteis de Hg presentes na amostra. Por diferença se obtém a concentração de MeHg. O sistema em fluxo é composto por três válvulas solenóides, que tem a função de controlar a introdução das soluções de amostra/padrão e de NaBH_4 , bem como direcionar as espécies voláteis de Hg formadas para a coluna de Au ou diretamente para a cela de leitura do espectrômetro. A dessorção térmica das espécies de Hg da coluna de Au, formando Hg^0 , é feita através de aquecimento a uma temperatura em torno de $500\text{ }^\circ\text{C}$ através de uma lâmpada halógena. Soluções de Hg(II) e MeHg de 100 a 1000 ng L^{-1} foram utilizadas para avaliar as variáveis que influenciam no sistema proposto, como, vazões de amostra e de argônio e concentrações dos reagentes (HCl e NaBH_4). Nas condições estabelecidas para o sistema proposto é possível trabalhar em uma faixa de 100 até 5000 ng L^{-1} de Hg para determinação de Hg(II) e de 50 a 2000 ng L^{-1} de Hg para determinação de Hg total. Os limites de detecção calculados foram de $9,5\text{ ng L}^{-1}$ para MeHg e 68 ng L^{-1} para Hg(II) . Com o sistema proposto é possível efetuar 24 medições por hora. O desvio padrão relativo é inferior a 2% na determinação de Hg(II) para uma solução de 500 ng L^{-1} e inferior a 2,5% para MeHg e 3% para Hg(II) na determinação do Hg total para soluções de 100 ng L^{-1} . As recuperações dos testes de adição de 10 e 100 ng de Hg total em três amostras de água variaram de 97 a 101%. O sistema FI-CVG AAS proposto para especiação de Hg é caracterizado pela fácil implementação, uso de apenas HCl e NaBH_4 como reagentes, baixo consumo de reagentes (2,0 e 0,5 mL, respectivamente) e amostras (2,0 mL para Hg(II) e 6,8 mL para Hg total). Além disso, o sistema é de custo relativamente baixo e adequado para a análise de especiação de mercúrio em amostras de águas naturais.

ABSTRACT

Development and Evaluation of a Flow Injection System for Mercury Speciation

A flow injection (FI) system, which is coupled to an atomic absorption spectrometer, is proposed for organic and inorganic mercury speciation. The FI system consists basically of three three way-solenoid valves, a gas/liquid separator and a gold-gauze column. Hg^0 and volatile organic mercury species (mainly methylmercury - MeHgH) are generated by reacting inorganic mercury (as Hg(II)) and organic mercury (mainly MeHg^+) species with sodium tetraborohydride in HCl medium. The speciation analysis involves two separated steps. In the first, only the volatile mercury obtained by inorganic mercury (Hg(II)) reduction is transported to the quartz cell of the spectrometer where it is measured. In the second step, all volatile mercury species are conducted to a gold-gauze column where they are trapped. Subsequently, the column is heated for mercury releasing, which is then transported to the quartz cell. In this step the total mercury concentration is measured. The concentrations of organic and inorganic mercury are obtained by subtracting the signal measured in the first step from that measured in the second one. The main parameters that influence the FI system performance and mercury speciation were evaluated. The best conditions found were: NaBH_4 0.050 % (m/v), HCl 1.0 mol L^{-1} , carrier gas (Ar) flow rate of 25 mL min^{-1} , mercury releasing from the gold-gauze at 500 °C, sample and NaBH_4 solutions flow rate of 10 mL min^{-1} and 2 mL min^{-1} , respectively. The limits of detection, calculated for 10 mL of sample solution processing, were 9.5 ng L^{-1} of MeHg and 68 ng L^{-1} of Hg(II) . The relative standard deviation (RSD) was typically 2.5%, whereas the calibration curves of Hg(II) and MeHg were linear in the range of 100 to 5000 ng L^{-1} and 50 to 2000 ng L^{-1} , respectively. The method was applied for organic and inorganic mercury speciation in mineral and underground water. With the proposed FI system it was possible to perform up to 24 measurements per hour. Recovery of spiked organic and inorganic mercury ranged from 97 to 102%. It was concluded that the proposed FI system coupled to atomic absorption spectrometer is very useful and feasible for speciation of very low organic and inorganic mercury. Simplicity, low reagent and sample consumption and good sample throughput are the main characteristics of the system.

1. INTRODUÇÃO

Mercúrio é um elemento que possui um ciclo biogeoquímico complexo, podendo ser encontrado em várias formas físicas e químicas, e em vários ambientes. As principais formas de emissão de Hg originam-se da degaseificação natural da crosta terrestre e atividades vulcânicas, além das atividades antropogênicas, sendo estas, as mais significativas e em grande parte provenientes da utilização de combustíveis fósseis, incineração de resíduos urbanos e industriais, indústrias de cloro-álcali e de equipamentos elétricos. O amplo emprego industrial do Hg tem resultado em sérios problemas de contaminação das águas, solo e sedimentos.

O mercúrio e seus compostos têm como característica a capacidade de se acumular e persistir no ambiente e biota e sofrer biometilação em meios aquáticos, ou seja, ser biotransformado da forma inorgânica para a forma orgânica e, desta maneira, entrar na cadeia alimentar dos organismos aquáticos, podendo sofrer um processo de bioacumulação. As diversas espécies de mercúrio possuem toxicidade elevada e podem causar danos neurológicos aos seres humanos, dependendo da forma química e outros fatores de exposição.

Aspectos relacionados à toxicidade de compostos de Hg e também ao seu ciclo biogeoquímico, envolvendo a distribuição, bioacumulação, transformação e transporte no ambiente tem despertado a atenção da comunidade científica nestas últimas décadas. O mercúrio II (Hg^{2+}) e o metilmercúrio (CH_3Hg^+) são as duas espécies de Hg encontradas com mais frequência em diversos materiais (peixes, sedimentos, água etc.) e devido a suas elevadas toxicidades é necessária a sua monitoração.

Em vista disso, os estudos de especiação se tornaram indispensáveis para a determinação das respectivas espécies na qual o elemento se encontra embora o conhecimento da concentração total de um elemento ainda seja muito útil. Especiação é o termo que se refere à determinação das diferentes formas químicas de um elemento, sendo que o somatório destas espécies deve constituir a concentração total do elemento na amostra. Um dos grandes problemas no estudo de identificação e quantificação das diferentes espécies de Hg é o tratamento da amostra, que envolve as etapas de amostragem, pré-concentração, separação e, por

fim, a determinação usando detectores suficientemente seletivos e sensíveis, como, a espectrometria de absorção atômica por vapor frio (CV AAS).

Atualmente estão disponíveis vários métodos de amostragem, pré-concentração e separação das espécies de Hg. Porém, a remoção das espécies de Hg da amostra por ação de um agente redutor é a ferramenta mais utilizada. Isto se deve pela redução do Hg por NaBH_4 na presença de HCl, gerando Hg^0 a partir do Hg^{2+} e CH_3HgH a partir do CH_3Hg^+ . Ambas as espécies são voláteis à temperatura ambiente, porém somente o Hg^0 é detectado por absorção atômica. Portanto, para detectar o CH_3HgH , este deve ser transformado para Hg^0 , havendo diversas formas para gerar Hg^0 a partir de CH_3HgH .

Tendo-se em vista a necessidade da análise de especiação exigida por órgãos ambientais, de controle de alimentos e os relacionados com a saúde humana, neste trabalho foi proposto um sistema para a determinação de Hg(II) e Hg total por espectrometria de absorção atômica.

O sistema foi desenvolvido com o objetivo de permitir a medição seqüencial das espécies de Hg em água, de forma simples, de baixo custo, baixo consumo de reagente e amostra, que permitisse determinar baixas concentrações dos analitos e em menor tempo possível.

Para isto são determinadas as concentrações de Hg(II) e Hg total e por diferença se obtém a concentração de MeHg. As determinações seqüenciais são realizadas em três etapas. Primeiramente, para a detecção do Hg(II) são gerados os vapores de Hg^0 a partir de Hg(II) e hidreto de metilmercúrio (HMeHg) a partir do MeHg. Nesta etapa é feita a medição de Hg^0 somente, não necessitando de uma etapa de separação das espécies. Na segunda etapa é realizado um processo de pré-concentração, onde todas as espécies de Hg na fase vapor são adsorvidas numa coluna de ouro. Na terceira etapa é feita a dessorção térmica das espécies da coluna de Au e a detecção do Hg total na forma de Hg^0 .

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica está dividida em quatro partes. Na primeira parte são descritas algumas características gerais do mercúrio, além de sua relevância ambiental. A segunda parte trata sobre a análise de especiação de mercúrio, abordando as etapas analíticas do preparo das amostras, bem como alguns trabalhos sobre o preparo das amostras. A terceira parte trata sobre a espectrometria de absorção atômica e da geração de vapor frio de mercúrio e sua aplicação para a especiação de Hg. A última parte aborda a análise por injeção em fluxo, com aspectos gerais e aplicações, e por fim, uma abordagem sobre a amalgamação de mercúrio em superfície de ouro como forma de pré-concentração das espécies de mercúrio e algumas aplicações. Além disso, a abordagem das espécies de mercúrio é feita classificando-se a forma orgânica como MeHg e a forma inorgânica de estado de oxidação (II) como Hg(II) mesmo que outras espécies encontrem-se presentes nas amostras mencionadas. A concentração total de mercúrio é mencionada como Hg total e quando for feita referência a massa de MeHg entende-se “massa de Hg na forma de MeHg”.

2.1 Mercúrio

2.1.1 Aspectos gerais

O mercúrio é o único elemento metálico que existe na forma líquida à temperatura ambiente, tendo uma elevada pressão de vapor (18 mg m^{-3} de Hg a 24°C).^{1, 2} Devido as suas propriedades particulares, o mercúrio possui mais de 3000 aplicações industriais, que vão desde a fabricação de fungicidas até o uso como catalisador.¹ Seus sais mais importantes são o cloreto de mercúrio II (HgCl_2), cloreto de mercúrio I (Hg_2Cl_2), fulminato de mercúrio II $\text{Hg}(\text{CNO})_2$ e o sulfeto de mercúrio II (HgS).³ O amplo emprego do mercúrio e seus compostos na indústria tem resultado em sérios problemas de contaminação das águas, solo e sedimentos.¹

2.1.2 As espécies de mercúrio e sua toxicidade

As formas químicas que o Hg pode assumir são divididas em inorgânicas [sendo os estados de oxidação mais comuns o $\text{Hg}(0)$, $\text{Hg}(I)$, $\text{Hg}(II)$] e orgânicas como metilmercúrio, dimetilmercúrio (DMeHg), etilmercúrio (EtHg), entre outras.

O $\text{Hg}(0)$ tem baixa solubilidade em água e lipídeos.⁴ Devido a elevada volatilidade, o Hg^0 é liberado a partir da crosta terrestre e por meio do vulcanismo.¹

O $\text{Hg}(I)$ (íon mercurioso) é oxidado facilmente a $\text{Hg}(II)$ quando entra no ciclo biogeoquímico.

O $\text{Hg}(II)$ (íon mercúrico) é encontrado na forma de diversos sais e é a espécie inorgânica de maior atividade biológica. Dependendo da forma, é solúvel em água e possui grande afinidade por materiais particulados.⁵ Há muitos compostos organomercúricos, sendo os alquilmercúricos os mais relevantes sob aspectos ambientais e toxicológicos. Neste sentido, a classe com maior importância ambiental é a dos monometilmercúricos, sendo o hidróxido (CH_3HgOH) e o cloreto (CH_3HgCl) os mais abundantes.³ O metilmercúrio perfaz quase a totalidade do mercúrio

orgânico presente no ambiente. O metilmercúrio liga-se a vários compostos biológicos, como proteínas, lipídios e ácidos húmicos e fúlvicos.⁶

As diversas espécies de mercúrio possuem toxicidade elevada e podem causar danos aos seres humanos e outros organismos.¹ No caso dos seres humanos, o mercúrio é neurotóxico e seu efeito depende da forma química, tempo de exposição e dose.⁴

Tanto o Hg^0 quanto o Hg orgânico conseguem atravessar a barreira sangüíneo-cerebral, causando danos irreversíveis ao sistema nervoso central.¹ O trato digestivo é a principal via de entrada do MeHg no organismo, sendo absorvido rapidamente e eliminado mais lentamente que as outras formas de mercúrio. Nos seres humanos o metilmercúrio tem tempo de meia-vida relativamente longo, de 44 a 80 dias, e sua excreção ocorre via fezes, urina e leite materno. No ambiente o tempo de meia-vida é de 6 a 8 anos.^{4, 7}

O interesse maior em estudar estes compostos surgiu mais recentemente, principalmente em decorrência dos acidentes ocorridos a partir da década de 1950.¹ Entre os fatos mais conhecidos de intoxicação e morte está o do Japão, onde morreram cerca de 200 pessoas que consumiram peixes com altas concentrações de mercúrio orgânico, proveniente do efluente da produção de acetaldeído, que foi lançado ao mar. O incidente ficou conhecido como desastre de Minamata, em 1952. Na década de 70, no Iraque, Paquistão, Gana e Guatemala, ocorreram vários casos de contaminação de agricultores que utilizavam grãos tratados com fungicidas a base de metil e etilmercúrio, na confecção de pão caseiro. Só no Iraque morreram em torno de 450 pessoas.⁸

Em decorrência destes fatos e a necessidade de conhecimento mais detalhado das características dos compostos de Hg, foram criadas regulamentações com respeito ao uso do mercúrio e seus derivados na indústria e outras aplicações, a fim de diminuir o seu acúmulo no meio ambiente. Assim, para peixes o limite estipulado foi de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ de mercúrio total. Vale salientar, que os compostos HgS e HgCl_2 são insolúveis em meio aquoso, sendo exceções à alta toxicidade em geral das espécies de mercúrio.¹

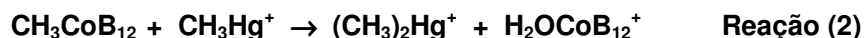
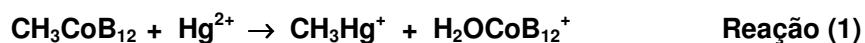
2.1.4 O mercúrio no ambiente

