



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**OTIMIZAÇÃO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE
MERCÚRIO LÁBIL E TOTAL EM SÓLIDOS EM SUSPENSÃO E
METILMERCÚRIO EM AMBIENTES DE ÁGUAS PRETAS
AMAZÔNICAS**

SIOMARA DIAS DA ROCHA

MANAUS/AM

Outubro/2021

SIOMARA DIAS DA ROCHA

**OTIMIZAÇÃO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE
MERCÚRIO LÁBIL E TOTAL EM SÓLIDOS EM SUSPENSÃO E
METILMERCÚRIO EM AMBIENTES DE ÁGUAS PRETAS
AMAZÔNICAS**

Tese de Doutorado submetida ao
Programa de Pós-Graduação em
Química (PPGQ) da Universidade
Federal do Amazonas exigida para o
título de Doutorado em Química com
ênfase na Linha de Pesquisa Métodos
Analíticos e Estudos Ambientais.

**Orientador: Prof. Dr. Ézio Sargentini Jr. - Pesquisador do Instituto Nacional de
Pesquisas da Amazônia - INPA/ PPGQ UFAM**

**Co-orientador: Prof. Dr. Amauri Antônio Menegário – Diretor do Centro de Estudos
Ambientais – CEA/ UNESP/ Rio Claro - SP**

MANAUS/AM

Outubro/2021

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

R672o Rocha, Siomara Dias da
Otimização de métodos para determinação de mercúrio lábil e total em sólidos em suspensão e metilmercúrio em ambientes de águas pretas amazônicas : subtítulo sem pontos / Siomara Dias da Rocha . 2021
173 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Ézio Sargentini Junior
Coorientador: Amauri Antônio Menegário
Tese (Doutorado em Química Analítica) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Sólidos em suspensão. 2. Fração Lábil. 3. Especificação. 4. Metilmercúrio. I. Sargentini Junior, Ézio. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

OTIMIZAÇÃO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE
MERCÚRIO LÁBIL E TOTAL EM SÓLIDOS EM SUSPENSÃO E
METILMERCÚRIO EM AMBIENTES DE ÁGUAS PRETAS
AMAZÔNICAS

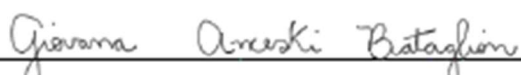
SIOMARA DIAS DA ROCHA

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química,
do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como
requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor(a) em Química.

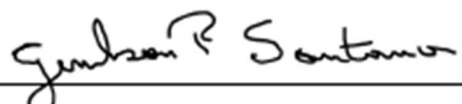
Aprovada em, 20 de outubro de 2021.



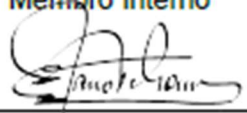
ÉZIO SARGENTINI JÚNIOR (PPGQ/UFAM)
Presidente/Orientador



GIOVANA ANCESKI BATAGLION (PPGQ/UFAM)
Membro Interno



GENILSON PEREIRA SANTANA (PPGQ/UFAM)
Membro Interno



MARCO TADEU GRASSI (DQ/UFPR)
Membro Externo



PEDRO SÉRGIO FADINI (DQ/UFSCAR)
Membro Externo

Universidade Federal do Amazonas
Manaus, 20 de outubro de 2021.

AGRADECIMENTOS

Finalizar esta Tese de Doutorado é ir além do imaginado. É chegar tão longe partindo de onde parti. E esta é a prova de que não existem obstáculos, quando se tem perseverança, coragem e cultivo de valores e virtudes. Este é o meu humilde reconhecimento a todos os que participaram desta jornada.

Agradeço primeiramente à Deus, pelo precioso dom da vida, por estar sempre ao meu lado, apresentando alternativas nos momentos mais difíceis, por todas as oportunidades que surgiram ao longo da minha trajetória acadêmica, pela proteção, sabedoria e força para enfrentar todos os obstáculos.

Aos meus pais Maria e Volnei, que mesmo diante de todas as dificuldades não me deixaram abrir mão de adquirir mais conhecimento, mesmo que por vezes tenha faltado “de ambos” mais atenção e carinho, jamais esquecerei o apoio de vocês, cada um à sua maneira. Amo vocês!

Às minha madrastra Socorro e as minhas irmãs, Thaís e Thalia, por todas as vezes que não era nem preciso palavras para saber o que o outra estava sentindo e pensando. Amo vocês!

Ao meu companheiro Antônio, por todo apoio diante de tantas dificuldades e pela compreensão durante esta jornada. Te amo!

A Dona Zélia e ao Sr. Antônio, pelo apoio incondicional e pelas longas conversas para me ajudar a superar os momentos mais difíceis. Agradeço de coração.

Ao Prof. Dr. Amauri Antônio Menegário, pela co-orientação, pela sinceridade sempre presente, pelos ensinamentos sobre especiação de mercúrio transmitidos durante a minha estada no Centro de Estudos Ambientais/CEA-UNESP e pela amizade construída desde o início do Doutorado.

Ao meu orientador Dr. Ézio Sargentini Jr. (Pesquisador do Laboratório de Química Analítica e Ambiental, INPA). Primeiramente pela orientação desta Tese, por todos os ensinamentos sobre técnicas de amostragem e estudos com mercúrio e dicas construtivas para meu aprimoramento pessoal e como pesquisadora.

Ao Marcos A. Bolson, técnico do Laboratório de Química Analítica e Ambiental, INPA, por todas as conversas esclarecedoras sobre as técnicas instrumentais de determinação de mercúrio e demais equipamentos, pelo auxílio nas análises do Tekran® e entendimento dos resultados, sempre regados de muita caféina e glicose.

À Dona Del, por sempre ter sido simpática comigo, por toda força e conselhos para enfrentar os momentos mais difíceis.

Aos meus queridos alunos da Fucapi, Naiara, Cristiane, Nathany, Lucas, Carlos Matheus, Arthur, Demétrius, Kerollen, Ítala, Gábata, Letícia, Isabella, Celina, Ísis e Maria Nathália.

À Prof.^a Dr.^a Isabel Dinola, Diretora Educacional da Fucapi, por ser tão querida e compreender os meus afastamentos das aulas por conta da demanda do Doutorado. Agradeço de coração!

À Larissa Torrezani e suas estagiárias (Gisele e Érica), Bruno e Ceel do Serviço Geológico do Brasil (CPRM), por cederem espaço no laboratório de mineralogia, pelas contribuições nas análises do DMA e pela amizade construída ao longo do Doutorado.

Ao pessoal do Centro de Estudos Ambientais (CEA) da UNESP, pela constante prestatividade e auxílio. Aos amigos do GEMB, Raiza, Lucas, Hendryk, Jorge, Karen, Carol, Lúcia, Kadu, Edson, Everton e Marcos (motorista) que deixou nossas viagens de coleta mais descontraídas e tantos outros que estiveram comigo ao longo destes anos, pelas horas de trabalho compartilhadas, discussões e sugestões feitas ao meu trabalho e pelos bons momentos convividos. Agradeço especialmente, a Lauren, que mesmo à distância, se dispôs a tirar minhas dúvidas e a me aconselhar nas tomadas de decisão.

Aos meus amigos e *MSc.'s* “Pamela e Diogo” (Grupo Brainstorm) por todo apoio e companheirismo sempre presentes e pelos vários momentos de descontração.

Aos meus amigos do Nanopol, Matheus, Ana, Laiane, por todo o apoio, em especial, ao Prof. Dr. Edgar Sanches pelo convite para participar da disciplina de Produção Científica e por toda a paciência durante a correção do artigo.

Aos meus amigos do ILUM - HUB-UEA, Grupo de Pesquisa do Prof. Dr. Serudo, em especial a Syra, Léia, Matheus e Guilherme por toda atenção e apoio.

À Dr.^a Zandra Valdez e ao Dr. Arnaldo Russo pelo cuidado com a minha saúde e pela orientação para o meu aprimoramento pessoal e profissional!!

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química na pessoa do Prof. Dr. Leandro Pocrifka por ter me permitido ingressar no processo de seleção do Doutorado em 2017 e atualmente na pessoa do Prof. Dr. Kelson por ser sempre cordial e compreensivo.

Ao Prof. Dr. Paulo Couceiro e o Prof. Dr. Afonso Leão por sempre serem tão prestativos e por terem acreditado que eu poderia ir mais longe desde a graduação. Obrigada por serem esse exemplo de profissional para mim e por todos os ensinamentos repassados.

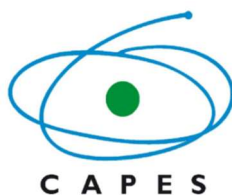
À minha banca de Qualificação da Tese de Doutorado, Prof. Dr. Genilson Santana, Prof.^a Dr.^a Giovana Bataglioni e Prof.^a Dr.^a Larissa Wiedemann pelas excelentes contribuições que me guiaram para trilhar o caminho certo rumo ao tão sonhado título.

Aos membros da Minha Banca de Defesa de Tese, Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi e Prof. Dr. Pedro Fadini, Prof. Dr. Genilson Santana e a Prof.^a Dr.^a Giovana Bataglioni, por todas as contribuições e ensinamentos que marcaram este dia único.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pesquisa de Ensino Superior (CAPES) pela bolsa concedida. Finalmente, a todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

AUXÍLIOS FINANCEIROS:

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior



UFAM – Universidade Federal do Amazonas



PPGQ – Programa de Pós-Graduação em Química



INPA – Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia



LQAA - Laboratório de Química Analítica Ambiental

CEA - Centro de Estudos Ambientais – UNESP – Campus Rio Claro - SP



LAMIN – Laboratório de Mineralogia da Superintendência Regional de Manaus



RESUMO

De uma forma geral, esta Tese apresenta o estudo de validação e otimização de técnicas de preparo de amostras para a determinação de mercúrio lábil e sua fração especiada (metilmercúrio - MeHg) em ambientes de águas pretas amazônicas. Inicialmente foi feita uma investigação operacional na literatura com a finalidade de se obter o atual Estado da Arte das técnicas mais aplicadas. Com isso foram selecionadas duas técnicas amplamente conhecidas e devotadas para determinação de mercúrio total (HgT), sendo elas: o Analisador de Mercúrio Direto (DMA) e a Espectrometria de Fluorescência Atômica a Vapor Frio (CV-AFS). Sendo assim, se fez necessário uma investigação mais detalhada sobre o comportamento das espécies de mercúrio na coluna d'água conforme a variação da temperatura, além do aporte de sólidos em suspensão e de matéria orgânica, os quais influenciam na permanência de espécies de mercúrio no compartimento hídrico. Esta Tese tem por objetivo aprofundar o estudo sobre a influência dos sólidos em suspensão na fração lábil de mercúrio (HgL) em amostras de água do rio Negro, além de verificar a influência do pH, da força iônica e presença de interferentes nas concentrações de (MeHg) em um lago de água preta formado por uma das nascentes do rio Tarumã-Açu, localizado no Km 923 da Rodovia BR 174. Tendo em vista o aprimoramento das técnicas foram propostas condições especiais de contorno para que não houvesse contaminação ou perda das amostras com Hg. Dessa forma, devido a relação direta do metal estudado com o conteúdo dos sólidos suspensos totais (SST) foi proposta a modificação do método padrão com a redução de temperatura de secagem dos filtros e análise da fração de mercúrio lábil (HgL). Nessa primeira parte do estudo, as análises foram baseadas no comparativo entre os resultados das duas técnicas (DMA e CV-AFS), objetivando ressaltar a eficiência do analisador direto de Hg na determinação de outras frações do metal. Assim sendo, foi demonstrado com sucesso que a determinação de HgL no conteúdo de SST é possível via DMA, desde que seja ajustada a temperatura e feita a limpeza adequada das vidrarias. Dando continuidade as contribuições analíticas também foi estudada a técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) em amostragem *in situ*. Contudo, a aplicação desta técnica em águas naturais é complicada devido à redução da adsorção do amostrador tradicional para metais em baixo pH e baixa condutividade elétrica. Esta parte do estudo, avaliou a variação das concentrações retidas de MeHg no período 24 e 120 h pela técnica DGT. As medições DGT também foram feitas em soluções padrão em laboratório para cálculo do coeficiente de difusão, influência do pH, força iônica e interferentes na retenção de MeHg. Os resultados mostraram que técnica DGT pode ser estendida para águas com pH e condutividade menores, desde que sejam avaliadas as limitações da mesma, sendo uma ferramenta útil para o monitoramento em tempo integrado de concentrações lábeis em diferentes sistemas aquáticos. Com base na proposta de reduzir o tempo e o custo da análise, bem como a geração de resíduos através da eliminação da etapa de eluição ácida do gel ligante. Dessa forma, foi possível desenvolver via comparação (DMA e CV AFS). Assim, os resultados obtidos demonstraram que a determinação de MeHg é possível via DMA, o que representa uma importante contribuição para a especiação de Hg.

Palavras-chave: Sólidos em suspensão. Fração Lábil. Especiação. DGT. Metilmercúrio.

ABSTRACT

In general, this Thesis presents the study of validation and optimization of sample preparation techniques for the determination of labile mercury and its spicity fraction (methylmercury - MeHg) in Amazonian black water environments. Initially, an operational investigation was carried out in the literature in order to obtain the current State of the Art of the most applied techniques. With this, two widely known and devoted techniques for determining total mercury (HgT) were selected, namely: the Direct Mercury Analyzer (DMA) and the Cold Steam Atomic Fluorescence Spectrometry (CV-AFS). Therefore, a more detailed investigation on the behavior of mercury species in the water column was necessary according to the temperature variation, in addition to the supply of suspended solids and organic matter, which influence the permanence of mercury species in the water compartment. This Thesis aims to deepen the study on the influence of suspended solids on the labile fraction of mercury (HgL) in water samples from the Negro River, in addition to verifying the influence of pH, ionic strength and presence of interferents in the concentrations of (MeHg) in a black water lake formed by one of the sources of the Tarumã-Açu river, located at Km 923 of the BR 174 highway. In order to improve the techniques, special contour conditions were proposed so that there was no contamination or loss of samples with Hg. Thus, due to the direct relationship of the studied metal with the content of total suspended solids (SST), it was proposed to modify the standard method with the reduction of the drying temperature of the filters and analysis of the labile mercury fraction (HgL). In this first part of the study, the analyzes were based on the comparison between the results of the two techniques (DMA and CV-AFS), aiming to highlight the efficiency of the direct Hg analyzer in determining other metal fractions. Therefore, it was successfully demonstrated that the determination of HgL in the SST content is possible via DMA, as long as the temperature is adjusted and the glassware is properly cleaned. Continuing the analytical contributions, the technique of diffusion in thin films by concentration gradient (DGT) in in situ sampling was also studied. However, the application of this technique in natural waters is complicated due to the reduction of the adsorption of the traditional sampler for metals at low pH and low electrical conductivity. This part of the study evaluated the variation in MeHg concentrations retained in the 24 and 120 h period by the DGT technique. DGT measurements were also made in standard solutions in the laboratory for calculating the diffusion coefficient, pH influence, ionic strength and interfering with MeHg retention. The results showed that the DGT technique can be extended to waters with lower pH and conductivity, provided that its limitations are evaluated, being a useful tool for the integrated monitoring of labile concentrations in different aquatic systems. Based on the proposal to reduce the time and cost of analysis, as well as the generation of waste by eliminating the acid elution step of the binding gel. Thus, it was possible to develop via comparison (DMA and CV AFS). Thus, the results obtained demonstrated that the determination of MeHg is possible via DMA, which represents an important contribution to Hg speciation.

Keywords: Suspended solids. Labile Fraction. Speciation. DGT. Methylmercury.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1	Rocha do mineral Cinábrio encontrada no Estado de Lara (San Jacinto) Venezuela.....	34
Figura 2	Ciclo Biogeoquímico de Mercúrio no ambiente.....	37
Figura 3	Principais interações das espécies químicas do ciclo do Hg nos diferentes compartimentos ambientais.....	39
Figura 4	Esquema demonstrativo de funcionamento do DGT.....	43
Figura 5	Esquema de um dispositivo DGT.....	44
Figura 6	Diagrama esquemático do sistema AFS para análise de mercúrio do sistema TEKTRAN® 2600.....	46
Figura 7	Equipamentos CV AFS: A) modelo Tekran® 2600; B) modelo 10.045 Millennium Merlin Cold Vapor AAS System – P. S. Analytical.....	46
Figura 8	Esquema do processamento de amostra no DMA-80.....	48
Figura 9	Modelo do Analisador de Mercúrio por Combustão (DMA-80 Millestone®).....	49

CAPÍTULO III

Figura 1	Grafo da conexão das palavras-chave com três citações.....	61
Figura 2	Grafo unificado da conexão das palavras-chave em linha do tempo com 3 citações das pesquisas nas bases de dados.....	61
Figura 3	Maior componente no grafo de autores e coautorias com três citações.....	62
Figura 4	Grafo unificado da linha do tempo da rede de autores e co-autores com até 2 citações das pesquisas nas bases de dados.....	63

CAPÍTULO IV

Figura 1	Grafo unificado da linha do tempo da rede de autores e co-autores com até 2 citações das pesquisas nas bases de dados.....	76
Figura 2	Grafo da conexão das palavras-chave em linha do tempo com 2 citações (Bases de Dados Unificadas)	77
Figura 3	Maior componente no grafo de autores e co-autorias com 2 citações (Bases de dados Unificadas)	78
Figura 4	Maior componente no grafo de autores e co-autorias em linha do tempo com 2 citações (Bases de dados Unificadas).....	78

CAPÍTULO V

Figura 1	Fluxograma da sequência de etapas para o processamento das amostras de SST com teor de HgT.....	103
Figura 2	Curvas analíticas obtidas para Hg utilizando Espectrômetro de Fluorescência com Geração de Vapor Frio (Tekran®) e Analisador Direto (DMA-80®)	111
Figura 3	Curvas de característica de operação do receptor (ROC) para o comparativo entre DMA e CV-AFS, em relação a concentração de HgT no conteúdo de SST.....	115
Figura 4	Curva de característica de operação do receptor (ROC) para o comparativo entre DMA e CV-AFS para SST, em relação a concentração de HgT.....	115
Figura 5	BoxPlot para Outliers encontrados nos resultados do DMA.....	116
Figura 6	BoxPlot para Outliers encontrados nos resultados do CV-AFS.....	116
Figura 7	Resultados comparativos das médias obtidas para Hg lábil em amostras de STS digeridas.....	117
Figura 8	Correlação entre as médias de HgL obtidas no DMA e no CV-AFS.....	118
Figura 9	AB - Superfícies de Resposta em ângulos diferentes para: teor sólidos suspensos totais (SST ng mL ⁻¹) ao redor de valores ótimos de concentração de HgL obtidos pelas técnicas instrumentais CV-AFS (ng mL ⁻¹) e DMA (ng mL ⁻¹)	120

CAPÍTULO VI

Figura 1	A) Preparo do gel difusivo de agarose; B) Secagem do gel em capela de fluxo laminar.....	134
Figura 2	A) Preparo do gel ligante de levedura; B) Secagem do gel em capela de fluxo laminar; Retalho do corte em gel dos quais foram tirados os discos e D) Discos de gel ligante de levedura no diâmetro de 2,5 cm, prontos para uso.....	135
Figura 3	Imagens demonstrativas da montagem dos dispositivos DGT: A) Fase de ligação de levedura; B) Fase difusiva de agarose; C) Membrana protetora de nitrato de celulose. D) Dispositivo pronto para aplicação; E) Montagem	136

	dos dispositivos e F) Encaixe dos dispositivos na régua de acrílico para amostragem.....	
Figura 4	Imersão dos Dispositivos DGT em solução sintética de MeHg para análise de especiação. A) Imersão dos DGT's; B) Proteção para evitar perda de MeHg por fotodegradação e C) Etapa de eluição dos discos de levedura em mesa agitadora por 24 h.....	138
Figura 5	A) Localização da Área de Estudo do Lago da Nascente do rio Tarumã-Açu (Google Earth); B) visão panorâmica do Ponto de Coleta e C) Local da Amostragem <i>in situ</i>	140
Figura 6	A) Imersão dos dispositivos DGT nos tempos de 24 e 120 h na amostra de água natural; B) Filtragem de 50 mL das amostras para avaliar a concentração de Hg dissolvido antes e depois da imersão dos DGT's.....	141
Figura 7	Massa acumulada em relação à concentração da solução de imersão versus tempo para a Técnica DMA. Solução contendo 25 ng mL ⁻¹ MeHg em 0,05 mol L ⁻¹ . Temperatura 23 °C. Imersões até 120 h (432000 s)	144
Figura 8	Massa acumulada em relação à concentração da solução de imersão versus tempo para a Técnica CV AFS. Solução contendo 0,1 ng mL ⁻¹ MeHg em 0,05 mol L ⁻¹ . Temperatura 23 °C. Imersões até 120 h (432000 s)	144
Figura 9	Efeito das diferentes forças iônicas testadas na capacidade de retenção de MeHg pela <i>S. cerevisiae</i> (MeHg 100 ng mL ⁻¹ , pH 5,5)	146
Figura 10	Efeito dos diferentes pH testados na capacidade de retenção de MeHg pela <i>S. cerevisiae</i> (MeHg 100 ng mL ⁻¹ , pH 5,5)	147
Figura 11	Efeito da interferência de metais na retenção de MeHg pelo ligante <i>S. cerevisiae</i>	148
Figura 12	A) BoxPlot DMA versus CV-AFS - 24h e 120h; B) BoxPlot DMA versus CV-AFS - 24h e 120h.....	152
Figura 13	Gráfico de densidade e Q-Q comparando cada técnica para cada período de tempo de execução. No lado esquerdo (AC), os resultados para período de execução de 24h e período de execução de 120h no lado direito (DB).....	154
Figura 14	Gráfico de densidade e Q-Q comparando no lado esquerdo (AC), os resultados para período de execução de 24h e 120h no lado direito (Queima Direta - DB versus Gel eluído - EG)	155
Figura 15	Curva de característica de operação do receptor (ROC) para o comparativo entre DMA e CV-AFS para 24h e 120h, em relação a concentração de MeHg.....	157

Figura 16	Curva de característica de operação do receptor (ROC) para comparativo entre queima direta e géis eluídos para o DMA (período de 24h e 120h), em relação a concentração de MeHg.....	157
------------------	--	------------

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1	Propriedades físico-químicas do mercúrio.....	34
Tabela 2	Classificação de compostos mercuriais.....	35

CAPÍTULO V

Tabela 1	Parâmetros de funcionamento do forno micro-ondas.....	102
Tabela 2	Parâmetros instrumentais (CV-AFS) para determinação de HgL.....	104
Tabela 3	Parâmetros de Análise do DMA-80.....	105
Tabela 4	Avaliação do sinal analítico para diferentes soluções padrão de Hg na ausência de matriz para o DMA.....	108
Tabela 5	Avaliação do sinal analítico para diferentes soluções padrão de Hg na presença de matriz para o DMA.....	109
Tabela 6	Avaliação do sinal analítico para diferentes soluções padrão de Hg na ausência de matriz para o CV-AFS.....	109
Tabela 7	Avaliação do sinal analítico para diferentes soluções padrão de Hg na presença da matriz para o CV-AFS.....	110
Tabela 8	Resultados obtidos para o Material de Referência Certificado – MRC.....	112
Tabela 9	Comparação dos resultados obtidos pelos dois analistas para o DMA.....	113
Tabela 10	Comparação dos resultados obtidos pelos dois analistas para o CV-AFS.....	113

CAPÍTULO VI

Tabela 1	Parâmetros instrumentais (DMA e CV-AFS) para determinação de HgT.	132
Tabela 2	Resultados das análises no DMA obtidos no teste de extração em fase sólida com o uso de discos de <i>S. cerevisiae</i> na retenção de MeHg.	143
Tabela 3	Recuperação (ng mL ⁻¹) dos analitos a partir de amostras sintéticas obtidos com o método proposto. S + P = Agente ligante <i>S. cerevisiae</i> + gel difusivo poliacrilamida; S + A = Agente ligante <i>S. cerevisiae</i> + gel difusivo agarose (n=6)	149
Tabela 4	Concentração in situ de MeHg (ng mL ⁻¹) determinada pelo método proposto, concentração de mercúrio total e dissolvido mensurada em amostras da nascente do rio Tarumã-Açu (TA).....	150
Tabela 5	Resultado do p-valor para o teste de Dixon para detecção de outliers.....	156

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO III

Quadro 1	Descrição dos processos de busca, seleção e inclusão dos trabalhos científicos na revisão sistemática (Estado da Arte Internacional)	59
Quadro 2	Estado da Arte Internacional na especiação de Hg.....	64

CAPÍTULO IV

Quadro 1	Análise dos resultados em destaque obtidos no Estado da Arte da Especiação Operacional/Regionalização (artigos, dissertações e teses) publicados nas bases de dados (Períodicos Capes, Oásis, Google Scholar, Web of Science, Science Direct, Scielo e Pubmed).....	85
-----------------	---	-----------

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS - Espectrometria de Absorção Atômica.

ANOVA – Análise de Variância.

AMA – 254 - Analisador Avançado de Mercúrio.

BrCl – Cloreto de Bromo.

Cd - Elemento Químico Cádmio.

CG-EM-EM - Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas.

(CH₃COO)₂Hg – Acetato de Mercúrio (II).

CH₃Hg – Metilmercúrio.

Cu – Elemento Químico Cobre.

CV-AFS - sigla em inglês “*Cold Vapour Atomic Absorption Spectroscopy*”, Espectrometria de Fluorescência com Geração de Vapor a Frio.

2D-PAGE – Eletroforese Bidimensional.

DESVPAD – Desvio-padrão.

DMA - sigla em inglês “*Direct Mercury Analyzer*”, Analisador Direto de Mercúrio.

DOM - Matéria Orgânica Dissolvida.

DGT - Difusão em Filmes Finos por Gradiente de Concentração.

DRX - Difração de Raios.

DSC - Calorimetria de Varredura Diferencial.

ESI-MS/MS - Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray.

ET-AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com atomização Eletrotérmica.

Fe - Elemento Químico Ferro.

FI-CV-AAS - Injeção em Fluxo com Geração de Vapor Frio acoplado a Espectrometria de Absorção Atômica.

FRX - Fluorescência de Raios X.

FT-IR - Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier.

GC-CV-AFS - Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Fluorescência Atômica com Vapor Frio.

GC-Py-AFS - Cromatografia gasosa acoplada à fluorescência atômica via reator pirolítico.

GF-AAS - Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite.

Hg – (do latim *Hydrargyrum*, que significa prata líquida) – símbolo do elemento químico mercúrio.

HgBr₂ – Brometo de Mercúrio.

HgCl₂ – Cloreto de Mercúrio.

Hgdiss - Mercúrio Dissolvido.

Hg(ClO₄)₂·xH₂O – Perclorato de Mercúrio (II).

Hg(CN)₂ – Cianeto de Mercúrio (II).

HgF₂ – Fluoreto de Mercúrio.

HgL – Mercúrio Lábil.

HgI₂ – Iodeto de Mercúrio.

Hg(NO₃)₂·H₂O – Nitrato Monohidratado de Mercúrio (II).

HgO – Óxido de Mercúrio (II).

Hg(SCN)₂ – Tiocianato de Mercúrio (II).

HgS - Sulfeto de Mercúrio.

HgSO₄ – Sulfato de Mercúrio (II).

HgT – Mercúrio Total.

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

ICP-EM - Espectrômetro Óptico de Emissão Atômica acoplado a Espectrometria de Massas.

ICP-OES - Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma acoplado indutivamente.

LD – Limite de Detecção.

LQ – Limite de Quantificação.

MMHg – Monometilmercúrio.

MRC – Material de Referência Certificado.

MeHg – Metilmercúrio.

Mn – Elemento Químico Manganês.

NaNO₃ – Nitrato de Sódio.

Pb - Elemento Químico Chumbo.

pH – Potencial Hidrogeniônico.

SDS-PAGE - Eletroforese Unidimensional.

SF-ICP-MS - Espectrometria de Massa com Setor Eletromagnético com Plasma Indutivamente Acoplado.

SPE – Extração em Fase Sólida.

SR-XRF - Fluorescência de Raios-X com Radiação Sincrotron.

SST – Sólidos Suspensos Totais.

TG/DTA - Termogravimetria/Análise Térmica Diferencial.

TIC - Tecnologia da Informação e Comunicação.

TTA-CAAS - Decomposição Térmica e Amalgamação juntamente com Absorção Atômica.

TXRF - Espectroscopia por Fluorescência de Raios X por Reflexão Total

Zn – Elemento Químico Zinco.

ÍNDICE

CAPÍTULO I	25
Introdução Geral, Hipóteses e Objetivos.....	25
CAPÍTULO I	26
1. INTRODUÇÃO GERAL	26
2. HIPÓTESES	28
3. OBJETIVOS	29
3.1 <i>Objetivo Geral</i>	29
3.2 <i>Objetivos Específicos</i>	29
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
CAPÍTULO II.....	32
Breve Histórico e Revisão Bibliográfica do Mercúrio	32
1. BREVE HISTÓRICO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DO MERCÚRIO	33
1.1 <i>Mercúrio</i>	33
1.1.1 <i>Fontes</i>	35
1.1.2 <i>Ciclo biogeoquímico do mercúrio</i>	37
1.2 <i>Características das Águas Amazônicas</i>	39
1.3 <i>Metilmercúrio</i>	40
1.3.1 <i>Bioacumulação e Biomagnificação</i>	41
1.3.2. <i>Toxicidade do Metilmercúrio</i>	41
2. TÉCNICA DE DIFUSÃO EM FILMES FINOS POR GRADIENTES DE CONCENTRAÇÃO (DGT).....	42
2.1 <i>Especiação metilmercúrio pela DGT no Brasil</i>	44
2.2 <i>Espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio (CV-AFS)</i>	45
2.3 <i>Analizador Direto de Mercúrio</i>	47
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
CAPÍTULO III	56
Revisão Sistemática da Literatura e Estado da Arte sobre o Ciclo Biogeoquímico do mercúrio e suas propriedades físico-químicas, especiação química e técnicas de amostragem e instrumentais de análise de mercúrio	56
CAPÍTULO III	57
1. REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA.....	57
1.1 <i>Estado da Arte Internacional</i>	60
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
Capítulo IV.....	71
Revisão sistemática da literatura com análise bibliométrica sobre Especiação Operacional de Mercúrio na Amazônia: Um breve estudo de Regionalização	71

CAPÍTULO IV	73
1. INTRODUÇÃO	73
2. ESPECIAÇÃO OPERACIONAL	74
2.1 <i>Metodologia Científica Aplicada</i>	74
2.2 <i>Estado da Arte Regional</i>	75
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
3.1 <i>Análise Comparativa das Bases de Dados</i>	76
3.2 <i>Técnicas analíticas para a determinação das espécies de Hg</i>	88
4. CONCLUSÕES	90
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
Capítulo V	96
Determinação de Mercúrio Lábil em amostras de Sólidos Totais Suspensos em Águas Naturais por Análise Direta por Decomposição Térmica comparando via Espectrometria de Fluorescência Atômica de Vapor Frio	96
CAPÍTULO V	98
1. INTRODUÇÃO	98
2. EXPERIMENTAL	100
2.1 <i>Reagentes e Soluções</i>	100
2.2 <i>Amostras</i>	101
2.3 <i>Filtragem das amostras de água para obtenção dos sólidos em suspensão totais</i>	101
2.4 <i>Digestão das amostras por Micro-ondas</i>	102
2.5 <i>Determinação de Hg Lábil por CV-AFS</i>	103
2.6 <i>Determinação de Hg lábil por analisador de combustão DMA</i>	104
3. PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO	105
3.1 <i>Seletividade</i>	105
3.2 <i>Linearidade</i>	106
3.3 <i>Precisão (repetitividade)</i>	106
3.4 <i>Precisão intermediária</i>	106
3.5 <i>Limite detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)</i>	106
3.6 <i>Exatidão (Tendência/Recuperação)</i>	107
3.7 <i>Robustez e Outliers</i>	107
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	107
4.1 <i>Parâmetros de Validação</i>	108
4.1.1 <i>Seletividade</i>	108
4.1.2 <i>Linearidade</i>	111
4.1.3 <i>Precisão (repetitividade)</i>	112
4.1.4 <i>Precisão intermediária</i>	112

4.1.5 Limite detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)	114
4.1.6 Exatidão (Tendência/Recuperação)	114
4.1.7 Robustez e outliers	114
5. CONCLUSÕES	122
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	123
CAPÍTULO VI	127
Otimização de método para determinação de metilmercúrio por Análise Direta usando a técnica de Difusão em Filmes Finos (DGT) em água preta amazônica	127
.....	127
CAPÍTULO VI	129
1. INTRODUÇÃO	129
2. EXPERIMENTAL	131
2.1 Equipamentos e Materiais	131
2.2 Reagentes e soluções	132
2.3 Filtros de membrana, géis difusivos e de ligação.....	133
2.3.1 Filtro de membrana.....	133
2.3.2 Gel difusivo.....	133
2.3.3 Preparação de discos de gel de ligação de agarose e levedura	134
2.4 Montagem de dispositivos DGT	135
2.5 Curvas de Imersão para cálculos do fator de eluição e coeficiente de difusão	136
2.5.1 Preparo da solução estoque de MeHg 25 ng mL ⁻¹	136
2.5.2 Coeficiente de difusão	137
2.6 Efeito da Força iônica na retenção do MeHg	138
2.7 Efeito do pH na retenção do MeHg.....	138
2.8 Efeito de Interferentes na retenção de MeHg	139
2.9 Seletividade do Ligante <i>S. cerevisiae</i> MeHg e Hg (II)	139
2.10 Determinação de MeHg no Lago de águas pretas da nascente do rio Tarumã-Açu	139
2.11 Tratamento estatístico de dados	141
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	142
3.1 Otimização dos parâmetros de técnicas instrumentais para determinação de MeHg.....	142
3.2 Testes de retenção de MeHg com solução sintética e fator de eluição	142
3.3 Curvas de Imersão e Coeficientes de difusão	143
3.4 Efeito da força iônica na retenção do MeHg	145
3.5 Efeito do pH na retenção do MeHg.....	146
3.6 Efeito da interferência de metais	147
3.7 Seletividade do Ligante <i>S. cerevisiae</i> MeHg.....	148
3.8 Determinação de MeHg em Lago de águas Pretas	150

4. CONCLUSÕES	159
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	160
CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE.....	167
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	169
Apêndice 1	170
Apêndice 2	171
Apêndice 3	172
Apêndice 4	173

CAPÍTULO I

Introdução Geral, Hipóteses e Objetivos



Trecho do Igarapé Tarumã-Açu Mirim localizado na Praia Dourada Marinho, Manaus-AM. Fonte: Próprio Autor, 2020

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

A relevância do estudo da concentração de metais em ambientes aquáticos, em especial das diferentes espécies de mercúrio (Hg), reside no fato de que a maioria destas espécies se associa a substâncias húmicas ou mesmo ao material orgânico em suspensão e de origem mineral e que sofrem diversas transformações químicas que geram biomagnificação dessas substâncias na biota aquática (VIEIRA *et al.*, 2018; GOMES *et al.*, 2019; HANSSON *et al.*, 2019).

O interesse pelo estudo da distribuição de Hg no ambiente, principalmente no que se refere ao seu ciclo biogeoquímico, se justifica por diversos fatores, como as elevadas concentrações, bem como a permanência das suas espécies no ambiente aquático. Sendo encontradas comumente em tecido de peixes, que são consumidos com bastante frequência pela população ribeirinha amazônica (KASPER *et al.*, 2017).

A Amazônia possui uma extensa malha hidrográfica que apresentam em sua maioria, águas escuras com baixos valores de pH e bastante propícias a permanência de espécies de mercúrio, favorecendo assim, a metilação na formação de metilmercúrio, que juntamente com o lançamento de efluentes industriais e de mineração podem gerar problemas de maior impacto ambiental podendo causar comprometimento em longo prazo dos cursos de água e biodiversidade (MENEGÁRIO *et al.*, 2017).

Neste sentido para se prevenir e minimizar possíveis transtornos relacionados aos efeitos deletérios do mercúrio, se faz necessário o gerenciamento de efluentes que contém mercúrio evitando as condições oxidantes em presença de água. A identificação de distribuição característica e predominante das espécies de mercúrio no ambiente aquático, podem auxiliar na avaliação de possíveis fontes de contaminação. O método instrumental existente mais utilizado para determinação de Hg é baseado na técnica de geração de vapor a frio acoplada com espectrometria de fluorescência atômica (CV-AFS) (KASPER *et al.*, 2015).

Outras técnicas analíticas hifenadas também são usualmente empregadas e fornecem altos níveis de detectabilidade da leitura dos eluídos, com a Espectrometria de Massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-MS). Para que se avancem nas pesquisas com mercúrio (Hg) se faz necessário o aperfeiçoamento de metodologias que permitam quantificar as espécies tóxicas desse metal, em tempo relativamente curto, com baixo teor de interferentes e boa reprodutibilidade (XU *et al.*, 2017; MENEGÁRIO *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2019).

Uma das técnicas que vem se destacando nos últimos anos, Análise Direta de Mercúrio (ADM) ou “Direct Mercury Analyzer” (DMA), sigla em inglês, cuja qual permite a análise de amostras sólidas, líquidas e gasosas. O tempo de análise é de apenas 5 minutos e nenhuma preparação de amostra é

necessária. A técnica é baseada nos princípios de decomposição térmica da amostra, amalgamação de mercúrio e detecção por absorção atômica. Sendo também muito prática, fácil de usar (JEDRUCH *et al.*, 2018; RESENDE *et al.*, 2018, WANG *et al.*, 2019, CHENURRI *et al.*, 2020).

O DMA produz resultados independentes da matriz. O instrumento é calibrado usando padrões aquosos e então analisa amostras sólidas orgânicas e inorgânicas. Também não sofre virtualmente nenhum efeito de memória. Esta maior estabilidade do sinal melhora a reprodutibilidade e a confiabilidade da análise, mesmo em baixas concentrações. A calibração do instrumento dura meses de operação e os resultados são estáveis ao longo do tempo (JEDRUCH *et al.*, 2018; RESENDE *et al.*, 2018, WANG *et al.*, 2019, CHENURRI *et al.*, 2020).

Por outro lado, a técnica de Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Vapor Frio (CV-AFS, sigla em inglês “*Cold Vapour Atomic Absorption Spectroscopy*”) permite a determinação dos níveis de ultratraços de mercúrio total em amostras ambientais preparadas em laboratório (água, biota, solo, sedimentos, cartuchos de gás, efluentes e muito mais). Ela oferece sensibilidade e flexibilidade incomparáveis para aqueles que requerem uma análise de mercúrio total verdadeiramente sensível. Este método é capaz de medir águas e sólidos digeridos com limites de detecção mais de 10 vezes menores do que o necessário. Em síntese o DMA é mais verde, em termos de geração de resíduos, do que o CV-AFS, mais rápido e oferece melhores resultados (BUTCHER *et al.*, 2016; SINGER *et al.*, 2016, NOH *et al.*, 2019, WANG *et al.*, 2019).

Kasper *et al.* (2015) destacaram em suas pesquisas que o ciclo do mercúrio na região amazônica enfrenta dois problemas importantes: a complexa logística de campo; e concentrações naturais que podem ser muito baixas. Também existe uma grande dificuldade em acessar certos ambientes de coleta muitas vezes impossibilitando a realização de procedimentos analíticos *in situ*. Dependendo da espécie química que se deseja avaliar, as amostras podem ter um curto prazo de validade. Portanto, devem ser rapidamente transportadas para o local de análise.

Bisinoti *et al.* (2007) destacaram que no Brasil, a região amazônica é a área mais estudada por apresentar altos valores de HgT e, em alguns casos são encontrados, valores superiores à $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ permitidos pela legislação ambiental (CONAMA 357/2005) para ambientes de classe II, como os rios amazônicos. No entanto, ainda não foram confirmados quais são os parâmetros limnológicos que influenciam mais fortemente na dinâmica do mercúrio e se esta influência varia ao longo do ano (BRASIL, 2005).

Conforme Tafurt-Cardona *et al.* (2015), a análise de especiação de mercúrio em um ecossistema aquático pode ser um problema, devido aos níveis muito baixos, requerendo o uso de técnicas altamente sensíveis, como a técnica de Difusão em Filmes Finos por Gradiente de Concentração (DGT) utilizada

para uma melhor compreensão da labilidade/biodisponibilidade que ocorre em ambientes aquáticos. Possuindo uma grande vantagem de realizar amostragens *in situ*, evitando que a natureza e a distribuição das espécies de metal presentes na água não sofram alterações, como ocorre em técnicas comuns de amostragem e armazenamento (ZHANG and DAVISON, 1995; CLARISSE *et al.*, 2009; CLARISSE *et al.*, 2012; COLAÇO *et al.*, 2014; PELCOVÁ *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2016; MENEGÁRIO *et al.*, 2017).

Porém, esta técnica apresenta algumas limitações durante sua aplicação, dentre elas, a interferência de valores altos e baixos de pH, inviabilizando a aplicação desta técnica em águas com elevadas ou baixas condutividades elétricas (HANSSON *et al.*, 2019).

2. HIPÓTESES

O presente estudo teve como hipóteses centrais os seguintes questionamentos: Será que é possível aprimorar as técnicas analíticas clássicas e instrumentais para quantificação das espécies de mercúrio de tal modo que seja possível a determinação de níveis traços de concentração? Em pH e condutividade elétrica baixos? Além da possibilidade de eliminação de uma das etapas do processo de análise que reduziria o risco de perda ou contaminação utilizando a técnica de Análise Direta de Mercúrio? Será possível promover a redução de custo, tempo e geração de resíduos? Será possível determinar a concentração de mercúrio presente em sólidos suspensos totais na água de rio? É possível adaptar a técnica padrão para determinação da concentração de sólidos suspensos totais para análise do teor de Hg lábil? Será possível o aprimoramento metodológico na especiação de mercúrio, enfatizando principalmente o estudo dos fatores (pH, força iônica e teor de interferentes) que influenciam na capacidade de retenção de metilmercúrio pela técnica de Difusão em Filmes Finos por Gradiente de Concentração (DGT)?

As áreas de estudos consideradas para este trabalho foram:

- Rio Negro, por este rio ser responsável pelo abastecimento público da cidade de Manaus e, portanto, motivo de preocupação devido às cargas poluidoras que recebe em seu trajeto, principalmente esgotos domésticos e industriais oriundos da própria cidade.
- O lago de águas pretas localizado no Parque Ecológico *EcoForest Adventure* em propriedade particular localizada no Km 923 da BR 174 – AM. Esta área foi escolhida por apresentar atividade antrópica e ser um ambiente de banabilidade e de recreação, além de possuir uma barragem devido a construção de uma ponte de acesso da rodovia que podem gerar algum impacto ambiental.

A presente Tese de Doutorado foi organizada na forma de Capítulos redigidos conforme as normas ABNT, 2020. Consistindo em uma Introdução Geral e Objetivos, Estado da Arte e Revisão Bibliográfica, Resultados e Discussão (em formato de artigos).

3. OBJETIVOS

3.1 *Objetivo Geral*

- ✓ Validar dois métodos alternativos para determinação de Hg lábil e total em sólidos suspensos totais (SST) e para a determinação de MeHg pela técnica de DGT em ambiente de águas pretas amazônicas utilizando o estudo comparativo de duas técnicas analíticas: Espectrometria de Fluorescência Atômica de Vapor Frio (CV-AFS) e Análise Direta de Mercúrio (DMA).

3.2 *Objetivos Específicos*

1. Realizar uma revisão sistemática da literatura e demonstrar o atual Estado da Arte a nível Regional, Nacional e Internacional sobre as técnicas empregadas para análise de mercúrio e especiação na Amazônia, destacando as fontes de origem natural e os impactos ambientais gerados pela ação antrópica;
2. Investigar a influência dos sólidos em suspensão no rio Negro como fontes potenciais de depósito de Hg lábil por meio do processo de otimização da técnica convencional;
3. Validar dois métodos analíticos diferentes com sedimento certificado de referência internacional (CNS301- “*Trace Elements on Fresh Water Sediment*” (Sigma Aldrich/USA)) para determinação de Hg lábil em SST;
4. Analisar os seguintes parâmetros de desempenho: Seletividade (Efeito de Matriz); Linearidade; Sensibilidade (Faixa de trabalho e Faixa linear); Exatidão (Comparação de Método; Tendência/Recuperação); Precisão (repetitividade); limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) e Robustez (Índice de Youden) e Outliers (Teste de Dixon e BoxPlot), conforme especificado pelo (INMETRO, 2020);
5. Analisar a influência do pH, força iônica e teor de interferentes sob a concentração de MeHg pelo uso da técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) em ambiente de águas pretas amazônico (nascente do Rio Tarumã-Açu – AM).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

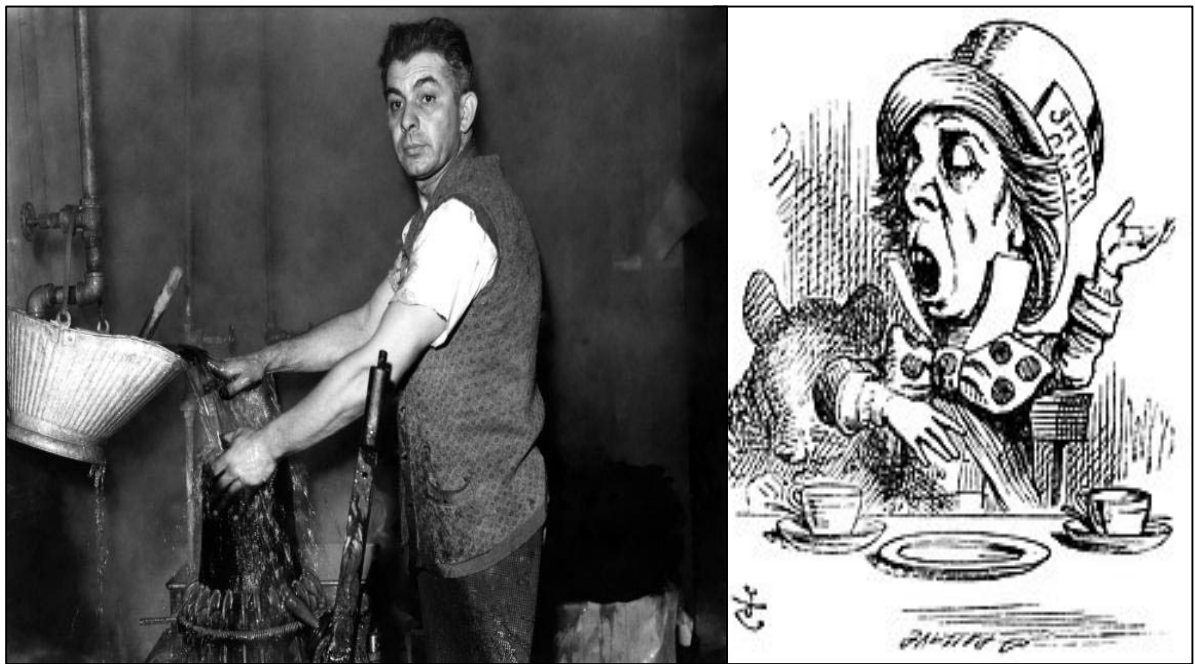
BISINOTI, M. C.; SARGENTINI Jr. E. and JARDIM, W. F. 2007. “Seasonal Behavior of Mercury

- Species in Waters and Sediments from the Negro River Basin, Amazon, Brazil.” *Journal of the Brazilian Chemical Society* 18 (3): 544–53. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000300008>.
- BRASIL. 2005. “Resolução Conama N° 357, De 17 De Março De 2005* (Retificada).” *Conselho Nacional Do Meio Ambiente*, no. 204.
- CLARISSE, O.; LOTUFO, G. R.; HINTELMANN, H. and BEST, E. P.H.. 2012. “Biomonitoring and Assessment of Monomethylmercury Exposure in Aqueous Systems Using the DGT Technique.” *Science of the Total Environment* 416: 449–54. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.11.077>.
- CLARISSE, O.; FOUCHER, D. and HINTELMANN, H. 2009. “Methylmercury Speciation in the Dissolved Phase of a Stratified Lake Using the Diffusive Gradient in Thin Film Technique.” *Environmental Pollution* 157 (3): 987–93. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.10.012>.
- COLAÇO, C. D.; YABUKI, L. N. M.; ROLISOLA, A. M.; MENEGÁRIO, A. A.; ALMEIDA, E.; SUÁREZ, C. A.; GAO, Y.; CORNS, W. T. AND NASCIMENTO FILHO, V. F. 2014. “Determination of Mercury in River Water by Diffusive Gradients in Thin Films Using P81 Membrane as Binding Layer.” *Talanta* 129: 417–21. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.05.025>.
- GOMES, V. M; SANTOS, A.; ZARA, L. F.; RAMOS, D. D.; FORTI, J. C.; RAMOS, D. D. AND SANTOS, F. A. 2019. “Study on Mercury Methylation in the Amazonian Rivers in Flooded Areas for Hydroelectric Use.” *WATER AIR AND SOIL POLLUTION* 230 (9). <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4261-3>.
- HANSSON, S. V.; HØYE, T. T.; BACH, L.; MIELEC, C.; MOSBECH, A. AND SØNDERGAARD, J. 2019. “Spiders as Biomonitors of Metal Pollution at Arctic Mine Sites: The Case of the Black Angel Pb-Zn-Mine, Maarmorilik, West Greenland.” *Ecological Indicators* 106: 105489. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105489>.
- KASPER, D.; FORSBERG, B. R.; ALMEIDA, R.; BASTOS, W. R. AND MALM, O. 2015. “Metodologias de Coleta, Preservação e Armazenamento de Amostras de Água Para Análise de Mercúrio - Uma Revisão.” *Química Nova* 38 (3): 410–18. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150020>.
- KASPER, D.; FORSBERG, B. R.; AMARAL, J. H. F.; PY-DANIEL, S. S.; BASTOS, W. R. and MALM, O. 2017. “Methylmercury Modulation in Amazon Rivers Linked to Basin Characteristics and Seasonal Flood-Pulse.” *Environmental Science and Technology* 51 (24): 14182–91. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04374>.
- LI, P.; PAN, Y.; FANG, Y.; DU, M.; PEI, F.; SHEN, F.; XU, B. and HU, Q. 2019. “Concentrations and Health Risks of Inorganic Arsenic and Methylmercury in Shellfish from Typical Coastal Cities in

- China: A Simultaneous Analytical Method Study.” *Food Chemistry* 278: 587–92. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.085>.
- MENEGÁRIO, A. A.; YABUKI, L. N. M.; LUKO, K. S.; WILLIAMS, P. N. and BLACKBURN, D. M. 2017. “Use of Diffusive Gradient in Thin Films for in Situ Measurements: A Review on the Progress in Chemical Fractionation, Speciation and Bioavailability of Metals in Waters.” *Analytica Chimica Acta* 983: 54–66. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.06.041>.
- PELCOVÁ, P.; DOČEKALOVÁ, H. and KLECKEROVÁ, A. 2014. “Development of the Diffusive Gradient in Thin Films Technique for the Measurement of Labile Mercury Species in Waters.” *Analytica Chimica Acta* 819: 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.02.013>.
- TAFURT-CARDONA, M.; EISMANN, C. E.; SUÁREZ, C. A.; MENEGÁRIO, A. A.; LUKO, K. S. and SARGENTINI Jr, E. 2015. “In Situ Selective Determination of Methylmercury in River Water by Diffusive Gradient in Thin Films Technique (DGT) Using Baker’s Yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*) Immobilized in Agarose Gel as Binding Phase.” *Analytica Chimica Acta* 887: 38–44. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.07.035>.
- VIEIRA, MIGUEL.; BERNARDI, J. V. E.; DÓREA, J. G.; ROCHA, B. C. P.; RIBEIRO, R. and ZARA, L. F. 2018. “Distribution and Availability of Mercury and Methylmercury in Different Waters from the Rio Madeira Basin, Amazon.” *Environmental Pollution* 235 (April): 771–79. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.020>.
- WANG, Y.; DING, S.; GONG, M.; XU, S.; XU, W. and ZHANG, C. 2016. “Diffusion Characteristics of Agarose Hydrogel Used in Diffusive Gradients in Thin Films for Measurements of Cations and Anions.” *Analytica Chimica Acta* 945 (November): 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.10.003>.
- XU, P.; ZHANG, B.; ZENG, X.; XU, Y.; LUO, G. and YAO, H. 2017. “Influence of Hg Occurrence in Coal on Accuracy of Hg Direct Measurement Based on Thermal Decomposition.” *International Journal of Coal Geology* 170: 14–18. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coal.2016.08.023>.
- YABUKI, L. N. M.; MENEGÁRIO, AMAURI A.; GEMEINER, H.; ROSINOLA, A. M.; GASTMANS, D.; WILLIAMS, P. N. Residual biomass of coffee as a binding agent in diffusive gradients in thin-films technique for Cd, Cu, Ni, Pb and Zn measurement in waters. *TALANTA*, v. 205, p. 120148, 2019.
- ZHANG, H. and DAVISON, W. 1995. “Performance Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution.” *Analytical Chemistry* 67 (19): 3391–3400. <https://doi.org/10.1021/ac00115a005>.

