

## Artigo

**Determinação de Mercúrio Lábil em Amostras de Sólidos Totais Suspensos em Águas Naturais por Análise Direta por Decomposição Térmica comparando via Espectrometria de Fluorescência Atômica de Vapor Frio**

da Rocha, S. D.;\* Torrezani, L.; Bolson, M. A.; Sargentini Junior, É.; da Silva, R. F.; Menegário, A. A.

*Rev. Virtual Quim.*, 2020, 12 (6), 1398-1410. Data de publicação na Web: 22 de Setembro de 2020

<http://rvq.sbq.org.br>

**Determination of Labile Mercury in Impressions of Total Solids Suspended in Natural Waters by Direct Analysis by Thermal Decomposition Comparing via Cold Steam Atomic Fluorescence Spectrometry**

**Abstract:** This work presents the validation of an analytical method for determining the labile fraction of Hg in water bottles. One proposal was reduced in reducing the temperature of glass fiber glass filters (0.7  $\mu\text{m}$  GF / F), so that there was no loss of Hg. After the digestion step with concentrated  $\text{HNO}_3$  (EPA 3051a), as HgL determinations were performed by the direct mercury analyst (DMA), confirm by the comparative method of steam vapor atomic fluorescence spectrometry (CV-AFS). A concentration of HgL applied by the DMA technique ranged from 0.044 to 0.145  $\text{ng mL}^{-1}$ , while CV-AFS varied from 0.002 to 0.138  $\text{ng mL}^{-1}$ . Regarding recovery, the results obtained for both methods were 113.6% and 107.0%, respectively. An analysis of the results showed that there was no statistically significant difference ( $p < 0.05$ ), showing good accuracy of the technical proposal. The evaluation of the displayed response surface, which measures the total content (TSS), increases, the HgL concentration also increases. ANOVA showed statistical significance when the independent variables were correlated with the content of the TSS (95% level). Thus, as the analyzes that determine the determination of HgL in the TSS of river water are possible via DMA, as long as the boundary conditions (temperature control and cleaning of glassware) are followed.

**Keywords:** Labile mercury; suspended solids; analytical validation.

**Resumo**

Este trabalho apresenta a validação de um método analítico para a determinação da fração lábil de Hg em amostras de água. A proposta foi baseada na redução da temperatura de secagem dos filtros de fibra de vidro (0,7  $\mu\text{m}$  GF/F), para que não houvesse perda de Hg. Após a etapa de digestão com  $\text{HNO}_3$  concentrado (EPA 3051a), as determinações de HgL foram obtidas pelo Analisador de Mercúrio Direto (DMA), confirmando pelo método comparativo de Espectrometria de Fluorescência Atômica a Vapor Frio (CV-AFS). A concentração de HgL obtida pela técnica de DMA variou de 0,044 a 0,145  $\text{ng mL}^{-1}$ , enquanto que para CV-AFS variou de 0,002 a 0,138  $\text{ng mL}^{-1}$ . Em relação à recuperação, os resultados obtidos para ambos os métodos foram de 113,6% e 107,0%, respectivamente. A análise dos resultados mostrou que não houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ), mostrando boa precisão da técnica proposta. A avaliação da superfície de resposta mostrou que, à medida que o conteúdo total de sólidos (TSS) aumenta, a concentração de HgL também aumenta. A ANOVA apresentou significância estatística quando as variáveis independentes foram correlacionadas com o conteúdo do TSS (nível de 95%). Assim, as análises mostraram que a determinação de HgL na TSS da água fluvial é possível via DMA, desde que as condições de contorno (controle de temperatura e limpeza de vidrarias) sejam seguidas.

**Palavras-chave:** Mercúrio lábil; sólidos suspensos; validação analítica.

\* Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Ciências Exatas, Programa de Pós Graduação em Química, CEP 69067-005, Manaus-AM, Brasil

# Determinação de Mercúrio Lábil em Amostras de Sólidos Totais Suspensos em Águas Naturais por Análise Direta por Decomposição Térmica comparando via Espectrometria de Fluorescência Atômica de Vapor Frio

Siomara D. da Rocha,<sup>a,b,\*</sup>  Larissa Torrezani,<sup>c</sup> Marcos A. Bolson,<sup>b</sup> Ézio Sargentini Junior,<sup>b</sup> Raiza F. da Silva,<sup>d</sup> Amauri A. Menegário<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Ciências Exatas, Programa de Pós Graduação em Química, CEP 69067-005, Manaus–AM, Brasil.

<sup>b</sup> Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, CEP 69060-001, Manaus–AM, Brasil.

<sup>c</sup> Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais, Serviço Geológico do Brasil, CEP 69060-000, Manaus–AM, Brasil.

<sup>d</sup> Universidade Estadual Paulista, Centro de Estudos Ambientais, CEP 13506-900, Rio Claro–SP, Brasil.

\*[siomararocha@ufam.edu.br](mailto:siomararocha@ufam.edu.br)

*Recebido em 19 de Junho de 2020. Aceito para publicação em 11 de Agosto de 2020.*

## 1. Introdução

## 2. Experimental

2.1. Reagentes e soluções

2.2. Amostras

2.3. Filtragem das amostras de água para obtenção dos sólidos em suspensão totais

2.4. Digestão das amostras assistida por micro-ondas

2.5. Determinação de Hg lábil por CV-AFS

2.6. Determinação de Hg lábil por analisador de combustão DMA

## 3. Parâmetros de Validação

3.1. Linearidade

3.2. Precisão (repetitividade)

3.3. Limite detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

3.4. Exatidão (tendência/recuperação)

## 4. Resultados e Discussão

4.1. Parâmetros de validação

4.2. Determinação do Hg lábil em (SST)

## 5. Conclusão

## 1. Introdução

No meio aquático há ocorrência acentuada de uma ampla gama de íons metálicos e altas taxas de metais associados a matéria orgânica. Sendo as principais fontes destes metais, decorrentes de atividades industriais, ou mesmo, naturais, associadas a geologia local. Dentre estes metais, destaca-se o mercúrio, por conta do seu ciclo biogeoquímico e por apresentar uma série de transformações e interações com constituintes dos diversos compartimentos ambientais: água, ar, solo e biota. E mesmo que em baixas concentrações no ambiente pode representar sérios riscos de bioacumulação e biomagnificação, sendo possível tornar-se uma fonte potencialmente tóxica à nível trófico na cadeia alimentar.<sup>1-3</sup>