Dependendo da condição física, química ou biológica, os compostos de mercúrio no sistema aquático podem ser interconvertidos e passar do sedimento para a fase aquosa, ser acumulado pela biota aquática, ser perdido para a atmosfera ou ser transportado juntamente com material particulado para outros locais.⁴ Na atmosfera, 95% do mercúrio está na forma de Hg^0 , sendo lentamente oxidado a Hg(II) por ação do ozônio e também HClO , HSO_3^- e HO^- . Grande parte do Hg na atmosfera é encontrado no material particulado e nas gotículas de água. Desta forma, o Hg(II) volta para a superfície da terra por precipitação pluviométrica ou adsorvido nas partículas. Como a oxidação do Hg^0 a Hg(II) na atmosfera é muito lenta, o seu tempo de permanência é muito longo, podendo assim se redistribuir no planeta.²

Em águas superficiais a concentração natural de Hg é em média de 1 a 20 ng L^{-1} . O mercúrio dissolvido está distribuído em diversas formas químicas: Hg^0 , Hg(II) e espécies orgânicas como MeHg , DMHg e EtHg . Os maiores níveis de concentração de Hg^0 se encontram na interface água-ar. De maneira geral, o Hg(II) não está presente na forma Hg^{2+} livre, mas, principalmente, nas formas de Hg(OH)^+ , Hg(OH)_2 , Hg(OH)_3^- , HgCl^+ , HgClOH , HgCl_2 , HgCl_3^- e HgCl_4^{2-} , dependendo do pH e da concentração de cloreto. Além disso, o Hg também está ligado ao enxofre (principalmente ao S^{2-} e HS^-), ácidos húmicos e outros compostos orgânicos dissolvidos. A redução do Hg(II) pode ocorrer por processos biológicos, químicos ou por foto-redução. Em águas poluídas, onde a concentração de Hg excede $50 \cdot 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$ a redução microbiológica via bactérias sulfato redutoras é o mecanismo predominante.²

O íon Hg(II) possui alta afinidade por sulfeto, sendo que esta propriedade controla a química do Hg em águas profundas e sedimentos, mesmo em baixas concentrações de sulfeto como $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. As espécies predominantes são o HgS_2H_2 , HgS_2H^- e HgS_2^{2-} e o complexo orgânico CH_3HgS^- . As formas sólidas de sulfeto de mercúrio II (cinabar e metacinabar), possuem um produto de solubilidade muito baixo, sendo encontradas na forma particulada no sedimento, ligados a matéria orgânica e a óxidos de ferro.² Os sedimentos de rios, lagos e mar, poluídos

com mercúrio, são perigosos porque o mercúrio adsorvido pode permanecer ativo para a metilação por cerca de 100 anos, mesmo quando a fonte é eliminada.³ As bactérias sulfato-redutoras são as responsáveis pela metilação do mercúrio em águas naturais, cujo mecanismo de metilação enzimaticamente é mediada pela metilcobalamina. A metilcobalamina pode estar disponível em quantidades significativas no ambiente, porque é uma coenzima produzida pelas bactérias.^{2,9} A metilcobalamina é um derivado da vitamina B₁₂ e na reação de metilação transfere o grupo metila na forma de carbânion (CH₃⁻) a um átomo eletrofílico, no caso o Hg²⁺ produzindo o MeHg e dimetilmercúrio volátil, conforme as reações (1) e (2):⁹



A formação de metilmercúrio em sedimentos foi primeiramente relatada por Jensen e Jernelöv em 1969.¹⁰ O metilmercúrio não se liga fortemente com a matéria orgânica do sedimento como os íons de Hg(II). Portanto, o metilmercúrio pode ser desorvido das partículas do sedimento numa proporção relativamente elevada, influenciando na bioacumulação nos organismos aquáticos. Isto significa que, em geral, concentrações muito baixas de metilmercúrio são encontradas em sedimentos, mesmo naqueles com altas concentrações de Hg(II).³ O MeHg é mais eficientemente absorvido por organismos e permanece mais tempo nas células, em vista disso, a biomagnificação na cadeia alimentar é quatro vezes maior para MeHg do que para Hg(II), que é mais facilmente excretado.² O tempo de meia-vida do MeHg em peixes varia de acordo com a espécie, podendo se estender de 1 a 3 anos.³

2.2 Análise de especiação de mercúrio

A definição do termo “especiação” recomendado pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) vem a ser a distribuição da quantidade de um elemento químico ou de uma espécie do elemento definida em um sistema. A

análise de especiação é a atividade analítica de identificação e medição da quantidade de um elemento químico ou de uma espécie definida em um sistema.¹¹

A especiação de mercúrio é ambientalmente importante, principalmente para se entender o ciclo biogeoquímico e identificar locais onde transformações de espécies de mercúrio ocorrem.¹² A maioria dos estudos de especiação são relacionados ao Hg(II) e ao MeHg.¹³

Os grandes problemas no estudo de identificação e quantificação das diferentes espécies de Hg são o tratamento e a preservação da amostra, visto a dificuldade de manter a identidade das espécies contidas originalmente na amostra. Isto se deve a instabilidade das espécies frente a determinados tratamentos normalmente usados na análise química, tais como o acondicionamento, solubilização da amostra, procedimentos de extração, separação dos analitos. A etapa de extração é muito crítica, pois nem todas as espécies contidas na amostra são facilmente liberadas da matriz da amostra. Além disso, pode ocorrer a interconversão de espécies de Hg, como a formação de espécies orgânicas a partir do Hg(II) ou a quebra da ligação C–Hg, liberando Hg(II).^{13,14} O método apropriado depende da natureza da amostra e das concentrações das espécies. As amostras mais difíceis para análise de especiação são geralmente os tecidos animais, solos e sedimentos.¹³

Com o objetivo de alcançar uma satisfatória determinação das espécies de mercúrio, quatro diferentes etapas podem ser consideradas individualmente:¹⁴

- a) extração das espécies de mercúrio da amostra, assegurando a integridade das mesmas, tal como elas se encontram na amostra;
- b) pré-concentração das espécies de mercúrio obtidas mediante o processo de extração de forma a alcançar uma concentração detectável pela técnica escolhida para a determinação do Hg;
- c) separação das espécies de mercúrio sem alterar suas concentrações relativas originais; e,
- d) detecção individual das espécies separadas.

2.2.1 Pré-tratamento e armazenamento de amostras para análise de especiação de Hg

De maneira geral, amostras ambientais, após a coleta, devem ser homogeneizadas e preservadas até a análise de forma a prevenir a degradação ou interconversão das espécies. Compostos organomercuriais podem ser degradados por ação de microorganismos, oxidação química (por exemplo, presença de oxigênio, ácidos oxidantes usados na preservação da amostra, entre outros) e radiação ultravioleta (UV).¹⁴ A descontaminação do material usado para amostragem é de grande importância nesta etapa, minimizando problemas de contaminação e mesmo degradação das espécies do elemento. Em relação ao armazenamento, é recomendado que as amostras destinadas à especiação de Hg devam ser mantidas ao abrigo da luz e, preferencialmente armazenadas em ambientes com baixas temperaturas ($< 4\text{ }^{\circ}\text{C}$).¹⁵

A conservação de amostras de água em meio ácido estabilizam as espécies e evitam a adsorção de cátions (como o Hg^{2+}) nas paredes dos frascos. Agentes oxidantes e complexantes contribuem para estabilizar o Hg(II). Ácidos minerais não oxidantes são os reagentes mais usados para preservar as espécies de Hg em amostras de água, mas outros procedimentos têm sido propostos, entre eles o uso de ácidos húmicos¹⁶, adição de Au(III) em ácido nítrico diluído.¹⁷ Além disso, a estabilidade do MeHg na água, depende dos concomitantes presentes na água, dos níveis de concentração do MeHg, do tipo de material do frasco de armazenagem e da temperatura de armazenagem.¹⁴ Os materiais para armazenagem de água para a determinação de Hg são o politetrafluoretileno (PTFE ou Teflon[®]), o tetrafluoretileno/hexafluorpropileno (FEP) e o vidro Pyrex[®].^{13,18}

Litman e colaboradores¹⁹ estudaram a adsorção de Hg nos materiais usados para estocagem e reportaram altas taxas de adsorção de mercúrio em vidro, PTFE, e, especialmente, em polietileno, em concentrações abaixo de $1,0\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ de Hg, atribuídas à redução do elemento.

Parker e Bloom²⁰ avaliaram a eficiência de técnicas de preservação e armazenagem de soluções com baixas concentrações Hg e verificaram que em amostras acidificadas e armazenadas em frascos de Teflon[®] o Hg total permanece

estável por 300 dias. Estabilidades semelhantes ocorrem com a armazenagem da amostra em frascos de vidro. Em alguns casos, o Hg total é adsorvido nas paredes dos frascos, mas com a adição de cloreto de bromo até 24 h antes da análise há a recuperação quantitativa. Observaram também que o Hg⁰ da atmosfera pode difundir através das paredes de frascos de polietileno, aumentando a concentração deste elemento na solução. Difusão do Hg da solução para a atmosfera também foi observada. Este processo ocorre mais facilmente quando polietileno de baixa densidade é usado para armazenar a amostra. Em muitos casos, a acidificação de soluções diminui a concentração de Hg(II) na solução em consequência da coagulação da matéria orgânica.

2.2.2 Extração de Hg

Extração é o processo de separação do analito da matriz da amostra, geralmente interferente.¹⁴ De maneira geral, os reagentes usados para extração de espécies de Hg em amostras provenientes da biota e sedimentos devem romper a ligação das espécies de Hg com argilas, substâncias húmicas, sulfetos, porém a ligação C–Hg deve ficar inalterada.¹⁴ Segundo Falter e colaboradores²¹ as principais fontes de erros na determinação de MeHg ocorrem nos processos de extração e derivatização aplicados em amostras com alta concentração de matéria orgânica e Hg(II), decomposição alcalina com aquecimento, extração por fluido supercrítico, presença de altos níveis de ácidos carboxílicos e Fe(II) na amostra.¹⁴

O procedimento de extração mais comum para determinar organomercuriais em amostras ambientais é a extração ácida, seguida de extração com solvente orgânico, extração alcalina e destilação. Westö²² propôs o uso de tratamento ácido combinado com extração por solvente, para a extração de MeHg em tecido de peixe. O procedimento envolveu a lixiviação dos compostos de Hg da amostra, com HCl concentrado, seguido de extração com benzeno. Após as espécies foram re-extraídas para uma solução aquosa com o auxílio de NH₄OH e Na₂SO₄.¹³

Após o procedimento proposto por Westö, algumas modificações foram propostas para a extração seletiva de MeHg. Ácidos minerais como HCl, H₂SO₄ contendo NaCl, KBr ou ácido iodo acético são os mais recomendados para extrair as

espécies de Hg da amostra. Posteriormente, sucessivas extrações com solventes orgânicos como benzeno, tolueno, clorofórmio e diclorometano são feitas para separar as espécies orgânicas das inorgânicas. A última etapa envolve a extração do MeHg do solvente orgânico para a fase aquosa utilizando soluções de cisteína ou tiosulfato de sódio.²³ Também, a adição de HgCl_2 ou CuCl_2 em soluções ácidas tem sido recomendada para a liberação do MeHg de grupos HS^- de amostras sólidas, sendo que os melhores resultados são obtidos com o Cu.^{15,28} A aplicação da irradiação por microondas (MW) ou ultra-som (US) combinados com ácidos minerais aumenta a eficiência da extração das espécies de Hg de amostras sólidas e diminui o tempo da extração.^{24,25,26}

Tratamentos com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH), KOH e metanol, ou NaOH e cisteína tem sido propostos para a extração de MeHg em amostras de biota e sedimentos, sem alterar as ligações C–Hg. Em alguns casos a extração alcalina pode ser mais suscetível a erros que a ácida devido à dificuldade de se encontrar reagentes alcalinos de alta pureza.^{15,27}

Horvat e colaboradores²⁸ propuseram procedimento baseado na destilação na presença de solução de H_2SO_4 8 mol L^{-1} e KI a 145 °C em atmosfera de nitrogênio para a extração e separação das espécies de Hg da matriz da amostra. Recentes investigações têm mostrado que a destilação gera MeHg, quando da presença de matéria orgânica natural em água e sedimentos.¹⁵ A formação de MeHg artificial na destilação ocorre em uma faixa da ordem de 0,005 a 0,1% do Hg total.²⁹

Bendicho e Rio-Segade³⁰ determinaram Hg total em amostras biológicas sólidas e sedimento empregando sistema FI-CV AAS na forma de suspensões tratadas com US. As suspensões foram preparadas em 15% (m/v) de HNO_3 e 15% (m/v) de HCl, contendo Triton X-100 (0,02% (v/v)) como agente dispersante. Este procedimento de preparo de amostra possibilitou recuperações de 100% do analito em algumas amostras. O limite de detecção (LD) obtido foi de 3 ng g^{-1} de Hg em tecido biológico, melhor que o LD obtido utilizando digestão assistida por microondas, o qual foi de 13 ng g^{-1} .

Collasiol e colaboradores³¹ desenvolveram um método para extração de Hg em sedimento e solo usando US e determinação empregando sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) acoplado ao CV AAS. A extração foi realizada com HNO_3 30% (v/v) e sonicação entre 90 e 120 s para sedimentos marinhos. Em solos e sedimentos fluviais adicionaram KCl 0,15% (m/v), que aumenta em 20% a eficiência

de extração. Obtiveram um LD de 40 ng g⁻¹. A validação do método foi feita com quatro materiais de referência certificados (CRM), sendo os resultados foram concordantes.

2.2.3 Pré-concentração e derivatização de Hg

Os baixos níveis de concentração de espécies de Hg em amostras ambientais, como a concentração de MeHg em sedimento, requerem uma etapa de pré-concentração. Extração líquido-líquido, após tratamento da amostra com ácidos tem sido proposta.²² Extração em fase sólida (SPE),³² uso de microcolunas com ditiocarbamato¹⁵ e 2-mercaptobenzotiazol³³ imobilizado em suportes sólidos podem ser empregados para a separação e pré-concentração do MeHg.