CAPÍTULO II

Breve Histórico e Revisão Bibliográfica do Mercúrio



A imagem acima destaca um homem que trabalhava na fabricação de chapéus sem nenhum equipamento de proteção, o que o colocava em risco de envenenamento por mercúrio, método este muito popular no século XIX. A doença do Chapeleiro Maluco ou Síndrome do Chapeleiro Maluco (personagem de Lewis Carroll, em *Alice no País das Maravilhas*), é um distúrbio neurológico que afeta todo o sistema nervoso central, bem como um complexo de sintomas, derivado de envenenamento por mercúrio, conhecido como Eretismo. A Síndrome está associada aos chapeleiros do século XIX devido a etapa de curtimento do couro dos chapéus em que eles utilizavam vapor de mercúrio metálico para atender aos requisitos da elegância.

CAPÍTULO II

1. BREVE HISTÓRICO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DO MERCÚRIO

1.1 Mercúrio

O mercúrio apresenta coloração prateada, e sua abreviatura “Hg” vem do latim *Hydrargyrum* (prata líquida). É considerado um dos elementos mais tóxicos presentes no ambiente em nível mundial (UNEP, 2013). Desde a antiguidade, egípcios, chineses, fenícios e gregos já o utilizavam para a extração do ouro. Tumbas egípcias datadas de 1500 a.C. continham o cinábrio, principal minério do qual se extrai o mercúrio, cuja composição é de Sulfeto de Mercúrio (II) – HgS. Por desconhecerem as características deletérias inerentes ao mercúrio, vários povos da antiguidade o usaram como remédio para diversos males, como doenças dos olhos, ouvidos, pulmões e intestinos. Na China Antiga, vários imperadores morreram vítimas do mercúrio, pois bebiam o metal acreditando que o mercúrio prolongava a vida. Na Roma Antiga, o mercúrio era usado como cosmético e unguento medicinal para problemas de pele (AZEVEDO, 2003).

Na idade média, as naturezas física e química do Hg ainda eram desconhecidas e misteriosas. Antonie Lavoisier foi o primeiro a reconhecer o mercúrio como elemento químico, no final do século XVIII. O hidrargirismo ou mercurialismo (intoxicação crônica por Hg), datada como uma das mais antigas doenças profissionais conhecidas, foi descrito por Pope em 1665, embora Paracelso já o tivesse mencionado em 1567 (AZEVEDO, 2003). Ramazzini também relatou a condição dos mineiros de Hg, e depois de um século foram apontados os problemas de saúde de trabalhadores nas indústrias de chapéu de feltro. Em 1865, C. L. Dogson (conhecido pelo pseudônimo Lewis Carroll) escreveu “*As aventuras de Alice no País das Maravilhas*”, em que o caráter do chapeleiro maluco é um bom exemplo da intoxicação de mercúrio (MAILMAN, 1980).

Encontra-se de forma natural, em baixas concentrações e com variadas propriedades químicas e físicas distribuído por toda a crosta terrestre. Presente em pelo menos 25 minerais, mas a única forma economicamente explorada é o cinábrio que ocorre em depósitos em áreas com atividade vulcânica recente, em veios e fraturas minerais, e próximo a fontes de águas termais conforme rocha do mineral representada na Figura 1 (AZEVEDO, 2003).

Figura 1. Rocha do mineral Cinábrio encontrada no Estado de Lara (San Jacinto) Venezuela.



Fonte: Acervo Pessoal, Próprio Autor, 2019.

O mercúrio está presente na forma inorgânica em águas superficiais e subterrâneas em concentrações inferiores a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ (OMS,1993). Na Tabela 1 são apresentadas algumas de suas propriedades físicas e químicas.

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do mercúrio.

PROPRIEDADES	CARACTERÍSTICAS
Cor/ Forma	Branca prata, líquido a temperatura ambiente e a 0°C
Odor	Inodoro
Densidade	$13\,579 \text{ g cm}^3 (25^{\circ}\text{C})$
Ponto de Fusão	$-38, 87^{\circ}\text{C} (234 \text{ K})$
Ponto de Ebulição	$356, 72^{\circ}\text{C} (630 \text{ K})$
Pressão de Vapor (25°C)	$2 \times 10^{-3} \text{ mmHg}$
Solubilidade em Água	Insolúvel em água e em HCl diluído, HBr, HI, H_2SO_4 diluído, solúvel em HNO_3
Solubilidade em Solventes Orgânicos	Solúvel em H_2SO_4 , lipídicos

Fonte: Adaptado de AZEVEDO, 2003.

O mercúrio pode existir em três estados de oxidação: O mercúrio metálico ou elementar (Hg^0) possui baixa solubilidade em água, altamente volátil a temperatura ambiente e, sendo uma das espécies predominantes na atmosfera devido sua estabilidade, pode ser transportado por longas distâncias. As duas formas oxidadas, o íon mercurioso ($\text{Hg}(\text{I})$), o qual consiste no cátion divalente (Hg_2^{2+}), é instável nos diferentes ambientes e oxida rapidamente ao íon mercúrio (Hg^{2+}).

Fatores como o pH, força iônica, potencial redox, concentrações de matéria orgânica dissolvida, oxigênio dissolvido, sulfatos e sólidos suspensos, são importantes porque controlam a especiação do

mercúrio em solução e contribuem para diferenciar ou tipificar o mercúrio no ambiente (GABRIEL e WILLIAMSON, 2004).

Em 2000, a União Internacional de Química Pura e Aplicada (“*International Union of Pure and Applied Chemistry*” - IUPAC), recomendou a seguinte definição: “Especiação é o termo geralmente utilizado para representar a distribuição de um elemento entre as espécies químicas definidas num sistema” (TEMPLETON *et al.*, 2000).

As diferentes formas de um elemento químico e suas combinações são conhecidas como "espécies". As principais espécies de mercúrio são o mercúrio elementar (Hg^0), e as formas inorgânicas (Hg^{2+}) e orgânicas (MeHg) (AZEVEDO, 2003). A Tabela 2 apresenta uma classificação dos compostos mercuriais, proposta por Lindqvist e colaboradores (1984).

Tabela 2. Classificação de compostos mercuriais.

CLASSIFICAÇÃO	COMPOSTO
Voláteis	(Hg^0) ; $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$
Espécies Reativas Particuladas Solúveis em Água	Hg^{2+} , HgX^{3-} , HgX_4^{2-} (em que $\text{X} = \text{OH}^-$, Cl^- , Br^-), HgO em partículas aerossóis e complexos de Hg^{2+} com ácidos orgânicos
Espécies não Reativas	MeHg , CH_3HgCl , CH_3HgOH e outros organomercuriais, $\text{Hg}(\text{CN})_2$, HS e Hg^{2+} ligado ao enxofre em fragmentos de matéria húmica.

Fonte: AZEVEDO, 2003.

1.1.1 Fontes

O mercúrio é gerado no ambiente por processos naturais e antrópicos. As emissões naturais na atualidade são menores em comparação com as emissões antrópicas; em todo o mundo estima-se que durante o último século as emissões antrópicas triplicaram as concentrações de Hg na atmosfera e na superfície do oceano (MANSON *et al.*, 1994).

As fontes naturais incluem atividade geotérmica, a evaporação das superfícies de terra e água, degradação de minerais, intemperismo natural de rochas, erupções vulcânicas e incêndios florestais, sendo responsáveis por cerca de 10 % da estimativa de 5.500 - 8.900 ton de Hg atualmente a ser emitidos e re-emitidos para a atmosfera a partir de todas as fontes (UNEP, 2013).

Atualmente investigações mais detalhadas das emissões de Hg na interface água/atmosfera sobre a bacia do rio Negro mostram que as emissões de mercúrio pelo processo de difusão na interface água/atmosfera são da ordem de 60 vezes inferior à quantidade de Hg que se deposita na bacia por via úmida atmosférica (ZARA *et al.* 2017).

A indústria de cloro-álcali foi a mais citada para as possíveis fontes emissoras de Hg, e a atividade que sobressaiu foi a que faz uso de produtos químicos e libera Hg para o meio ambiente, tanto na forma gasosa como por efluentes e resíduos dessa atividade (REGIER *et al.*, 2013; POLECHOŃSKA & SAMECKA-CYMERMAN, 2016; TURULL *et al.*, 2017).

A mineração foi a segunda fonte emissora mais citada, porém ela é considerada mundialmente uma das grandes liberadoras de Hg para o ambiente (LACERDA *et al.*, 1991; OLIVERO & SOLANO, 1998; YANG *et al.*, 2002; MISHRA *et al.*, 2008; MARRUGO-NEGRETE *et al.*, 2010; NÚÑEZ *et al.*, 2011; LOMINCHAR *et al.*, 2019).

Na última década a mineração artesanal de ouro nos países em desenvolvimento teve um crescimento (TOMIYASU *et al.*, 2013; OLIVERO-VERBEL *et al.*, 2015). Segundo reportado por Oliveira (2021) em estudos realizados na Colômbia a mineração foi tida como a principal fonte emissora do Hg e em 75% dos estudos realizados na Espanha também relataram a mesma fonte.

Segundo Wang *et al.* (2014), as diferentes formas de uso e ocupação do solo podem determinar quais substâncias são carregadas para os ambientes aquáticos como vestígios de metais. As atividades antrópicas sobre solo contribuem para o aumento de metais tóxicos no meio ambiente. No estudo de Oliveira (2021), 87,38% das fontes emissoras de Hg estavam relacionadas às atividades antrópicas.

O mercúrio pode ser encontrado em concentrações variáveis, em quase todos os ambientes geológicos. É encontrado em vários tipos de rochas, com mais frequência em calcário, arenito, serpentina, andesita, basalto, riolita, feldspato alcalino e quartzo e principalmente associado ao cinábrio como sulfeto de mercúrio.

Existem os chamados cinturões geoquímicos de mercúrio, os quais na sua capa superior as concentrações de mercúrio excedem significativamente os valores médios. Em algumas partes dos cinturões, a acumulação de grandes quantidades de mercúrio levou à formação de depósitos exploráveis (UNEP, 2013).

No inventário de emissões globais antrópicas de mercúrio, realizado pela UNEP (2013), estima-se que em 2010, aproximadamente 1.960 ton das emissões, foram geradas pelas atividades humanas, representando cerca de 30% da quantidade de HgT na atmosfera anualmente. Baseando-se nas avaliadas de emissões globais, as emissões para águas e solos no Brasil são estimadas em cerca de 50% das emissões atmosféricas. Calcula-se também que o total de Hg emitido para o meio ambiente atinja cerca de 100 ton anuais, tendo diminuído significativamente nas últimas duas décadas (MMA, 2011).

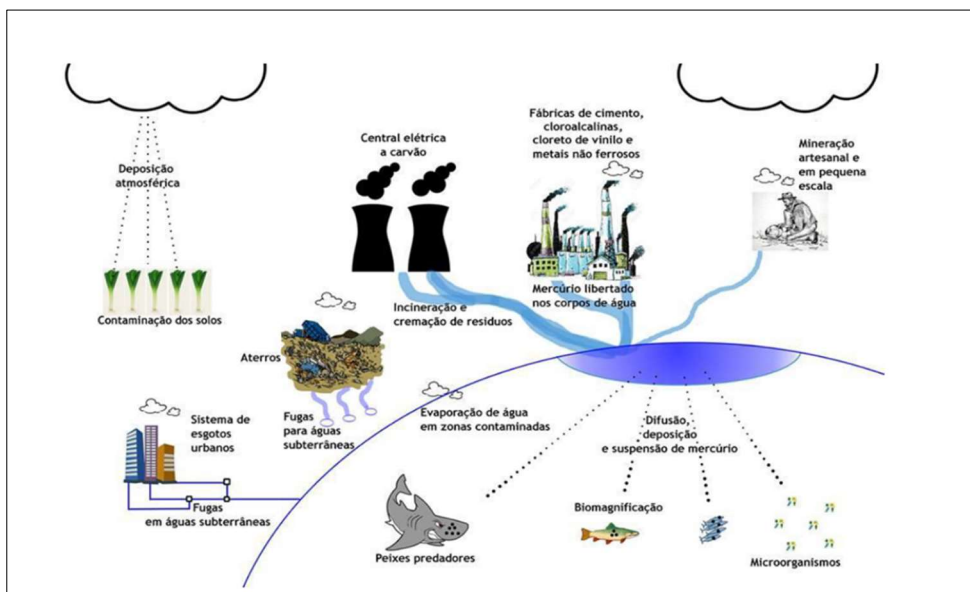
As principais fontes de emissão ocorrem através da queima de carvão, mineração, fundição e produção de ferro e metais não ferrosos, produção de cimento, mineração artesanal de pequena escala de ouro, resíduos de produtos de consumo em geral (baterias, tintas, interruptores elétricos e dispositivos eletrônicos, termômetros, medidores de pressão arterial, lâmpadas fluorescentes, pesticidas, fungicidas, medicamentos, cosméticos, amálgama dentária), na indústria do cloro e álcalis, onde a tecnologia de células de mercúrio pode ser utilizada na produção de cloro e de soda cáustica. Novas fontes não incluídas nos inventários passados são as emissões provenientes da produção e emissão de alumínio primário, queima de gás natural e refino de petróleo (UNEP, 2013).

1.1.2 Ciclo biogeoquímico do mercúrio

O ciclo biogeoquímico de mercúrio é caracterizado pelas várias rotas que este elemento pode seguir no ambiente. De modo geral destaca-se sua liberação do solo e da água para atmosfera, seu transporte está seguido da deposição atmosférica na água e no solo. Quando em contato com o solo ou sedimento, pode ocorrer sorção do mercúrio na forma insolúvel seguida de metilação/desmetilação, reiteração deste na atmosfera ou bioacumulação na cadeia alimentar aquática (BISINOTI *et al.*, 2004).

Como mencionado anteriormente o mercúrio participa de uma série de processos complexos em diferentes compartimentos ambientais (água, ar, solo e biota). Dependendo dos componentes do ambiente, o mercúrio desenvolve uma série de transformações químicas, existindo assim, diferentes espécies químicas com diferentes propriedades (BISINOTI *et al.*, 2004). A Figura 2 ilustra os diferentes ambientes onde ocorre o ciclo biogeoquímico do mercúrio.

Figura 2. Ciclo Biogeoquímico de Mercúrio no ambiente.



Fonte: Adaptado de Associação Bandeira Azul da Europa©2015.

Segundo Mason *et al.* (1994) e Morel *et al.* (1998), o mercúrio emitido naturalmente para a atmosfera se apresenta, principalmente, na forma de vapor de Hg^0 insolúvel em Água e com baixa reatividade, o qual é retido na atmosfera e transportado através de grandes distâncias. Na presença de ozônio é oxidado e precipitado em uma fração significativa de mercúrio reativo (Hg^{2+}), sendo mais solúvel em água, podendo ser reemitido para a atmosfera como Hg^0 .

O oceano recebe cerca de 90% de Hg através da deposição atmosférica úmida e seca. Quando oxidado, cerca de 60% do mercúrio total é depositado no solo e 40% na água. Uma vez na água, o mercúrio reativo pode formar grande quantidade de complexos e de quelatos com material orgânico, partículas em suspensão, carbono orgânico dissolvido e também, pode ter ligações covalentes com o carbono e formar compostos chamados organomercuriais (em especial as formas MeHg e DMeHg), além de apresentar uma forte sorção pelo material húmico (AZEVEDO, 2003).

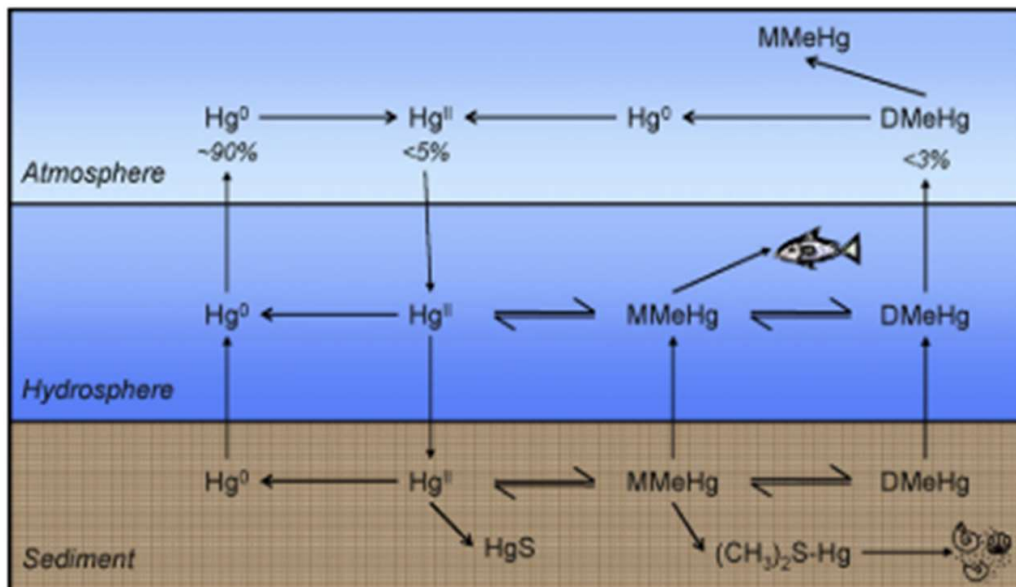
Estudos realizados por Gabriel e Williamson (2004) mostraram que a adsorção do mercúrio pela matéria húmica aumenta com o pH baixo e que a razão para isso poderia ser devido a uma grande concorrência de outros elementos competindo com o Hg, o que influenciaria nessa adsorção. Segundo Bisinoti, (2004), a quantidade de Hg^{2+} diminui quando é fixado à matéria orgânica, sobretudo ao material húmico.

No fundo dos oceanos é depositado na forma insolúvel sulfeto de mercúrio (HgS), o que dificulta o processo de metilação com períodos de retenção mais longos (UNEP, 2005). Desta forma a liberação gradual do mercúrio pode se estender por períodos mais longos com possíveis lançamentos para a superfície das águas.

Dependendo das condições ambientais como pH e condutividade (aumentando a solubilidade, mobilidade e disponibilidade do mercúrio) e a presença do complexo íon mercúrio (II)-ácido húmico ($\text{Hg}^{2+}\text{-AH}$) no solo, aumenta ou diminui a metilação do mercúrio (WASSERMAN, 2002 apud BISINOTI *et al.*, 2004). Por outro lado, o mercúrio oxidado (Hg^+) pode complexar também com outros íons presentes, como o cloreto, e formar cloreto de mercúrio (II) (HgCl_2), que depositará na água e no solo, podendo formar MeHg, ou se volatilizará e retornará para a atmosfera, na forma de mercúrio metálico, MeHg ou dimetilmercúrio.

Mais do que 85% do estoque total de mercúrio na biota de águas doces está na forma de MeHg, no entanto, nas águas este valor raramente ultrapassa 10 % e, em sedimentos, varia de 0,1 a 1,5 % do estoque total (BISINOTI *et al.*, 2004). Devido à sua baixa concentração no ambiente, o estudo deste composto é de grande importância pelos efeitos adversos que causa à saúde do homem. A Figura 3 ilustra as principais reações que podem ocorrer no ciclo do Hg no sedimento, água e atmosfera, com grande influência da ação de bactérias e da luz solar.

Figura 3. Principais interações das espécies químicas do ciclo do Hg nos diferentes compartimentos ambientais.



Fonte: (LEOPOLD, FOULKES & WORSFOLD, 2010.)

1.2 Características das Águas Amazônicas

As águas dos rios são o produto de interações físicas e químicas ocorridas durante o processo de infiltração e escoamento nessas áreas. Na região amazônica, as relações entre a química dos sistemas fluviais e a geologia de suas áreas de influência são nítidas. De acordo com Oliveira et al. (2001) na região amazônica reconhecem-se três tipos de águas, segundo características visuais como cor e transparência: brancas, claras e pretas.

As águas pretas, encontradas no Rio Negro e na maioria dos seus afluentes, apresenta coloração escura, com uma transparência de 1,30 a 2,30 m. São águas na sua grande maioria ácidas, com valores de pH entre 3,8 e 4,9. A elevada acidez deve-se à presença de grandes quantidades de substâncias orgânicas dissolvidas, tal como ácidos húmicos e fúlvicos, provenientes da drenagem de solos arenosos cobertos por vegetação conhecida como campinarana ou caatingas amazônicas.

A importância de estudos mais detalhados acerca do ciclo de mercúrio em ambientes de águas pretas ou escuras, tais como o rio Negro e demais tributários se deve ao fato dos mesmos possuírem características que permitem a permanência das espécies de mercúrio na água, principalmente a formação da espécie orgânica, o metilmercúrio ($MeHg$).

Devido à alta quantidade de matéria orgânica dissolvida nessa água, os agentes orgânicos complexantes solúveis em água, tais como humatos e fulvatos, que podem quelar as espécies solúveis e

insolúveis na água (BRITO, 2015). A decomposição de matéria orgânica consome oxigênio dissolvido, o que resulta em condições hipóxicas ou anóxicas na coluna d'água e altas concentrações de carbono orgânico dissolvido (TUNDISI e TUNDISI, 2008).

O déficit de oxigênio favorece a metilação do mercúrio e, conseqüentemente, a absorção deste pela biota. Entender a entrada do mercúrio no meio aquático, e sua metilação, oferece suporte para discussões sobre sua bioacumulação pela biota aquática. A comunidade planctônica desempenha papel chave nos processos de bioconcentração e biomagnificação do mercúrio. O fitoplâncton se contamina através da adsorção e absorção de espécies de mercúrio dissolvidas na água (FISHER e HOOK, 2002).

1.3 Metilmercúrio

As condições propícias à metilação (*e. g.*, anoxia e alta atividade microbiana), associadas à grande lixiviação das margens recentemente inundadas, que mobilizam mercúrio e matéria orgânica dos solos inundados, fazem com que a biota dos reservatórios tenha um aumento nas concentrações de mercúrio logo após o seu enchimento. Em geral, após alguns anos estas concentrações tendem a diminuir, podendo retornar aos níveis naturais (KASPER, 2014).

A produção e bioacumulação de metilmercúrio (MeHg) não dependem somente da abundância de mercúrio inorgânico no meio aquático, mas também de um conjunto complexo de fatores, tais como: o pH, força iônica, potencial redox, concentrações de matéria orgânica dissolvida, oxigênio dissolvido, sulfatos e sólidos suspensos, são importantes porque controlam a especiação do mercúrio em solução e contribuem para diferenciar ou tipificar o mercúrio no ambiente (GABRIEL e WILLIAMSON, 2004).

Este ciclo é caracterizado por várias rotas que este composto pode seguir no ambiente. Dentre elas, destaca-se a sua liberação do solo e da água para atmosfera, seu transporte nesta seguido da deposição atmosférica das espécies de mercúrio para a água e solo.

Quando em contato com solo ou sedimento, pode ocorrer sorção do mercúrio na forma insolúvel seguida de metilação/demetilação. O ciclo é completado pelas rotas de precipitação, bioconversão em formas voláteis ou solúveis, reintegração deste na atmosfera ou bioacumulação na cadeia alimentar aquática ou terrestre.

Estudos em rios temperados demonstraram que os parâmetros limnológicos são importantes controladores do transporte e da metilação do mercúrio (BALOGH *et al.*, 2004; BRIGHAM *et al.*, 2009; BRADLEY *et al.*, 2011). Segundo Kasper *et al.* (2017) na região amazônica, ainda não foram confirmados quais são os parâmetros limnológicos que influenciam mais fortemente na dinâmica do mercúrio e se esta influência varia ao longo do ano.

1.3.1 Bioacumulação e Biomagnificação

O mercúrio orgânico, uma vez metilado, é rapidamente incorporado pela biota e por apresentar um longo tempo de residência em organismos, aumenta sua concentração ao longo do tempo de exposição (bioacumulação) e, conseqüentemente, se incorpora a cadeia trófica. Cerca de 90% do Hg presente nos organismos de nível trófico elevado encontra-se sob forma de MeHg.

O MeHg é a forma mais tóxica do mercúrio, o que lhe confere uma alta biodisponibilidade no ambiente, sendo armazenado e reciclado por longos períodos antes de ser removidos por processos naturais, tornando-se um risco à saúde dos seres vivos.

Aparentemente, quase 100 % do Hg é bioacumulado em peixes predadores na forma de MeHg, a maior parte deste se encontra nos tecidos dos peixes formando ligações covalentes com os grupos sulfidrilo das proteínas, resultando em uma vida média de eliminação longa (cerca de dois anos) (UNEP, 2013). Desta maneira, se gera um enriquecimento seletivo de MeHg, quando se passa de um nível trófico inferior a um superior.

Segundo Almeida *et al.* (2009) com base em dados da literatura sobre a distribuição de Hg em solos, águas, sedimentos, biota e os seres humanos que vivem na Bacia Amazônica, mostraram evidências de que a exposição humana à contaminação por Hg não está diretamente relacionada com a emissão de Hg para uma área específica, mas sim com os processos biogeoquímicos complexos ao nível do ecossistema controlando a mobilidade Hg e sua biodisponibilidade.

1.3.2. Toxicidade do Metilmercúrio

O ciclo biogeoquímico do Hg teve grande importância nas últimas décadas após surgirem vários acidentes com diferentes espécies químicas do mercúrio nos mais distintos ambientes. Estas espécies diferem grandemente nas suas propriedades bio-físico-químicas tais como toxicidade, solubilidade, e taxa de bioacumulação pelos organismos.

O principal caminho para a exposição humana é o consumo de peixe contaminado e outros frutos do mar, onde o mercúrio orgânico na sua forma MeHg, é acumulado na biota aquática e biomagnificado na cadeia alimentar (UNEP, 2013).

Devido à sua afinidade com aminoácidos, nos mamíferos, o MeHg acumula-se preferencialmente no sistema nervoso central e sua alta toxicidade em humanos, leva à disfunção neural, distúrbios visuais como escotomas (visão turva) e redução do campo visual, ataxia (baixa coordenação para andar), parestesia (insensibilidade na pele), neurestenia (dor nos nervos), perda da audição, disartria

(dificuldade na articulação das palavras), deterioração mental, tremor muscular, distúrbio da motilidade e, nos casos de exposição grave, paralisia e morte.

Verificou-se que certas regiões do cérebro são particularmente sensíveis aos efeitos tóxicos do MeHg, a saber, o córtex cerebral (especialmente o córtex visual) e a camada granulosa do cerebelo, causando mais danos ao desenvolvimento de embriões, os quais são cinco a dez vezes mais sensíveis que os adultos (EPA, 1997 apud BISINOTTI, 2004).

Quando assimilado, 95 % da dose oral é absorvido pelo intestino para a corrente sanguínea, necessitando cerca de 70 dias para que 50 % da dose ingerida seja excretada. Desta forma, ocorre uma acumulação de MeHg, no organismo ao longo do tempo, mesmo com frequências relativamente baixas de exposição (MMA, 2012).

O caso de contaminação por compostos orgânicos de Hg que mais repercutiu, ocorreu no Japão na baía de Minamata em 1953. A indústria responsável por esse desastre foi a Shisso Fertilizer Co Ltd., que produzia o MeHg como um subproduto do processo de produção do acetaldeído. Estes resíduos eram despejados na Baía de Minamata, contaminando a biota aquática local. Os danos causados a população de Minamata pela ingestão de alimento contaminado por MeHg eram distúrbios neurológicos caracterizados pela paralização de membros, entorpecimento de dedos lábios e língua, sendo denominada doença de Minamata (SILVA *et al.* 2017).

Outro episódio trágico que também alertou a comunidade científica quanto aos perigos da toxicidade dos compostos orgânicos de Hg, foi o caso ocorrido em 1997 da morte de uma pesquisadora americana, Karen Wetterhahn da Universidade de Dalmouthn que morreu alguns meses depois que uma gota de dimetilmercúrio atravessou sua luva látex (BAIRD e CANN, 2012).

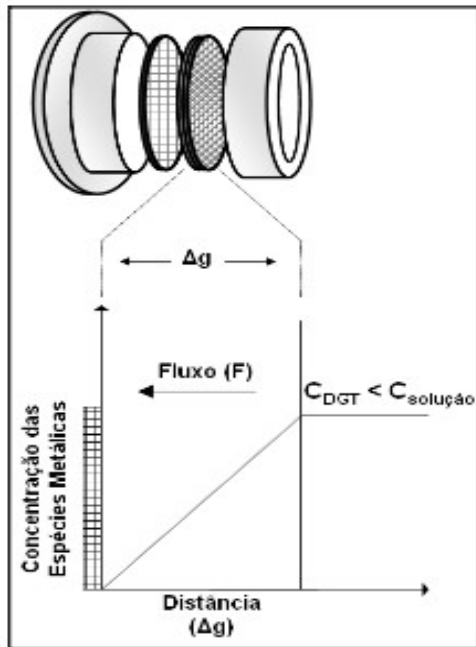
Levando-se em consideração o alto risco de contaminação e efeitos deletérios irreversíveis e letais pela exposição ao MeHg e outras espécies orgânicas, se faz necessário que os analistas tomem cuidados especiais durante o manuseio dos compostos orgânicos de Hg, recomenda-se o uso de luvas nitrílicas, pois estas são impermeáveis a forma metilada do Hg.

2. TÉCNICA DE DIFUSÃO EM FILMES FINOS POR GRADIENTES DE CONCENTRAÇÃO (DGT)

A técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração desenvolvida por Davison e Zhang (1995) está fundamentada na 1ª Lei de Fick, na qual um fluxo F de íons metálicos da solução ou da amostra se difunde através do gel de agarose ou poliacrilamida em direção ao material ligante,

formando um gradiente de concentração. Na Figura 4 se ilustra graficamente a difusão molecular do analito.

Figura 4. Esquema demonstrativo de funcionamento do DGT.



Fonte: Adaptado de ZHANG e DAVISON (1995).

O fluxo de íons metálicos (F) através do gel pode ser determinado de acordo com a Equação 1.

$$F = D (C_b - C) / \Delta g \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo: D = coeficiente de difusão do íon no interior do gel difusivo C_b = concentração da solução; C = concentração do analito livre na interface com o material ligante e Δg = espessura do gel por onde há difusão do íon.

Se considerarmos que o equilíbrio entre os íons da solução/amostra e o material ligante é alcançado rapidamente e, se a ligação entre eles for intensa não ocorrendo saturação da fase ligante, a concentração C' tenderá a zero e a Equação 1 poderá ser escrita da seguinte forma, conforme a Equação 2:

$$F = DC_b / \Delta g \quad (\text{Equação 2})$$

O fluxo dos analitos pode ser calculado também por equação de fluxo $F = M.(At)^{-1}$, onde M é a massa do analito, A é a área da janela do dispositivo e t o tempo de imersão dos dispositivos. Podemos combinar esta fórmula com a (Equação 2), expressando-se assim a massa M do analito em estudo como, na Equação 3:

$$M = DC_b t A / \Delta g \quad (\text{Equação 3})$$

A determinação da massa M é possível depois do processo de eluição, seguido do análise para determinar a concentração C_e do íon na solução eluída. Considerando o volume do ácido usado na eluição V_e , o volume do disco V_r e o fator de eluição f_e . A massa M do analito retida no dispositivo DGT é obtida conforme a Equação 4 (ZHANG; DAVISON, 1995):

$$M = C_e \cdot (V_e + V_r) \cdot f_e^{-1} \quad (\text{Equação 4})$$

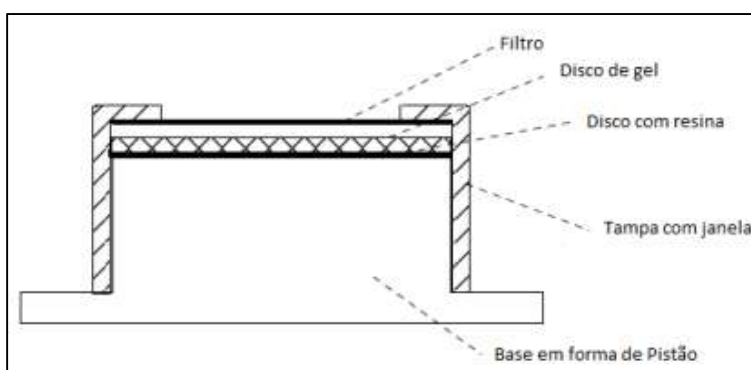
Determinada a massa M num tempo de imersão determinado (t), podemos calcular a concentração C_b do analito na solução/amostra através da Equação 5.

$$C_b = M \Delta g / D t A \quad (\text{Equação 5})$$

O dispositivo DGT convencional consiste basicamente em 3 camadas, um ligante, a resina Chelex-100 imobilizada em um gel de poliacrilamida-agarose e, sobre esta, uma camada permeável ou difusível, com porosidade controlada, um gel de agarose e, por cima deste, um filtrante de nitrato ou acetato de celulose para proteger as camadas de gel de material particulado.

As duas camadas são fixadas a um pistão de polipropileno com um anel contendo uma abertura central de 20 mm de diâmetro, onde ocorre à difusão dos analitos da solução para a camada mais interna, o agente ligante (ZHANG e DAVISON, 1995). A Figura 5 ilustra a disposição das camadas que conformam o dispositivo DGT.

Figura 5. Esquema de um dispositivo DGT.



Fonte: Adaptado de ZHANG e DAVISON, 1995.

2.1 Especificação metilmercúrio pela DGT no Brasil

Considerando que o uso da *S. cerevisiae* imobilizada em agarose pode ser estendido para a determinação de outros metais, particularmente, para especificação do MeHg. Tafurt-Cardona *et al.* (2015)

utilizaram a levedura *S. cerevisiae* imobilizada em gel de agarose como fase de ligação e poliacrilamida como camada difusiva no gel difusivo pelo uso da técnica (DGT) para determinação seletiva de metilmercúrio (MeHg). A abordagem proposta foi empregada com sucesso para medições *in situ* no rio Negro (Manaus-AM, Brasil), classificado como ambiente de águas pretas amazônicas. Os testes de implantação mostraram boa linearidade na absorção de massa até 48 h (3276 ng).

Tafurt-Cardona *et al.* (2015) ao acoplar a técnica DGT à espectrometria de fluorescência atômica a vapor frio, o método tem um limite de detecção de $0,44 \text{ ng L}^{-1}$ (fator de pré-concentração de 11 para implantação em 48 h). Coeficiente de difusão de $7,03 \pm 0,77 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a 23°C em gel de poliacrilamida ($\text{pH} = 5,5$ e força iônica = $0,05 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$). Foram avaliadas a influência da força iônica (de $0,0005 \text{ mol L}^{-1}$ a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl) e do pH (de 3,5 a 8,5) na captação de MeHg. Para esse intervalo, recuperações de 84-105% e 84-98% foram obtidas para força iônica e pH, respectivamente.

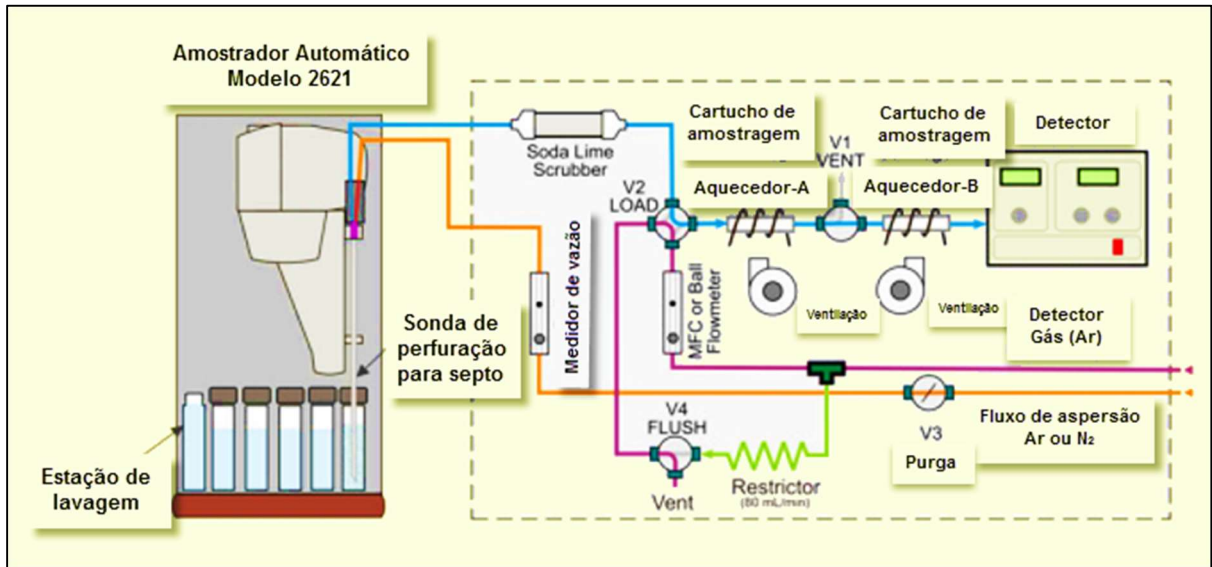
A potencial interferência devido à presença de Cu, Fe, Mn, Zn também foi avaliada, mostrando boas recuperações (70-87%). A seletividade da abordagem proposta foi testada por implantações em soluções contendo MeHg e Hg (II). Os resultados obtidos mostraram recuperações de 102-115% para MeHg, enquanto a captação de Hg (II) foi insignificante (TAFURT-CARDONA *et al.* 2015).

2.2 Espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio (CV-AFS)

A técnica de Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Vapor Frio, apresenta baixa interferência de matriz, baixos custos de operação, além de oferecer recursos analíticos interessantes, tais como baixo limite de detecção (abaixo de 1 ng L^{-1}) e ampla faixa de calibração linear (de ng L^{-1} a mg L^{-1}), é considerado um dos detectores mais sensíveis para a determinação de mercúrio no ambiente, comparável à detecção com o ICP-EM e Espectroscopia por Fluorescência de Raios X por Reflexão Total – TXRF (*Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectroscopy*) (BLOOM, 1989; SANCHEZ *et al.*, 2010).

Na CV-AFS, o íon mercúrico contido numa solução da amostra é reduzido a mercúrio elementar a partir de um agente redutor adequado (cloreto de estanho (II) em meio ácido, assim, é posteriormente carregado por uma corrente de gás (Ar), borbulhada através da solução, para a célula de absorção; ou seja, o vapor formado pela reação já é o próprio vapor atômico, que é introduzido no feixe óptico, onde os átomos de mercúrio podem ser excitados por uma fonte apropriada, por exemplo, uma lâmpada de descarga de mercúrio, onde ocorre ressonância de emissão e absorção através da geração de vapor frio (Tekran, 2020). A Figura 6 apresenta o arranjo óptico esquemático para a medida de mercúrio e a Figura 7- AB apresenta o modelo CV-AFS do Equipamento Tekran® 2600 (A); modelo 10.045 Millennium Merlin Cold Vapor AAS System (B).

Figura 6. Diagrama esquemático do sistema AFS para análise de mercúrio do sistema TEKTRAN® 2600.



Fonte: Adaptado de EPA 1631 E, 2002.

Figura 7. Equipamentos CV-AFS: **A)** modelo Tekran® 2600; **B)** modelo 10.045 Millennium Merlin Cold Vapor AAS System – P. S. Analytical.



Fonte: A) Laboratório de Química Analítica e Ambiental – INPA; B) Centro de Estudos Ambientais – CEA/UNESP – Rio Claro -SP. Próprio Autor, 2018.

A técnica de fluorescência atômica oferece grandes vantagens em termos de linearidade e níveis de detecção, o que tem melhorado em função da qualidade das lâmpadas empregadas como fontes da excitação (TAKASE *et al.*, 2002).

A geração química de vapor, além da separação do analito da matriz, eficiência de introdução da amostra, aumento da seletividade pela redução de interferentes, obtenção de baixos limites de detecção, pode ser acoplada a diferentes técnicas, sendo elas: a espectrometria de absorção atômica (AAS), ICP-OES, ICP-MS (SUVARAPU & BAEK, 2017).

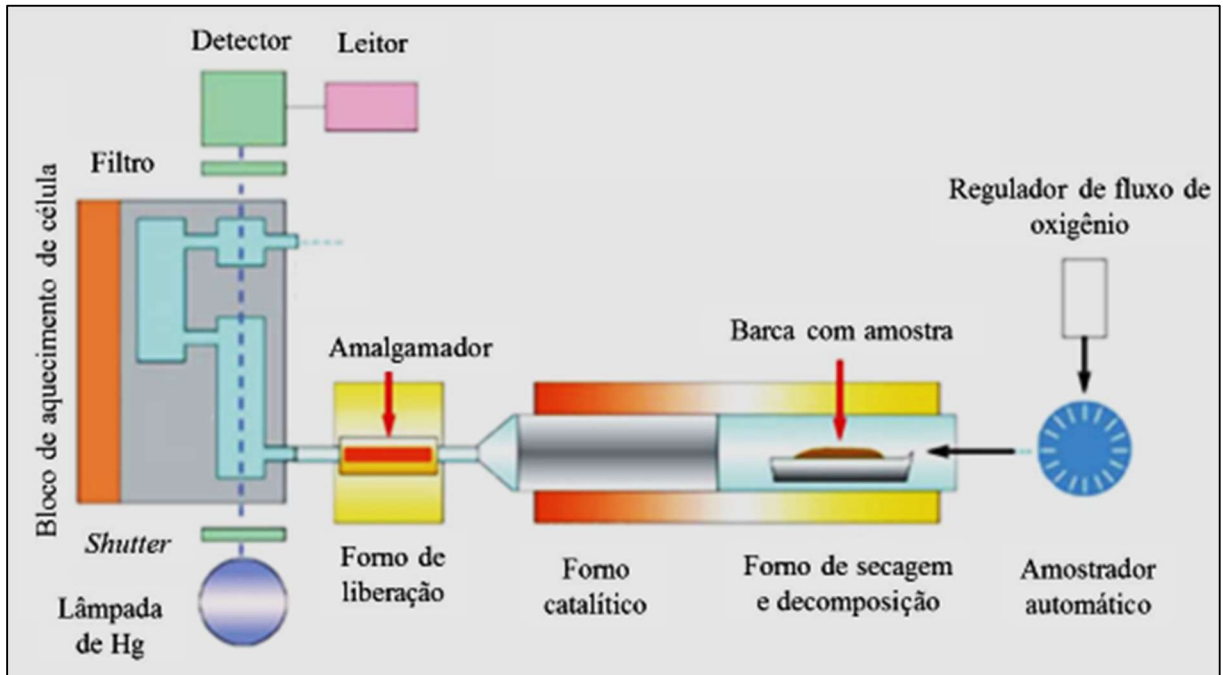
Vários estudos de especiação de mercúrio pela AFS envolvem o acoplamento de cromatografia líquida ou gasosa (STOICHEV *et al.*, 2004 e TSENG *et al.*, 2004) sendo mais dispendioso, por precisar de métodos de pré-concentração para atingir baixos limites de detecção (YU *et al.*, 2005; SUVARAPU & BAEK, 2017).

A técnica AFS apresenta também limitações, como espalhamento, supressão da fluorescência e emissão de fundo, que dependem dos níveis de impurezas das amostras (TAKASE *et al.*, 2002). Além disto, grandes volumes de solução, o estado de oxidação do analito, a forma do composto assim como o pH da solução e a concentração dos reagentes podem ser críticos. A cinética da reação e liberação dos vapores pode ser afetada por fatores físicos da solução, particularmente o mercúrio que é sensível a reações de troca, que pode causar perdas e contaminação (SUVARAPU & BAEK, 2017).

