



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



DANILO JUNQUEIRA LEÃO

**ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO
EM AMOSTRAS AMBIENTAIS**

**SALVADOR – BAHIA
2019**

DANILO JUNQUEIRA LEÃO

**ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO
EM AMOSTRAS AMBIENTAIS**

Tese submetida ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira

SALVADOR – BAHIA

2019

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Junqueira Leão, Danilo
Estratégias analíticas para determinação de mercúrio
em amostras ambientais / Danilo Junqueira Leão. --
Salvador, 2019.
97 f. : il

Orientador: Sérgio Luis Costa Ferreira.
Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Química) -- Universidade Federal da Bahia, Instituto
de Química, 2019.


1. Mercúrio. 2. Extração. 3. MSFIA. 4.
Espectrometria. I. Luis Costa Ferreira, Sérgio. II.
Título.

TERMO DE APROVAÇÃO
DANILO JUNQUEIRA LEÃO


“ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM
AMOSTRAS AMBIENTAIS”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química,
Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Sergio Luis Costa Ferreira 
Doutorado em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Walter Nei Lopes dos Santos 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade do Estado da Bahia

Prof. Drª Débora de Andrade Santana 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Adriano de Araújo Gomes 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Paraíba (UFPB)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Salvador, 28 de junho de 2019.

À minha amada família, minha esposa Larissa, pelo amor e apoio incondicional durante nossa caminhada, e minha filha Melissa, por despertar em mim tanto sentimento bom e me tornar feliz por completo.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador professor Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira, pela amizade, confiança, dedicação e pelos valiosos ensinamentos como professor e principalmente como pessoa.

À minha amada família, minha querida esposa Larissa e minha filha Melissa, pelos momentos de amor e felicidade que vivemos juntos a cada dia, em especial à Larissa por todo o companherismo e cuidado de sempre.

Aos meus amados pais, meus queridos irmãos Diego e Rodrigo e minha tia Lene, pelo amor incondicional, pelos carinhos e cuidados, pelos ensinamentos e pela construção do homem que sou.

Ao meu amigo/irmão Mário Marques, pelos longos anos de amizade sincera e parceria.

Ao meu amigo/irmão mais antigo, Márcio Melgaço, pela amizade incondicional e preciosa de sempre.

À minha vó Nilzinha e minha sogra Siomara, pelo carinho e apoio de sempre.

Ao amigo da graduação para a vida, Henrique, pelos ótimos momentos de alegrias compartilhados.

Aos colegas do GRPQQ, pelas parcerias e valiosas experiências trocadas.

Aos colegas do grupo GPQA, pela parceria e experiências trocadas.

Aos colegas de trabalho da UESB, pela amizade e momentos agradáveis.

Aos professores que passaram durante a minha formação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

RESUMO

O presente trabalho versa sobre o desenvolvimento de estratégias analíticas para a determinação de mercúrio em amostras ambientais empregando espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS). O mercúrio é um metal conhecidamente tóxico à saúde dos seres humanos e dos ecossistemas, se destacando por apresentar essa toxicidade mesmo em baixas concentrações. Diversos estudos reportados na literatura evidenciam a necessidade do desenvolvimento de novas metodologias mais sensíveis para determinação e análise de especiação de mercúrio, uma vez que esse analito se caracteriza por apresentar concentrações a nível traço e por ser uma das principais preocupações atuais quando se trata de contaminação ambiental. No âmbito dessa temática, foram desenvolvidos dois trabalhos. O primeiro consistiu no desenvolvimento de um método de determinação de mercúrio em amostras de sedimento mediante otimização de um procedimento simples de extração do analito das amostras para posterior determinação por CV AAS. Tal otimização foi realizada utilizando técnicas de otimização multivariada, avaliando influência dos fatores na etapa de extração do analito. Os fatores avaliados foram: concentração de ácido clorídrico, concentração de tiouréia, temperatura de sonicação e tempo de sonicação. Após otimização, a exatidão do método foi confirmada mediante a análise de dois materiais de referência certificados, *Channel Sediment* (BCR-320R) e *San Joaquin Soil* (NIST 2709a). Os limites de detecção e quantificação foram de 1,04 e 3,46 ng g⁻¹, respectivamente, e a precisão, em termos de RSD %, foi de 4,31 %. O método foi aplicado para a determinação de mercúrio em amostras de sedimento coletadas no Estuário São Paulo, situado no estado da Bahia, Brasil, cujas concentrações variaram de 13,8 a 38,5 ng g⁻¹. O segundo trabalho envolveu o desenvolvimento de um sistema automatizado para determinação de mercúrio em amostras de águas naturais empregando análise por injeção em fluxo com multiseringas (MSFIA) e espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS). As condições experimentais foram investigadas e otimizadas utilizando metodologia de otimização multivariada, como o planejamento fatorial completo (2^k) e Matriz de Doehlert. As variáveis otimizadas foram: concentração do ácido clorídrico, concentração do borohidreto de sódio, vazão da amostra e vazão do gás de arraste. O método proposto permitiu a determinação direta de mercúrio em amostras de águas naturais, ou seja, sem etapa de pré-concentração, com limites de detecção e quantificação de 43,0 e 145,0 ng L⁻¹, respectivamente. A exatidão do método foi confirmada mediante análise de material de referência certificado de água, *Trace elements in waste water*, (CASS-4). O efeito de matriz foi avaliado mediante ensaios de adição e recuperação em amostras de água salina, uma vez que o método foi otimizado utilizando padrões aquosos, obtendo-se recuperações superiores à 82 %. O método foi aplicado em amostra de água de mar e de lagoa da cidade de Salvador, Bahia, Brasil, cujas concentrações variaram de 0,36 a 1,14 µg L⁻¹.

ABSTRACT

The present work is about the development of analytical strategies for the determination of mercury in environmental samples using atomic absorption spectrometry with cold vapor generation (CV AAS). Mercury is a metal known to be toxic to the health of humans and ecosystems, standing out to have this toxicity even in low concentrations. Several studies reported in the literature show the need for the development of new, more sensitive methodologies for determination and analysis of mercury speciation, since this analyte is characterized by trace concentrations and is one of the main current concerns when it comes to contamination environmental. Within this context, two papers were developed. The first one consisted in the development of a method of determination of mercury in sediment samples by optimization of a simple procedure of extraction of the analyte of the samples for later determination by CV AAS. Such optimization was performed using multivariate optimization techniques, evaluating the influence of the factors in the analyte extraction step. The factors evaluated were: hydrochloric acid concentration, thiourea concentration, sonication temperature and sonication time. After optimization, the accuracy of the method was confirmed by the analysis of two certified reference materials, Channel Sediment (BCR-320R) and San Joaquin Soil (NIST 2709a). The detection and quantification limits were 1.04 and 3.46 ng g⁻¹, respectively, and the precision, in terms of RSD%, was 4.31%. The method was applied for the determination of mercury in sediment samples collected in the São Paulo Estuary, located in the state of Bahia, Brazil, whose concentrations ranged from 13.8 to 38.5 ng g⁻¹. The second work involved the development of an automated system for the determination of mercury in natural water samples employing multiserial flow injection analysis (MSFIA) and cold vapor generation atomic absorption spectroscopy (CV AAS). The experimental conditions were investigated and optimized using multivariate optimization methodology, such as complete factorial design (2^k) and Doehlert Matrix. The optimized variables were: hydrochloric acid concentration, sodium borohydride concentration, sample flow and entrainment gas flow. The proposed method allowed the direct determination of mercury in natural water samples, that is, without preconcentration stage, with limits of detection and quantification of 43.0 and 145.0 ng L⁻¹, respectively. The accuracy of the method was confirmed by analysis of certified water reference material, Trace elements in waste water, (CASS-4). The matrix effect was evaluated by addition and recovery tests in saline water samples, as the method was optimized using aqueous standards, obtaining recoveries above 82%. The method was applied in a sample of sea water and lake of the city of Salvador, Bahia, Brazil, whose concentrations ranged from 0.36 to 1.14 µg L⁻¹.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sistema de geração de vapor frio de mercúrio acoplado à AAS.	- 36 -
Figura 2. Esquema de um método MSFIA acoplado a um espectrômetro de fluorescência atômica para determinação de mercúrio total.	- 40 -
Figura 3. Esquema de um método MSFIA acoplado a um espectrômetro de fluorescência atômica para análise de especiação de mercúrio.	- 41 -
Figura 4. Sistema MSFIA acoplado ao espectrômetro de absorção atômica proposto pelo método.....	- 63 -
Figura 5. Gráfico de Pareto do planejamento fatorial completo (2^4).....	- 67 -
Figura 6. Superfícies de resposta do planejamento fatorial completo (2^4).	- 69 -
Figura 7. Gráfico de Pareto da Matriz de Doehlert.	- 72 -
Figura 8. Superfície de respostas da Matriz de Doehlert (Abs x VA x $[BH_4]$)	- 73 -
Figura 9. Superfície de respostas da Matriz de Doehlert (Abs x $[HCl]$ x $[BH_4]$) ..	- 73 -
Figura 10. Superfície de respostas da Matriz de Doehlert (Abs x $[HCl]$ x VA)....	- 74 -
Figura 11. Difratoograma de raios-x da nanopartícula de Fe_2O_3	- 82 -
Figura 12. Difratoograma de raios-x da nanopartícula de Fe_2O_3 – APTES.	- 82 -
Figura 13. Imagens da NP de Fe_2O_3 por MEV com aumento de 7500x.....	- 83 -
Figura 14. Imagens da NP de Fe_2O_3 – APTES por MEV com aumento de 7500x.-	83
-	
Figura 15. Espectro de infra-vermelho para a nanopartícula magnética não funcionalizada.	- 84 -
Figura 16. Espectro de infra-vermelho para a nanopartícula magnética funcionalizada com APTES.	- 84 -

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentração de espécies de mercúrio em amostras de sedimento e solo de diferentes localidades.....	- 27 -
Tabela 2. Concentração de Hg ²⁺ em amostras de água natural de diferentes localidades.	- 31 -
Tabela 3. Metodologias para determinação de mercúrio em diferentes amostras ambientais.....	- 34 -
Tabela 4. Limite de detecção para mercúrio determinado por DMA em diferentes matrizes.....	- 37 -
Tabela 5. Modalidades de sistemas em fluxo.....	- 39 -
Tabela 6. Planejamento Fatorial completo de Dois Níveis para otimização da condições experimentais da etapa de extração do mercúrio.	- 51 -
Tabela 7. Efeitos principais e efeitos das interações entre as variáveis obtidos a partir do planejamento fatorial completo de dois níveis.....	- 52 -
Tabela 8. Determinação de mercúrio nas amostras de CRM.....	- 56 -
Tabela 9. Determinação de mercúrio nas amostras de sedimento do Estuário São Paulo, Bahia, Brasil.	- 57 -
Tabela 10. Concentração de mercúrio em amostras de sedimento não contaminados de outras regiões.....	- 58 -
Tabela 11. Matriz do planejamento fatorial completo (2 ⁴) com valores reais e codificados e as respostas analíticas em absorvância.	- 66 -
Tabela 12. Matriz de Doehlert com valores reais e codificados e as respostas analíticas em absorvância.....	- 71 -

Tabela 13. ANOVA gerada a partir dos valores experimentais obtidos pela Matriz de Doehlert.....	- 72 -
Tabela 14. Valores otimizados para condição de introdução e geração de vapor frio de mercúrio no CV AAS obtidos através da Matriz de Doehlert.	- 75 -
Tabela 15. Limite de detecção para diferentes métodos de determinação de mercúrio.	- 76 -
Tabela 16. Resultados obtidos para o teste de adição e recuperação.....	- 78 -
Tabela 17. Resultados da aplicação do método em diferentes amostras de água da cidade de Salvador, Bahia, Brasil.....	- 79 -

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica (<i>Atomic Absorption Spectrometry</i>)
ASV	Voltametria de Redissolução Anódica (<i>Anodic Stripping Voltammetry</i>)
CFA	Sistema de Fluxo Contínuo Segmentado (<i>Segmented Continuous Flow System</i>)
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CS	Bobina De Amostragem (<i>Sampling Coil</i>)
CV AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio (<i>Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry</i>)
CV AFS	Espectrometria de Fluorescência Atômica com Vapor Frio (<i>Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry</i>)
CV ICP-MS	Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente com Geração de Vapor Frio (<i>Cold Vapour with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
CV-ET AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica com Vapor Frio (<i>Cold Vapour Generation Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i>)
CV-ICP OES	Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente com Geração de Hidretos (<i>Cold Vapour Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
DMA	Analisador Direto de Mercúrio (<i>Direct Mercury Analyzer</i>)
FBA	Análise em Fluxo-Batelada (<i>Flow-Batch Analysis</i>)
FIA	Análise por Injeção em Fluxo (<i>Flow Injection Analysis</i>)
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada

de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (<i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>)
HPLC/HG AAS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (<i>High Performance Liquid Chromatography with Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>)
HPLC/ICP-MS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente (<i>High Performance Liquid Chromatography with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
HR-CS AAS	Espectrometria de Absorção Atômica de Fonte Contínua e Alta Resolução (<i>High-resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry</i>)
ICP OES	Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
ICP-MS	Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente (<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
LOD	Limite de Detecção (<i>Limit of Detection</i>)
LOQ	Limite de Quantificação (<i>Limit of Quantification</i>)
MCFIA	Análise por Injeção em Fluxo Multicomutado (<i>Multi-Commutated Flow Injection Analysis</i>)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura (<i>Scanning Electron Microscopy</i>)
MPFIA	Análise por Injeção em Fluxo com Multibomba (<i>Multi-Pumping Flow Injection Analysis</i>)
MRS	Metodologia de Superfície de Resposta (<i>Response Surface Methodology</i>)

MSFA	Análise em Fluxo Monossegmentado (<i>Monosegmented Flow Analysis</i>)
MSFIA	Análise por Injeção em Fluxo com Multiseringa (<i>Multi-Syringe Flow Injection Analysis</i>)
MSFIA CV AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio Acoplado à Análise por Injeção em Fluxo com Multiseringa (<i>Multi-Syringe Flow Injection Analysis Coupled Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry</i>)
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (<i>National Institute of Standards e Technology</i>)
NP	Nanopartícula (<i>Nanoparticle</i>)
RSD	Desvio Padrão Relativo (<i>Relative Standard Deviation</i>)
SAI	Análise por Injeção Sequencial (<i>Sequential Injection Analysis</i>)
SPE	Extração em Fase Sólida (<i>Solid Phase Extraction</i>)
SS	Amostragem Sólida (<i>Solid Sampling</i>)
SS-HR-CS GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua e Forno de Grafite com Sistema de Análise Direta de Sólidos (<i>Solid Sampling High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>)
SV	Válvula Solenoide (<i>Solenoid Valve</i>)
SWV	Voltametria de Onda Quadrada (<i>Square Wave Voltammetry</i>)
TDA-AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Amalgamação e Decomposição Térmica (<i>Thermal Decomposition Amalgamation Atomic Absorption Spectrometry</i>)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	- 17 -
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	- 20 -
2.1. O MERCÚRIO.....	- 20 -
2.1.1. Principais fontes.....	- 20 -
2.1.2. Efeitos toxicológicos	- 21 -
2.2. MERCÚRIO EM SEDIMENTOS	- 22 -
2.3. MERCÚRIO EM CORPOS HÍDRICOS	- 28 -
2.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO ..	- 32 -
2.5. ACOPLAMENTO DE SISTEMAS EM FLUXO À TÉCNICAS ESPECTROANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO.....	- 38 -
2.5.1. Análise por Injeção em Fluxo com Multiseringa (MSFIA).....	- 39 -
2.6. OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO	- 42 -
CAPÍTULO I - EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM AMOSTRAS DE SEDIMENTO POR CV AAS.....	- 45 -
3. OBJETIVOS.....	- 47 -
3.1. Objetivo geral.....	- 47 -
3.2. Objetivos específicos	- 47 -
4. PARTE EXPERIMENTAL	- 48 -
4.1. Materiais e métodos.....	- 48 -
4.1.1. Instrumentação	- 48 -
4.1.2. Reagentes.....	- 48 -
4.1.3. Procedimento de preparo das amostras e determinação de mercúrio por CV AAS	- 49 -

4.1.4.	Otimização multivariada do procedimento de extração de mercúrio das amostras de sedimento	- 50 -
4.2.	Resultados e discussão	- 50 -
4.2.1.	Otimização das condições experimentais da etapa de extração de mercúrio das amostras de sedimento	- 50 -
4.2.2.	Validação do método proposto	- 53 -
4.2.2.1.	Avaliação do efeito de matriz e escolha da técnica de calibração	- 53 -
4.2.2.2.	Limites de detecção e quantificação	- 53 -
4.2.2.3.	Precisão	- 54 -
4.2.2.4.	Exatidão	- 55 -
4.2.2.5.	Aplicação do método proposto em amostras reais	- 57 -
4.3.	Considerações Parciais	- 59 -
CAPÍTULO II - DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM AMOSTRAS DE ÁGUAS DE RIO E DO MAR POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE VAPOR FRIO ACOPLADO A UM SISTEMA DE INJEÇÃO EM FLUXO COM MULTISERINGAS.....		
		- 59 -
5.	OBJETIVOS.....	- 61 -
5.1.	Objetivo geral.....	- 61 -
5.2.	Objetivos específicos	- 61 -
6.	PARTE EXPERIMENTAL	- 62 -
6.1.	Materiais e métodos.....	- 62 -
6.1.1.	Instrumentação	- 62 -
6.1.2.	Configuração do sistema MSFIA CV AAS	- 63 -
6.1.3.	Reagentes.....	- 64 -
6.1.4.	Otimização multivariada do sistema MSFIA CV AAS	- 65 -
6.2.	Resultados e discussão	- 65 -
6.2.1.	Otimização das condições experimentais do sistema MSFIA CV AAS	- 65 -

6.2.1.1.	Planejamento Fatorial completo de dois níveis (2 ⁴)	- 65 -
6.2.1.2.	Matriz de Doehlert.....	- 70 -
6.2.2.	Validação do método proposto	- 76 -
6.2.2.1.	Limites de detecção e quantificação	- 76 -
6.2.2.2.	Precisão	- 77 -
6.2.2.3.	Exatidão	- 77 -
6.2.2.4.	Teste de adição e recuperação.....	- 77 -
6.2.2.5.	Aplicação do método proposto em amostras reais	- 79 -
6.3.	Considerações Parciais	- 79 -
7.	PERSPECTIVAS FUTURAS	- 81 -
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	- 86 -
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	- 87 -

1. INTRODUÇÃO

O mercúrio é um metal conhecidamente tóxico à saúde dos seres humanos e dos ecossistemas, se destacando por apresentar essa toxicidade mesmo a baixas concentrações. Os efeitos decorrentes da exposição ao metilmercúrio pelo homem, vão desde náuseas e vômitos à distúrbios de ordem neurológica, tais como visão turva e perda no campo visual, ataxia, parestesia, neurestenia, perda de audição, entre outros (ZHU et al., 2017). Quando se trata da toxicidade desse elemento sobre outras espécies, os efeitos estão relacionados à reprodução de espécies de aves e mamíferos predatórios (BISINOTI; JARDIM, 2004).

Na natureza, o mercúrio ocorre em três formas químicas diferentes: mercúrio elementar, mercúrio inorgânico e mercúrio orgânico, sendo a sua toxicidade dependente dessa forma química. As formas orgânicas do mercúrio, em especial o metilmercúrio, são significativamente mais tóxicas que as formas inorgânicas, devido ao radical orgânico propiciar uma rápida penetração na corrente sanguínea (LEOPOLD; FOULKES; WORSFOLD, 2010). A principal forma de exposição do ser humano ao metilmercúrio é através da ingestão de alimentos de origem marinha, como peixes e frutos do mar (MAHBUB et al., 2017).

As fontes naturais do mercúrio são os minérios ricos em sulfetos de mercúrio (II) e combustíveis fósseis (DIAS et al., 2016; FAKHRI, 2015; UNEP, 2013). O mercúrio pode migrar da litosfera para a hidrosfera e atmosfera através de processos naturais como o intemperismo de rochas que contém esse elemento ou por erupções vulcânicas (ISSARO; ABI-GHANEM; BERMOND, 2009; SAMADDAR; SEN, 2016). Quando se trata de fontes antropogênicas de mercúrio, as principais fontes de emissões para a atmosfera são a queima de carvão, mineração e atividades industriais para produção de metais e cimento (UNEP, 2013).

Em virtude do que foi exposto com relação à toxicidade e fontes do mercúrio, a determinação deste elemento é de grande importância para avaliar o grau de exposição e os níveis de contaminação ambiental. Porém, devido à baixa concentração do mesmo em amostras como solo, sedimento e águas naturais, e devido à volatilidade deste analito, a determinação das espécies de mercúrio, na grande maioria das vezes, não é uma tarefa fácil, requerendo métodos sensíveis e exatos (JAGTAP; MAHER, 2015; SAMADDAR; SEN, 2016).

Segundo trabalhos reportados na literatura, diversas técnicas analíticas são comumente utilizadas para determinação de espécies orgânicas e inorgânicas de mercúrio em amostras ambientais e de alimentos. Entre as técnicas analíticas mais comumente utilizadas para a determinação desse analito, estão a voltametria de redissolução anódica (ASV), voltametria de onda quadrada (SWV), espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES), espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS), espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio (CV AFS), espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS) (LEOPOLD; FOULKES; WORSFOLD, 2010).