Enquanto o uso de NaBH₄ é mais comum para geração de vapor frio e de hidretos,³⁴ a etilação é realizada com tetraetilborato de sódio (NaB(C₂H₅)₄) para formar dietilmercúrio e metiletilmercurio,^{35,36} cujos compostos possuem diferentes volatilidades, sendo, desta forma, passíveis de serem separados por cromatografia à gás (GC).¹⁵

2.2.4 Separação e detecção de Hg

Os métodos de separação de espécies de Hg são divididos em cromatográficos e não-cromatográficos. Diversos trabalhos envolvendo a separação de espécies de Hg são baseados em separações não-cromatográficas, geralmente empregando sistemas em fluxo (FI) com detecção por espectrometria de absorção atômica por vapor frio (CV AAS). Agentes redutores como o SnCl₂, que reduz apenas o Hg inorgânico à Hg⁰, são uma forma de separar o Hg(II) do MeHg. Foto-oxidação do MeHg à Hg(II) e posterior determinação do Hg total também é proposta.^{37, 38}

Admitindo que as técnicas não-cromatográficas simples possam ser usadas para a análise de especiação de Hg e outros elementos, é indiscutível que a

ferramenta mais adequada para a especiação consiste de separação empregando, por exemplo, a cromatografia a gás acoplada a um detector sensível.¹⁴ No primeiro trabalho de especiação de Hg por GC foi utilizado um detector por Captura de Elétrons (ECD). Trabalhos também foram desenvolvidos utilizando a cromatografia a líquido de alta eficiência (HPLC) para a especiação de Hg e outros elementos em amostras ambientais.^{11,39} Na especiação de Hg pela técnica de GC, uma grande variedade de detectores tem sido usada, tais como ECD, CV AAS, espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio (CV AFS), espectrometria de emissão ótica com plasma induzido por microondas (MIP-OES), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e espectrometria de emissão atômica com descarga luminosa (GD-AES). Acoplamentos com HPLC incluem técnicas como ICP-MS, CV AAS, CV AFS, ICP-OES, MIP-OES. Todos esses métodos atingem baixos LDs e são utilizados para a análise de vários tipos de amostras ambientais.^{14,15,40,41}

Recentemente o uso da técnica de ICP-MS tem aumentado bastante na análise de especiação de Hg. Esta técnica, além da elevada sensibilidade, permite a detecção de isótopos. A diferenciação isotópica é importante para monitorar simultaneamente a formação de MeHg artificial e a demetilação artificial de MeHg, através do uso de traçadores isotópicos (isótopos enriquecidos).^{42,43} Quando combinado com GC, a técnica de ICP-MS se aproxima do detector ideal, principalmente devido a sua seletividade e sensibilidade. Entretanto, devido a disponibilidade, custo, sensibilidade e seletividade, a CV AAS é ainda a técnica de uso mais freqüente.^{13,14}

2.3 Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio

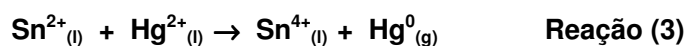
O conceito fundamental da espectrometria de absorção atômica (AAS) foi proposto por Walsh, em 1955. A técnica então proposta consistia da exposição do analito na forma de vapor atômico, a uma radiação específica do próprio elemento, a qual promove um elétron do estado fundamental para um estado excitado. Para isto, Walsh usou uma lâmpada de cátodo oco como fonte de excitação específica do elemento e uma chama de combustão de mistura ar/acetileno para levar o elemento

ao estado atômico na forma de vapor.⁴⁴ Entretanto, em 1939, antes da descoberta da espectrometria de absorção atômica por Walsh, Woodson⁴⁵ desenvolveu e empregou um aparato para a determinação de mercúrio no ar. Este aparato foi adaptado posteriormente por outros pesquisadores.⁴⁶

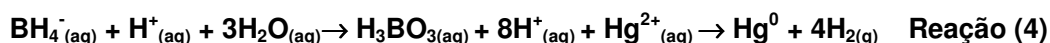
A técnica mais utilizada para a determinação de mercúrio foi desenvolvida e implementada por Poluektov e Vitkun.⁴⁷ Durante suas investigações para a determinação de mercúrio por FAAS (espectrometria de absorção atômica com chama), os autores perceberam um aumento de uma a duas ordens de magnitude no sinal de absorvância, quando SnCl_2 era adicionado à amostra aspirada pelo nebulizador pneumático do instrumento. A partir destas observações eles verificaram que era possível dispensar o uso do nebulizador pneumático e a própria chama, pois o Hg era transformado em mercúrio atômico na forma de vapor somente pela adição de cloreto de estanho à amostra em solução. Para tal, no momento da adição do SnCl_2 à solução, passaram ar através da mesma com o objetivo de conduzir o analito até uma cela de quartzo de 30 cm de comprimento, alinhada com o feixe de radiação específico do espectrômetro de absorção atômica. Poluektov e Vitkun⁴⁷ não foram os primeiros a descrever a redução de sais de mercúrio à mercúrio elementar no estado gasoso com SnCl_2 , mas foram os primeiros a usar esta reação combinada com a espectrometria de absorção atômica. Vários autores reportaram o uso desta técnica, ocasionalmente, com pequenas modificações, para a determinação de mercúrio nas mais diferentes amostras.⁴⁶

2.3.1 Redução e liberação de Hg

Nos primeiros anos de desenvolvimento da técnica de geração de vapor frio, o agente redutor mais utilizado foi o SnCl_2 . Na redução do Hg com SnCl_2 é imprescindível que seja feita a purga da solução com um gás inerte, como argônio ou nitrogênio, para o transporte do vapor de Hg até a cela de leitura do espectrômetro. A redução do Hg com SnCl_2 ocorre segundo a reação (3):



Posteriormente, o borohidreto de sódio (NaBH_4) começou a ser usado para esta finalidade. O NaBH_4 é um redutor mais forte e libera uma grande quantidade de hidrogênio na reação em meio ácido. Assim, além de reduzir o Hg para Hg^0 , forma uma grande quantidade de hidrogênio, a qual auxilia no transporte do elemento da solução para a cela de absorção do espectrômetro de absorção atômica. Ao contrário do SnCl_2 , que requer que seja usado um fluxo de gás, como foi comentado anteriormente. Mesmo assim, é necessário o uso de um gás inerte para auxiliar no transporte do vapor de Hg. A redução do Hg com NaBH_4 ocorre em meio ácido, conforme a reação (4):



As soluções de NaBH_4 , normalmente, devem ser preparadas diariamente, em solução levemente alcalina [geralmente em hidróxido de sódio (NaOH) 0,05 a 1,0% (m/v)] para estabilização do reagente. Devido à produção de quantidades relativamente grandes de H_2 no processo de redução, os procedimentos de redução com NaBH_4 , usados em geração de vapor frio de mercúrio, são geralmente restritos a sistemas abertos (FI e batelada).⁴⁶ 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 que haja efetiva redução de todo o Hg^{2+} à Hg^0 . A conversão dos compostos de Hg e a decomposição da matriz da amostra (principalmente quando se trata de amostras sólidas) são feitas normalmente através do uso de oxidantes fortes, como o ácido nítrico (HNO_3), ácido perclórico (HClO_4), cloreto de bromo (BrCl), permanganato de potássio (KMnO_4), persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), ozônio (O_3), combinados com aquecimento convencional ou por radiação microondas, radiação ultravioleta, US ou combinações destes.¹⁴

A reação de uma espécie orgânica de Hg, como o MeHg , com NaBH_4 , em determinadas condições, não leva a formação de Hg^0 e sim, a formação do hidreto volátil de metilmercúrio (MeHgH). Assim, a geração do vapor químico de MeHg ocorre de acordo com a reação (5):



Com o dimetilmercúrio (DMeHg) e dietilmercúrio (DEtHg) não há a formação de compostos voláteis. Da mesma forma, quando é usado o SnCl_2 como agente redutor, não ocorre a geração do MeHgH. Ou seja, há somente a redução do Hg(II) a Hg^0 .⁴⁸ Com base nestas características das reações de redução do Hg, Magos,⁴⁹ em 1971, foi o primeiro a propor a redução seletiva de espécies de Hg, diferenciando o Hg(II) das outras espécies de Hg através da redução com SnCl_2 . O Hg total foi determinado por redução com SnCl_2 na presença de cádmio. Em 2000, Capelo e colaboradores⁵⁰ verificaram que, em determinadas condições de reação, o NaBH_4 pode reduzir também algumas espécies de Hg a Hg^0 , como o MeHg. Entretanto, a sensibilidade obtida para MeHg era cerca de 20% menor em comparação com aquela alcançada para Hg (II).

2.3.2 Interferências na geração de vapor frio de Hg

As maiores fontes de erro na determinação de mercúrio são tipicamente provenientes do tratamento da amostra. Pode-se salientar que estes erros podem advir da contaminação do ambiente do laboratório com mercúrio ou devido a perdas do analito, devido a sua elevada volatilidade. Também podem ocorrer erros em função de decomposições incompletas. Entretanto, em decorrência da separação da matriz durante a geração do vapor de Hg, as interferências desta sobre o Hg são consideravelmente reduzidas. Portanto, devido ao pequeno número de constituintes na fase gasosa no atomizador, interferências espectrais são virtualmente excluídas na etapa da geração do vapor de Hg. Interferências espectrais e químicas não são muito comuns na determinação de Hg, diferentemente do que ocorre com a técnica de geração de hidretos voláteis, como os de arsênio, selênio, antimônio, entre outros.

As interferências químicas, apesar de pouco pronunciadas, são praticamente todas relacionadas com a reação de redução propriamente dita. Alguns metais presentes concomitantemente na solução podem ser reduzidos ao estado metálico, formando pequenas partículas, que podem reter mercúrio. Neste sentido, o SnCl_2 , por não ser um agente redutor forte, geralmente não reduz outros metais presentes na solução amostra. Porém, o NaBH_4 , sendo um agente redutor mais forte, pode

reduzir outros elementos como o cobre, níquel, ouro, prata, paládio e platina. Estes, depois de reduzidos, podem formar partículas que poderão reter o mercúrio na forma de amálgama. Conseqüentemente, pode ocorrer supressão da intensidade do sinal de absorvância do Hg.⁵¹ Todavia, foi demonstrado que com o aumento da concentração de ácido na solução as interferências causadas por estes metais são minimizadas.⁵² Também foi demonstrado que quando são utilizados sistemas de análise por injeção em fluxo para a geração de vapor frio, as interferências devido à presença de metais são menos pronunciadas, possivelmente relacionados a efeitos cinéticos na reação de redução. Possivelmente a reação de redução dos elementos interferentes é mais lenta do que a do Hg, sendo, desta forma, o vapor de mercúrio liberado da solução antes que significativas quantidades dos interferentes sejam formadas e retenham o mercúrio.

Procedimentos que utilizam HNO₃ para o preparo de amostras e NaBH₄ como agente redutor para a geração de vapor de Hg, podem causar baixa reprodutibilidade dos resultados. Isto, provavelmente, seja devido à inibição da redução do mercúrio por óxidos nitrosos voláteis.^{53,52}

2.4 Análise por injeção em fluxo

O constante aumento da demanda de controle analítico em análises clínicas, agrícolas, farmacêuticas, industriais etc. levou, no final dos anos 70, ao desenvolvimento de um grande número de diferentes instrumentos para análises automatizadas. Desenvolvimentos neste campo foram também estimulados pelas vantagens adicionais obtidas com a automação, tais como melhor precisão, custo individual de análise e redução do tempo de análise. Desta maneira, em 1975 foi desenvolvido por Ruzicka e Hansen⁵⁴ o primeiro sistema FI.

A técnica de injeção em fluxo está baseada na injeção de um volume definido de solução da amostra em um fluxo contínuo de uma solução carregadora. A amostra injetada forma uma zona discreta, que sofre vários processos físicos e químicos (dispersão, reação química etc.) até alcançar o detector. O detector registra continuamente as alterações de absorvância, potencial ou outro parâmetro físico usado para a detecção. Os componentes básicos de um sistema para FI

convencional compreendem uma unidade propulsora, um injetor de amostra, um reator e um detector.⁵⁵ Podem ser utilizadas como unidades propulsoras um gás pressurizado, uma bomba peristáltica ou uma seringa. A bomba peristáltica é a mais utilizada. Esta deve produzir uma vazão o mais livre possível de pulsação e ter boa estabilidade no tempo.

O injetor pode ser um comutador manual ou então injetores do tipo válvula rotatório ou solenóide, que podem ser encontradas sob diversas configurações. Os dispositivos eletrônicos geralmente são mais reprodutíveis que os manuais.

Os sistemas FI também são bastante versáteis em relação ao seu acoplamento a detectores. A princípio qualquer detector que permita que a fluxo de uma solução ou gás passe por ele pode ser combinado com sistemas FI. Assim, tornou-se o acoplamento com a CV AAS, onde a saída do sistema em fluxo (ou seja, do separador gás/líquido) é conectada à entrada da cela de atomização.⁵⁶

Os sistemas FI são caracterizados pelo menor consumo de reagentes e amostra, uso de reagentes mais diluídos, conseqüentemente menor geração de resíduos, em relação aos sistemas em batelada. Nestes sistemas as reações químicas e outros processos ocorrem isoladas do meio externo. Essa característica é de suma importância quando o processo analítico é baseado na geração de uma espécie gasosa, pois evita perdas do analito para o ambiente e minimiza também problemas de contaminação.^{55, 57}

Em virtude de algumas vantagens dos sistemas FI frente aos sistemas em batelada, estes vem sendo amplamente utilizados para a determinação de Hg e outros elementos. Diversas configurações de sistemas FI foram propostas para acoplamento com a CV AAS, com reatores e separadores gás-líquido de diferentes modelos, possibilitando também a decomposição de amostras, separação e pré-concentração de espécies de Hg, melhorando o LD e minimizando problemas de interferências. Recentemente, estes sistemas têm sido avaliados, com bom desempenho, em procedimentos de análise de especiação de Hg. Como a reação de redução do mercúrio ocorre em um sistema onde a vazão das soluções e as dimensões físicas não se alteram com o tempo, boa precisão e reprodutibilidade das medidas podem ser obtidas.^{14,57}

Mirabó e colaboradores⁵⁸ desenvolveram um sistema em fluxo para a determinação de mercúrio total por CV AAS após tratamento da amostra com

mistura de HNO_3 e H_2SO_4 com aquecimento por radiação microondas, para a decomposição das espécies orgânicas de Hg. O método proposto foi aplicado a diferentes materiais de referência certificados, como peixes e sedimentos marinhos, onde obtiveram resultados concordantes e o LD foi da ordem de 170 ng g^{-1} e podem ser efetuadas 30 medições h^{-1} .