2.3 Analisador Direto de Mercúrio

Torrezani (2016) destaca que a técnica via análise direta de mercúrio consiste em um método de decomposição térmica, amalgamação e espectrometria de absorção atômica. A amostra é seca e decomposta térmica e quimicamente no forno. Os produtos de decomposição são carreados por um fluxo de oxigênio até a seção catalítica do forno, onde a oxidação é completada e compostos como halogênios e óxidos de nitrogênio e enxofre são aprisionados. Os produtos de decomposição remanescentes são levados ao amalgamador que aprisiona seletivamente o mercúrio. Ele esquenta rapidamente, liberando vapor de mercúrio. O fluxo de oxigênio leva esse vapor para células de absorbância posicionadas no caminho óptico de um espectrômetro de absorção atômica de comprimento de onda único (Figura 8). A absorbância (altura de pico ou área de pico) é medida a 253,7 nm em função da concentração de mercúrio (US EPA, 1998).

Figura 8. Esquema do processamento de amostra no DMA-80.



Fonte: Adaptado de (MILLESTONE, 2020).

O DMA-80 (Figura 9) em sua nova versão integrou perfeitamente uma ampla gama de aplicações e indústrias, sendo utilizado para a determinação de mercúrio em aplicações ambientais, como testes de solo, águas residuais, sedimentos e resíduos e na indústria de alimentos, onde o teste de peixes é a principal aplicação (MILLESTONE, 2020).

Figura 9. Modelo do Analisador de Mercúrio por Combustão (DMA-80 Milestone®).



Fonte: Laboratório de Análises Minerais – LAMIN, Serviço Geológico do Brasil – CPRM, Manaus – AM. Próprio Autor, 2020.

É um sistema de análise direta de escolha em muitos laboratórios em todo o mundo. O sistema permite ao operador analisar em praticamente qualquer matriz da amostra - líquidos, sólidos e gases - sem a necessidade de qualquer preparação de amostras. Isso não só economiza seu tempo de laboratório, mas pode resultar em economias substanciais de custos - até 70% quando comparado à técnica de CVAA.

Este trabalho tem como principal objetivo otimizar técnicas para determinação das espécies de Hg lábil, HgT e MeHg em ambientes de águas pretas amazônicas.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANA - Agência Nacional de águas. 2011. Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidas. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA.

ABAE - Associação Bandeira Azul da Europa®2015. Organização de Utilidade Pública reconhecida através do despacho nº 9364/2009 publicado em D. R. de 30 de março. Powered by Atelier 35.

ARCHER, E., PETRIE, B.I., KASPRZYK-HORDERN, B., & WOLFAARDT, G.M. 2017. The fate of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), endocrine disrupting contaminants (EDCs),

metabolites and illicit drugs in a WWTW and environmental waters. *Chemosphere*, 174, 437-446.

ALMEIDA, M. D.; MARINS, R. V.; PARAQUETTI, H. H.; BASTOS, W. R. LACERDA, L. D. Mercury degassing from forested and open field soils in Rondônia, Western Amazon, Brazil. *Chemosphere*. 2009;77(1):60-66. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.05.018

AZEVEDO, F. A. de. 2003. Toxicologia do Mercúrio. São Carlos: RIMA. São Paulo: InterTox. 292 p.

BALOGH, S.J.; NOLLET, Y.H.; SWAIN, E.B. 2004. Redox chemistry in Minnesota streams during episodes of increase methylmercury discharge. *Environmental Science & Technology*, 38: 4921-4927.

BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. O. 2004. Comportamento do Metilmercúrio (MeHg) no Ambiente. *Química Nova*, São Paulo, 27, N.4, P. 593-600.

BLOOM, N. 1989. Determination of picogram levels of mercury by aqueous phase ethylation, followed by cryogenic gas chromatography with cold vapor atomic fluorescence 68 detection. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Montreal, 46, p. 1131- 1140.

BRADLEY, P. M.; BURNS, D. A.; MURRAY, K. R.; BRIGHAM, M. E.; BUTTON, D. T.; CHASAR, L.C.; MARVIN-DIPASQUALE, M.; LOWERY, M. A.; JOURNEY, C. A. 2011. Spatial and seasonal variability of dissolved methylmercury in two stream basins in the eastern United States. *Environmental Science & Technology*, 45: 2048-2055.

BRIGHAM, M. E.; WENTZ, D. A.; AIKEN, G. R.; KRABBENHOFT, D. P. 2009. Mercury cycling in stream ecosystems. 1. Water column chemistry and transport. *Environmental Science & Technology*, 43: 2720-2725.

BRITO, B. C. 2015. Dinâmica Espaço-Temporal do Mercúrio na água e no plâncton de um lago de várzea da Bacia do rio Solimões, Amazonas - Brasil (Dissertação de Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior), INPA, Manaus, 56 p.

EPA 1630 (U.S. Environmental Protection Agency, Method 1630). 2001. Methyl mercury in water by distillation, aqueous ethylation, purge and trap, and CVAFS. Washington.

EPA 1631 (U.S. Environmental Protection Agency). 2002. Method 1631, revision E: mercury in water by oxidation, purge and trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry. Engineering and Analysis Division, Washington.

FISHER, N. S; HOOK, S. E. 2002. Toxicology tests with aquatic animals need to consider the trophic transfer of metals. *Toxicology*, 181:531–536.

GABRIEL M. AND WILLIAMSON, D. 2004. Principal biogeochemical factors affecting the speciation and transport of mercury through the terrestrial environment. *Environmental Geochemistry and Health*, Dordrecht, 26, p. 421–434.

KASPER, D. 2014. Dinâmica sazonal do metilmercúrio em ecossistemas fluviais amazônicos. (Tese de Doutorado em Ecologia), INPA, Manaus-AM. 106 p.

KIM, MOON-KYUNG; WON, A-YOUNG AND ZOH, KYUNG-DUK. 2017. “Effects of Molecular Size Fraction of DOM on Photodegradation of Aqueous Methylmercury.” *Chemosphere*, 174: 739–46. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.033>.

LACERDA, L. D.; MALM, O. 2008. Contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos brasileiros: uma análise das áreas críticas. *Estudos Avançados USP-São Paulo*, 22, P. 173-190.

LACERDA L. D., PFEIFFER, W. C., MARINS, R. V., RODRIGUES, S., SOUZA, C. M. M. & BASTOS, W. R. 1991. Mercury dispersal in water, sediments and aquatic biota of a gold mining tailing deposit drainage in pocone, Brazil. *Water, Air, and Soil Pollution*, 55(3–4): 283–294.

LEOPOLD, K., FOULKES, M., & WORSFOLD, P. 2010. Methods for the determination and speciation of mercury in natural waters--a review. *Analytica chimica acta*, 663(2), 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.01.048>.

LI, YAN; XIU-PING, Y.; LI-MING; D.; SHAN-WEI, W.; JIANG, YA.; DONG-QING, J. 2005. Development of an ambient temperature post-column oxidation system for high-performance liquid chromatography on-line coupled with cold vapor atomic fluorescence spectrometry for mercury speciation in seafood. *J. Anal. At. Spectrom.*, 20, 467-472.

LOMINCHAR, M. A., SIERRA, M. J., JIMÉNEZ-MORENO, M., GUIRADO, M., MARTÍN-DOIMEADIOS, R. C. R. & MILLÁN, R., 2019. Mercury species accumulation and distribution in *Typha domingensis* under real field conditions (Almadén, Spain). *Environmental Science and Pollution Research*, 26(4): 3138–3144.

MAILMAN, R. B. Heavy metals In: GUTHRIE, F. E.; PERRY, J. J. (Eds). Introduction to environmental toxicology. New York: Oxford, Elsevier, North Holland. Inc., 1980. P. 37-39.

- MARRUGO-NEGRETE, J., BENITEZ, L. N., OLIVERO-VERBEL, J., LANS, E. & GUTIERREZ, F. V. 2010. Spatial and seasonal mercury distribution in the Ayapel Marsh, Mojana region, Colombia. *International Journal of Environmental Health Research*, 20(6): 451–459.
- MASON, R. P.; FITZGERALD, W. F.; MOREL, F. M. 1994. The biogeochemical cycling of elemental mercury — anthropogenic influences. *Geochimical Cosmochim Acta*, Kidlington, 58, p. 3191-3198.
- MMA - MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. 2011. Secretaria de Mudanças Climáticas e Qualidade Ambiental – SMCQ. Perfil do Gerenciamento de Mercúrio no Brasil, incluindo seus Resíduos. Brasília.
- MILESTONE. 2020. Disponível em: <https://www.milestonesrl.com/products/mercury-determination/dma-80-evo>. Acesso em 22 de Abril de 2020.
- MISHRA, V. K., UPADHYAY, A. R., PANDEY, S. K. & TRIPATHI, B. D., 2008. Concentrations of heavy metals and aquatic macrophytes of Govind Ballabh Pant Sagar an anthropogenic lake affected by coal mining effluent. *Environmental Monitoring and Assessment*, 141(1–3): 49–58.
- MOREL, F.; KRAEPIEL, A.; AMYOT, M. 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Annual Review of Ecology and Systematics*, Palo Alto, 29, p. 543-566.
- NÚÑEZ, S. R., NEGRETE, J. L. M., RIOS, J. E. A., HADAD, H. R. & MAINE, M. A., 2011. Hg, Cu, Pb, Cd, and Zn accumulation in macrophytes growing in tropical wetlands. *Water, Air, and Soil Pollution*, 216(1–4): 361–373.
- OLIVEIRA, A. de; DALY, D. C.; VARELLA, D. ALMEIDA, H. de. 2001. Florestas do Rio Negro. São Paulo: Companhia das Letras, UNIP, 339 p.
- OLIVEIRA, S. F. B. Acumulação de Mercúrio (Hg) por Macrófitas Aquáticas: Revisão Sistemática e Estudo na Estação Ecológica de Águas Emendadas, Distrito Federal. Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais – Universidade de Brasília – DF, 2021. 65 p.
- OLIVERO, J. & SOLANO, B. 1998. Mercury in environmental samples from a waterbody contaminated by gold mining in Colombia, South America. *Science of the Total Environment*, 217(1–2): 83–89.
- OLIVERO-VERBEL, J., CABALLERO-GALLARDO, K. & TURIZO-TAPIA, A. 2015. Mercury in the gold mining district of San Martin de Loba, South of Bolivar (Colombia). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(8): 5895–5907.

POLECHOŃSKA, L. & SAMECKA-CYMERMAN, A. 2016. Bioaccumulation of macro- and trace elements by European frogbit (*Hydrocharis morsus-ranae* L.) in relation to environmental pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(4): 3469–3480.

REGIER N., LARRAS F., BRAVO, A. G., UNGUREANU, V. G., AMOUROUX, D. & COSIO, C. 2013. Mercury bioaccumulation in the aquatic plant *Elodea nuttallii* in the field and in microcosm: Accumulation in shoots from the water might involve copper transporters. *Chemosphere*, 90(2): 595–602.

Resolução do CONAMA nº 357/2005 - "dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências."- data da legislação: 17/03/2005 - publicação dou: 18/03/2005. <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>. Acessado em: 14 de Maio de 2016 às 19h 50min.

SÁNCHEZ-RODAS, N., D.A.; CORNS, W. T.; CHEN, B.; STOCKWELL, P. B. 2010. "Atomic fluorescence spectrometry: a suitable detection technique in speciation studies for arsenic, selenium, antimony and mercury". *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. Vol. 25, p. 933-946. ISSN 1364-5544

SILVA, R. R. da; BRANCO, J. C.; THOMAZ, S. M. T. & CESAR, A. 2017. Convenção de Minamata: análise dos impactos socioambientais de uma solução em longo prazo. *Saúde em Debate*, 41(spe2), 50-62. <https://doi.org/10.1590/0103-11042017s205>.

STOICHEV, T.; RODRIGUEZ, M. D.; TESSIER, E.; AMOUROUX, D.; DONARD O.F. 2004. Improvement of analytical performances for mercury speciation by on-line derivatization, cryofocussing and atomic fluorescence spectrometry. *Talanta*, Londres, 62, p. 433-438.

SUVARAPU, L. N., & BAEK, S. O. 2017. Recent Studies on the Speciation and Determination of Mercury in Different Environmental Matrices Using Various Analytical Techniques. *International journal of analytical chemistry*, 2017, 3624015. <https://doi.org/10.1155/2017/3624015>.

TAFURT-CARDONA, M. 2015. Determinação in situ de metilmercúrio e mercúrio (II) em sistemas aquáticos nas proximidades de refinarias de petróleo, utilizando a técnica difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) - (Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas - Rio Claro/SP, 77 f.

TAFURF-CARDONA, M. T.; EISMANN, C. E.; SUÁREZ, C. A.; MENEGÁRIO, A. A.; LUKO, K. S.; SARGENTINI JR, E. 2015. In situ selective determination of methylmercury in river water by diffusive gradient in thin films technique (DGT) using baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) immobilized in agarose gel as binding phase. *Analytica Chimica Acta*, 887: 38-44.

TAKASE, I.; PEREIRA, H. B.; LUNA, A. S.; GRINBERG, P. & CAMPOS, R. C. de. (2002). A geração química de vapor em espectrometria atômica. *Química Nova*, 25(6b), 1132-1144. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000700014>.

TEMPLETON, D.; ARIESE, F.; CORNELIS, R.; DANIELSSON, L.; MUNTAU, H.; VAN LEEUWEN, H. & LOBINSKI, R. 2000. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements: definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC Recommendations 2000). *Pure And Applied Chemistry*, 72(8), 1453–1470.

TOMIYASU, T., KONO, Y., KODAMATANI, H., HIDAYATI, N. & RAHAJOE, J. S., 2013. The distribution of mercury around the small-scale gold mining area along the Cikaniki river, Bogor, Indonesia. *Environmental Research*, 125: 12–19.

TORREZANI, Larissa. 2016. Avaliação da contaminação antrópica por metais no sedimento de fundo da Bacia do Igarapé do Educandos (Manaus/Amazonas). Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 66 f.

TSENG, C.; HAMMERSCHMIDT, C.; FITZGERALD, W. 2004. Determination of ethylmercury in environmental matrixes by on-line flow injection and atomic Fluorescence Spectrometry. *Analytical Chemistry*, Washington, 76, p. 7131-7136.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. 2008. Limnologia. São Paulo: Oficina de Textos, 631 p.

TURULL, M., GRMANOVA, G., DAGO, À., ARIÑO, C., DÍEZ, S., DÍAZ-CRUZ, J. M. & ESTEBAN, M., 2017. Phytochelatin synthesis in response to Hg uptake in aquatic plants near a chlor-alkali factory. *Chemosphere*, 176: 74–80.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME. 2013. GLOBAL MERCURY ASSESSMENT: Sources, Emissions, Releases and Environmental Transport. AZEVEDO. Chemical Branch, GENEVA.

WANG, Z., YAO, L., LIU, G. & LIU, W., 2014. Heavy Metals in Water, Sediments and Submerged Macrophytes in Ponds Around the Dianchi Lake, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107: 200–206.

YANG, H., ROSE, N. L. & BATTARBEE, R. W. 2002. Distribution of some trace metals in Lochnagar, a Scottish mountain lake ecosystem and its catchment. *The Science of the Total Environment*, 285 (1–3): 197–208.

YU, L. 2005. Cloud point extraction pre-concentration prior to high-performance liquid chromatography coupled with cold vapor generation atomic fluorescence spectrometry for speciation analysis of mercury in fish samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Columbus, 53, p. 9656-9662.

ZHANG, H. & DAVISON, W. 1995, 'Performance Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution.', *Analytical Chemistry*, vol. 67, no. 19, pp. 3391-3400. <https://doi.org/10.1021/ac00115a005>.

ZARA, L. F., SANTOS, A. dos, ROCHA, J. C., PADILHA, P. de M., and JARDIM, W. de F. 2017. Biomarcadores de Toxicidade de Mercúrio Aplicados Ao Setor Hidrelétrico Na Região Amazônica. São Carlos: Editora Cubo. 36p.

CAPÍTULO III

Revisão Sistemática da Literatura e Estado da Arte sobre o Ciclo Biogeoquímico do mercúrio e suas propriedades físico-químicas, especiação química e técnicas de amostragem e instrumentais de análise de mercúrio



Trecho do Rio Negro, Próximo a Refinaria de Petróleo (REMAN), Porto da Ceasa, Manaus-AM. Fonte: Próprio Autor, 2020.

CAPÍTULO III

1. REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

A revisão do Estado da Arte foi realizada mediante critérios de seleção previamente estabelecidos. A pesquisa norteou-se sobre o Ciclo Biogeoquímico do mercúrio e suas propriedades físico-químicas, especiação química e técnicas de amostragem e instrumentais de análise de mercúrio que permitam evidenciar o atual Estado da Arte. A pesquisa caracterizou-se pela abordagem quali-quantitativa.

Conforme sugerido por Skoog *et al.* (2015) uma das primeiras questões a serem respondidas, antes do início de uma análise, é “Qual seria o maior erro que podemos tolerar em um resultado?”. A resposta para esta questão geralmente determina o método escolhido e o tempo requerido para completar a análise. Por exemplo, os experimentos para determinação de mercúrio em uma amostra de água de rio excedem a um certo valor e podem ser feitos frequentemente de forma mais rápida que aqueles para determinar a sua concentração específica exatamente. Aumentar a exatidão de uma determinação por um fator de dez vezes pode tomar horas, dias ou até mesmo semanas de trabalho árduo. Desse modo é crucial evitar a perda de tempo para gerar dados mais confiáveis que o necessário para o trabalho que se quer realizar.

Nesse sentido, a problemática deste estudo está centrada no seguinte questionamento: Será que é possível aprimorar as técnicas analíticas clássicas e instrumentais para quantificação das espécies de mercúrio de tal modo que seja possível a determinação de níveis traços de concentração? Em pH e condutividade elétrica baixos? Além da possibilidade de eliminação de uma das etapas do processo de análise que reduziria o risco de perda ou contaminação? Será possível promover a redução de custo, tempo e geração de resíduos?

Para tal investigação, foram adotados os seguintes bancos de dados eletrônicos: Web of Science, PubMed, Science Direct e Scopus. Realizou-se a busca avançada contemplando a procura em bancos de dados pelos seguintes descritores:

Web of Science e PubMed: TS=(("MERCURY* SPECIATION*" OR SPECIATION* OR "MERCURY ANALY*" "MERCURY TRACE ANALY*") AND (MERCURY* OR "METHYLMERCURY*" OR "METHYLATION*" OR "MERCURY* PROPERT*" OR BIOACCUMULATION* OR BIOMAGNIFICATION* OR "MERCURY* TOXICITY*" OR "BIOGEOCHEMI*")) AND (DGT OR "DIFFUSION TECHNIQUE GRADIENT*" OR "THIN FILM DIFFUSION TECHNIQUE GRADIENT*" OR "Diffusive gradients in thin-film*" OR "Diffusive gradients in thin-film* (DGT)" OR "THIN FILM*" OR CVA* OR "COLD VAPOUR ATOMIC

SPECTROSCOP*" OR DMA OR "DIRECT MERCURY ANALYZ*") AND ("WATER*" OR "RIVER*" OR "LAKE*" OR "FRESH WATER*"));

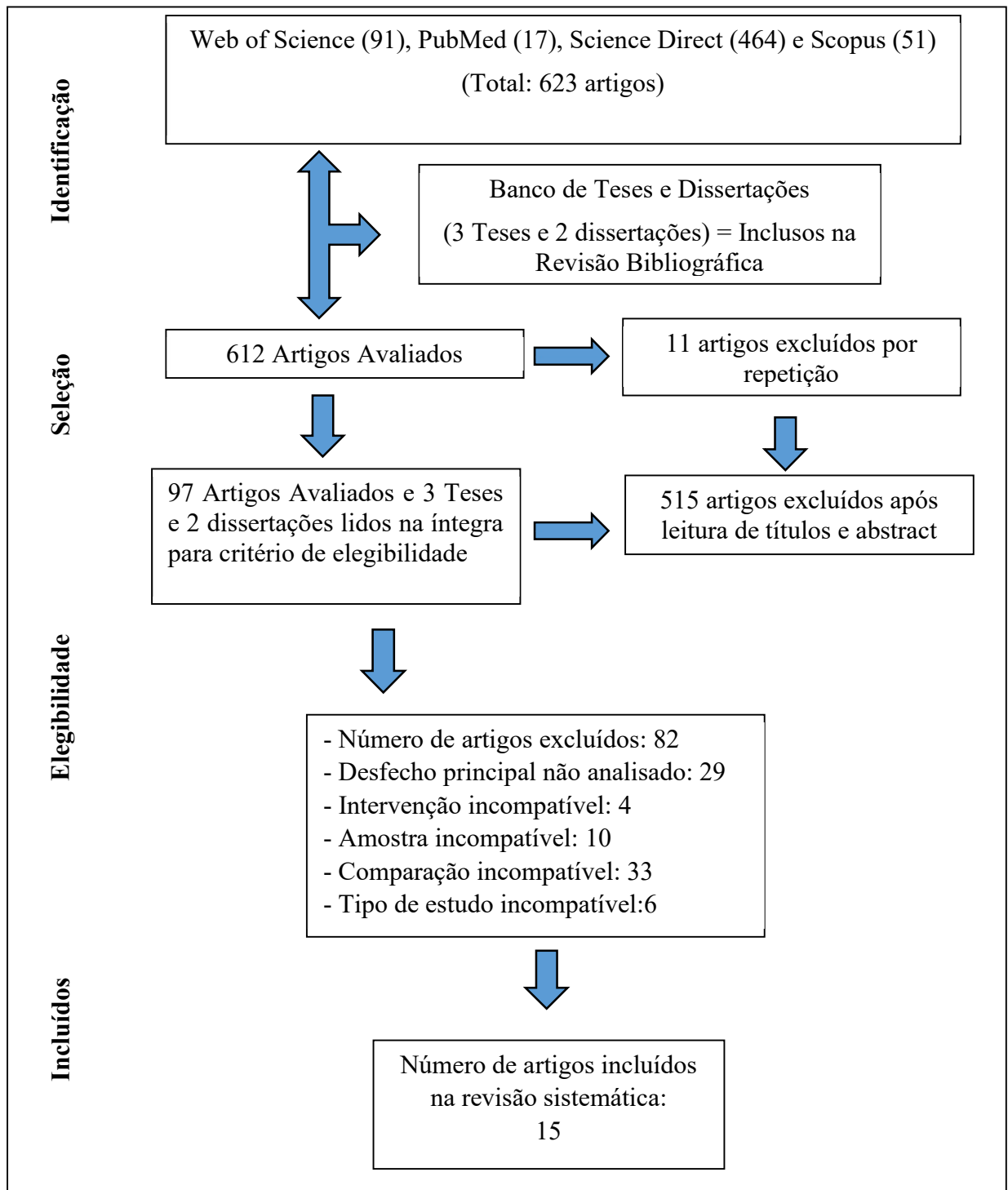
Science Direct: ((SPECIATION) AND (MERCURY OR "METHYLMERCURY") AND (DGT OR CVAFS OR DMA) AND ("WATER" OR "RIVER" OR "LAKE" OR "FRESH WATER"));

Scopus: TITLE-ABS-KEY ("MERCURY* SPECIATION*" OR speciation* OR "MERCURY ANALY*" "MERCURY TRACE ANALY*" OR mercury) AND TITLE-ABS-KEY (dgt OR "DIFFUSION TECHNIQUE GRADIENT*" OR "THIN FILM DIFFUSION TECHNIQUE GRADIENT*" OR "Diffusive gradients in thin-film*" OR "Diffusive gradients in thin-film* (DGT)" OR "THIN FILM*" OR cvaf* OR "COLD VAPOUR ATOMIC SPECTROSCOP*" OR dma OR "DIRECT MERCURY ANALYZ*") AND TITLE-ABS-KEY ("WATER*" OR "RIVER*" OR "LAKE*" OR "FRESH WATER*") AND PUBYEAR > 2015.

Os quais foram combinados entre si, sendo realizada a seleção dos estudos em concordância com as perguntas norteadoras, de acordo com os critérios de elegibilidade previamente estabelecidos: adequação ao problema de estudo, ensaio ou desenho experimental publicados em inglês nos últimos 5 anos (2015-2020). Com o auxílio do gerenciador de referências Mendeley excluiu-se as publicações que não se enquadravam na temática do estudo, bem como os trabalhos duplicados.

Em todas as bases de dados pesquisadas foram encontrados um total de 623 artigos, dos quais 11 foram excluídos por estarem duplicados, 515 foram excluídos por não se adequarem ao problema da pesquisa e 97 artigos foram selecionados para leitura e análise qualitativa. A estes manuscritos foram adicionadas duas dissertações e três teses provenientes de estudos originais e em conformidade com a problemática da pesquisa. Todos os estudos selecionados abordavam técnicas analíticas clássicas e instrumentais para quantificação das espécies de mercúrio, ciclo biogeoquímico do mercúrio, compartimentos ambientais e toxicidade. O Quadro 1 apresenta as etapas da análise sistemática.

Quadro 1. Descrição dos processos de busca, seleção e inclusão dos trabalhos científicos na revisão sistemática (Estado da Arte Internacional).



Fonte: Próprio Autor, 2020.

1.1 Estado da Arte Internacional

Esta revisão sistemática analisou a evolução do campo de pesquisa em especiação de mercúrio, rastreia o desenvolvimento dos temas da pesquisa e revela a evolução da rede de pesquisa através de análise da literatura central e periódicos que aparecem de 2015 a 2020. A pesquisa girou em torno do uso da técnica de gradiente difusivo em filmes finos para medições *in situ*, revisão do progresso do fracionamento químico, especiação e biodisponibilidade do mercúrio em água.

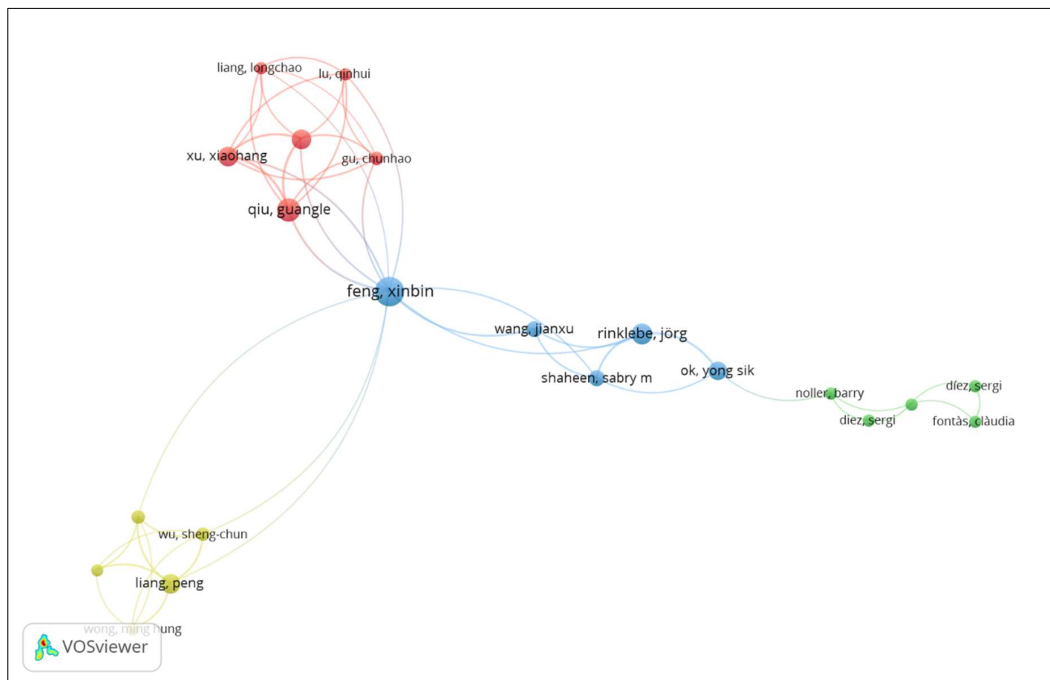
Foi utilizado a ferramenta “*VOSviewer*” para visualizar a rede de dados. Primeiramente foram importados os dados das bases: “*Scopus*”, “*Science Direct*”, “*PubMed*” e “*Web of Science*” para o “*Mendeley*” e através da análise bibliométrica e de rede foi criado um sistema quantitativo de imagem da evolução de campo e da comunidade de pesquisa que oferece aos pesquisadores uma visão geral sustentada e que pode ajudar a identificar novos segmentos nesta linha de especiação com aplicações tecnológicas até a escala nano. Além de apenas mostrando a rede em um gráfico, o tamanho dos nós foi usado para indicar centralidade do grau, significando que nós maiores são os artigos citados com mais frequência.

A largura dos links ilustra a força do vínculo entre os artigos citados. O quanto mais espesso for o link, mais frequentemente os dois artigos são citados juntos, indicando que suas pesquisas estão relacionadas. Ao serem agrupados, os artigos ficam mais próximos no gráfico, se estiverem co-citados com frequência. Os resultados em forma de grafos são apresentados nas Figuras 1 e 2.

Com a unificação das pesquisas das bases de dados (Figura 1) com três citações podemos perceber que em trabalhos mais recentes houve uma maior ocorrência de palavras-chave, tais como: “*mercury*”, “*methilmercury*”, “*speciation*” e “*arsenic*” em concordância com o grafo de linha do tempo (Figura 2) que apresentou a maior incidência das mesmas palavras-chaves, além do destaque nas cores verde escuro, verde claro e amarelo para “*mercury*”, “*methilmercury*”, “*speciation*”, “*arsenic*”, “*adsorption*” e “*methylation*” entre os anos de 2016 e 2018. Por meio da análise dessas conexões em rede foi possível verificar o emprego de mais metodologias voltadas à popularização do uso de dispositivos ou amostradores passivos para especiação de metais, em especial voltadas à popularização da especiação do mercúrio, aprimorando assim o desenvolvimento e otimização de técnicas analíticas voltadas para a aplicação de novos materiais ligantes e complexantes com maior resistência e durabilidade, inclusive empregando a tecnologia nano. O que fortalece a nova tendência de aplicação de novas metodologias voltadas à instrumentação analítica com base empírica em pré-preparo de amostras, miniaturização de análises químicas, redução na manipulação de amostras e sustentabilidade associada a química verde.

Outra análise realizada foi em relação a rede social formada pelos autores encontrados, que possibilitou perceber a interação entre entes diversos dentro de um universo. Através desta análise foi percebido que a grande maioria dos autores encontrados contribuiu com apenas com um trabalho, conforme apresentado na Figura 3.

Figura 3. Maior componente no grafo de autores e coautorias com três citações.

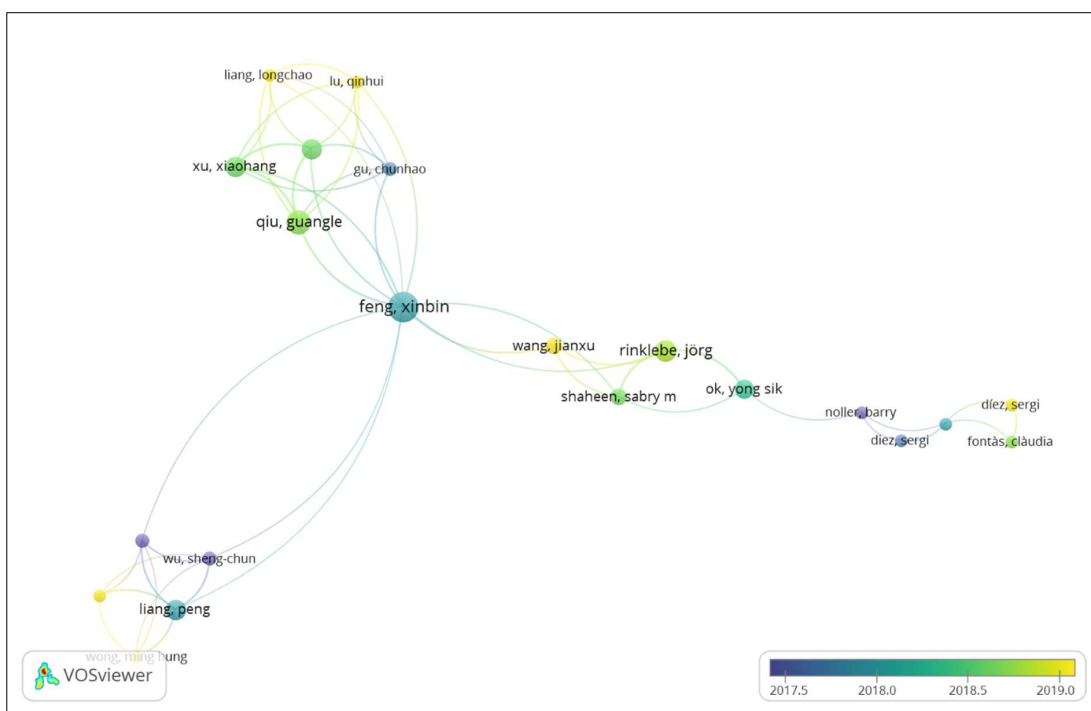


Fonte: Próprio Autor, 2020.

Através da análise da Figura 3, merecem destaque os trabalhos realizados no Instituto de Geoquímica, Academia Chinesa de Ciências, China, cuja maior concentração ocorre em dois dos autores: Feng, Xinbin (na cor azul) e Qui, Guangle (na cor vermelha), para a maior componente conectada do grafo de rede social dos autores. Este fator demonstra que a parceria entre esses autores contribui para a formação dessa grande componente no grafo social, apesar da endogenia acadêmica. Os demais autores que formam nós (conexões mais acentuadas) são da Austrália: *“University of Southern Queensland”*, Rinklebe, Jörg (em azul); *“Mined Land Rehabilitation Centre, University of Queensland”*: Noller, Barry (em verde) e Beijing, China: *“Tsinghua University”*, Liang, Peng (em amarelo).

No grafo de redes de autores e co-autorias em linha do tempo (Figura 4) foi possível visualizar uma tendência no aumento de publicações principalmente a partir de meados do primeiro semestre de 2017 e 2018 no grupo dos pesquisadores (Gu, Chunhao; Wo, Sheng-Chun, Noller, Barry, Ruiz; Díez, Sergi; Feng, Xinbin e Liang, Peng. Enquanto os pesquisadores (Liang, Longchao, Lu, Qinhui, Wang, Jianxu, Díez, sergi e Wong, Ming Hung) contribuíram para as publicações mais atuais do ano de 2019.

Figura 4. Grafo unificado da linha do tempo da rede de autores e co-autores com até 2 citações das pesquisas nas bases de dados.



Fonte: Próprio Autor, 2020.

Além disso foi feita uma análise crítica sobre os resultados encontrados nessa busca. Dentre os trabalhos analisados, houve uma percepção de que a maior parte dos mesmos ressalta que a maioria das etapas dos experimentos de especiação são realizadas dentro do laboratório. Por outro lado, também apresentam propostas metodológicas com abordagem contextualizada das espécies químicas do mercúrio que podem ser utilizadas para minimizar a manipulação da amostra.

A principal motivação se deve ao fato de que os autores justificam que essas técnicas são as mais aparentes e quando utilizadas na amostragem *in situ* tornam-se mais acessíveis de serem aplicadas. No entanto, todos os autores pesquisados enfatizam as diferenças entre os processos aplicados em ambientes reais e em como eles são facilmente aplicados em laboratório, o que não retrataria a

difículdade técnica relacionada a cada ambiente que podem influenciar os processos químicos complexos, tais como: condições de temperatura, ferramentas utilizadas e as complexas interações químicas associadas a esses processos.

Desse modo estão destacados abaixo no (Quadro 2) os estudos que passaram nos critérios de seleção para compor esta revisão sistemática e que contextualizam a aplicação da técnica de difusão em filmes finos para especiação de mercúrio nos últimos 5 anos.

Quadro 2. Estado da Arte Internacional na especiação de Hg.

Autor, Ano	Tipo de Amostra	Variáveis estudadas	Técnicas empregadas	Vantagem	Desvantagem/ Possível otimização
Fernández-Gómez <i>et al.</i> (2015)	Águas naturais	HgT e MeHg; Monitoramento de fotodegradação de MeHg.	Cromatografia gasosa acoplada à fluorescência atômica via reator pirolítico (GC-Py-AFS).	A qualidade da matéria orgânica dissolvida (DOM) e não a quantidade é mais importante	Pode haver problemas de perdas e contaminação, durante a execução das etapas. Porém, pode ser contornado usando ensaios com padrões de referência.
Azemard e Vassileva (2015) Cont. Quadro 2	Águas naturais	HgT e MeHg;	Analizador avançado de mercúrio (AMA – 254)	Analísadores direto de Hg provaram ser uma alternativa viável para estudos de HgT em matrizes ambientais, além de possibilitar a análise da fração especiada também.	Extração de amostras com HCl podem levar a baixas recuperações de MeHg; Poderia ser reduzido o tempo de extração; ensaios de recuperação com material de referência certificados (MRC) e repetitividade das medições.
Gosnell e Manson (2015)	Água natural, fitoplâncton e zooplâncton	Especiação de Hg; nutrientes, oxigênio dissolvido, temperatura, salinidade	GC – CV-AFS	Os resultados relatados fornecer pistas importantes sobre as fontes e a absorção de Hg e MeHg para o fitoplâncton e zooplâncton.	A pesquisa de bioacumulação de plâncton Hg e MeHg precisa ser melhor investigada. Futuras pesquisas e estudos de modelagem devem basear-se

					nesses resultados iniciais para elucidar ainda mais o ciclismo em mar aberto de Hg e MeHg.
Singer <i>et al.</i> (2016)	Sedimentos e Biota	MMHg (Monometilmercúrio)	GC-CVAFS (USEPA 1630)	Houve uma melhor compreensão entre as ligações do processamento biogeoquímico de contaminantes sobre legado de longo prazo da atividade de mineração na cadeia alimentar.	Não foram feitas as medições <i>in situ</i> durante as condições de pulso de inundação das planícies. A duração da inundação pode ser crítica para avaliar possíveis locais onde a produção de MMeHg provavelmente ocorrerá com frequência.
Butcher (2016)	Estudo de revisão em diferentes matrizes	Destaque para determinação de HgT e especiação em amostras ambientais	Destaque para DGT na especiação, extração em fase sólida (SPE), CV-AFS, ICP-MS.	Nova abordagem de pré-concentração de amostras por gradientes difusivos em filmes fino e (SPE) realizada com sílica e nanopartículas de ouro.	Efeitos de matriz/ Efeitos de memória que resultam em vies nos resultados, uma correção do uso da área do pico em vez da altura do pico pode ajudar a resolver, além do uso de MRC.
Kim, Won e Zoh (2017) Cont. Quadro 2	Águas naturais	Efeito da DOM na fotodegradação de MeHg	GC-CV-AFS (USEPA 1630)	Os resultados evidenciaram que a reação mediada por radicais é o principal mecanismo de fotodegradação de MeHg, especialmente na presença de MW <3,5 kDa.	O papel do ácido húmico na fotodegradação de MeHg é um paradoxo, devido à porção cromofórica do DOM. Para desmistificar essa questão, foi feito o estudo do efeito da concentração de DOM sobre fotodegradação de MeHg usando diferentes pesos moleculares de DOM.

Diez e Giaggio (2018)	Águas naturais	Influência do biofilme na retenção de MeHg pelo DGT	Empregados testes de microcosmos e de campo, DGT; AMA-254.	O tratamento anti-incrustamento não afeta a medição precisa de Hg pela DGT.	Biofilme se não tratado reduz até cerca de 35% a absorção de Hg pela DGT. DGT tratado com nanopartículas de prata inibe o biofilme sem perda de taxa de difusão.
Jedruch et al. (2018)	Microfauna marinha	HgCl ₂ , HgBr ₂ , HgI ₂ , Hg(CN) ₂ , (CH ₃ COO) ₂ Hg, Hg(NO ₃) ₂ ·H ₂ O, Hg(SCN) ₂ , Hg(ClO ₄) ₂ ·xH ₂ O, HgS, HgF ₂ , HgO, HgSO ₄	DMA-80	O método de fracionamento em cinco etapas não consome tempo; custo-benefício do que métodos alternativos, pois não requer o uso de reagentes.	Calibrar o método com MRC e evitar a situação frequente de auto-combustão de produtos orgânicos durante a análise.
Gorecki (2018)	Amostras biológicas	Determinação de MeHg	HS-Trap-GC-Método AFS (USEPA 1630)	O sistema é uma alternativa boa e de baixo custo aos caros sistemas automatizados comerciais.	Pode apresentar problemas de injeção e na linha de transferência do GC para o AFS.
Rezende et al. (2018)	Amostras de sedimento	Especiação de MeHg	DMA-80	O método não requer pré-tratamento das amostras e é aplicável a amostras sólidas homogêneas.	Requer cuidado no tratamento térmico e uso de MRC.
Noh et al. (2019)	Água natural	Retenção de HgT a longo prazo, camada limite difusiva (DBL)	DGT, CV-AFS (USEPA 1631)	Os DGT's podem ser empregados para avaliar os impactos prováveis a cenários climáticos futuros.	Para implantações maiores que 3 semanas a DBL pode ser afetada tanto pelo fluxo quanto pela superfície de difusão.
Cont. Quadro 2 Bratkič, Klum e Gao (2019)	Coluna d'água e sedimentos	Hg inorgânico, lábil e MeHg	DGT; Espectrometria de Massa com Setor Eletromagnético com Plasma Indutivamente Acoplado (SF-ICP-MS).	Os resultados destacam a importância e dificuldades na interpretação de biodisponibilidade; ou seja, as razões das incongruências	Está claro por que os DGTs e a filtração produzem resultados semelhantes para HgT, mas não para o MeHg na água do mar, nem por que existe uma situação oposta

				entre avaliações físico-químicas e biológicas.	em águas de poros de sedimentos.
Wang <i>et al.</i> (2019)	Amostra biológica (tecido de peixe)	HgT e MeHg	DMA-80 (USEPA 7473) GC-CV AFS	Os resultados mostraram que o HgT e níveis de MeHg nos músculos dos peixes variando entre (29,57 - 56,03) ng g ⁻¹ , peso úmido), comparável a maioria dos estudos na China.	A atividade antrópica pode afetar parcialmente a biomagnificação de Hg, e outros estudos são necessários para examinar os mecanismos de transferência de Hg na cadeia alimentar .
Taylor, Beckman e Burgess (2019)	Soluções sintéticas com Tiras de polímeros; Água natural e sedimentos.	Hg, MeHg, iHg (mercúrio inorgânico)	DGT; Cromatografia em Fase de Purga e Retenção (MERX-M Brooks Rand) e (ICP-MS)	Amostradores <i>in situ</i> podem ser ferramentas poderosas para avaliar contaminantes em ambientes estuarinos, pois fornecem uma média de concentração dos contaminantes.	A formação de Biofilmes reduzir a taxa de difusão e consequentemente, a absorção de Hg pela DGT, nanopartículas de prata podem evitar a taxa de perda da difusão.
Chennuri <i>et al.</i> (2020)	tecido biológico (gastropodes) e sedimentos superficiais	HgT, Hg lábil no sedimento, MeHg	DMA-80	Foi estabelecida uma ligação entre a especiação sedimentar de Hg e sua bioacumulação em um organismo sésil (<i>Pirenella cingulate</i>) em um ambiente tropical sistema de manguezais.	Mais pesquisas são necessárias para provar a especiação de Hg em diferentes matrizes biológicas de sistemas estuarinos tropicais.

Fonte: Próprio Autor, 2020.

Os resultados dos autores selecionados na revisão sistemática que estão apresentados no (Quadro 2) ilustram claramente que a especiação do mercúrio evoluiu da teoria coerente para uma pesquisa prática através de uma base sistemática e ligação de diversos tópicos. A rede de coautoria mostra que a comunidade acadêmica de especiação de Hg está distribuída em todo o mundo e que a colaboração internacional é generalizada. É válido destacar que alguns autores em estudos mais recentes (Resende *et al.*, 2018; Jedruch *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019 e Chennuri *et al.*, 2020) denotam com uma riqueza de detalhes a aplicação do instrumento DMA na especiação de Hg, desde que sejam seguidas algumas condições especiais de contorno. Os Efeitos de matriz/ Efeitos de memória podem resultar em

viés nos resultados, uma correção do uso da área do pico em vez da altura do pico pode ajudar a resolver, também podem haver problemas de perdas e contaminação, durante a execução das etapas e o uso de Material de Referência Certificado e controle de temperatura podem contornar esses possíveis problemas. E neste trabalho serão observados o uso da técnica DMA no estudo de determinação de Hg lábil em sólidos suspensos totais (Capítulo V) e no estudo de especiação de MeHg associado à técnica DGT (Capítulo VI).

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANA - Agência Nacional de águas. 2011. Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidas. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA.
- AZEMARD, S. AND VASSILEVA, E. 2015. "Determination of Methylmercury in Marine Biota Samples with Advanced Mercury Analyzer: Method Validation." *Food Chemistry*, 176: 367–75. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.085>.
- AZEVEDO, F. A. de. 2003. Toxicologia do Mercúrio. São Carlos: RIMA. São Paulo: InterTox. 292 p.
- BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. O. 2004. Comportamento do Metilmercúrio (MeHg) no Ambiente. *Química Nova*, São Paulo, 27, N.4, P. 593-600.
- BRATKIČ, A.; KATJA, K. AND GAO, Y. 2019. "Mercury Speciation in Various Aquatic Systems Using Passive Sampling Technique of Diffusive Gradients in Thin-Film." *Science of The Total Environment*, 663: 297–306. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.241>.
- BUTCHER, D. J. 2016. "Atomic Fluorescence Spectrometry: A Review of Advances in Instrumentation and Novel Applications." *Applied Spectroscopy Reviews*, 51 (5): 397–416. <https://doi.org/10.1080/05704928.2016.1141099>.
- CHENNURI, K.; CHAKRABORTY, P.; JAYACHANDRAN, S.; MOHAKUD, S. K.; ISHITA, I.; RAMTEKE, D.; PADALKAR, P. P.; BABU, P. C. & BABU, K. R. 2020. "Operationally Defined Mercury (Hg) Species Can Delineate Hg Bioaccumulation in Mangrove Sediment Systems: A Case Study." *Science of The Total Environment*, 701: 134842. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134842>.
- DIEZ, S. AND GIAGGIO, R. 2018. "Do Biofilms Affect the Measurement of Mercury by the DGT Technique? Microcosm and Field Tests to Prevent Biofilm Growth." *Chemosphere*, 210 (November): 692–98. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.047>.

- FERNÁNDEZ-GÓMEZ, C. AND DÍEZ, S. 2015. “Diffusive Gradients in Thin Films for Predicting Methylmercury Bioavailability in Freshwaters after Photodegradation.” *Chemosphere*, 131: 184–91. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.02.060>.
- GÓRECKI, J. 2018. “Semi-Automatic System for Methylmercury Determination in Biological Samples.” *Measurement*, 117: 419–28. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.measurement.2017.12.035>.
- GOSNELL, K. J. AND MASON, R. P. 2015. “Mercury and Methylmercury Incidence and Bioaccumulation in Plankton from the Central Pacific Ocean.” *Marine Chemistry*, 177: 772–80. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.marchem.2015.07.005>.
- JĘDRUCH, A.; BEŁDOWSKA, M.; KWASIGROCH, U.; NORMANT-SAREMBA, M. AND SANIEWSKA, D. 2018. “Mercury Fractionation in Marine Macrofauna Using Thermodesorption Technique: Method and Its Application.” *Talanta*, 189: 534–42. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.07.047>.
- KIM, MOON-KYUNG; WON, A-YOUNG AND ZOH, KYUNG-DUK. 2017. “Effects of Molecular Size Fraction of DOM on Photodegradation of Aqueous Methylmercury.” *Chemosphere*, 174: 739–46. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.033>.
- NOH, S.; YOUNG-HEE, K.; HYUK, K.; KWANG-SEOL, S.; MINHO PARK, M.; XAVIER, B. AND YONGSEOK, H.. 2019. “The Performance of Diffusive Gradient in Thin Film Probes for the Long-Term Monitoring of Trace Level Total Mercury in Water.” *Environmental Monitoring and Assessment* 192 (1): 66. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7966-2>.
- REZENDE, P. S.; SILVA, N. C.; MOURA, W. D. AND WINDMOLLER, C. C. 2018. “Quantification and Speciation of Mercury in Streams and Rivers Sediment Samples from Paracatu, MG, Brazil, Using a Direct Mercury Analyzer (R).” *Microchemical Journal* 140 (July): 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.04.006>.
- SINGER, M. B.; HARRISON, L. R; DONOVAN, P. M.; BLUM, J. D. AND MARVIN-DIPASQUALE, M. 2016. “Hydrologic Indicators of Hot Spots and Hot Moments of Mercury Methylation Potential along River Corridors.” *Science of The Total Environment*. 568: 697–711. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.005>.
- TAYLOR, V. F.; BUCKMAN, K. L. AND BURGESS, R. M. 2019. “Preliminary Investigation of Polymer-Based in Situ Passive Samplers for Mercury and Methylmercury.” *Chemosphere* 234: 806–14. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.093>.