O acoplamento de algumas das técnicas supracitadas com sistemas de análise por injeção em fluxo tem se mostrado significativamente vantajoso, por apresentar a possibilidade de minimização no consumo de reagentes e amostra, boa frequência de amostragem, diminuição do manuseio da amostra etc (ALBERTÚS et al., 1999; CERDÀ et al., 2018; PORTUGAL et al., 2015). Entre esses sistemas de introdução de amostra em fluxo, o MSFIA tem sido amplamente empregado para determinação de diversas espécies químicas, entre elas, as espécies de mercúrio, em análises de amostras de águas, ambientais e de alimentos, (CERDÀ et al., 2018; GUZMÁN-MAR et al., 2011).

A utilização das técnicas analíticas e sistemas de introdução de amostras supracitados para o desenvolvimento de novos métodos eficazes e confiáveis, requer uma etapa bastante importante, a otimização das condições experimentais. Para tal, as ferramentas quimiométricas vêm sendo amplamente difundidas, por apresentarem vantagens como: redução do número de experimentos e possibilidade de avaliar o efeito da interação entre as variáveis sobre a resposta analítica (BEZERRA et al., 2008, 2019; NOVAES et al., 2016).

Diante do exposto, este trabalho apresenta uma revisão bibliográfica sobre desenvolvimento de procedimentos analíticos para determinação de mercúrio em amostras ambientais, abordando aspectos que vão desde a importância da determinação desse analito até aspectos relacionados a técnicas analíticas de detecção e sistemas de introdução de amostras. Além disso, são também propostos e discutidos o desenvolvimento de dois métodos analíticos, aplicando ferramentas

quimiométricas, para a determinação demercúrio em amostras ambientais, utilizando a Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua e Geração de Vapor Frio (CV HR-CS AAS).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O MERCÚRIO

2.1.1. Principais fontes

Embora o mercúrio seja uma das principais preocupações atuais quando se trata de contaminação ambiental, sabe-se que o mesmo é um elemento que ocorre naturalmente em todo mundo. Suas fontes naturais incluem os minérios, estando o mercúrio presente como constituinte majoritário, a exemplo do Cinábrio, minério rico em sulfeto de mercúrio (II) extraído principalmente para a produção de mercúrio, ou como impureza em outros minérios e combustíveis fósseis (DIAS et al., 2016; FAKHRI, 2015; UNEP, 2013)

O mercúrio pode migrar pela litosfera ou ser liberado para os outros ambientes terrestres (hidrosfera e atmosfera), através de processos naturais como o intemperismo natural das rochas que contem mercúrio, ou ainda, através de erupções vulcânicas. Das emissões totais de mercúrio para a atmosfera, apenas 10% é oriunda de emissões geológicas naturais, enquanto que 30% tem origem antropogênica e 60% resultante de processos de re-emissão de mercúrio que se acumulou por séculos em solos superficiais e oceanos (ISSARO; ABI-GHANEM; BERMOND, 2009; SAMADDAR; SEN, 2016; UNEP, 2013).

Quando se trata de fontes antropogênicas de mercúrio, as principais fontes de emissões para a atmosfera são a queima de carvão, mineração e atividades industriais para produção de metais e cimento. De acordo com o que foi supracitado, o mercúrio é emitido para a atmosfera nesses tipos de atividades, uma vez que o mesmo está presente nos combustíveis fósseis e nos minérios como impurezas, qualificando tal emissão como secundária. Na atividade de mineração e atividades industriais que fazem uso intencional do mercúrio em alguma etapa do processo, como por exemplo, mineração artesanal de ouro e indústria de cloro, a emissão do mercúrio ocorre em maior escala, sendo classificada como primária (UNEP, 2013).

Como resultados dessas emissões, o mercúrio encontra-se presente nas águas, solos, ar e organismos vivos. O mercúrio, normalmente se apresenta em concentrações traço, sendo, ainda assim, um elemento altamente tóxico aos mais diversos organismos vivos (KRISHNA et al., 2005a; MAHBUB et al., 2017).

2.1.2. Efeitos toxicológicos

Entre os diversos metais que apresentam toxicidade à saúde dos seres humanos e dos ecossistemas, o mercúrio se destaca por ter a capacidade de apresentar efeitos nocivos mesmo em pequenas concentrações. Os impactos sobre os ecossistemas está relacionado aos efeitos na reprodução de espécies de aves e mamíferos predatório (BISINOTI; JARDIM, 2004; UNEP, 2013).

O mercúrio se apresenta na natureza em três formas químicas diferentes: mercúrio elementar, mercúrio inorgânico e mercúrio orgânico, e a sua toxicidade depende diretamente dessa forma química. As formas orgânicas do mercúrio, em especial o metilmercúrio, são significativamente mais tóxicas que as formas inorgânicas, devido ao radical orgânico propiciar uma rápida penetração na corrente sanguínea (LEOPOLD; FOULKES; WORSFOLD, 2010).

Os efeitos decorrentes da exposição ao metilmercúrio vão desde náuseas e vômitos à distúrbios de ordem neurológica, tais como visão turva e perda no campo visual, ataxia, parestesia, neurestenia, perda de audição, entre outros (ZHU et al., 2017).

A principal forma de exposição do ser humano ao metil-mercúrio é através da alimentação, principalmente no que se refere à alimentos de origem marinha, como peixes e frutos do mar (MAHBUB et al., 2017). Para as espécies de peixes comestíveis, o teor de metil-mercúrio não pode ultrapassar $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ (ANVISA, 2013).

Um aspecto importante com relação à concentração de metilmercúrio em peixes e outros organismos de origem aquática, é a bioacumulação desta espécie nos animais marinhos e a biomagnificação do metil-mercúrio ao longo da cadeia alimentar aquática. Essa concentração suficientemente alta de metilmercúrio em algumas espécies pode representar uma ameaça à saúde humana, e o mercúrio associado ao consumo de peixes e frutos do mar tem sido confirmado como a

principal via de exposição a esse agente tóxico na maioria das pessoas (GANDHI et al., 2014; XU et al., 2018).

Devido ao alto poder toxicológico do mercúrio e ao risco de exposição do homem à esse contaminante através da ingestão de peixes e frutos do mar, é extremamente importante o estudo e controle da concentração das espécies de mercúrio nos ambientes aquáticos.

2.2. MERCÚRIO EM SEDIMENTOS

Diante do alto poder toxicológico das espécies de mercúrio, em especial o do metil-mercúrio, e da possibilidade da conversão do mercúrio inorgânico em metil-mercúrio por organismos marinhos, diversos pesquisadores têm dado significativa importância no que diz respeito à determinação e análise de especiação desde elementos em amostras ambientais (JAGTAP; MAHER, 2015; SAMADDAR; SEN, 2016).

No ambiente aquático, o sedimento tem a capacidade de absorver e armazenar, temporariamente, mercúrio inorgânico e metil-mercúrio. A liberação do mercúrio armazenado pode ocorrer via formação de complexos solúveis com a matéria orgânica ou com sulfetos (CAVOURA et al., 2017).

Além do armazenamento do mercúrio pelo sedimento, ocorre também na interface sedimento-água um processo denominado de metilação. Esse processo ocorre quando espécies de Hg^{2+} são metiladas por ação de bactérias sulfato-redutoras e convertidas à metil-mercúrio. A desmetilação do metil-mercúrio por parte das bactérias existentes no meio, também é possível, sendo que o balanço destas duas reações irá determinar se o ambiente atuará como fonte ou sumidouro deste composto (BISINOTI; JARDIM, 2004; CESÁRIO et al., 2017).

A literatura reporta diversos trabalhos científicos que têm por objetivo monitorar a concentração das espécies de mercúrio em amostras ambientais, dentre as quais, o sedimento se encontra. A concentração das espécies de mercúrio pode variar de forma significativa de uma região para outra, como resultado da composição das rochas da região ou ainda das atividades antrópicas.

Dos Santos *et al.* (2009), descrevem um método para extração de espécies orgânicas de mercúrio em amostras de sedimento para posterior separação e quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a um espectrômetro de massas com plasma acoplado indutivamente (HPLC/ICP-MS). Diante da limitação de um material de referência de sedimento para as espécies orgânicas de mercúrio (metil, etil e fenil-mercúrio), amostras de sedimento do rio Gavião e do reservatório Anagé (Região Sudoeste da Bahia, Brasil) foram fortificadas com as três espécies de interesse para posterior otimização do procedimento de extração. Foi realizado um estudo em que três solventes orgânicos foram avaliados como solvente extrator: clorofórmio, metanol e n-butanol, contendo acetato de amônio em uma concentração de 1 mol L⁻¹, obtendo-se melhores recuperações para o n-butanol. Após extração, as espécies de mercúrio foram separadas e quantificadas por HPLC/ICP-MS. O método apresentou limites de detecção de 0,5; 0,8 e 1,0 µg L⁻¹ para as espécies metil, etil e fenil-mercúrio, respectivamente, e boa precisão. O método foi aplicado à diferentes amostras coletadas na região de estudo e os valores de metil, etil e fenil-mercúrio ficaram entre 12,1 e 81,5; 12,1 e 31,2; 5,4 e 11,5 ng g⁻¹, respectivamente.

Rahman e Kingston (2005), desenvolveram um método de extração assistido por radiação de micro-ondas para determinação de mercúrio inorgânico e metil-mercúrio em amostras de solo e sedimento. Inicialmente, foi estudada a estabilidade das espécies de mercúrio frente à concentração do HNO₃, temperatura de extração e tempo de irradiação. Com base no estudo supracitado, foi possível inferir que não houve conversão entre as espécies de mercúrio estudadas para uma concentração ácida de até 4 mol L⁻¹, temperatura de 100 °C e tempo de 14 minutos. As condições de extração foram otimizadas de forma que 1,0 g de amostra homogeneizada foi pesada diretamente no tubo de extração, no qual foi adicionado 10 mL de HNO₃ 4 mol L⁻¹; O sistema foi então fechado e foi aplicada radiação de micro-ondas a uma temperatura de 100 °C, com agitação magnética constante, durante 10 minutos. O método foi validado com base na análise de materiais de referências certificado e quantificação por três técnicas analíticas diferentes: DMA-80, ICP-MS e HPLC-ICP-MS.

Jagtap *et al.* (2011), realizaram medidas para determinação de metil-mercúrio e mercúrio inorgânico em amostras de tecido de peixe e sedimentos. No que diz

respeito à quantificação das espécies de mercúrio nas amostras de sedimento, primeiramente foi realizado um estudo para otimização da extração das espécies de mercúrio, em que foram avaliados os seguintes parâmetros: solução extratora (cisteína, tiouréia e 2-mercaptoetanol), concentração da solução extratora, massa da amostra, tempo de extração e temperatura de extração. Após otimização, o procedimento de extração consistiu da pesagem de 0,2 g da amostra em vasos digestores, adição de 2,5 mL de 2-mercaptoetanol 0,5 % (v v⁻¹), aquecimento em forno micro-ondas a 120°C por 15 min. Posteriormente, os extratos foram centrifugados durante 20 min a 3000 rpm e após separação do sobrenadante, o procedimento de extração foi repetido para garantir uma extração mais efetiva do analito. O procedimento foi validado, apresentando porcentagens de extração próximas à 100 %, após análise de diferentes materiais de referência certificados e quantificação por HPLC/ICP-MS e HPLC/HGAAS.

Leng *et al.* (2012), desenvolveram uma metodologia simples e rápida para extração líquido-líquido de metil-mercúrio, etil-mercúrio e mercúrio inorgânico em amostras de sedimento utilizando agitador vortex e detecção por espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor químico acoplada à cromatografia líquida de alta eficiência. Os autores afirmam que o sistema de agitação vigorosa utilizado propiciava obtenção de pequenas gotículas do solvente extrator (L-cisteína 1% m/v) dispersas no tetracloreto de carbono. Tal processo proporciona uma eficiente extração das espécies de mercúrio pela menor distância de difusão e pela maior superfície específica. Após otimização das variáveis do sistema, as figuras de mérito foram estabelecidas, obtendo-se bons limites de detecção e boa precisão. O método foi validado através da análise de dois materiais de referência certificados (ERM-CC580 e IAEA-405), obtendo-se recuperações de 94 % e 95 %, respectivamente. O método foi aplicado em três amostras de sedimento do rio Pi, China, encontrando-se concentrações que variaram de 4,0 a 17,7 ng g⁻¹ para Hg²⁺, 0,89 a 2,84 ng g⁻¹ para MeHg⁺ e de 0,53 a 1,12 ng g⁻¹ para EtHg⁺.

Calleet *al.* (2015), estudos a bioacumulação de mercúrio em sedimento da Península Antártica. O mercúrio foi quantificado utilizando um Analisador Direto de Mercúrio (DMA-80) com limite de detecção de 0,005 ng. O método foi validado a partir da análise de um material de referência certificado de sedimento estuarino (NIST 1646a), em que o valor de recuperação foi de 94 % e 93%, para os anos de

2012 e 2013, respectivamente. Amostras de três regiões diferentes foram analisadas nos anos de 2012 e 2013 e foi possível verificar um aumento de até 4,5 vezes na concentração de mercúrio.

Almeida *et al.* (2016) propõem um método rápido e eficiente para extração de espécies de mercúrio em amostras de solo e sedimento para posterior quantificação por Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio (CV AAS). Para tal, uma massa de 500 mg da amostra foi pesada em tubo de polipropileno e misturada à 250 μL de L-cisteína 1% (m v^{-1}) e 1 mL da solução alcalina extratora (Universol® 40% v v^{-1}). A mistura foi aquecida à 60 °C durante 30 minutos em banho termostático e, após resfriamento, o volume foi completado para 5 mL e a solução foi centrifugada e filtrada. Para determinação de Hg^{2+} , 1 mL da solução sobrenadante foi diluída para 50 mL e analisada por CV AAS utilizando uma solução ácida de $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,75% (m v^{-1}) como reagente redutor. Para determinação do mercúrio total, 1 mL da solução sobrenadante foi misturada à 2 mL de uma solução de KMnO_4 , para oxidação do metil-mercúrio à Hg^{2+} , e 3 mL de $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, para redução do excesso de KMnO_4 . A solução teve seu volume completado para 50 mL e analisada por CV AAS utilizando uma solução alcalina de NaBH_4 1 % (m v^{-1}) como reagente redutor. A concentração de metil-mercúrio foi calculada pela diferença entre a concentração de mercúrio total e Hg^{2+} . O método desenvolvido foi aplicado em amostras reais e as concentrações de mercúrio total e Hg^{2+} foram de $0,29 \pm 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,28 \pm 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente.

Na Tabela 1 são apresentados outros trabalhos que investigaram o teor de mercúrio e de suas espécies em amostras de sedimentos e/ou solo de diferentes tipos e localidades.

Segundo a Resolução nº 454 do CONAMA, de 01 de novembro de 2012, que estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional, o teor de mercúrio (mg kg^{-1}) em material seco dragado sob água doce é de 0,17 (nível 1) e 0,486 (nível 2), e sob água salgada ou salobra é de 0,3 (nível 1) e 1,0 (nível 2). O nível 1 é a concentração abaixo da qual há menor probabilidade de efeito adversos à biota, enquanto que o nível 2 é a concentração acima da qual há maior probabilidade de efeitos adversos à saúde.

Com relação aos dados da Tabela 1, é possível inferir que as concentrações encontradas nos diferentes tipos de sedimentos de diferentes origens foram abaixo do que preconiza a resolução, no que diz respeito à contaminação dos mesmo.

Tabela 1. Concentração de espécies de mercúrio em amostras de sedimento e solo de diferentes localidades.

Analito	Amostra	Localidade	LOD	Concentração	Referência
MeHg ⁺	Sedimento de rio	Rio Anagé, Sudoeste da Bahia, Brasil	0,5 µg L ⁻¹	12,1 – 81,5 ng g ⁻¹	(DOS SANTOS et al., 2009)
EtHg ⁺			0,8 µg L ⁻¹	12,1 – 31,2 ng g ⁻¹	
PhHg ⁺			1,0 µg L ⁻¹	5,4 – 11,5 ng g ⁻¹	
Hg ²⁺			0,029 ng g ⁻¹	4,0 – 17,7 ng g ⁻¹	
MeHg ⁺	Sedimento de rio	Rio Pi, Chengdu, China	0,028 ng g ⁻¹	0,89 – 2,84 ng g ⁻¹	(LENG et al., 2012)
EtHg ⁺			0,057 ng g ⁻¹	0,53 – 1,12 ng g ⁻¹	
Hg _{Total}	Solo	Romaria-MG, Brasil	0,07 mg kg ⁻¹	0,29 mg kg ⁻¹	(ALMEIDA et al., 2016)
Hg ²⁺			0,08 mg kg ⁻¹	0,28 mg kg ⁻¹	
Hg _{Total}	Sedimento de estuário e de manguezal	Rio Paraíba do Sul, Bacia de Campos-RJ, Brasil	–	23,0 ng g ⁻¹	(ARAUJO et al., 2017)
MeHg ⁺				0,13 ng g ⁻¹	
Hg _{Total}	Sedimento marinho	Baia de Chabahar, Irã	–	0,06 – 0,14 mg kg ⁻¹	(MOLAMOBYEDDIN, N.; GHAFOURIAN, H.; SADATIPOUR, 2017)
Hg _{Total}	Sedimento marinho	Golfo de Gdansk, Polônia	–	17 – 153 ng g ⁻¹	(BEŁDOWSKI et al., 2014)
MeHg ⁺				68 – 940 pg g ⁻¹	
Hg _{Total}				6 – 13 ng g ⁻¹	
MeHg ⁺				61 – 94 pg g ⁻¹	

2.3. MERCÚRIO EM CORPOS HÍDRICOS

Em se tratando dos corpos hídricos, sabe-se que estes são, na grande maioria, usados pelas indústrias para descarte de efluentes. O descarte de efluentes industriais, contendo contaminantes químicos e/ou biológicos, e fora da legislação ambiental vigente podem ocasionar danos severos ao ambiente.

A determinação mercúrio em corpos hídricos é de extrema importância, uma vez que os efluentes industriais podem ser ricos nesse metal, e por este elemento se caracterizar como um poluente que se encontra nos diferentes ambientes terrestres (hidrosfera, atmosfera e litosfera), além de apresentar capacidade de bioacumulação e biomagnificação.

Diversos trabalhos na literatura reportam a determinação de mercúrio total e/ou das suas frações orgânicas e inorgânicas em amostras de águas naturais. Em geral, o mercúrio é um contaminante que apresenta concentração a nível traço nos compartimentos ambientais, em especial, no que diz respeito aos recursos hídricos. Assim, o desenvolvimento de novas metodologias que permitam a quantificação e análise de especiação do mercúrio, a nível traço, é significativamente importante.

Krishna *et al.* (2005b), propuseram um método para pré-concentração e análise de especiação de mercúrio inorgânico e metil-mercúrio em amostras de água, utilizando polianilina e filamento de ouro e determinação por CVAAS. Inicialmente, foi investigada a aplicabilidade da polianilina como fase sólida para a pré-concentração do Hg^{2+} e do metil-mercúrio em diferentes amostras de água, obtendo-se extrações de aproximadamente 100% na faixa de pH entre 1 e 12, para o Hg^{2+} e pH acima de 5 para o metil-mercúrio. Para separação das espécies de mercúrio foi realizada uma extração seletiva e sequencial com solução de HCl 0,3%, para extração do metil-mercúrio, e solução de HCl 0,3% com tiouréia 0,02%, para extração do Hg^{2+} . Uma pré-concentração adicional foi realizada utilizando o filamento de ouro para posterior análise por CV AAS. O método proposto apresentou limite de detecção de $0,05 \text{ ng L}^{-1}$ para Hg^{2+} e foi aplicado em amostra reais, não tendo sido detectado o metil-mercúrio e detectando Hg^{2+} com valores que variaram entre 2,0 e $35,0 \text{ ng L}^{-1}$.

Dez anos depois, mesmo com o desenvolvimento e/ou modernização de técnicas analíticas já existentes, Krawczyk e Stanis (2016) reafirmam a necessidade do desenvolvimento de novas metodologias que permitam a quantificação de espécies de mercúrio em concentração traço. Os pesquisadores desenvolveram uma metodologia para pré-concentração e quantificação de mercúrio inorgânico e metil-mercúrio utilizando a extração em fase sólida, com nanopartículas de óxido de titânio como adsorvente, combinada com radiação em banho ultrassônico. Após a etapa de pré-concentração e preparo da suspensão das nanopartículas, utilizou-se a espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio para quantificação das espécies. O método desenvolvido foi validado através da análise de materiais de referência certificados e apresentou limite de detecção de 4 ng L⁻¹ para Hg²⁺. O método desenvolvido foi aplicado na análise de amostras de água de lago e de rio, não tendo detectado nenhuma das espécies de mercúrio, evidenciando a possível baixa concentração desses analitos nas amostras analisadas.

Zhu *et al.* (2017), realizaram a extração de mercúrio inorgânico, metil-mercúrio e fenil-mercúrio das amostras de água utilizando nanopartículas magnéticas de ferro, como fase sólida, para posterior separação e quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um espectrômetro de massa com plasma acoplado indutivamente. Após otimização das condições experimentais, os limites de detecção obtidos foram de 0,49, 0,67 e 0,74 ng L⁻¹ para fenil-mercúrio, metil-mercúrio e mercúrio inorgânico, respectivamente. O método foi validado pela análise de um material de referência certificado e depois aplicado em amostras de água ambiental, residual e de torneira. Para a determinação do mercúrio inorgânico, apenas uma amostra apresentou concentração acima do limite de detecção, sendo esta de 5,8 ng L⁻¹. Já para as espécies orgânicas de mercúrio, os resultados de concentração ficaram abaixo do limite de quantificação do método.