Galignani e colaboradores⁵⁹ desenvolveram um sistema em fluxo para a determinação de Hg total e Hg(II) com oxidação em linha e detecção por CV AAS. O sistema utiliza válvulas solenóides e forno de microondas focalizado. Para a oxidação utiliza $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 4% (m/v) e SnCl_2 20% (m/v) como redutor. O consumo de amostra é de apenas 0,8 mL e o LD alcançado é de 100 ng L^{-1} .

Río-Segade e Bendicho⁶⁰ desenvolveram um sistema para oxidação em linha das espécies orgânicas de Hg e determinação por FI-CV AAS. Para a oxidação utilizaram H_2SO_4 e $\text{K}_2\text{S}_4\text{O}_8$ e aquecimento a $85 \text{ }^\circ\text{C}$, onde a amostra permanecia por 15 min. Com este tratamento ocorria a degradação das espécies orgânicas de Hg, obtendo assim o sinal do Hg total. A determinação do inorgânico na amostra era feita sem a etapa de oxidação. Efluentes, urina e água do mar foram analisadas com recuperações quantitativas das espécies orgânica e inorgânica de Hg. Os LDs obtidos neste sistema foram de 470 ng L^{-1} para Hg inorgânico e 450 ng L^{-1} para Hg total.

Gomes Neto e colaboradores⁶¹ determinaram mercúrio total em materiais agro-industriais por CV AAS utilizando um sistema FI para pré-concentração de Hg. O Hg foi retido numa coluna contendo resina catiônica Chelite-S[®]. A eluição do analito foi feita diretamente da resina com SnCl_2 na presença de HCl 6 mol L^{-1} . Neste processo o Hg retido na resina é reduzido diretamente a vapor de Hg. Com o sistema proposto foi possível fazer 25 medições h^{-1} , e o LD, quando 10 mL de amostra eram usadas, foi de $0,08 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

Río-Segade e Tyson⁶² determinaram Hg(II) e Hg total em amostras biológicas e sedimento utilizando sistema FI-CV AAS. A forma empregada para diferenciar Hg(II) de MeHg foi de utilizar concentrações diferentes de agente redutor, no caso NaBH_4 . Para Hg total foi utilizado NaBH_4 0,75% (m/v) e para determinar somente Hg(II) foi utilizado NaBH_4 0,0001% (m/v). Segundo os autores, baixas concentrações de NaBH_4 não são eficientes para reduzir o MeHg a Hg^0 , porém o Hg(II) é reduzido. Desta maneira, foi possível determinar o Hg(II) usando baixa concentração do redutor, enquanto que com altas concentrações ambas as espécies são reduzidas.

Por diferença foi calculada a concentração do MeHg. A extração das espécies de Hg da amostra foi feita com HCl 6 mol L⁻¹ ou TMAH com aquecimento por radiação microondas. Os LDs obtidos para Hg(II) e MeHg foram de 24000 ng L⁻¹ e 4000 ng L⁻¹, respectivamente.

Dressler e colaboradores⁶³ desenvolveram um método para a determinação seletiva de espécies de Hg por CVG AAS. Primeiro, as duas espécies voláteis Hg⁰ e HMeHg são geradas mas só é feita a detecção de Hg⁰. Em outra etapa, com a cela aquecida a aproximadamente 700°C, ocorre a degradação do HMeHg e ambas espécies são detectadas, como Hg⁰.

Flores e colaboradores⁶⁴ desenvolveram um método para especiação de Hg em chorume, envolvendo separação das espécies em coluna de troca iônica e pré-concentração em coluna de Au. Para tal, foi utilizado um sistema FI-CVG AAS que permite a detecção individual das espécies. O sistema desenvolvido possibilita LD de 12 ng L⁻¹ para Hg(II) e 9 ng L⁻¹ para MeHg, com um consumo de apenas 10 mL de amostra.

Ferrua e colaboradores⁶⁵ desenvolveram um sistema em fluxo para determinação de Hg total com pré-concentração em coluna de carvão ativado e detecção por CV AAS. O sistema é composto por válvulas de injeção e três bombas peristálticas e, como agente redutor, é utilizado o NaBH₄ a 2% (m/v) e HNO₃ 50% (v/v) como eluente. O consumo de amostra é de 25 mL por medição. Com este sistema foi possível obter um LD de 10 ng L⁻¹.

2.5 Amalgamação de mercúrio

Desde a década de 1970, vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos utilizando a amalgamação de Hg com outro metal, seguida de determinação por CV AAS. A amalgamação é feita pela passagem das espécies voláteis de Hg geradas na reação de redução, através de um “aprisionador”, geralmente na superfície de uma coluna de ouro, na forma de gaze ou esferas de sílica recobertas com Au. Após a retenção do Hg na superfície de Au, o Hg é liberado por aquecimento entre 500 e 700 °C. Neste processo é formado Hg em seu estado fundamental e gasoso. Um gás conduz o Hg até a cela de leitura. Esta técnica minimiza interferências cinéticas

devido às diferenças na taxa de geração do Hg^0 durante a redução, bem como permite o enriquecimento do analito.⁴⁶

Entretanto, alguns hidretos podem “envenenar” por passivação a superfície do aprisionador, levando a uma diminuição da sensibilidade, por diminuir a eficiência do aprisionamento ou de volatilização, ou por ambos os fatores. A presença de umidade também pode causar problemas, principalmente no processo de aprisionamento do vapor de Hg.^{66,67}

Diversos sistemas foram desenvolvidos para fazer o processo de amalgamação de Hg para posterior determinação por uma técnica adequada. Assim, Bruhn e colaboradores⁶⁸ utilizaram um sistema de amalgamação e determinação por CV AAS adaptado de Welz *et al.*⁶⁷ Este sistema consistia de uma coluna de Au-Pt (na forma de gase) para a retenção de mercúrio. A temperatura na dessorção era de 700 °C. Determinaram a concentração total de Hg em amostras de cabelo após digestão em HNO_3 . O LD absoluto obtido foi de 0,13 ng. O método foi validado com materiais de referência certificados e os resultados obtidos foram concordantes.

Magalhães e colaboradores⁶⁹ determinaram Hg em sedimento por CV AAS. A amostra sólida era colocada num frasco de quartzo, o qual era aquecido a 1100 °C por radiação infravermelha. Pelo aquecimento da amostra, o mercúrio era liberado na forma de vapor. Um gás carrega o Hg e outras espécies voláteis através de colunas de alumina-sílica-CuO e de gaze de ouro, colocadas em série. Exceto o Hg, a maioria das espécies voláteis era retida nesta coluna de alumina-sílica-CuO. O Hg retido na coluna de Au era posteriormente liberado da coluna através de aquecimento a 800 °C e carregado até a cela de leitura. Com este sistema, foi possível obter um LD absoluto de 0,26 ng para 4 mg de amostra. Hall e Pelchat⁷⁰ desenvolveram um sistema semelhante ao de Magalhães para a determinação de Hg mediante pirólise da amostra sólida. Este método proporciona ciclos de medida que duram cerca de cinco minutos. Limites de detecção da ordem de 100 ng L⁻¹ foram obtidos. A metodologia também foi utilizada por Costley e colaboradores⁷¹ para a determinação de Hg em solo, sedimento e tecidos biológicos, obtendo LD semelhante.

Wurl e colaboradores⁷² determinaram mercúrio total em água do mar por CV AAS, após amalgamação do Hg em coluna de ouro. Neste trabalho, o objetivo principal era a pré-concentração do elemento, sendo alcançando um LD de 0,1 ng L⁻¹

¹ e uma frequência analítica de 10 medições h⁻¹. As amostras foram decompostas com uma solução de K₂Cr₂O₇ a 0,5% (m/v) em HCl a 8% (v/v).

Krishna e colaboradores⁷³ investigaram o uso de polianilina para especificação e pré-concentração de Hg²⁺ e MeHg em água. A retenção das espécies em coluna preenchida com polianilina foi seletiva em função do pH da solução. A pré-concentração do Hg foi feita com uma coluna de Au e a medição por CV AAS. O LD obtido com a pré-concentração em coluna de Au foi de 0,05 ng L⁻¹ para 500 mL de amostra.

Kan e colaboradores⁷⁴ determinaram Hg total em amostras biológicas utilizando FI-CV AAS combinado com um sistema de amalgamação. NaBH₄ foi empregado como agente redutor. O sistema de amalgamação permitiu reduzir o LD de 10 µg L⁻¹, obtido por CV AAS sem amalgamação, para 1 µg L⁻¹ de Hg.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção são apresentadas a instrumentação utilizada e as configurações desenvolvidas para o sistema FI-CVG AAS, os reagentes e amostras utilizados, os parâmetros avaliados para os ajustes do sistema e a validação do método proposto.

3.1 Instrumentação

As determinações de Hg(II) e MeHg, envolvendo a pré-concentração e detecção das espécies, foram feitas com um sistema de injeção em fluxo acoplado a um espectrômetro de absorção atômica com geração química de vapor (FI-CVG AAS). Utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica Analytik Jena Vario 6 (Jena, Alemanha), equipado com cela de quartzo em forma de "T" (L = 9,8 cm; i.d. = 0,8 cm) com duas entradas para o analito proveniente do separador gás/líquido, que foi confeccionada no laboratório de hialotecnica do Departamento de Química da UFSM. O sistema de injeção em fluxo foi acoplado diretamente a cela de quartzo. Como fonte de radiação específica foi utilizada uma lâmpada de cátodo oco de Hg (comprimento de onda = 253,7 nm; corrente da lâmpada = 3,0 mA, fenda espectral = 0,8 nm). Para a correção de fundo foi utilizada uma lâmpada de arco de deutério. As medições foram feitas empregando a área do sinal de absorvância.

3.1.1 Desenvolvimento do sistema FI-CVG AAS

Diversas configurações desse sistema foram testadas antes de estabelecer o sistema FI-CVG AAS utilizado neste trabalho. Inicialmente foi desenvolvido um sistema FI-CVG AAS mostrado na Figura 1.a, adaptado de Flores e colaboradores.⁶⁴ Com o auxílio de uma bomba peristáltica, uma solução mista de Hg(II) e MeHg e HCl 3 mol L⁻¹ é bombeada através de uma coluna trocadora de ânions fortemente básica. Esta coluna retém o Hg(II) na forma de clorocomplexo aniônico (HgCl₄²⁻), deixando passar o MeHg. Após esta coluna, a solução contendo o MeHg é misturada com uma solução de NaBH₄, o que leva a geração de HMeHg. Este é carregado até a coluna de ouro e adsorvido. Posteriormente, uma solução de NaBH₄ é bombeada pela coluna de troca aniônica com a finalidade de remover o Hg(II) através de sua redução a Hg⁰. Este é carregado até a cela de detecção, através do canal que não contém a coluna de ouro no caminho. Após a leitura do sinal do Hg(II), é feita a dessorção térmica do Hg retido na coluna de ouro por uma lâmpada halógena a

cerca de 500 °C. Portanto, nesta etapa é feita a determinação do MeHg, na forma de Hg^0 .

Uma segunda configuração foi desenvolvida para a determinação de Hg(II) e Hg total, conforme mostrado na Figura 1.b. A coluna de troca aniônica foi retirada e ao sistema são adicionadas quatro válvulas solenóides de três vias, que são controladas por um programa de computador, possibilitando programar as duas medições seqüencialmente. As válvulas V_1 e V_2 controlam a injeção de amostra e redutor, a válvula V_3 controla o sentido do fluxo para fazer a medição de Hg(II) ou total. A válvula V_4 foi utilizada para permitir a parada de fluxo de argônio no momento da leitura do analito. A coluna de ouro é colocada próximo a entrada da cela de detecção e a lâmpada halógena acima da mesma. A determinação de Hg(II) ocorre diretamente e a determinação de Hg total ocorre após a pré-concentração na coluna de ouro. Nesta etapa era feito o interrompimento do fluxo de argônio no sistema, cuja finalidade era melhorar a sensibilidade.

A Figura 1.c mostra uma terceira configuração testada, onde, a posição da coluna de ouro e da lâmpada halógena são modificadas, ficando mais afastadas do espectrômetro, a V_4 foi retirada do sistema, sendo que não ocorre mais interrompimento do fluxo de argônio.

O sistema da Figura 1.d é constituído por uma bomba peristáltica com oito canais (Gilson Mini Plus 3, França), três válvulas solenóides de três vias (Cole-Parmer), cujo acionamento é controlado por um microcomputador, um separador gás/líquido (GL) (L = 10 cm; i.d. = 1 cm) e um "trap" (L = 7,5 cm; i.d. = 1,7 cm) contendo 1 mL de H_2SO_4 concentrado (mostrado na Figura 2). Também foi utilizado um fluxômetro de 0 a 500 mL min^{-1} com graduação de 25 mL min^{-1} , tubos de Tygon[®] de diversos diâmetros para bomba peristáltica e tubos de Teflon[®] (i.d. = 0,8 mm) para transporte das soluções no sistema FI.

Para a redução do Hg e geração do HMeHg, a solução contendo os analitos é misturada em linha com a solução de NaBH_4 . As espécies voláteis Hg^0 e MeHgH são transportadas para a cela de detecção ou para a coluna de ouro através do auxílio de um fluxo de argônio (99,996% de pureza, White Martins, Brasil) passando pelo GL e por um "trap" contendo H_2SO_4 concentrado para reter gotículas de água. As espécies de Hg amalgamadas são termicamente dessorvidas da coluna de Au por uma lâmpada halógena (250 W) à temperatura em torno de 500 °C, sendo carregadas até a cela de quartzo pelo fluxo de argônio.