WANG, Y.; XIE, Q.; XU, Q.; XUE, J.; ZHANG, C. AND WANG. D. 2019. “Mercury Bioaccumulation in Fish in an Artificial Lake Used to Carry out Cage Culture.” *Journal of Environmental Sciences (China)* 78: 352–59. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.11.016>.

XU, X.; BRYAN, A. L.; MILLS, G. L. and KOROTASZ, A. M. 2019. “Mercury Speciation, Bioavailability, and Biomagnification in Contaminated Streams on the Savannah River Site (SC, USA).” *Science Of The Total Environment*. 668 (June): 261–70. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.301>.

Capítulo IV

Revisão sistemática da literatura com análise bibliométrica sobre Especiação Operacional de Mercúrio na Amazônia: Um breve estudo de Regionalização



Nuvem de palavras sobre especiação de mercúrio em forma de Erlenmeyer gerado pelo software WordArt online. É classificado como um método heurístico de análise. Em uma visualização do tipo, cada palavra tem seu tamanho regido pela relevância em determinado corpus de texto. Geralmente se trata de contagem simples das ocorrências de determinada palavra no texto.

Abstract

Specification procedures are used to assess the impact of metal species *in situ* or on representative environmental matrices. And in order to standardize them, a compilation of a series of articles, dissertations and theses was made from various databases covering the last 20 years in order to promote the popularization of the most used procedures that include studies on mercury speciation in the Amazon and how the validation parameters of contributions analysis contribute to ensure the reproducibility of research results. This study briefly discusses, through a systematic literature review, the procedures used and their applications, reviewing the importance of the network of authors and co-authors and an academic endogeny for the maintenance of quality control in chemical speciation analyses.

Keywords: Mercury. Operational Speciation. Chemical Validation. Metalomics.

Resumo

Os procedimentos de especiação são amplamente usados para avaliar o impacto das espécies de metais *in situ* ou em amostras representativas de matrizes ambientais. E de modo a padronizá-los, foi feita uma compilação de uma série de artigos, dissertações e teses de várias bases de dados abrangendo os últimos 20 anos de modo a promover a popularização dos procedimentos mais empregados que contemplam estudos de especiação de mercúrio na Amazônia e de que maneira os parâmetros de validação de análises químicas contribuem para assegurar a reprodutibilidade dos resultados das pesquisas. O presente estudo discute por meio de uma revisão sistemática da literatura, de forma breve, os procedimentos empregados e suas aplicações, revisando a importância da rede de autores e coautores e a endogenia acadêmica para a manutenção do controle de qualidade nas análises de especiação química.

Palavras-Chave: Mercúrio. Especiação Operacional. Validação Química. Metalômica.

CAPÍTULO IV

1. INTRODUÇÃO

O contexto de pesquisa científica atual demanda por uma melhoria contínua das técnicas analíticas aplicadas na determinação de espécies de Hg e que utilizem uma base sustentável e ambientalmente amigável atrelada a Química Verde. Além de requerer o pleno desenvolvimento de habilidades e competências do próprio analista para operacionalização dos instrumentos de análise cada vez mais automatizados e robustos, próprios da Era Digital 4.0 (KUROWSKA-SUSDORF et al. 2019; LENOIR, SCHRAMM, and LALAH, 2020).

Kasper *et al.* (2014) reforça tal contexto quando menciona que conforme o desenvolvimento de técnicas analíticas houve também a necessidade de melhoria dos protocolos de análise, com o intuito de evitar a contaminação das amostras ou possíveis perdas do analito de interesse, já expostos às condições desfavoráveis no ambiente de amostragem.

Nesse sentido têm se buscado estratégias modernas de melhorar a amostragem com aplicação de técnicas ultra-limpas, além de minimizar inconveniências inerentes a seus sistemas de processamento das amostras, pois em via de regra qualquer contaminação pode deteriorar o resultado da análise devido aos baixos níveis de concentração em que o analito é encontrado no ambiente (LEOPOLD, FOULKES, and WORSFOLD, 2010).

Considerando então a importância dos diferentes compartimentos ambientais como sumidouros e reservatórios de conteúdo de mercúrio, os ambientes aquáticos amazônicos atuam principalmente como reatores biogeoquímicos em vários processos ambientalmente importantes, os quais contemplam as fontes naturais e antrópicas do metal, bem como os processos bióticos e abióticos (e.g., armazenamento, biodisponibilidade, mobilidade, transferência das diferentes espécies metálicas para a coluna d'água e fixação em algum receptor final). Isso implica que a Bacia Amazônica é um grande depósito de mercúrio com forte associação ao material particulado e à hidrodinâmica (KASPER et al. 2015; ZARA et al. 2017).

A realização de pesquisas que elucidem a distribuição espaço-temporal das espécies de mercúrio na Amazônia se faz necessário para que se possam diagnosticar as lacunas ainda existentes no estudo de especiação de Hg e no entendimento da influência dos diversos fatores que favorecem a permanência de suas espécies mais tóxicas no ambiente (KASPER et al. 2017; OLIVEIRA et al. 2021).

Nesse sentido, a problemática está na investigação detalhada que visa a observação da melhoria de aplicação dos parâmetros de validação química com o uso de material de referência certificado e aprimoramento das metodologias nas últimas 2 décadas.

Este Capítulo objetiva identificar os processos mais trabalhados pela especiação operacional (EO) de Hg na Amazônia e sugere uma reflexão teórica por meio de pesquisa bibliográfica exploratória por amostragem, pela qual levantou-se dados quantitativos do reconhecimento científico regional. Em outras palavras: analisar a EO como uma estratégia de evidenciar a melhoria nas diferentes etapas analíticas de técnicas aprimoradas em comparativo à técnicas já devotadas para determinação de Hg.

2. ESPECIAÇÃO OPERACIONAL

2.1 *Metodologia Científica Aplicada*

A Especiação Operacional foi feita mediante delineamento dos requisitos de seleção previamente estabelecidos nas Bases de Dados, recorreu-se à pesquisa bibliográfica e ao levantamento por amostragem, utilizando recursos tecnológicos de busca como instrumento para executar a pesquisa, neste caso, usando-se descritores relacionados à estudos com mercúrio englobando-se como ferramenta de busca avançada à Plataforma Lattes. A abordagem metodológica dessa pesquisa foi caracterizada como exploratória, documental e descritiva, em que se utiliza o método dedutivo, conforme metodologia aplicada por (GONÇALES FILHO, CAMPOS, and ASSUMPÇÃO, 2016).

Para o levantamento e análise realizados neste estudo, foi feita uma Revisão Sistemática da Literatura (RSL) seguida de bibliometria baseada nas seguintes etapas: I) Busca de descritores – seleção dos periódicos; II) Leitura dos títulos, resumos, palavras-chave dos artigos retornados; III) Leitura da metodologia e dos resultados dos artigos retornados; IV) Tabulação e avaliação dos dados encontrados e V) Busca de nome de autores e co-autores citados nas bases de dados vinculados a Plataforma Lattes.

A seleção dos periódicos na base do portal da Biblioteca Virtual da UNESP - Campus de Rio Claro (Base de dados de artigos científicos e buscadores multidisciplinares, Banco de Teses e Dissertações) iniciou-se por meio das palavras-chave: espécies de mercúrio, biodisponibilidade, especiação em rios Amazônicos, taxas de sedimentação, aporte de matéria orgânica, influência de sazonalidade, técnicas de amostragem, preparo e processamentos das amostras e instrumentação analítica em correlação a rede de autores e co-autores junto à Plataforma Lattes que permitiram evidenciar assim o atual Estado da Arte Regional. Foram implementados os filtros e dessa forma os periódicos foram selecionados, aproximando o seu conteúdo ao referido tema em estudo. Para os filtros, considerou-se o refinamento da palavra-chave por meio dos termos pesquisados e à temporalidade.

Definiram-se as bases de dados trabalhadas, o tipo de documento (artigos, dissertações e teses), trabalhos em área Multidisciplinar de Ciências Exatas e da Terra e o intervalo de tempo (2001-2021). Esses foram os critérios de inclusão e exclusão dos artigos encontrados, o que resultou em uma análise bibliométrica apresentada pela definição dos 100 Trabalhos mais evidenciados sobre Mercúrio na Amazônia que embasaram a pesquisa.

A seleção dos 100 trabalhos foi feita pela data de publicação e também pela (Área Multidisciplinar) de todos os periódicos. E, finalmente, foram lidos todos os títulos, resumos, palavras-chave, objetivos, suas metodologias de pesquisas, aspectos relevantes, análise de resultados e conclusões.

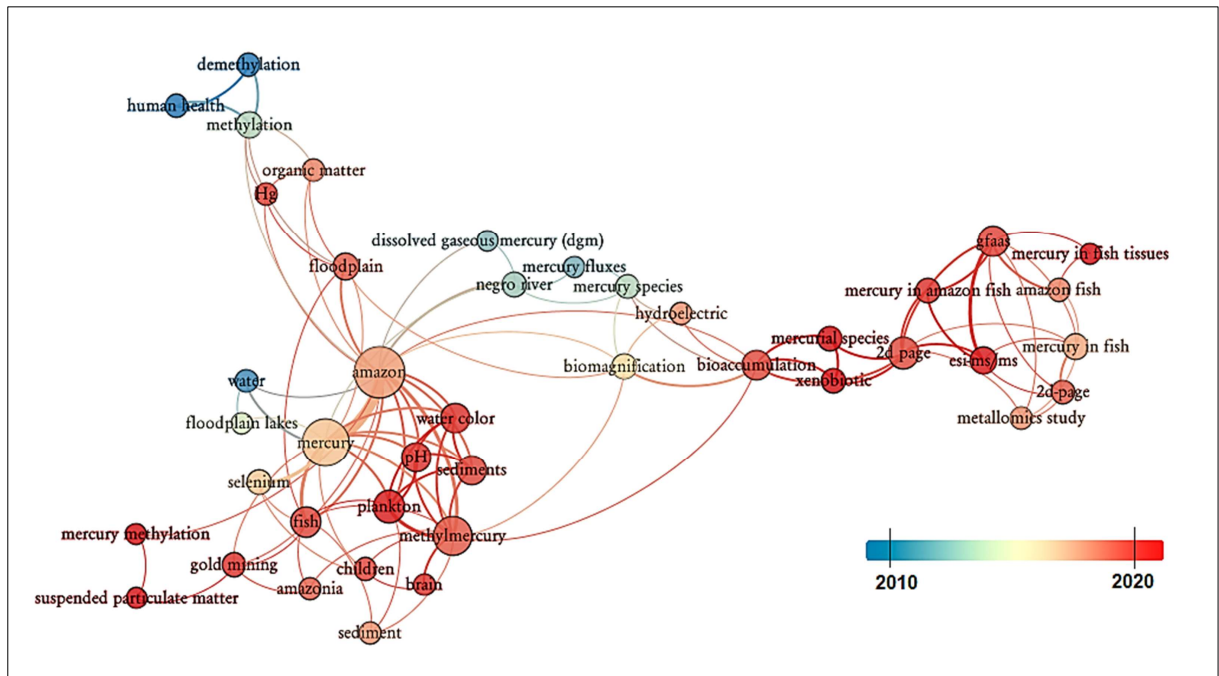
Ao final dessas etapas de triagem e da leitura dos artigos na íntegra, seguiu-se então para a última fase: a tabulação e avaliação de suas características, os resultados encontrados estão apresentados e discutidos a seguir.

2.2 Estado da Arte Regional

Esta revisão sistemática analisou a evolução do campo de pesquisa em obtenção, processamento, análises químicas e estruturais, rastreando o desenvolvimento dos temas da pesquisa e revelou a evolução da rede de pesquisa através de análise da literatura central e periódicos que aparecem entre os anos 2001 a 2021. A pesquisa girou em torno do uso de técnicas de amostragem, preparo e processamento da amostra em diferentes matrizes, e estudo de técnicas instrumentais de determinação das diferentes espécies de mercúrio.

Foram utilizadas duas ferramentas para visualizar a rede de dados: **“VOSviewer”** versão 1.6.15 (geração e tratamento preliminar dos grafos) e **“Gephi”** versão 0.9.2 (refinamento dos grafos aplicando algoritmo). Primeiramente foram importados os dados das bases em formato (.ris): **“Periódicos Capes”**, **“Oásis”**, **“Google Scholar”**, **“SciELO”**, **“Scopus”**, **“Science Direct”**, **“PubMed”** e **“Web of Science”** para o **“Mendeley Desktop”** e através da análise bibliométrica e de rede foi criado um sistema quantitativo de imagem da evolução de campo e da comunidade de pesquisa que oferece aos pesquisadores uma visão geral sustentada e que pode ajudar a identificar novas aplicações tecnológicas em diferentes áreas de atuação da Química Analítica. E em relação aos grafos obtidos: quanto mais espesso for o link, mais frequentemente os dois artigos são citados juntos, indicando que as pesquisas estão relacionadas. Ao serem agrupados, os artigos ficam mais próximos no grafo de rede, se estiverem co-citados com frequência.

Figura 2. Grafo da conexão das palavras-chave em linha do tempo com 2 citações (Bases de Dados Unificadas).

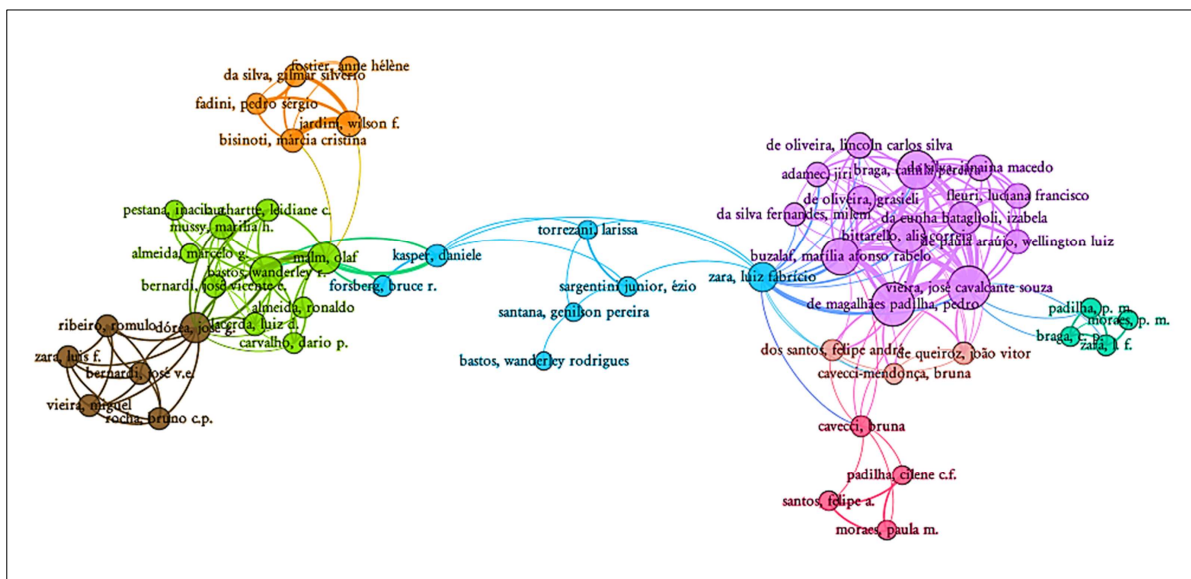


Fonte: Próprio Autor, 2021.

As palavras-chave em destaque no grafo da Figura 1 estão em concordância com o grafo de linha do tempo (Figura 2) cujo qual também apresentou em destaque na cor vermelha a maior incidência das seguintes palavras-chaves: *“pH”*, *“Sediments”*, *“Plankton”*, *“methylmercury”*, *“fish”*, *“bioaccumulation”*, *“2D Page”*, *“GFAAS”* e *“ESI-MS-MS”* entre os anos de 2017 e 2020. Por meio da análise dessas conexões em rede foi possível verificar o emprego de mais metodologias voltadas à popularização do aprimoramento e desenvolvimento de metodologias com redução de etapas e de quantidade de amostras.

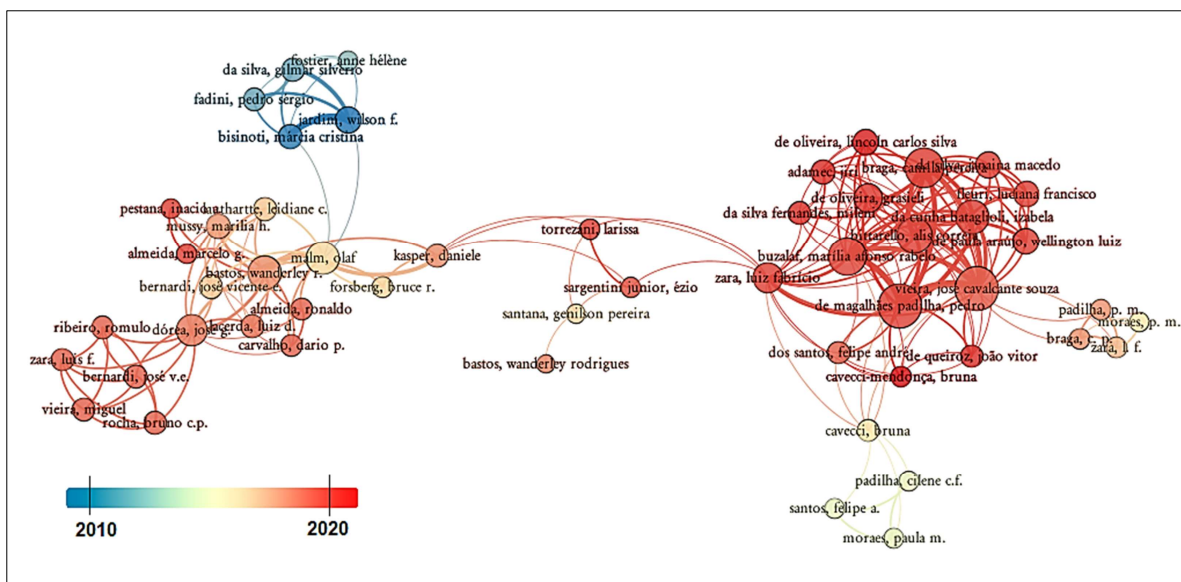
A Figura 3 apresenta outra análise feita em relação a rede social formada pelos autores encontrados, que possibilitou perceber a interação entre entes diversos dentro de uma rede. Através desta análise foi percebido que os autores encontrados contribuíram com até duas citações, conforme apresentado no grafo de linha do tempo (Figura 4). Todas as informações fornecidas na descrição sobre a atuação dos autores e pesquisadores foram coletadas na Plataforma Lattes.

Figura 3. Maior componente no grafo de autores e co-autorias com 2 citações (Bases de dados Unificadas).



Fonte: Próprio Autor, 2021.

Figura 4. Maior componente no grafo de autores e co-autorias em linha do tempo com 2 citações (Bases de dados Unificadas).



Fonte: Próprio Autor, 2021.

Através da análise da Figura 3, merecem destaque os trabalhos realizados em parceria com o Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP, cuja maior concentração na

cor laranja, para a maior componente conectada do grafo de rede social dos autores está em destaque o seguinte pesquisador: **Jardim, Wilson de Figueiredo**, Professor titular (aposentado) do Instituto de Química - UNICAMP, atuando de 1984 a 2017. Linhas de pesquisa: Química Ambiental, Qualidade da água superficial e subterrânea, Processos Oxidativos Avançados, Mercúrio na Amazônia, imagens subaquáticas de estruturas civis submersas e qualidade da água de reservatórios feitos pelo homem. Este fator demonstra que a parceria entre esses autores contribui para a formação dessa grande componente no grafo social, apesar da endogenia acadêmica. Os demais autores que formam nós (conexões mais acentuadas) são da UNICAMP. **Bisinoti, Márcia Cristina** (Doutorado em Química Analítica - Ambiental) pelo Instituto de Química da UNICAMP (2005). Professora Associada do Departamento de Química e Ciências Ambientais do Instituto de Biociência, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista em São José do Rio Preto. Obteve o título de Livre-Docência em Química Ambiental em Junho de 2013. Atuando principalmente nos seguintes temas: o papel da matéria orgânica e "*black carbon*" em rios da Amazônia, produção de hidrochar a partir de resíduos da indústria sucroalcooleira visando aplicação como fertilizante no solo. **Fostier, Anne Helene** (Professora Livre Docente no Instituto de Química da UNICAMP), desenvolve pesquisas na área de Química Ambiental voltada para contaminantes inorgânicos, em especial Hg e As e fármacos no ambiente com enfoque em fontes de emissão e processos de transferências entre os diferentes compartimentos ambientais, também atua em amostragem, preparo de amostras, desenvolvimento, validação e implantação de métodos analíticos; **Fadini, Pedro Sérgio** (Doutorado em Química pela Universidade Estadual de Campinas - 1999). E professor Associado II do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (DQ/UFSCar), credenciado no programa de Pós-Graduação em Química, atuando na interface entre Química Analítica e Ciências Ambientais. Tem experiência nas áreas de Engenharia Ambiental e Química Ambiental, atuando principalmente nos seguintes temas: Contaminantes emergentes, Tratamento de Esgotos, Biogeoquímica do Mercúrio e Contaminações por derivados de Petróleo. E **da Silva, Gilmar Silvério** (É docente Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão - IFMA), Campus Monte Castelo. Tem experiência na área de Química Analítica, com ênfase em Análise de Traços e Química Ambiental, com linha de pesquisa em biogeoquímica de poluentes, análise de traços, transformações e especiação de poluentes, impactos ambientais e desenvolvimentos de métodos analíticos cromatográficos e técnicas de microextração em fase líquida de fármacos.

Na cor verde podem ser visualizadas 2 componentes conectadas em destaque: o pesquisador **Malm, Olaf** (Professor Titular, Chefe do Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca e ex-Diretor do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da UFRJ). Sua experiência tem ênfase em Contaminação Ambiental e Humana Por Metais Pesados e Micropoluentes Orgânicos Persistentes, atuando principalmente em ambientes aquáticos, mas com atenção especial nas vias de acesso de

micropoluentes ao homem. Seguindo do pesquisador: **Bastos, Wanderley Rodrigues**, Professor Associado III pelo Departamento de Biologia; Coordenador do Laboratório de Biogeoquímica Ambiental Wolfgang Christian Pfeiffer desde 1999 e Bolsista de Produtividade CNPq desde 2006. Coordenou de 2007 a 2009 a Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente da Universidade Federal de Rondônia e atualmente faz parte do seu Colegiado. Integra também os Programas de Pós-Graduação de Biofísica da UFRJ e a Rede BIONORTE. Atualmente, desenvolve estudos na área de: Ambiente & Saúde; Biofísica Ambiental; Biogeoquímica de Poluentes e Ecotoxicologia Aquática (Amazônia).

Na cor marrom podemos desatacar como maior componente o pesquisador **Dórea, José Garrofe**, Professor Titular (aposentado em 2014) e Professor Emérito - Universidade de Brasília (2014); com atividade docente na Univ. of Hawaii (USA - 1988) e UNICAMP (1989). Tendo atuado como principais linhas de pesquisa: Nutrição (Metabolismo Mineral - Zn, Ca, P, Cu, Se, Fe, I) e Ecotoxicologia (metais tóxicos - Hg, Pb, Sb; organoclorados - DDT, DDE; e interferentes endócrinos) nos seguintes temas: leite humano, biomarcadores, poluentes endócrino-ativos, toxicologia do mercúrio, saúde de populações (urbanas e ribeirinhos da Amazônia).

Na cor azul podemos destacar os seguintes pesquisadores: **Forsberg, Bruce Rider**, pesquisador titular III da Coordenação de Pesquisas em Ecologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (aposentado). Autor de mais que 70 artigos e 5 livros. Suas atuais áreas de interesse incluem: avaliação dos impactos da indústria de petróleo, biogeoquímica do mercúrio e carbono em ecossistemas fluviais, manejo do *Cichla spp.* e *Paracheirodon axelrodi* e desenvolvimento de robôs e sensores ambientais. **Kasper, Daniele** (Professora Adjunta do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ). Desempenha pesquisas nas áreas de Ecotoxicologia, Química Ambiental, Biogeoquímica, Limnologia e Ecologia de Ecossistemas. **Torrezani, Larissa** (Bacharel em Engenharia Química pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) e Mestre em Química Analítica Ambiental pela Universidade Federal do Amazonas - UFAM). Atualmente, trabalha como analista em geociências na Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (CPRM) - Serviço Geológico do Brasil. **Sargentini Jr, Ézio** (Atualmente é pesquisador do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia) e orientador desta Tese de Doutorado. Tem experiência na área de Química, com ênfase em Análise de Traços e Química Ambiental, atuando principalmente nos seguintes temas: substâncias húmicas aquáticas, rio Negro, fracionamento, ultrafiltração, tratamento de água com utilização de plantas, dióxido de nitrogênio e mercúrio na Amazônia. **Santana, Genilson Pereira** (Professor Titular da Universidade Federal do Amazonas. Possui vasta experiência em espectroscopia Mössbauer, Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier - FT-IR (minerais), Espectrometria de Absorção Atômica - AAS, Difração de Raios - DRX, Fluorescência de Raios X - FRX, Termogravimetria/Análise Térmica Diferencial - TG/DTA, Calorimetria de Varredura Diferencial - DSC, Tecnologia da Informação e

Comunicação - TIC e Química Ambiental, com ênfase em metais pesados (metais potencialmente tóxicos) e elementos-traço. Na área de Ensino de Química mantém o site Clube da Química (<http://www.clubedaquimica.com>) e o blog do Clube da Química (<http://www.blog.clubedaquimica.com>), Co-fundador e Editor Chefe da revista científica eletrônica interdisciplinar Scientia Amazonia (<http://www.scientia-amazonia.org/> ISSN 2238-1910). Atualmente, é diretor do Departamento de Inovação Tecnológica da Universidade Federal do Amazonas.

Na cor azul claro, o pesquisador **Zara, Luiz Fabrício** aparece como maior componente conectado a várias outras redes de autores. Atualmente é professor adjunto IV da Universidade de Brasília. Tem experiência na área de Química Analítica, com ênfase em Saúde e Ambiente. Possui experiência em projetos desenvolvidos na região Amazônica brasileira e no semiárido drástico do nordeste brasileiro sobre a qualidade da água e saúde humana. Em trabalhos mais recentes tem assessorando empreendimentos do setor hidrelétrico quanto a questões ambientais.

Na cor rosa temos o destaque do pesquisador **Padilha, Pedro de Magalhães**. Atualmente é professor/orientador do Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada do Instituto de Biociências/UNESP-Câmpus de Botucatu, do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da FMVZ/UNESP-Botucatu, Professor Adjunto do IB - Departamento de Química e Bioquímica/UNESP-Botucatu e Bolsista de Produtividade 1C do CNPq. Atua na linha de pesquisa em bioanalítica e metalômica/proteômica aplicada em amostras biológicas. Nessa área de atuação tem se destacado na identificação de biomarcadores de metais/metaloídeos tóxicos e essenciais, tendo coordenado mais de vinte projetos científicos e interagindo com diversos pesquisadores brasileiros e estrangeiros. A segunda maior componente conectada nesta rede de autores é o pesquisador **Vieira, José Cavalcante Souza**, concluiu o Doutorado no Programa de Pós Graduação em Biologia Geral e Aplicadas da UNESP-Botucatu/SP, com o projeto intitulado: Investigação de metalotioneínas em peixes da região de Jirau - bacia do rio Madeira - Rondônia 2017. Tem Pós-Doutorado em metaloproteômica do mercúrio em peixes pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS. Tem experiência em Biologia Molecular e Bioanalítica, atuando principalmente nos seguintes temas: preparo de amostras de interesse biológico; análises de Metais tóxicos e potencialmente tóxicos; biodisponibilidade de metais; metaloproteômica/proteômica de amostras de origem animal (tecidos muscular, hepático, leite materno, células de culturas, cabelo, entre outros), experiências em técnicas de eletroforese uni (SDS) e bidimensional (2D-PAGE), espectrometria de absorção atômica em forno de grafite e chama (GF-AAS, FAAS), ICP-OES, análises de dados de espectrometria de massas ESI MS/MS, digestão de amostras em forno de micro-ondas, etc. O terceiro maior destaque é designado pela pesquisadora **Buzalaf, Marília Afonso Rabelo**, atualmente é Professora Titular do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo. É coordenadora da Área de Saúde II (Odontologia) da FAPESP. Tem experiência na área

de Odontologia, com ênfase em Cariologia e Bioquímica Bucal, atuando principalmente nos seguintes temas: fluoretos, fluorose dentária, cárie dentária, erosão dentária, biofilme bacteriano, película adquirida, toxicologia, proteômica e resíduos químicos. **Bittarelo, Alis Correia** aparece logo em seguida como a 4ª maior componente mais citada, possui graduação em Zootecnia com Ênfase em Sistemas Orgânicos de Produção Animal pela Universidade do Estado de Santa Catarina (2010). Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (2013) e doutorado em Zootecnia (em andamento) pela FMVZ, Unesp, campus de Botucatu-SP. Linha de pesquisa em aquicultura: nutrição de peixes, avaliação de alimentos alternativos, proteômica e metalômica.

Na cor bege, houve um destaque equivalente para 2 autores que fazem conexão entre duas redes maiores (rosa e vermelha): **dos Santos, Felipe André**. Professor assistente Doutor e pesquisador da Faculdade de Ciências e Engenharia, da Universidade Estadual Paulista de Tupã. Tem experiência em Química Analítica Ambiental, Ecologia Aplicada e Bioquímica (impacto ambiental, coleta e preparo de amostras de interesse ambiental; fracionamento e caracterização de proteínas e metaloproteínas por eletrofores 2D-PAGE e espectrometria de massas; quantificação de elementos traços por espectrometria de absorção atômica e espectrometria de fluorescência atômica). **de Queiroz, João Vitor**, formado em Zootecnia pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho - Unesp/Botucatu. Mestre em Nutrição Animal junto ao Departamento de Química e Bioquímica da Unesp/Botucatu. Doutor em Produção Animal pela mesma Instituição. Possui experiência com análise bromatológica, bioquímica, eletroforese bidimensional, proteômica, metalômica, nutrição e produção animal. Disciplinas ministradas presencialmente e em EaD. Professor Substituto no Instituto Federal de Roraima, Campus Amajari até janeiro de 2020.

Na cor vermelha temos como maior componente a pesquisadora **Cavecci, Bruna**. Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (2011), mestrado em Zootecnia pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Unesp Botucatu (2014) e doutorado em Biologia Geral e Aplicada pelo Instituto de Biociências - UNESP - Botucatu (2017). Tem experiência na área de Bioquímica, com ênfase em Biologia Molecular, atuando principalmente nos seguintes temas: biologia molecular, proteômica, metalômica, mercúrio, 2d-Page e metaloproteínas. Na cor verde escura podemos destacar como componente em destaque que faz o elo entre os demais autores da rede o pesquisador **Padilha, Pedro de Magalhães**, já citado anteriormente.

No grafo de redes de autores e co-autorias em linha do tempo com até 2 citações (Figura 4) foi possível visualizar uma tendência no aumento de publicações principalmente entre os anos 2010-2015 no grupo dos pesquisadores (**Jardim, Wilson de Figueiredo; Bisinoti, Márcia Cristina; Fostier, Anne Helene; Fadini, Pedro Sérgio e da Silva, Gilmar Silvério**. Enquanto os pesquisadores (**Padilha, Pedro de Magalhães; Vieira, José Cavalcante Souza; Kasper Daniele, Zara; Luiz Fabrício; Bastos,**

Wanderley Rodrigues; Malm, Olaf; Dórea, José Garrofe; Torrezani, Larissa; Sargentini Jr, Ézio; Santana, Genilson; Bittarelo, Buzalaf, Marília Afonso Rabelo; Alis Correia dos Santos, Felipe André; de Queiroz, João Vitor e Cavecci, Bruna) contribuíram para as publicações mais atuais entre os anos de 2016-2020.

A rede de coautoria mostra que a comunidade acadêmica de mercúrio está mais concentrada na colaboração internacional, principalmente de grupos de pesquisa provenientes da Região Amazônica. É válido destacar que alguns autores em estudos mais recentes (CERBINO et al. 2017; MATOS et al. 2018; BITTARELLO et al. 2020; CAVECCI-MENDONÇA et al. 2020; VIEIRA et al. 2020; MANHÃES et al. 2021) denotam a aplicação de técnicas devotadas para análise de especiação de Hg, desde que sejam seguidas algumas condições especiais, tais como: melhoria no preparo de amostras, redução no número de etapas e consequentemente, menor manipulação da amostra, reduzindo possíveis perdas do(s) analito(s) e contaminações.

Melo Neto (2015) aborda a questão da constituição geoquímica dos solos da Amazônia (latossolo, argissolo, neossolo, gleissolo e cambissolo), os quais são ricos em Hg, por lixiviação fornecem este metal aos rios. Os solos apresentam concentrações de Hg diferentes, variando de 34,8 a 366,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (BASTOS et al. 2006).

Vários impactos antropogênicos são conhecidos dentro da região Amazônica, como atividades de mineração e pecuária, no entanto, a agricultura é atualmente a mais amplamente praticada atividade humana, e é, portanto, responsável pelo maior impacto. Foi demonstrado que os vários usos do solo podem ser refletidos em maiores concentrações de Hg em peixes devido ao aumento direto de Hg a partir dessas atividades (*e. g.* usar de fungicidas de mercúrio), ou através do aumento da lixiviação de Hg que ocorre naturalmente no solo (BISINOTI and JARDIM, 2004; SOUSA, 2014; OLIVEIRA, 2016).

Sargentini Junior et al. (2001), mostraram que o complexo metal-matéria orgânica tende a se estabilizar em função do tempo, ocorrendo rearranjos inter e/ou intramoleculares, com transferência da espécie metálica para os sítios de complexação mais internos das macromoléculas húmicas. Assim, o mercúrio aportado no solo alagável, via precipitação atmosférica e retido pela matéria orgânica, fica menos disponível para ser drenado via reações na interface solo/água (cheias) e para ser transportado para o compartimento atmosfera via processos de redução na interface solo/atmosfera (vazantes) (OLIVEIRA et al. 2001; MIRETZKY et al. 2005)

A variabilidade do estoque de mercúrio total no sedimento dos tributários e calha do rio Madeira é fortemente influenciada pelo carreamento e à lixiviação da matéria orgânica (ácidos húmicos/fúlvicos) e dos sólidos em suspensão, os quais são constituídos de argilominerais em sedimentos de várzea (MARTINELLI et al. 1993) e fluviais (LYONS and BIRD 1995); (GUYOT et al. 2007). Portanto, a

distribuição do mercúrio total nos diferentes compartimentos ambientais pode ter várias fontes ou origens, sendo a dinâmica do mercúrio na bacia Amazônica um processo que necessita de estudos mais detalhados e principalmente, aprimoramento nas diferentes etapas de processamento das amostras.

Além disso foi feita uma análise crítica sobre os resultados encontrados nessa busca. Dentre os trabalhos analisados, houve uma percepção de que a maior parte dos mesmos sugerem modificações que visam a melhoria das técnicas de determinação de espécies de Hg, em especial a fração orgânica.

Visando sempre o aprimoramento dos métodos de calibração de métodos analíticos, e em relação as determinações de mercúrio: o que pode ser o "melhor método" e pode competir com sucesso com técnicas analíticas mais difundidas. Ainda existe uma busca incessante pelo menor investimento e custos operacionais, alta velocidade, sensibilidade, universalidade e ampla aplicabilidade.

Para tanto, ainda se faz necessário melhorar o aprimoramento neste campo e ter mais atenção para a validação de métodos recentemente desenvolvidos. Sendo de grande importância enfrentar os desafios da realidade com a obtenção de medidas em curto espaço de tempo e a miniaturização das análises que são cada vez mais importantes para diagnósticos ambientais.

A principal motivação se deve ao fato de que os autores justificam que essas técnicas são as mais aparentes por serem mais acessíveis de serem aplicadas. No entanto, todos os autores pesquisados enfatizam as diferenças entre os processos aplicados, o que não retrataria a dificuldade técnica relacionada a cada ambiente que podem influenciar os processos químicos complexos, tais como: condições de temperatura, ferramentas utilizadas e as complexas interações químicas associadas a esses processos.

Desse modo estão destacados abaixo no (Quadro 1) uma parte dos 100 trabalhos que passaram nos critérios de seleção para compor esta revisão sistemática e que contextualizam a aplicação de diferentes técnicas analíticas para determinação de espécies de mercúrio nos últimos 20 anos.

Quadro 1. Análise dos resultados em destaque obtidos no Estado da Arte da Especificação Operacional/Regionalização (artigos, dissertações e teses) publicados nas bases de dados (Periódicos Capes, Oásis, “Google Scholar”, “Web of Science”, “Science Direct”, “Scielo” e “Pubmed”).

Objeto de Estudo	Analito	Parâmetros de Validação*					Análise Instrumental	Referência
		S	SS	R	LD	LQ		
Discutir fatores afetando o ciclo do mercúrio na bacia do rio Negro, com ênfase na matéria orgânica, radiação solar, hidrogênio, formação de peróxidos, sazonalidade e função do solo.	HgT e reativo, Hg orgânico, Mercúrio gasoso dissolvido (MGD).	x	x		x		CV-AFS.	(Silva, Jardim, and Fadini 2009).
Investigar a Química Redox do Hg na Bacia do rio Negro nos últimos 12 anos.	MGD, fluxos de Hg e HgT.		x		x	x	Bomba de ar DC Krypton acoplada a um medidor de vazão de gás com Armadilha de areia de ouro Brook Rands ligada ao CV-AFS.	(Jardim et al. 2010).
Estudo metalômico do mercúrio no músculo do peixe espécies do Amazonas, Brasil.	Hg em tecido muscular de peixes amazônicos.	x	x				Separação de proteínas por eletroforese em gel de poliacrilamida bidimensional e avaliação subsequente de mercúrio por radiação sincrotron com Fluorescência de raios-X (SR-XRF) e Decomposição térmica e amalgamação juntamente com absorção atômica (TTA-CAAS).	(Moraes et al. 2012).
Avaliar os níveis basais do estoque de mercúrio no sedimento associado às propriedades físicas e químicas dos materiais em diferentes tributários da bacia hidrográfica do rio Madeira – RO, que compõem a área de influência da Usina Hidrelétrica – Jirau.	HgT nos perfis de sedimento.	x	x				Espectroscopia atômica acoplado à sistema de geração de vapor a frio de mercúrio.	(Siqueira and Aprile 2012).
Medir Hg e MeHg no cérebro e nos tecidos musculares de espécies de bagres abundantes na Bacia Amazônica.	HgT e MeHg.	x	x	x	x	x	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Fluorescência Atômica com Vapor Frio (GC-CV-AFS).	(Bastos et al. 2015).
Comparar as concentrações de Hg nos compartimentos abióticos (água, sólidos em suspensão e sedimento) da seguinte forma: comparar os períodos hidrológicos e comparar a calha do rio Madeira com seus afluentes.	HgT e MeHg em água, material particulado e sedimento.	x					Geração de vapor de mercúrio a frio acoplada a espectroscopia de absorção atômica (CV-AAS); Espectrofotometria de Fluorescência acoplada ao sistema de geração de vapor frio e pré-concentração em coluna de ouro (CV-AAF).	(Melo Neto, 2015).

Identificar e Quantificar possíveis biomarcadores proteicos da toxicidade do mercúrio em amostra de leite humano de lactantes residentes em comunidades tradicionais do alto rio Madeira, no intuito de elucidar os possíveis mecanismos de transporte do mercúrio.	Mercúrio em amostra de leite humano e metaloproteínas.	x	x	x	x	x	Técnicas de proteômica/metalômica, tais como eletroforese unidimensional (SDS-PAGE) e (GF-AAS).	(Silva, 2015).
Investigar a existência de bioacumulação nas espécies na bacia do rio Negro e verificar se os teores de Hg encontrados estão em conformidade com o limite estipulado para consumo humano.	HgT em tecido de peixes amazônicos.			x	x		(CV-AAS).	(Soares et al. 2016).
Determinar Hg em sedimento da Bacia do Educandos a fim de estabelecer a distribuição superficial deste contaminante nas frações grosseiras e fina.	HgT em sedimento.	x	x	x	x	x	(DMA).	(Torrezani et al. 2016).
Estudo de bioacessibilidade in vitro de HgT de tecido muscular de peixes mais consumidos na Amazônia.	HgT em tecido de peixes amazônicos.	x	x	x	x	x	Analizador Direto de Mercúrio (DMA); Injeção em fluxo com geração de vapor frio acoplado a espectrometria de absorção atômica (FI-CV-AAS).	(Nakatsubo, 2017).
Avaliar possíveis biomarcadores de proteína de exposição ao Hg em amostras de leite materno de mulheres a amamentar na Madeira e Rios Negro na Amazônia Brasileira.	HgT em amostras de leite materno (fresco e liofilizado), pelotas e manchas de proteína.	x	x	x	x	x	Eletroforese Bidimensional (2D-PAGE); Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF-AAS).	(Cerbino et al. 2017).
Descrever uma nova amostragem de lama método para determinação de mercúrio por GF-AAS, usando músculo e amostras de tecido hepático de peixes da Amazônia brasileira.	HgT em tecido muscular e hepático de peixes amazônicos.	x	x	x	x	x	(GF-AAS).	(Queiroz et al. 2017).
Caracterizar metalotioneínas como biomarcadoras de toxicidade de mercúrio.	Hg em amostras de tecido muscular e hepático de peixes coletados no reservatório da Usina Hidrelétrica de Jirau – no rio Madeira.	x	x	x	x	x	(2D-PAGE); (GF-AAS); (ESI-MS/MS); Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).	(Mendonça, 2017).

Analisar a presença e concentração de HgT no músculo, fígado e brânquias de <i>B. falcatus</i> , e calcular o risco para a saúde humana de Contaminação por HgT pela ingestão do peixe.	HgT no músculo, fígado e brânquias de <i>B. falcatus</i> .	x	x	x	x	x	(CV-AAS).	(Matos et al. 2018).
Determinar a concentração de HgT em duas espécies de peixes amazônicos, bem como mapear o proteoma obtido por 2D-PAGE para pesquisar manchas de proteína contendo mercúrio.	HgT no tecido muscular de peixes amazônicos.	x	x	x	x	x	(2D-PAGE); (GF-AAS); Espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS/MS).	(Vieira et al. 2020).
Estudo metaloproteômico de Hg em de tecido muscular e hepático da espécie. <i>Serrasalmus rhombeus</i> (piranha negra; Identificação de biomarcadores de Hg.	HgT em tecido de peixes amazônicos.			x			(2D-PAGE); (GF-AAS); (ESI-MS/MS).	(Queiroz et al. 2020).
Avaliar a contaminação por Hg da Antártica ambiente usando amostragem não destrutiva de pinguins para avaliar o Hg circulando em seu sangue e se acumulando em suas penas.	Níveis de mercúrio total (HgT) e metilmercúrio (MeHg) entre a) três espécies de pinguins; b) adultos e filhotes e c) machos e fêmeas.	x	x	x	x		(CV-AAS); Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Fluorescência Atômica com Vapor Frio (GC-CV-AFS).	(Souza et al. 2020).
Validação de um método analítico para a determinação da fração de Hg lábil em SST em amostras de água.	HgL em SST em água do rio Negro.	x	x	x	x	x	(DMA) e (CV-AFS).	(Rocha et al. 2020).
Caracterizar o totalmercúrio (THg), metilmercúrio (MeHg) e selênio (Se) bioacumulação e carga corporal na Guianagolfinhos da Baía de Sepetiba (RJ) coletados antes e durante a UME.	Determinar as concentrações de THg, MeHg e Se em músculo e fígado de golfinho da Guiana da Baía de Sepetiba, RJ.	x	x	x	x	x	(CV-AAS); (CV-AFS).	(Manhães et al. 2021).
Avaliar os aspectos geoquímicos que favorecem a distribuição de mercúrio lábil no sedimento do reservatório de Balbina.	HgT e HgL em sedimento.	x	x	x	x	x	(DMA) e (CV-AFS)	(Silva Oliveira et al. 2021).

*Legenda: S – Seletividade; SS – Sensibilidade; R - Reprodutibilidade; LD – Limite de Detecção e LQ – Limite de Quantificação.

Os resultados dos autores selecionados na revisão sistemática que estão apresentados no (Quadro 1) ilustram que as técnicas de pré-preparo de amostras revisando as frações operacionais e a importância do controle de qualidade nas análises de especiação, tais como: extração sequencial em matrizes sólidas (solos e sedimentos) e cartas de controle de especiação operacional evoluíram com uso

de novas ferramentas tecnológicas através de uma base sistemática e ligação com a revolução da era digital, com a utilização de sensores adaptados e conectados a redes de telefonia móveis que permitem o monitoramento de parâmetros ambientais em tempo real .

Os dados do Quadro 1 indicam uma diversidade de matrizes que precisam ser trabalhadas em diferentes formas (sedimentos, solos, tecidos biológicos, enzimas, dentre outros.) inorgânicos (óxidos, metálicos, íons complexos, etc.) e organometálicos (MeHg, EtHg). Constatou-se que a grande parte dos analitos são compostos metálicos, organometálicos e biológicos, com aplicações na área da saúde e meio ambiente. Tais aplicações objetivam uma melhora na qualidade de vida da sociedade, devido a detecção e monitoramento de diversas substâncias frente a ação antrópica, tais como o uso de defensivos agrícolas, mineração artesanal e estudo de perfis biológicos.

3.2 Técnicas analíticas para a determinação das espécies de Hg

Assim como foi destacado no estudo sobre especiação operacional de Ferreira e Santana (2012), diferentes técnicas analíticas instrumentais ainda têm sido utilizadas para a determinação de metais nas mais diversas matrizes. Dentre elas, destacam-se: a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (AAS), a Espectrometria de Absorção Atômica com atomização Eletrotérmica (ET-AAS) ou com forno de grafite (GF-AAS), Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Fluorescência Atômica com Vapor Frio (GC-CV-AFS), a Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (HG-AAS) ou com Vapor Frio (CV-AAS), a Decomposição térmica e Amalgamação juntamente com Absorção Atômica (TTA-CAAS), Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray (ESI-MS/MS), a espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), a Espectrometria de Massas com Plasma Induzido (ICP-MS), as Técnicas de Proteômica/Metalômica, tais como Eletroforese Unidimensional (SDS-PAGE) e Eletroforese Bidimensional (2D-PAGE);

Dentre todas as técnicas analíticas utilizadas para detecção, grande atenção tem sido dada ao DMA, que é considerada uma técnica não muito sensível para a especiação, pois opera em nível de concentração (ng mL^{-1}). No entanto, é possível aumentar a sensibilidade da técnica associando o emprego da técnica de especiação por gradiente de difusão em filmes finos (DGT). Outra questão que a torna favorável, é seu baixo custo frente a outras técnicas mais utilizadas, como o CV-AFS.

Diante disto ela é já considerada uma técnica de maior potencial de uso em análises de rotina, onde o custo, alta reprodutibilidade e resultados confiáveis tornam-se fatores determinantes para a escolha deste método. A especiação de Hg pelo DMA também poderia superar possíveis inconvenientes encontrados na determinação por CV-AFS, como a redução de geração de resíduos, como o cloreto estano.

Atualmente, observa-se um aumento no interesse por estudos referentes a ferramentas analíticas com maior reprodutibilidade, seletividade, sensibilidade, baixo custo, miniaturização, portáteis, de fácil manuseio e com elevada capacidade analítica. E na maioria dos estudos com matrizes biológicas, foi destacada a metalômica, sendo esta uma ferramenta de inovação no mundo e, no Brasil, existem pouquíssimos grupos de pesquisa trabalhando com essa metodologia. É uma técnica diferente da tradicional porque consiste na separação das proteínas para depois se ver em qual proteína o metal, neste caso o mercúrio, está complexado, ligado. E como o Hg tem várias aplicações, inclusive como conservante de vacina e cosméticos.

Logo, a exposição a níveis elevados de mercúrio pode afetar o sistema nervoso central, o coração, os rins, os pulmões e o sistema imune à nível trófico na cadeia alimentar. Desse modo, a inovação do estudo das ômicas associados a metais tóxicos no ambiente, em especial as espécies orgânicas de Hg, são uma importante contribuição atual para investigação da distribuição desse metal no ambiente, principalmente, em matrizes biológicas.