Moutcine e Chtaini (2018), propuseram um método eletroanalítico para determinação de mercúrio em amostras de água que consistia na modificação do eletrodo de pasta de carbono (CPE) com o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e posterior detecção por voltametria de onda quadrada (SWV). Segundo os autores, o método desenvolvido se mostrou simples e sensível para a determinação de Hg(II), com precisão de 3,1 % (RSD), para uma solução padrão com concentração de

mercúrio de 10,0 mg L⁻¹, e limite de detecção de 1,73 µg L⁻¹ para um tempo de pré-concentração de 5 minutos.

Na Tabela 2 são reportados outros trabalhos que realizaram a análise de amostras de águas naturais para investigar o teor de mercúrio inorgânico.

Com base nos trabalhos supracitados, é possível inferir que ainda existe a necessidade do desenvolvimento de métodos cada vez mais sensíveis para a determinação de mercúrio a nível traço, visto que as normativas vigentes apontam para valores toleráveis de mercúrio, em amostras ambientais, em níveis muito baixos.

Tabela 2. Concentração de Hg²⁺ em amostras de água natural de diferentes localidades.

Amostra	LOD	Concentração	Referência
Água de torneira, água de lagoa e água residual	0,05 µg L ⁻¹	0,72 – 2,13 µg L ⁻¹	(LI et al., 2016)
Água de torneira e água residual	2,70 µg L ⁻¹	< LOD	(HUA et al., 2017)
Água de torneira, água de lago e água residual	2,5 ng L ⁻¹	< LOD	(WANG et al., 2017)
Água mineral	38 µg L ⁻¹	< LOD	(YAHYAZADEH; SHEMIRANI, 2019)
Água de rio	0,70 µg L ⁻¹	< LOD	(FASHI; YAFTIAN; ZAMANI, 2017)
Água natural	8,0 ng L ⁻¹	–	(AKBAR; MANOOCHEHRI, 2019)

2.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO

Diversos trabalhos são reportadas na literatura em que são realizadas determinações de espécies orgânicas e inorgânicas de mercúrio em amostras ambientais, com diferentes técnicas analíticas. Essas técnicas baseiam-se, normalmente, na interação entre a matéria e alguma propriedade elétrica, técnicas eletroanalíticas, ou na interação entre a matéria com a radiação eletromagnética, técnicas espectroanalíticas.

Entre as técnicas analíticas mais comumente utilizadas para a determinação desse analito, estão a voltametria de redissolução anódica (ASV), voltametria de onda quadrada (SWV), espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES), espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS), espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio (CV AFS), espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS) (LEOPOLD; FOULKES; WORSFOLD, 2010).

Na Tabela 3, são apresentados trabalhos científicos que fizeram uso das técnicas supracitadas para a determinação de mercúrio em amostras ambientais.

As técnicas de Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) são as mais amplamente difundidas e utilizadas quando se trata da determinação de elementos traço. A técnica se baseia no princípio de que átomos livres gerados em um atomizador são capazes de absorver radiação eletromagnética de energia específica (comprimento de onda) emitida por uma fonte espectral. A redução da intensidade da radiação emitida pela fonte espectral, para um dado comprimento de onda, está correlacionada através da absorvância com o número de átomos livres no caminho óptico e conseqüentemente com a concentração do elemento na amostra, obedecendo os princípios da lei de Beer (BORGES; WELZ; HEITMANN, 2005).

A etapa de conversão do analito em átomos livres no estado gasoso, atomização, pode ser através de uma chama ou aquecimento eletrotérmico. No caso específico da utilização da espectrometria de absorção atômica para determinação de mercúrio, não se faz necessária a aplicação de uma fonte de calor para promover a atomização. Nesse caso, o elemento é quimicamente reduzido ao seu estado elementar por meio da reação entre o analito e um forte agente redutor em um

sistema fechado. Os átomos livres no estado gasoso são encaminhados, com o auxílio de um gás carreador, à um tubo ou célula de quartzo posicionado no caminho óptico do espectrômetro (D'ULIVO, 2004).

A medida em que os átomos livres de mercúrio chegam à célula de quartzo, a medida de absorvância aumenta indicando o aumento da concentração de átomos de mercúrio no caminho óptico. O valor de absorvância diminuirá a medida que a taxa de geração de vapor de mercúrio diminui, em virtude do esgotamento do analito na amostra. Dessa forma, haverá um máximo de absorvância, máximo esse que será utilizado para a medida do sinal analítico do analito na amostra, ou seja, o sinal é tomado como altura de pico (BEATY; KERBER, 2002).

No que diz respeito à etapa de redução das diversas espécies de mercúrio à mercúrio elementar (Hg^0), são mais amplamente utilizados dois agentes redutores: o cloreto estanhoso ($SnCl_2$) e o tetraidroborato de sódio ($NaBH_4$). O $SnCl_2$ apresenta boa eficiência de redução para o íon Hg^{2+} e para os compostos organomercuriais, com exceção do metilmercúrio. Já o $NaBH_4$, por ser um agente redutor mais eficiente, pode ser também utilizados nos casos em que se pretende determinar o metil-mercúrio (FERREIRA et al., 2015; ISSARO; ABI-GHANEM; BERMOND, 2009).

As equações 1 e 2 abaixo, representam a redução do mercúrio inorgânico pela ação do $SnCl_2$ e $NaBH_4$, respectivamente.

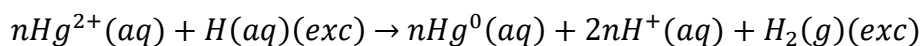
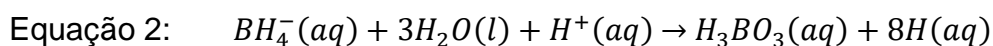
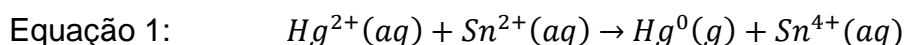


Tabela 3. Metodologias para determinação de mercúrio em diferentes amostras ambientais.

Amostra	Metodologia de preparo da amostra	Técnica analítica	Referência
Sedimento de rio	Digestão com HNO ₃ em sistema fechado	CV AAS	(APPOH et al., 2011)
Planta e solo	Digestão com HNO ₃ /HCl (3:1) em sistema fechado	CV-ICP OES	(HELLINGS; ADELOJU; VERHEYEN, 2013)
Água de torneira, lagoa e águas residuais	Pré-concentração com extração líquido-líquido	ASV	(LI et al., 2016)
Água de lago e de rio	Pré-concentração com microextração líquido-líquido	CV AFS	(AMDE et al., 2016)
Água de lago, de rio e de torneira	Pré-concentração com microextração líquido-líquido	GF AAS	(LIANG; KANG; MO, 2016)
Água de lago e de rio	Digestão com HNO ₃ /H ₂ O ₂ em sistema fechado/Extração em banho ultrassônico/Pré-concentração com extração em fase sólida	CV AAS	(KRAWCZYK; STANISZ, 2016)
Sedimento	Digestão com HNO ₃ /HF em sistema fechado/Extração em banho ultrassônico/Pré-concentração com extração em fase sólida		
Água do mar	Pré-concentração em linha com microextração em fase sólida	CV-ET AAS	(VEREDA ALONSO et al., 2016)
Água do mar	Pré-concentração com extração em fase sólida	HPLC-ICP-MS	(ZHANG et al., 2016)

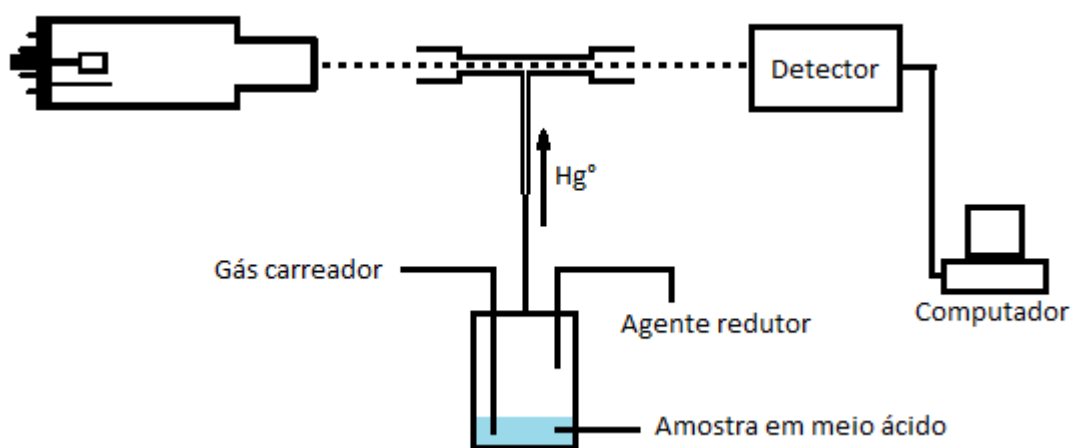
Tabela 3. Metodologias para determinação de mercúrio em amostras ambientais (continuação).

Amostra	Metodologia de preparo da amostra	Técnica analítica	Referência
Água de rio	-		
Sedimento	-	ICP OES	(SUNJOG et al., 2016)
Peixe	Digestão com HNO ₃ /H ₂ O ₂ em sistema fechado		
Água residuais e de torneira	Pré-concentração com extração em fase sólida	HPLC-ICP-MS	(ZHU et al., 2017)
Peixe	Extração com HCl com radiação de ultrassom		
Água potável	Pré-concentração em fase sólida	Fluorescência Molecular	(MAKAM et al., 2018)
Água de torneira	-	SWV	(MOUTCINE; CHTAINI, 2018)
Água residual	Extração em fase sólida	ICP OES	(ŞAHAN; EROL; YILMAZ, 2018)

Na equação 1, a reação de oxi-redução entre o Sn^{2+} e o Hg^{2+} garante a redução do analito na sua forma reduzido, Hg^0 , e a consequente oxidação do estanho bivalente ao tetravalente. No caso da redução do mercúrio inorgânico utilizando como agente redutor o NaBH_4 , equação 2, a reação ocorre em meio ácido, promovendo a formação do mercúrio elementar.

Como supracitado, o mercúrio elementar produzido é então carregado para o tubo de quartzo, para posterior medida do sinal analítico. A Figura 1 ilustra o sistema de geração de vapor frio de mercúrio acoplado a um espectrômetro de absorção atômica.

Figura 1. Sistema de geração de vapor frio de mercúrio acoplado à AAS.



Fonte: Próprio autor

Para a grande maioria dos casos, a aplicação de uma das técnicas analíticas citadas anteriormente está condicionada a um preparo de amostra que compatibilize a amostra à técnica, uma vez que a maioria das técnicas requer uma solução do analito. Esse preparo da amostra, por muitas vezes, é a etapa mais crítica da sequência analítica, responsável por uma maior quantidade de erros e por demandar bastante tempo (KRUG; ROCHA, 2016).

Algumas técnicas comercialmente disponíveis permitem a análise direta de sólidos. Este recurso minimiza drasticamente o tempo necessário no preparo de uma amostra, uma vez que muitas vezes é necessário apenas a moagem e homogeneização do material.

Souza *et al.* (2015), desenvolveram uma metodologia para determinação de mercúrio em amostras de fertilizantes fosfatados por Amostragem Direta (SS) empregando a Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua e Forno de Grafite (GF HR-CS AAS). Embora não tenha havido a solubilização da amostra, o método foi validado e se mostrou bastante satisfatório para determinação de mercúrio, com limite de quantificação de 4,8 ng g⁻¹ e precisão (RSD) de 8,2%.

Uma outra proposta para análise direta de sólidos para determinação do mercúrio é a aplicação da Espectrometria de Absorção Atômica com Amalgamação e Decomposição Térmica (TDA-AAS). Comercialmente disponível, o Analisador Direto de Mercúrio (DMA) é um instrumento que integra a decomposição térmica com a espectrometria de absorção atômica, aliado a um sistema integrado de pré-concentração através da amalgamação de ouro (RIBEIRO; GERMANO, 2015; WANG *et al.*, 2017).

Como já mencionado, o uso do DMA dispensa tratamentos mais severos da amostra, como digestão e/ou extrações, reduzindo o custo, a geração de resíduos e o tempo envolvido na análise da amostra. Um aspecto crucial para uso desta técnica é a complexidade e homogeneidade da amostra. A pouca homogeneidade do analito na amostra pode gerar resultados analíticos com altos desvios, caracterizando o desenvolvimento de métodos pouco precisos e sensíveis (RIBEIRO; GERMANO, 2015; ZARCO-FERNÁNDEZ *et al.*, 2017).

A Tabela 4 reporta trabalhos da literatura que utilizaram o DMA para determinar a concentração de mercúrio em diferentes amostras ambientais.

Tabela 4. Limite de detecção para mercúrio determinado por DMA em diferentes matrizes.

Amostra	Limite de detecção	Referência
Tecido animal	2,70 µg kg ⁻¹	(RIBEIRO; GERMANO, 2015)
Água	2,5 pg mL ⁻¹	(WANG <i>et al.</i> , 2017)
Sedimento de rio	1,0 µg kg ⁻¹	(SUELI; CAROLINNE; DOUGLAS, 2018)
Material particulado	–	(BEŁDOWSKA <i>et al.</i> , 2018)

Quando se trata da determinação de mercúrio em amostras líquidas, amostras de água ou em amostras que sofreram algum tipo de preparo, uma excelente alternativa para obtenção de bons resultados analíticos é o acoplamento de sistemas de injeção em fluxo à técnicas usualmente utilizadas para determinação desse analito, como a espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio ou a espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio.

2.5.ACOPLAMENTO DE SISTEMAS EM FLUXO À TÉCNICAS ESPECTROANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO

Atualmente, as técnicas de análise em fluxo têm sido bastante utilizadas nos laboratórios, uma vez que, apresentam grande aplicabilidade nos diversos sistemas de análises químicas e, também, por conferirem algumas vantagens: redução no consumo de reagentes e amostras, diminuição no manuseio da amostra, possibilidade de etapas de pré-tratamento on-line da amostra, permitir o acoplamento com vários sistemas analíticos de detecção, entre outras (CERDÀ et al., 2018).

O início do desenvolvimento desse tipo de sistema de introdução de amostra se deu nos anos cinquenta, quando um sistema de fluxo contínuo segmentado (CFA) foi proposto e descrito por Skeggs (1957). A segmentação do fluxo por bolhas de ar foi aceita por aproximadamente vinte anos, quando algumas vantagens operacionais do fluxo não segmentado foram reportadas, levando à concepção e desenvolvimento dos sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA) (RANGER, 1981; ZAGATTO; OLIVEIRA; COLLINS, 1999).

A partir da concepção do fluxo não segmentado, surgiram diversas modalidades dos sistemas FIA, que são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Modalidades de sistemas em fluxo.

Sistema	Sigla	Referência
Análise em Fluxo Monossegmentado	MSFA, do inglês <i>MonosegmentedFlowAnalysis</i>	(PASQUINI; OLIVEIRA, 1985)
Análise por Injeção Sequencial	SIA, do inglês <i>Sequential InjectionAnalysis</i>	(RUZICKA; MARSHALL, 1990)
Análise por Injeção em Fluxo Multicomutado	MCFIA, do inglês <i>Multi-Commutated Flow Injection Analysis</i>	(REIS et al., 1994)
Análise por Injeção em Fluxo com Multiseringa	MSFIA, do inglês <i>Multi-SyringeFlowInjectionAnalysis</i>	(ALBERTÚS et al., 1999)
Análise por Injeção em Fluxo com Multibomba	MPFIA, do inglês <i>Multi-PumpingFlowInjectionAnalysis</i>	(LAPA et al., 2002)
Análise em Fluxo-Batelada	FBA, do inglês <i>Flow-Batch Analysis</i>	(HONORATO et al., 1999)

2.5.1. Análise por Injeção em Fluxo com Multiseringa (MSFIA)

O sistema de Análise por Injeção em Fluxo com Multiseringa (MSFIA), descrito pela primeira vez em 1999, apresenta como características e vantagens principais: robustez, necessidade de controle por computador, minimização no consumo de reagentes e amostra, boa frequência de amostragem, diminuição do manuseio da amostra, entre outras. Além disso, esse tipo de sistema permite etapas de pré-tratamento da amostra on-line, como por exemplo a pré-concentração, e o acoplamento à vários sistemas analíticos de detecção (ALBERTÚS et al., 1999; CERDÀ et al., 2018; PORTUGAL et al., 2015).

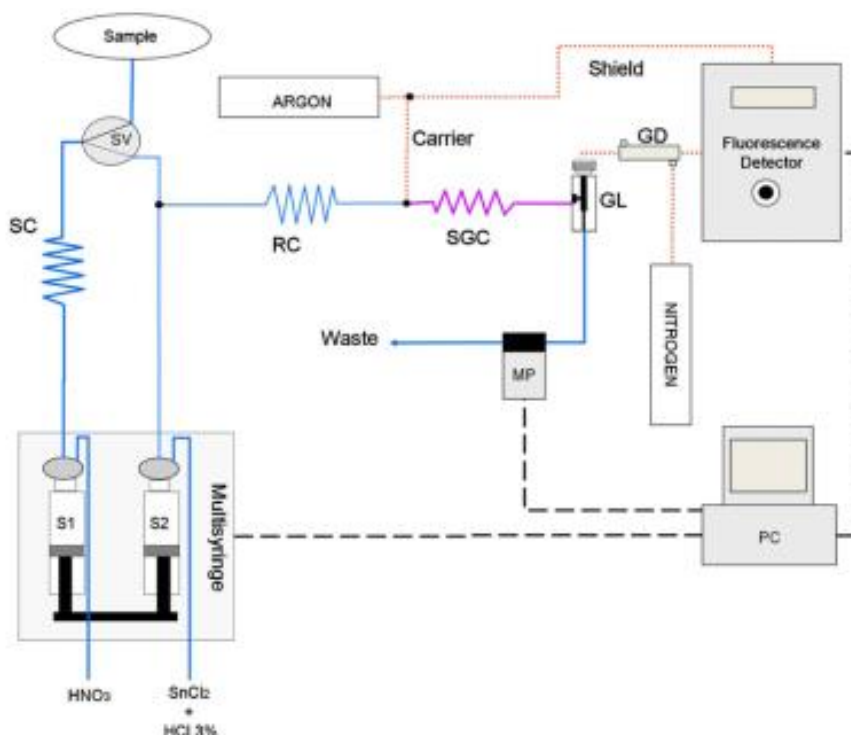
O MSFIA tem sido amplamente empregado para análise de amostras de águas, ambientais e de alimentos, para determinação de diversas espécies

químicas, entre elas, as espécies de mercúrio (CERDÀ et al., 2018; GUZMÁN-MAR et al., 2011).

Da Silva *et al.* (2013), utilizaram um sistema MSFIA, para gerar vapor atômico de mercúrio on-line e posterior introdução em um espectrômetro de fluorescência atômica. As amostras foram previamente decompostas em sistema fechado com ácido nítrico e peróxido de hidrogênio, aquecido com radiação de micro-ondas. O sistema desenvolvido pode ser visualizado na Figura 2.

Segundo reportam os autores, a amostra é succionada pela seringa (S1) preenchendo a bobina de amostragem (SC). Posteriormente, a válvula solenoide (SV) é acionada, modificando a direção do fluxo e a amostra é então injetada no sistema, sendo misturada com o agente redutor (SnCl_2) em solução de HCl 3%. A solução é então misturada ao gás carreador e direcionada a um gerador de spray. Em seguida, a amostra passa pelo separador gás-líquido (GL) e a mistura gasosa passa pelo dispositivo de secagem (GD), impedindo a entrada de umidade do gás carreador e vapor de água da amostra no sistema de detecção, eliminando assim possíveis interferências.

Figura 2. Esquema de um método MSFIA acoplado a um espectrômetro de fluorescência atômica para determinação de mercúrio total.

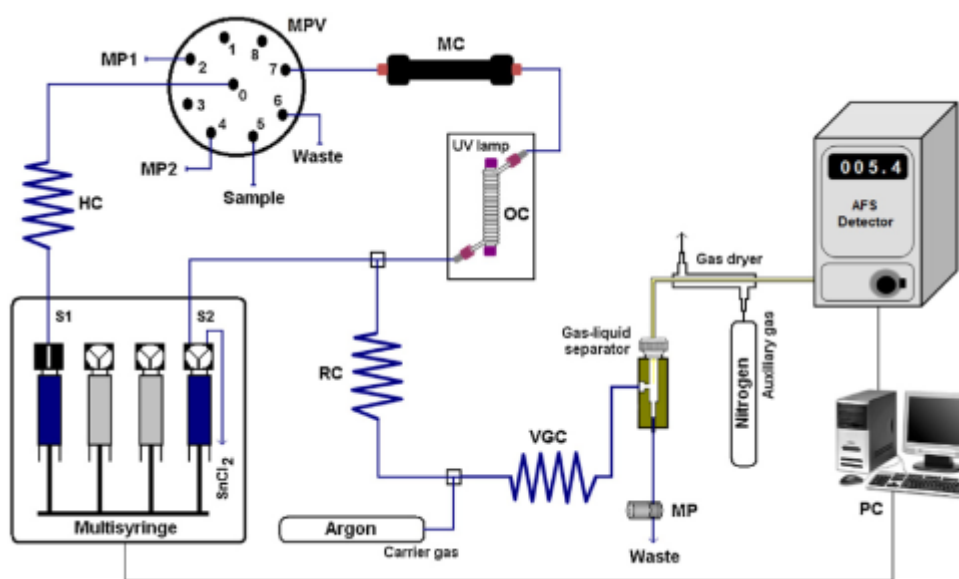


Fonte: Da Silva *et al.* (2013).