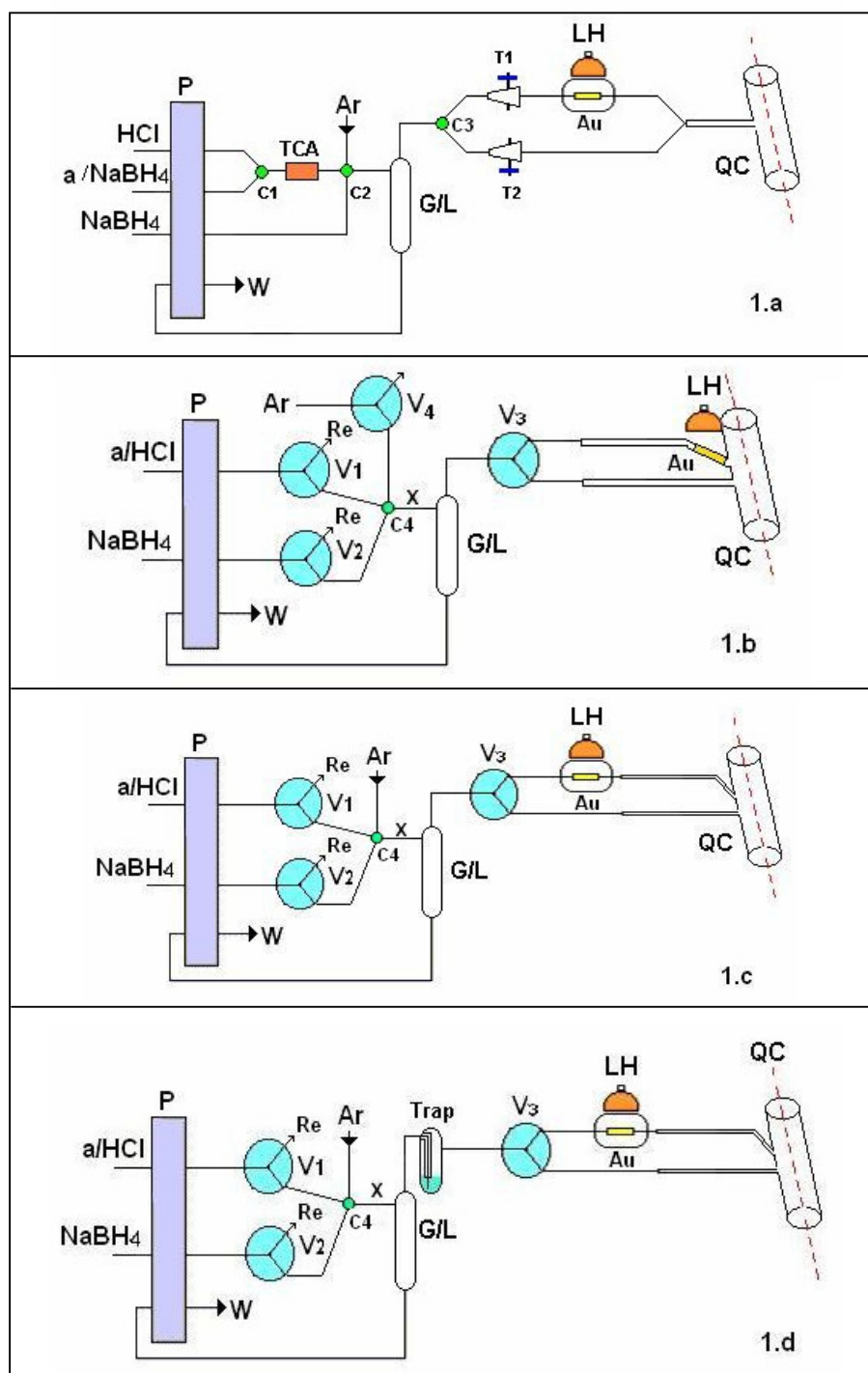


Figura 1. Configurações (a, b, c, d) de sistemas FI-CVG AAS testadas no trabalho. a: amostra; P: Bomba peristáltica, W: descarte; C₁, C₂, C₃ e C₄: confluências; CTA: coluna de troca aniônica; T₁ e T₂: torneiras; V₁, V₂, V₃ e V₄: válvulas solenóides de três vias; Ar: argônio; GL: separador gás/líquido; Au: coluna de ouro; LH: lâmpada halógena; QC: cela de quartzo; x: reator (L = 36 cm); Trap: “trap” contendo H₂SO₄; Re: recirculação das soluções.

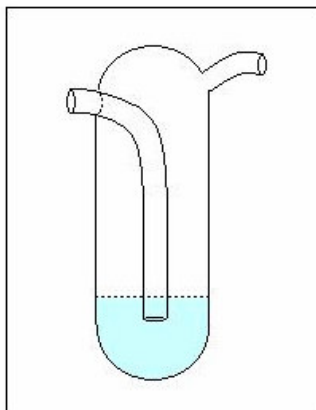


Figura 2. “Trap” de vidro contendo ácido sulfúrico utilizado no sistema FI-CV AAS para a retenção de umidade.

Na Tabela 1 está descrito o programa de acionamento das válvulas solenóides, o qual corresponde ao sistema FI da Figura 1.d Os programas empregados para o acionamento das válvulas solenóides das Figuras 1.b e 1.c não serão mostrados, uma vez que somente o sistema da Figura 1.d foi usado no trabalho. Na primeira etapa, são acionadas as válvulas V_1 , V_2 e V_3 , de forma que o vapor de Hg gerado (Hg^0 e $HMeHg$) é conduzido diretamente para a cela de quartzo. Nesta etapa é feita a determinação do $Hg(II)$. Na segunda etapa, as válvulas V_1 e V_2 são acionadas e o vapor de Hg gerado (Hg^0 e $HMeHg$) é conduzido até a coluna de Au. Após um período de tempo pré-estabelecido, as válvulas V_1 e V_2 são desligadas. Na terceira etapa o Hg amalgamado é dessorvido da coluna de Au através do seu aquecimento e o vapor de Hg^0 conduzido até a cela de detecção.

Tabela 1. Programa de acionamento das válvulas solenóides do sistema FI da Figura 1.d.

Etapa	Tempo, s	Válvula ligada	Ação
1	0 - 35	V ₁ , V ₂ e V ₃	Determinação do Hg(II)
2	35 - 80	V ₁ e V ₂	Determinação do Hg total
3	80 - 130	—	Leitura do sinal do Hg total

3.2 Reagentes e soluções

A água utilizada foi previamente destilada e deionizada em uma coluna trocadora de íons e purificada em um sistema Milli Q[®] (Millipore, EUA). Os seguintes ácidos foram usados: ácido nítrico (65% (m/v), Merck, Alemanha) e ácido clorídrico (37% (m/v), Merck, Alemanha), ambos bidestilados em sistema de sub-ebulição da Milestone (duoPUR 2.01E, Itália). A solução de HCl 1,0 mol L⁻¹, utilizada para o preparo das soluções de calibração, foi preparada a partir da solução de HCl 6,0 mol L⁻¹, a qual foi previamente tratada com NaBH₄ 0,5% (m/v) para purificação (eliminação de Hg). HNO₃ a 30% (v/v) foi utilizado para descontaminação da vidraria e demais materiais utilizados no trabalho.

A solução estoque de Hg(II) 1000 mg L⁻¹ em HNO₃ 30% (v/v), foi preparada a partir de solução Titrisol[®] (Merck, Alemanha), contendo 1000 ± 0,002 mg L⁻¹ de Hg em HNO₃ 2% (v/v). A solução estoque de MeHg 100 mg L⁻¹ foi preparada a partir da dissolução de CH₃HgCl em metanol (12,518 mg de CH₃HgCl em 10 mL de metanol) e aferida com HCl 1 mol L⁻¹, esta solução foi armazenada sob refrigeração e ao abrigo da luz. A partir destas duas soluções estoques foram preparadas duas soluções de referência de 1 mg L⁻¹ de Hg²⁺ e 1 mg L⁻¹ de MeHg em HCl 3 mol L⁻¹. Todas as soluções de Hg utilizadas neste trabalho foram diluídas a partir destas duas soluções de referência. A solução do agente redutor NaBH₄ (Vetec, Brasil) foi

preparada diariamente, em solução NaOH 0,01% (m/v), com concentração de 0,1% (m/v).

3.3 Amostras

Amostras de água natural foram analisadas. A amostra denominada A é uma água mineral comercial. As amostras B e C são águas subterrâneas e coletadas na própria Universidade Federal de Santa Maria. A água B foi coletada da torneira do laboratório e a água C foi coletada diretamente de um dos poços artesianos. As amostras foram coletadas em frascos de polipropileno de 50 mL contendo 8,33 mL de HCl 6 mol L⁻¹ e analisadas logo após a coleta.

3.4 Ajuste do sistema FI-CVG AAS

Para se obter o melhor desempenho do sistema FI-CVG AAS fez-se necessário o ajuste dos principais parâmetros que influenciam sobre a pré-concentração e a geração de Hg⁰ e HMeHg. Para estes estudos foram utilizadas soluções de Hg(II) e MeHg, HCl e NaBH₄ descritas no item 3.2 (Reagentes e soluções). Cada solução foi medida em triplicata. A concentração do HCl, do redutor, volume da amostra e as vazões do gás de arraste e das soluções foram as variáveis investigadas. Todos os parâmetros foram ajustados de forma a obter máxima sensibilidade e boa precisão, tanto para a determinação do Hg(II), como para o MeHg.

3.4.1 Ajuste das condições de geração do vapor de Hg para a determinação de Hg(II)

Para verificar a influência da vazão do Ar, das soluções e do volume de amostra no perfil do sinal de Hg(II), foi utilizada solução de 500 ng L⁻¹ de Hg(II) preparada em HCl 1 mol L⁻¹. Inicialmente foi verificada a influência da vazão do Ar na faixa de 25 a 125 mL min⁻¹, mantendo-se fixa a concentração de NaBH₄ a 0,05% (m/v). Fixadas estas variáveis, foi avaliada a vazão da amostra, na faixa de 2 a 10 mL min⁻¹, e o volume de amostra injetado no sistema, na faixa de 1 a 5 mL.

Para verificar a influência das concentrações de HCl e NaBH₄ na geração do vapor de Hg⁰, o volume de amostra injetado foi de 2 mL [solução de 500 ng L⁻¹ de Hg(II)], a vazão da amostra em 10 mL min⁻¹ e redutor em 2 mL min⁻¹ e a vazão de argônio de 25 mL min⁻¹. A intensidade do sinal para Hg(II) foi avaliada variando-se a concentração de HCl na amostra entre 0,25 e 3,0 mol L⁻¹ e o NaBH₄ entre 0,005 e 1,0% (m/v). Também, foi avaliada a concentração de NaBH₄ necessária para a geração de Hg⁰ a partir da redução de MeHg, com injeção de 2 mL de solução de 500 ng L⁻¹ de MeHg (como Hg) em HCl 1 mol L⁻¹, variando-se a concentração de NaBH₄ de 0,05 a 1,0% (m/v).

3.4.2 Ajuste das condições de pré-concentração para determinação do Hg total

Inicialmente avaliou-se a influência das concentrações de HCl e NaBH₄ na pré-concentração de Hg⁰ e HMeHg na coluna de ouro. Injeção de 5 mL de solução a 1000 ng L⁻¹ de Hg(II) e 1000 ng L⁻¹ de MeHg (como Hg) a uma vazão de 10 mL min⁻¹ e vazão de argônio de 25 mL min⁻¹. Variou-se a concentração de HCl na amostra de 0,5 a 2,0 mol L⁻¹ e NaBH₄ de 0,025 a 1,0% (m/v). De forma a se obter a melhor relação sinal-ruído para Hg total foi verificado a capacidade de pré-concentração da coluna de ouro para ambas as espécies de Hg estudadas e para o branco, utilizando soluções a 100 ng L⁻¹ de Hg(II) e 100 ng L⁻¹ de MeHg (como Hg) em HCl 1 mol L⁻¹ e NaBH₄ a 0,1% (m/v). Foram injetados volumes de amostra de 1 a 14 mL.

3.4.3 Dessorção térmica do Hg amalgamado

A vazão do gás de arraste e a temperatura são os parâmetros de maior influência sobre o sinal do Hg no processo da sua dessorção da coluna de Au. Foi avaliado o perfil do sinal em relação à vazão de argônio durante a dessorção térmica do Hg amalgamado. A vazão foi variada de 25 a 125 mL min⁻¹ mantendo-se fixas as variáveis descritas no item 3.4.2 (Ajuste das condições de pré-concentração para determinação do Hg total). A temperatura utilizada para a dessorção térmica do Hg da coluna de ouro não foi variada, devido à ausência de um sistema adequado para controle de potência da lâmpada halógena. Desta forma, a temperatura foi mantida a aproximadamente 500 °C.

3.5 Análise de especiação de Hg em água

As amostras descritas no item 3.3 (Amostras) foram processadas no sistema FI-CVG AAS, descrito no item 3.1.1 (Desenvolvimento do sistema FI-CVG AAS), empregando o programa de acionamento das válvulas descrito na Tabela 1 e com as condições operacionais estabelecidas. Cada amostra foi analisada em 5 replicatas. As concentrações das espécies de Hg(II) e MeHg são obtidas pela determinação de Hg(II) e Hg total. Por diferença destas duas concentrações obtém-se a concentração do MeHg.

As determinações foram feitas por calibração externa, processando as soluções de calibração da mesma forma que as amostras. Foram preparadas soluções padrão de Hg(II) em concentrações entre 10 e 10000 ng L⁻¹ conforme as soluções descritas no item 3.2 (Reagentes e soluções). A intensidade do sinal do branco foi descontado em todas as medições.