Neste contexto Silva et al. (2021) destaca que a determinação de Hg é de fundamental importância para avaliar os possíveis impactos causados no meio ambiente. Portanto, se faz necessário o desenvolvimento e aprimoramento de métodos para determinação de Hg em amostras biológicas também é necessário, devido aos problemas relacionados à extração e preservação do analito na amostra e ao método de quantificação empregado.

Nos próximos capítulos desta Tese serão apresentadas otimizações em procedimentos analíticos para determinação de mercúrio lábil em conteúdo dos sólidos em suspensão total e metilmercúrio por meio da técnica de pré-concentração em filmes finos (DGT) observando a comparação sistemática entre duas técnicas: DMA e CV-AFS.

4. CONCLUSÕES

- Embora em sua grande maioria existam trechos com pouca atividade humana, as concentrações de Hg na bacia Amazônia são relativamente altas.
- A presença natural de Hg em solos e a deposição atmosférica são as principais fontes deste metal.
- O aumento na quantidade de publicações com procedimentos operacionais reflete a importância da especiação de Hg na Amazônia como um dos principais tópicos de estudos para análises químicas.
- Outro critério norteador é a busca pela miniaturização das análises, facilidade de manuseio e aplicação pelo usuário. Dessa forma, as perspectivas futuras são otimizações que permitam maior seletividade, sensibilidade, repetibilidade e reprodutibilidade, a fim de se obter técnicas analíticas cada vez mais sensíveis e robustas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASTOS, W. R., DÓREA, J. G., BERNARDI, J. V. E., LAUTHARTTE, L. C., MUSSY, M. H., HAUSER, M., DÓRIA, C. R. DA C. and MALM, O. 2015. "Mercury in Muscle and Brain of Catfish from the Madeira River, Amazon, Brazil." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 118: 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.015>.
- BASTOS, W. R., GOMES, J. P. O, OLIVEIRA, R. C., ALMEIDA, R., NASCIMENTO, E. L., BERNARDI, J. V. E., LACERDA, L. D. DE, SILVEIRA, E. G. DA and PFEIFFER, W. C. 2006. "Mercury in the Environment and Riverside Population in the Madeira River Basin, Amazon, Brazil." *Science of the Total Environment* 368 (1): 344–51. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.09.048>.
- BISINOTI, M. C., and JARDIM, W. F. 2004. "O Comportamento do Metilmercúrio (MeHg) No Ambiente." *Química Nova* 27 (4): 593–600. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422004000400014>.
- BITTARELLO, A. C., VIEIRA, J. C. S., BRAGA, C. P.; BATAGLIOLI, OLIVEIRA, I. da C., ROCHA, G. de L. C., ZARA, L. F., BUZALAF, M. A. R., OLIVEIRA, L. C. S., ADAME, J., PADILHA, P. de M. 2020. "Metalloproteomic Approach of Mercury-Binding Proteins in Liver and Kidney Tissues of Plagioscion Squamosissimus (Corvina) and Colossoma Macropomum (Tambaqui) from Amazon Region: Possible Identification of Mercury Contamination Biomarkers." *Science of the Total Environment* 711: 134547. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134547>.
- CAVECCI-MENDONÇA, B., VIEIRA, J. C. de S., LIMA, P. M. de, LEITE, A. L., BUZALAF, M. A. R., ZARA, L. F. and Padilha, P. de M. 2020. "Study of Proteins with Mercury in Fish from the Amazon Region." *Food Chemistry* 309 (September 2019): 125460. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125460>.
- CERBINO, M. R., VIEIRA, J. C. S., BRAGA, C. P., OLIVEIRA, G., PADILHA, I. F., SILVA, T. M., ZARA, L. F., SILVA, N. J. and PADILHA, P. M.. 2017. "Metalloproteomics Approach to Analyze Mercury in Breast Milk and Hair Samples of Lactating Women in Communities of the Amazon Basin, Brazil." *Biological Trace Element Research* 181 (2): 216–26. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1057-4>.
- FERREIRA, P. R. G., and SANTANA, G. P.. 2012. "Tratamento Químico Seletivo: Uma Especificação Operacional" v. 1, n.3: 40–48.
- GONÇALES FILHO, M., Campos, F. C. de, and Assumpção, M. R. P. 2016. "Revisão Sistemática Da Literatura Com Análise Bibliométrica Sobre Estratégia e Manufatura Enxuta Em Segmentos Da Indústria." *Gestao e Producao* 23 (2): 408–18. <https://doi.org/10.1590/0104-530X1683-14>.

- GUYOT, J. L., JOUANNEAU, J. M., SOARES, L., BOAVENTURA, G. R., MAILLET, N. and LAGANE, C. 2007. "Clay Mineral Composition of River Sediments in the Amazon Basin." *Catena* 71 (2): 340–56. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2007.02.002>.
- JARDIM, W. F., BISINOTI, M. C., FADINI, P. S. and SILVA, G. S. da. 2010. "Mercury Redox Chemistry in the Negro River Basin, Amazon: The Role of Organic Matter and Solar Light." *Aquatic Geochemistry* 16 (2): 267–78. <https://doi.org/10.1007/s10498-009-9086-z>.
- KASPER, D., FORSBERG, B. R., ALMEIDA, R. DE, BASTOS, W. R. and MALM, O. 2015. "Metodologias de Coleta, Preservação e Armazenamento de Amostras de Água Para Análise de Mercúrio - Uma Revisão." *Quimica Nova* 38 (3): 410–18. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150020>.
- KASPER, D., FORSBERG, B. R., AMARAL, J. H. F. LEITÃO, R. P., PY-DANIEL, S. S., BASTOS, W. R. and MALM, O. 2014. "Reservoir Stratification Affects Methylmercury Levels in River Water, Plankton, and Fish Downstream from Balbina Hydroelectric Dam, Amazonas, Brazil." *Environmental Science and Technology* 48 (2): 1032–40. <https://doi.org/10.1021/es4042644>.
- KASPER, D., FORSBERG, B. R., AMARAL, J. H. F., PY-DANIEL, S. S., BASTOS, W. R. and MALM, O. 2017. "Methylmercury Modulation in Amazon Rivers Linked to Basin Characteristics and Seasonal Flood-Pulse." *Environmental Science and Technology* 51 (24): 14182–91. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04374>.
- KUROWSKA-SUSDORF, A., ZWIERZĄDŹYŃSKI, M., BEVANDA, A. M., TALIĆ, S., IVANKOVIĆ, A. AND PŁOTKA-WASYŁKA, J. 2019. "Green Analytical Chemistry: Social Dimension and Teaching." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 111: 185–96. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.022>.
- LENOIR, D., SCHRAMM, K. W., AND LALAH, J. O. 2020. "Green Chemistry: Some Important Forerunners and Current Issues." *Sustainable Chemistry and Pharmacy* 18 (March): 100313. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100313>.
- LEOPOLD, K., Foulkes, M. and Worsfold, P. 2010. "Methods for the Determination and Speciation of Mercury in Natural Waters-A Review." *Analytica Chimica Acta* 663 (2): 127–38. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.01.048>.
- LYONS, W. B., and BIRD, D. A. 1995. "Geochemistry of the Madeira River, Brazil: Comparison of Seasonal Weathering Reactions Using a Mass Balance Approach." *Journal of South American Earth Sciences* 8 (1): 97–101. [https://doi.org/10.1016/0895-9811\(94\)00044-3](https://doi.org/10.1016/0895-9811(94)00044-3).
- MANHÃES, B. M.R., SANTOS-NETO, E. B., TOVAR, L. R., GUARI, E. B., FLACH, L., KASPER, D., GALVÃO, P. M. A., MALM, O., GONÇALVES, R. A., BISI, T. L., AZEVEDO, A.

- F., LAILSON-BRITO, J. 2021. "Changes in Mercury Distribution and Its Body Burden in Delphinids Affected by a Morbillivirus Infection: Evidences of Methylmercury Intoxication in Guiana Dolphin." *Chemosphere* 263. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128286>.
- MARTINELLI, L., BRAGAGNA, P., POLETTI, V. and SCIENZA, A. 1993. "Somatic Embryogenesis from Leaf- and Petiole-Derived Callus of Vitis Rupestris." *Plant Cell Reports* 12 (4): 207–10. <https://doi.org/10.1007/BF00237055>.
- MATOS, L. S. de, SILVA, J. O. S., KASPER, D. and CARVALHO, L. N. 2018. "Assessment of Mercury Contamination in Brycon Falcatus (Characiformes: Bryconidae) and Human Health Risk by Consumption of This Fish from the Teles Pires River, Southern Amazonia." *Neotropical Ichthyology* 16 (1): 1–12. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20160106>.
- MELO NETO, M. V. de. 2015. "Avaliação Da Dinâmica Do Mercúrio (Hg) Na Bacia Do Rio Madeira Nos Ambientes Lêntico e Lótico." *Dissecação de Mestrado Em Meio Ambiente e Desenvolvimento Rural - Universidade de Brasília: Planaltina - DF* 16 (2): 39–55. <https://doi.org/10.1377/hlthaff.2013.0625>.
- MENDONÇA, B. C. 2017. "ESTUDO DE PROTEÍNAS ASSOCIADAS AO MERCÚRIO EM PEIXES DA REGIÃO AMAZÔNICA." *Tese de Doutorado Em Biologia Geral e Aplicada: Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP-SP*, 122 p.
- MIRETZKY, P., BISINOTI, M. C., JARDIM, W. F. and ROCHA, J. C. 2005. "Factors Affecting Hg (II) Adsorption in Soils from the Rio Negro Basin (Amazon)." *Química Nova* 28 (3): 438–43. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300014>.
- MORAES, P. M., SANTOS, F. A., PADILHA, C. C. F., VIEIRA, J. C. S.; ZARA, L. F. and PADILHA, P. de M. 2012. "A Preliminary and Qualitative Metallomics Study of Mercury in the Muscle of Fish from Amazonas, Brazil." *Biological Trace Element Research* 150 (1–3): 195–99. <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9502-x>.
- NAKATSUBO, M. A. S. 2017. "Bioacessibilidade de Hg Em Peixes de Diferentes Níveis Tróficos, Originário Da Amazônia." *INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGETICAS E NUCLEARES (Dissertação de Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais) - SP*, 67 p.
- OLIVEIRA, C. A. da S. 2016. "DISTRIBUIÇÃO DO MERCÚRIO LÁBIL NO SEDIMENTO DO RESERVATÓRIO DE BALBINA - AM/BRASIL." *Programa de Pós-Graduação Em Química (Dissertação de Mestrado) - Universidade Federal Do Amazonas: UFAM, Manaus - AM*, 79 p.
- OLIVEIRA, C. A. da S., DANIELE KASPER, ÉZIO SARGENTINI JUNIOR, MARCOS ALEXANDRE BOLSON, LARISSA TORREZANI, AND LUIZ FABRÍCIO ZARA. 2021. "Influence of Environmental Conditions on the Mercury Levels of the Sediment along the Balbina Reservoir,

Brazilian Amazon.” *Environmental Monitoring and Assessment* 193 (1). <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08837-7>.

OLIVEIRA, S. M. B. de, MELFI, A. J., FOSTIER, A. H., FORTI, M. C., FÁVARO, D. I. T. and BOULET, R. 2001. “Soils as an Important Sink for Mercury in the Amazon.” *Water, Air, and Soil Pollution* 126 (3): 321–37. <https://doi.org/10.1023/A:1005239627632>.

QUEIROZ, J. V. de, CAVECCI-MENDONÇA, B., VIEIRA, J. C. S., MARTINS, R. A., ASSUNÇÃO, A. S. de A., CAVALLINI, N. G., SANTOS, F. A. dos, and PADILHA, P. de M. 2020. “Metalloproteomic Strategies for Identifying Proteins as Biomarkers of Mercury Exposure in *Serrasalmus Rhombeus* from the Amazon Region.” *Biological Trace Element Research* 199 (2): 712–20. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02178-9>.

QUEIROZ, J. V. de, VIEIRA, J. C. S., BATAGLIOLI, I. da C., BITTARELLO, A. C., BRAGA, C. P., OLIVEIRA, G. de, PADILHA, C. do C. F. and PADILHA, P. de M. 2017. “Total Mercury Determination in Muscle and Liver Tissue Samples from Brazilian Amazon Fish Using Slurry Sampling.” *Biological Trace Element Research* 184 (2): 517–22. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1212-y>.

ROCHA, S. D. da, TORREZANI, L., BOLSON, M. A., SARGENTINI JUNIOR, E., SILVA, R. F. da and MENEGÁRIO, A. A. 2020. “Determination of Labile Mercury in Impressions of Total Solids Suspended in Natural Waters by Direct Analysis by Thermal Decomposition Comparing via Cold Steam Atomic Fluorescence Spectrometry.” *Revista Virtual de Química* 12 (6): 1398–1410. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200108>.

SARGENTINI JUNIOR, É., ROCHA, J. C., ROSA, A. H., ZARA, L. F., and SANTOS, A. dos. 2001. “Substâncias Húmicas Aquáticas: Fracionamento Molecular e Caracterização de Rearranjos Internos Após Complexação Com Íons Metálicos.” *Química Nova* 24 (3): 339–44. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422001000300010>.

SILVA, G. S. da, JARDIM, W. F., and FADINI, P. S. 2009. “Photochemical Dissolved Gaseous Mercury (DGM) Formation/Consumption in the Negro River Basin, Brazilian Amazon.” *Journal of the Brazilian Chemical Society* 20 (8): 1549–55. <https://doi.org/10.1590/s0103-50532009000800023>.

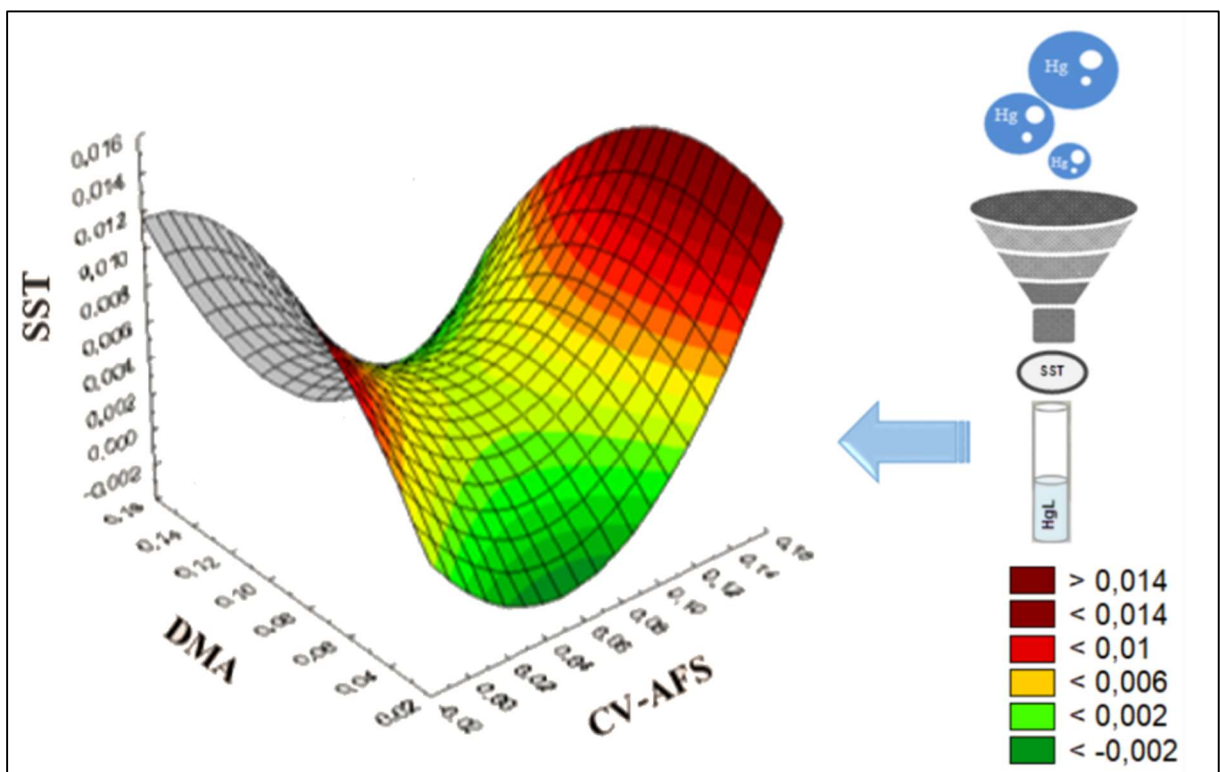
SILVA, R.F. da, ROCHA, S. D. da, MENEGÁRIO, A. A., PEDROBOM, J. H., SULATO, E. T., LUKO, K. S., OLIVEIRA, L. M. de S., ELIAS, L. P. and SARGENTINI JUNIOR, É. 2021. “Determinação de Mercúrio Em Fígado de Tetrápodes Marinhos Por Espectrometria De Fluorescência Atômica Acoplada a Geração de Vapor Frio (CV-AFS) e Espectrometria De Massa Com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS): Uma Comparação Sistemática Entre” 44 (1): 64–69.

- SILVA, T. M.da. 2015. “Metalômica Aplicada ao Estudo de Toxicidade do Mercúrio Em Amostras de Leite Humano Coletadas de Lactantes Residentes Em Comunidades do Alto Rio Madeira, Rondônia, Brasil.” *Dissertação (Mestrado Em Meio Ambiente e Desenvolvimento Rural - Universidade de Brasília: Brasília - DF)*, 116 p.
- SIQUEIRA, G. W., and APRILE, F. M. 2012. “Distribuição de Mercúrio Total em Sedimentos da Plataforma Continental Amazônica - Brasil.” *Acta Amazonica* 42 (2): 259–67. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672012000200012>.
- SOARES, J. L. F., GOCH, Y. G. F., PELEJA, J. R. P., FORSBERG, B. R., LEMOS, E. J. S. and SOUSA O. P. 2016. “Bioacumulação de Mercúrio Total (HgT) e Hábitos Alimentares de Peixes Da Bacia Do Rio Negro, Amazônia, Brasil.” *Biota Amazônia* 6 (1): 102–6. <https://doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v6n1p102-106>.
- SOUSA, A. do S. C. de A. 2014. “ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS DOS RINS DE MACACOS PREGO, *Cebusapella* (Linnaeus 1758) APÓS EXPOSIÇÃO CRÔNICA A BAIXAS DOSES DE METILMERCÚRIO.” *Programa de Pós-Graduação Em Neurociências e Biologia Celular (Tese de Doutorado) Universidade Federal Do Pará - Instituto de Ciências Biológicas: UFPA, Belém -PA*, 115 p.
- SOUZA, J. S., KASPER, D., CUNHA, L. S. T. da, SOARES, T. A. PESSOA, A. R. de LIRA, CARVALHO, G. O. de, COSTA, E. S., NIEDZIELSKI, P. and TORRES, J. P. M. 2020. “Biological Factors Affecting Total Mercury and Methylmercury Levels in Antarctic Penguins.” *Chemosphere* 261. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127713>.
- TORREZANI, L., SARGENTINI JUNIOR, É., OLIVEIRA, C. A. de and SANTANA, G. P. 2016. “Índice De Geoacumulação De Mercúrio Na Bacia Do Igarapé Do Educandos (Manaus/Amazonas).” *The Journal of Engineering and Exact Sciences* 2 (3): 161–70. <https://doi.org/10.18540/jcecvl2iss3pp161-170>.
- VIEIRA, J. C. S., OLIVEIRA, G. de, BRAGA, C. P., FERNANDES, M. da S., MORAES, P. M. de BUZALAF, M. A. R., OLIVEIRA, L. C. S. de, and PADILHA, P. de M. 2020. “Parvalbumin and Ubiquitin as Potential Biomarkers of Mercury Contamination of Amazonian Brazilian Fish.” *Biological Trace Element Research* 197 (2): 667–75. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02026-w>.
- ZARA, L. F., SANTOS, A. dos, ROCHA, J. C., PADILHA, P. de M., and JARDIM, W. de F. 2017. *Biomarcadores de Toxicidade de Mercúrio Aplicados Ao Setor Hidrelétrico Na Região Amazônica. São Carlos: Editora Cubo. 36p.*

Capítulo V

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

Infográfico



O gráfico da superfície de resposta apresenta a comparação das variáveis independentes geradas pelo estudo comparativo entre as técnicas DMA e CV-AFS. Através da análise da gráfica fica evidente que há um aumento na concentração de mercúrio lábil (HgL) à medida que o conteúdo de sólidos suspensos totais aumenta (SST). Fonte: Próprio Autor, 2020.

Abstract

This work presents the validation of an analytical method for determining the lip fraction of Hg in water bottles. One proposal was reduced in reducing the temperature of glass fiber glass filters (0.7 μm GF / F), so that there was no loss of Hg. After the digestion step with concentrated HNO_3 (EPA 3051a), as HgL determinations were performed by the direct mercury analyst (DMA), confirm by the comparative method of steam vapor atomic fluorescence spectrometry (CV-AFS). A concentration of HgL applied by the DMA technique ranged from 0.044 to 0.145 ng mL^{-1} , while CV-AFS varied from 0.002 to 0.138 ng mL^{-1} . Regarding recovery, the results obtained for both methods were 113.6% and 107.0%, respectively. An analysis of the results showed that there was no statistically significant difference ($p < 0.05$), showing good accuracy of the technical proposal. The evaluation of the displayed response surface, which measures the total content (TSS), increases, the HgL concentration also increases. ANOVA showed statistical significance when the independent variables were correlated with the content of the TSS (95% level). Thus, as the analyzes that determine the determination of HgL in the TSS of river water are possible via DMA, as long as the boundary conditions (temperature control and cleaning of glassware) are followed.

Keywords: labile mercury; suspended solids; analytical validation.

Resumo

Este trabalho apresenta a validação de um método analítico para a determinação da fração lábil de Hg em amostras de água. A proposta foi baseada na redução da temperatura de secagem dos filtros de fibra de vidro (0,7 μm GF/F), para que não houvesse perda de Hg. Após a etapa de digestão com HNO_3 concentrado (EPA 3051a), as determinações de HgL foram obtidas pelo Analisador de Mercúrio Direto (DMA), confirmando pelo método comparativo de Espectrometria de Fluorescência Atômica a Vapor Frio (CV-AFS). A concentração de HgL obtida pela técnica de DMA variou de 0,044 a 0,145 ng mL^{-1} , enquanto que para CV-AFS variou de 0,002 a 0,138 ng mL^{-1} . Em relação à recuperação, os resultados obtidos para ambos os métodos foram de 113,6 % e 107,0 %, respectivamente. A análise dos resultados mostrou que não houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$), mostrando boa precisão da técnica proposta. A avaliação da superfície de resposta mostrou que, à medida que o conteúdo total de sólidos (SST) aumenta, a concentração de HgL também aumenta. A ANOVA apresentou significância estatística quando as variáveis independentes foram correlacionadas com o conteúdo do SST (nível de 95%). Assim, as análises mostraram que a determinação de HgL em SST da água fluvial é possível via DMA, desde que as condições de contorno (controle de temperatura e limpeza de vidrarias) sejam seguidas.

Palavras-chave: mercúrio lábil; sólidos suspensos; validação analítica.

CAPÍTULO V

1. INTRODUÇÃO

No meio aquático há ocorrência acentuada de uma ampla gama de íons metálicos e altas taxas de metais associados a matéria orgânica. Sendo as principais fontes destes metais, decorrentes de atividades industriais, ou mesmo, naturais, associadas a geologia local. Dentre estes metais, destaca-se o mercúrio, por conta do seu ciclo biogeoquímico e por apresentar uma série de transformações e interações com constituintes dos diversos compartimentos ambientais: água, ar, solo e biota. E mesmo que em baixas concentrações no ambiente pode representar sérios riscos de bioacumulação e biomagnificação, sendo possível tornar-se uma fonte potencialmente tóxica à nível trófico na cadeia alimentar (BISINOTI e JARDIM, 2004; KASPER *et al.*, 2014; BRITO *et al.*, 2017).

Estudos em rios de regiões de climas temperados demonstraram que os parâmetros limnológicos são importantes controladores do transporte e da metilação do mercúrio (BALOGH, NOLLET e SWAIN, 2004; BRIGHAM *et al.*, 2011; BRADLEY *et al.*, 2011). Este ciclo é caracterizado por várias rotas que este metal pode seguir no ambiente. Dentre elas, destaca-se a sua liberação do solo e da água para atmosfera, seu transporte nesta seguido da deposição atmosférica das espécies de mercúrio para a água e solo.

Dessa forma ressalta-se a importância do estudo do material em suspensão, pois este é um dos parâmetros que está intrinsecamente relacionado com o processo de exportação do metal pelo leito do rio. Sendo que o aporte de partículas e nutrientes sólidos carregados para o ambiente aquático é facilitado pela hidrodinâmica, pela geomorfologia, pelo desmatamento, pelos índices pluviométricos e pelo vento. Lembrando que a disponibilidade de luz no ecossistema aquático também influencia diretamente no metabolismo desses materiais em suspensão (PEREIRA-FILHO, 2000).

Neste contexto, a determinação das frações de sólidos presentes na água, fornece uma informação importante para a caracterização de águas naturais. Contudo, as legislações estabelecidas por órgãos ambientais ainda não possuem limites de referência para o teor de mercúrio retido no material particulado em suspensão em corpos hídricos. Considerando que o aumento da taxa de sedimentação no fundo dos rios também influencia as características dos sedimentos, podendo afetar o processo geoacumulativo e de acumulação biológica de metais. Desse modo deveria haver um monitoramento mais efetivo da associação do Hg lábil ao material particulado em suspensão e ao seu tempo de permanência nos diferentes compartimentos ambientais (SILVÉRIO, 2003; BAIRD e CANN, 2012).

Algumas pesquisas também abordam a correlação entre metais e o tamanho da partícula dos sedimentos, sugerindo que partículas mais finas contenham concentração mais elevada de metais (MUDROCH e MACKNIGHT, 1997; FADINI e JARDIM, 2001).

Bisinoti e Jardim (2004) destacaram que no Brasil, a região amazônica é a área mais estudada por apresentar altos valores de Hg. Embora, ainda não tenham sido confirmados quais são os parâmetros limnológicos que influenciam mais fortemente na dinâmica do mercúrio e se esta influência varia ao longo do ano.

Kasper e colaboradores (2014) evidenciaram que os estudos sobre o ciclo do mercúrio na Amazônia enfrentam dois problemas importantes: a complexa logística de campo e concentrações naturais que podem ser muito baixas, além da grande dificuldade em acessar certos ambientes de coleta. As amostras podem ter um curto prazo de validade devido à grande suscetibilidade do Hg a perdas por falta de controle térmico, aos frascos adequados de coleta e ao uso de fixadores. Portanto, devem ser rapidamente transportadas para o local de análise.

As técnicas utilizadas devem ter baixo limite de detecção, uma vez que as matrizes possuem baixas concentrações de mercúrio em ambientes naturais e podem ser facilmente contaminadas nas condições de campo. Tais contaminações podem ocorrer durante qualquer etapa da amostragem, até mesmo antes, se considerarmos que a etapa de limpeza dos frascos de coleta não foi efetiva, além da manipulação inadequada dos frascos durante a amostragem e o seu transporte para o laboratório, as múltiplas etapas de processamento da amostra também podem causar perdas do analito de interesse.

A proposta de adaptação da técnica usualmente empregada para determinação de sólidos em suspensão totais em águas naturais, apresenta uma série de vantagens, como: sua simplicidade, a qual permite seu emprego em qualquer amostra de água, apenas necessitando de ajustes de temperatura para etapa de secagem dos filtros e adição de mais uma etapa de digestão por micro-ondas para obter o digerido contendo o metal.

As técnicas de instrumentação analíticas geralmente empregadas são as que fornecem altos níveis de sensibilidade da leitura dos digeridos, e o método existente mais utilizado é baseado na técnica de geração de vapor a frio acoplada com espectrometria de fluorescência atômica (CV-AFS). Outras técnicas também podem ser empregadas por serem dedicadas, como o analisador direto de mercúrio (DMA). Esta técnica é utilizada para análise de Hg total e não de sua fração lábil. Por isso há interesse em realizar a validação desse método para que possa ser utilizado para análise de Hg lábil.

Recentemente, Pestana e colaboradores (2019) desenvolveram um método para determinação de HgT e MeHg em amostras de água, materiais em suspensão e sedimentos de um lago artificial do rio Madeira. Durante a etapa de obtenção dos materiais em suspensão, propuseram a utilização de filtro de

fibra de vidro com porosidade 0,7 μm (GF/F), acidificando com HCl e mantendo preservado sob refrigeração. Em seguida foram feitas a liofilização dos filtros por (FreezeDry System) e logo em sequência, as determinações do Hg presente no material em suspensão e sedimento por Espectrometria de absorção atômica por geração de vapor a frio acoplado a cromatografia gasosa (GC-CV-AFS).

Neste estudo a especiação de mercúrio foi feita através da derivatização química, onde geralmente é utilizado tetraetilborato de sódio, tetra (n-propil) borato de sódio ou tetrafenilborato de sódio, proporcionando uma reação rápida na produção de espécies de mercúrio altamente voláteis que são separadas na cromatografia coluna antes da detecção. Em seus resultados, afirmaram que o Hg total apresentou maior afinidade pelo material em suspensão do que pela matéria orgânica dissolvida, apontando que os SST podem ser transportadores muito eficientes para o metal (Pestana et al. 2019).

Desta maneira, ainda há a necessidade de estudos complementares sobre a dinâmica do mercúrio na região Amazônica, principalmente em ambientes de águas pretas onde o aporte de material orgânico é elevado e contribui para a formação e permanência das espécies desse metal no ambiente. Com base neste levantamento, o material em suspensão em águas naturais é visto como um importante compartimento ambiental, dinâmico e com bastante mobilidade. E deve ser levado em consideração quando se deseja estudar fontes em potencial para estoque de mercúrio.

A proposta desta pesquisa é validar um método para investigação da distribuição do mercúrio lábil em sólidos suspensos totais através da proposta de otimização do método padrão de análise para (SST) previsto no Método 2540 - Standard Methods, APHA (2017), aplicando as devidas condições de contorno e critérios de aceitação de qualidade dos resultados. E analisando as determinações por Analisador Direto de Mercúrio (DMA-80[®]) confirmando os resultados via comparação com outra técnica analítica devotada para mercúrio: Espectrometria de Fluorescência Atômica de Vapor Frio (CV-AFS), Tekran[®] Series 2600.

2. EXPERIMENTAL

2.1 Reagentes e Soluções

A lavagem das vidrarias e garrafas utilizadas para os ensaios foi feita de acordo com o protocolo (EPA-1630e, 2001). Foram lavadas com detergente Extran 5 %, deixadas em BrCl 1% (por 12 h) e HNO₃ 10 % (por 48 h). Após esse período, as vidrarias foram retiradas da solução ácida e enxaguadas exaustivamente com água deionizada e dispostas para secar em capela estéril. Em seguida foram guardadas em dois sacos plásticos com fecho hermético. Amostras branco foram feitas para avaliar a contaminação de todo processo de análise. Após a coleta, as amostras de água foram preservadas com

HCl (1%) e em seguida refrigeradas protegidas da luz. Os padrões e todas as soluções utilizados nos procedimentos de análises foram preparados com água Ultrapura produzida no deionizador de água (PURELAB Ultra®) com condutividade de $1 \mu\text{S cm}^{-1}$ ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$). O ácido HNO_3 foi previamente purificado pelo processo de destilação abaixo do ponto de ebulição (Distillacid®) para minimizar os níveis de contaminação elementar. Neste trabalho foi utilizado o material de referência certificado: CNS301- Trace Elements on Fresh Water Sediment (Sigma Aldrich/USA). Tanto as soluções-padrão quanto as amostras foram acidificadas utilizando-se HCl 30 % (Suprapur® – Merck).

2.2 Amostras

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

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

Antes da coleta de água, os filtros de fibra de vidro com porosidade de $0,7 \mu\text{m}$ (Whatman GF/F), conforme método do estudo de Pestana e colaboradores¹² para análise de Hg em SST, foram descontaminados em mufla ($550 \pm 50 \text{ }^{\circ}\text{C}$) por 1h. Esfriados em dessecador, pesados com precisão de $0,1\text{mg}$ em balança analítica (AY220 - Shimadzu®) e armazenados em placas de petri estéreis (Kasvi®) individuais até o momento de uso. Após a coleta da água, foram filtradas 09 amostras com auxílio de aparato para filtração (Nalgene®) e bomba à vácuo (VACUUBRAND®). Para tanto, um volume de 1 L foi filtrado para cada membrana. Após esta etapa, a parte filtrada foi descartada e os filtros com os sólidos retidos foram então submetidos à análise gravimétrica para determinação dos sólidos suspensos totais, secados em estufa até 45°C (temperatura otimizada do método padrão para que não houvesse perda do mercúrio retido nos SST). Em seguida foi calculada a massa final de acordo com o ensaio da série sólidos (Método 2540 - Standard Methods, APHA, 2017). O teor de SST é dado em mg L^{-1} , conforme a Equação 1:

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

Onde: P_{final} = Peso da amostra mais a placa de Petri, em mg; P_{inicial} = Peso da tara da placa de Petri vazia em mg; V = Volume da amostra filtrada.

2.4 Digestão das amostras por Micro-ondas

Posteriormente à pesagem dos filtros secos, cada amostra foi transferida para tubos de Teflon específicos do forno de micro-ondas (CEM Corporation, MARSXpress®). Em seguida foram adicionados 5 mL de ácido nítrico concentrado, P.A (previamente destilado). Os tubos de teflon foram organizados no carrossel e levados ao forno micro-ondas. Sendo configurado conforme recomendado pela U.S.EPA 3051a (2007), conforme especificado na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros de funcionamento do forno micro-ondas

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

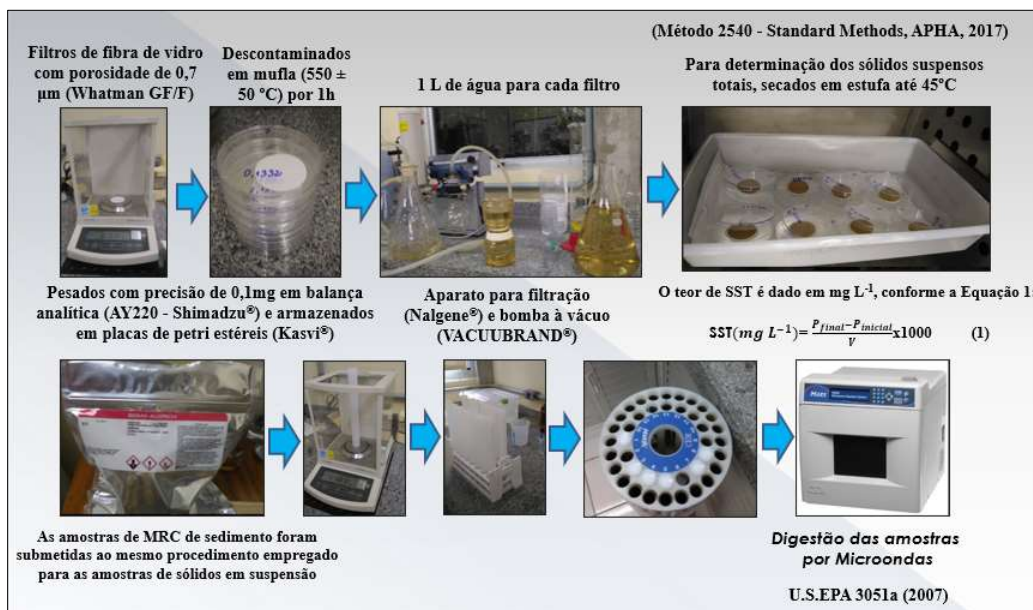
Fonte: Próprio Autor, 2020.

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

As amostras de Material de Referência Certificado - MCR de sedimento foram submetidas ao mesmo procedimento empregado para as amostras de sólidos em suspensão. Foram efetuados estudos de precisão e recuperação durante o processo analítico proposto. Embora o equipamento DMA-80 seja devotado para análise de HgT, o método proposto neste trabalho objetivou analisar a fração lábil de Hg

presente no material em suspensão e requereu uma abertura parcial das amostras (método EPA 3051a)¹⁵, tendo em vista analisar alíquotas de uma mesma amostra em ambos equipamentos para a comparação dos resultados. O fluxograma representado na Figura 1, representa a sequência de etapas no processamento das amostras.

Figura 1. Fluxograma da sequência de etapas para o processamento das amostras de SST com teor de HgT.



Fonte: Próprio Autor, 2020.

2.5 Determinação de Hg Lábil por CV-AFS

As concentrações de HgL nas amostras digeridas do material em suspensão foram determinadas quantitativamente por CV-AFS, equipamento Tekran®, Series 2600, sua operação foi feita pelo software Tekran-Mercury Data System. Utilizando o Argônio 5.0 como gás de arraste e como agente redutor o Cloreto Estanhoso (SnCl₂) e carregador da solução branco contendo os reagentes. As condições operacionais do equipamento estão descritas na Tabela 2, conforme (U.S.EPA 1631e, 2002). A curva analítica foi determinada em seis níveis de concentração: 0,5; 1,0; 5,0; 25; 50 e 100 ng L⁻¹ de Hg.

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

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

Fonte: Próprio Autor, 2020.

O procedimento baseou-se na transferência do conteúdo digerido das amostras para tubos de centrífuga descontaminados de 50 mL, adicionando-se 250 µL da mistura na proporção (1:5) das soluções KBrO₃/KBr, e depois de 30 minutos foi adicionado 50 µL de Cloridrato de Hidroxilamina (NH₂OH-HCl), para remover o excesso da KBrO₃/KBr. A concentração de mercúrio lábil das amostras foi calculada por meio da curva de calibração, levando-se em conta o pico de absorbância registrado no período de 20 s. Analisou-se as amostras, em duplicata, efetuando-se paralelamente um ensaio branco dos reativos com água deionizada.

2.6 Determinação de Hg lábil por analisador de combustão DMA

O DMA é um analisador totalmente dedicado à determinação de Hg em diferentes matrizes usando os princípios de decomposição térmica, amalgamação e absorção atômica descritos no método (U.S.EPA 7473, 1997). O princípio de operação deste equipamento é baseado na introdução de uma pequena quantidade de material em uma barca de quartzo. O DMA-80[®] usa 3 células de diferentes caminhos óticos, com dois conjuntos lâmpada – detectores distintos, o que amplia a faixa de trabalho (célula 2) e permite a detecção de até 0,01 ng de Hg (célula 0). As condições operacionais utilizadas no aparelho estão descritas na Tabela 3. A curva analítica foi determinada em dez níveis em medida de massa: 0,125; 0,250; 0,375; 0,500; 0,625; 0,750; 1,000; 1,500; 3,000 e 5,000 ng de Hg.

Tabela 3. Parâmetros de Análise do DMA-80.

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

Fonte: Próprio Autor, 2020.

3. PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO

Como parte dos protocolos analíticos para determinação dos metais potencialmente tóxicos, o controle de qualidade é essencial para assegurar a confiabilidade dos resultados obtidos e validação dos métodos. Os parâmetros de desempenho avaliados foram: Seletividade, Linearidade; Sensibilidade (Faixa de trabalho e Faixa linear); Exatidão (Comparação de Método; Tendência/Recuperação); Precisão (repetitividade), Teste de Outliers e Robustez conforme especificado pelo (INMETRO, 2020). Foram feitos os testes estatísticos para variáveis independentes (t de Student, ANOVA) pelo uso do software STATISTICA 8.0[®]. Em relação aos critérios de aceitação para ambas as técnicas empregadas foi considerado um desvio padrão aceitável menor que 10 %, o parâmetro de recuperação na faixa entre 79-121 %, recomendado pela EPA 1631e (2002) e erro relativo em até 10 %.

3.1 Seletividade

A determinação da seletividade do método foi realizada através da análise de dois conjuntos de amostras, um de padrões com a presença de matriz e outro de padrões com a ausência da matriz para os dois equipamentos empregados (DMA e CV-AFS). Em cada um destes conjuntos foram avaliados três níveis de concentração: 2; 4 e 8 ng mL⁻¹ (DMA) e 20; 40 e 80 ng L⁻¹ (CV-AFS), realizando-se a análise de seis replicatas de cada um dos níveis, sendo cada solução medida 3 vezes.

Previamente ao preparo das soluções padrões foi necessário preparar uma solução padrão intermediária de 10 ng mL⁻¹ para o DMA e 100 ng L⁻¹ para o CV-AFS, a partir de uma solução padrão estoque de Hg de 1 mg L⁻¹ (NIST certificado 3133), completando-se o volume com água ultrapura.

3.2 Linearidade

A linearidade foi feita por meio da análise de regressão linear. Foram determinados os coeficientes de regressão angular (a) e linear (b), bem como o coeficiente de correlação quadrado (r^2).

3.3 Precisão (repetitividade)

A figura de mérito precisão foi analisada por meio da dispersão dos valores em torno do valor médio e estimada pelo coeficiente de variação (CV), sendo calculada por meio da Equação 2:

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

Onde: s = desvio padrão para n repetições; x = média das para n repetições.

3.4 Precisão intermediária

A precisão intermediária possui condições que incluem o mesmo procedimento de medição, mesmo local e mesmo objeto, mas ocorrem em um período extenso de tempo e podem incluir outras condições que contenham mudanças. Entre as condições que podem ser modificadas estão as soluções padrão, operadores e equipamentos.

Os ensaios de precisão intermediária foram realizados por dois analistas através da análise de dois conjuntos de soluções padrão, com o intervalo de 1 dia entre a análise de cada conjunto. Assim como na repetibilidade, foram avaliados os níveis de concentração de 1,00 e 6,5 ng mL⁻¹ para o DMA, totalizando 82 leituras (41 para cada analista). A avaliação dos resultados também foi feita pelo cálculo do CV. O valor máximo aceitável foi definido de acordo com a metodologia empregada, a concentração do analito e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 10%.

3.5 Limite detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O Limite de Detecção (LD) e o Limite de Quantificação (LQ) foram definidos como a menor concentração do Hg que foi quantificada na amostra em branco. Para tanto obtiveram-se o desvio-padrão de replicatas do branco para calcular pelo método simplificado, estimado a partir da curva analítica, conforme (INMETRO, 2020). De acordo com as Equações (3) e (4):

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

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

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

3.6 Exatidão (Tendência/Recuperação)

A recuperação ou fator de recuperação (R) foi definida como a quantidade de mercúrio efetivamente quantificada em relação à quantidade real presente na amostra (material de referência certificado – MRC [mg kg^{-1}]), conforme INMETRO (2020) calculado pela Equação 5:

$$R \% = \left(\frac{C}{C_{MRC}} \right) \cdot 100 \quad (5)$$

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

3.7 Robustez e Outliers

A robustez de um método analítico é a capacidade do método em não ser afetado por pequenas variações nos parâmetros de execução do método. A robustez fornece uma indicação da confiança do método durante uma aplicação rotineira (INMETRO, 2020). A robustez é um parâmetro opcional dentro dos estudos de validação, muitas vezes estando mais associado a estudos de otimização.

Para determinar a robustez de um método de ensaio, pode-se recorrer ao planejamento de *Youden* (2002/657/EC) ou de *Plackett-Burman* (Sergeant, 2007), por exemplo. Trata-se de um estudo que permite não só avaliar a robustez do método, como também ordenar a influência de cada uma das variações nos resultados finais, indicando qual o tipo de influência de cada uma dessas variações. Convém salientar que quanto maior for a robustez de um método, maior será a confiança desse relacionamento a sua precisão.

O teste de Dixon determina se o valor mais extremo em uma amostra é um *outlier*. O teste de Dixon inclui uma escolha da estatística de teste que supere os potenciais efeitos de encobrimento de outros valores extremos na amostra. A estatística do teste de Dixon é indicada por r_{ij} , onde os subscritos i e j indicam o seguinte: Onde, i indica o número de valores extremos do mesmo lado (superior ou inferior) dos dados que o outlier suspeito. $i = 1$ ou 2 ; i indica o número de valores extremos do lado oposto dos dados. $j = 0, 1$ ou 2 . Os valores críticos para as estatísticas dos testes de Dixon são tabulados em Rorabacher (1991). A estatística de teste r_{10} , (também chamada de Q de Dixon), é apropriada quando a amostra inclui apenas um valor extremo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

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

4.1 Parâmetros de Validação

4.1.1 Seletividade

Para avaliar a seletividade do método, três soluções padrão de mercúrio, com e sem matriz, foram investigadas. Os resultados obtidos estão apresentados nas Tabelas 4, 5, 6 e 7.

Tabela 4. Avaliação do sinal analítico para diferentes soluções padrão de Hg na ausência de matriz para o DMA.

DMA sem Matriz	Concentração (ng mL ⁻¹)		
	2	4	8
Réplica	Absorbância		
1	0,0976	0,1526	0,3055
2	0,0974	0,1524	0,3053
3	0,0976	0,1527	0,3056
4	0,0975	0,1522	0,3058
5	0,0975	0,1526	0,3055
6	0,0975	0,1524	0,3051
Média	0,0975	0,1525	0,3055
DESVPAD	0,00004	0,0002	0,0002
Variância	$3,47 \times 10^{-9}$	$3,36 \times 10^{-8}$	$4,82 \times 10^{-8}$

Fonte: Próprio Autor, 2020.

Tabela 5. Avaliação do sinal analítico para diferentes soluções padrão de Hg na presença de matriz para o DMA.

DMA com Matriz	Concentração (ng mL⁻¹)		
	2	4	8
Réplica	Absorbância		
1	0,0976	0,1527	0,3053
2	0,0975	0,1527	0,3056
3	0,0975	0,1526	0,3057
4	0,0978	0,1521	0,3058
5	0,0977	0,1528	0,3059
6	0,0974	0,1526	0,3055
Média	0,0976	0,1526	0,3056
DESVPAD	0,0001	0,0002	0,0002
Variância	1,60x10 ⁻⁸	7,19x10 ⁻⁸	4,57x10 ⁻⁸

Fonte: Próprio Autor, 2020.

Tabela 6. Avaliação do sinal analítico para diferentes soluções padrão de Hg na ausência de matriz para o CV-AFS.

CV-AFS sem matriz	Concentração (ng L⁻¹)		
	20	40	80
Réplica			
1	19,9473	39,9034	79,9473
2	19,6554	39,8462	78,8938
3	20,0492	39,9873	79,9465
4	19,8594	40,0020	79,9838
5	19,7565	40,0283	79,6382
6	19,9563	40,0000	79,9837
Média	19,8707	39,9612	79,7322
DESVPAD	0,1136	0,0576	0,3108
Variância	0,0209	0,0050	0,1861

Fonte: Próprio Autor, 2020.

Tabela 7. Avaliação do sinal analítico para diferentes soluções padrão de Hg na presença da matriz para o CV-AFS.

CV-AFS com matriz	Concentração (ng L ⁻¹)		
	20	40	80
Réplica			
1	21,9473	40,0272	80,6473
2	20,9372	40,2738	79,9442
3	21,0337	41,0373	80,7428
4	21,2837	40,9376	80,0472
5	20,0382	40,9372	80,9473
6	21,9749	40,9473	80,0473
Média	21,2025	40,6934	80,3960
DESVPAD	0,5328	0,3619	0,3831
Variância	0,5225	0,1843	0,1869

Fonte: Próprio Autor, 2020.

Através dos dados apresentados nas Tabelas 4, 5, 6 e 7 é possível calcular a variância média dos três níveis da faixa de trabalho, sendo ($s_1^2 = 2,8474 \times 10^{-8}$; 0,0707) para o DMA e o CV-AFS, respectivamente, referente a variância média soluções sem matriz e ($s_2^2 = 4,45 \times 10^{-8}$; 0,2979) para o DMA e o CV-AFS, respectivamente, referente a variância média às soluções com matriz. Dessa forma obtemos para o DMA e o CV-AFS, respectivamente os valores de (1,5642 e 4,2158) para o F calculado, conforme apresentado na Equação 6.

$$F = \frac{s_2^2}{s_1^2} \quad (6)$$

O valor de F tabelado para 5 graus de liberdade (n-1) e 95% de confiança é 5,05. Como o valor de F calculado é inferior ao de F tabelado, é possível afirmar que a variância dos dois grupos de amostras é estatisticamente igual, ou seja, não há efeito da matriz sobre a precisão do método nos níveis de concentração estudados.