A metodologia desenvolvida apresentou limite de detecção de $0,48 \text{ ng g}^{-1}$, e exatidão comprovada mediante análise de um material de referência certificado de farinha de arroz (NIST 1568a – Rice Flour). O método foi aplicado em amostras reais, que apresentaram concentrações de mercúrio que variaram de $2,15$ a $7,25 \text{ ng g}^{-1}$.

Um segundo trabalho reportado na literatura trata-se da análise de especiação de mercúrio em amostras biológicas e ambientais. O método desenvolvido por Guzmán-Mar et al. (2011), que acopla um sistema MSFIA a um espectrômetro de fluorescência atômica com vapor frio, é capaz de determinar a concentração de mercúrio inorgânico, metilmercúrio e etilmercúrio com limites de detecção de $0,11$, $0,03$ e $0,09 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A Figura 3 ilustra o sistema desenvolvido pelos pesquisadores.

Figura 3. Esquema de um método MSFIA acoplado a um espectrômetro de fluorescência atômica para análise de especiação de mercúrio.



Fonte: Guzmán-Mar et al. (2011).

Primeiramente, a bobina de amostragem (HC) é preenchida a partir da sucção da fase móvel 1 (MP1) pela seringa S1 e utilizando a posição 2 da válvula multi-posição (MPV). Em seguida, a amostra é succionada pela seringa S1 e posição 5 da válvula MPV. Posteriormente, $1,6 \text{ mL}$ da solução é direcionada à coluna C18 (MC) para separação das espécies de mercúrio. As espécies de metilmercúrio e mercúrio

inorgânicos são eluídas da MC pela solução MP1, e direcionadas para a bobina de oxidação (OC). As espécies oxidadas são misturadas à solução de SnCl₂ da bobina de reação (RC) para redução do mercúrio para vapor de mercúrio (Hg⁰). O Hg⁰, gerado na bobina geradora de vapor (VGC), é carregado através de um fluxo de argônio para o separador gás-líquido para posterior detecção. As espécies de etilmercúrio, remanescentes na MC, são eluídas pela fase móvel 2 (MP2) e direcionadas para a etapa de oxidação na OC para posterior redução, com o agente redutor SnCl₂, e detecção no espectrômetro de fluorescência atômica. A fase móvel 1, otimizada pelos autores, é uma mistura do 2-mercaptoetanol (0,005%) em 240 mmol L⁻¹ de acetato de amônio em acetonitrila (99:1 v v⁻¹) e a fase móvel 2, uma mistura do 2-mercaptoetanol (0,005%) em 240 mM de acetato de amônio em acetonitrila (90:10 v v⁻¹).

O método proposto foi validado mediante análise do material de referência certificado DORM-2 (*Dog Fish Muscle*) e aplicado em amostras reais.

Como foi demonstrado a partir dos trabalhos supracitados, é possível inferir que o acoplamento de sistemas em fluxo às técnicas espectroanalíticas é uma boa alternativa, conferindo aos métodos uma automação eficiente e resultados de precisão e sensibilidade bastante satisfatórios.

2.6. OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO

O desenvolvimento de novas metodologias analíticas requer uma etapa bastante importante para a obtenção de resultados confiáveis e satisfatórios, a otimização das condições experimentais. O termo otimização, na química analítica, se refere ao conjunto de experimentos que buscam encontrar condições experimentais que produzam melhores resultados possíveis. Para tal, as ferramentas quimiométricas vêm sendo amplamente difundidas, visto que as mesmas apresentam vantagens com relação à otimização univariada, são elas: redução do número de experimentos, o que resulta em um menor consumo de reagentes e possibilidade de avaliação do efeito da interação entre as variáveis sobre a resposta analítica (BEZERRA et al., 2008, 2019; NOVAES et al., 2016).

Nesse tipo de metodologia de otimização, as variáveis que independem do sistema a ser otimizado, também chamadas de fatores, são variadas de forma simultânea a fim de se obter o máximo ou mínimo da variável dependente, ou seja, da resposta. Como já mencionado, diferentemente da metodologia univariada, nesse tipo de otimização os fatores otimizados são variados ao mesmo tempo, o que possibilita a avaliação da interação entre eles (FERREIRA et al., 2007; VANINI et al., 2015).

Quando se trata de otimização multivariada de processos analíticos, as metodologias de superfície de resposta (MSR) têm sido amplamente empregadas e se mostrado significativamente relevantes. Essas metodologias fazem uso da matemática e estatística para gerar equações polinomiais, ou modelos matemáticos, que descrevem o comportamento do conjunto de dados, fazendo previsões estatísticas e permitindo a obtenção de informações a cerca dos fatores para a obtenção da melhor resposta do sistema. Entre as MSR estão o Planejamento Fatorial de três níveis, o Composto Central, o Box-Behnken e a Matriz de Doehlert (BEZERRA et al., 2019; CALLAO, 2014).

Na otimização multivariada, uma etapa importante é a seleção das variáveis independentes e do domínio experimental em que as mesmas serão estudadas. Geralmente, antes de aplicar alguma das metodologias de superfície de respostas, é realizada uma etapa prévia no qual é aplicado o Planejamento Fatorial Completo ou Fracionário em que o objetivo é selecionar as variáveis que realmente apresentam efeito significativo sobre a resposta e magnitude destes efeitos (FERREIRA, 2015).

Em virtude das vantagens mencionadas anteriormente, nos últimos anos, diversas pesquisas têm mencionado o sucesso na aplicação das metodologias de otimização multivariada no desenvolvimento de novas metodologias eficazes para quantificação de metais-traço em diversas amostras (CALLAO, 2014).

No que diz respeito à utilização dessas metodologias de otimização na otimização de métodos analíticos para determinação de mercúrio, elas têm se mostrado eficientes e algumas pesquisas nessa vertente serão discutidas nesse trabalho.

Da Silva et al. (2019), utilizaram o Planejamento Fatorial Completo de Dois Níveis e a Matriz de Doehlert para otimizar as condições de geração de vapor químico de um método para determinação simultânea de mercúrio e selênio em

amostras de peixe com detecção por Espectrometria de Fluorescência Atômica. Neste estudo, primeiramente foram investigados o efeito das variáveis concentração de ácido nítrico ($[\text{HNO}_3]$), concentração de borohidreto de sódio ($[\text{NaBH}_4]$) e vazão do gás carreador, cujos domínios experimentais foram de $0,5 - 1,5 \text{ mol L}^{-1}$, $0,1 - 1,5 \text{ \% (m v}^{-1})$ e $200 - 600 \text{ mL min}^{-1}$, respectivamente. Os resultados do Planejamento Fatorial Completo demonstraram que a variável $[\text{NaBH}_4]$ foi a que apresentou um maior efeito, sendo este positivo, indicando que a geração do vapor químico das espécies era favorecida com o aumento da concentração do agente redutor. As outras duas variáveis estudadas também apresentaram efeito significativo, sendo os mesmos negativos, ou seja, o sinal analítico era maior em condições de menores concentrações de HNO_3 e menores vazões do gás carreador. Posteriormente, devido a necessidade de estudar novamente o efeito das variáveis e em decorrência da restrição em diminuir a concentração do ácido nítrico, um novo planejamento foi realizado, fixando a variável $[\text{HNO}_3]$ 1 mol L^{-1} e estudando as variáveis $[\text{NaBH}_4]$ e Vazão do Gás Carreador nos domínios de $0,5 - 2,0 \text{ \% (m v}^{-1})$ e $200 - 600 \text{ mL min}^{-1}$, respectivamente. As duas variáveis apresentaram efeitos significativos, positivo para $[\text{NaBH}_4]$ e negativo para a Vazão. Após realização da etapa de seleção das variáveis significativas, foi realizada a otimização através da Matriz de Doehlert e os valores ótimos para as variáveis $[\text{NaBH}_4]$ e Vazão do Gás Carreador foram de $2,5 \text{ \% (m v}^{-1})$ e 255 mL min^{-1} , respectivamente. A otimização do método através da MSR possibilitou a redução no número de experimentos durante a etapa de otimização e a obtenção de um método eficiente, com elevada sensibilidade (LOD de $0,33 \text{ ng g}^{-1}$ para Hg e $9,18 \text{ ng g}^{-1}$ para Se) e precisão ($\text{RSD\%} < 7,9$ para Hg e $\text{RSD\%} < 5,0$ para Se). O método também se mostrou exato, exatidão esta comprovada mediante a análise de dois materiais de referência certificados (*Oystertissue* – NIST 1566b e *Fishliver* – DOLT 4).

Silva Junior *et al.* (2015), otimizaram um método para determinação direta de mercúrio em amostras de vinagre de álcool utilizando extração em banho ultrassônico e detecção por CV AAS. O procedimento de otimização consistiu na aplicação do Planejamento Fatorial Completo e do Planejamento Box Behnken para elucidação das condições otimizadas das variáveis: volume do agente anti-espumante (álcool isoamilico), vazão do borohidreto de sódio, concentração da tiouréia e o tempo de sonicação. A partir dos resultado do Planejamento Fatorial

Completo, verificou-se todas as variáveis, com exceção do tempo de sonicação, apresentaram efeito positivo sobre a resposta. A partir desses resultados, o volume do álcool foi fixado em 400 μL e foram estabelecidos novos domínios experimentais para as demais variáveis para posterior aplicação do Planejamento Box Behnken. A partir dos resultados da MSR, a condição experimental que proporcionou a máxima absorvância de mercúrio foi com a concentração da tiouréia de 0,41 % (mv^{-1}), tempo de sonição de 19,79 min e vazão do borohidreto de sódio de 41,76 mL min^{-1} . A otimização multivariada do método proporcionou a obtenção de um método exato e preciso, com limite de detecção de 14 ng L^{-1} .

Os diversos trabalhos reportados na literatura que utilizaram ferramentas de otimização multivariadas para obter as melhores condições experimentais de métodos para determinação de metais, evidenciam a vasta aplicabilidade e ótima eficiência dessas metodologias, o que justifica a utilização das mesmas no desenvolvimento das metodologias propostas no presente trabalho (ARMAS et al., 2016; FERREIRA et al., 2019; NIAZI; HABIBI; RAMEZANI, 2015).

CAPÍTULO I

EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM AMOSTRAS DE SEDIMENTO POR CV AAS

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolver um método analítico para determinação de mercúrio em amostras de sedimento empregando espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio.

3.2. Objetivos específicos

- Propor um procedimento simples de extração de mercúrio de amostras de sedimento;
- Empregar a técnica de otimização multivariada para selecionar as variáveis significativas e estabelecer as condições ótimas das variáveis;
- Empregar a técnica CV AAS para determinação do mercúrio;
- Validar o método proposto;
- Aplicar o método proposto em amostras de sedimento do Estuário São Paulo, Bahia, Brasil.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Materiais e métodos

4.1.1. Instrumentação

A determinação de mercúrio foi realizada por Espectrometria de Absorção atômica com Geração de Vapor Frio, utilizando um espectrômetro CONTRAA 700 da AnalytikJena (GLE, Berlin, Alemanha), que possui uma lâmpada de arco curto de xenônio, de alta intensidade, operando em modo *hot-spot* e corrente de 13 A. O sinal analítico do mercúrio foi obtido pela altura do pico no comprimento de onda de 253,6519 nm. Para geração do vapor de mercúrio foi utilizado um sistema gerador de hidretos HS50 da AnalytikJena (GLE, Berlin, Alemanha), operado de forma manual.

A sonicação das soluções foi realizada utilizando um banho ultrassônico UNIQUE (Indaiatuba, SP – Brasil) modelo USC-1850.

Água de alta pureza com resistividade de 18,2 m Ω cm foi obtida usando um sistema de purificação de água Milli-Q Plus da Millipore (Bedford, MA, EUA).

Durante a geração de vapor frio, 4,0 mL de uma solução de borohidreto de sódio a 1% (m v⁻¹) foram injetados (a uma vazão de 42 mL min⁻¹) em um frasco de reação contendo 10,0 mL de solução de amostra. Argônio com pureza de 99,996% (White Martins, São Paulo, Brasil) foi utilizado como gás carreador para o vapor de mercúrio.

4.1.2. Reagentes

Todas as soluções foram preparadas usando água de alta pureza.

Ácido clorídrico de grau analítico da Merck (Alemanha) foi duplamente destilado em um sistema de destilação de quartzo MILESTONE.

As curvas de calibração foram obtidas a partir de soluções diluídas de mercúrio, que foram preparadas diariamente pela diluição de uma solução estoque de 1000 μ g L⁻¹ da Merck (Alemanha) em meio a solução de ácido nítrico 0,05% (v v⁻¹).

A solução de borohidreto de sódio 1% (m v⁻¹) foi estabilizada utilizando uma solução de hidróxido de sódio 0,05% (m v⁻¹). Essa solução também foi preparada diariamente utilizando reagentes de grau analítico da Merck (Alemanha) e foi filtrado através de uma membrana de filtração de 0,45 µm.

As soluções de tioureia foram preparadas por dissolução do reagente da Merck (Alemanha) com água de alta pureza.

Os materiais de referência certificados (CRMs) BCR-320R *Channel Sediment* (Institute for Reference Materials and Measurements) e 2709a *San Joaquin Soil* (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, EUA) foram empregados para avaliação da exatidão do método desenvolvido.

4.1.3. Procedimento de preparo das amostras e determinação de mercúrio por CV AAS

Pesou-se uma massa de 0,2 g de amostra de sedimento a um tubo de ensaio com tampa, adicionou-se 5 mL de solução de ácido clorídrico 8 mol L⁻¹ e 5 mL de uma solução de tioureia 1,5% (m v⁻¹), de modo que a concentração do ácido e da tiouréia resultante fossem 4 mol L⁻¹ e 0,75% (m v⁻¹), respectivamente. O tubo de ensaio foi colocado em banho ultrassônico a 60 ° C por 20 min. Após arrefecimento, a suspensão foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL e adicionou-se uma solução de ácido clorídrico a 1,4 mol L⁻¹ para se obter um volume total de 25 mL. Posteriormente, uma alíquota de 10 mL do sobrenadante foi transferida para um frasco de reação de 50 mL para posterior geração do vapor frio.

No momento da análise, adicionou-se, nas amostras e padrões, 400 µL de álcool isoamílico como agente antiespumante.

A solução de borohidreto de sódio foi adicionada ao frasco de reação e o vapor gerado foi carregado com fluxo de gás argônio para um tubo de quartzo em formato de T, posicionado no caminho óptico do espectrômetro.

4.1.4. Otimização multivariada do procedimento de extração de mercúrio das amostras de sedimento

A primeira etapa da otimização consistiu na aplicação do Planejamento Fatorial Completo de Dois Níveis para avaliação da significância dos fatores: concentração do ácido clorídrico, concentração da tiouréia, temperatura de sonicação e tempo de sonicação.

Os domínios experimentais adotados para cada fator foram estabelecidos com base em outros trabalhos já reportados na literatura, de modo que as faixas estudadas foram: concentração do ácido clorídrico de 2 a 6 mol L⁻¹, concentração da tiouréia de 0,50 a 1,00 % (m v⁻¹), temperatura de sonicação de 40 a 60 °C e tempo de sonicação de 10 a 30 minutos.

4.2. Resultados e discussão

4.2.1. Otimização das condições experimentais da etapa de extração de mercúrio das amostras de sedimento

A Tabela 6 apresenta os domínios experimentais codificados e reais para cada fator, bem como a absorvância medida do mercúrio na solução aquosa, após cada experimento do planejamento. Todos os experimentos foram realizados utilizando uma massa de 0,20 g de um material de referência certificado.

Os resultados do planejamento foram avaliados utilizando o software *Statistic 6.0* e os valores obtidos para os efeitos principais e efeitos significativos das interações entre as variáveis podem ser visualizados da Tabela 7.

A partir dos valores de efeitos obtidos para as variáveis, é possível inferir que para os domínios experimentais estudados, a temperatura de sonicação é a variável mais significativa, com efeito positivo. Isso sugere que a medida que a temperatura aumenta na faixa de 40 a 80 °C, favorece a extração do mercúrio do sedimento para a fase aquosa.

Tabela 6. Planejamento Fatorial completo de Dois Níveis para otimização da condições experimentais da etapa de extração do mercúrio.

Experimento	Concentração de HCl (mol L ⁻¹)	Concentração da Tiouréia (% m v ⁻¹)	Tempo de sonicação (min)	Temperatura de sonicação (°C)	Absorvância média
1	2,0 (-)	0,50 (-)	10 (-)	40 (-)	0,01919
2	6,0 (+)	0,50 (-)	10 (-)	40 (-)	0,01986
3	2,0 (-)	1,00 (+)	10 (-)	40 (-)	0,01968
4	6,0 (+)	1,00 (+)	10 (-)	40 (-)	0,02013
5	2,0 (-)	0,50 (-)	30 (+)	40 (-)	0,01886
6	6,0 (+)	0,50 (-)	30 (+)	40 (-)	0,02032
7	2,0 (-)	1,00 (+)	30 (+)	40 (-)	0,01999
8	6,0 (+)	1,00 (+)	30 (+)	40 (-)	0,02348
9	2,0 (-)	0,50 (-)	10 (-)	80 (+)	0,02087
10	6,0 (+)	0,50 (-)	10 (-)	80 (+)	0,02407
11	2,0 (-)	1,00 (+)	10 (-)	80 (+)	0,02361
12	6,0 (+)	1,00 (+)	10 (-)	80 (+)	0,02159
13	2,0 (-)	0,50 (-)	30 (+)	80 (+)	0,02229
14	6,0 (+)	0,50 (-)	30 (+)	80 (+)	0,02182
15	2,0 (-)	1,00 (+)	30 (+)	80 (+)	0,02205
16	6,0 (+)	1,00 (+)	30 (+)	80 (+)	0,02156
PC	4,0	0,75	20	60	0,02315
PC	4,0	0,75	20	60	0,02383
PC	4,0	0,75	20	60	0,02335
PC	4,0	0,75	20	60	0,02301

Tabela 7. Efeitos principais e efeitos das interações entre as variáveis obtidos a partir do planejamento fatorial completo de dois níveis.

Fatores e Interações	Valores do efeito*
Temperatura de sonicação (Temp.)	0,00204 ± 0,00057
Concentração do ácido clorídrico ([HCl])	0,00079 ± 0,00057
Concentração da tiouréia ([Tiouréia])	0,00060 ± 0,00057
Tempo de sonicação (Tempo)	0,00017 ± 0,00057
Tempo X Temp.	- 0,00078 ± 0,00057
[HCl] X Temp.	- 0,00073 ± 0,00057
[Tiouréia] X Temp.	- 0,00066 ± 0,00057

* Valores expressos para um nível de 95% de confiança.

A segunda variável mais significativa foi a concentração do ácido clorídrico, com efeito positivo, ou seja, o aumento da concentração de íons cloreto favorece a extração de mercúrio do sedimento. Esse resultado pode ser explicado pelo poder complexante dos íons cloreto, que nesse caso, formam complexos estáveis com o mercúrio.

A concentração da tiouréia também se mostrou uma variável significativa e de efeito positivo. Tal resultado também pode ser explicado pela formação de complexos de alta estabilidade com o mercúrio, uma vez que a tiouréia pode atuar como um quelante.

A partir dos resultado obtidos e expressos na Tabela 6, foi possível realizar um teste de curvatura, conforme Equação 1 abaixo (FERREIRA, 2015):

Equação 1:
$$\text{Curvatura} = \text{ME}_{\text{XPF}} - \text{ME}_{\text{XPC}}$$

Em que:

ME_{XPF} é a média das respostas obtidas para os experimentos do Planejamento;

ME_{XPC} é a média das respostas obtidas para os experimentos do Ponto Central;

O teste de curvatura com resultado de - 0,00212 sugere a existência de uma região de máxima extração de mercúrio para valores próximos aos do ponto central dos domínios experimentais estudados. A condição do ponto central em valores reais correspondem a concentrações de ácido clorídrico e tiouréia de 4 mol L⁻¹ e 0,75 % (m v⁻¹), respectivamente e tempo e temperatura de sonicação de 20 min e 60°C, respectivamente.

Uma avaliação dos resultados da Tabela 6 mostra que os maiores valores obtidos de absorvância foram nos experimentos do ponto central, com exceção do experimento 10. Essa condição foi avaliada e confirmada como ótima comparando-se a concentração obtida para o mercúrio, nas condições do ponto central, com o valor certificado no material de referência, obtendo-se uma concordância superior à 95%, conforme item 4.2.2.4.