3.6 Validação da metodologia

A metodologia desenvolvida neste trabalho foi validada a partir de testes de recuperação do analito nas amostras A, B e C. Na amostra A foram adicionados 100 ng de Hg total contendo 5 ng de MeHg e 95 ng de Hg(II) em 50 mL de amostra, que corresponde a 2000 ng L⁻¹ de Hg total (denominado de *spike 1*). Na amostra B foram adicionados 100 ng de Hg total contendo 95 ng de MeHg e 5 ng de Hg(II) (*spike 2*). Na amostra C foram adicionados 10 ng de Hg total contendo 5 ng de MeHg e 5 ng de Hg(II) em 50 mL de amostra, que corresponde a 200 ng L⁻¹ de Hg total (*spike 3*). A adição dos analitos nas amostras foi feita pouco antes da medição.

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste capítulo são apresentados os resultados das otimizações realizadas no sistema FI-CV AAS, bem como a discussão do comportamento verificado nas otimizações e as condições estabelecidas, envolvendo a calibração e as figuras de mérito. Por fim são apresentados os resultados de recuperação utilizados para a validação do sistema proposto para as determinações de Hg(II) e total.

4.1 Avaliação do sistema FI-CV AAS

Foram testadas quatro configurações do sistema FI-CVG AAS, descritas no item 3.1.1 (Desenvolvimento do sistema FI-CVG AAS). O sistema mostrado na Figura 1.a apresentou um comportamento pouco reproduzível, pois a coluna de troca aniônica não apresentava bom desempenho, além da elevada contaminação observada neste sistema, sendo que várias resinas de troca aniônica foram testadas sem sucesso.

O sistema mostrado na Figura 1.b o qual apresenta uma configuração bem diferente do anterior, proporcionou uma medição mais rápida e observou-se uma maior sensibilidade, porém os sinais foram pouco reproduzíveis e influenciados pelo funcionamento da lâmpada halógena na dessorção térmica do Hg da coluna. Os motivos da baixa repetibilidade nas medidas provavelmente se devem em função da luz emitida pela lâmpada halógena e refletida pela cela de quartzo, a qual pode alcançar o detector do espectrômetro. Este sistema foi modificado, como está mostrado na Figura 1.c. Desta forma, os resultados ficaram mais reproduzíveis que os do sistema anterior, porém, foi verificado o aparecimento de umidade na coluna de ouro. Esta umidade foi originada na reação do redutor com a solução amostra e pode ser a causa de uma redução do sinal do MeHg em relação ao Hg(II) de cerca de 10%. Além disso, pode interferir na precisão das medidas do Hg total. Em vista disso, a adição de um “trap” contendo H₂SO₄ para reter as gotículas de água que vão para a coluna de ouro, foi utilizada. Este “trap”, mostrado na Figura 2 (*Materiais e Métodos*), reduziu a umidade na coluna de ouro. Este efeito já tinha sido observado em um estudo de Welz e colaboradores⁶⁷ que testaram alguns agentes secantes para retenção da umidade gerada na reação de redução de Hg, verificando que o borbulhamento do vapor de Hg em uma solução de H₂SO₄ retinha grande parte da umidade. Dessa forma, o sistema mostrado na Figura 1.d (*Materiais e Métodos*) é o sistema de melhor desempenho, sendo o sistema usado neste trabalho para a especiação de Hg.

O sistema FI-CV AAS foi avaliado e ajustado de forma a possibilitar a determinação, tanto do Hg(II) quanto do Hg total. As variáveis avaliadas estão descritas nos itens 3.4.1; 3.4.2; 3.4.3 (Ajuste do sistema FI-CVG AAS).

4.1.1 Influência da vazão de argônio sobre a intensidade do sinal do Hg(II)

O argônio, que tem a função de transportar o vapor de Hg^0 gerado na reação de redução até a cela de detecção, influencia na intensidade e perfil do sinal analítico, conforme é mostrada na Figura 3. Na vazão de 25 mL min^{-1} observam-se os maiores valores de absorvância. Rio-Segade e Tyson⁶² verificaram que o aumento da vazão do gás carreador provoca a diminuição da intensidade do sinal, devido à diluição do vapor de Hg^0 na cela de detecção, além disso, altas vazões do gás carreador podem arrastar gotículas de água do GL para a cela de detecção. O mesmo comportamento foi observado por Leal e colaboradores.⁷⁵ Embora a vazão de 25 mL min^{-1} leve a um sinal levemente arrastado, comparando-se com vazões maiores, é possível integrá-lo em 30 s. Portanto, esta é a vazão fixada para todos os experimentos. Na Figura 3 está mostrado o comportamento das intensidades dos sinais para Hg(II).

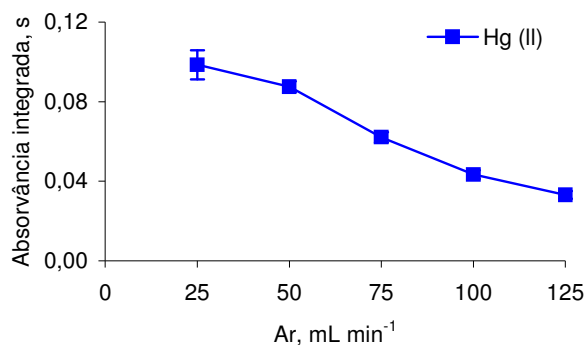


Figura 3. Influência da vazão de argônio sobre a intensidade do sinal para Hg(II). Solução de 500 ng L^{-1} de Hg(II) em $\text{HCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} e NaBH_4 0,05% (m/v) a 2 mL min^{-1} .

4.1.2 Influência da vazão da amostra sobre a intensidade do sinal do Hg(II)

No sistema proposto, a vazão da amostra influencia o sinal do Hg(II). O aumento da vazão causa um aumento na intensidade do sinal do Hg, sendo assim, utilizada vazão de 10 mL min⁻¹. Flores e colaboradores⁶⁴ observaram em estudo semelhante que, o aumento da vazão costuma causar turbulência da solução, mas leva a desvios padrão relativos (RSD) inferiores a 5%. Nesta vazão de 10 mL min⁻¹ o sistema tem boa estabilidade e leva a RSD inferiores a 4%. Nesta condição, a vazão do agente redutor foi de 2,0 mL min⁻¹. Na Figura 4 está mostrado o comportamento da intensidade do sinal para Hg(II).

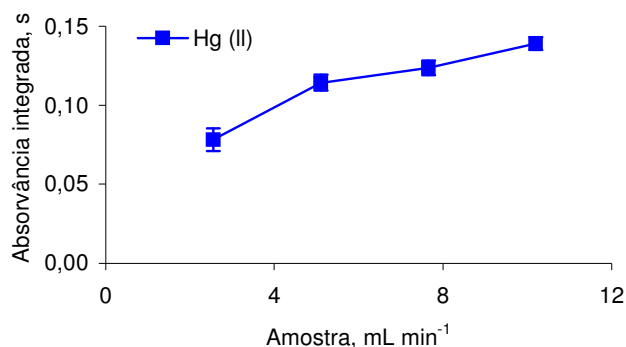


Figura 4. Influência da vazão da amostra sobre a intensidade do sinal do Hg(II). Solução de 500 ng L⁻¹ de Hg(II) em HCl 1,0 mol L⁻¹ e NaBH₄ a 0,05% (m/v). Vazão do NaBH₄ a 2,0 mL min⁻¹. Vazão de argônio a 25 mL min⁻¹.

4.1.3 Influência do volume de amostra sobre a intensidade do sinal do Hg(II)

O volume de amostra introduzido no sistema proposto influencia no perfil do sinal analítico. Com o aumento do volume de solução de amostra introduzido no sistema há um aumento proporcional na área de pico, como mostra a Figura 5. Isto também foi observado nos trabalhos de Gallignani e colaboradores⁵⁹ e Dressler e colaboradores⁶³. Porém, com o aumento do volume de amostra introduzido há

somente o aumento do sinal em área, mas a altura permanece inalterada após determinado volume de amostra injetado. Isto diminui a relação sinal-ruído. Assim, a condição escolhida foi da introdução de 2 mL de solução amostra.

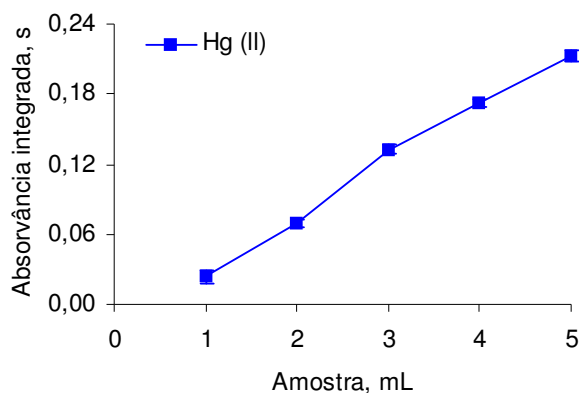


Figura 5. Influência do volume de amostra introduzida no sistema sobre a intensidade do sinal para Hg(II). Solução de 500 ng L^{-1} de Hg(II) em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} e NaBH_4 $0,05\% \text{ (m/v)}$ a $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Vazão de argônio a 25 mL min^{-1} .

4.1.4 Influência das concentrações de HCl e NaBH_4 sobre a intensidade do sinal do Hg(II)

As concentrações de HCl e NaBH_4 foram variadas individualmente. A influência da concentração de NaBH_4 na intensidade do sinal está mostrada na Figura 6. Até $0,1\% \text{ (m/v)}$ a intensidade do sinal para Hg(II) foi menor e a partir de $0,25\% \text{ (m/v)}$ verificou-se o aparecimento de umidade na tubulação da saída do separador GL. Observou-se também a formação de bolhas no “trap” contendo H_2SO_4 e gotículas de água na tubulação posterior ao “trap”, demonstrando que nesta condição o “trap” não retém mais a umidade. Em vista disso, a condição escolhida foi de $0,1\% \text{ (m/v)}$ de NaBH_4 . Bendicho e Rio-Segade³⁰ verificaram, em estudo da influência da concentração da solução de NaBH_4 , que o sinal começou a diminuir de intensidade com o aumento da concentração, devido à diluição do vapor de Hg^0 pelo

aumento da quantidade de gás H_2 gerado. A mesma observação foi feita, posteriormente, por Flores e colaboradores.⁶⁴

A influência da concentração de HCl sobre o sinal do Hg(II) está mostrada na Figura 7, onde se pode observar que a melhor condição ocorre quando se utiliza a concentração de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Em concentrações menores de HCl o sinal é um pouco menos intenso, provavelmente, devido a concentração não ser suficiente para a redução do $NaBH_4$ e conseqüente redução do Hg. Em concentrações mais elevadas a intensidade do sinal do branco aumenta consideravelmente. Este mesmo comportamento foi observado por Flores e colaboradores⁶⁴ que trataram a solução de HCl previamente com solução de $NaBH_4$ para reduzir a contaminação, conforme está descrito no item 3.2 (Reagentes e soluções).

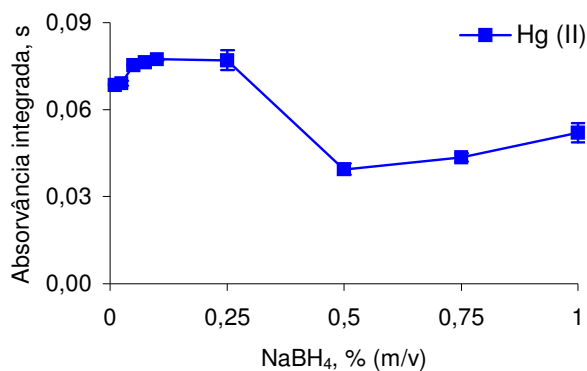


Figura 6. Influência da concentração do $NaBH_4$ sobre a intensidade do sinal de Hg(II). Introdução de 2 mL de solução de Hg(II) a 500 ng L^{-1} em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} e vazão do redutor a 2 mL min^{-1} . Vazão de argônio de 25 mL min^{-1} .

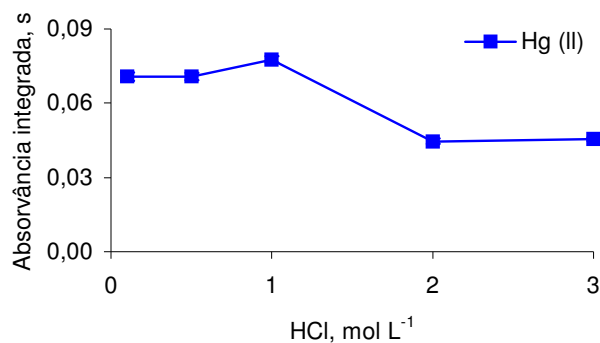


Figura 7. Influência da concentração de HCl sobre a intensidade do sinal do Hg(II). Introdução de 2 mL de solução de Hg(II) a 500 ng L^{-1} a 10 mL min^{-1} e NaBH_4 de 0,1% (m/v) a 2 mL min^{-1} . Vazão de argônio a 25 mL min^{-1} .

Rio-Segade e Tyson⁶² verificaram que o MeHg pode ser reduzido a Hg^0 , dependendo da concentração de NaBH_4 . Em vista disso, avaliou-se a concentração de NaBH_4 necessária para reduzir o MeHg a Hg^0 , no sistema proposto. Na condição estabelecida de 0,1% (m/v) de solução de NaBH_4 para a determinação de Hg(II) foi verificado que a geração de Hg^0 a partir de MeHg não ocorre ou é desprezível até 0,5% (m/v), conforme pode ser observado na Figura 8. A partir de 0,75% (m/v) de NaBH_4 , a geração de Hg^0 a partir de MeHg torna-se significativa.

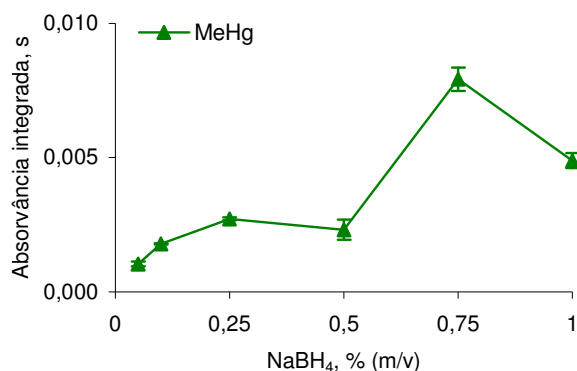


Figura 8. Influência da concentração de NaBH₄ na geração de Hg⁰ a partir do MeHg. Introdução de 2 mL de solução de MeHg a 500 ng L⁻¹ (como Hg) em HCl 1,0 mol L⁻¹ a 10 mL min⁻¹. Vazão de argônio de 25 mL min⁻¹ e vazão de NaBH₄ a 2,0 mL min⁻¹.