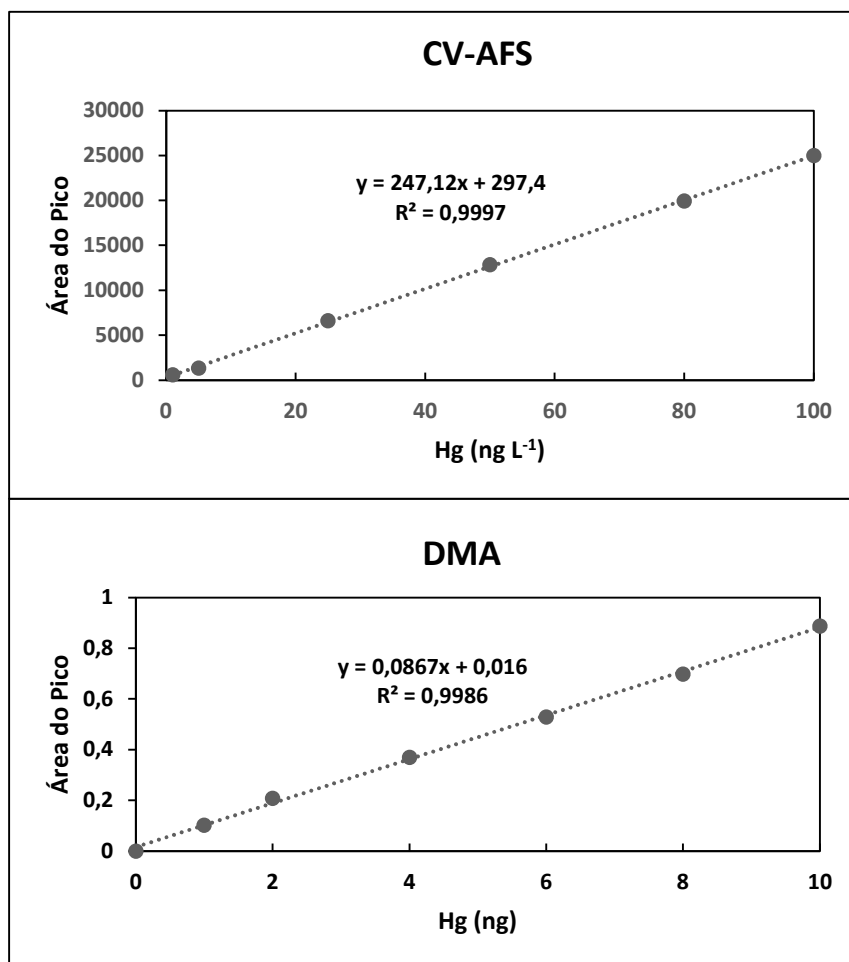
A partir da aplicação do teste *t-Student* sobre as absorbâncias das amostras na presença e na ausência de matriz, para o DMA foram obtidos os valores de t calculado de 0,2121; 0,4408 e 0,2437 para os níveis de concentração de (2; 4 e 8 ng mL⁻¹), respectivamente. E para o CV-AFS foram obtidos os

valores de t calculado de 0,0012; 0,0020 e 0,0267 para os níveis de concentração de (20; 40 e 80 ng L⁻¹), respectivamente. Como o valor de t tabelado para 5 graus de liberdade e 95% de confiança é de 2,571, pode-se concluir que não existe efeito de matriz sobre o resultado, pois todos os valores de t calculados se mostraram inferiores ao tabelado.

4.1.2 Linearidade

Na Figura 2 estão apresentadas as curvas analíticas para CV-AFS e DMA obtidas pelos métodos de fluorescência atômica e por combustão. A faixa linear de calibração obtida para o CV-AFS foi de 0,5 a 100 ng L⁻¹. Entretanto, para o DMA a faixa linear de calibração obtida por foi na faixa de 0,125 a 5,00 ng, sendo que este equipamento trabalha com medidas de massa para a construção da curva analítica e, de acordo com a quantidade de amostra posteriormente colocada para análise, realiza a conversão para unidades de concentração para fornecer o resultado.

Figura 2. Curvas analíticas obtidas para Hg utilizando Espectrômetro de Fluorescência com Geração de Vapor Frio (Tekran®) e Analisador Direto (DMA-80®).



Fonte: Próprio Autor, 2020.

Os coeficientes de determinação obtidos para o Tekran® e o DMA-80® apresentaram ótima linearidade, com valores de $R^2 > 0.99$.

4.1.3 Precisão (repetitividade)

Para avaliar a exatidão, foram feitos ensaios de recuperação com material de referência de sedimento certificado contendo mercúrio (CNS301- Sigma Aldrich/USA), o qual passou pelas mesmas etapas das amostras de sólidos totais em suspensão. Nesta parte da avaliação o experimento foi feito com concentração conhecida de mercúrio e em quintuplicata. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 8, o Coeficiente de Variação (CV %) foi calculado conforme a (Equação 2).

Tabela 8. Resultados obtidos para o Material de Referência Certificado – MRC.

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

Fonte: Próprio Autor, 2020.

Na Tabela 8, se observa similaridades nos resultados médios que variaram entre (0,85 a 0,94) ng mL⁻¹ para o CV-AFS e entre (0,85 e 0,99) ng mL⁻¹ para o DMA. O teste t para variáveis independentes demonstrou que não há diferença significativa ($t = -1,057$; $p = 0,321$, nível de significância de 0,05). O CV % manteve-se abaixo dos 10 %, considerado aceitável para os critérios de análise.

4.1.4 Precisão intermediária

Os testes de precisão intermediária foram aplicados por dois analistas em 2 semanas diferentes, sendo que os resultados para o DMA e CV-AFS se encontram nas Tabela 9 e 10, respectivamente. Com

base nesses resultados foi feita uma comparação entre os valores de concentração médios obtidos por cada analista.

Tabela 9. Comparação dos resultados obtidos pelos dois analistas para o DMA.

DMA	Média das concentrações (ng mL⁻¹)		
Analista	C₁*	C₂*	C₃*
1 (Semana 1)	1,9815	3,9889	8,0084
2 (Semana 1)	1,9977	3,9894	8,0062
1 (Semana 2)	1,9721	3,9983	7,9965
2 (Semana 2)	1,9973	3,9984	8,3297
Média Total	1,9871	3,9937	8,0852
DESVPAD	0,0103	0,0046	0,1223
CV%	0,5200%	0,1156%	1,5120%
Variância	0,0002	0,00003	0,0266

*C₁, C₂ e C₃ representam as concentrações de 2,00; 4,00 e 8,00 ng mL⁻¹, respectivamente.

Fonte: Próprio Autor, 2020.

Tabela 10. Comparação dos resultados obtidos pelos dois analistas para o CV-AFS.

CV-AFS	Média das concentrações (ng L⁻¹)		
Analista	C₁*	C₂*	C₃*
1 (Semana 1)	19,9677	39,9883	79,9984
2 (Semana 1)	19,9933	40,0015	79,9927
1 (Semana 2)	19,9857	40,0078	79,9977
2 (Semana 2)	19,9877	39,9499	79,9936
Média Total	19,9836	39,9869	79,9956
DESVPAD	0,0080	0,0185	0,0025
CV%	0,0399%	0,0462%	0,0031%
Variância	0,0001	0,0007	0,00001

*C₁, C₂ e C₃ representam as concentrações de 20,00; 40,00 e 80,00 ng L⁻¹, respectivamente.

Fonte: Próprio Autor, 2020.

A precisão intermediária também foi considerada satisfatória, pois todos os CV% obtidos ficaram abaixo de 2%, nos três níveis de concentração avaliados, ficando abaixo do critério de 10% aplicado para ambas as técnicas aplicadas.

4.1.5 Limite detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

Os limites de detecção (Equação 3) foram $0,029 \pm 0,007 \text{ ng L}^{-1}$ para CV-AFS e $0,045 \pm 0,001 \text{ ng mL}^{-1}$ para DMA e os limites de quantificação (Equação 4) foram $0,090 \pm 0,008 \text{ ng L}^{-1}$ e $0,138 \pm 0,001 \text{ ng mL}^{-1}$, respectivamente. Demonstrando assim, que ambas as técnicas instrumentais são efetivas (precisas e sensíveis) e não apresentam diferenças significativas para avaliar a fração lábil do Hg presente em sedimento digerido.

4.1.6 Exatidão (Tendência/Recuperação)

A exatidão foi avaliada a partir da recuperação obtida neste experimento. A recuperação foi calculada de acordo com a (Equação 5) e, mediante os resultados, foi possível verificar que o método possui uma exatidão adequada, uma vez que a média das recuperações obtidas para o CV-AFS (107,00 %) e para o DMA (113,63 %), ambos dentro do critério de aceitação na faixa de 79 a 121 % de recuperação.

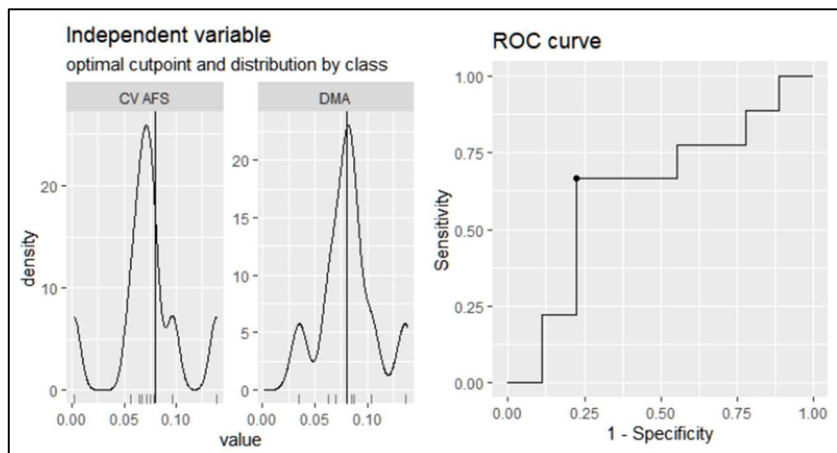
4.1.7 Robustez e outliers

A similaridade do resultado entre DMA e CV-AFS é suportada através da análise estatística. Pelo teste F ($F = 0,60295$; $p\text{-valor} = 0,4902$, $F \text{ crítico} = 3,438$, $\alpha = 0,05$), constatou-se que não há nenhuma evidência significativa de diferença na variação entre as técnicas.

As curvas ROC e o índice de Youden foram usados para medir a robustez dos modelos. As curvas ROC são usadas para avaliar a precisão de testes baseados em índice e estimar os valores de corte, que separam uma métrica em um modelo A (sensibilidade) ou modelo B (especificidade). Foi utilizado o índice Youden para estimar o valor de corte. Embora a área sob a curva ROC (AUC) seja o índice global de diagnóstico mais comumente usados para medir a precisão do Índice de Youden também é frequentemente usado na prática.

O valor AUC de um classificador geralmente varia em algum lugar entre 0,5 e 1,0 (SCHISTERMAN et al. 2005; KIM et al. 2016; TAY et al. 2020). O comparativo entre DMA e CV-AFS para SST é apresentado na Figura 3.

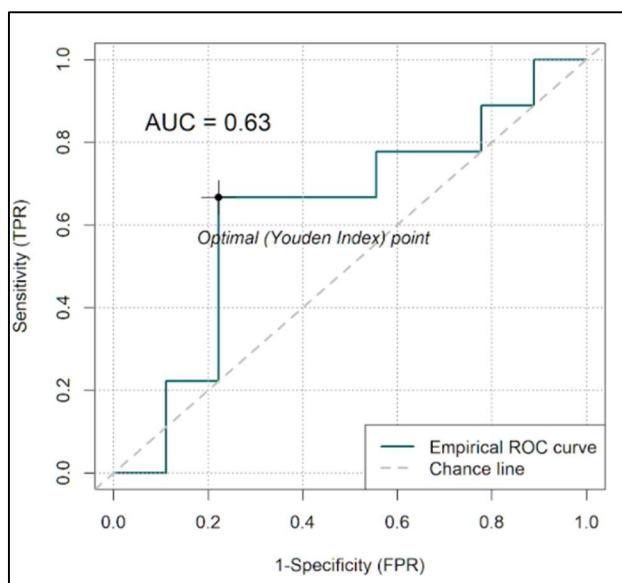
Figura 3. Curvas de característica de operação do receptor (ROC) para o comparativo entre DMA e CV-AFS, em relação a concentração de HgL no conteúdo de SST.



Fonte: Próprio Autor, 2020.

A Figura 3 mostra o comparativo entre a robustez (Sensibilidade X Especificidade) entre as duas técnicas e para entender melhor sobre o ponto ótimo é como se separasse eles nesse valor de 0.07. É possível observar que a curva do DMA está com uma média ligeiramente mais alta, mas o teste F mostra que não se pode descartar a hipótese de que são iguais. A Figura 4 ilustra o gráfico do ROC em alta qualidade. Na curva ROC é possível visualizar uma separação entre DMA e CV-AFS para SST, com valor de corte = $0.63 \text{ ng mL}^{-1} \text{ HgT}$.

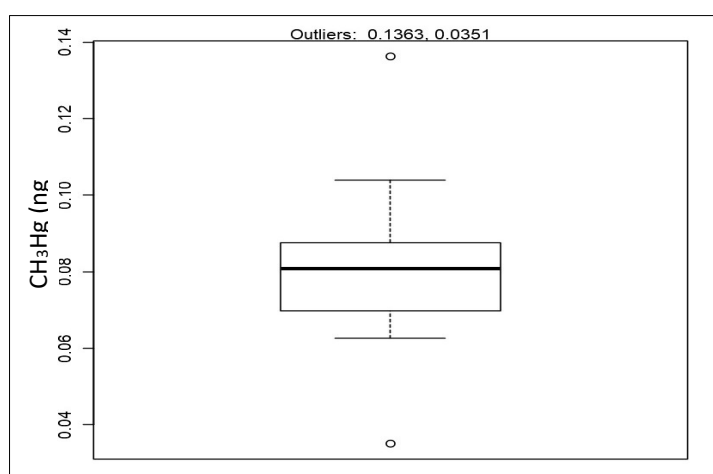
Figura 4. Curva de característica de operação do receptor (ROC) para o comparativo entre DMA e CV-AFS para SST, em relação a concentração de HgL.



Fonte: Próprio Autor, 2020.

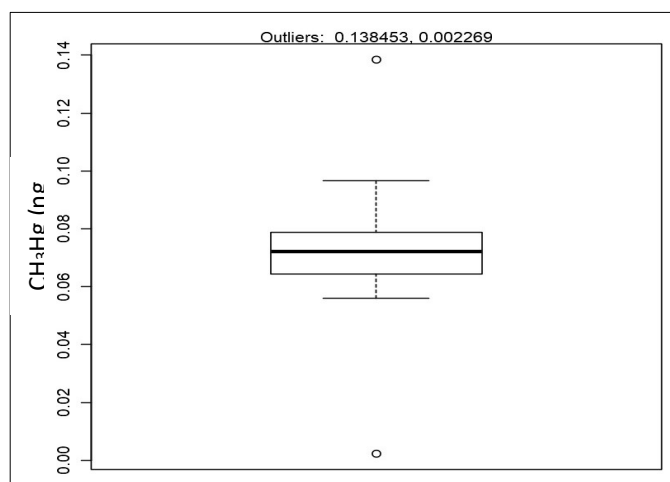
Para verificar se há a ocorrência de resultados que diferem estatisticamente dos demais, no mesmo conjunto de dados foi aplicado o teste de Dixon para detecção de *outliers*. Os resultados demonstram que nenhum dado da amostra possui diferença estatística suficiente para ser classificado como *outlier* para o DMA ($Q = 0,39913$, $p\text{-valor}$: 0,1416), hipótese alternativa: valor baixo (0,0351) é um *outlier* e ($Q = 0,43826$; $p\text{-valor}$: 0,1024), hipótese alternativa: valor alto (0,1363) é um *outlier*). E apenas 1 *outlier* foi encontrado para o CV-AFS pelo teste de Dixon para o menor valor, pois apresentou $p\text{-valor}$ significativo ($Q = 0,5688$, $p\text{-valor} = 0,0253 < 0,05$), hipótese alternativa: valor baixo (0,0022) é um *outlier*; ($Q = 0,5067$; $p\text{-valor}$: 0,0529), hipótese alternativa: valor alto (0,1384). Muito embora pelo BoxPlot tenham sido encontrados 2 *outliers* para o DMA e para o CV-AFS, conforme Figura 5 e 6.

Figura 5. BoxPlot para *Outliers* encontrados nos resultados do DMA.



Fonte: Próprio Autor, 2020.

Figura 6. BoxPlot para *Outliers* encontrados nos resultados do CV-AFS.



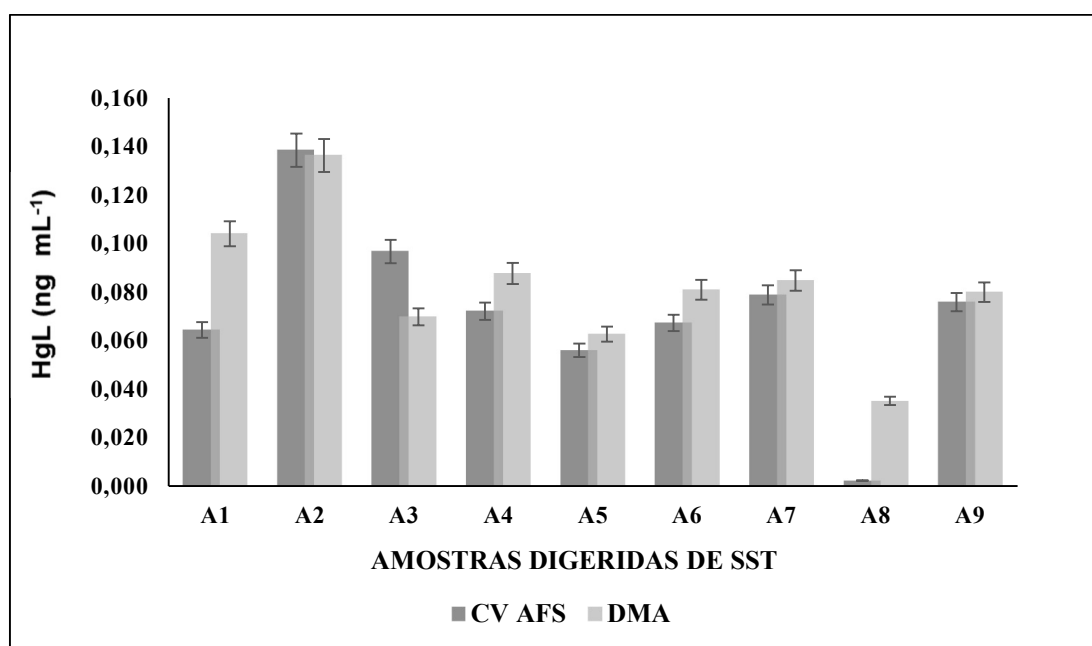
Fonte: Próprio Autor, 2020.

Apesar do BoxPlot apresentar *outliers*, os resultados foram mantidos no conjunto de dados, pois não representavam risco de viés ou tendência desproporcional que pudessem prejudicar a confiabilidade dos dados numéricos das análises.

4.2 Determinação do Hg lábil em (SST)

A Figura 7 apresenta os resultados obtidos para HgL nas amostras de Sólidos Suspensos Totais.

Figura 7. Resultados comparativos das médias obtidas para Hg lábil em amostras de STS digeridas.



Fonte: Próprio Autor, 2020.

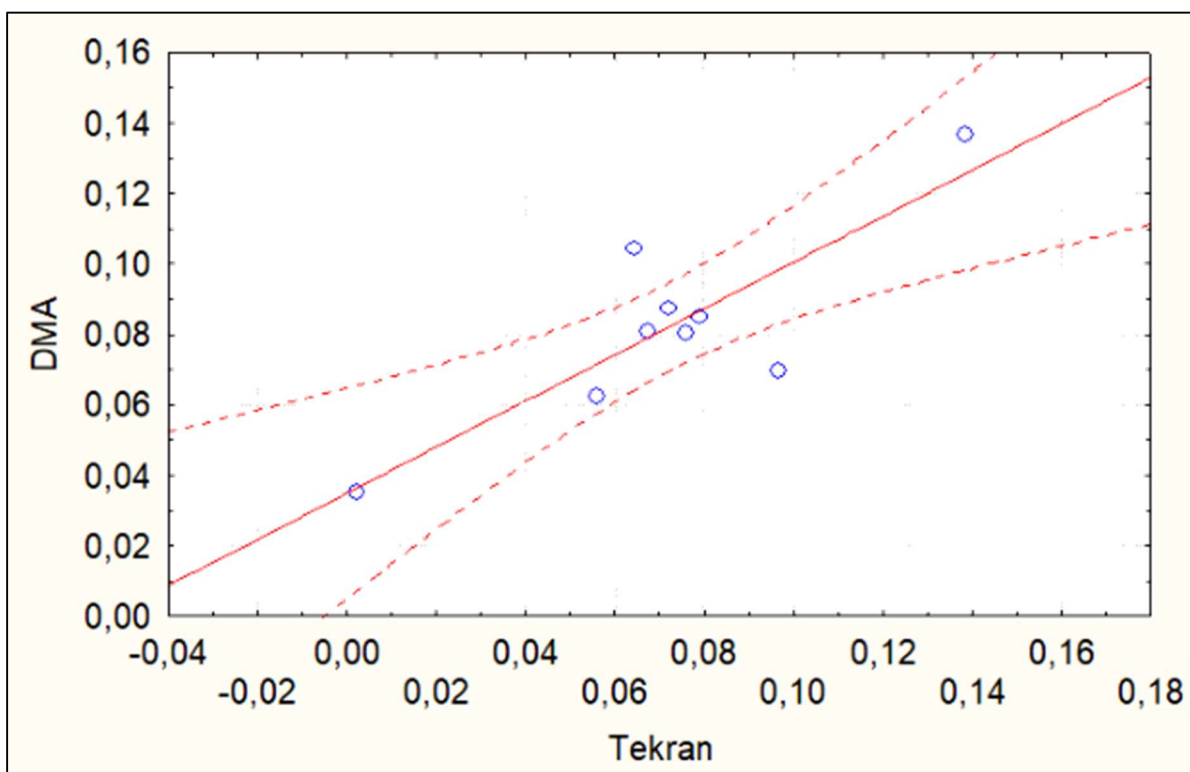
A concentração da fração lábil de mercúrio obtida pela determinação pela técnica do CV-AFS variou entre (0,002 e 0,14 ng mL⁻¹), enquanto que no DMA variou entre (0,04 e 0,15 ng mL⁻¹). Pela comparação sistemática entre os dois tipos de instrumentos, o teste t pareado para as 9 amostras de SST do rio Negro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

Deste modo, a investigação das possíveis causas de elevação da concentração de mercúrio no ambiente se torna essencial para traçar o ciclo biogeoquímico do mesmo, e verificar a influência da

interação com a biota. Além de complexos orgânicos e inorgânicos presentes na coluna d'água e sedimentos. Quando são encontradas concentrações elevadas de mercúrio, sendo estas superiores a $0,2 \text{ ng mL}^{-1}$, valor de referência da legislação ambiental (CONAMA 357/2005) para ambientes de classe II, como os rios amazônicos, isso pode ser um fator alarmante devido o potencial tóxico desse metal (BARBIARZ e ANDREW, 1995; BRASIL, 2005).

Na literatura, ainda há poucos relatos publicados sobre a investigação da relação da concentração de Hg com sólidos em suspensão em águas fluviais. No entanto, neste trabalho, conforme observado na Figura 8, apresentou uma alta correlação ($r = 0,843$, I.C. 95 %). Ao que se observa os SST possuem uma relativa função adsorvente influenciando na retenção da fração lábil de Hg e em sua mobilidade e permanência no compartimento hídrico.

Figura 8. Correlação entre as médias de HgL obtidas no DMA e no CV-AFS.



Fonte: Próprio Autor, 2020.

A Figura 8 apresenta a dispersão (DMA versus CV-AFS), onde se observa que os dois equipamentos se mantêm dentro dos limites de variabilidade, com apenas duas amostras (pontos) fora desses limites. Evidenciando grande correlação entre eles ($> 0,8$ correlação; $p\text{-valor} = 0,23$; I. C. 95 %).

A concentração de HgL geralmente varia de $0,0003$ a $0,008 \text{ ng mL}^{-1}$ em águas naturais não filtradas de regiões pouco impactadas (KIM, 1995). Podendo alcançar de $0,1$ a 1 ng mL^{-1} para águas

naturais que banham regiões com abundância geológica de mercúrio ou com atividade de garimpo (GANGULI *et al.*, 2000; HINGS *et al.*, 2000; RYTUBA, 2000; GRAY *et al.*, 2000).

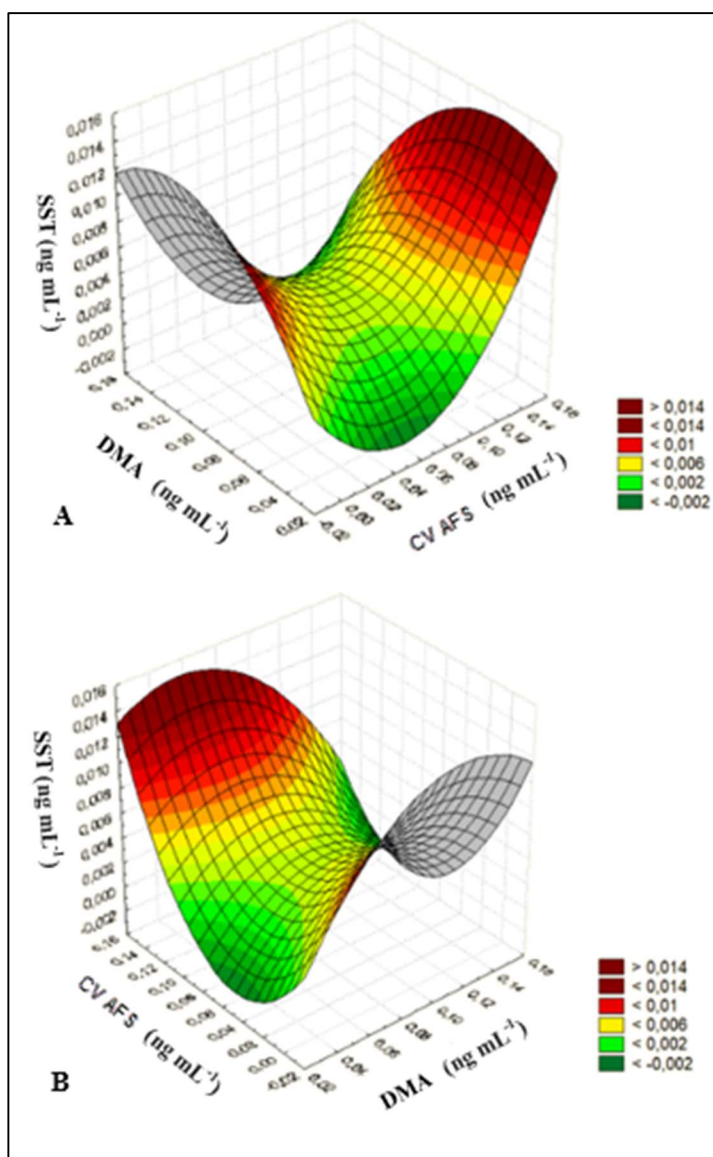
Diversos estudos no rio Negro e seus tributários relatam a importância de pesquisas comparativas entre os sistemas hídricos e a sua relação com íons metálicos e demais parâmetros físicos e químicos, correlacionando-os com as características litológicas da região e possíveis influências antropogênicas. A disponibilização deste elemento na natureza ocorre pelo intemperismo das rochas e escoamento superficial ocasionado pelas chuvas que lixiviam minerais presentes nos perfis do solo dessa região (QUEIROZ *et al.*, 2009; GALVÃO *et al.*, 2009; QUEIROZ *et al.*, 2011; TAFURT-CARDONA *et al.*, 2015).

Dentre as fontes antrópicas, podem ser citadas, a liberação de efluentes industriais não tratados, a disposição inadequada de resíduos sólidos e alterações nos fatores físicos e químicos que influenciam nos processos de adsorção e dessorção desses metais em partículas (GUILHERME *et al.*, 2005).

É válido ressaltar que a amostragem foi realizada em zona de influência antrópica, além de receber aporte de resíduos sólidos da zona portuária da cidade de Manaus, também recebe efluentes da refinaria de petróleo, fato este que pode estar contribuindo para a quantidade de HgL detectada nos SST do ponto amostrado. Este processo integra a complexa dinâmica dos ecossistemas aquáticos, sendo a matéria orgânica e os sólidos em suspensão dissolvidos atuam como agentes adsorventes e transportadores de metais potencialmente tóxicos, provenientes de despejo industrial, resíduos domésticos ou sólidos (GUILHERME *et al.*, 2005).

Com o estudo da Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) pelo software STATISTICA, foi possível observar que a concentração de HgL aumenta de acordo com a elevação do teor de SST (Figura 9-AB). Os Gráficos 9-A e 9-B apresentam fórmula quadrática, mostrando, em ângulos diferentes e com fórmulas matemáticas diferentes usadas para plotagem, os pontos mais aproximados dos valores ótimos dos dados numéricos.

Figura 9. AB. Superfícies de Resposta em ângulos diferentes para: teor sólidos suspensos totais (SST ng mL^{-1}) ao redor de valores ótimos de concentração de HgL obtidos pelas técnicas instrumentais CV-AFS (ng mL^{-1}) e DMA (ng mL^{-1}).



Fonte: Próprio Autor, 2020.

O comportamento dos gráficos das Superfícies de Resposta (Figura 9-AB) está representado pelas equações: Figura 4-A. $SST = -0,004 - 0,0956 * x + 0,2573 * y + 1,1804 * x * x - 0,7605 * x * y - 1,1828 * y * y$, em que $x = \text{CV-AFS (ng mL}^{-1}\text{)}$ e $y = \text{DMA (ng mL}^{-1}\text{)}$; Figura 4-B. $SST = -0,004 + 0,2573 * x - 0,0956 * y - 1,1828 * x * x - 0,7605 * x * y + 1,1804 * y * y$, em que $x = \text{DMA (ng mL}^{-1}\text{)}$ e $y = \text{CV-AFS (ng mL}^{-1}\text{)}$. Em nosso experimento com a aplicação da metodologia de superfície de resposta (MSR), pode-se observar que a concentração máxima ($0,145 \text{ ng mL}^{-1}$ de HgL) foi obtida pelo DMA. O estudo

da Análise de Variância (ANOVA) na determinação de Hg lábil revelou que as variáveis independentes CV-AFS ($p = 0,0004 < 0,05$) e DMA ($p = 0,00002 < 0,05$) quando correlacionadas isoladamente com o SST apresentam significância estatística.

Em relação a interação de sólidos em suspensão e mercúrio, Roth *et al.* (2001), demonstraram que as concentrações de Hg total variaram ($< 0,0004$ até $2,4 \text{ ng mL}^{-1}$), comprovando que o aporte de sedimento coloidal desempenha um papel importante nas cargas dissolvidas de Hg correlacionada positivamente com a descarga ao longo da extensão do rio Sacramento. Roulet e colaboradores (1998), destacaram que as partículas filtradas de Hg ($0,0003 - 0,0131 \text{ ng mL}^{-1}$) no rio Tapajós (Amazônia brasileira) são uma ordem de grandeza mais baixa do que as concentrações relatadas em águas amazônicas. Contudo, afirmam que o teor de Hg na coluna de água é influenciado pela quantidade de material particulado erodidos de solos perturbados na bacia do rio.

Silva *et al.* (2009) em um estudo mais abrangente destacaram os maiores aspectos do ciclo do mercúrio no rio Negro, reportando que a concentração de Hg na coluna de água correlaciona-se positivamente com o carbono orgânico dissolvido (DOC), indicando que substâncias húmicas e fúlvicas são a principal forma transportada de bacias hidrográficas para sistemas aquáticos por escoamento, tal afirmação comprova a relevância deste estudo e reforça a alta correlação das espécies de Hg com o material em suspensão na coluna da água. Além de evidenciar o motivo para as altas taxas de concentração de Hg_L encontradas no rio Negro, onde o pH ácido e a quantidade de matéria orgânica dissolvida favorece a permanência do Hg no compartimento fluvial.

5. CONCLUSÕES

- As análises comprovaram que a determinação de Hg lábil em sólidos suspensos totais de água fluvial é possível via Analisador Direto de Mercúrio (DMA), desde que sejam seguidas as condições de contorno para evitar possíveis perdas e contaminações durante o processamento da amostra, principalmente na etapa gravimétrica (justificado pela redução da temperatura de secagem dos filtros depois da etapa de filtração), seguida da etapa de abertura da amostra (digestão parcial).
- O uso de material de referência certificado (CNS301) demonstrou que os métodos empregados foram exatos. Sendo atestado pelas satisfatórias recuperações do MRC analisado e pelos baixos valores de desvio padrão relativo obtidos. Os resultados do Teste de Youden (ROC) demonstraram que as técnicas instrumentais apresentaram um desempenho similarmente bom, conforme observado no valor de corte.
- O gráfico da superfície de resposta evidenciou que houve aumento na concentração de mercúrio conforme o conteúdo de sólidos suspensos totais (SST) também aumentava.
- O método utilizado para determinação de HgL via DMA, deixa claro que a técnica também pode ser satisfatoriamente empregada para a determinação de mercúrio lábil, além de ser uma análise direta que evita possíveis perdas do analito e não requer adição de reagentes.
- O DMA apresenta ainda, uma etapa de pré-concentração que promove uma melhora no sinal de quantificação do mercúrio, quando comparada com a técnica CV-AFS que requer um rigor analítico mais acentuado por eventualmente apresentar mais etapas, como a adição de reagentes para análise, que podem promover possíveis contaminações ou perdas do analito.
- A comparação de métodos evidenciou que ambas as técnicas podem ser consideradas semelhantes em termos de quantificação da fração lábil de mercúrio e que o DMA pode aplicado em análises de rotina de HgL em SST.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA - American Public Health Association; American Water Work Association – AWWA; Water Pollution Control Federation – WPCF. *Standard Methods of the Experimentation of Water and Wasterwater*. Ed. New York, p.2-54-2-60, 2017. [\[link\]](#)
- BABIARZ, C.L; ANDREN, A. W. Total concentrations of mercury in Wisconsin (USA) lakes and rivers. *Water, Air, Soil, Pollut.* **1995**, 83, 173.[\[link\]](#)
- BAIRD, C.; CANN, M. Environmental Chemistry. 5a. ed. U. S. A.: Cloth Text, 2012.
- BALOGH, S.J.; NOLLET, Y.H.; SWAIN, E. B. Redox chemistry in Minnesota streams during episodes of increased methylmercury discharge. *Envir. Sci. Techn.* **2004**, 38, 4921. [\[PubMed\]](#)
- BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente. *Quím. Nov.* **2004**, 27, 4, 593. [\[link\]](#)
- BRADLEY, P.M.; BURNS, D.A.; MURRAY, K.R.; BRIGHAM, M.E.; BUTTON, D.T.; CHASAR, L.C.; MARVIN-DIPASQUALE, M.; LOWERY, M. A.; JOURNEY, C. A. Spatial and seasonal variability of dissolved methylmercury in two stream basins in the eastern United States. *Envir. Sci. Techn.* 2011, 45, 2048. [\[PubMed\]](#)
- BRASIL. **Resolução CONAMA Nº 357/2005** – “Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências”. - Data da legislação: 17/03/2005 – Publicação DOU nº 053, de 18/03/2005, págs. 58-63. [\[link\]](#)
- BRIGHAM, M.E.; WENTZ, D.A.; AIKEN, G.R.; KRABBENHOFT, D.P. Mercury cycling in stream ecosystems. 1. Water column chemistry and transport. *Envir. Sci. Techn.* **2009**, 43, 2720. [\[PubMed\]](#)
- BRITO, B. C.; FORSBERG, B. R.; KASPER, D.; AMARAL, J. H. F.; DE VASCONCELOS, M. R. R.; DE SOUSA, O. P.; CUNHA, FÁBIO A. G.; BASTOS, W. R. The influence of inundation and lake morphometry on the dynamics of mercury in the water and plankton in an Amazon floodplain lake. *Hydrob.* **2017**, 790, 35. [\[CrossRef\]](#)
- FADINI, P. e JARDIM, W. Is the Negro River Basin (Amazon) impacted by naturally occurring mercury? *Sci. Total Environ.* **2001**, 275, 1-3, 71. [\[CrossRef\]](#)[\[PubMed\]](#)
- GALVÃO, R. C. F.; GOMES, J. P. O.; ALMEIDA, R.; BERNARDI, J. V. E.; BASTOS, W. R.; LACERDA, L. D. Variação sazonal de elementos-traço associados aos sólidos em suspensão no Alto rio Madeira, Amazônia Ocidental. *Geoc. Bras.*, **2009**, 23, 1. [\[link\]](#)

- GANGULI, P. M.; MAISON, R. P.; ABU-SABA, K. E; ANDERSON, R. S.; FLEGAL, A. R. Mercury Speciation in Drainage from the New Idria Mercury Mine, California. *Environ. Sci. Technol.* **2000**, 34, 4773. [[CrossRef](#)]
- GUILHERME, L.R.G.; MARQUES, J.J.; PIERANGELI, M.A.P.; ZULIANE, D.Q.; CAMPOS, M.L.; MARQUI, G. Elementos-traço em Solos e Sistemas Aquáticos. *Tóp. Ciênc. Solo.*, **2005**, 4, 345.[[link](#)]
- GRAY, J.E.; THEODORAKOS, P. M.; BAILEY, E. A.; TURNER, R. R. Distribution, speciation, and transport of mercury in stream-sediment, stream-water, and fish collected near abandoned mercury mines in southwestern Alaska, USA. *Sci.Total Environ.* **2000**, 260, 21-33.[[PubMed](#)]
- HINES, M. E; HORVAT, M.; FAGANELI, J.; BONZONGO, J. C.; BARBAY, T.; MAJOR, E. B.; SCOTT, K. J.; BAILEY, E. A.; WARWICK, J. J.; LYONS, W. B. Mercury Biogeochemistry in the Idrija River, Slovenia, from above the Mine into the Gulf of Trieste. *Environ. Res.* 2000, 83, 129.
- INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **2020**. Orientações Sobre validação de métodos de ensaios químicos -DOQ-CGCRE-008. Revisão: 09. [[link](#)]
- KASPER, D.; FORSBERG, B. R.; AMARAL, J. H. F.; LEITÃO, R. P.; PIE-DANIEL, S. S.; BASTOS, W. R. E MALM, O. Reservoir Stratification Affects Methylmercury Levels in River Water, Plankton, and Fish Downstream from Balbina Hydroelectric Dam, Amazonas, Brazil. *Envir. Sci. Techn.* **2014**, 48, 1032. [[CrossRef](#)]
- KIM, J. P. Methylmercury in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from Lakes Okareka, Okaro, Rotomahana, Rotorua and Tarawera, North Island, New Zealand. *Sci. Total Environ.* **1995**, 164, 209. [[link](#)]
- KIM, H. JEONG, H., JEON, J. and BAE, S. “The Impact of Impervious Surface on Water Quality and Its Threshold in Korea.” *Water (Switzerland)*, **2016**, 8 (4): 1–9. [[link](#)]
- MUDROCH, A.; MACKNIGHT, S. D. Handbook of Techniques for aquatic Sediments Sampling. 2a. ed. CRC Press, 1997.
- PEREIRA FILHO, W. Influência dos diferentes tipos de uso da terra em bacias hidrográficas sobre sistemas aquáticos da margem esquerda do reservatório de Tucuruí, PA. Tese de Doutorado em Geografia - Universidade de São Paulo, São Paulo, **2000**, 138p. [[link](#)]
- PESTANA, I. A.; ALMEIDA, M. G; BASTOS, W. R.; SPUZA, C. M. M. Total Hg and methylmercury dynamics in a river-floodplain system in the Western Amazon: Influence of seasonality, organic matter and physical and chemical parameters. *Sci. Total Environ.* **2019**, 656, 388. [[PubMed](#)]

QUEIROZ, M.M.A.; HORBE, A. M. C.; SEYLER, P.; MOURA, C.A.V. Hidroquímica do rio Solimões na região entre Manacapuru e Alvarães: Amazonas – Brasil. *Acta Amazon.* **2009**, 39, 4, 943. [[link](#)] [[CrossRef](#)]

QUEIROZ, M.M.A.; HORBE, A. M. C.; SEYLER, P.; MOURA, C.A.V. *Acta Amazon.* Mineralogia e química dos sedimentos de fundo do médio e baixo Madeira e de seus principais tributários: Amazonas - Brasil. **2011**, 41, 4, 453. [[link](#)]

RYTUBA, J. J. Mercury mine drainage and processes that control its environmental impact. *Sci.Total Environ.* **2000**, 260,57. [[link](#)]

RORABACHER, D. B. Statistical Treatment for Rejection of Deviant Values: Critical Values of Dixon Q Parameter and Related Subrange Ratios at the 95 percent Confidence Level, *Analytic Chemistry*, **1991**, 83, 2, 139-146.

ROTH, D. A.; TAYLOR, H. E.; DOMAGALSKI, J.; DILEANIS, P.; PEART, D. B.; ANTWEILER, R. C.; ALPERS, C. N. Distribution of inorganic mercury in Sacramento River water and suspended colloidal sediment material. *Environ. Contam. Toxicol.* **2001**, 40, 161. [[PubMed](#)]

ROULET, M.; LUCOTTE, M.; CANUEL, R. I.; TRAN, S.; GOG, Y. G. F.; FARELLA, N.; VALE, R. S. PASSOS, A. J. S.; SILVA, E. J.; MERGER, D.; AMORIM, M. Distribution and partition of total mercury in waters of the Tapajos River Basin, Brazilian Amazon. *Sci. Total Environ.* **1998**, 213 (1–3), 203–211. [[link](#)]

SCHISTERMAN, E. F., PERKINS, N. J., LIU, A. and BONDELL, H. “Optimal Cut-Point and Its Corresponding Youden Index to Discriminate Individuals Using Pooled Blood Samples.” *Epidemiology*, **2005**, 16 (1): 73–81. [[PubMed](#)]

SILVA, G. S.; BISINOTI, M. C.; FADINI, P. S.; MAGARELLI, G.; JARDIM, W. F. FOSTIER, A. H. J. Major aspects of the mercury cycle in the Negro River Basin, Amazon. *Braz. Chem. Soc.* **2009**, 20, 6, 1127. [[link](#)]

SILVÉRIO, P. F. Bases técnico-científicas para a derivação de valores-guias de qualidade de sedimentos para metais: experimentos de campo e laboratório. São Carlos, SP: Escola de Engenharia de São Carlos-USP, 2003. [[link](#)]

TAFURT-CARDONA, M.; EISMANN, C. E.; SUÁREZ, C. A.; MENEGÁRIO, A. A.; LUKO, K. S.; SARGENTINI JR, E. *In situ* selective determination of methylmercury in river water by diffusive gradient in thin films technique (DGT) using baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) immobilized in agarose gel as binding phase. *Anal. Chim. Acta.* **2015**, 887, 38. [[link](#)]

TAY, A. Y. W., TAY, K. S., THEVER, Y., HAO, Y. and YEO, N. E. M. 2020. “An Epidemiological Review of 623 Foot and Ankle Soft Tissue Tumours and Pseudo-Tumours.” *Foot and Ankle Surgery*, no. **2019**. [[link](#)]

U.S.EPA-1631. Method 1631, revision E: Mercury in water by oxidation, purge and trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry. 38p. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2002. [[link](#)]

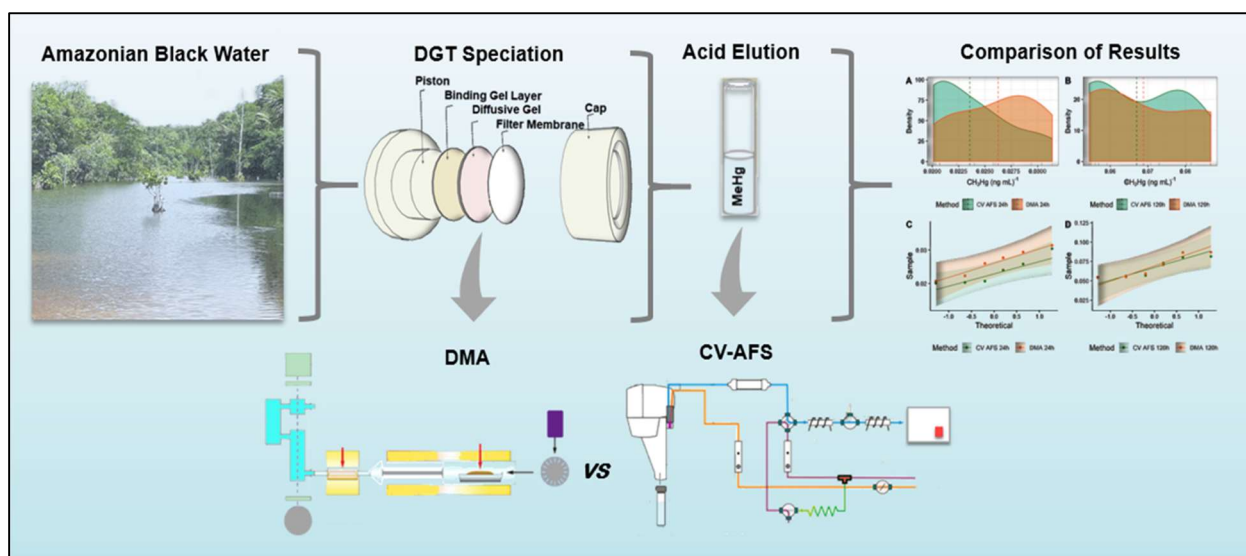
U.S.EPA-3051a. Method 3051a - Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils. n. February, p. 30. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2007. [[link](#)]

U.S.EPA-7473, “Method 7473, “Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation and atomic absorption spectrophotometry”, revision. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 1997. [[link](#)]

CAPÍTULO VI

Otimização de método para determinação de metilmercúrio por Análise Direta usando a técnica de Difusão em Filmes Finos (DGT) em água preta amazônica

Infográfico



Fonte: Próprio Autor, 2021.

Destaques:

- A técnica DGT foi aplicada com sucesso com a eliminação da etapa de eluição ácida do gel ligante.
- A técnica DGT foi eficiente quando aplicada em águas naturais com baixa condutividade elétrica.
- A proposta é útil para reduzir o tempo e o custo da análise, eliminando uma etapa.
- A menor geração de resíduos pela técnica DMA representa uma importante contribuição para a especiação de Hg.
- A viabilidade da determinação de MeHg por DMA suprime uma segunda digestão de brometo/bromato e uma análise mais limpa evitando resíduos como cloreto estano.
- DMA e CV-AFS apresentaram alta compatibilidade na determinação de MeHg.

Abstract - This work presents the optimization of the technique of diffusive gradients in thin films (DGT) using agarose gel with *Saccharomyces cerevisiae* immobilized for the accumulation of methylmercury (CH_3Hg^+) in environments of Amazonian black water with low conductivity. That way, two instrumental techniques dedicated to determining total Hg were used: Direct Combustion Analyzer (DMA) and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CV-AFS). As a result, the mean value of the diffusion coefficient for MeHg at 23 °C was obtained based on Fick's Law ($7.1 \pm 0.1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), in according to diffusion coefficients found in other studies. The influence of experimental conditions (pH, ionic strength and interferents) on the accumulation of MeHg by DGT was also evaluated. As result, the MeHg concentration obtained by the DMA technique ranged from 0.026 ± 0.004 (24 h) to $0.07 \pm 0.01 \text{ ng mL}^{-1}$ (120 h), whereas for CV-AFS it varied from 0.022 ± 0.004 to $0.06 \pm 0.01 \text{ ng mL}^{-1}$, respectively. The performance evaluation of the results presented no significant difference ($p \geq 0.05$). Finally, for DMA, it was possible to eliminate the acid elution step of the binding gel, and thus, reduce waste generation, analysis time, and cost, in addition to which the analysis showed that the determination of MeHg in black water, as long as the boundary conditions (temperature control and cleaning of glassware) are satisfied.

Keywords: Methylmercury, Speciation, DMA, CV-AFS, Amazonas.