Estudos em rios temperados demonstraram que os parâmetros limnológicos são importantes controladores do transporte e da metilação do mercúrio.<sup>4-6</sup> Este ciclo é caracterizado por várias rotas que este metal pode seguir no ambiente. Dentre elas, destaca-se a sua liberação do solo e da água para atmosfera, seu transporte nesta seguido da deposição atmosférica das espécies de mercúrio para a água e solo. Dessa forma, ressalta-se a importância do estudo do material em suspensão, pois este é um dos parâmetros que está intrinsecamente relacionado com o processo de exportação do metal pelo leito do rio. Sendo que o aporte de partículas e nutrientes sólidos carregados para o ambiente aquático é facilitado pela hidrodinâmica, pela geomorfologia, pelo desmatamento, pelos índices pluviométricos e pelo vento. Lembrando que a disponibilidade de luz no ecossistema aquático também influencia diretamente no metabolismo desses materiais em suspensão.<sup>7</sup>

Neste contexto, a determinação das frações de sólidos presentes na água, fornece uma informação importante para a caracterização de águas naturais. Contudo, as legislações estabelecidas por órgãos ambientais ainda não possuem limites de referência para o teor de mercúrio retido no material particulado em suspensão em corpos hídricos. Considerando que o aumento da taxa de sedimentação no fundo dos rios também influencia as características dos sedimentos, podendo afetar o processo geoacumulativo e de acumulação biológica de metais.<sup>8-9</sup> Algumas pesquisas também abordam a

correlação entre metais e o tamanho da partícula dos sedimentos, sugerindo que partículas mais finas contenham concentração mais elevada de metais.<sup>10-11</sup>

Bisinoti *et al.*<sup>1</sup> destacaram que no Brasil, a região amazônica é a área mais estudada por apresentar altos valores de Hg. Embora, ainda não tenham sido confirmados quais são os parâmetros limnológicos que influenciam mais fortemente na dinâmica do mercúrio e se esta influência varia ao longo do ano. Kasper e colaboradores<sup>2</sup> evidenciaram que os estudos sobre o ciclo do mercúrio na Amazônia enfrentam dois problemas importantes: a complexa logística de campo e concentrações naturais que podem ser muito baixas, além da grande dificuldade em acessar certos ambientes de coleta. As amostras podem ter um curto prazo de validade. Portanto, devem ser rapidamente transportadas para o local de análise. As técnicas utilizadas devem ter baixo limite de detecção, uma vez que as matrizes possuem baixas concentrações de mercúrio em ambientes naturais e podem ser facilmente contaminadas nas condições de campo.

A proposta de adaptação da técnica usualmente empregada para determinação de sólidos em suspensão totais em águas naturais, apresenta uma série de vantagens, como: sua simplicidade, a qual permite seu emprego em qualquer amostra de água, apenas necessitando de ajustes de temperatura para etapa de secagem dos filtros e adição de mais uma etapa de digestão por micro-ondas para obter o digerido contendo o metal. As técnicas de instrumentação analíticas geralmente empregadas são as que fornecem altos níveis de sensibilidade da leitura dos digeridos, e o método existente mais utilizado é baseado na técnica de geração de vapor a frio acoplada com espectrometria de fluorescência atômica (CV-AFS). Outras técnicas também podem ser empregadas por serem dedicadas, como o analisador direto de mercúrio (DMA). Esta técnica é utilizada para análise de Hg total e não de sua fração lábil. Por isso há interesse em realizar a validação desse método para que possa ser utilizado para análise de Hg lábil.

Em um estudo recente, Pestana e colaboradores desenvolveram um método para determinação de HgT e MeHg em amostras de água, materiais em suspensão e sedimentos de um lago artificial do rio Madeira. Durante a etapa de obtenção dos materiais em suspensão, propuseram a utilização

de filtro de fibra de vidro com porosidade 0,7  $\mu\text{m}$  (GF/F). Para tanto, a descontaminação dos filtros foi realizada por via ácida. Em seguida foram feitas as determinações do Hg presente no material em suspensão e sedimento por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Fluorescência de Vapor Frio (GC-CV-AFS). Em seus resultados, os autores afirmaram que o Hg total apresentou maior afinidade pelo material em suspensão do que pela matéria orgânica dissolvida, apontando que os SST podem ser transportadores muito eficientes para o metal.<sup>12</sup>

Desta maneira, ainda há a necessidade de estudos complementares sobre a dinâmica do mercúrio na região Amazônica, principalmente em ambientes de águas pretas onde o aporte de material orgânico é elevado e contribui para a formação e permanência das espécies orgânicas desse metal no ambiente. Com base neste levantamento, a proposta desta pesquisa é validar um método para investigação da distribuição do mercúrio lábil em sólidos suspensos totais através da proposta de otimização do método padrão de análise para (SST) previsto no Método 2540 - Standard Methods<sup>13</sup>, aplicando as devidas condições de contorno e critérios de aceitação de qualidade dos resultados. E analisando as determinações por Analisador Direto de Mercúrio (DMA-80<sup>o</sup>) confirmando os resultados via comparação com outra técnica analítica devotada para mercúrio: Espectrometria de Fluorescência Atômica de Vapor Frio (CV-AFS), Tekran<sup>o</sup> Series 2600.

## 2. Experimental

### 2.1 Reagentes e soluções

A lavagem das vidrarias e garrafas utilizadas para os ensaios foi feita de acordo com o protocolo adaptado EPA-1630e (2001).<sup>14</sup> Foram lavadas com detergente Extran 5%, deixadas em BrCl 1% (por 12 h) e HNO<sub>3</sub> 10% (por 48 h). Após esse período, as vidrarias foram retiradas da solução ácida e enxaguadas exaustivamente com água deionizada e dispostas para secar em capela estéril. Em seguida foram guardadas em dois sacos plásticos com fecho hermético. Amostras branco foram feitas para avaliar a contaminação de todo processo de análise. Após a coleta, as amostras de água foram preservadas com HCl (1%) e em seguida refrigeradas protegidas da

luz. Os padrões e todas as soluções utilizados nos procedimentos de análises foram preparados com água Ultrapura produzida no deionizador de água (PURELAB Ultra<sup>o</sup>) com condutividade de 1  $\mu\text{S cm}^{-1}$  (18,2 M $\Omega\text{ cm}^{-1}$ ). O ácido HNO<sub>3</sub> foi previamente purificado pelo processo de destilação abaixo do ponto de ebulição (Distillacid<sup>o</sup>) para minimizar os níveis de contaminação elementar. Neste trabalho foi utilizado o material de referência certificado: CNS301- Trace Elements on Fresh Water Sediment (Sigma Aldrich/USA). Tanto as soluções-padrão quanto as amostras foram acidificadas utilizando-se HCl 30% (Suprapur<sup>o</sup> – Merck).