4.2.2. Validação do método proposto

4.2.2.1. Avaliação do efeito de matriz e escolha da técnica de calibração

A fim de avaliar possíveis interferências de matriz, foram obtidas curvas de calibração externa e de adição de analito. As inclinações das curvas, expressas em intervalo para um nível de 95% de confiança, foram de $0,08374 \pm 0,00335$ e $0,07874 \pm 0,00362$, respectivamente. Esses resultados demonstram que a determinação de mercúrio utilizando o método proposto neste trabalho pode ser realizada usando a técnica de calibração externa utilizando padrões aquosos, já que não há diferença significativa entre as inclinações das curvas analíticas obtidas.

4.2.2.2. Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação são parâmetros de validação muito importantes no desenvolvimento de novas metodologias, principalmente quando se trata de métodos destinados à análise traço.

O limite de detecção (LOD) é definido como sendo a menor concentração do analito que pode ser detectada por um determinado método analítico, não sendo o mesmo quantificado, ou seja, é a menor concentração que proporciona um sinal instrumental significativamente diferente do sinal do branco (MILLER; MILLER, 1993).

O cálculo do limite de detecção, levando em consideração a curva analítica e medidas do branco, pode ser expresso pela Equação 2.

Equação 2:
$$LOD = 3x^S/a$$

Em que:

“s” é o desvio padrão da leitura de dez brancos analíticos;

“a” é o coeficiente angular da curva de calibração;

O limite de quantificação (LOQ) representa a menor concentração do analito que pode ser medida, com uma determinada certeza estatística. Para cálculo do limite de quantificação também são levados em consideração parâmetros da curva analítica e medidas do branco, de acordo com a Equação 3.

Equação 3:
$$LOQ = 10x^S/a$$

Os limites de detecção e quantificação foram calculados, e os valores obtidos foram de 10 e 35 ng L⁻¹, respectivamente. Os valores de LOD e LOQ, expressos em ng g⁻¹, considerando a massa de sedimento de 0,20 g, foram de 1,04 e 3,46, respectivamente.

4.2.2.3. Precisão

Segundo a edição brasileira do “*International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms* (VIM 2008)”, precisão é definida como sendo o grau de concordância entre indicações ou valores medidos, obtidos por medições repetidas, no mesmo objeto ou em objetos similares, sob condições

especificadas. Tal precisão pode ser, numericamente expressa, por indicadores de incerteza, tais como: dispersão, desvio padrão, variância ou coeficiente de variação (INMETRO, 2009),

Em termos químicos, a precisão pode ser entendida como um parâmetro que avalia o grau de concordância entre resultados de ensaios independentes, obtidos pela repetição da análise de uma mesma amostra ou de padrões aquosos, em condições definidas. Pode ser dada através da repetibilidade, que avalia tal concordância através de análises utilizando o mesmo método e sob mesmas condições, ou da reprodutibilidade, que avalia a concordância dos resultados obtidos sob condições diferentes.

No presente trabalho, a precisão foi avaliada em termos do coeficiente de variação (CV%), também conhecido como desvio padrão relativo (RSD%). O RSD% pode ser calculado segundo Equação 4.

Equação 4:
$$RSD\% = \left(\frac{s}{\bar{X}} \right) \times 100$$

Em que:

“s” é o desvio padrão das medidas de uma mesma amostra ou padrão;

“ \bar{X} ” a média das medidas da amostra ou do padrão;

A precisão do método proposto foi avaliada a partir do RSD% de dez leituras de uma solução de mercúrio com concentração de $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$, e o valor obtido foi de 4,31 %.

4.2.2.4. Exatidão

As condições do ponto central foram adotadas como condições ótimas para a extração de mercúrio nas amostras de sedimento e o método foi aplicado em duas amostras de material certificado, e os resultados estão expressos na Tabela 8.

Tabela 8. Determinação de mercúrio nas amostras de CRM.

Material de referência certificado	Valor certificado (mg kg⁻¹)	Valor encontrado^a (mg kg⁻¹)
BCR-320R <i>Channel Sediment</i>	0,85 ± 0,09	0,84 ± 0,02
NIST 2709a <i>San Joaquin Soil</i>	0,9 ± 0,2 ^b	0,86 ± 0,03

^a Valores expressos para um nível de 95% de confiança;

^b Valor de referência.

A concordância entre os valores certificados e os valores obtidos podem ser avaliados mediante teste t, conforme Equação 5:

Equação 5:
$$t = (\bar{X} - \mu) \times \sqrt{n}/s$$

Em que:

“ \bar{X} ” é a média das medidas de mercúrio pelo método proposto;

“ μ ” o valor certificado de mercúrio no CRM;

“n” é o número de medidas para obtenção da média;

“s” é o desvio padrão das medidas;

Se o valor de $t_{\text{calculado}}$ estiver entre $+t_{\text{tabelado}}$ e $-t_{\text{tabelado}}$ (t crítico) não há diferença significativa entre o valor obtido experimentalmente e o valor de referência, evidenciando, portanto que não foi possível constatar a existência de erros sistemáticos (MILLER; MILLER, 1993).

Substituindo os valores obtidos experimentalmente para o CRM BCR-320R na Equação 5, obtem-se o valor de -2,15 para o valor de $t_{\text{calculado}}$. Considerando o t crítico tabelado de 4,30, é possível verificar a concordância entre os valores de mercúrio certificados e obtidos pelo método proposto, para um nível de 95% de confiança. O mesmo resultado pode ser obtido para o CRM NIST 2709a.

Todas as determinações foram realizadas por CV AAS, com condições experimentais de geração do vapor frio de mercúrio otimizadas em um outro trabalho (SILVA et al., 2012).

4.2.2.5. Aplicação do método proposto em amostras reais

Após confirmação da exatidão do método, bem como avaliação dos limites de detecção e quantificação, precisão e interferência de matriz, o método proposto foi aplicado em cinco amostras reais coletadas no Estuário São Paulo, situado no estado da Bahia, Brasil, e os resultados estão dispostos na Tabela 9.

Tabela 9. Determinação de mercúrio nas amostras de sedimento do Estuário São Paulo, Bahia, Brasil.

Amostra de sedimento	Concentração determinada* (ng g⁻¹)
1	38,5 ± 0,8
2	21,1 ± 0,2
3	13,8 ± 0,2
4	21,8 ± 0,2
5	17,6 ± 0,3

* Valores expressos para um nível de 95% de confiança.

As concentrações de mercúrio obtidas para as amostras de sedimento analisadas foram comparadas com a concentração dessa espécie em amostras de sedimentos não contaminados de outras regiões do mundo e os resultados estão expressos na Tabela 10. É possível verificar que a concentração determinada no presente trabalho se encontra em níveis próximos aos dos outros.

Além disso, é possível verificar a importância da metodologia proposta, uma vez que para a determinação de mercúrio, a maioria dos trabalhos reportados na literatura fazem uso de sistemas fechados devido ao caráter volátil do analito, resultando em metodologias mais complexas, custosas e com riscos inerentes ao uso de sistemas de digestão com elevadas pressões.

A metodologia proposta nesse trabalho foi publicada na forma de artigo científico em revista internacional de alto fator de impacto, contribuindo de forma significativa para o desenvolvimento científico do país (LEAO et al., 2016).

Tabela 10. Comparação do teor de mercúrio em amostras de sedimento de outras regiões.

Região	Faixa de Concentração (ng g⁻¹)	Metodologia	Referência
Ilha Itacuruçá, RJ, Brasil	22 – 60	Digestão com água régia CV AAS	(SILVA et al., 2003)
Cabo Frio, RJ, Brasil	8,1 – 30,4	Digestão com água régia CV AAS	(FIGUEIREDO et al., 2013)
São Vicente, SP, Brasil	0,04 – 1,19	Digestão com água régia/HClO ₄ CV AAS	(HORTELLANI et al., 2005)
Baía de Todos os Santos, BA, Brasil	2,11 – 64,51	Análise direta DMA	(FOSTIER; COSTA; KORN, 2016)
Baía Biscayne, Flórida, USA	3 – 66	Digestão com HNO ₃ CV ICP-MS	(KANNAN et al., 1998)
Charlotte Harbor, Flórida, USA	7 – 43		
Baía da Flórida, Flórida, USA	3 – 100		
Shankou, Guangxi, China	51,6 – 107,9	Digestão com HNO ₃ /KMnO ₄ /H ₂ SO ₄ CV AAS	(DING et al., 2009)
Daguansha, Guangxi, China	2,3 – 52,8		
Estuário São Paulo, BA, Brasil	13,8 – 38,5	Extração com HCl/Tiouréiaeultrassom CV AAS	Metodologia proposta

4.3. Considerações Parciais

A aplicação da ferramenta quimiométrica utilizada no presente trabalho permitiu, de forma eficiente, avaliar as influências dos fatores na extração do mercúrio das amostras de sedimento e definir uma condição ótima capaz de produzir resultados satisfatórios.

O método proposto permite a determinação, relativamente simples, de mercúrio em amostras de sedimento, quando comparado com trabalhos reportados na literatura que fazem uso de uma etapa de digestão, conforme Tabela 10, conferindo uma grande vantagem do método

O procedimento analítico proposto permite a determinação de mercúrio em amostras de sedimento em concentrações relativamente baixas, com excelente precisão e exatidão.

As concentrações de mercúrio nas amostras analisadas apresentaram valores concordantes com resultados encontrados por outros autores em regiões distintas.

CAPÍTULO II

DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM AMOSTRAS DE ÁGUAS DE RIO E DO MAR POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE VAPOR FRIO ACOPLADO A UM SISTEMA DE INJEÇÃO EM FLUXO COM MULTISERINGAS

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo geral

Desenvolver um método analítico automatizado para determinação de mercúrio em amostras de águas naturais empregando espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio.

5.2. Objetivos específicos

- Propor um método automatizado para determinação de mercúrio em amostras de água doce e salina;
- Propor um método simples e de alta frequência analítica para determinação de mercúrio em amostras de água doce e salina;
- Acoplar um sistema MSFIA ao sistema de detecção;
- Empregar a técnica de otimização multivariada para selecionar as variáveis significativas (planejamento fatorial completo) e estabelecer condições ótimas das variáveis (Matriz de Doehlert);
- Empregar a técnica CV AAS para determinação do mercúrio;
- Validar o método proposto;
- Aplicar o método proposto em amostras de água doce e salgada da cidade de Salvador, Bahia, Brasil.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Materiais e métodos

6.1.1. Instrumentação

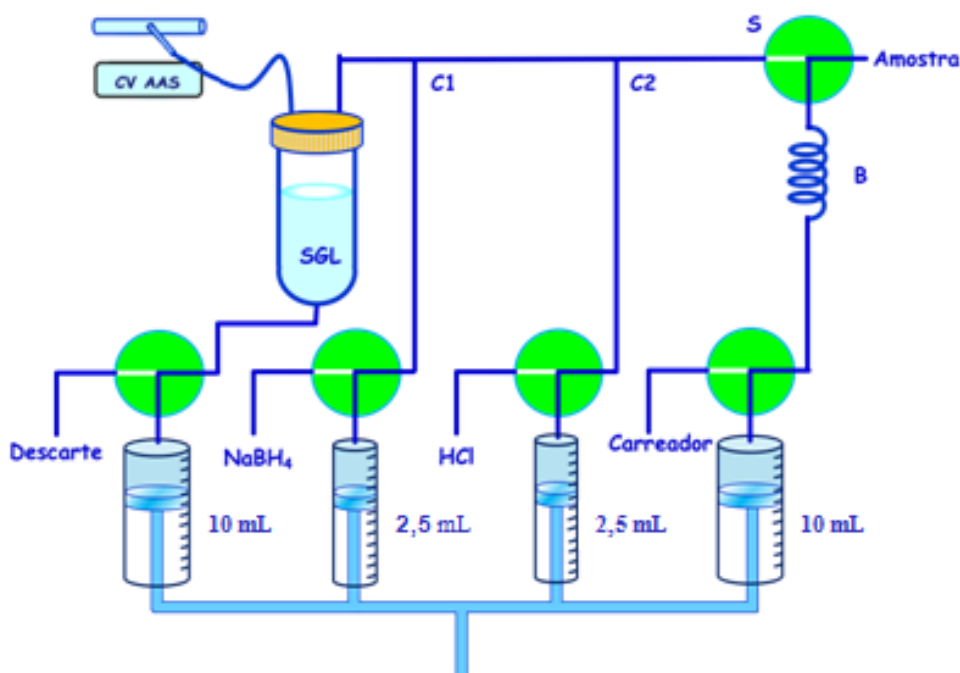
Assim como descrito no item 3.1.1, a determinação de mercúrio foi realizada por Espectrometria de Absorção atômica com Geração de Vapor Frio, utilizando um espectrômetro CONTRAA 700 da Analytik Jena (GLE, Berlin, Alemanha), que possui uma lâmpada de arco curto de xenônio, de alta intensidade, operando em modo *hot-spot* e corrente de 13 A. O sinal analítico do mercúrio foi obtido pela altura do pico no comprimento de onda de 253,6519 nm. Para geração do vapor de mercúrio foi utilizado um sistema gerador de hidretos HS50 da Analytik Jena (GLE, Berlin, Alemanha). Além disso, todas as soluções foram preparadas com água de alta pureza, com resistividade de 18,2 mΩ cm, obtida através de um sistema de purificação de água Milli-Q Plus da Millipore (Bedford, MA, EUA).

A introdução da amostra e dos reagentes no sistema HS50, para geração de vapor frio, foi realizada utilizando um módulo de multisseringas com velocidades programáveis (Multiburette 4S, Crison, Allena, Barcelona).

A Figura 4 ilustra o sistema MSFIA CV AAS desenvolvido nesse trabalho.

Além das quatro seringas utilizadas para injetar a amostra e os reagentes e as quatro válvulas solenoides (N-Research, Caldwell, NJ, EUA) acopladas nas seringas, foi utilizada uma válvula solenoide adicional, representada na Figura 4 por “S” e um separador gás-líquido, confeccionado no próprio laboratório, representado na Figura 4 por “SGL”.

Figura 4. Sistema MSFIA acoplado ao espectrômetro de absorção atômica proposto pelo método.



Fonte: Próprio autor

6.1.2. Configuração do sistema MSFIA CV AAS

A configuração do sistema ilustrado na Figura 4, apresenta um módulo de multisseringas, utilizado como impulsor de líquidos para o sistema reacional, que permite o movimento simultâneo das quatro seringas, conectadas ao motor de passos.

O módulo de multisseringas apresenta uma válvula solenoide, de três vias, na parte superior de cada seringa, o que torna o sistema mais versátil e reduz drasticamente o consumo de reagentes. Cada válvula solenoide pode ser configurada na posição *off* (válvula desativada), permitindo o retorno das soluções ao recipiente, e na posição *on* (válvula ativada), que permite a injeção das soluções para o sistema.

No sistema proposto, as quatro seringas foram utilizadas sendo a seringa “1” responsável por coletar o líquido carreador, água ultrapura, (posição *off*), coletar a amostra, preenchendo a bobina de amostragem “B” (posição *on*), e injetar a

amostra e o líquido carreador para o sistema (posição *on*) com uma vazão otimizada de 9,0 mL min⁻¹. A seringa “2” é responsável por coletar (posição *off*) e injetar o NaBH₄ no sistema (posição *on*), a seringa “3” por coletar (posição *off*) e injetar o HCl no sistema (posição *on*) e a seringa “4” por coletar o líquido do separador gás-líquido (posição *off*), após leitura, e descartar em recipiente adequado (posição *on*). Além das válvulas solenoides da parte superior de cada seringa, uma quinta válvula solenoide foi utilizada a fim de possibilitar que a amostra contida na bobina de amostragem “B” fosse direcionada para a primeira confluência “C1”. Em “C1”, a amostra é misturada com a solução de ácido clorídrico 0,80 mol L⁻¹ e posteriormente carreada com água ultrapura até a segunda confluência “C2”, na qual, encontra a solução de borohidreto de sódio 3,2 % (m v⁻¹). Por fim, a mistura é direcionada ao separador gás-líquido, de forma que o vapor de mercúrio é carreado com fluxo de argônio até o caminho óptico do espectrômetro e a mistura líquida seja aspirada e descartada.

6.1.3. Reagentes

Todas as soluções foram preparadas usando água de alta pureza.

Ácido clorídrico de grau analítico da Merck (Alemanha) foi duplamente destilado em um sistema de destilação de quartzo MILESTONE.

As curvas de calibração foram obtidas a partir de soluções diluídas de mercúrio, que foram preparadas diariamente pela diluição de uma solução estoque de 1000 µg L⁻¹ da Merck (Alemanha) em meio a solução de ácido nítrico 0,05% (v v⁻¹).

A solução de borohidreto de sódio 3,2 % (m v⁻¹) foi estabilizada utilizando uma solução de hidróxido de sódio 0,05% (m v⁻¹). Essa solução também foi preparada diariamente utilizando reagentes de grau analítico da Merck (Alemanha) e foi filtrado através de uma membrana de filtração de 0,45 µm.

O material de referência certificado ERM-CA713 *Trace elements in waste water* (Institute for Reference Materials and Measurements, Geel, Bélgica) foi empregado para avaliação da exatidão do método desenvolvido.

6.1.4. Otimização multivariada do sistema MSFIA CV AAS

Com o propósito de obter otimizar as condições experimentais da metodologia proposta, foram aplicadas metodologias multivariadas de otimização de experimentos. As variáveis e os domínios experimentais foram previamente selecionados e a significância dessas variáveis sobre a resposta analítica foi avaliada mediante aplicação Planejamento Fatorial Completo de Dois Níveis. As variáveis e os domínios experimentais selecionados para estudo foram: vazão da amostra (VA) de 4 a 12 mL min⁻¹, vazão do gás de arraste (VGA) de 0,03 a 0,07 mL min⁻¹, concentração do ácido clorídrico ([HCl]) de 0,1 a 2,5 mol L⁻¹ e concentração do borohidreto de sódio ([BH₄]) de 0,2 a 2,0 % m v⁻¹.

Após seleção das variáveis significativas, a obtenção da condição experimental otimizada se deu através da aplicação da Matriz de Doehlert. As variáveis e domínios experimentais foram: vazão da amostra (VA) de 8 a 20 mL min⁻¹, concentração do ácido clorídrico ([HCl]) de 0,1 a 1,0 mol L⁻¹ e concentração do borohidreto de sódio ([BH₄]) de 0,5 a 4,5 % m v⁻¹.

6.2. Resultados e discussão

6.2.1. Otimização das condições experimentais do sistema MSFIA CV AAS

6.2.1.1. Planejamento Fatorial completo de dois níveis (2⁴)

Com objeto de avaliar os fatores escolhidos para estudo quanto ao seu efeito, significância e interação foi realizado um planejamento fatorial completo de dois níveis (2⁴).

Os domínios experimentais, reais e codificados, estão apresentados na Tabela 11, bem como os valores de absorvância medidos para cada condição experimental de uma solução de mercúrio com concentração de 10,0 µg L⁻¹.

Os dados experimentais da Tabela 11 foram tratados pelo *software Statistic 6.0* e o efeito de cada variável pode ser analisado pelo gráfico de Pareto da Figura 5.

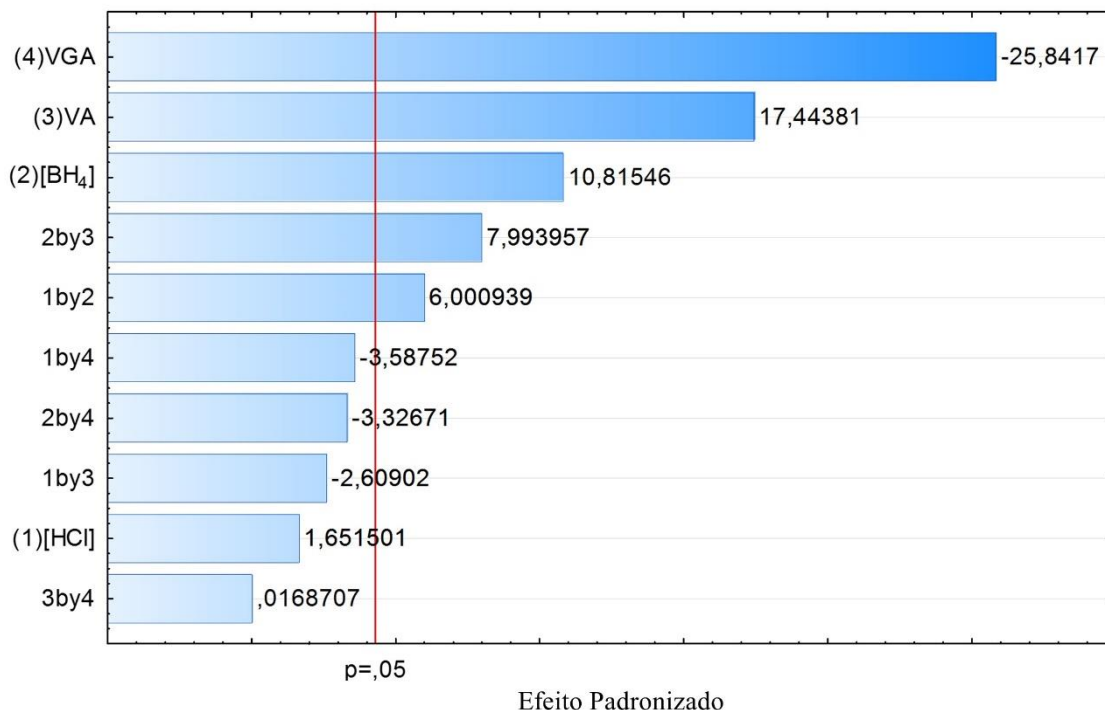
Tabela 11. Matriz do planejamento fatorial completo (2⁴) com valores reais e codificados e as respostas analíticas em absorvância.