Resumo - Este trabalho apresenta a otimização da técnica de gradientes difusivos em filmes finos (DGT) utilizando gel de agarose com *Saccharomyces cerevisiae* imobilizada para o acúmulo de metilmercúrio (CH_3Hg^+) em ambientes de águas pretas amazônicas com baixa condutividade. Dessa forma, foram utilizadas duas técnicas instrumentais dedicadas à determinação de Hg total: Analisador de Combustão Direta (DMA) e Espectrometria de Fluorescência Atômica a Vapor Frio (CV-AFS). Como resultado, foi obtido o valor médio do coeficiente de difusão para MeHg a 23°C com base na Lei de Fick ($7,1 \pm 0,1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), seguindo os coeficientes de difusão encontrados em outros estudos. Além disso, a influência das condições experimentais (pH, força iônica e interferentes) no acúmulo de MeHg pela DGT também foi avaliada. E a concentração de MeHg obtida pela técnica de DMA variou de $0,026 \pm 0,004$ (24h) a $0,07 \pm 0,01 \text{ ng mL}^{-1}$ (120 h), enquanto para CV-AFS variou de $0,022 \pm 0,004$ a $0,06 \pm 0,01 \text{ ng mL}^{-1}$, respectivamente. Ademais, a análise dos resultados mostrou que não houve diferença significativa ($p \geq 0.05$) entre as técnicas. Finalmente, com a técnica de DMA foi possível eliminar a etapa de eluição ácida do gel ligante, e assim, reduzir a geração de resíduos, tempo e custo de análise, além do que as análises mostraram que a determinação do MeHg em águas pretas, contanto que as condições de contorno (controle de temperatura e limpeza de vidraria) sejam satisfeitas.

Palavras-chave: Metilmercúrio, Especiação, DMA, CV-AFS, Amazonas.

CAPÍTULO VI

1. INTRODUÇÃO

Na Amazônia, os altos teores de mercúrio (Hg) encontrados na interface água/atmosfera e demais compartimentos abióticos e bióticos foram inicialmente atribuídos à atividade de garimpo de ouro. Entretanto, estudos recentes mostraram que as altas concentrações deste elemento são também encontradas em regiões sem fontes antrópicas. Isso implica que a bacia Amazônica funciona como um grande depósito de Hg associada ao material particulado e à hidrodinâmica (GOMES *et al.* 2019; VIEIRA *et al.* 2018).

Diversos estudos realizados na Bacia Amazônica evidenciaram que as concentrações médias de mercúrio são naturalmente mais altas do que as médias globais. Segundo Fadini e Jardim (2001), o teor de Hg emitido pelo garimpo na Amazônia (e.g. corresponde a <3% do aporte total de Hg presente nos solos superficiais do rio Negro) ou nas bacias do rio Tapajós, conforme destacado nos estudos de (ROULET *et al.* 1999).

Estudos anteriores argumentaram que os valores elevados de Hg na Bacia Amazônica também poderiam estar relacionados com outras atividades antrópicas, incluindo a queima de biomassa e também sendo reforçada pela erosão do solo, resultante do desmatamento (CORDEIRO, 2002). Silva, Jardim and Fadini (2006) argumentaram que a presença de Hg no solo ocorre naturalmente devido a erosão que ocorre nas montanhas rochosas advindas principalmente do rio Madeira.

Diante deste cenário, a distribuição de Hg nos diferentes compartimentos ambientais pode ter várias fontes ou origens, sendo a dinâmica do Hg na bacia Amazônica um processo que necessita de estudos mais detalhados e principalmente, aprimoramento nas diferentes etapas de processamento das amostras (ZARA *et al.*, 2017). Embora em sua grande maioria existam trechos com pouca atividade humana, as concentrações de Hg na bacia Amazônia são relativamente altas. A presença natural de Hg em solos e a deposição atmosférica são as principais fontes deste metal (KASPER *et al.*, 2018).

As diferentes espécies químicas de Hg podem se correlacionar devido à sua toxicidade, solubilidade, mobilidade e biodisponibilidade. Assim, é necessário determinar as espécies individuais para avaliar o impacto ambiental e traçar o seu ciclo biogeoquímico, bem como sua especiação em ambientes aquáticos, que é influenciada pela interação com a biota, complexos orgânicos e substâncias inorgânicas presentes na coluna de água e sedimentos (KASPER *et al.* 2017; XU *et al.* 2017).

As condições favoráveis para metilação estão relacionadas com as características físico-químicas, como: pH baixo, menor condutividade elétrica e maior quantidade de carbono orgânico. Portanto, na

região Amazônica, as águas pretas são as mais favoráveis para a metilação do Hg. No entanto, ainda foram reportados poucos estudos de especiação química para a determinação de metilmercúrio em ambientes amazônicos com águas pretas (KASPER *et al.* 2017; FADINI and JARDIM, 2000).

Devido à forte presença de certas limitações a serem superadas durante as etapas de amostragem, armazenamento, processamento e análise, as técnicas de preservação de espécies de Hg visam a proteção do analito de interesse quanto ao efeito de interferentes ou à estabilidade e concentração das várias espécies (KASPER *et al.* 2015). Portanto, é necessário avançar no aprimoramento de metodologias que permitam quantificar espécies tóxicas desse metal em diferentes matrizes ambientais, em um tempo relativamente curto, com baixo teor de interferentes e boa reprodutibilidade.

A técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT) baseada na amostragem passiva, é utilizada para preservar a distribuição e a estabilidade das espécies de Hg durante a amostragem, além da capacidade de determinação da fração lábil e pré-concentração dos analitos. Outra vantagem deste método é seu uso para determinação de concentrações muito baixas nas águas (MENEGÁRIO, TONELLO and DURRANT, 2010; PESCIM *et al.* 2012; DESTRO COLAÇO *et al.* 2014a; MENEGÁRIO *et al.* 2017).

Os componentes dos dispositivos DGT consistem em um agente ligante (acumulador de metal), um gel difusivo que permite a difusão controlada do analito através de um gradiente de concentração e uma membrana filtro (MENEGÁRIO *et al.* 2017; LI *et al.* 2019). Convencionalmente, o agente ligante utilizado é a resina Chelex-100; o gel de poliacrilamida-agarose é utilizado como camada difusiva e como filtro, a membrana filtrante de ésteres mistos de celulose (ZHANG and DAVISON 1995). Os íons acumulados no gel ligante são recuperados por eluição ácida e posteriormente determinados usando uma técnica analítica apropriada para determinar seus valores de massa, que são usados para calcular a concentração de espécies lábeis (MENEGÁRIO, TONELLO e DURRANT, 2010; PESCIM *et al.* 2012; DESTRO COLAÇO *et al.* 2014a; WANG *et al.* 2016).

As técnicas analíticas geralmente empregadas são aquelas que fornecem altos níveis de sensibilidade favoráveis a determinação dos analitos, como Espectrometria de Fluorescência Atômica com Vapor Frio (CV-AFS), Espectrometria de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (TXRF) e Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-MS), que tornam a DGT uma técnica de interesse particular na análise de elementos traços e ultratraços no monitoramento ambiental (DESTRO COLAÇO *et al.* 2014a; BUTCHER, 2016; MENEGÁRIO *et al.* 2017; DÍEZ and GIAGGIO, 2018; BRATKIČ *et al.* 2019; TAYLOR, BUCKMAN and BURGESS, 2019).

O uso da CV-AFS para detectar Hg permite a análise de baixas concentrações de MeHg (da ordem de ng L^{-1}) (GOSNELL e MASON, 2015; SINGER *et al.* 2016; M.-K. KIM, WON e ZOH, 2017;

GÓRECKI, 2018). Entretanto, a viabilidade da determinação de MeHg por Analisador de Mercúrio Direto (DMA) poderia superar possíveis inconvenientes encontrados na determinação por CV-AFS (e.g., supressão de uma segunda digestão com brometo/bromato e uma análise mais limpa evitando resíduos, como o cloreto estanoso).

Em estudos mais recentes alguns autores (Rezende *et al.* 2018; Jędruch *et al.* 2018; Yongmin Wang *et al.* 2019; Chennuri *et al.* 2020) destacaram a aplicação do instrumento DMA na especiação de Hg, desde que sejam seguidas algumas condições especiais de contorno, tais como: testes primários com o uso de Material de Referência Certificado (MRC) e controle de temperatura.

Dado o elevado potencial tóxico do mercúrio encontra-se na literatura uma ampla gama de estudos direcionados a sua determinação, sendo geralmente determinado por Espectrometria de Fluorescência Atômica acoplada a Geração de Vapor Frio (CV-AFS), técnica já comprovadamente efetiva. E apesar de ser uma técnica relativamente sensível e rápida, poucos estudos têm utilizado o Analisador Direto de Mercúrio (DMA) para determinação de MeHg, dentre outros fatores, por ser uma técnica devotada para análise de HgT.

Outro ponto importante na determinação de MeHg são as incongruências na literatura em relação ao preparo da amostra usando a técnica DGT (etapa de eluição), sugerindo que o elemento pode ou não ser perdido durante esta etapa de processamento da amostra (FERNÁNDEZ-GÓMEZ, BAYONA and DÍEZ, 2015; AZEMARD and VASSILEVA, 2015; GOSNELL and MASON 2015; SINGER *et al.* 2016; DÍEZ and GIAGGIO, 2018; TAYLOR, BUCKMAN and BURGESS 2019; NOH *et al.* 2020). Assim, a principal contribuição deste artigo é apresentar à comunidade científica a viabilidade da determinação de MeHg por DMA e a proposta de eliminação de uma etapa analítica durante o preparo da amostra para determinação da fração especiada do metal.

Diante disso, este trabalho tem como foco a determinação de MeHg em água preta amazônica, em um lago da nascente do rio Tarumã-Açu aplicando a técnica DGT. Este estudo também avalia o potencial da eliminação do processo de eluição ácida do agente ligante por meio da metodologia analítica de análise direta de mercúrio por DMA-80. A fim de validar a consistência dos dados apresentados, os resultados obtidos foram comparados com a técnica de fluorescência atômica com geração de vapor frio (CV-AFS).

2. EXPERIMENTAL

2.1 Equipamentos e Materiais

As espécies de Hg foram determinadas pelo Sistema de Análise Direta de Mercúrio (DMA-80[®], Marca: Milestone - Itália) que foi utilizado com base no método USEPA 7473. Este equipamento foi

disponibilizado pelo Laboratório de Mineralogia de Manaus (LAMIM), Serviço Geológico do Brasil (CPRM). Comparativamente, outro equipamento dedicado para análise de mercúrio foi utilizado por meio da técnica da Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Vapor Frio (CV-AFS) usando amostrador automático (Modelo 2600, TEKRA[®] Instruments Corporation, Toronto, Canadá) com base no método USEPA 1631. Este equipamento foi disponibilizado pelo Laboratório de Química Analítica e Ambiental (LQAA) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Comparativamente, outro equipamento dedicado para análise de mercúrio. As condições de operação dos equipamentos DMA e CV-AFS estão descritas na Tabela 1. A condutividade e o pH das soluções foram medidas por um equipamento (modelo 3505, HANNA[®] Instruments, Brasil). Os dispositivos DGT (pistão e tampa de polipropileno) foram adquiridos na DGT Research Ltd, Lancaster, Reino Unido.

Tabela 1. Parâmetros instrumentais (DMA e CV-AFS) para determinação de HgT.

Equipamento	Parâmetros	Ajustes
DMA	Tempo de Aquecimento	30 s por 200°C
	Tempo de secagem	3 min
	Tempo de Aquecimento	1 min por 650°C
	Tempo de decomposição	2 min
	Temperatura do Amalgamador	850°C to 12 s
	Tempo de Purga	60 s
	Tempo de Gravação	30 s
CV-AFS	Agente Redutor (SnCl ₂ 3 % (m/v)) in HCl suprapur	3,5 mL min ⁻¹
	Branco analítico: HCl 30 %; KBrO ₃ /KBr 100 %, NH ₂ OH-HCl 12 % (m/v) purgada	7,0 mL min ⁻¹
	Gás arraste – Argônio	75,0 mL min ⁻¹
	Tempo de Ganho	10 s
	Tempo de Perda	15 s
	Tempo de Análise	30s
	Tempo de Gravação	20s

Fonte: Próprio Autor, 2021.

2.2 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico HCl (JT Baker, México) e HNO₃ (JT Baker) foram destilados abaixo do ponto de ebulição para maior pureza (Distillacid, Berghof, Darmstadt, Alemanha). NaCl (Merck, São Paulo, Brasil) e NaNO₃ (Merck, Darmstadt, Alemanha) foram utilizados para ajustar a força iônica. HNO₃ e NaOH (Merck) foram utilizados para ajustar o pH. Solução padrão de MeHgOH de 1 mg L⁻¹ em 0,5 % de HOAc, 0,2 % de HCl a 2 % (Brooks Rand Labs, Seattle, WA, EUA). Essa solução foi preservada em uma garrafa de vidro com tampas de teflon, mantida protegida da luz para evitar a fotodegradação. Soluções padrão certificadas de Hg (SpecSol, São Paulo, Brasil)

foram usadas para preparar as soluções de trabalho. Para a fabricação de géis difusivos de agarose, foram de grau biotecnológico adquirida da Amresco (Solon, EUA). Para o gel de ligação, *Saccharomyces cerevisiae* seco (Dr. Oetker L314036T1) obtido no mercado local. Todos os padrões e soluções foram preparados usando água ultra-pura com resistividade de $18,2 \text{ M } \Omega \text{ cm}^{-1}$ (PURELAB® Ultra System, Elga LabWater, Modelo: Ultra Genetic, EUA). Antes do uso, visando à descontaminação, todos os materiais, como dispositivos e suportes DGT, recipientes de armazenamento plásticos, foram imersos em uma solução de HNO_3 a 10 % (v/v) por 48 h. Eles foram imersos na solução BrCl por 4 h. Após esse período, todo o material descontaminado foi cuidadosamente lavado com água ultrapura. Os pré-tratamentos da amostra e solução padrão foram feitos seguindo o Método EPA 1631, Revision E, para determinação de mercúrio na água pelo CV-AFS. Para oxidação de Hg orgânico a Hg (II) inorgânico, foi adicionado 250 μL da solução de KBrO_3/KBr (Merck) às amostras diluídas e deixadas para reagir por pelo menos 30 min. Se a coloração amarela devido ao bromo livre não persistisse (amostras com alto nível de matéria orgânica), um volume extra de reagente bromato/brometo foi adicionado à amostra. Antes da análise, foram adicionados 50 μL de cloridrato de hidroxilamina a 12 % (m/v) (Merck, KGaA, Darmstadt, Alemanha) para remover o excesso de brometo, indicado pelo desaparecimento da cor amarela da amostra. A determinação de Hg pelo CV-AFS foi feito com 3 % (m/v) de SnCl_2 (Merck, KGaA, Darmstadt, Alemanha).

2.3 Filtros de membrana, géis difusivos e de ligação

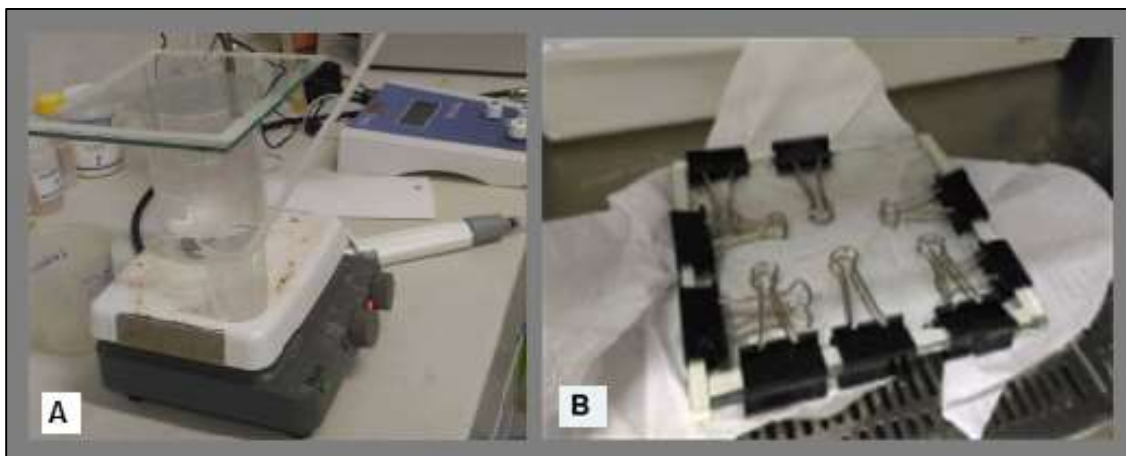
2.3.1 Filtro de membrana

A membrana de nitrato de celulose (2,5 cm de diâmetro, tamanho de poro de 0,45 μm e espessura de 115 μm) adquirida da Sartorius Stedim Biotech Ltda (Alemanha) foi gentilmente colocada sobre a camada difusiva para proteger o gel durante a montagem. Antes do uso, os discos de nitrato de celulose foram imersos em solução ácida de HNO_3 de 1 mol L^{-1} por 24 h para descontaminação. Após esse período, os discos foram lavados sucessivas vezes com água deionizada até pH (5-6) e armazenados em solução de NaCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na geladeira.

2.3.2 Gel difusivo

O gel de agarose (1,5 %, m/v) foi preparado dissolvendo 0,6 g de agarose em 40 mL de água ultrapura fervente. Subsequentemente, a mistura foi vertida entre duas placas de vidro pré-aquecidas com um espaçador de plástico de 0,8 mm de espessura e deixada repousar por 1 h para solidificar, conforme Figura 1. AB. Após este tempo, o gel de agarose foi cortado em discos com 2,5 cm de diâmetro e armazenados em solução $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ NaNO_3 durante 24 h.

Figura 1. A) Preparo do gel difusivo de agarose; B) Secagem do gel em capela de fluxo laminar.

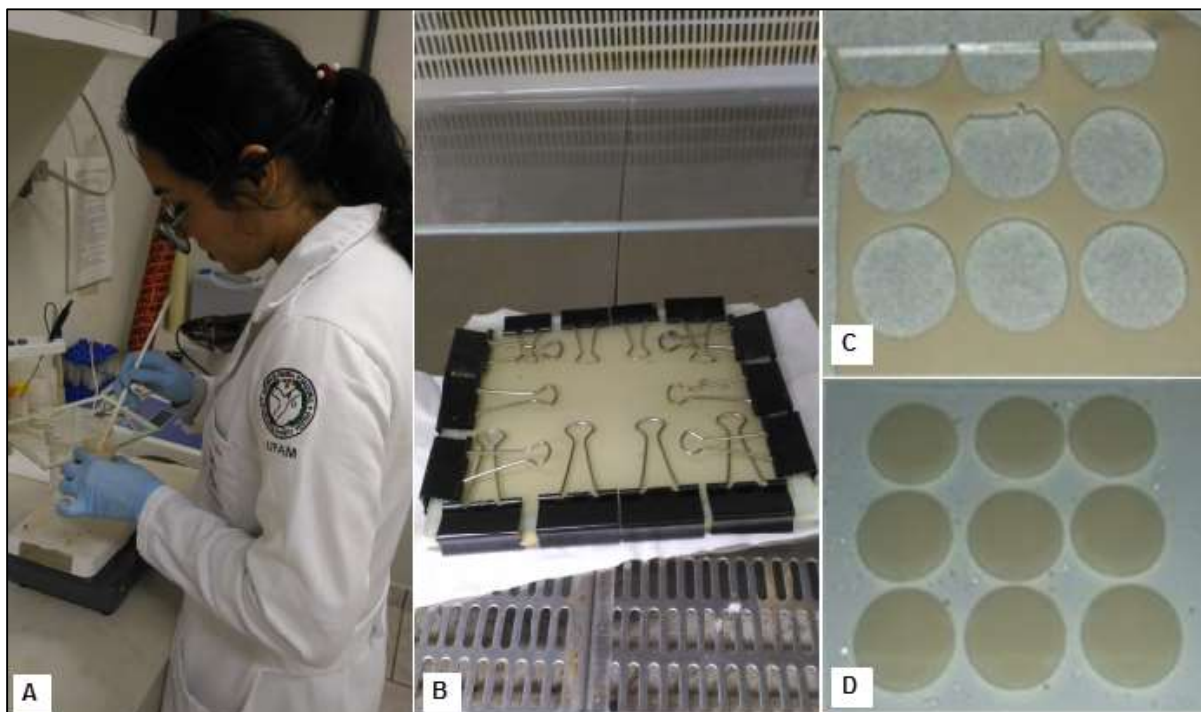


Fonte: CEA/UNESP – Rio Claro/SP. Próprio Autor, 2018.

2.3.3 Preparação de discos de gel de ligação de agarose e levedura

A imobilização da levedura *S. cerevisiae* em gel de agarose foi realizada de acordo com estudos anteriores (COLAÇO *et al.*, 2014; TARTUF-CARDONA *et al.*, 2015; MENEGÁRIO *et al.*, 2017). Para isso, 0,9 g de agarose de grau biotecnológico foram dissolvidos em 30 mL de água ultrapura fervente. Em seguida, quando a temperatura caiu abaixo de 80 °C, foram adicionados 6 g de *S. cerevisiae* seca e bem misturada. A suspensão resultante foi vertida entre duas placas de vidro pré-aquecidas (com espaçadores de 0,6 mm) e deixada em repouso por 1 h, conforme Figura 2.AB. A folha de gel de agarose-levedura obtida foi cortada em discos de 2,5 cm de diâmetro (contendo 20 % m/v de *S. cerevisiae* e 3,0 % m/v de agarose) e armazenada (refrigerado em 18 Ω cm⁻¹ de água ultrapura).

Figura 2. A) Preparo do gel ligante de levedura; B) Secagem do gel em capela de fluxo laminar; Retalho do corte em gel dos quais foram tirados os discos e D) Discos de gel ligante de levedura no diâmetro de 2,5 cm, prontos para uso.

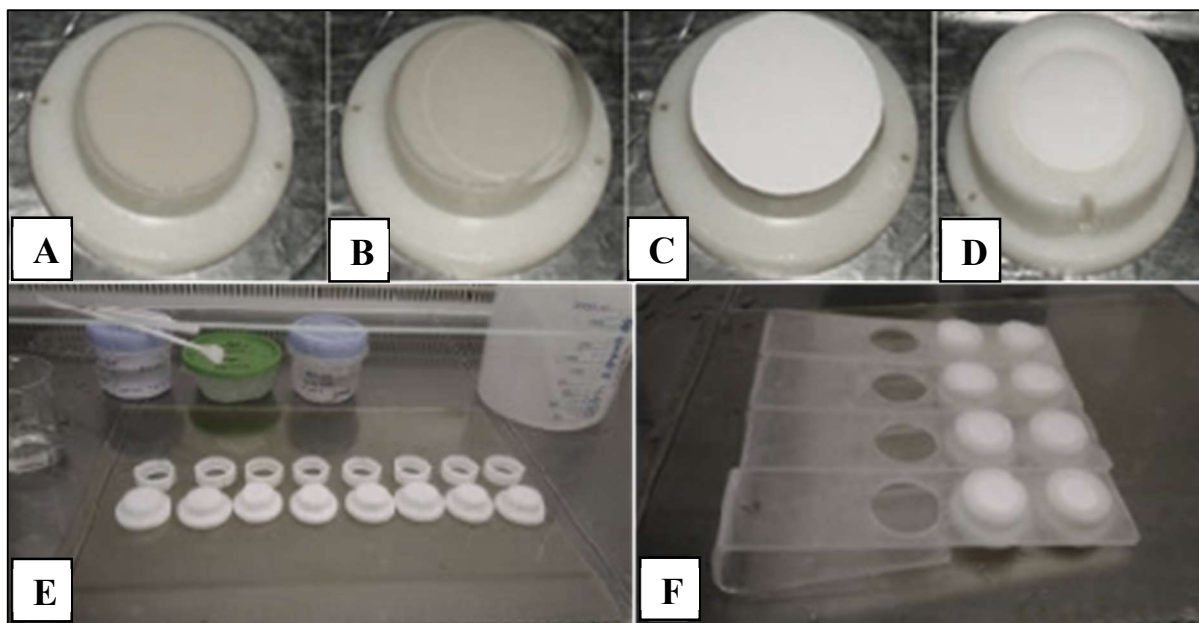


Fonte: CEA/UNESP – Rio Claro/SP. Próprio Autor, 2018.

2.4 Montagem de dispositivos DGT

Para a retenção seletiva de MeHg, os amostradores DGT propostos foram montados colocando um disco de gel de ligação no pistão e, posteriormente, uma camada difusiva de agarose, seguida por uma sobreposição de filtro de membrana de nitrato de celulose. Em seguida, os três discos foram mantidos juntos com uma tampa de polipropileno contendo uma janela de 20 mm de diâmetro, conforme esquema da Figura 3.

Figura 3. Imagens demonstrativas da montagem dos dispositivos DGT: A) Fase de ligação de levedura; B) Fase difusiva de agarose; C) Membrana protetora de nitrato de celulose. D) Dispositivo pronto para aplicação; E) Montagem dos dispositivos e F) Encaixe dos dispositivos na régua de acrílico para amostragem.



Fonte: Imagens A, B, C e D (Adaptado de CHOSTAK, 2014); E e F: CEA/UNESP – Rio Claro/SP. Próprio Autor, 2018.

2.5 Curvas de Imersão para cálculos do fator de eluição e coeficiente de difusão

2.5.1 Preparo da solução estoque de MeHg 25 ng mL⁻¹

Utilizando um frasco de vidro âmbar devidamente tratado previamente com solução a 10% de HNO₃ e solução de BrCl, e seco foi transferido o volume solução padrão de MeHg 1 ppm em 0,5% HOAc, 0,2% HCl, 30 mL, MeHgOH (Brooks Rand Labs, Seattle, WA, USA, part number 06601) para o preparo da solução estoque a 25 ng mL⁻¹. A partir desta solução estoque foram preparadas soluções diluídas nas seguintes concentrações: 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 ng mL⁻¹. Estas soluções foram distribuídas em tubos tipo falcon de 50 mL (em triplicata), sendo que de cada tubo retirou-se uma alíquota inicial (Ci) e uma alíquota final (Cf), com o objetivo de verificar a perda do analito na solução. Em sequência, os tubos contendo os discos ligante de agarose-levedura foram mantidos sob agitação constante por 2 horas. Após este tempo, os discos ligantes foram retirados e submetidos a análise de queima direta no equipamento DMA-80. Tendo em conta a diferença entre a concentração de MeHg na

solução antes (Cb) e após a imersão em discos (Ca), o fator de eluição de MeHg (Fe) foi calculado usando a Eq. (1), de acordo com o procedimento descrito por (ZHANG e DAVISON, 1995).

$$Fe = (Me). (Mr)^{-1} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde: Me é a massa de MeHg eluída dos discos de ligação. Mr é a massa do analito retido pelos discos de ligação (calculado a partir de Cb-Ca).

2.5.2 Coeficiente de difusão

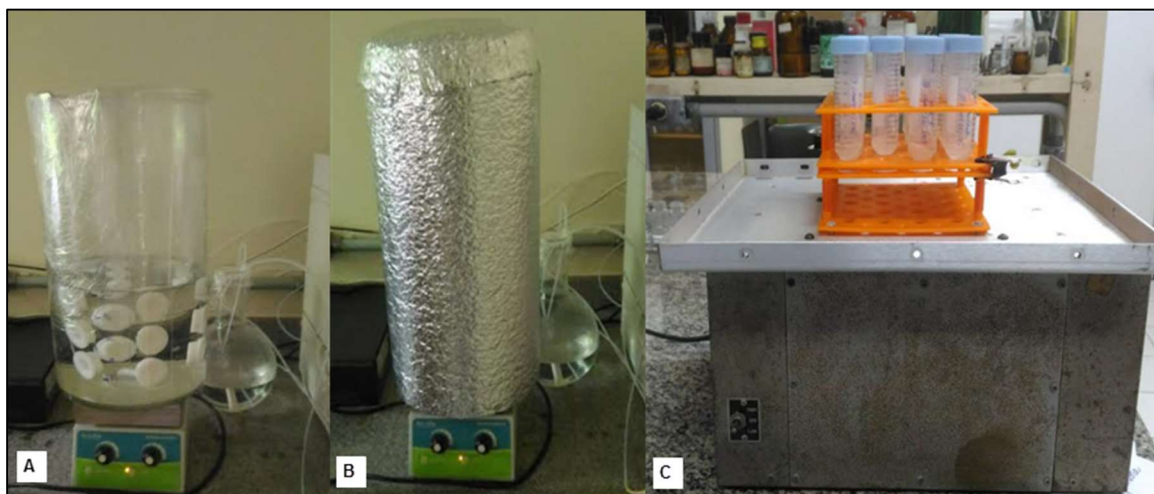
Os dispositivos DGT foram implantados em frascos de polietileno contendo soluções padrão de teste bem agitadas (5 L). Os experimentos foram feitos em temperatura controlada (23 ± 1 °C). Após exposições com duração de 24 a 120 h, a eluição de MeHg retida no gel de levedura foi feita somente para a técnica de CV-AFS, de acordo com a descrição acima e conforme representado na Figura 4. A determinação do coeficiente de difusão de MeHg através do hidrogel de agarose foi calculada de acordo com a Eq. (2):

$$D = (\alpha \Delta g). (Cb.A)^{-1} \quad \text{Equação (2)}$$

Onde: D é o coeficiente de difusão de MeHg ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$); α é a inclinação da massa acumulada versus o tempo de implantação (ng s^{-1}); Δg é a espessura da camada difusiva (cm), Cb é a concentração de íons livres ou lábeis na solução (mg L^{-1}) e A é a área superficial (cm^2) da camada difusiva exposta à solução.

O dispositivo DGT desenvolvido (disco de gel de ligação agarose-levedura, gel difusivo de agarose e membrana de nitrato de celulose) foi implantado em frascos de polietileno e pH 5.5. Os testes foram realizados em temperatura constante (23 °C). Contendo 5 L de solução de $0,1 \text{ ng mL}^{-1}$ de MeHg (para a técnica CV-AFS) e 25 ng mL^{-1} (para a técnica DMA), força iônica $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl. Após a recuperação das soluções, os dispositivos foram desmontados e os discos de gel de ligação foram submetidos ao processo de eluição descrito acima (Item 2.5.1).

Figura 4. Imersão dos Dispositivos DGT em solução sintética de MeHg para análise de especiação. A) Imersão dos DGT's; B) Proteção para evitar perda de MeHg por fotodegradação e C) Etapa de eluição dos discos de levedura em mesa agitadora por 24 h.



Fonte: Laboratório de Química Analítica e Ambiental/ INPA. Próprio Autor, 2019.

2.6 Efeito da Força iônica na retenção do MeHg

Com o objetivo de analisar o efeito da força iônica na retenção da *S. cerevisiae* quatro soluções de 1,5 L de MeHg 100 ng mL^{-1} foram preparadas, cada recipiente com a força iônica: 0,0005 – 0,005 – 0,05 e 0,1 mol L^{-1} NaCl e pH 5,0-6,0 ajustado com soluções HCl 2% (v/v, Suprapur, Merck®) e NaOH 0,1 mol L^{-1} (Merck®). Após a estabilização das soluções, foram imersos três dispositivos DGT em cada solução. Após 6 horas de imersão, os dispositivos foram retirados, desmontados e analisados via análise direta pelo Equipamento DMA-80®.

2.7 Efeito do pH na retenção do MeHg

Para analisar o efeito de pH na retenção da *S. cerevisiae*, foram preparadas quatro soluções de 1,5 L de MeHg 100 ng mL^{-1} , pH 3,5 – 5,0 – 6,5 e 8,5, respectivamente, ajustados com soluções de HCl 2% (v/v, Suprapur, Merck®) e NaCl 2 mol L^{-1} (Merck®). Após a estabilização das soluções, foram imersos três dispositivos DGT em cada solução. Após 6 horas, os DGTs foram retirados, desmontados e analisados via análise direta pelo Equipamento DMA-80®.

2.8 Efeito de Interferentes na retenção de MeHg

Foram avaliadas separadamente as potenciais interferências na retenção de MeHg conduzindo imersões do dispositivo desenvolvido (ligante *S. cerevisiae*, difusivo-agarose, e filtro nitrato de celulose) durante seis horas, em diferentes soluções preparadas no laboratório, contendo os seguintes metais: Manganês (Mn), Cobre (Cu), Zinco (Zn) e Ferro (Fe); Chumbo (Pb) e Cádmio (Cd). Foram preparadas seis soluções de 1L contendo 10 ng mL^{-1} de MeHg, com força iônica de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 e pH entre (4 – 5,5) e relação de concentração de 1:1000 para (Mn, Cu, Zn e Fe) e de 1:10 para (Pb, Cd). Após o tempo de imersão os ligantes continuaram o processo de eluição para posterior determinação no ICP-OES. A determinação de MeHg foi feita por análise direta pelo Equipamento DMA-80®.

2.9 Seletividade do Ligante *S. cerevisiae* MeHg e Hg (II)

Foi avaliada a capacidade do gel de ligação de agarose-levedura de reter seletivamente MeHg na presença de Hg (II). Para isso, foram preparadas três diferentes soluções: **Solução A:** enriquecida com 30 ng mL^{-1} de Hg (II); **Solução B:** fortificada com 30 ng mL^{-1} de MeHg e **Solução C** com 30 ng mL^{-1} de Hg (II) e 30 ng mL^{-1} de MeHg. Também foram ajustadas a Força iônica e o pH das soluções para $0,05 \text{ mol L NaNO}_3$ e 5,5, respectivamente.

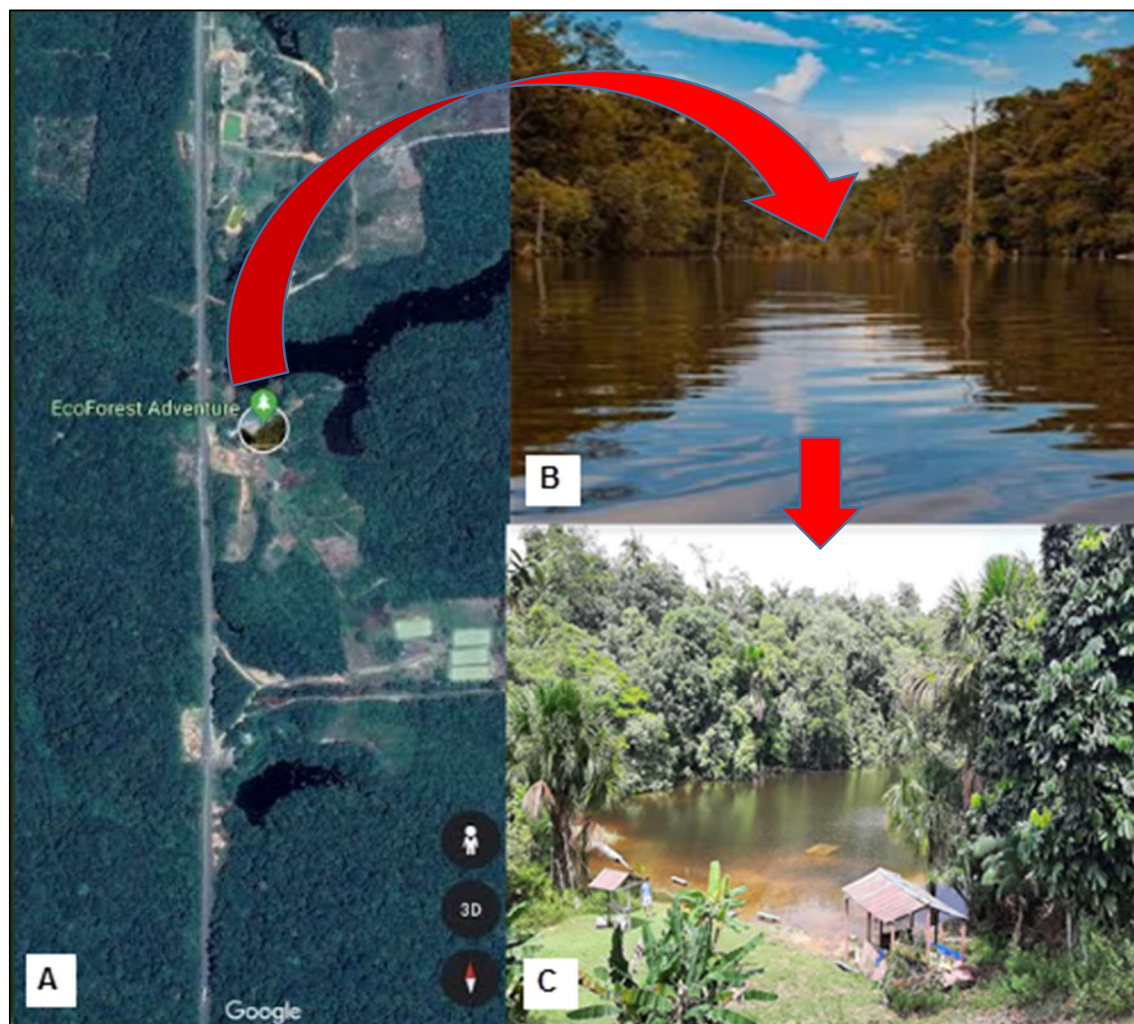
Conforme relatado anteriormente nos estudos de Cardona (2015), o Hg (II) é muito instável em soluções de imersão, pois sua concentração em solução tende a diminuir durante imersão dos dispositivos DGT, possivelmente, devido à adsorção do analito no plástico das paredes dos materiais usados. Sendo assim, para minimizar a perda de Hg e variações de pH durante a implantação, antes do teste, os dispositivos DGTs e suportes foram colocados em solução para estabilização (24 h sob agitação a 23°C). Após este período, os dispositivos DGT foram lavados com água ultrapura e 6 dispositivos foram montados com disco de gel de ligação de agarose-levedura mais gel difusor de agarose (S + A) e 6 dispositivos com gel de ligação de poliacrilamida-levedura mais gel difusor de poliacrilamida (S + P), e então imersos em cada solução. Após um período de 6 horas os dispositivos foram retirados, desmontados e os ligantes encaminhados para leitura no DMA.

2.10 Determinação de MeHg no Lago de águas pretas da nascente do rio Tarumã-Açu

As coletas de água para amostragem e análise de especiação com MeHg foram feitas no lago de uma das nascentes da Bacia do rio Tarumã Açu, BR 174/Km 927 (-2.63074 S , -60.03921 W) no interior

da propriedade privada do EcoForest Adventure, próximo ao município de Manaus em novembro de 2019 (Figura 5).

Figura 5. A) Localização da Área de Estudo do Lago da Nascente do rio Tarumã-Açu (Google Earth); B) visão panorâmica do Ponto de Coleta e C) Local da Amostragem *in situ*.

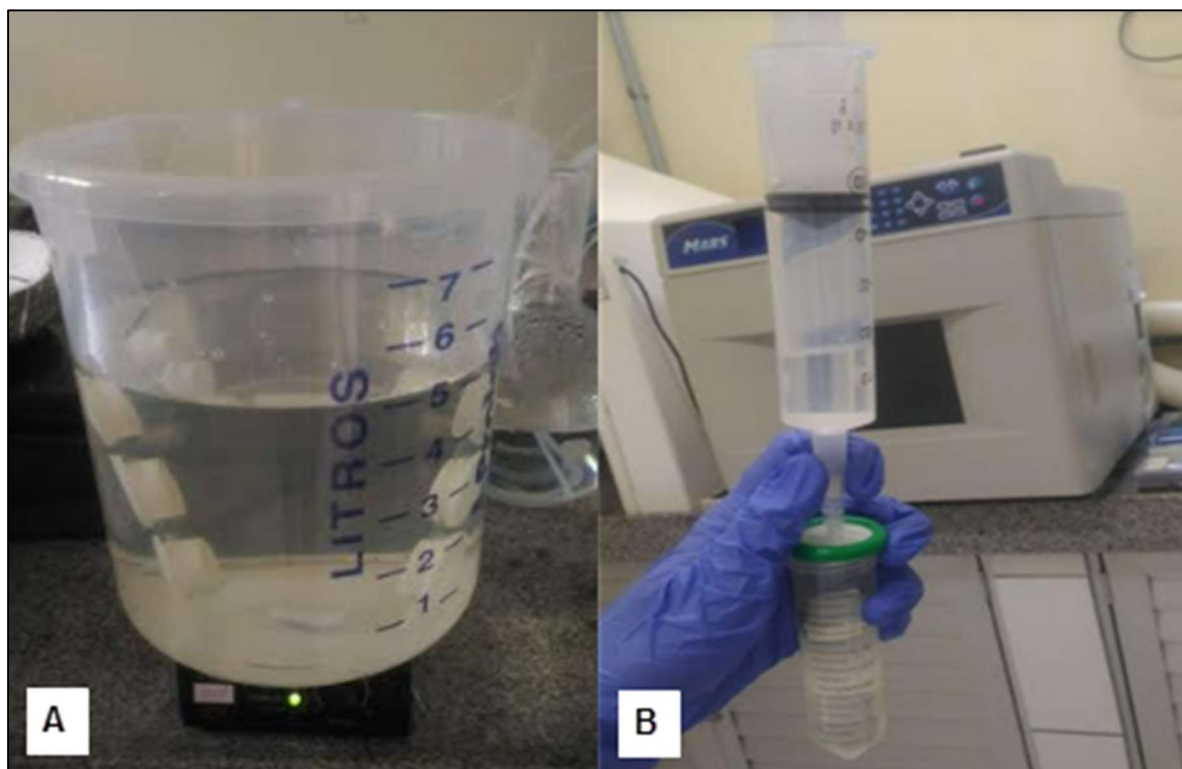


Fonte: Próprio Autor, 2019.

Os dispositivos DGT foram imersos nos tempos de 24 h e 5 dias em um recipiente de polietileno contendo 5 L de água coletada. Antes da imersão dos DGT, duas amostras foram coletadas (antes e após o implante dos DGT) para a determinação a concentração total e dissolvida de Hg (inicial e final). Para avaliar a concentração de Hg dissolvido, as amostras foram filtradas com o auxílio de uma seringa estéril de 50 mL através de uma membrana de nitrato de celulose (Millipore, tamanho de poro 0.45 mm). Cada amostra foi preservada em HCl a 2 % e a 4 °C em geladeira. Temperatura, pH e condutividade elétrica foram medidos antes da imersão dos dispositivos DGT. Devido à baixa força iônica do lago, o

coeficiente de difusão aparente foi empregado para os cálculos de DGT, como relatado anteriormente (YABUKI *et al.*, 2014). A Figura 6 apresenta a imersão dos dispositivos DGT e a filtração das alíquotas em membrana 0.45 μm (KASVI® SYRINGE FILTERS-K18-430).

Figura 6. A) Imersão dos dispositivos DGT nos tempos de 24 e 120 h na amostra de água natural; B) Filtragem de 50 mL das amostras para avaliar a concentração de Hg dissolvido antes e depois da imersão dos DGT's.



Fonte: Laboratório de Química Analítica e Ambiental/ INPA. Próprio Autor, 2019.

2.11 Tratamento estatístico de dados

Para a análise gráfica e estatística dos resultados, foram utilizadas as bibliotecas **chemCal*, *precrec*, *equivalence*, *ROCit* e *outliers**, presentes na linguagem de programação R, versão “3.6.1”.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Otimização dos parâmetros de técnicas instrumentais para determinação de MeHg

Através da curva analítica no CV-AFS ($y = 245,43x + 157,1$) obteve-se uma boa correlação entre concentrações/sinal do equipamento ($R^2 = 0.999$), o mesmo coeficiente foi encontrado para a curva DMA. Sendo que para o DMA foram feitas duas curvas ($y = 0,0993x - 0,0004$) – curva baixa para leitura das alíquotas; ($y = 0,0893x + 0,0075$) – curva alta para a leitura dos géis. Os limites de detecção foram $0.00003 \pm 0.00001 \text{ ng mL}^{-1}$ para CV-AFS e $0,045 \pm 0,001 \text{ ng mL}^{-1}$ para DMA, demonstrando elevada sensibilidade das técnicas. As curvas de Hg para os dois equipamentos estão ilustradas no Apêndice 1.

3.2 Testes de retenção de MeHg com solução sintética e fator de eluição

A membrana ligante de levedura imobilizada em agarose, por ser uma membrana de troca catiônica, tem sido utilizada com sucesso em estudos anteriores para a determinação de MeHg mostrando maior afinidade para metais de transição do que metais alcalino-terrosos. Diante do exposto, e considerando que o MeHg é um cátion em solução, foi feito um experimento de extração em fase sólida (SPE) para avaliar a retenção de MeHg em discos de *S. cerevisiae* imobilizada em agarose (COLAÇO *et al.*, 2014; TAFURT-CARDONA *et al.*, 2015).

Os resultados obtidos neste experimento, mostrados na Tabela 2, indicaram alta retenção (média de $99 \pm 6,2 \%$) e alto fator de eluição (média de 0,999) do analito, indicando que a membrana possui as características apropriadas para a retenção de MeHg. Esses resultados corroboram o estudo de Madrid *et al.*, (1995), que demonstraram a afinidade de *S. cerevisiae* por MeHg.

Em geral, o mecanismo de ligação à levedura pode ser explicado por sua constituição biomolecular, que possui numerosos grupos funcionais (por exemplo, grupos hidroxil, sulfato, carboxil e amino) que podem se ligar a metais. Assim, os grupos funcionais que compõem a levedura podem remover e selecionar as espécies de metais pesados presentes na solução (MADRID *et al.*, 1995).

Naganuma *et al.* (2000) sugeriram que MeHg é ligado pela cisteína (Cis-2), um aminoácido de terminal que tem o grupo sulfidrilo e se encontra na estrutura terciária de L-glutamina: D-frutose A amido-6-fosfato transferase (GFAT) presente em *S. cerevisiae*, inibindo sua atividade enzimática, o que explicaria a afinidade da levedura pelo MeHg e não pelo Hg (II).

Tabela 2. Resultados das análises no DMA obtidos no teste de extração em fase sólida com o uso de discos de *S. cerevisiae* na retenção de MeHg.

Concentração padrão MeHg (ng mL ⁻¹)	Mr [*] , ng	Retenção, %	Me ^{**} , ng	Fe ^{***}
0,5	18 ± 1	98,9 ± 0,2	20,7 ± 0,7	1,14 ± 0,05
1,0	40 ± 3	99,8 ± 0,1	42,3 ± 0,5	1,05 ± 0,07
2,5	102 ± 6	99,97 ± 0,02	111,3 ± 3,9	1,09 ± 0,05
5,0	203 ± 2	99,93 ± 0,03	214,3 ± 3,1	1,05 ± 0,02
7,5	353 ± 1	99,98 ± 0,01	347,9 ± 4,2	0,98 ± 0,01
10,0	474 ± 6	99,92 ± 0,02	469,7 ± 2,3	0,99 ± 0,02

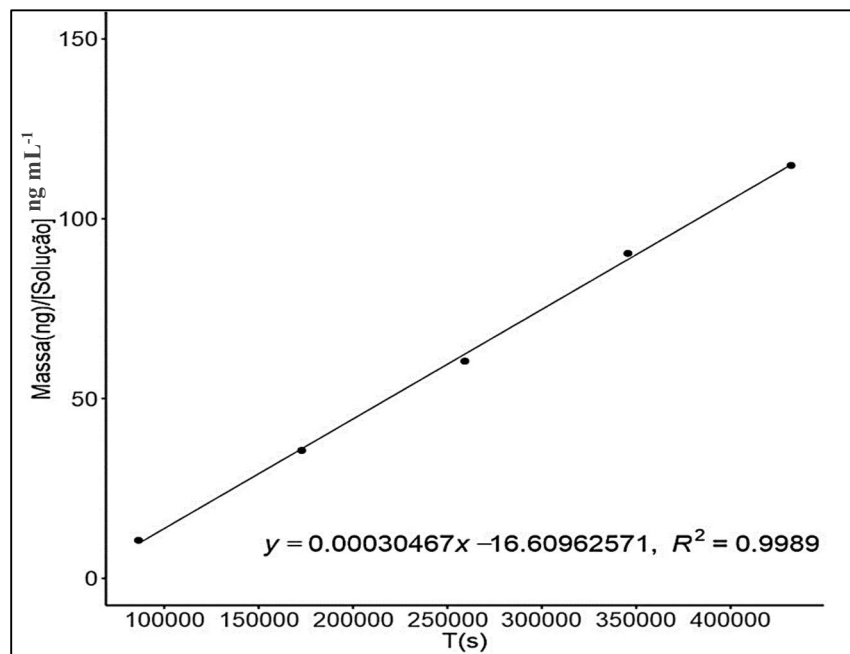
Legenda: *Mr=Massa retida; **Me=Massa do eluído e ***Fe=Fator de eluição. Fonte: Próprio Autor, 2020.