### 2.2 Amostras

Amostras de água superficial destinada a otimização dos métodos analíticos foram coletadas em apenas 1 ponto de amostragem no rio Negro (3<sup>o</sup>09'01,6"S, 59<sup>o</sup>57'09,7"W) próximo à saída de efluente da Refinaria de Petróleo de Manaus (REMAN). Sendo armazenadas em garrafas de polietileno. Após a coleta, as amostras foram preservadas com HCl (1%) e em seguida refrigeradas e protegidas da luz até o momento das análises laboratoriais, dando seguimento às análises no mesmo dia da coleta. Durante todo processo de análise foram feitas amostras branco para avaliar possível contaminação. Foram mensurados alguns parâmetros físico-químicos *in situ*: o pH, a condutividade elétrica (CE), o oxigênio dissolvido (OD) e a temperatura (°C).

### 2.3 Filtragem das amostras de água para obtenção dos sólidos em suspensão totais

Antes da coleta de água para a análise de Hg lábil em SST, os filtros de fibra de vidro com porosidade de 0,7  $\mu\text{m}$  (Whatman GF/F) foram descontaminados em mufla (550  $\pm$  50 °C) por 1h. Esfriados em dessecador, pesados com precisão de 0,1 mg em balança analítica (AY220 - Shimadzu<sup>o</sup>) e armazenados em placas de petri estéreis (Kasvi<sup>o</sup>) individuais até o momento de uso, conforme método desenvolvido por Pestana *et al.* (2019) para análise de rotina.<sup>12</sup> Após a coleta da água, foram filtradas 09 amostras com auxílio de aparato para filtração (Nalgene<sup>o</sup>) e bomba à vácuo (VACUUBRAND<sup>o</sup>). Para tanto, um volume de 1 L foi filtrado para cada membrana. Após esta etapa, a parte filtrada foi descartada e os filtros com os sólidos retidos foram então submetidos

à análise gravimétrica para determinação dos sólidos suspensos totais, secados em estufa até 45°C (temperatura otimizada do método padrão para que não houvesse perda do mercúrio retido nos SST). Em seguida foi calculada a massa final de acordo com o ensaio da série sólidos (Método 2540 - Standard Methods).<sup>13</sup> O teor de SST é dado em mg L<sup>-1</sup>, conforme a Equação 1:

$$\text{SST (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{P_{\text{final}} - P_{\text{inicial}}}{V} \times 1000 \quad (1)$$

Onde: P<sub>final</sub> = Peso da amostra mais a placa de Petri, em mg; P<sub>inicial</sub> = Peso da tara da placa de Petri vazia em mg; V = Volume da amostra filtrada.

#### 2.4 Digestão das amostras assistida por micro-ondas

Posteriormente à pesagem dos filtros secos, cada amostra foi transferida para tubos de Teflon específicos do forno de micro-ondas (CEM Corporation, MARSXpress®). Em seguida foram adicionados 5 mL de ácido nítrico concentrado, P.A (previamente destilado). Os tubos de teflon foram organizados no carrossel e levados ao forno micro-ondas. Sendo configurado conforme recomendado pela U.S.EPA 3051a<sup>15</sup>, conforme especificado na Tabela 1.

Após o término da extração, o carrossel foi retirado do forno micro-ondas e foi aguardado o tempo de 20 minutos necessários para o equilíbrio térmico dos frascos à temperatura ambiente. Em seguida, os tubos foram abertos em capela com sistema de exaustão ligado. Após a abertura dos tubos, os extratos foram transferidos para balões volumétricos de 50 mL com sucessivas lavagens dos resíduos retidos nos filtros de fibra de vidro (0,7 µm) com água deionizada. Em seguida, as amostras foram encaminhadas para a etapa de determinação de mercúrio lábil por Analisador Direto (DMA-80®) e por Espectrometria de Fluorescência Atômica de Vapor Frio (CV-AFS), Tekran® Series 2600.

As amostras de Material de Referência Certificado - MCR de sedimento foram submetidas ao mesmo procedimento empregado para as amostras de sólidos em suspensão. Foram efetuados estudos de precisão e recuperação durante o processo analítico proposto. Embora o equipamento DMA-80 seja devotado para análise de HgT, o método proposto neste trabalho objetivou analisar a fração lábil de Hg presente no material em suspensão e requereu uma abertura parcial das amostras (método EPA 3051a)<sup>15</sup>, tendo em vista analisar alíquotas de uma mesma amostra em ambos equipamentos para a comparação dos resultados.

#### 2.5 Determinação de Hg lábil por CV-AFS

As concentrações de Hg<sub>L</sub> nas amostras digeridas do material em suspensão foram determinadas quantitativamente por CV-AFS, equipamento Tekran®, Series 2600, sua operação foi realizada pelo software Tekran-Mercury Data System. Utilizando o Argônio 5.0 como gás de arraste e como agente redutor o Cloreto Estanhoso (SnCl<sub>2</sub>) e carregador da solução branco contendo os reagentes. As condições operacionais do equipamento estão descritas na Tabela 2, conforme U.S.EPA 1631e.<sup>14</sup> A curva analítica foi determinada em seis níveis de concentração: 0,5; 1,0; 5,0; 25; 50 e 100 ng L<sup>-1</sup> de Hg.

O procedimento baseou-se na transferência do conteúdo digerido das amostras para tubos falcons descontaminados de 50 mL, adicionando-se 250 µL da mistura na proporção (1:5) das soluções KBrO<sub>3</sub>/KBr, e depois de 30 minutos foi adicionado 50µL de Cloridrato de Hidroxilamina (NH<sub>2</sub>OH-HCl), para remover o excesso da KBrO<sub>3</sub>/KBr. A concentração de mercúrio lábil das amostras foi calculada por meio da curva analítica, levando-se em conta o pico de absorvância registrado no período de 20 seg. Analisou-se as amostras, em duplicata, efetuando-se paralelamente um ensaio branco dos reativos com água deionizada.

**Tabela 1.** Parâmetros de funcionamento do forno micro-ondas

Parâmetro	Ajuste
Potência	650-1000 W
Temperatura aproximada	175 °C
Tempo sobre pressão (hold)	4 min e 30 s
Pressão aproximada	130 psi (9 atm)
Tempo de rampa (Ramp)	5 min e 30 s

**Tabela 2.** Parâmetros instrumentais (CV-AFS) para determinação de HgL

Parâmetro	Ajuste
SnCl <sub>2</sub> 5% (m/v) em HCl Suprapur concentrado	Vazão do Agente Redutor 3,5 mL min <sup>-1</sup>
Branco: HCl 30%; KBrO <sub>3</sub> /KBr 100%	Vazão do branco 7,0 mL min <sup>-1</sup>
NH <sub>2</sub> OH-HCl 12% (m/v) purgada por 12 h	
Gás arraste – Argônio	Vazão do Gás 75,0 mL min <sup>-1</sup>
Tempo de Ganho	10 s
Tempo de Perda	15 s
Tempo de Análise	30 s
Tempo de Gravação	20 s

### 2.6. Determinação de Hg lábil por analisador de combustão DMA

O DMA é um analisador totalmente dedicado à determinação de Hg em diferentes matrizes usando os princípios de decomposição térmica, amalgamação e absorção atômica descritos no método U.S.EPA 7473.<sup>16</sup> O princípio de operação deste equipamento é baseado na introdução de uma pequena quantidade de material em uma barca de quartzo. O DMA-80<sup>®</sup> usa 3 células de diferentes caminhos óticos, com dois conjuntos lâmpada – detectores distintos, o que amplia a faixa de trabalho (célula 2) e permite a detecção de até 0,01 ng de Hg (célula 0). As condições operacionais utilizadas no aparelho estão descritas na Tabela 3. A curva analítica foi determinada em dez níveis em medida de massa: 0,125; 0,250; 0,375; 0,500; 0,625; 0,750; 1,000; 1,500; 3,000 e 5,000 ng de Hg.