4.1.5 Influência das concentrações de HCl e NaBH₄ sobre a intensidade do sinal do Hg total

As concentrações de HCl e NaBH₄ foram novamente testadas a fim de se verificar suas influências na pré-concentração das espécies de Hg(II) e MeHg na coluna de ouro, para a determinação de Hg total. O comportamento das espécies foi verificado, separadamente, a fim de se escolher as condições onde ambas as espécies tenham a mesma intensidade de sinal, pois a concentração de MeHg será calculada por diferença da concentração entre o Hg(II) e o total. Na Figura 9 pode-se observar a influência da concentração de NaBH₄ na pré-concentração das duas espécies de Hg estudadas. O comportamento foi diferente do observado na determinação do Hg(II), pois o aumento da intensidade do sinal é proporcional ao aumento da concentração de redutor, visto que nesta etapa não ocorre interferência da diluição do vapor pelo aumento do H₂, somente o vapor de Hg desorvido da coluna de ouro está presente na cela de leitura. Observa-se também que nas concentrações entre 0,1 e 0,5% (m/v) obtêm-se intensidades semelhantes de sinal de ambas as espécies, mas, com NaBH₄ 0,5% (m/v), o RSD foi maior possivelmente devido ao aumento da umidade na coluna de ouro. Em função disso, optou-se por utilizar a concentração de NaBH₄ de 0,1% (m/v).

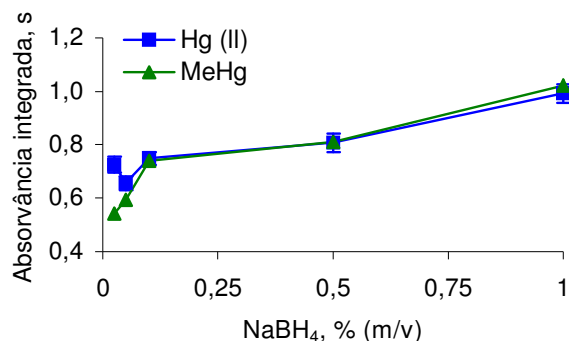


Figura 9. Influência da concentração de NaBH₄ na geração de vapor de Hg (Hg⁰ e MeHgH) e retenção na coluna de Au. Introdução de 5 mL de solução de Hg(II) a 1000 ng L⁻¹ e 1000 ng L⁻¹ de MeHg (como Hg) em HCl 1,0 mol L⁻¹ a uma vazão de 10 mL min⁻¹. Vazão de argônio de 25 mL min⁻¹ e vazão do redutor a 2,0 mL min⁻¹.

O comportamento da concentração de HCl na intensidade do sinal de ambas as espécies está mostrado na Figura 10, onde observa-se pouca variação de sinal com o aumento da concentração do ácido. Na concentração de 1,0 mol L⁻¹ de HCl a intensidade do sinal de ambas espécies é igual, sendo, portanto, esta a concentração escolhida.

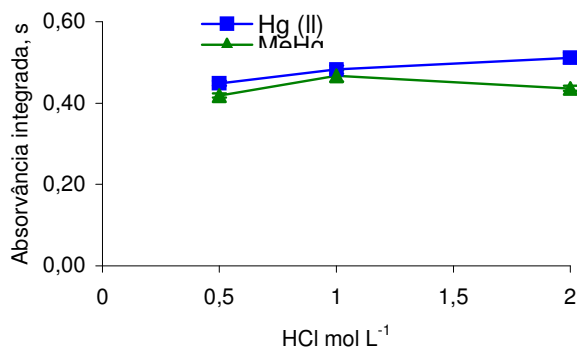


Figura 10. Influência da concentração de HCl na geração de vapor de Hg (Hg⁰ e MeHgH) e retenção na coluna de Au. Introdução de 5 mL de solução de Hg(II) a 1000 ng L⁻¹ e 1000 ng L⁻¹ de MeHg (como Hg) a uma vazão de 10 mL min⁻¹, NaBH₄ a 0,1% (m/v) com vazão de 2,0 mL min⁻¹. Vazão de argônio de 25 mL min⁻¹.

A fim de se avaliar a melhor condição de pré-concentração das espécies Hg^0 e MeHgH na coluna de ouro, verificou-se o volume injetado na pré-concentração para a determinação de Hg total. Como pode ser visto na Figura 11, a intensidade do sinal é a mesma para ambas as espécies, quando se pré-concentra o volume de 6,8 mL de amostra, sem apresentar um sinal substancial do branco. Para volumes menores de 6,8 mL, a intensidade do sinal branco é pouco pronunciada, porém para volumes maiores ocorre um aumento da intensidade do sinal do branco. Além disso, a intensidade do sinal para MeHg é menor do que o sinal para Hg(II), o que acarretaria em erro na quantificação da concentração do MeHg. Por isso, o volume ideal de pré-concentração na coluna de ouro é o de 6,8 mL.

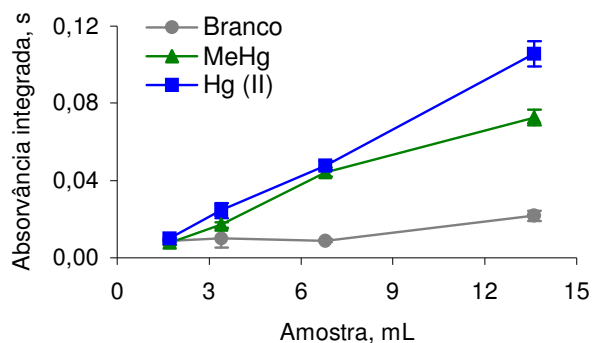


Figura 11. Influência do branco sobre a intensidade do sinal do Hg total para diferentes volumes de solução processados. Soluções de 100 ng L^{-1} de Hg(II) e 100 ng L^{-1} de MeHg em HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ a 10 mL min^{-1} e NaBH_4 a 0,1% (m/v) a 2 mL min^{-1} e vazão de argônio de 25 mL min^{-1} .

4.1.6 Influência da vazão do argônio sobre a intensidade do sinal do Hg total

A vazão de argônio exerce influência sobre a intensidade do sinal para ambas as espécies de Hg. Como pode ser observado na Figura 12, a vazão de 25 mL min^{-1} foi a condição que levou a obtenção de sinais mais intensos e semelhantes para ambas as espécies, sendo, portanto, esta a vazão escolhida para a dessorção térmica do Hg da coluna de ouro.

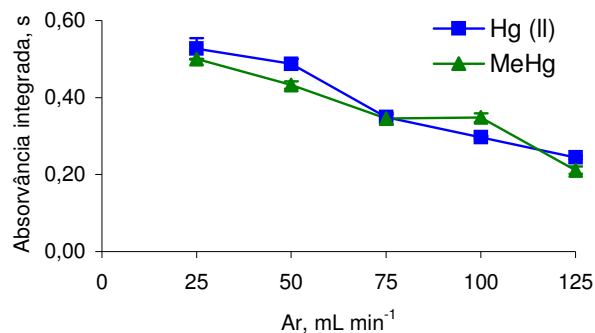


Figura 12. Influência da vazão de argônio sobre a intensidade do sinal do Hg total. 6,8 mL de solução 100 ng L⁻¹ de Hg (II) e 100 ng L⁻¹ de MeHg em HCl 1,0 mol L⁻¹ a 10 mL min⁻¹ e NaBH₄ a 0,1% (m/v) a 2 mL min⁻¹.

4.2 Parâmetros operacionais do sistema FI-CVG AAS

Após avaliar os principais parâmetros que influenciam no desempenho do sistema FI-CVG AAS mostrado na Figura 1.d, as condições adequadas para a determinação de Hg(II) e Hg total foram estabelecidas. Na Tabela 2 estão descritas as condições operacionais estabelecidas para o sistema proposto.

Tabela 2. Parâmetros operacionais do sistema FI-CVG AAS da Figura 1.d para a determinação de Hg total e Hg(II).

Parâmetro	Condição	
Volume de amostra, mL	Hg(II)	2,0
	Hg total	6,8
Vazão da amostra e redutor, mL min ⁻¹	10 e 2, respectivamente	
Vazão de argônio, mL min ⁻¹	25,0	
Concentração de HCl, mol L ⁻¹	1,0	
Concentração de NaBH ₄ , % (m/v)	0,1	

4.3 Parâmetros de mérito do sistema FI-CVG AAS

As condições para a obtenção das curvas de calibração para a determinação de Hg(II) e total estão descritas no item 3.5 (Análise de especificação de Hg em água). O coeficiente de correlação (R^2) para a curva de calibração do Hg(II) foi de 0,992 e de R^2 0,998 para Hg total. Com o sistema proposto é possível fazer 24 medições por hora, o que corresponde a 12 ciclos por hora (a cada ciclo é feita a medição de Hg(II) e Hg total). Os RSD, mostrados na Tabela 3, para a determinação de Hg(II) correspondem a uma solução de 500 ng L⁻¹ de Hg. O valor de RSD para a determinação de Hg total, correspondem a soluções de 100 ng L⁻¹ de Hg(II) e MeHg. A massa característica (m_0) foi calculada considerando uma absorção de 1% (absorvância de 0,0044). Os demais parâmetros de mérito do procedimento desenvolvido estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros de mérito do sistema FI-CVG AAS.

Parâmetro	Hg(II)	MeHg	Hg Total
Limite de detecção, ng L ⁻¹	68	9,5	
Limite de detecção absoluto, pg	136	64	
Massa característica, pg	48		80
Faixa Linear, ng L ⁻¹	100 a 5000		50 a 2000
RSD, %	< 2		< 3
Frequência de análise, h ⁻¹	12		12

4.4 Validação do sistema FI-CV AAS proposto para análise de especificação de Hg em água

Para a validação do método proposto foram feitos testes de recuperação (*spike*) conforme descrito no item 3.6 (Validação da metodologia). Na Tabela 4 estão mostradas as concentrações encontradas sem a adição de analito na amostra, e os resultados dos testes de recuperação são mostrados na Tabela 5.

Tabela 4. Concentração de Hg determinada nas amostras. Os resultados correspondem a média e o desvio padrão de 5 determinações.

Amostra	Hg, ng L ⁻¹	
	Hg(II)	MeHg
A	< LD	< LD
B	145,3 ± 1,3	< LD
C	< LD	< LD

<LD: concentração inferior a 68 ng L⁻¹ para Hg(II) e inferior a 9,5 ng L⁻¹ para MeHg.

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 4, as amostras estudadas possuem concentrações de Hg abaixo das concentrações mínimas detectáveis pelo sistema FI-CVG AAS, exceto a amostra B. O valor de 145 ng L⁻¹ de Hg(II) encontrado na amostra B possivelmente deve ser devido a contaminação da amostra nas tubulações metálicas das quais a amostra foi coletada. Segundo a portaria 518 do Ministério da Saúde⁷⁶ que permite uma concentração máxima de 1000 ng L⁻¹ de Hg total em águas naturais, as amostras analisadas estão dentro do que é exigido para uma água ser potável.

Tabela 5. Teste de recuperação de Hg nas amostras de água. Os resultados correspondem a um volume de amostra de 50 mL e a média com respectivas 5 determinações.

Amostra	Massa de Hg adicionada, ng		Massa de Hg encontrada, ng		Recuperação, %	
	Hg(II)	MeHg	Hg(II)	MeHg	Hg(II)	MeHg
A	95	5	96,2 ± 0,1	5,0 ± 0,1	101	100
B	5	95	12,1 ± 1,0	92,4 ± 1,1	97	97
C	5	5	5,0 ± 0,1	4,9 ± 0,1	101	97

Como pode ser observado a partir dos dados mostrados na Tabela 5, as recuperações de Hg(II) e MeHg estão na faixa de 97 a 101%. A partir destes dados pode-se concluir que a metodologia proposta é confiável para a determinação destas espécies nas amostras de água utilizadas.

5. CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos neste trabalho pode-se concluir que:

- O sistema permite que as medições de Hg(II) e Hg total tenham boa repetibilidade e reprodutibilidade.
- Bons limites de detecção para Hg(II) e para MeHg (como Hg) foram obtidos, comparando-se com outros trabalhos utilizando sistema FI e a técnica de CV AAS para a detecção de Hg⁰.
- O sistema FI-CVG é relativamente simples de ser implementado, sendo de baixo custo e facilmente acoplável ao espectrômetro de absorção atômica.
- É um método rápido, se comparado com outros trabalhos utilizando sistema FI, pois permite executar a medição seqüencial de Hg(II) e Hg total com uma freqüência de 24 medições por hora.
- Com o sistema o consumo de amostra e reagentes é baixo.
- O sistema leva a obtenção de resultados com boa exatidão (avaliada a partir de teste de recuperação dos analitos, cujos valores ficaram entre 97 e 101%).
- O sistema FI-CVG AAS desenvolvido neste trabalho é adequado para a análise de especiação de Hg nas amostras de águas estudadas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AZEVEDO, F. A. *Toxicologia do Mercúrio*. São Carlos, SP, Ed. RIMa, 2003, 292p.
2. MOREL, F. M. M.; KRAEPIEL, A. M. L.; AMYOT, M. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, v. 29, p. 543-566, 1998.
3. NASCIMENTO, E. S. & CHASIN, A. A. M. *Ecotoxicologia do mercúrio e seus compostos*. Salvador, Bahia. RCA, v.1, 2001. 165p.
4. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Mercury study report to congress: health effects of mercury and mercury compounds. EPA-452/R-97-007. United States, v. 5, 1997.
5. ROCHA, J. C. & ROSA, A. H. *Substâncias húmicas aquáticas-Interações com espécies metálicas*. São Paulo, SP. Ed. da UNESP, 2003, 121p.
6. BISINOTI, M. C. *Produção de Hg orgânico em sedimentos tropicais a partir do Hg⁰: experimentos em microcosmos*. 2002. 165f. Dissertação de mestrado (mestrado em química) - Unicamp, Campinas, 2002.
7. WHO, World Health Organization. *Methylmercury: environment health criteria*, Geneva. v. 118, 1990.
8. GREENWOOD, N. N. & EARNSHAW, A. *Chemistry of the Elements*, 2nd ed. U.K. Butterworth Heinemann, 2001, p.1225-1226.
9. CRAIG, P. J. *Organometallic Compounds in the Environment*, 2nd ed. Guildford, UK. John Wiley & Sons, 2003, p. 57-100.
10. FILIPELLI, M. & BALDI, F. Alkylation of ionic mercury to methylmercury and dimethylmercury by methylcobalamin: simultaneous determination by purge-and-trap CG in line with FTIR, *Appl. Organ. Chem.*, v.12, p. 487-493, 1993.
11. EBDON, L. *Trace Element Speciation for Environment, Food and Health*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2001, p. 91-102.
12. IRGOLIC, K. J. & MARTELL, A. E. *Environmental Inorganic Chemistry*. San Miniato, Itália: VCH, 1985, 654P.
13. LEERMAKERS, M. *et al.* Mercury in environmental samples: speciation, artifacts and validation, *Trends in Anal. Chem.*, v. 24, p. 383-393, 2005.