Experimento	[HCl] (mol L ⁻¹)	[BH ₄] (% m v ⁻¹)	VA (mL min ⁻¹)	VGA (mL min ⁻¹)	Absorvância média
1	0,1 (-)	0,2 (-)	4 (-)	0,03 (-)	0,11621
2	2,5 (+)	0,2 (-)	4 (-)	0,03 (-)	0,10727
3	0,1 (-)	2,0 (+)	4 (-)	0,03 (-)	0,09989
4	2,5 (+)	2,0 (+)	4 (-)	0,03 (-)	0,15565
5	0,1 (-)	0,2 (-)	12 (+)	0,03 (-)	0,14485
6	2,5 (+)	0,2 (-)	12 (+)	0,03 (-)	0,12869
7	0,1 (-)	2,0 (+)	12 (+)	0,03 (-)	0,18489
8	2,5 (+)	2,0 (+)	12 (+)	0,03 (-)	0,21168
9	0,1 (-)	0,2 (-)	4 (-)	0,07 (+)	0,05406
10	2,5 (+)	0,2 (-)	4 (-)	0,07 (+)	0,04422
11	0,1 (-)	2,0 (+)	4 (-)	0,07 (+)	0,04371
12	2,5 (+)	2,0 (+)	4 (-)	0,07 (+)	0,05345
13	0,1 (-)	0,2 (-)	12 (+)	0,07 (+)	0,08230
14	2,5 (+)	0,2 (-)	12 (+)	0,07 (+)	0,06954
15	0,1 (-)	2,0 (+)	12 (+)	0,07 (+)	0,12173
16	2,5 (+)	2,0 (+)	12 (+)	0,07 (+)	0,11335
PC	1,3	1,1	8	0,05	0,10092
PC	1,3	1,1	8	0,05	0,11133
PC	1,3	1,1	8	0,05	0,10314

A partir do gráfico de Pareto, é possível inferir que a variável mais significativa é a vazão do gás de arraste, ou seja, aquela que mais influencia a geração de vapor frio e determinação de mercúrio. Este fator apresenta um efeito negativo (-0,07085)

no processo, ou seja, na medida em que a vazão diminui, a resposta analítica em termos de deabsorvância também aumenta.

Figura 5. Gráfico de Pareto do planejamento fatorial completo (2⁴).



Esse resultado pode ser explicado pela diluição do vapor de mercúrio pelo gás argônio, visto que para uma vazão muito elevada, haverá uma maior quantidade de argônio. E/ou pelo menor tempo de residência do vapor de mercúrio do caminho óptico. Diante da impossibilidade de deslocar o domínio experimental para valores menores de VGA, optou-se por fixar a vazão em 0,04 mL min⁻¹ na aplicação da metodologia de superfície de resposta, visto que foi a vazão mínima capaz de gerar sinais satisfatoriamente reproduzíveis.

A vazão da amostra apresentou efeito significativo e positivo (0,04782), indicando que o sinal de mercúrio aumenta para vazões da amostra mais altas. Assim, é possível inferir que com o aumento da vazão, maiores quantidades de vapor de mercúrio irão alcançar o caminho óptico por unidade de tempo, aumentando assim a altura do pico, ou seja, o sinal analítico.

Outro fator significativo é a concentração do borohidreto de sódio (0,02965), o que indica que a redução do íons Hg^{2+} é favorecida para maiores concentrações do agente redutor, dentro do domínio experimental estudado.

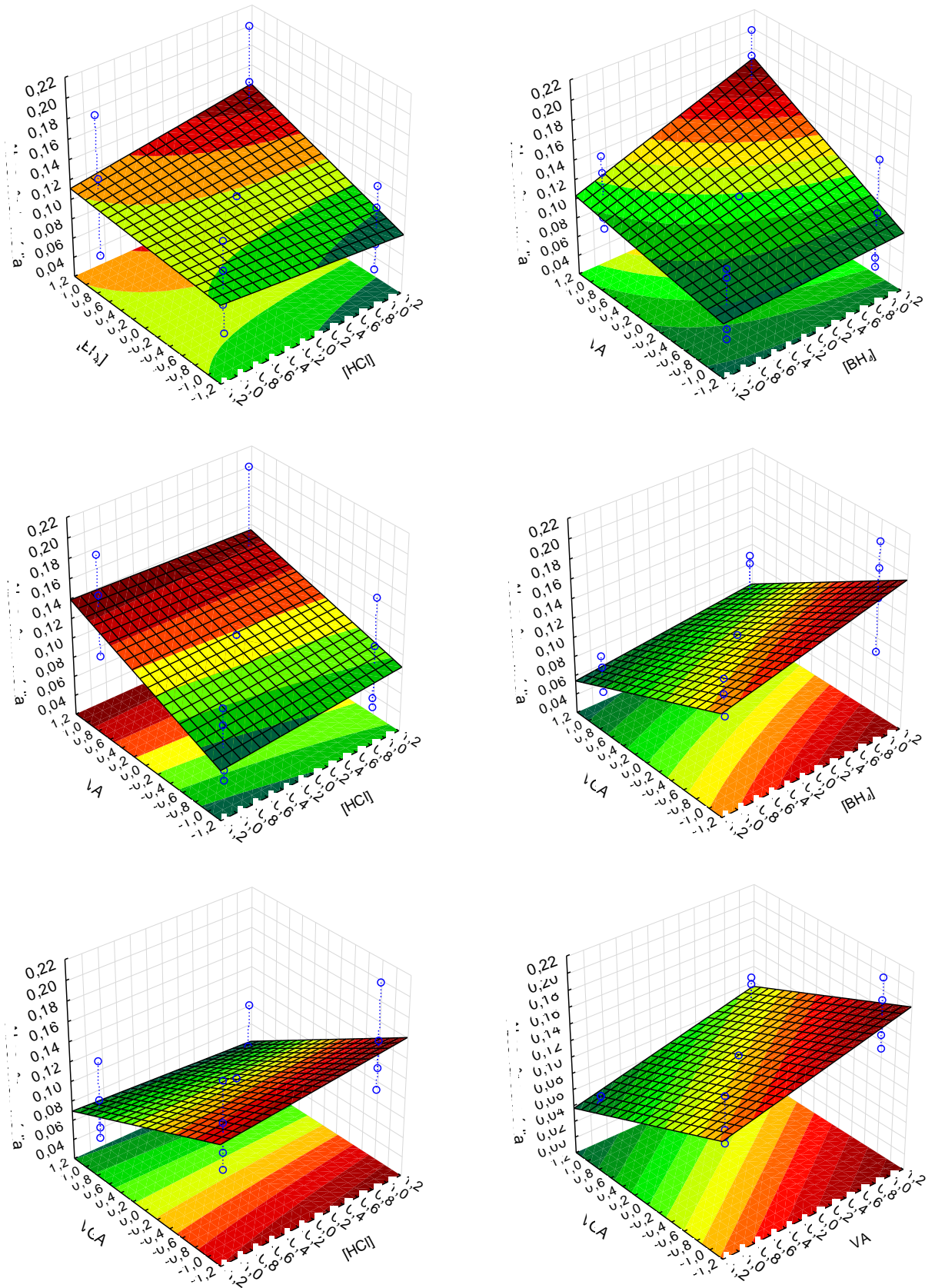
Já o fator, ácido clorídrico, dentro do domínio experimental de trabalho não é significativo para a geração e determinação de mercúrio. Porém, é possível verificar a interação significativa entre a concentração do ácido clorídrico e do borohidreto de sódio, o que torna este último fator importante para o sistema, sendo desta forma necessário determinar seu valor ótimo.

A partir dos dados experimentais de absorvância do planejamento fatorial, também foram gerados os gráficos de superfícies de respostas, apresentados na Figura 6.

De acordo com essas superfícies de respostas, também é possível concluir que maiores respostas analíticas (absorvância) são obtidas quando se utiliza menores vazões do gás de arraste, maiores vazões da amostra e maiores concentração do borohidreto de sódio, para os domínios experimentais adotados.

A partir da interpretação do gráfico de Pareto (Figura 5) e das superfícies de respostas (Figura 6), novos domínios experimentais foram escolhidos para as variáveis vazão da amostra, concentração de ácido clorídrico e concentração de borohidreto de sódio, e uma metodologia de superfície de resposta, Matriz de Doehlert, foi aplicada, a fim de obter a condição ótima de cada variável.

Figura 6. Superfícies de resposta planejamento fatorial completo (2⁴).



6.2.1.2. Matriz de Doehlert

A determinação das condições experimentais ótimas para geração de vapor frio de mercúrio e determinação utilizando o modulo HS50 acoplado ao HR-CS AAS foi realizada utilizando a Matriz de Doehlert, para as variáveis vazão da amostra, concentração de ácido clorídrico e concentração de borohidreto de sódio, cuja matriz é estabelecida com 16 experimentos.

Na Tabela 12 estão apresentados os experimentos da Matriz de Doehlert e suas respectivas absorvâncias para uma solução padrão de mercúrio com concentração de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

A partir dos dados da Tabela 12, foram gerados a tabela de análise de variância (ANOVA) (Tabela 13), o gráfico de Pareto (Figura 7), as superfícies de resposta (Figura 8, 9 e 10) e o modelo matemático (Equação 2), que relaciona as variáveis com as respostas, ou seja, com a absorvância.

A significância dos efeitos das variáveis foi avaliada através dos valores de p da tabela de análise de variância (ANOVA), em que as variáveis significativas serão as que apresentarem valor de p inferior à 0,05, ou seja, variáveis significativas para um nível de 95 % de confiança.

Os dados da tabela ANOVA podem ser apresentados como gráfico (gráfico de Pareto), no qual é possível inferir que as três variáveis estudadas têm influência significativa no sistema, sendo a concentração de ácido clorídrico a variável mais significativa, seguida da concentração de borohidreto de sódio e da vazão da amostra.

Tabela 12. Matriz de Doehlert com valores reais e codificados e as respostas analíticas em absorvância.

Experimento	[BH₄] (% m v⁻¹)	VA (mL min⁻¹)	[HCl] (mol L⁻¹)	Absorvância Média
1	2,5 (0)	14 (0)	0,55 (0)	0,07363
2	4,5 (+1)	14 (0)	0,55 (0)	0,06538
3	3,5 (+0,5)	20 (0,866)	0,55 (0)	0,06945
4	3,5 (+0,5)	16 (0,289)	1,00 (0,817)	0,07015
5	0,5 (-1)	14 (0)	0,55 (0)	0,02978
6	1,5 (-0,5)	8 (-0,866)	0,55 (0)	0,04329
7	1,5 (-0,5)	12 (-0,289)	0,10 (-0,817)	0,03109
8	3,5 (+0,5)	8 (-0,866)	0,55 (0)	0,05651
9	3,5 (+0,5)	12 (-0,289)	0,10 (-0,817)	0,02785
10	1,5 (-0,5)	20 (0,866)	0,55 (0)	0,06355
11	2,5 (0)	18 (0,577)	0,10 (-0,817)	0,02332
12	1,5 (-0,5)	16 (0,289)	1,00 (0,817)	0,05206
13	2,5 (0)	10 (-0,577)	1,00 (0,817)	0,05388
14	2,5 (0)	14 (0)	0,55 (0)	0,06909
15	2,5 (0)	14 (0)	0,55 (0)	0,07501
16	2,5 (0)	14 (0)	0,55 (0)	0,07287

Tabela 13. ANOVA gerada a partir dos valores experimentais obtidos pela Matriz de Doehlert.

Variável	SS	df	MS	F	Valor p
[BH ₄] (L)	0,000691	1	0,000691	107,7232	0,001908
[BH ₄] (Q)	0,000838	1	0,000838	130,5849	0,001438
VA (L)	0,000216	1	0,000216	33,6103	0,010212
VA (Q)	0,000159	1	0,000159	24,7305	0,015623
[HCl] (L)	0,001467	1	0,001467	228,6534	0,000628
[HCl] (Q)	0,001879	1	0,001879	292,7920	0,000435
[BH ₄] (L) X VA (L)	0,000013	1	0,000013	2,0874	0,244263
[BH ₄] (L) X [HCl] (L)	0,000127	1	0,000127	19,8101	0,021104
VA (L) X [HCl] (L)	0,000126	1	0,000126	19,5599	0,021466
Falta de ajuste	0,000149	3	0,000050	7,7480	0,063314
Erro puro	0,000019	3	0,000006		
Total SS	0,004982	15			

Figura 7. Gráfico de Pareto da Matriz de Doehlert.

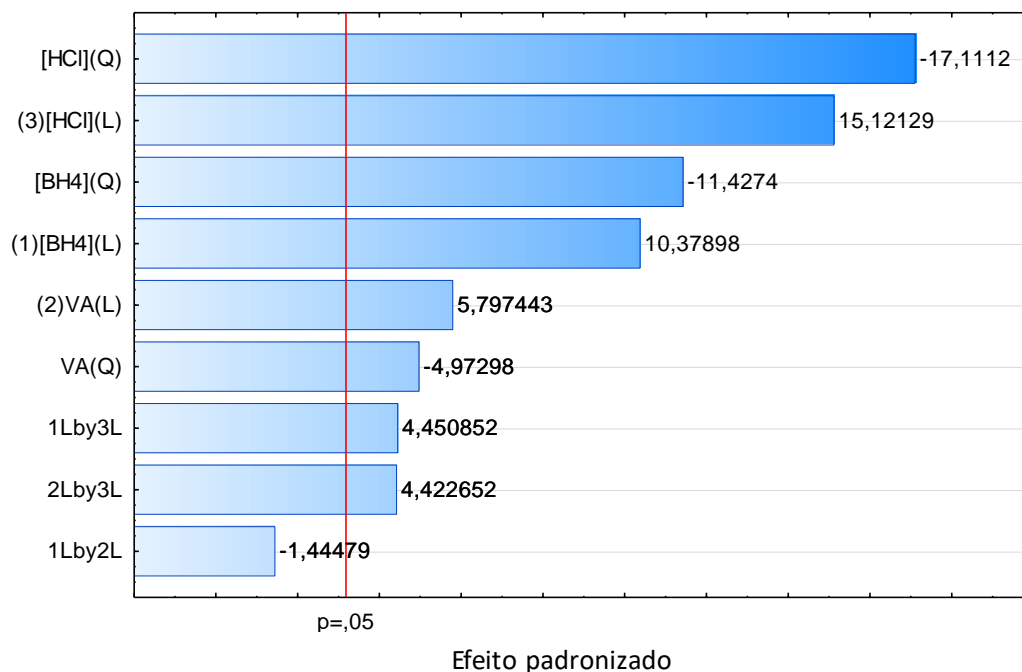


Figura 8. Superfície de respostas da Matriz de Doehlert (Abs x VA x [BH₄])

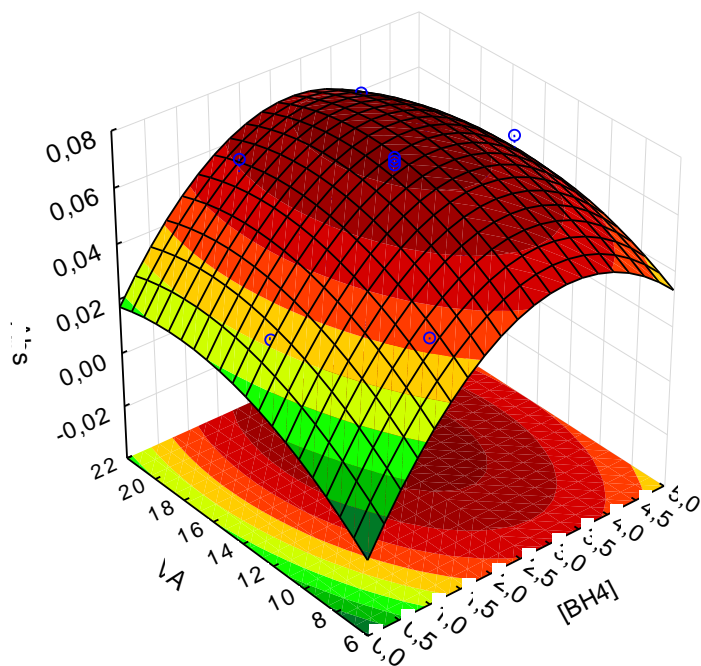


Figura 9. Superfície de respostas da Matriz de Doehlert (Abs x [HCl] x [BH₄])

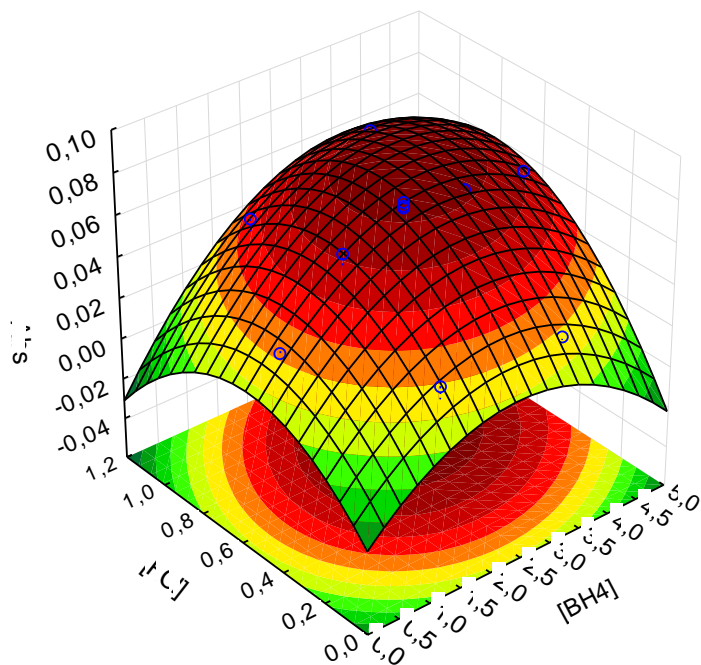
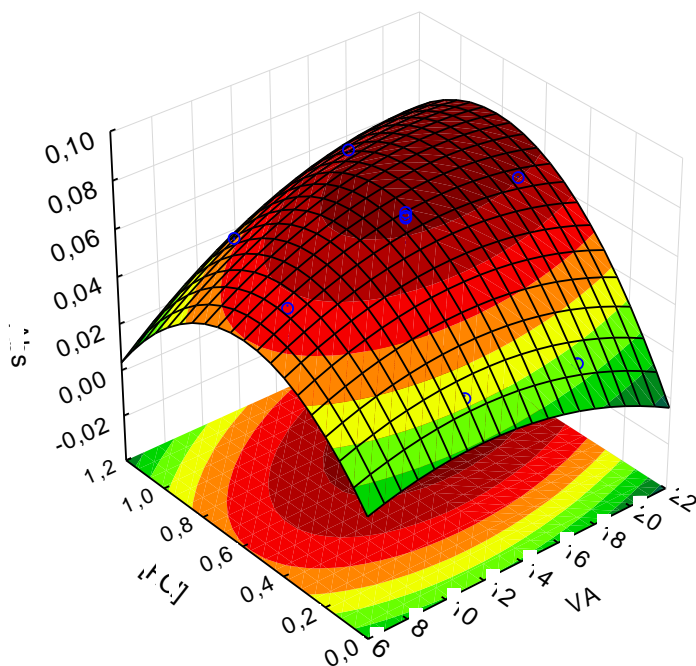


Figura 10. Superfície de respostas da Matriz de Doehlert (Abs x [HCl] x VA)



As superfícies de resposta evidenciam região de máximo como resolução da Matriz de Doehlert. Essa região de máximo pode ser descrita pela Equação 2 (termos significativos em vermelho), a qual ilustra a relação entre as variáveis e a absorvância.

Equação 2:

$$\text{ABS} = - 0,06005 + 0,03492 [\text{BH}_4] - 0,00627 [\text{BH}_4]^2 + 0,00610 \text{VA} - 0,00023 \text{VA}^2 + 0,07688 [\text{HCl}] - 0,11652 [\text{HCl}]^2 - 0,00031 [\text{BH}_4] \times \text{VA} + 0,01321 [\text{BH}_4] \times [\text{HCl}] + 0,00379 \text{VA} \times [\text{HCl}]$$

De acordo com a tabela ANOVA supracitada, é possível inferir que o modelo (Equação 2) não apresentou falta de ajuste, ou seja, os dados experimentais podem ser explicados pelo modelo quadrático gerado pela Matriz de Doehlert.

A derivação desse modelo para cada variável resulta no seguinte sistema de equações:

Equação 3:

$$\frac{d(ABS)}{d([BH_4])} = 0,03492 - 0,01254 [BH_4] - 0,00031 VA + 0,01321 [HCl] = 0$$

Equação 4:

$$\frac{d(ABS)}{d(VA)} = 0,00610 - 0,00046 VA - 0,00031 [BH_4] + 0,00379 [HCl] = 0$$

Equação 5:

$$\frac{d(ABS)}{d([HCl])} = 0,07688 - 0,23304 [HCl] + 0,01321 [BH_4] + 0,00379 VA = 0$$

A resolução do sistema de equações resulta nos valores ótimos para as variáveis estudadas, conforme Tabela 14.

Tabela 14. Valores otimizados para condição de introdução e geração de vapor frio de mercúrio no CV AAS obtidos através da Matriz de Doehlert.