## 3. Parâmetros de Validação

Como parte dos protocolos analíticos para determinação dos metais potencialmente tóxicos, o controle de qualidade é essencial para assegurar

a confiabilidade dos resultados obtidos e validação dos métodos. Os parâmetros de desempenho avaliados foram: Linearidade; Sensibilidade (Faixa de trabalho e Faixa linear); Exatidão (Comparação de Método; Tendência/Recuperação); Precisão (repetitividade), conforme especificado pelo INMETRO.<sup>17</sup> Foram feitos os testes estatísticos para variáveis independentes (t de Student, ANOVA) pelo uso do software STATISTICA 8.0<sup>®</sup>. Em relação aos critérios de aceitação para ambas as técnicas empregadas foi considerado um desvio padrão aceitável menor que 10%, o parâmetro de recuperação na faixa entre 79-121% (recomendado pela EPA 1631e)<sup>14</sup> e erro relativo em até 10%.

### 3.1. Linearidade

A linearidade foi feita por meio da análise de regressão linear. Foram determinados os coeficientes de regressão angular (a) e linear (b), bem como o coeficiente de determinação (r<sup>2</sup>).

### 3.2. Precisão (repetitividade)

A figura de mérito precisão foi analisada por meio da dispersão dos valores em torno do valor

**Tabela 3.** Parâmetros de Análise do DMA-80

Parâmetro	Ajuste
Temperatura mínima inicial	200°C
Tempo de Aquecimento	30 s até 200°C
Tempo de secagem	3 min
Tempo de Aquecimento	1 min até 650 °C
Tempo de decomposição	2 min
Temperatura do Amalgamador	850°C por 12 s
Tempo de Purga	60 s
Tempo de Gravação	30 s

médio e estimada pelo coeficiente de variação (CV)<sup>17</sup>, sendo calculada por meio da Equação 2:

$$CV(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (2)$$

Onde: s = desvio padrão para n repetições;  $\bar{x}$  = média das para n repetições

### 3.3. Limite detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O Limite de Detecção (LD) e o Limite de Quantificação (LQ) foram definidos como a menor concentração do Hg que foi quantificada na amostra em branco. Para tanto obtiveram-se o desvio-padrão de replicatas do branco para calcular pelo método simplificado, estimado a partir da curva analítica.<sup>17</sup> De acordo com as Equações (3) e (4):

$$LD = 3,3 s/b \quad (3)$$

$$LQ = 10 s/b \quad (4)$$

Onde: s = desvio padrão da resposta do branco; b = inclinação (coeficiente angular) da curva analítica.

### 3.4. Exatidão (tendência/recuperação)

A recuperação ou fator de recuperação (R) foi definida como a quantidade de mercúrio efetivamente quantificada em relação à quantidade real presente na amostra (material de referência certificado – MRC [ $\text{mg kg}^{-1}$ ])<sup>17</sup>, calculado pela Equação 5:

$$R\% = (C/C_{\text{MRC}}) \cdot 100 \quad (5)$$

Onde: C é a média das recuperações obtidas para n repetições e  $C_{\text{MRC}}$  é a concentração verdadeira.

## 4. Resultados e Discussão

O monitoramento dos parâmetros limnológicos de águas superficiais constitui-se em ferramentas básicas para avaliar possíveis alterações ambientais. E vários fatores contribuem para a distribuição espacial do mercúrio em

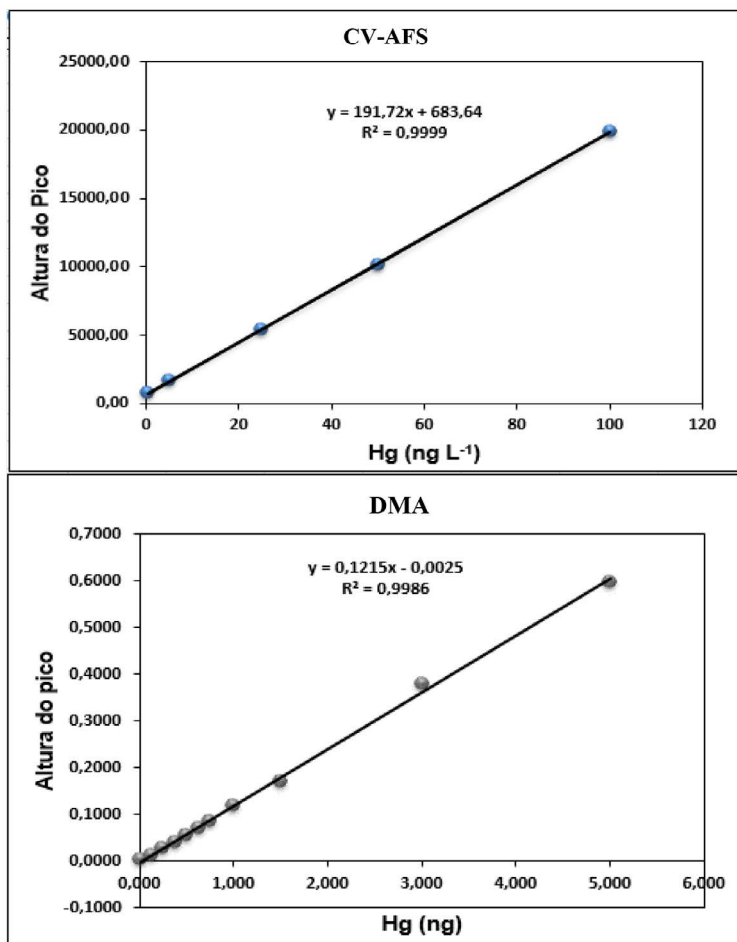
material em suspensão, dentre eles estão: o pH, a condutividade elétrica, a turbidez e o teor de matéria orgânica. Para analisar o teor de mercúrio lábil e determinar sua concentração nos sólidos totais suspensos foram coletadas amostras de água do rio Negro em área com influência antropogênica, próximo à Refinaria de Petróleo de Manaus (REMAN). Destas foram obtidas 09 amostras de sólidos suspensos referentes ao único ponto amostrado no mês de Abril de 2018. No período de coleta, o rio Negro apresentou valores médios de  $5,53 \pm 0,01$  de pH, concentração de oxigênio dissolvido de  $6,03 \pm 0,01 \text{ mg L}^{-1}$ , Temperatura de  $29,02 \pm 0,03 \text{ }^\circ\text{C}$  e condutividade elétrica com valores de  $25,12 \pm 0,05 \mu\text{S cm}^{-1}$ .