14. URÍA, J. E. S. & SANZ-MEDEL, A. Inorganic and methylmercury speciation in environmental samples, *Talanta*, v. 47, p. 509-524, 1998.
15. CANÁRIO, J. *et al.* Simple method for monomethylmercury determination in estuarine sediments, *Trends in Anal. Chem.*, v. 23, p. 799-806, 2004.
16. HEIDEN, R. W. & AIKENS, D. A. Humic acid as a preservative for trace mercury (II) solutions stored in polyolefin containers, *Anal. Chem.*, v. 55, p. 2327-2332, 1983.
17. CERTIFICATE ORMS-1, National Research Council of Canada: Ottawa, Ontário, 1982.
18. DEVAI, I. *et al.* Changes in methylmercury concentration during storage: effect of temperature, *Organic Geochem.*, v. 32, p. 755-758, 2001.
19. LITMAN, R., FINSTON, H. L., WILLIAMS, E. T. Evaluation of sample pretreatments for mercury determination, *Anal. Chem.*, v. 47, p. 2364-2369, 1975.
20. PARKER, J. & BLOOM, N. S. Preservation and storage techniques for low-level aqueous mercury speciation, *Sci. Tot. Environ.*, v. 337, p. 253-263, 2005.
21. FALTER, R.; HINTELMANN, H.; QUEVAUVILLER, P. Conclusion of the workshop on "sources of error in methylmercury determination during sample preparation, derivatisation and detection", *Chemosphere*, v. 39, p. 1039-1049, 1999.
22. WESTÖÖ, G. Determination of methylmercury compounds in foodstuffs: Methylmercury compounds in fish identification and determination, *Acta Chem. Scand.*, v. 20, p. 2131-2137, 1966.
23. FILIPPELLI, M. Feasibility study for a BCR sediment methyl mercury reference material production, *Chemosphere*, v. 39, p. 1199-1210, 1999.
24. LORENZO, R. A. *et al.* Methylmercury extraction from aquatic sediments, *Trends Anal. Chem.*, v. 18, p. 410-416, 1999.
25. DONARD, O. F. X. *et al.* Open focused microwave-assisted sample preparation procedures: Fundamentals and application to the speciation of tin and mercury in environmental samples, *Spectrosc.*, v.13, p. 99-111, 1997.
26. CAPELO, J. L. *et al.* Mercury determination by FI-CV-AAS after the degradation of organomercurials with the aid of an ultrasonic field: The important role of the hypochlorite ion, *Talanta*, v. 68, p. 813-818, 2006.

27. RAMALHOSA, E. *et al.* Microwave-assisted extraction for methylmercury determination in sediments by high performance liquid chromatography-cold vapor atomic fluorescence spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, v. 16, p. 643-647, 2001.
28. HORVAT, M.; BLOOM, N.S.; LIANG, L. Comparison of distillation with other current isolation methods for the determination of methyl mercury compounds in low level environmental samples: Part 1. Sediments, *Anal. Chim. Acta*, v. 281, p. 135-152, 1993.
29. BLOOM, N. S.; COLMAN, J. A.; BARBER, L. Artifact formation of methyl mercury during aqueous distillation and alternative techniques for the extraction of methyl mercury from environmental samples, *Fresenius J. Anal. Chem.*, v. 358, p. 371-377, 1997.
30. RÍO-SEGADE, S. & BENDICHO, C. Slurry sampling combined with ultrasonic pretreatment for total mercury determination in samples containing inorganic and methylmercury by flow injection-cold vapor-atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, v.14, p. 1907-1912, 1999.
31. COLLASOL, A.; POZEBON, D.; MAIA, S.A. Ultrasound assisted mercury extraction from soil and sediment, *Anal. Chim. Acta*, v. 518 p. 157-164, 2004.
32. CAMEL, V. & LISKA, I. Fifty years of solid-phase extraction in water analysis- historical development and overview, *J. Chromatography A*, v. 3, p. 885, 2000.
33. CHWASTOWSKA, J. *et al.* Chelating 2-mercaptobenzothiazole loaded resin. Application to the separation of inorganic and alkylmercury species for their atomic absorption spectrometry determination in natural waters, *Talanta*, v. 49, p. 837-842, 1999.
34. STURGEON, R. E. & JIMENEZ, M. S. Speciation of methyl- and inorganic mercury in biological tissues using ethylation and gas chromatography with furnace atomization plasma emission spectrometric detection, *J. Anal. At. Spectrom.*, v. 12, p. 597-601, 1997.
35. MONDAL, B. C. & DAS, A. K. determination of mercury with a resin functionalized with 1,2-bis(o-aminophenylthio)ethane moiety, *Anal. Chim. Acta.*, v. 477, p. 73-80, 2003.
36. RÍO-SEGADE, S. & TYSON, J. F. Determination of methylmercury and inorganic mercury in water samples by slurry sampling cold vapor atomic

- absorption spectrometry in a flow injection system after preconcentration on silica C18 modified, *Talanta*, v. 71, p. 1696-1702, 2007.
37. COSSA, D. *et al.* Automated technique for mercury determination at sub-nanogram per liter levels in natural waters, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, v. 10 p. 287-291, 1995.
 38. ATALLÃH, R. D. & KALMAN, D. Selective determination of inorganic mercury and methylmercury in tissues by continuous-flow and cold vapor atomic-absorption spectrometry, *J. Anal. Toxicol.*, v. 17, 87-92, 1993.
 39. JITARU, P. & ADAMS, F.C. Speciation analysis of mercury by solid-phase microextraction and multicapillary gas chromatography hyphenated to inductively coupled plasma-time-of-flight-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, v. 1055, p. 197-207, 2004.
 40. RÍO-SEGADE, S. & BENDICHO, C. On-line high-performance liquid-chromatographic separation and cold vapor atomic absorption spectrometric determination of methylmercury and inorganic mercury, *Talanta*, v. 48, p. 477-484, 1999.
 41. TUTSCHKU, S.; SCHANTZ, M. M.; WISE, S. A. Determination of methylmercury and butyltin compounds in marine biota and sediment using microwave-assisted acid extraction, solid-phase microextraction, and gas chromatography with microwave-induced plasma atomic emission spectrometric detection, *Anal. Chem.*, v. 74, p. 4694-4701, 2002.
 42. HINTELMANN, H. & EVANS, R. D. Application of stable isotopes in environmental tracer studies – Measurement of monomethylmercury by isotope dilution ICP-MS and detection of species transformation: *Fresenius J. Anal. Chem.*, v. 358, p. 378-385, 1997.
 43. RAHMAN, G.M. & KINGSTON, H.M. Application of speciated isotope dilution mass spectrometry to evaluate extraction methods for determining mercury speciation in soils and sediments, *Anal. Chem.*, v. 76, p. 3548-3555, 2004.
 44. WALSH, A. The application of atomic absorption spectra to chemical analysis, *Spectrochim. Acta*, v. 7, 108p, 1955.
 45. WOODSON, T. T. *Rev. Sci. Instrum.*, v. 10, 308p, 1939. *in* WELZ, B. & SPERLING, M. *Atomic Absorption Spectrometry*. 3rd ed. Weinheim, Germany: VCH, 1999, 941p.

46. WELZ, B. & SPERLING, M. *Atomic Absorption Spectrometry*. 3rd ed. Weinheim, Germany: VCH, 1999, 941p.
47. POLUEKTOV, N. S.; VITKUN, R. A.; ZELYUKOVA, Y. V. *Zh. Anal. Khim.* V. 19, 873p, 1964. in WELZ, B. & SPERLING, M. *Atomic Absorption Spectrometry*. 3rd ed. Weinheim, Germany: VCH, 1999, 941p.
48. 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* v. 292, p. 175-183, 1994.
49. MAGOS, L., Selective atomic-absorption determination of inorganic mercury and methylmercury in undigested biological samples, *Analyst*, v. 96, p. 847-853, 1971.
50. CAPELO, J. L.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Room temperature sonolysis - based advanced oxidation process for degradation of inorganic and total mercury in waters by flow injection-cold vapor atomic absorption spectrometry, *Anal. Chem.*, v. 72, p. 4979-4984, 2000.
51. BARANOWSKA, I., SZMYD, E. Elimination of interferences from Cu, Pb, Ag, Au, Pt, Pd and Se in the determination of mercury by CVAAS using sodium tetrahydroborate (III) reduction in copper concentrates, *Fresenius J. Anal. Chem.*, v. 350, p. 178-180, 1994.
52. SEILER, H. G.; SIGET, A.; SIGEL H., *Handbook on metals in clinical and analytical chemistry*. New York, USA : Marcel Dekker, 1994, p. 67-69.
53. HOYER, B.; ROKKJAER, I.; JENSEN, N. Annotation paper: Interference by volatile nitrogen oxides in the determination of mercury by flow injection cold vapor atomic absorption spectrometry, *Talanta*, v. 40, n. 5, p. 729-735, 1993.
54. RUZICKA, J. & HANSEN, E. H., Flow injection analyses, *Anal. Chim. Acta* v. 78, p. 145-157, 1975.
55. RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. *Flow Injection Analysis*. 2nd ed. New York, USA: John Wiley & Sons, 1988, 528p.
56. KARLBERG, B., PACEY, G. E., *Flow Injection Analysis - a practical guide*. 1st ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 1989, 372p.
57. DAS, A. K.; GUARDIA, M.; CERVERA, M. L. Literature survey of on-line elemental speciation in aqueous solutions, *Talanta*, v. 55, p. 01-28, 2001.

58. MIRABÓ, F. M. *et al.* Sequential injection analysis system for determination of mercury by cold-vapor atomic absorption spectroscopy, *Anal. Chim. Acta*, v. 355, p. 203-210, 1997.
59. GALLIGNANI, M. *et al.* A time-based flow injection-cold vapor-atomic absorption spectrometry system with on-line microwave sample pre-treatment for the determination of inorganic and total mercury in urine, *Anal. Chim. Acta*, v. 369 p 57-67, 1998.
60. BENDICHO, C. & RÍO-SEGADE, S. Determination of total and inorganic mercury in biological and environmental samples with on-line oxidation coupled to flow injection-cold vapor atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B*, v. 54, p. 1129-1139, 1999.
61. GOMES NETO, J. A. G. *et al.* Determination of mercury in agroindustrial samples by flow-injection cold vapor atomic absorption spectrometry using ion exchange and reductive elution, *Talanta*, v. 51, p. 587-594, 2000.
62. 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*, v. 58, p. 797-807, 2003.
63. DRESSLER, V. L. *et al.* Determination of inorganic and total mercury by vapor generation atomic absorption spectrometry using different temperatures of the measurement cell, *Spectrochim. Acta Part B*, v. 60, p. 705-710, 2005.
64. FLORES, E. L M. *Separação e pré-concentração on-line para especificação de Hg em chorume por FI-CVG AAS.* 2005, 73f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.
65. FERRUA, N. *et al.* On-line preconcentration and determination of mercury in biological and environmental samples by cold vapor-atomic absorption spectrometry, *J. Hazard. Mater.*, v. 141, p. 693-699, 2006.
66. SINEMUS, H. W. *et al.* Automated determination of mercury by continuous flow vapors generation and collection in a graphite tube, *Spectrochim. Acta Part B*, v. 48, p. 643-648, 1993.
67. WELZ, B. *et al.* Picotrace determination of mercury using the amalgamation technique, *At. Spectrosc.*, v. 5, p. 37-42, 1984.

68. BRUHN, C. G. *et al.* Determination of total mercury in scalp hair of humans by gold amalgamation cold vapor atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, v. 9, p. 535-541, 1994.
69. MAGALHÃES, C. E. C. *et al.* Direct determination of mercury in sediments by atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, v. 12, p. 1231-1234, 1997.
70. HALL, G. E. M. & PELCHAT, P. Evaluation of a direct solid sampling atomic absorption spectrometer for the trace determination of mercury in geological samples, *Analyst*, v. 122, p. 921-924, 1997.
71. COSTLEY, C. T. *et al.* Determination of mercury in environmental and biological sample using pyrolysis atomic absorption spectrometry with gold preconcentration, *Anal. Chim. Acta*, v. 405, p. 179-183, 2000.
72. WURL, O.; ELSHOLZ, O.; EBINGHAUS, R. On-line determination of total mercury in the Baltic Sea, *Anal. Chim. Acta*, v. 438, p. 245-249, 2001.
73. KRISHNA, M. V. B. *et al.* Preconcentration and speciation of inorganic and methyl mercury in waters using polyaniline and gold trap-CVAAS, *Talanta*, v. 68, p. 329-335, 2005.
74. KAN, M. *et al.* Determination of total mercury in biological samples using flow injection CVAAS following tissue solubilization in formic acid, *Talanta*, v. 68, p. 1259-1263, 2006.
75. LEAL, L. O. *et al.* Determination of mercury by multisyringe flow injection system with cold-vapor atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, v. 574, p. 399-405, 2006.
76. MINISTÉRIO DA SAÚDE, Portaria 518: 25 de março de 2004, www.portal.saude.gov.br, acessado em 26/01/2007.