Variável estudada	Condição otimizada
Concentração do borohidreto de sódio	3,19 % (m v ⁻¹)
Concentração do ácido clorídrico	0,80 mol L ⁻¹
Vazão da amostra	17,97 mL min ⁻¹

De acordo com os valores obtidos pela equação do modelo, expressos na tabela acima, a condição experimental adotada para quantificação de mercúrio por MSFIA CV AAS foi de 3,2 % (m v⁻¹) e 0,8 mol L⁻¹ para concentração de borohidreto de sódio e ácido clorídrico, respectivamente, e 18 mL min⁻¹ para a vazão da amostra.

O modelo gerado foi validado comparando-se a resposta predita pela equação (0,08144) com a resposta obtida experimentalmente na condição ótima (0,08053). Os resultados apresentaram boa concordância, para 95% de confiança.

O método desenvolvido será posteriormente validado e aplicado em amostras reais de água de mar.

6.2.2. Validação do método proposto

6.2.2.1. Limites de detecção e quantificação

Como ressaltado anteriormente, os limites de detecção e quantificação são parâmetros de validação muito importantes no desenvolvimento de novas metodologias. A sensibilidade de um método analítico influencia diretamente nos limites de detecção e quantificação, de forma que quanto mais sensível for o método, menores serão esses limites, conferindo boa aplicabilidade do método no que diz respeito à análise traço.

Os limites de detecção e quantificação foram calculados de acordo com as Equações 2 e 3, sendo os valores obtidos de 43,0 e 145,0 ng L⁻¹, respectivamente.

O limite de detecção do método proposto é comparado com limites de outros trabalhos reportados na literatura. Esses dados são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Limite de detecção para diferentes métodos de determinação de mercúrio.

Técnica analítica	LOD (ng L⁻¹)	Referência
CV ETAAS	8,0	(GUERRERO et al., 2017)
CV ETAAS	7,4	(VEREDA ALONSO et al., 2016)
Espectrofotometria UV-Vis	700	(FASHI; YAFTIAN; ZAMANI, 2017)
Voltametria	160	(GAYATHRI; SELVAN; NARAYANAN, 2018)
TXRF	300	(MARGUÍ; QUERALT; GUERRA, 2018)
CV AAS	43,0	Método proposto

Com base nos dados da Tabela 15 e no teor máximo aceitável de mercúrio em água salina de 0,0002 mg L⁻¹ para água classe 1 (destinadas à recreação de contato primário, à proteção das comunidades aquáticas, à aquicultura e à atividade de pesca) e de 1,8 µg L⁻¹ para água classe 2 (destinadas à pesca amadora e à recreação de contato secundário), preconizado pelo Conselho Nacional do Meio

Ambiente (CONAMA), segundo Resolução 357, de 17 de março de 2005, é possível afirmar que a metodologia proposta apresenta sensibilidade satisfatória, sendo uma alternativa automatizada e eficaz para quantificação de mercúrio em amostras de água (BRASIL, 2005).

6.2.2.2. Precisão

A precisão do método desenvolvido foi avaliada mediante o RSD% (Equação 4) de dez análises de dois padrões analíticos de mercúrio com concentrações de 1,0 e 4,5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os valores obtidos foram de 3,98 e 2,86 %, respectivamente.

Os valores supracitados são adequados e relativamente baixos, o que pode ser justificado por se tratar de um sistema automatizado de introdução da amostra.

6.2.2.3. Exatidão

As condições otimizadas foram utilizadas na análise de um material de referência certificado de água (ERM-CA713 – *Trace elements in waste water*) como forma de avaliar a exatidão do método.

A concentração de mercúrio no CRM para um nível de 95% de confiança, obtida pelo método proposto, foi de $1,867 \pm 0,022 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que a concentração certificada é de $1,84 \pm 0,11 \mu\text{g L}^{-1}$.

Assim como no método anterior, a concordância entre os valores supracitados foi avaliada mediante teste t, conforme Equação 5. O valor do $t_{\text{calculado}}$, igual a 2,13, foi comparado com o t crítico (4,30), sendo possível inferir que existe concordância entre a concentração medida e certificada, para um nível de 95% de confiança.

6.2.2.4. Teste de adição e recuperação

Para avaliar possíveis interferência de matriz, uma vez que o método desenvolvido será aplicado em amostras de água do mar, ou seja, amostras com alto teor salino, foi realizado um teste de adição e recuperação (spike) que consiste

na análise de uma amostra antes e depois da adição de uma concentração conhecida do analito, e posterior avaliação do teor recuperado do analito adicionado. A recuperação pode ser calculado conforme Equação 6.

Equação 6:
$$R (\%) = \left(\frac{C_f - C_i}{C_a} \right) \times 100$$

Em que:

“C_f” é a concentração do analito determinada na amostra após adição;

“C_i” é a concentração do analito determinada na amostra antes da adição;

“C_a” é a concentração do analito adicionada;

Os resultado do teste de adição e recuperação estão apresentado na Tabela 16.

Tabela 16. Resultados obtidos para o teste de adição e recuperação.

Concentração adicionada (µg L⁻¹)	Concentração determinada (µg L⁻¹)	Recuperação (%)
0	0,59	-
0,50	1,00	82
4,50	4,79	93

O dados da tabela acima mostram que as recuperações foram superiores à 80%, valores de recuperações estes aceitáveis. Esses resultados comprovam a exatidão do método proposto e evidencia que, embora tenha sido otimizado com padrões aquosos, pode ser aplicado em amostras reais com alto teor salino. Essa possibilidade faz com que o método apresente boa versatilidade com relação ao tipo da amostra de água natural.

6.2.2.5. Aplicação do método proposto em amostras reais

Após comprovada a eficiência do método proposto a partir dos testes apresentados do item 6.2.2.1 ao item 6.2.2.4, o método foi aplicado em amostra reais de água de mar e de lagoa da cidade de Salvador, Bahia. Os resultados obtidos para aplicação do método estão apresentados na Tabela 17.

Tabela 17. Resultados da aplicação do método em diferentes amostras de água da cidade de Salvador, Bahia, Brasil.

Amostra	Tipo de amostra	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
L1	Lagoa	1,14
M1	Mar	0,36
M2	Mar	< LQ
M3	Mar	< LQ

Considerando a Resolução CONAMA 357, citada anteriormente, a concentração medida nas amostras L1 e M1 apresentaram valor superior ao limite máximo estabelecido, que é de $0,0002 \text{ mg L}^{-1}$. Isso pode ser justificado pelo ponto escolhido para coleta ser próximo à uma saída de efluentes domésticos e pluviais da cidade de Salvador (BRASIL, 2005).

6.3. Considerações Parciais

Os estudos quimiométricos realizados no presente trabalho permitiram de forma eficiente avaliar as influências dos fatores na geração do vapor frio de mercúrio e definir uma condição ótima capaz de produzir resultados satisfatórios.

O procedimento analítico proposto permite a determinação de quantidades traço de mercúrio em amostras de água natural, doce ou salina, com excelente precisão e exatidão.

O procedimento analítico proposto permite a análises de amostras de água natural, doce ou salina, com alta frequência analítica.

O emprego do sistema de multiseringas possibilitou a obtenção de significativos limites de detecção e quantificação sem a necessidade da etapa de pré-concentração.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Além dos métodos já desenvolvidos e validados, pretende-se ainda dar continuidade ao trabalho **“Determinação de mercúrio em amostras de águas de rio e do mar por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio acoplado a um sistema de injeção em fluxo com multisingas”**, estudando a possibilidade de uma etapa prévia de pré-concentração do analito, além de estudar a possibilidade do fracionamento das espécies de mercúrio. Para tal, serão estudados diferentes materiais para a Extração em Fase Sólida (SPE).

Entre os materiais estudados, será avaliada a viabilidade e eficiência de nanopartículas magnéticas, como fase sólida, na etapa de extração do mercúrio das amostras de água, em sistema em fluxo. Ressalta-se que já é reportado na literatura trabalhos que fizeram uso das nanopartículas para extração de metais, a exemplo do uso de nanopartícula de ferro revestida com dodecil sulfato de sódio para extração e pré-concentração de mercúrio (FARAJI; YAMINI; REZAEI, 2010).

As nanopartículas magnéticas de ferro (NP) já foram sintetizadas, conforme metodologia descrita por ALMEIDA, bem como as nanopartículas funcionalizadas com 3-aminopropiltriétoxissilano (NP-APTES). Após etapa de síntese, os materiais foram liofilizados e posteriormente submetidos à análises de Difração de Raios-x (DRX), Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), a fim de confirmar a formação das nanopartículas, analisar as propriedades morfológicas dos materiais e verificar a existência das moléculas de APTES na superfície das NPs funcionalizadas, respectivamente (ALMEIDA, 2008).

A análise dos difratogramas (Figura 11 e 12) indica que, na síntese dos dois materiais, houve a formação de um material cristalino, com picos intensos e bem definidos. Além disso, a análise dos difratogramas indica que, nas duas sínteses, houve formação majoritária de óxido de ferro do tipo maguemita (γ -Fe₂O₃), confirmando assim, a que nos dois casos houve a formação do óxido de ferro com propriedades magnéticas.

Figura 11. Difratoograma de raios-x da nanopartícula de Fe_2O_3 .

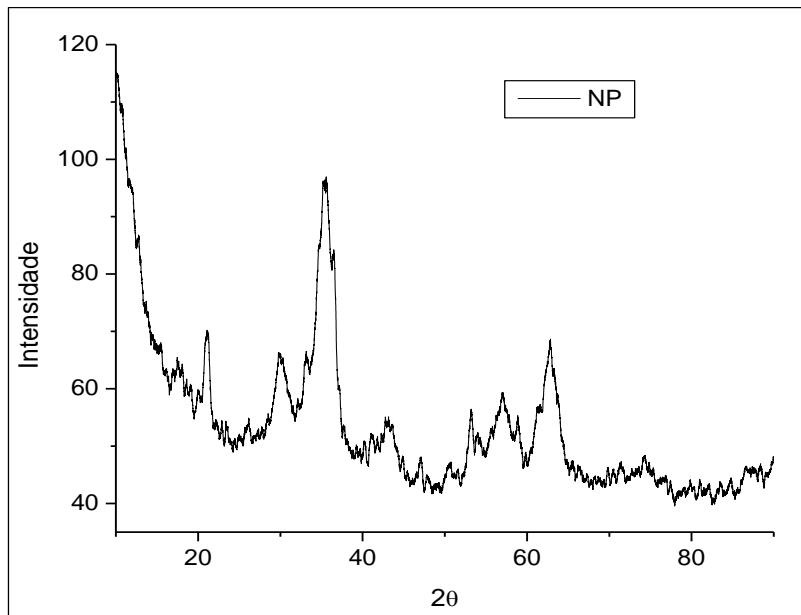
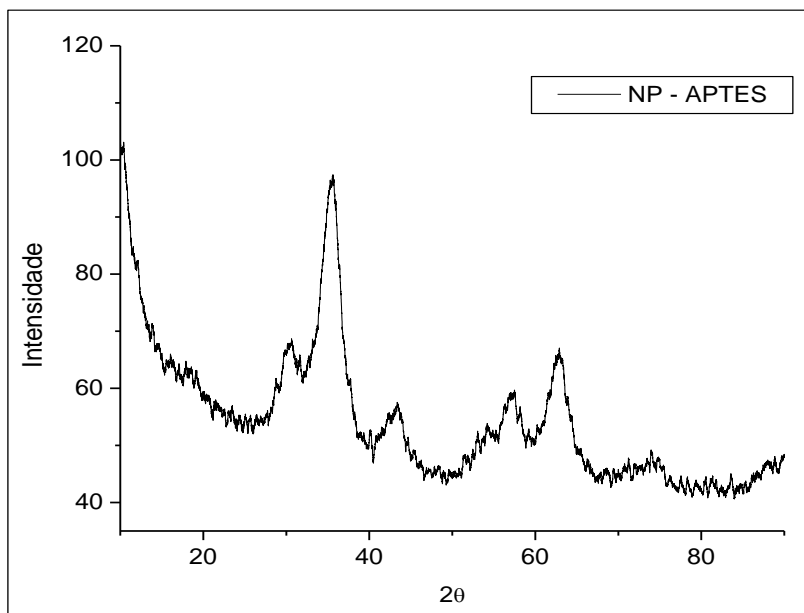


Figura 12. Difratoograma de raios-x da nanopartícula de Fe_2O_3 – APTES.



A microscopia eletrônica de varredura foi aplicada com o intuito de analisar as propriedades morfológicas dos materiais sintetizados.

A partir das Figuras 13 e 14, é possível que o tamanho dos cristalitos com melhor definição estrutural é menor ou em torno de $10 \mu\text{m}$, havendo uma distribuição heterogênea no tamanho das partículas. Além disso, não houve formação de glomerados e as partículas apresentaram morfologia irregular

Figura 13. Imagens da NP de Fe_2O_3 por MEV com aumento de 7500x.

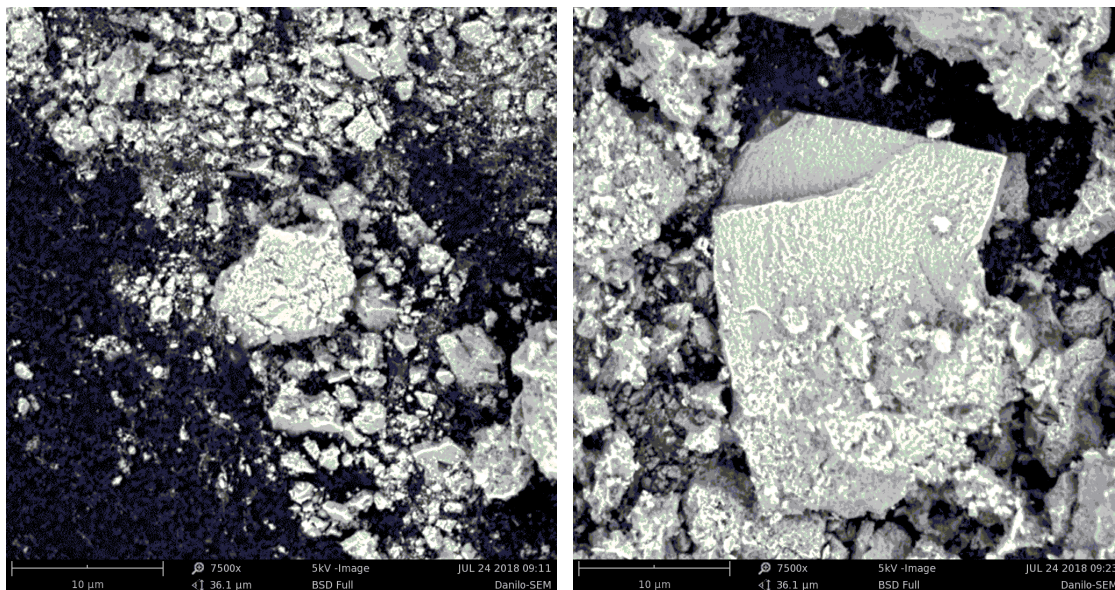
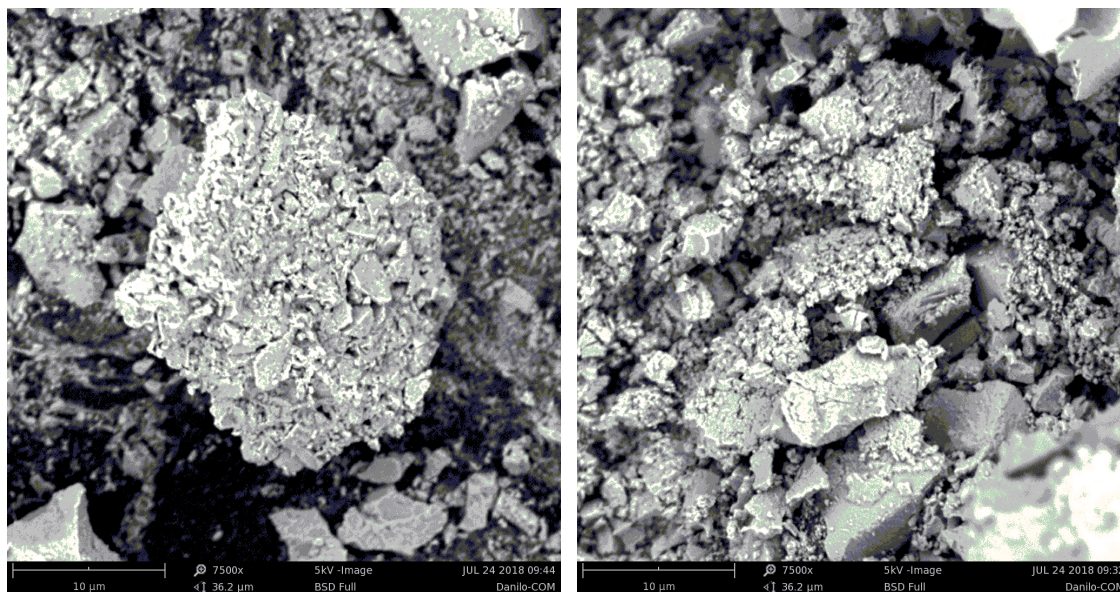


Figura 14. Imagens da NP de Fe_2O_3 – APTES por MEV com aumento de 7500x.



As nanopartículas sintetizadas também foram analisadas por FTIR, a fim de verificar a existência das moléculas de APTES na superfície das NPs funcionalizadas.

Os espectros da análise da nanopartícula magnética e da nanopartícula magnética funcionalizada estão apresentados na Figura 15 e 16, respectivamente.

Figura 15. Espectro de infra-vermelho para a nanopartícula magnética não funcionalizada.

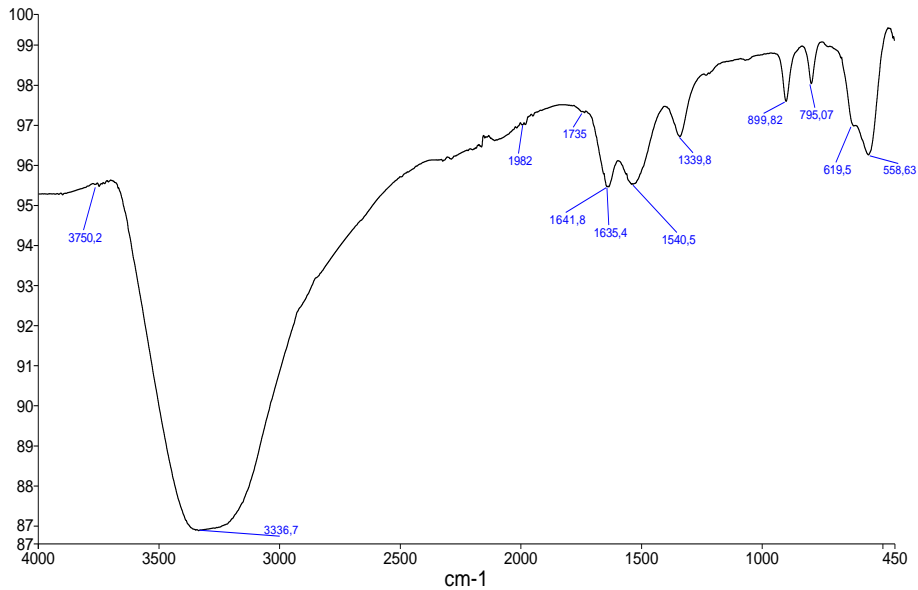
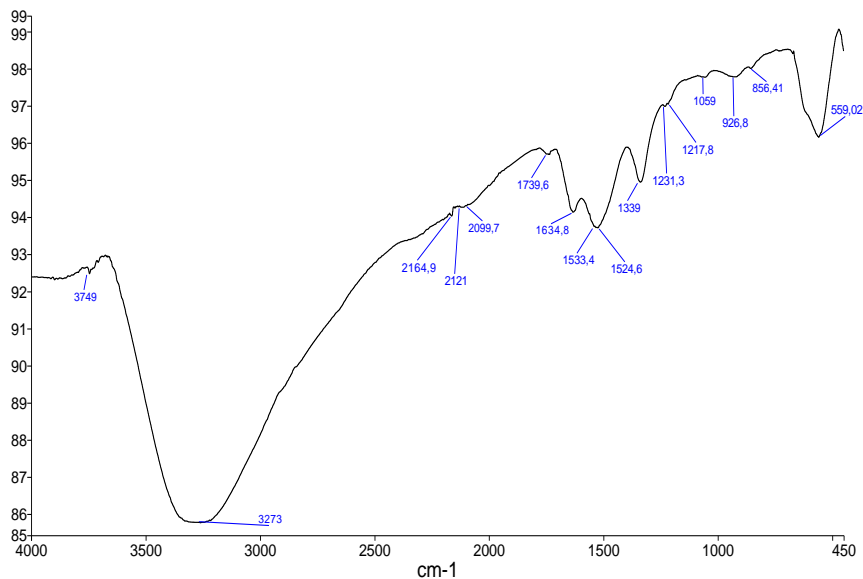


Figura 16. Espectro de infra-vermelho para a nanopartícula magnética funcionalizada com APTES.



A partir dos espectros acima, pode-se concluir que a rota sintética utilizada para síntese e funcionalização da nanopartícula magnética não foi satisfatória.

Outras rotas sintéticas serão avaliadas na síntese das nanopartículas funcionalizadas, bem como, será avaliada a eficiência das nanopartículas magnéticas de ferro sem funcionalização, na extração de mercúrio, uma vez que

trabalhos na literatura reportam a eficiência desse material na extração de metais em amostras de água (DANILA; VASAREVICIUS; VALSKYS, 2018).