### 4.1 Parâmetros de validação

Na Figura 1 estão apresentadas as curvas analíticas para CV-AFS e DMA obtidas pelos métodos de fluorescência atômica e por combustão. A faixa linear de calibração obtida para o CV-AFS foi de 0,5 a  $100 \text{ ng L}^{-1}$ . Entretanto, para o DMA a faixa linear de calibração obtida por foi na faixa de 0,125 a  $5,00 \text{ ng}$ , sendo que este equipamento trabalha com medidas de massa para a construção da curva analítica e, de acordo com a quantidade de amostra posteriormente colocada para análise, realiza a conversão para unidades de concentração para fornecer o resultado.

Os coeficientes de determinação obtidos para o Tekran® e o DMA-80® apresentaram ótima linearidade, com valores de  $R^2 > 0,99$ . Para avaliar a exatidão, foram feitos ensaios de recuperação com material de referência de sedimento certificado contendo mercúrio (CNS301- Sigma Aldrich/USA), o qual passou pelas mesmas etapas das amostras de sólidos totais em suspensão. Nesta parte da avaliação o experimento foi feito com concentração conhecida de mercúrio e em quintuplicata. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 4, o Coeficiente de Variação (CV%) foi calculado conforme a (Equação 2).

Na Tabela 4, se observa similaridades nos resultados médios que variaram entre (0,85 a 0,94)  $\text{ng mL}^{-1}$  para o CV-AFS e entre (0,85 e 0,99)  $\text{ng mL}^{-1}$  para o DMA. O teste t para variáveis independentes demonstrou que não há diferença significativa ( $t = -1,057$ ;  $p = 0,321$ , nível de significância de 0,05). O CV% manteve-se abaixo dos 10%, considerado aceitável para os critérios de análise. Os limites de detecção (Equação 3) foram  $0,029 \pm 0,007$



**Figura 1.** Curvas analíticas obtidas para Hg utilizando Espectrômetro de Fluorescência com Geração de Vapor Frio (Tekran®) e Analisador Direto (DMA-80®)

**Tabela 4.** Resultados obtidos para o Material de Referência Certificado - MRC

Técnicas	MCR (CNS 301)	Média (ng mL <sup>-1</sup> )	CV%
CV-AFS	1	0,85 ± 0,02	2,07
	2	0,86 ± 0,01	1,55
	3	0,93 ± 0,03	0,30
	4	0,88 ± 0,05	5,70
	5	0,94 ± 0,04	4,05
DMA	1	0,85 ± 0,02	0,02
	2	0,99 ± 0,04	0,04
	3	0,97 ± 0,01	0,01
	4	0,87 ± 0,01	0,01
	5	0,95 ± 0,02	0,02

ng L<sup>-1</sup> para CV-AFS e 0,045 ± 0,001 ng mL<sup>-1</sup> para DMA e os limites de quantificação (Equação 4) foram 0,090 ± 0,008 ng L<sup>-1</sup> e 0,138 ± 0,001 ng mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Demonstrando assim, que ambas as técnicas instrumentais são efetivas (precisas e sensíveis) e não apresentam diferenças significativas

para avaliar a fração lábil do Hg presente em sedimento digerido. A exatidão foi avaliada a partir da recuperação obtida neste experimento. A recuperação foi calculada de acordo com a (Equação 5) e, mediante os resultados, foi possível verificar que o método possui uma exatidão



adequada, uma vez que a média das recuperações obtidas para o CV-AFS (107,00%) e para o DMA (113,63%), ambos dentro do critério de aceitação na faixa de 79 a 121% de recuperação.

#### 4.2. Determinação do Hg lábil em (SST)

A Figura 2 apresenta os resultados obtidos para Hg<sub>L</sub> nas amostras de Sólidos Suspensos Totais.

A concentração da fração lábil de mercúrio obtida pela determinação pela técnica do CV-AFS variou entre (0,002 e 0,14 ng mL<sup>-1</sup>), enquanto que no DMA variou entre (0,04 e 0,15 ng mL<sup>-1</sup>). Pela comparação sistemática entre os dois tipos de instrumentos, o teste t pareado para as 9 amostras de SST do rio Negro não mostrou diferença significativa em relação aos valores médios (t= -0,656; p = 0,520, nível de significância de 0,05). Estes resultados (Figura 2) demonstram o potencial de se utilizar o método do DMA para a determinação de Hg lábil em amostras de materiais em suspensão totais em águas naturais. Contudo, é evidente o fato da técnica do DMA apresenta resultados razoavelmente superiores aos obtidos no pela técnica do CV-AFS, considerado que o analisador direto apresenta uma etapa de pré-concentração bastante eficiente que analisa a amostra em sua totalidade.

Deste modo, a investigação das possíveis causas de elevação da concentração de mercúrio no ambiente se torna essencial para traçar o ciclo biogeoquímico do mesmo, e verificar a influência da interação com a biota. Além de complexos orgânicos e inorgânicos presentes na coluna d'água e sedimentos. Quando são encontradas

concentrações elevadas de mercúrio, sendo estas superiores a 0,2 ng mL<sup>-1</sup>, valor de referência da legislação ambiental (CONAMA 357/2005) para ambientes de classe II, como os rios amazônicos, isso pode ser um fator alarmante devido o potencial tóxico desse metal.<sup>18-19</sup> Na literatura, ainda há poucos relatos publicados sobre a investigação da relação da concentração de Hg com sólidos em suspensão em águas fluviais. No entanto, neste trabalho, conforme observado na Figura 3, apresentou uma alta correlação (r = 0,843, I.C. 95%). Ao que se observa os SST possuem uma relativa função adsorvente influenciando na retenção da fração lábil de Hg e em sua mobilidade e permanência no compartimento hídrico.

A Figura 3 apresenta a dispersão (DMA versus CV-AFS), onde se observa que os dois equipamentos se mantêm dentro dos limites de variabilidade, com apenas duas amostras (pontos) fora desses limites. Evidenciando grande correlação entre eles (> 0,8 correlação; p-valor = 0,23; I. C. 95 %). A concentração de Hg<sub>L</sub> geralmente varia de 0,0003 a 0,008 ng mL<sup>-1</sup> em águas naturais não filtradas de regiões pouco impactadas.<sup>20</sup> Podendo alcançar de 0,1 a 1 ng mL<sup>-1</sup> para águas naturais que banham regiões com abundância geológica de mercúrio ou com atividade de garimpo.<sup>21-24</sup> Diversos estudos no rio Negro e seus tributários relatam a importância de pesquisas comparativas entre os sistemas hídricos e a sua relação com íons metálicos e demais parâmetros físicos e químicos, correlacionando-os com as características litológicas da região e possíveis influências antropogênicas. A disponibilização deste elemento na natureza ocorre pelo intemperismo das

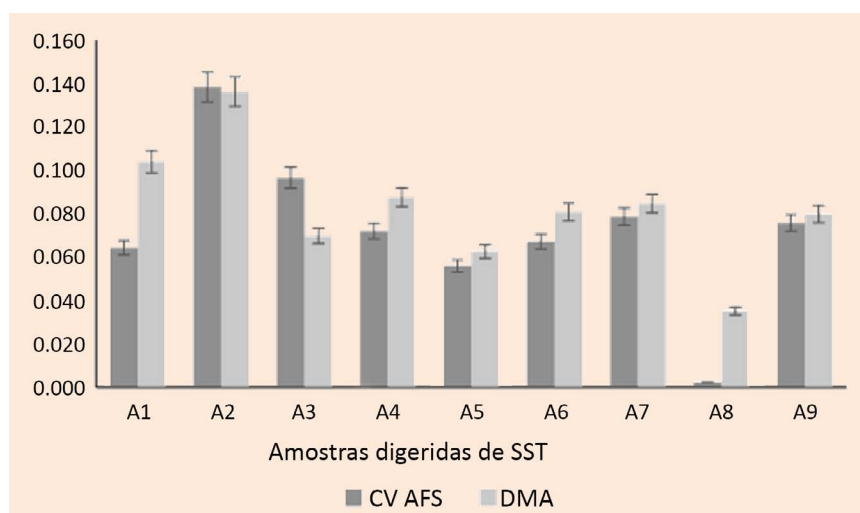


Figura 2. Resultados comparativos das médias obtidas para Hg lábil em amostras de STS digeridas

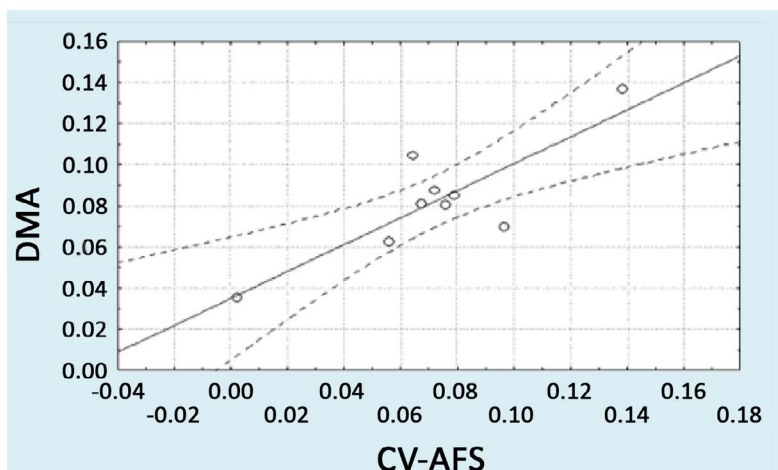


Figura 3. Correlação das médias de HgL obtidas no DMA e no CV-AFS

rochas e escoamento superficial ocasionado pelas chuvas que lixiviam minerais presentes nos perfis do solo dessa região.<sup>25-28</sup>

Dentre as fontes antrópicas, podem ser citadas, a liberação de efluentes industriais não tratados, a disposição inadequada de resíduos sólidos e alterações nos fatores físicos e químicos que influenciam nos processos de adsorção e dessorção desses metais em partículas. É válido ressaltar que a amostragem foi realizada em zona de influência antrópica, além de receber aporte de resíduos sólidos da zona portuária da cidade de Manaus, também recebe efluentes da refinaria de petróleo, fato este que pode estar contribuindo para a quantidade de HgL detectada nos SST do ponto amostrado. Este processo integra a complexa dinâmica dos ecossistemas aquáticos, sendo a matéria orgânica e os sólidos em suspensão dissolvidos atuam como agentes adsorventes e transportadores de metais potencialmente tóxicos, provenientes de despejo industrial, resíduos domésticos ou sólidos.<sup>29</sup>

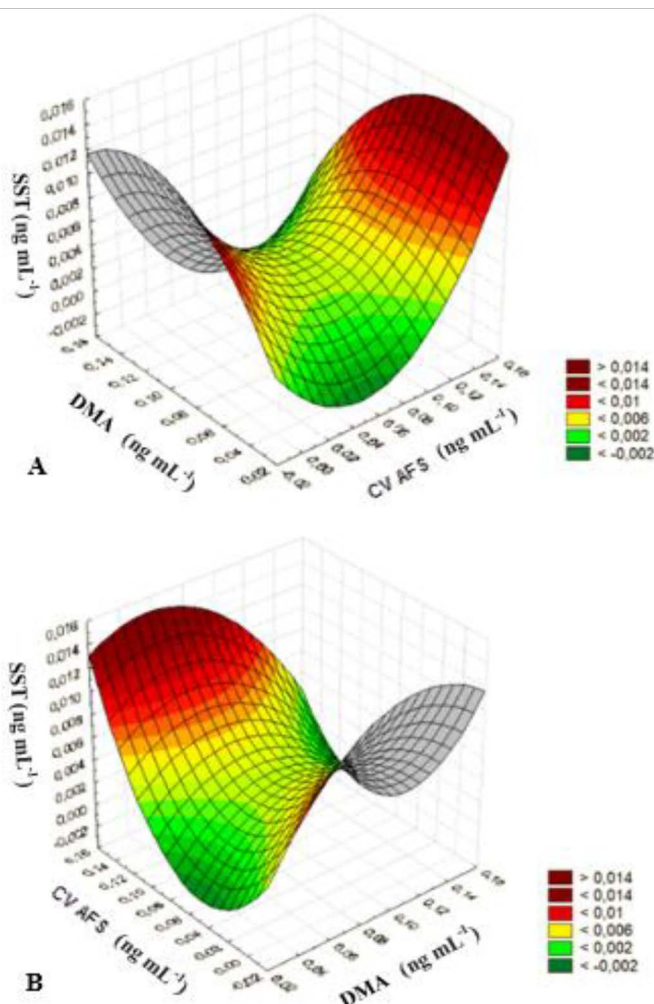
Com o estudo da Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) pelo software STATISTICA, foi possível observar que a concentração de HgL aumenta de acordo com a elevação do teor de SST (Figura 4-AB). Os Gráficos 4-A e 4-B apresentam fórmula quadrática, mostrando, em ângulos diferentes e com fórmulas matemáticas diferentes usadas para plotagem, os pontos mais aproximados dos valores ótimos dos dados numéricos.