Pretende-se também avaliar a viabilidade do cartucho comercial Oasis HLB, que consiste em esperas copoliméricas composta de divinilbenzeno e N-vinilpirrolidona, que vem sendo aplicada para extração de metais, a exemplo do cádmio e chumbo (ANTHEMIDIS et al., 2011) e mercúrio (PORTUGAL et al., 2013).

Será, ainda, desenvolvido um terceiro trabalho para determinação de mercúrio em amostras ambientais e animais, a partir de preparos simples das amostras ou da análise direta das amostras. Para tal, serão otimizadas metodologias que envolvem o preparo de suspensões das amostras de sedimento, peixe e outros animais aquáticos para posterior determinação de mercúrio, ou ainda, serão desenvolvidas metodologias de análise direta de sólidos, utilizando a Análise Direta de Mercúrio (DMA) e/ou a Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua e Forno de Grafite com Sistema de Análise Direta de Sólidos (SS-HR-CS GF AAS).

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base no que foi desenvolvido e discutido, é possível concluir que:

- A revisão bibliográfica apresentada demonstrou a importância em se desenvolver novas metodologias, cada vez mais sensível, para a determinação de mercúrio total ou de espécies de mercúrio nas diferentes amostras ambientais e alimentícias;
- A aplicação de ferramentas quimiométricas para otimização multivariada das condições experimentais foi eficiente, possibilitando a obtenção dos valores das variáveis que proporcionam a melhor resposta analítica, ou seja, possibilitando a obtenção das condições experimentais críticas;
- No primeiro método, a etapa de extração do mercúrio resultou em uma metodologia simples, sem a necessidade de uma etapa mais complexa de preparo de amostra, a exemplo a decomposição por via úmida, conferindo menor risco ao analista;
- No segundo método, o acoplamento do sistema MSFIA com a CV AAS permitiu o desenvolvimento de um método com grande sensibilidade e precisão, resultando em baixo limite de detecção e possibilitando a quantificação de mercúrio a nível traço;
- Ainda em relação ao segundo método, o uso de um sistema MSFIA tornou possível o desenvolvimento de um método com alta frequência analítica;
- As metodologias desenvolvidas se mostraram eficientes na determinação de mercúrio, com bons limites de detecção e quantificação, e elevada exatidão;
- Os resultados parciais obtidos, relacionados ao uso das nanopartículas magnéticas como fase sólida, têm se mostrado promissores para etapa de pré-concentração de metais, apresentando-se como uma possibilidade na pré-concentração de mercúrio.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(ANVISA), A. N. DE V. S. RDC n° 42 de 29 de Agosto de 2013. **Diário Oficial da União**, p. 33, 2013.

AKBAR, M.; MANOOCHEHRI, M. An efficient 2-mercapto-5-phenylamino-1,3,4-thiadiazole functionalized magnetic graphene oxide nanocomposite for preconcentrative determination of mercury in water and seafood samples. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 103, n. March, p. 37–42, 2019.

ALBERTÚS, F. et al. A robust multisyringe system for process flow analysis. Part I. On-line dilution and single point titration of protolytes. **Analyst**, v. 124, n. 9, p. 1373–1381, 1999.

ALMEIDA, M. P. S. DE. Síntese e caracterização de nanopartículas de maguemita recobertas com sílica funcionalizada com grupos amina. p. 70, 2008.

ALMEIDA, I. L. S. et al. Suitable extraction of soils and sediments for mercury species and determination combined with the cold vapor generation atomic absorption spectrometry technique. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 326–330, 2016.

AMDE, M. et al. Ionic liquid-based zinc oxide nanofluid for vortex assisted liquid liquid microextraction of inorganic mercury in environmental waters prior to cold vapor atomic fluorescence spectroscopic detection. **Talanta**, v. 149, p. 341–346, 2016.

ANTHEMIDIS, A. N. et al. On-line sorptive preconcentration platform incorporating a readily exchangeable Oasis HLB extraction micro-cartridge for trace cadmium and lead determination by flow injection-flame atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 98, n. 1, p. 66–71, 2011.

APPOH, R. K. et al. Assessment of Mercury Pollution in Rivers and Streams around Artisanal Gold Mining Areas of the Birim North District of Ghana. **Journal of Environmental Protection**, v. 02, n. 09, p. 1227–1239, 2011.

ARAUJO, B. F. et al. Concentrations and isotope ratios of mercury in sediments from

shelf and continental slope at Campos Basin near Rio de Janeiro, Brazil.

Chemosphere, v. 178, p. 42–50, 2017.

ARMAS, M. A. et al. Analytica Chimica Acta Multiparametric optimization of a new high-sensitive and disposable mercury (II) electrochemical sensor. **Analytica Chimica Acta**, v. 904, p. 76–82, 2016.

BEATY, R. D.; KERBER, J. D. **Concepts, instrumentation and techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry**. 2º Ed. ed. U.S.A: Perkin-Elmer corporation, 2002.

BEŁDOWSKA, M. et al. Simple screening technique for determination of adsorbed and absorbed mercury in particulate matter in atmospheric and aquatic environment. **Talanta**, v. 182, p. 340–347, 2018.

BEŁDOWSKI, J. et al. Total, methyl and organic mercury in sediments of the Southern Baltic Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 87, n. 1, p. 388–395, 2014.

BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965–977, 2008.

BEZERRA, M. A. et al. Simultaneous optimization of multiple responses and its application in analytical chemistry – A review. **Talanta**, v. 194, p. 941–959, 2019.

BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. O comportamento do metilmercúrio (METILHg) no ambiente. **Quimica Nova**, v. 27, n. 4, p. 593–600, 2004.

BORGES, D. L. G.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. **Analytica**, n. 18, p. 58–66, 2005.

BRASIL. Resolução CONAMA nº357, de 17 de março de 2005. Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional. Publicado no D.O.U. 2005.

CALLAO, M. P. Multivariate experimental design in environmental analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, 2014.

CALLE, P. et al. Mercury accumulation in sediments and seabird feathers from the

Antarctic Peninsula. **Marine Pollution Bulletin**, v. 91, n. 2, p. 410–417, 2015.

CAVOURA, O. et al. Mercury alkylation in freshwater sediments from Scottish canals. **Chemosphere**, v. 183, p. 27–35, 2017.

CERDÀ, V. et al. Multisyringe flow injection analysis in spectroanalytical techniques – A review. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 98, p. 1–18, 2018.

CESÁRIO, R. et al. Dissolved gaseous mercury formation and mercury volatilization in intertidal sediments. **Science of the Total Environment**, v. 603–604, p. 279–289, 2017.

D'ULIVO, A. Chemical vapor generation by tetrahydroborate(III) and other borane complexes in aqueous media: A critical discussion of fundamental processes and mechanisms involved in reagent decomposition and hydride formation. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 59, n. 6, p. 793–825, 2004.

DA SILVA, D. G. et al. Determination of mercury in rice by MSFIA and cold vapour atomic fluorescence spectrometry. **Food Chemistry**, v. 137, n. 1–4, p. 159–163, 2013.

DA SILVA, D. L. F. et al. Simultaneous determination of mercury and selenium in fish by CVG AFS. **Food Chemistry**, v. 273, p. 24–30, 2019.

DANILA, V.; VASAREVICIUS, S.; VALSKYS, V. Batch removal of Cd(II), Cu(II), Ni(II), and Pb(II) ions using stabilized zero-valent iron nanoparticles. **Energy Procedia**, v. 147, p. 214–219, 2018.

DE OLIVEIRA SOUZA, S. et al. Determination of copper and mercury in phosphate fertilizers employing direct solid sampling analysis and high resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 114, p. 58–64, 2015.

DIAS, D. et al. Inorganic mercury intoxication: A case report. **Forensic Science International**, v. 259, p. e20–e24, 2016.

DING, Z. H. et al. Distribution and speciation of mercury in surficial sediments from

main mangrove wetlands in China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, n. 9, p. 1319–1325, 2009.

DOS SANTOS, J. S. et al. Determination of organic and inorganic mercury species in water and sediment samples by HPLC on-line coupled with ICP-MS. **Talanta**, v. 80, n. 1, p. 207–211, 2009.

FAKHRI, A. Investigation of mercury (II) adsorption from aqueous solution onto copper oxide nanoparticles: Optimization using response surface methodology. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 93, n. li, p. 1–8, 2015.

FARAJI, M.; YAMINI, Y.; REZAEI, M. Extraction of trace amounts of mercury with sodium dodecyl sulphate-coated magnetite nanoparticles and its determination by flow injection inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 81, n. 3, p. 831–836, 2010.

FASHI, A.; YAFTIAN, M. R.; ZAMANI, A. Electromembrane extraction-preconcentration followed by microvolume UV–Vis spectrophotometric determination of mercury in water and fish samples. **Food Chemistry**, v. 221, p. 714–720, 2017.

FERREIRA, S. L. C. et al. Analytical strategies of sample preparation for the determination of mercury in food matrices - A review. **Microchemical Journal**, v. 121, p. 227–236, 2015.

FERREIRA, S. L. C. **Introdução às técnicas de Planejamento de Experimentos**. 1. ed. Salvador, Bahia: Vento Leste, 2015.

FERREIRA, S. L. C. et al. Multivariate optimization techniques in food analysis - A review. **Food Chemistry**, v. 273, p. 3–8, 2019.

FIGUEIREDO, T. S. et al. Mercury deposition during the previous century in an upwelling region; Cabo Frio, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 76, n. 1–2, p. 389–393, 2013.

FOSTIER, A. H.; DO N. COSTA, F.; KORN, M. DAS G. A. Assessment of mercury contamination based on mercury distribution in sediment, macroalgae, and seagrass in the Todos os Santos bay, Bahia, Brazil. **Environmental Science and Pollution**

Research, v. 23, n. 19, p. 19686–19695, 2016.

GANDHI, N. et al. Fish Mercury Levels Appear to Be Increasing Lately: A Report from 40 Years of Monitoring in the Province of Ontario, Canada. **Environmental Science & Technology**, v. 48, p. 5404–5414, 2014.

GAYATHRI, J.; SELVAN, K. S.; NARAYANAN, S. S. Fabrication of carbon nanotube and synthesized Octadentate ligand modified electrode for determination of Hg (II) in Sea water and Lake water using square wave anodic stripping voltammetry Jayagopi. **Sensing and Bio-Sensing Research**, v. 19, p. 1–6, 2018.

GUERRERO, M. M. L. et al. Cold vapour generation electrothermal atomic absorption spectrometry and solid phase extraction based on a new nanosorbent for sensitive Hg determination in environmental samples (sea water and river water). **Microchemical Journal**, v. 132, p. 274–279, 2017.

GUZMÁN-MAR, J. L. et al. Applicability of multisyringe chromatography coupled to cold-vapor atomic fluorescence spectrometry for mercury speciation analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 708, n. 1–2, p. 11–18, 2011.

HELLINGS, J.; ADELOJU, S. B.; VERHEYEN, T. V. Rapid determination of ultra-trace concentrations of mercury in plants and soils by cold vapour inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 111, p. 62–66, 2013.

HONORATO, R. S. et al. A flow-batch titrator exploiting a one-dimensional optimisation algorithm for end point search. **Analytica Chimica Acta**, v. 396, n. 1, p. 91–97, 1999.

HORTELLANI, M. A.; SARKIS, J. E. S.; BONETTI, J.; BONETTI, C. Evaluation of mercury contamination in sediments from Santos – Sao Vicente Estuarine System, Sao Paulo State, Brazil. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 16, p. 1140–1149, 2005.

HUA, J. et al. Highly fluorescent carbon quantum dots as nanoprobe for sensitive and selective determination of mercury (II) in surface waters. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 187, n. li, p. 149–155, 2017.

INMETRO. Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos Fundamentais e Gerais e Termos Associados (VIM 2008). In: 1. ed. Rio de Janeiro: [s.n.]. p. 78.

ISSARO, N.; ABI-GHANEM, C.; BERMOND, A. Fractionation studies of mercury in soils and sediments: A review of the chemical reagents used for mercury extraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 631, n. 1, p. 1–12, 2009.

JAGTAP, R. et al. Measurement of methyl mercury (I) and mercury (II) in fish tissues and sediments by HPLC-ICPMS and HPLC-HGAAS. **Talanta**, v. 85, n. 1, p. 49–55, 2011.

JAGTAP, R.; MAHER, W. Measurement of mercury species in sediments and soils by HPLC-ICPMS. **Microchemical Journal**, v. 121, p. 65–98, 2015.

KANNAN, K. et al. Distribution of Total Mercury and Methyl Mercury in Water, Sediment, and Fish from South Florida Estuaries. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 34, n. 2, p. 109–118, 1998.

KRAWCZYK, M.; STANISZ, E. Ultrasound-assisted dispersive micro solid-phase extraction with nano-TiO₂ as adsorbent for the determination of mercury species. **Talanta**, v. 161, p. 384–391, 2016.

KRISHNA, M. V. B. et al. A rapid ultrasound-assisted thiourea extraction method for the determination of inorganic and methyl mercury in biological and environmental samples by CVAAS. **Talanta**, v. 67, n. 1, p. 70–80, 2005a.

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, n. 2, p. 329–335, 2005b.

KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. 2. ed. São Paulo: EditSBQ, 2016.

LAPA, R. A. S. et al. Multi-pumping in flow analysis: Concepts, instrumentation, potentialities. **Analytica Chimica Acta**, v. 466, n. 1, p. 125–132, 2002.

LEAO, D. J. et al. Ultrasound assisted extraction for the determination of mercury in sediment samples employing cold vapour atomic absorption spectrometry. **Anal.**

Methods, v. 8, n. 35, p. 6554–6559, 2016.

LENG, G. et al. Speciation analysis of mercury in sediments using vortex-assisted liquid-liquid microextraction coupled to high-performance liquid chromatography-cold vapor atomic fluorescence spectrometry. **Talanta**, v. 99, p. 631–636, 2012.

LEOPOLD, K.; FOULKES, M.; WORSFOLD, P. Methods for the determination and speciation of mercury in natural waters-A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 663, n. 2, p. 127–138, 2010.

LI, Z. et al. Determination of trace mercury in water based on N-octylpyridinium ionic liquids preconcentration and stripping voltammetry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 301, p. 206–213, 2016.

LIANG, P.; KANG, C.; MO, Y. One-step displacement dispersive liquid-liquid microextraction coupled with graphite furnace atomic absorption spectrometry for the selective determination of methylmercury in environmental samples. **Talanta**, v. 149, p. 1–5, 2016.

LUIS, S. et al. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. v. 1158, p. 2–14, 2007.

MAHBUB, K. R. et al. Mercury toxicity to terrestrial biota. **Ecological Indicators**, v. 74, p. 451–462, 2017.

MAKAM, P. et al. SERS and fluorescence-based ultrasensitive detection of mercury in water. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 100, p. 556–564, 2018.

MARGUÍ, E.; QUERALT, I.; GUERRA, M. Mercury determination at trace levels using membrane preconcentration and benchtop total reflection X-ray fluorescence analysis. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 19, p. 84–90, 2018.

MILLER, J. C.; MILLER, J. N. **Estatística para Química Analítica**. New York: Prentice Hall, 1993.

MOLAMOHYEDDIN, N.; GHAFOURIAN, H.; SADATIPOUR, S. M. Contamination assessment of mercury, lead, cadmium and arsenic in surface sediments of

Chabahar Bay. **Marine Pollution Bulletin**, v. 124, n. 1, p. 521–525, 15 nov. 2017.

MOUTCINE, A.; CHTAINI, A. Electrochemical determination of trace mercury in water sample using EDTA-CPE modified electrode. **Sensing and Bio-Sensing Research**, 2018.

NIAZI, A.; HABIBI, S.; RAMEZANI, M. Preconcentration and simultaneous spectrophotometric determination of copper and mercury by dispersive liquid – liquid microextraction and orthogonal signal correction – partial least squares. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 5, p. 706–714, 2015.

NOVAES, C. G. et al. A review of multivariate designs applied to the optimization of methods based on inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). **Microchemical Journal**, v. 128, p. 331–346, 2016.

PASQUINI, C.; OLIVEIRA, W. A. Monosegmented system for continuous-flow analysis. Spectrophotometric determination of chromium(VI), ammonia, and phosphorus. **Analytical Chemistry**, v. 57, p. 2575–2579, 1985.

PORTUGAL, L. A. et al. Pressure-driven mesofluidic platform integrating automated on-chip renewable micro-solid-phase extraction for ultrasensitive determination of waterborne inorganic mercury. **Talanta**, v. 110, p. 58–65, 2013.

PORTUGAL, L. A. et al. A non-chromatographic automated system for antimony speciation in natural water exploiting multisyringe flow injection analysis coupled with online hydride generation – atomic fluorescence spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, p. 1133–1141, 2015.

RAHMAN, G. M. M.; KINGSTON, H. M. Development of a microwave-assisted extraction method and isotopic validation of mercury species in soils and sediments. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 20, n. 3, p. 183–191, 2005.

RANGER, C. B. Flow Injection Analysis. Principles, Techniques, Applications, Design. **Analytical Chemistry**, v. 53, n. 1, 1981.

REIS, B. F. et al. Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant

digests. **Analytica Chimica Acta**, v. 293, n. 1–2, p. 129–138, 1994.

RIBEIRO, R. F. L.; GERMANO, A. Development and validation of a method for the determination of Hg in animal tissues (equine muscle, bovine kidney and swine kidney, and poultry muscle) by direct mercury analysis (DMA). **Microchemical Journal**, v. 121, p. 237–243, 2015.

RUZICKA, J.; MARSHALL, G. D. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 237, n. C, p. 329–343, 1990.

ŞAHAN, T.; EROL, F.; YILMAZ, Ş. Mercury(II) adsorption by a novel adsorbent mercapto-modified bentonite using ICP-OES and use of response surface methodology for optimization. **Microchemical Journal**, v. 138, p. 360–368, 2018.

SAMADDAR, P.; SEN, K. Discrimination for inorganic and organic mercury species by cloud point extraction of polyethylene glycol. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 2, p. 1862–1868, 2016.

SILVA, L. F. F.; MACHADO, W.; LISBOA, S. D.; LACERDA, L. D. Mercury accumulation in sediments of a mangrove ecosystem in SE Brazil. **Water, Air, Soil Pollut.**, v. 145, p. 67–77, 2003.

SILVA JUNIOR, M. M. et al. Determination of mercury in alcohol vinegar samples from Salvador, Bahia, Brazil. **Food Control**, v. 47, p. 623–627, 2015.

SILVA, L. O. B. et al. Slurry Sampling for the Determination of Mercury in Rice Using Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 5, n. 6, p. 1289–1295, 2012.

SKEGGS, L. T. An automatic method for colorimetric analysis. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 28, n. 3, p. 311–322, 1957.

SUELI, P.; CAROLINNE, N.; DOUGLAS, W. Quantification and speciation of mercury in streams and rivers sediment samples from Paracatu, MG, Brazil, using a direct mercury analyzer ®. **Microchemical Journal**, v. 140, n. February, p. 199–206, 2018.

SUNJOG, K. et al. Assessment of status of three water bodies in Serbia based on

tissue metal and metalloid concentration (ICP-OES) and genotoxicity (comet assay). **Environmental Pollution**, v. 213, p. 600–607, 2016.

UNEP. Global Mercury Assessment 2013: Sources, Emissions, Releases, and Environmental Transport. **Unep**, p. 42, 2013.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME. **Mercury–Time to Act**. [s.l.: s.n.]. v. 1

VANINI, G. et al. Multivariate optimisation of ICP OES instrumental parameters for Pb / Ba / Sb measurement in gunshot residues. **Microchemical Journal**, v. 120, p. 58–63, 2015.

VEREDA ALONSO, E. et al. Development of an on-line solid phase extraction method based on new functionalized magnetic nanoparticles. Use in the determination of mercury in biological and sea-water samples. **Talanta**, v. 153, p. 228–239, 2016.

WANG, H. et al. Electrospun nanofibrous mercury filter: Efficient concentration and determination of trace mercury in water with high sensitivity and tunable dynamic range. **Analytica Chimica Acta**, v. 982, p. 96–103, 2017.

XU, Q. et al. Bioaccumulation characteristics of mercury in fish in the Three Gorges. **Environmental Pollution**, v. 243, p. 115–126, 2018.

YAHYAZADEH, E.; SHEMIRANI, F. Easily synthesized carbon dots for determination of mercury(II) in water samples. **Heliyon**, v. 5, n. 5, p. e01596, 2019.

ZAGATTO, E. A. G.; OLIVEIRA, C. C.; COLLINS, C. H. Classificação e definição dos métodos de análises em fluxo (Recomendações - IUPAC 1994). **Quimica Nova**, v. 22, n. 1, p. 143–146, 1999.

ZARCO-FERNÁNDEZ, S. et al. Development of a thiourea derivative polymer combined to a Direct Mercury Analyser for screening and pre-concentration of mercury species. **Talanta**, v. 162, p. 612–617, 2017.

ZHANG, S. et al. In situ rapid magnetic solid-phase extraction coupled with HPLC-ICP-MS for mercury speciation in environmental water. **Microchemical Journal**, v.

126, p. 25–31, 2016.

ZHU, S. et al. Speciation of mercury in water and fish samples by HPLC-ICP-MS after magnetic solid phase extraction. **Talanta**, v. 171, p. 213–219, 2017.