O comportamento dos gráficos das Superfícies de Resposta (Figura 4-AB) está representado pelas equações: Figura 4-A.  $SST = -0,004 - 0,0956 * x + 0,2573 * y + 1,1804 * x * x - 0,7605 * x * y - 1,1828 * y * y$ , em que  $x = CV-AFS$  ( $ng mL^{-1}$ ) e  $y = DMA$  ( $ng mL^{-1}$ );

Figura 4-B.  $SST = -0,004 + 0,2573 * x - 0,0956 * y - 1,1828 * x * x - 0,7605 * x * y + 1,1804 * y * y$ , em que  $x = DMA$  ( $ng mL^{-1}$ ) e  $y = CV-AFS$  ( $ng mL^{-1}$ ). Em nosso experimento com a aplicação da metodologia de superfície de resposta (MSR), pode-se observar que a concentração máxima ( $0,145 ng mL^{-1}$  de HgL) foi obtida pelo DMA. O estudo da Análise de Variância (ANOVA) na determinação de Hg lábil revelou que as variáveis independentes CV-AFS ( $p = 0,0004 < 0,05$ ) e DMA ( $p = 0,00002 < 0,05$ ) quando correlacionadas isoladamente com o SST apresentam significância estatística.

Em relação a interação de sólidos em suspensão e mercúrio, Roth *et al.*<sup>30</sup>, demonstraram que as concentrações de Hg total variaram ( $< 0,0004$  até  $2,4 ng mL^{-1}$ ), comprovando que o aporte de sedimento coloidal desempenha um papel importante nas cargas dissolvidas de Hg correlacionada positivamente com a descarga ao longo da extensão do rio Sacramento. Roulet e colaboradores<sup>31</sup>, destacaram que as partículas filtradas de Hg ( $0,0003 - 0,0131 ng mL^{-1}$ ) no rio Tapajós (Amazônia brasileira) são uma ordem de grandeza mais baixa do que as concentrações relatadas em águas amazônicas. Contudo, afirmam que o teor de Hg na coluna de água é influenciado pela quantidade de material particulado erodidos de solos perturbados na bacia do rio.

Silva *et al.*<sup>32</sup>, em um estudo mais abrangente destacamos maiores aspectos do ciclo do mercúrio no rio Negro, reportando que a concentração de Hg na coluna de água correlaciona-se positivamente com o carbono orgânico dissolvido (DOC), indicando que substâncias húmicas e fúlvicas são a principal forma transportada de bacias hidrográficas para sistemas aquáticos por escoamento, tal afirmação



**Figura 4. A e B.** Superfícies de Resposta em ângulos diferentes para: teor sólidos suspensos totais (SST ng mL<sup>-1</sup>) ao redor de valores ótimos de concentração de HgL obtidos pelas técnicas instrumentais CV-AFS (ng mL<sup>-1</sup>) e DMA (ng mL<sup>-1</sup>)

comprova a relevância deste estudo e reforça a alta correlação das espécies de Hg com o material em suspensão na coluna da água. Além de evidenciar o motivo para as altas taxas de concentração de HgL encontradas no rio Negro, onde o pH ácido e a quantidade de matéria orgânica dissolvida favorece a permanência do Hg no compartimento fluvial.

## 5. Conclusão

As análises comprovaram que a determinação de Hg lábil em sólidos suspensos totais de água fluvial é possível via Analisador Direto de Mercúrio (DMA), desde que sejam seguidas as condições de contorno para evitar possíveis perdas e contaminações durante o processamento da amostra, principalmente na etapa gravimétrica

(justificado pela redução da temperatura de secagem dos filtros depois da etapa de filtração), seguida da etapa de abertura da amostra (digestão parcial). O uso de material de referência certificado (CNS301) demonstrou que os métodos empregados foram exatos. Sendo atestado pelas satisfatórias recuperações do MRC analisado e pelos baixos valores de desvio padrão relativo obtidos. O gráfico da superfície de resposta evidenciou que houve aumento na concentração de mercúrio conforme o conteúdo de sólidos suspensos totais (SST) também aumentava. O método utilizado para determinação de HgL via DMA, deixa claro que a técnica também pode ser satisfatoriamente empregada para a determinação de mercúrio lábil, além de ser uma análise direta que evita possíveis perdas do analito e não requer adição de reagentes. O DMA apresenta ainda,

uma etapa de pré-concentração que promove uma melhora no sinal de quantificação do mercúrio, quando comparada com a técnica CV-AFS que requer um rigor analítico mais acentuado por eventualmente apresentar mais etapas, como a adição de reagentes para análise, que podem promover possíveis contaminações ou perdas do analito. A comparação de métodos evidenciou que ambas as técnicas podem ser consideradas semelhantes em termos de quantificação da fração lábil de mercúrio e que o DMA pode aplicado em análises de rotina de HgL em SST.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e à CAPES pelas bolsas de pesquisa concedidas. Este trabalho contou com a colaboração do Laboratório de Análises Mineraias da Superintendência de Manaus (CPRM/AM).

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Bisinoti, M. C.; Jardim, W. F. O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente. *Química Nova* **2004**, *27*, 593. [[CrossRef](#)]
- <sup>2</sup> Kasper, D.; Forsberg, B. R.; Amaral, J. H. F.; Leitão, R. P.; Pie-Daniel, S. S.; Bastos, W. R. E Malm, O. Reservoir Stratification Affects Methylmercury Levels in River Water, Plankton, and Fish Downstream from Balbina Hydroelectric Dam, Amazonas, Brazil. *Environmental Science & Technology* **2014**, *48*, 1032. [[CrossRef](#)]
- <sup>3</sup> Brito, B. C.; Forsberg, B. R.; Kasper, D.; Amaral, J. H. F.; De Vasconcelos, M. R. R.; De Sousa, O. P.; Cunha, Fábio A. G.; Bastos, W. R. The influence of inundation and lake morphometry on the dynamics of mercury in the water and plankton in an Amazon floodplain lake. *Hydrobiologia* **2017**, *790*, 35. [[CrossRef](#)]
- <sup>4</sup> Balogh, S. J.; Nollet, Y. H.; Swain, E. B. Redox chemistry in Minnesota streams during episodes of increased methylmercury discharge. *Environmental Science & Technology* **2004**, *38*, 4921. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>5</sup> Brigham, M. E.; Wentz, D. A.; Aiken, G. R.; Krabbenhoft, D. P. Mercury cycling in stream ecosystems. 1. Water column chemistry and transport. *Environmental Science & Technology* **2009**, *43*, 2720. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>6</sup> Bradley, P.M.; Burns, D.A.; Murray, K.R.; Brigham, M.E.; Button, D.T.; Chasar, L.C.; Marvin-Dipasquale, M.; Lowery, M. A.; Journey, C. A. Spatial and seasonal variability of dissolved methylmercury in two stream basins in the eastern United States. *Environmental Science & Technology* **2011**, *45*, 2048. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>7</sup> Pereira Filho, W.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, 2000. [[Link](#)]
- <sup>8</sup> Silvério, P. F. *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, 2003. [[CrossRef](#)]
- <sup>9</sup> Baird, C.; Cann, M.; *Environmental Chemistry*, 5a ed, U.S.A.: Cloth Text, 2012.
- <sup>10</sup> Mudroch, A.; Macknight, S. D.; *Handbook of Techniques for aquatic Sediments Sampling*, 2a ed CRC Press: Boca Raton, 1997.
- <sup>11</sup> Fadini, P.; Jardim, W. Is the Negro River Basin (Amazon) impacted by naturally occurring mercury? *Science of the Total Environment* **2001**, *275*, 71. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>12</sup> Pestana, I. A.; Almeida, M. G; Bastos, W. R.; Spuzza, C. M. M. Total Hg and methylmercury dynamics in a river-floodplain system in the Western Amazon: Influence of seasonality, organic matter and physical and chemical parameters. *Science of the Total Environment* **2019**, *656*, 388. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>13</sup> American Public Health Association; American Water Work Associatin, Water Pollution Control Federation; *Standard Methods of the Experimination of Water and Wasterwater*. Ed. New York: New York, 2017. [[Link](#)]
- <sup>14</sup> U.S.EPA-1631. Method 1631, revision E: Mercury in water by oxidation, purge and trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry. 38p. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2002. [[Link](#)]
- <sup>15</sup> U.S.EPA-3051a. Method 3051a - Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils. n. February, p. 30. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2007. [[Link](#)]
- <sup>16</sup> U.S.EPA-7473, Method 7473, Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation and atomic absorpion spectrophotometry, revision. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 1997. [[Link](#)]
- <sup>17</sup> Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; *Orientações Sobre validação de métodos de ensaios químicos*, 2016. [[Link](#)]
- <sup>18</sup> Resolução CONAMA Nº 357/2005. [[Link](#)]

- <sup>19</sup> Babiarz, C. L.; Andren, A. W. Total concentrations of mercury in Wisconsin (USA) lakes and rivers. *Water, Air, & Soil Pollution* **1995**, *83*, 173. [[CrossRef](#)]
- <sup>20</sup> Kim, J. P. Methylmercury in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from Lakes Okareka, Okaro, Rotomahana, Rotorua and Tarawera, North Island, New Zealand. *Science of the Total Environment* **1995**, *164*, 209. [[CrossRef](#)]
- <sup>21</sup> Ganguli, P. M.; Maison, R. P.; Abu-Saba, K. E.; Anderson, R. S.; Flegal, A. R. Mercury Speciation in Drainage from the New Idria Mercury Mine, California. *Environmental Science & Technology* **2000**, *34*, 4773. [[CrossRef](#)]
- <sup>22</sup> Hines, M. E.; Horvat, M.; Faganeli, J.; Bonzongo, J. C.; Barbay, T.; Major, E. B.; Scott, K. J.; Bailey, E. A.; Warwick, J. J.; Lyons, W. B. Mercury Biogeochemistry in the Idrija River, Slovenia, from above the Mine into the Gulf of Trieste. *Environmental Research* **2000**, *83*, 129. [[CrossRef](#)]
- <sup>23</sup> Rytuba, J. J. Mercury mine drainage and processes that control its environmental impact. *Science of The Total Environment* **2000**, *260*, 57. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>24</sup> Gray, J. E.; Theodorakos, P. M.; Bailey, E. A.; Turner, R. R. Distribution, speciation, and transport of mercury in stream-sediment, stream-water, and fish collected near abandoned mercury mines in southwestern Alaska, USA. *Science of The Total Environment* **2000**, *260*, 21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>25</sup> Queiroz, M. M. A.; Horbe, A. M. C.; Seyler, P.; Moura, C. A. V. Hidroquímica do rio Solimões na região entre Manacapuru e Alvarães: Amazonas – Brasil. *Acta Amazonica* **2009**, *39*, 4, 943. [[CrossRef](#)]
- <sup>26</sup> Galvão, R. C. F.; Gomes, J. P. O.; Almeida, R.; Bernardi, J. V. E.; Bastos, W. R.; Lacerda, L. D. Variação sazonal de elementos-traço associados aos sólidos em suspensão no Alto rio Madeira, Amazônia Ocidental. *Geochimica Brasiliensis* **2009**, *23*, 1. [[CrossRef](#)]
- <sup>27</sup> Queiroz, M. M. A.; Horbe, A. M. C.; Seyler, P.; Moura, C. A. V. *Acta Amazonica*. Mineralogia e química dos sedimentos de fundo do médio e baixo Madeira e de seus principais tributários: Amazonas – Brasil. *Acta Amazonica* **2011**, *41*, 453. [[CrossRef](#)]
- <sup>28</sup> Cardona, M. T.; Eismann, C. E.; Suárez, C. A.; Menegário, A. A.; Luko, K. S.; Sargentini Jr, E. *In situ* selective determination of methylmercury in river water by diffusive gradient in thin films technique (DGT) using baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) immobilized in agarose gel as binding phase. *Analytica Chimica Acta* **2015**, *887*, 38. [[CrossRef](#)]
- <sup>29</sup> Guilherme, L. R. G.; Marques, J. J.; Pierangeli, M. A. P.; Zuliane, D. Q.; Campos, M. L.; Marqui, G. Elementos-traço em Solos e Sistemas Aquáticos. *Tópicos em Ciência do Solo* **2005**, *4*, 345. [[Link](#)]
- <sup>30</sup> Roth, D. A.; Taylor, H. E.; Domagalski, J.; Dileanis, P.; Peart, D. B.; Antweiler, R. C.; Alpers, C. N. Distribution of inorganic mercury in Sacramento River water and suspended colloidal sediment material. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **2001**, *40*, 161. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>31</sup> Roulet, M.; Lucotte, M.; Canuel, R.; , I; Tran, S.; Gog, Y. G. F.; Farella, N.; Vale, R. S. Passos, A. J. S.; Silva, E. J.; Merger, D.; Amorim, M. Distribution and partition of total mercury in waters of the Tapajos River Basin, Brazilian Amazon. *Science of The Total Environment* **1998**, *213*, 203. [[CrossRef](#)]
- <sup>32</sup> Silva, G. S.; Bisinoti, M. C.; Fadini, P. S.; Magarelli, G.; Jardim, W. F. Fostier, A. H. J. Major aspects of the mercury cycle in the Negro River Basin, Amazon. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2009**, *20*, 1127. [[CrossRef](#)]