Comparativamente estes resultados se mostraram parecidos com os obtidos por Tafurt-Cardona *et al.* (2015), pois destacaram que efetivamente houve retenção quantitativa de MeHg, com média de (91 ± 3,2 %). O procedimento de eluição adotado também se mostrou efetivo para a remoção do analito dos discos de levedura (fator de eluição de 0,972). Porém, estas análises foram feitas pelo uso técnica do CV-AFS com etapa de eluição prévia dos géis. Diferentemente deste trabalho em que foi feita análise direta do gel de ligação de levedura pela leitura em DMA.

3.3 Curvas de Imersão e Coeficientes de difusão

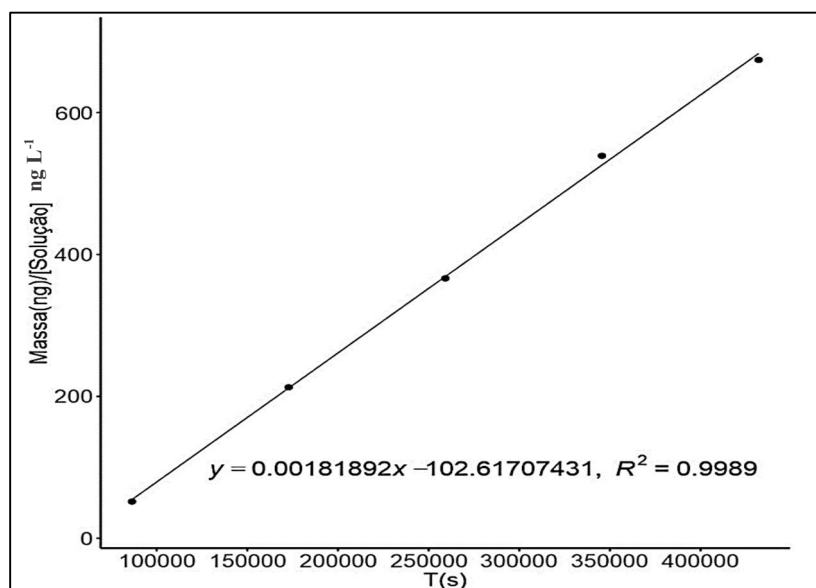
Como pode ser visto nas Figuras 7 e 8, quantidades significativas de MeHg foram retidas pelo ligante avaliado, tanto em períodos de 24 h quanto em 120 h de imersão. Na técnica DGT, os dados são normalmente expressos como massa acumulada em função do tempo de imersão. No entanto, como uma pequena variação na concentração do analito na solução de imersão foi observada ao longo das experiências, os dados das ordenadas (Y) foram normalizados dividindo-se a quantidade de massa retida pela concentração da solução no momento de remover cada DGT, conforme relatado anteriormente (TAFURT-CARDONA *et al.*, 2015).

Figura 7. Massa acumulada em relação à concentração da solução de imersão versus tempo para a Técnica DMA. Solução contendo 25 ng mL^{-1} MeHg em $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Temperatura 23°C . Imersões até 120 h (432000 s).



Fonte: Próprio Autor, 2019.

Figura 8. Massa acumulada em relação à concentração da solução de imersão versus tempo para a Técnica CV AFS. Solução contendo $0,1 \text{ ng mL}^{-1}$ MeHg em $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Temperatura 23°C . Imersões até 120 h (432000 s).



Fonte: Próprio Autor, 2019.

A relação linear entre a razão (massas/concentração da solução) e o tempo de imersão foi bastante satisfatória para ambas as técnicas (DMA e CV-AFS: $R^2 = 0,9989$ para 120 h). O coeficiente de difusão médio para o CV-AFS foi $(6,84 \pm 0,32) \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e para o DMA foi $(8,32 \pm 0,57) \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ($22 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$). Estes valores estão de acordo com os valores indicados em estudos anteriores (CLARISSE, FOUCHER e HINTELMANN, 2009; CLARISSE *et al.*, 2012; PELCOVÁ, DOČEKALOVÁ e KLECKEROVÁ, 2014; TAFURT-CARDONA *et al.*, 2015; MENEGÁRIO *et al.*, 2017).

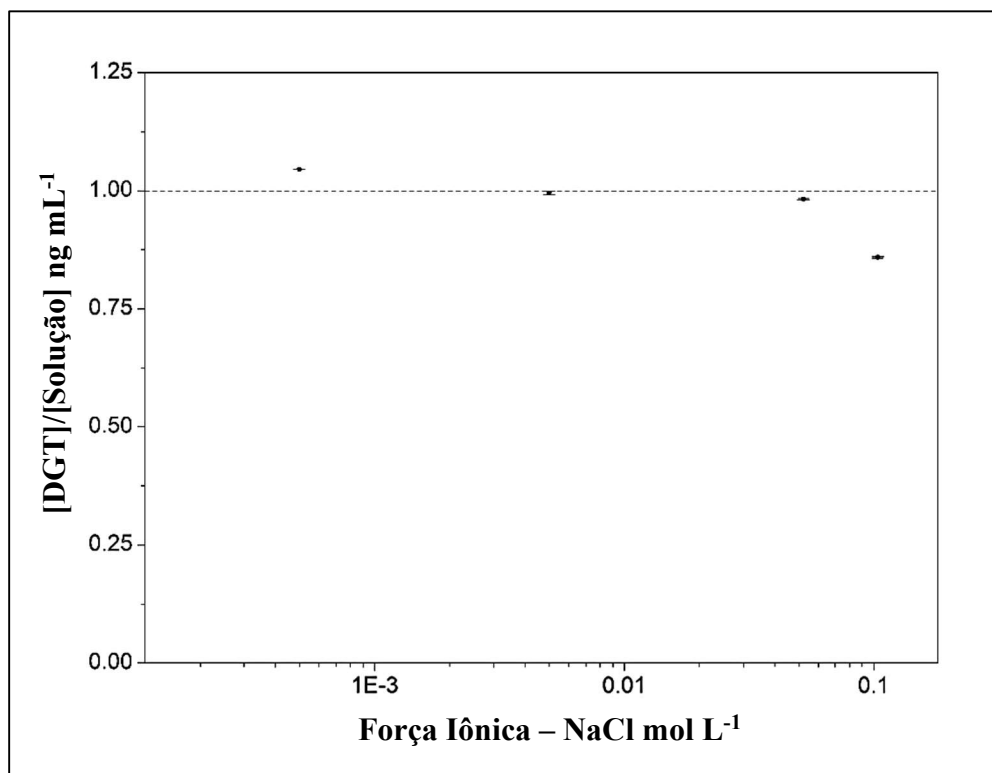
Assim, sugere-se que o MeHg tenha sido retido quantitativamente por discos de *S. cerevisiae* imobilizados em agarose e que o material proposto possa ser utilizado como um excelente agente de ligação para a amostragem deste analito pela técnica DGT. Por outro lado, os valores do coeficiente de difusão obtidos foram menores em relação a outros estudos com MeHg e DGT realizados anteriormente (CLARISSE, FOUCHER e HINTELMANN, 2009; CLARISSE *et al.*, 2012; PELCOVÁ, DOČEKALOVÁ e KLECKEROVÁ, 2014)

Os experimentos subsequentes mostraram uma variação no cálculo do coeficiente de difusão, portanto, foi estabelecido um valor médio, levando em consideração a variação nos experimentos de curvas de imersão, efeitos do pH e da força iônica e estudos de especiação.

3.4 Efeito da força iônica na retenção do MeHg

A Figura 9 apresenta a relação da concentração determinada através da imersão do dispositivo DGT desenvolvido e a concentração real da solução de imersão. A faixa de força iônica testada ($0,0005 - 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com NaCl) revelou baixa interferência na retenção do MeHg, com recuperações de 86 a 105%. Muito embora esta interferência tenha sido insignificante ($\leq 4\%$), a retenção de MeHg tende a diminuir à medida que aumenta a concentração de NaCl. Este comportamento foi similar ao reportado anteriormente por Hong *et al.* (2011), utilizando a resina 3-mercaptopril-silica gel como agente ligante e o gel de agarose como camada difusiva. COLAÇO *et al.* (2014) também encontraram resultados semelhantes utilizando a membrana P-81 como agente ligante e o gel de agarose como meio difusivo. Luko (2015), reportou em seus estudos de especiação com Vanádio, resultados com interferentes fosfato (PO_4^{3-}), sulfato (SO_4^{2-}) e cloreto (Cl^-), utilizando a resina Amberlite IRA 410 como agente ligante e o gel de agarose como camada difusiva, a técnica DGT em conjunto com a otimização instrumental foi capaz de minimizar a influência destes interferentes na retenção de Vanádio. Estes autores sugerem que esta diminuição na recuperação de MeHg (em presença de NaCl) é consequência da complexação de Hg com Cloreto.

Figura 9. Efeito das diferentes forças iônicas testadas na capacidade de retenção de MeHg pela *S. cerevisiae* (MeHg 100 ng mL⁻¹, pH 5,5).

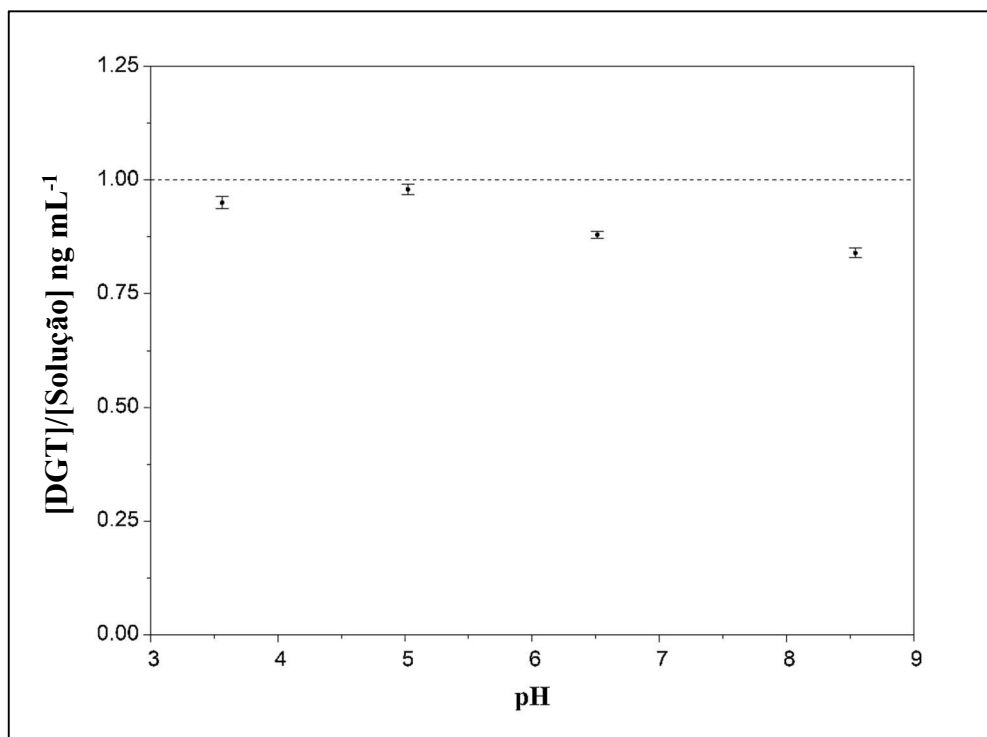


Fonte: Próprio Autor, 2019.

3.5 Efeito do pH na retenção do MeHg

A Figura 10 apresenta a relação da concentração determinada através da imersão de dispositivos contendo o material desenvolvido e a concentração real da solução de imersão. Foram obtidas recuperações de 84 a 95% na faixa de pH testados (3,5 – 8,5) sugerem baixa interferência na retenção de MeHg pelo ligante proposto. Tartuf-Cardona *et al.* (2015) relataram recuperações de até 98% para o intervalo de pH de 3 a 9, utilizando o mesmo agente ligante, *S. Cerevisiae*. Ressalta-se que este intervalo de pH testado inclui os valores encontrados na maioria dos sistemas fluviais encontrados na Bacia Amazônica.

Figura 10. Efeito dos diferentes pH testados na capacidade de retenção de MeHg pela *S. cerevisiae* (MeHg 100 ng mL⁻¹, pH 5,5).

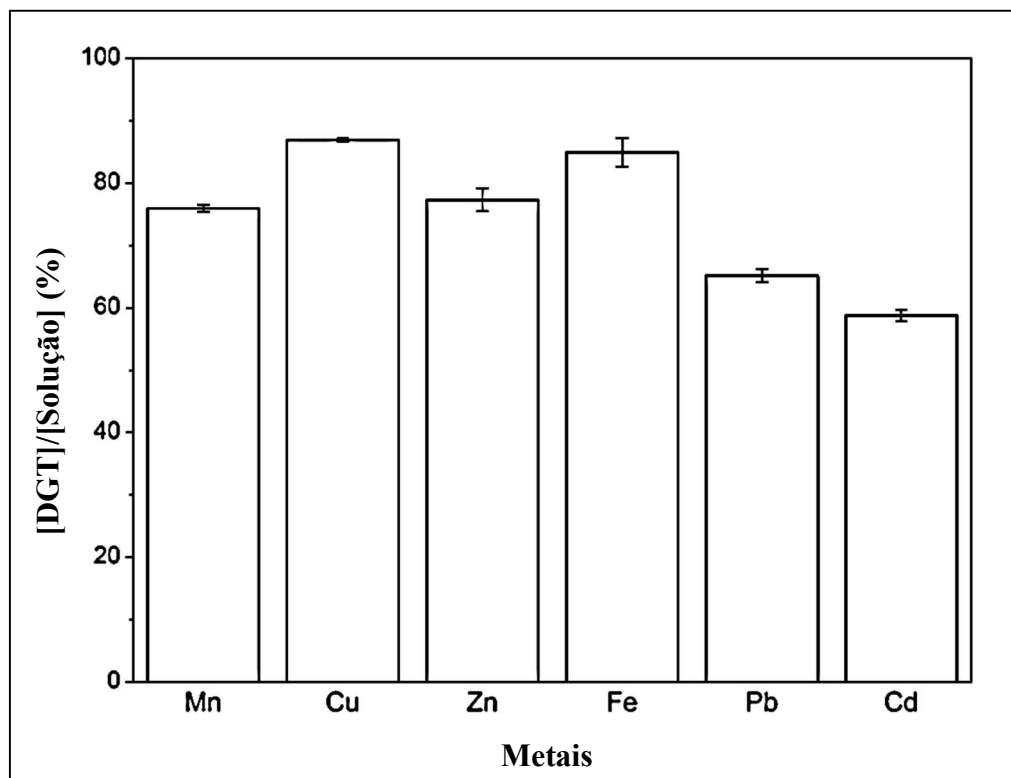


Fonte: Próprio Autor, 2019.

3.6 Efeito da interferência de metais

A Figura 11 apresenta os resultados obtidos no teste para avaliação das interferências dos metais: Mn, Cu, Zn, Fe, Pb e Cd na retenção de MeHg pelo ligante *S. cerevisiae*. Quando comparadas as concentrações de MeHg determinadas pela DGT com a concentração da solução de imersão, as recuperações obtidas (76 – 87 %) de MeHg sugere que, mesmo em concentração 100 vezes maior os íons Mn, Cu, Zn e Fe não apresentaram diferenças significativas na retenção do analito. Foram observados resultados semelhantes reportados no estudo Tartuf-Cardona *et al.* (2015), que apresentaram recuperações de (70 – 87 %) para os mesmos metais avaliados neste trabalho. Contudo, também foi observado uma redução na porcentagem de recuperação de MeHg na presença de Pb (65 ± 2%) e Cd (59 ± 2%). É provável que estes elementos, estejam competindo fortemente pelos sítios de ligação na levedura, uma vez que o ligante já foi utilizado com sucesso para a determinação destes elementos (MENEGÁRIO, TONELLO e DURRANT, 2010; PESCIM *et al.*, 2012 e TARTUF-CARDONA *et al.*, 2015).

Figura 11. Efeito da interferência de metais na retenção de MeHg pelo ligante *S. cerevisiae*.



Fonte: Próprio Autor, 2019.

3.7 Seletividade do Ligante *S. cerevisiae* MeHg

O teste para avaliar a seletividade da ligação agarose-levedura disco de gel na retenção de MeHg foi feito usando NaNO_3 para ajustar o força iônica. O uso de NaNO_3 teve como objetivo evitar a formação de complexos de cloretos de Hg (II) que não podem ser retidos por *S. cerevisiae* (BOSZKE, GŁOSIŃSKA e SIEPAK, 2002; DOČEKALOVÁ E DIVIŠ, 2005; HONG, RIFKIN e BOUWER, 2011). Embora DESTRO COLAÇO *et al.* 2014 e Tafurt-Cardona *et al.* (2015) tenham obtido resultados satisfatórios para Hg (II) quantificação por DGT usando poliacrilamida como camada difusiva, a maioria dos estudos anteriores foi realizada usando agarose como camada difusiva (DOČEKALOVÁ e DIVIŠ, 2005; DIVIŠ *et al.* 2010; GAO, 2011; FERNÁNDEZ-GÓMEZ *et al.* 2011).

Assim, para confirmar a seletividade de *S. cerevisiae* para a captação de MeHg na presença de Hg (II), foram testados neste trabalho os géis de agarose e poliacrilamida, a fim de descartar possíveis interpretações incorretas devido às ligações poliacrilamida-Hg.

A Tabela 3 mostra as recuperações de Hg (II) e MeHg usando dispositivos DGT montado com disco de gel de ligação de agarose-levedura mais poliacrilamida gel difusivo (S + P) e com disco de gel de ligação de agarose-levedura mais gel difusor de agarose (S + A).

Tabela 3. Recuperação (ng mL⁻¹) dos analitos a partir de amostras sintéticas obtidos com o método proposto. S + P = Agente ligante *S. cerevisiae* + gel difusivo poliacrilamida; S + A = Agente ligante *S. cerevisiae* + gel difusivo agarose (n=6).

	Solução A		
	[Solução] Hg (II)	[DGT] Hg (II)	Recuperação (%)
S + P	11,12±0,17	1,39±0,01	4,65±0,45
S + A	11,12±0,17	1,53±0,04	5,10±2,66
	Solução B		
	[Solução] MeHg	[DGT] MeHg	Recuperação (%)
S + P	29,30±0,37	30,23±0,91	100,76±3,00
S + A	29,30±0,37	33,56±1,16	111,88±3,46
	Solução C		
	[Solução] Hg (II) + MeHg	[DGT] Hg (II) + MeHg	Recuperação (%)
S + P	41,10±0,47	27,24±0,80	90,80±2,95
S + A	41,10±0,47	36,23±1,07	120,72±2,98

Fonte: Próprio Autor, 2019.

As recuperações de Hg (II) foram inferiores a 6 % para ambos os dispositivos da solução A. Uma pequena quantidade de Hg (II) no interstício da camada de ligação (ocorrendo por difusão) é esperado. Pode ser apontado que este erro é facilmente superado usando-se imersões por um intervalo de tempo mais longo. A partir da solução B, recuperações de MeHg de 101% e 105% foram observados para os dispositivos S + P e S + A, respectivamente.

Para o dispositivo S + A, a recuperação de MeHg na presença de Hg (II) (solução C) foi superior a 100% (120,72 ± 2,98%). Para o dispositivo S + P, a recuperação de MeHg na presença de Hg (II) foi inferior a 100% (90,72 ± 2,95%). Esses resultados sugerem que, apesar da boa seletividade de o gel de poliacrilamida para MeHg, o uso do gel ligação de agarose-levedura pode melhorar a seletividade do dispositivo proposto. Assim, S + A dispositivos foram usados para medições *in situ*.

Os resultados obtidos neste trabalho para a quantificação do Hg (II) e MeHg pela queima direta dos géis através da análise no DMA corroboram com os dados obtidos por Tafurt-Cardona *et al.* (2015) realizados pela leitura dos géis eluídos e analisados por CV-AFS. Confirmando assim, que a eliminação

de uma etapa e a mudança do instrumento de análise não influenciaram negativamente os resultados, visto que foram obtidos baixos desvios-padrão e recuperações satisfatórias.

3.8 Determinação de MeHg em Lago de águas Pretas

Durante a coleta da água foram feitas as medições *in situ* dos parâmetros: Temperatura ($24,83 \pm 0,23$ °C), pH ($5,317 \pm 0,005$), condutividade elétrica ($7,623 \pm 0,005$ $\mu\text{S cm}^{-1}$) e força iônica ($0,097$ mmol L⁻¹) antes da imersão dos dispositivos DGT. Os resultados apresentados na Tabela 4, obtidos do teste de especiação de MeHg pela técnica DGT, demonstram que o agente de ligação *S. cerevisiae* retém o MeHg quantitativa e seletivamente (90 - 99 %).

Tabela 4. Concentração de MeHg (ng mL⁻¹) determinada pelo método proposto, concentração de mercúrio total e dissolvido mensurada em amostras da nascente do rio Tarumã-Açu (TA).

DMA	[Total]		[Dissolvido]		[MeHg]
Tempo (horas)	Antes ^a	Depois ^b	Antes ^a	Depois ^b	
24	$0,102 \pm 0,004$	$0,07 \pm 0,01$	$0,091 \pm 0,010$	$0,063 \pm 0,005$	$0,026 \pm 0,004$
120	$0,073 \pm 0,004$	$0,04 \pm 0,01$	$0,070 \pm 0,001$	$0,054 \pm 0,002$	$0,068 \pm 0,015$
CV AFS	[Total]		[Dissolvido]		[MeHg]
Tempo (horas)	Antes ^a	Depois ^b	Antes ^a	Depois ^b	
24	$0,099 \pm 0,004$	$0,07 \pm 0,01$	$0,072 \pm 0,002$	$0,051 \pm 0,004$	$0,022 \pm 0,004$
120	$0,073 \pm 0,004$	$0,04 \pm 0,01$	$0,071 \pm 0,007$	$0,040 \pm 0,005$	$0,066 \pm 0,009$

^a Antes da implantação do DGT.

^b Depois da implantação do DGT.

Fonte: Próprio Autor, 2019.

A coleta das amostras no lago de águas pretas foi realizada na estação chuvosa, quando as concentrações de Hg são relativamente menores. A Tabela 3 apresenta diferenças entre os valores de concentração de Hg total e dissolvido com concentrações inferiores a ($\leq 0,2$ ng mL⁻¹) nas amostras coletadas durante a implantação dos dispositivos. A concentração média de $0,0045$ ng mL⁻¹ para o Hg total foi previamente estimada entre 1995 e 1998 para o Rio Negro, considerando a análise em 17 tributários diferentes (FADINI e JARDIM, 2000).

Considerando que uma estratégia para especiação de mercúrio é obter a concentração de metilmercúrio (MeHg) por DGT e a concentração de Hg (II) subtraindo a concentração de MeHg da concentração de mercúrio dissolvido (Hg_{diss}). Uma das vantagens dessa estratégia é que não é necessário conhecer os diferentes coeficientes de difusão do mercúrio (complexos e não complexos com substâncias húmicas).

Por outro lado, essa estratégia tem a desvantagem da medição pontual do mercúrio dissolvido, diferentemente da DGT, que fornece medidas em função do tempo. Assim, uma concentração de Hg (II) com valores médios de $(0,06 \pm 0,01 \text{ ng mL}^{-1})$ para as 24h DMA e $(0,02 \pm 0,01 \text{ ng mL}^{-1})$ 120h e para o CV-AFS pode ser estimado no local, respectivamente, $(0,05 \text{ e } 0,03 \pm 0,01 \text{ ng mL}^{-1})$, referente ao ponto amostrado antes e após a coleta. Além disso, neste trabalho, comparações entre medidas mostraram que o MeHg representa 15 – 20 % do Hg dissolvido e 24 – 25 % do total das concentrações de HgT no (tempo de 24h), enquanto que para o tempo de 120h a concentração de MeHg representa 82 – 92 % do Hg dissolvido e 87 – 95 % do total das concentrações de HgT (Tabela 4). Sendo observado que para os tempos de 120h houve um aumento significativo da concentração de MeHg, conforme demonstrados nos valores obtidos pelas duas técnicas empregadas.

Em virtude dos resultados obtidos neste trabalho, se faz necessário estudos mais detalhados sobre do ciclo biogeoquímico do mercúrio e as taxas de metilação que são influenciadas pela estratificação térmica e química próprias de cada ambiente de águas pretas: natural com características preservadas ou com atividade antrópica, tais como o rio Negro e demais tributários, que possuem características que permitem a permanência das espécies de mercúrio na água, principalmente a formação da espécie orgânica, o metilmercúrio (MeHg).

Bisinoti *et al.* (Bisinoti, Sargentini, and Jardim 2007) relataram uma concentração máxima de $0,03 \text{ ng mL}^{-1}$ para o total de Hg na água da Bacia do Rio Negro durante o período 2002-2004. Neste trabalho, as concentrações totais de Hg foram semelhantes ao valor máximo relatado, exceto para o local de amostragem, onde concentrações de $0,11 \text{ ng mL}^{-1}$ e $0,03 \text{ ng mL}^{-1}$ foram encontrados para Hg total e dissolvido, respectivamente. A concentração total de Hg é inferior ao limite estabelecido deste elemento pelo CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente - Resolução Nº 357/2005), que é de $0,2 \text{ ng mL}^{-1}$ para rios pertencentes à classe II (Brasil 2005).

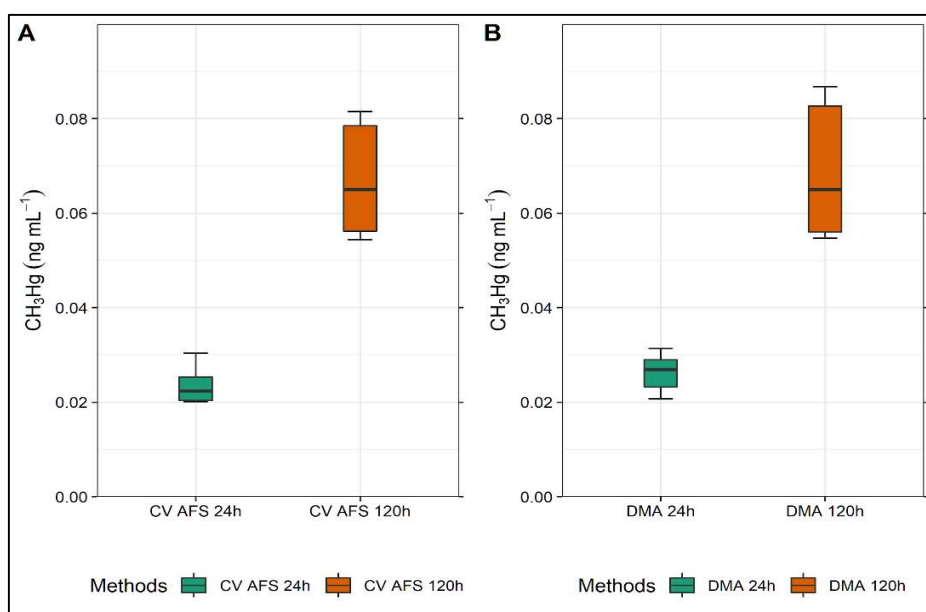
No entanto, esses valores de concentração estavam muito próximos do limite máximo permitido e podem ser um motivo de preocupação ambiental futura. Por outro lado, as concentrações de MeHg obtidas com o método desenvolvido usando *S. cerevisiae* como agente ligante na técnica DGT foram inferiores a $0,2 \text{ ng mL}^{-1}$, mostrando que, embora exista uma concentração relativamente alta de mercúrio no ponto amostrado, a fração mais tóxica (MeHg) é muito baixa, com grande potencial de biodisponibilidade.

Em relação a parte do tratamento de dados para os processos de otimização devido a eliminação de uma etapa, realizou-se testes estatísticos para avaliação dos parâmetros de precisão, exatidão e robustez. O Coeficiente de Variação (CV %) manteve-se abaixo dos 10%, considerado aceitável para os critérios de análise. Demonstrando assim, que o DMA é efetivo (preciso e sensível) e não apresentou

diferença estatística significativa em relação ao CV-AFS, quando foi eliminada a etapa de eluição através da queima direta do gel ligante com levedura imobilizada para determinação da fração retida de MeHg.

A Figura 12 A-B demonstra que os resultados apresentam mais dispersão no grande período de tempo, enquanto que, para DMA 120h, é mostrado que a dispersão é maior que no CV-AFS 120h com intervalo limites de aproximadamente 0,05 CH₃Hg a 0,09 para DMA e 0,05 a 0,08 para CV-AFS. No entanto, a mediana indica o mesmo valor aproximadamente para as duas técnicas executadas. Além disso, os resultados para 24h apresentam valores semelhantes em ambas as corridas. Contudo, no DMA, os resultados apresentaram uma forma simétrica bem ajustada, sugerindo uma concentração dos resultados em função do CH₃Hg, mais baixos para CV-AFS. Em nossos resultados, esse fenômeno é mais evidente em casos de 120h de execução, devido à dispersão mais elevada dos dados em relação ao período de 24h de execução.

Figura 12. A) BoxPlot DMA versus CV-AFS - 24h e 120h; B) BoxPlot DMA versus CV-AFS - 24h e 120h.



Fonte: Próprio Autor, 2021.

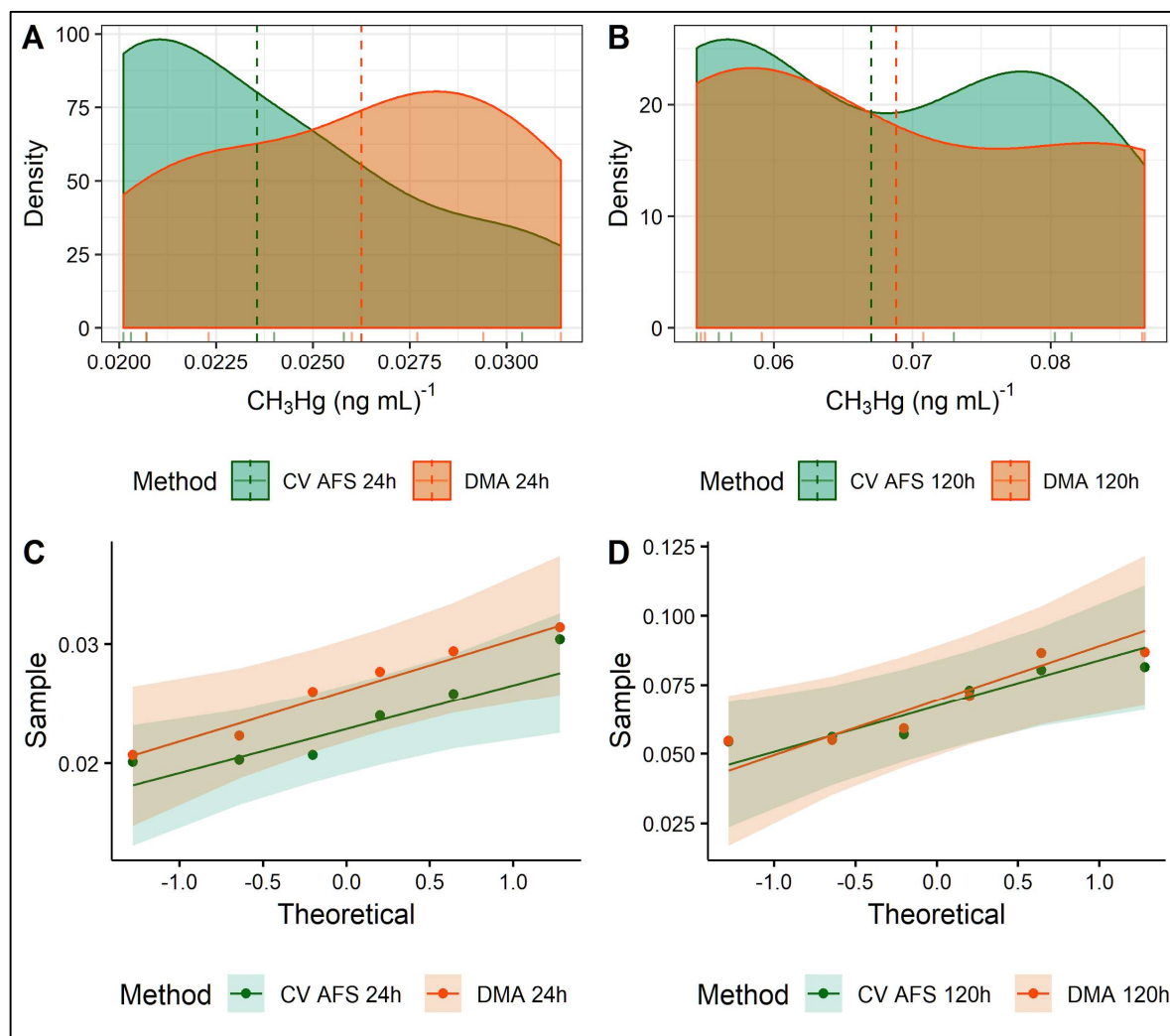
Posteriormente foi analisado se os resultados se encaixavam na distribuição normal. Aplicando o teste Shapiro-Wilk para 24h de tempo de execução (DMA 24h valor $p = 0.801$; CV-AFS 24h valor $p = 0.204$) e 120h tempo de execução (DMA 24h p -valor = 0.101; CV-AFS 24h p -valor = 0.085), encontramos que para os experimentos, não se pode descartar a hipótese nula de que a população possui

a distribuição normal. Além disso, foi aplicado o Teste F, para verificar se a variância dos resultados diferia entre os tempos de 24h e 120h. A partir do p-valor (24h, p-valor = 0.978; 120h, p-valor = 0.720), foi identificado que a variância dos resultados não difere entre o DMA e CV-AFS, demonstrando que ambas as técnicas apresentam médias de resultados estatisticamente similares. Por fim, aplicamos o teste t para verificar se o resultado dos dois grupos de resultados para DMA e CV-AFS são estatisticamente iguais, conforme a hipótese nula.

Os resultados, a partir do p-valor (24h, p-valor = 0.280; 120 h, p-valor = 0.826, $\alpha=0.05$) indicam que podemos aceitar a hipótese nula de que não há diferença estatística significativa entre as duas técnicas. Contudo, ausência de diferença não implica em equivalência. Neste contexto, aplicamos o teste TOST (Test of One-Sided Significance) para avaliar a equivalência entre as populações (Schuirmann 1987).

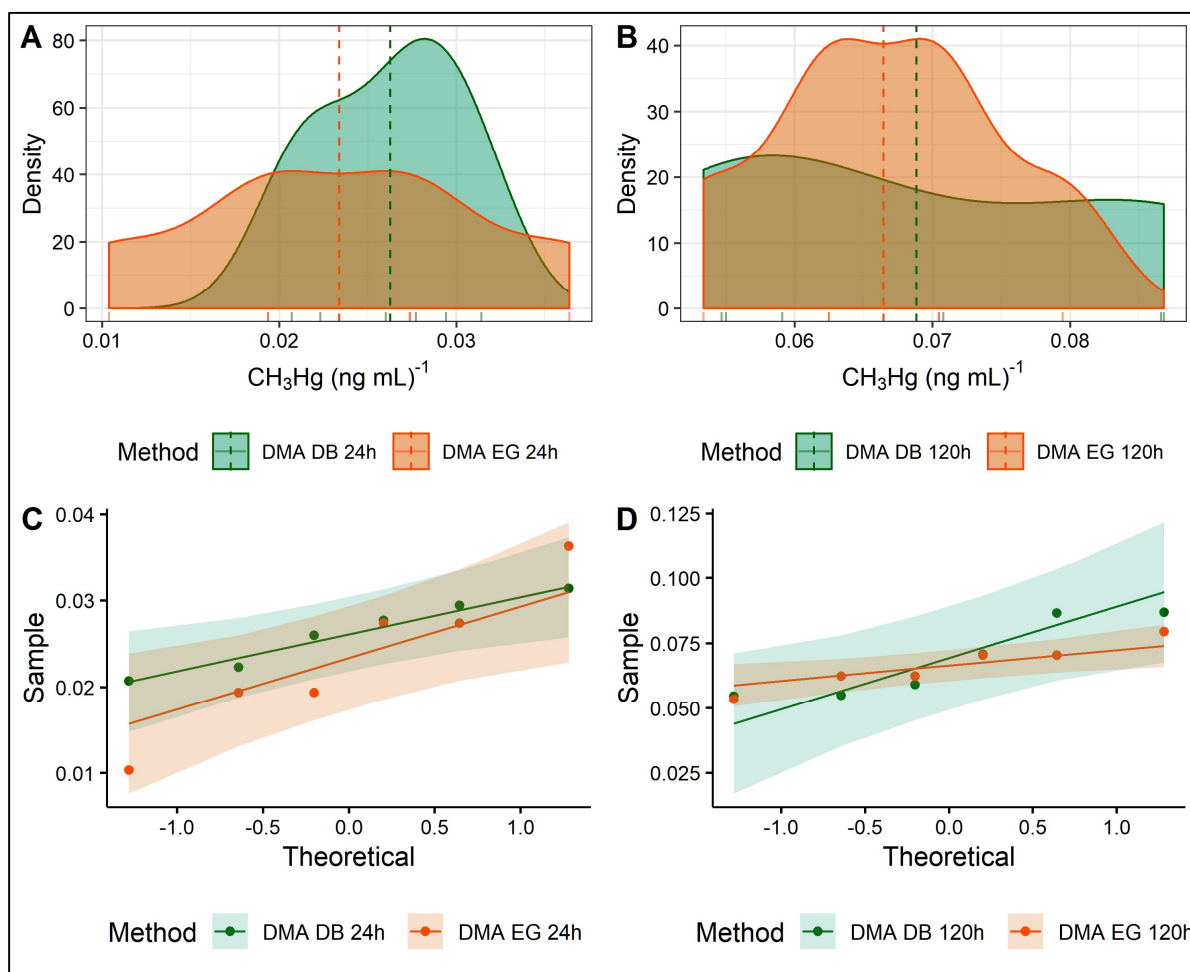
No TOST a hipótese H_0 é a premissa de que há diferença entre as populações e H_1 indica equivalência. A partir do p-valor (24h, p-valor = $6.917e^{-23}$; 120h, p-valor = $1.387e^{-17}$, $\alpha = 0.05$), identificamos que podemos rejeitar a hipótese nula e suportar a suspeita de equivalência. Nossos resultados corroboram que o DMA pode ser utilizado para a determinação do conteúdo de MeHg por meio da queima direta do gel ligante de levedura. Finalmente, a aplicação do teste t comparando cada técnica em cada período de execução corrobora com a relação de semelhança apresentada na Figura 12 A-B. O respectivo gráfico de densidade e Q-Q comparando a distribuição dos resultados para cada técnica e para cada período de tempo de execução são mostrados nas Figuras 13 e 14 AB-CD.

Figura 13. Gráfico de densidade e Q-Q comparando cada técnica para cada período de tempo de execução. No lado esquerdo (AC), os resultados para período de execução de 24h e período de execução de 120h no lado direito (DB).



Fonte: Próprio Autor, 2021.

Figura 14. Gráfico de densidade e Q-Q comparando no lado esquerdo (AC), os resultados para período de execução de 24h e 120h no lado direito (Queima Direta - DB versus Gel eluído - EG).



Fonte: Próprio Autor, 2021.

Os gráficos de densidade e dispersão Q-Q (Chambers *et al.* 2018) foram usados para comparar e verificar a normalidade de dois conjuntos de dados (DMA versus CV AFS). Os resultados visualizados nas Figuras 13 e 14 AB-CD indicam a semelhança do resultado entre as duas técnicas. Além disso, na Figura 14, ilustramos como o DMA pode ser utilizado para a determinação do conteúdo de MeHg por meio da queima direta do gel ligante de levedura, dado a semelhança entre os resultados.

A similaridade do resultado entre DMA por meio de géis eluídos e DMA por meio da queima direta é suportado através da análise estatística. Pelo teste F (24h, p-valor = 0,113; 120h, p-valor = 0,285, $\alpha = 0,05$) constatamos nenhuma evidência de diferença na variação entre as técnicas. Utilizando o teste t (24h, p-valor = 0,497; 120h, p-valor = 0,747, $\alpha = 0,05$), aceitamos a hipótese nula de que não há

diferença estatística significativa entre as duas técnicas. Finalmente, aplicando TOST podemos constatar a rejeição da hipótese nula de diferença e constatar a equivalência entre as duas técnicas (24h, $p\text{-valor} = 1,426 \times 10^{-20}$; 120h, $p\text{-valor} = 4,377 \times 10^{-18}$, $\alpha = 0.05$).

Além disso, o teste de valores discrepantes de Dixon foi observado para detectar valores discrepantes em potencial nas amostras do mesmo conjunto. Os valores de p para valores mínimos e máximos são apresentados na Tabela 5. Os resultados destacam que não há presença de outliers nas amostras.

Tabela 5. Resultado do $p\text{-valor}$ para o teste de Dixon para detecção de *outliers*.

Técnica	$p\text{-valor}$ 24h	$p\text{-valor}$ 120h
CV AFS	[0.107, 0.263]	[0.303, 0.231]
DMA	[0.902, 0.734]	[0.972, 0.979]
DMA EG	[0.512, 0.512]	[0.516, 0.504]

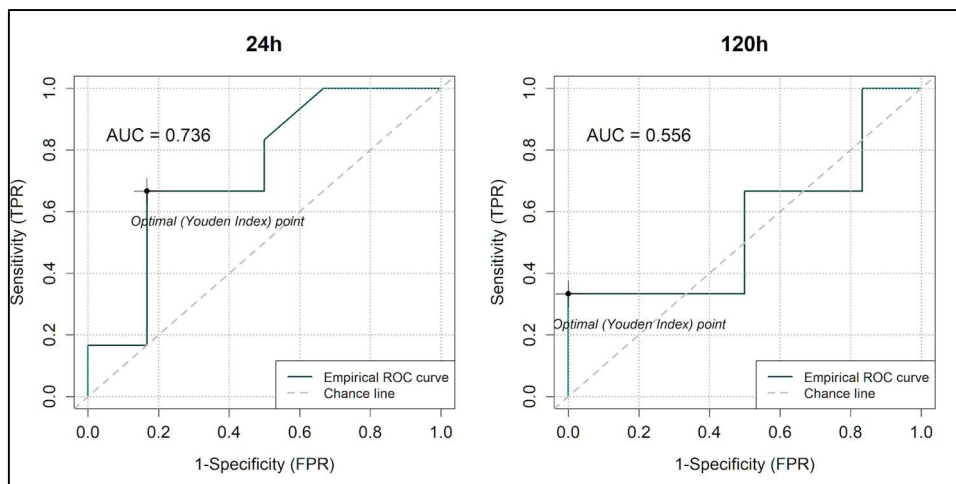
Fonte: Próprio Autor, 2021.

As curvas ROC e o índice de Youden foram usados para medir a robustez dos modelos. As curvas ROC são usadas para avaliar a precisão de testes baseados em índice e estimar os valores de corte, que separam uma métrica em um modelo A (sensibilidade) ou modelo B (especificidade). Utilizamos o índice Youden para estimar o valor de corte. Embora a área sob a curva ROC (AUC) seja o índice global de diagnóstico mais comumente usados para medir a precisão do Índice de Youden também é frequentemente usado na prática.

O valor de AUC pode variar entre 0,5 e 1 na prática. Se o valor de AUC for igual a 0,5, a classificação performance é equivalente a uma suposição aleatória completa; enquanto se a AUC valor igual a 1, o desempenho da classificação é perfeito, ou seja, o classificador pode classificar corretamente todas as amostras. O valor AUC de um classificador geralmente cai em algum lugar entre 0,5 e 1 (SCHISTERMAN *et al.*, 2005; KIM *et al.*, 2016; TAY *et al.*, 2020).

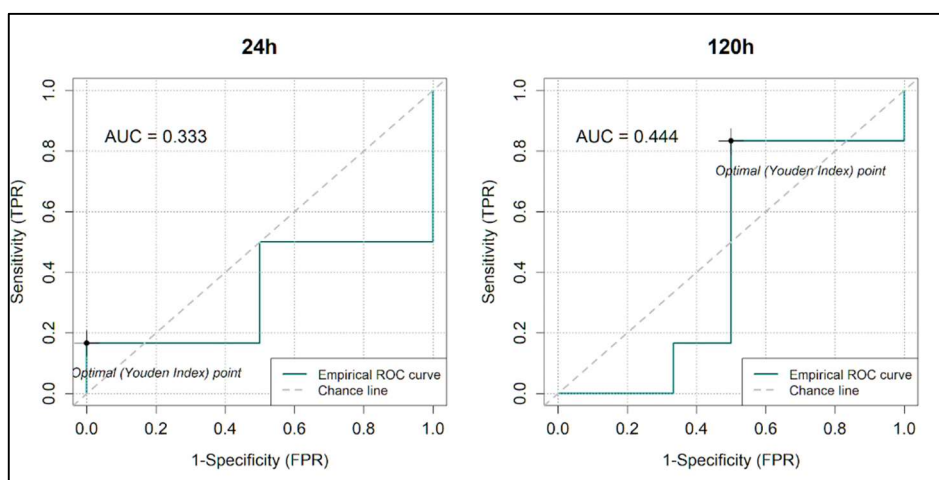
O comparativo entre DMA e CV-AFS para 24h e 120h é apresentado na Figura 15. Enquanto, a curva ROC demonstra uma separação entre DMA e CV-AFS para 24h, com valor de corte = 0.026 ng mL⁻¹ CH₃Hg, o mesmo não ocorre para o período de 120h. Este resultado demonstra que no período de 120h não é possível diferenciar a técnica utilizada na especiação. O comparativo entre queima direta e géis eluídos para o DMA no período de 24h e 120h é apresentado na Figura 16.

Figura 15. Curva de característica de operação do receptor (ROC) para o comparativo entre DMA e CV-AFS para 24h e 120h, em relação a concentração de MeHg.



Fonte: Próprio Autor, 2021.

Figura 16. Curva de característica de operação do receptor (ROC) para comparativo entre queima direta e géis eluídos para o DMA (período de 24h e 120h), em relação a concentração de MeHg.



Fonte: Próprio Autor, 2021.

Diferentemente do que ocorre no caso do DMA e CV-AFS, neste experimento, no período de 24h não foram encontradas evidências, a partir do valor de corte, da diferença entre queima direta e gel eluído, enquanto que no período de 120h foi encontrado o valor de corte = 0.0625 para uma separação entre os métodos, dado o valor de CH_3Hg . Outros autores (SCHISTERMAN *et al.*, 2005; H. KIM *et al.*,

2016; CHEN e WU, 2016; FIGUEIREDO *et al.*, 2018) também destacaram o uso do teste de Youden para avaliar a robustez (sensibilidade x especificidade).

Os resultados mostram a razão das técnicas instrumentais (DMA e CV-AFS), que apresentaram um desempenho similar, especialmente no caso DMA/CV-AFS para 120h e DMA DB-DMA-EG para 24h. Portanto, a estratégia custo-benefício de eliminação de uma etapa analítica e utilização do DMA, fornecem resultados correlatos e adequados para o estudo de especiação de MeHg. O que permite a viabilidade de eliminação de uma etapa e a redução na geração de resíduos de SnCl_2 gerados pelo CV-AFS (AZEMARD and VASSILEVA, 2015; DÍEZ and GIAGGIO, 2018; JEĐRUCH, *et al.* 2018; WANG *et al.*, 2019; CHENNURI *et al.*, 2020).

4. CONCLUSÕES

- Neste trabalho foi aplicada uma modificação da técnica de especiação, eliminando a etapa de eluição ácida antes da etapa de quantificação de Hg. A técnica proposta demonstrou uma minimização na geração de resíduos e redução do tempo e custo da análise.
- O MeHg foi retido quantitativa e seletivamente por discos de *S. cerevisiae* imobilizados em agarose. A associação da técnica DGT com a detecção de Hg por DMA comparando via CV-AFS resultou em uma abordagem estatisticamente excelente para a determinação de MeHg *in situ* em amostras ambientais, considerando-se os baixos limites de detecção obtidos e os resultados das curvas do Q-Q Plot e do Teste de Youden (ROC) que demonstram a razão entre as técnicas instrumentais apresentando um desempenho similarmente bom, conforme observado no valor de corte.
- Os resultados dos testes de extração em fase sólida indicaram que o sistema era seletivo para MeHg, possibilitando a realização de especiação de Hg. A especiação pode ser realizada considerando a concentração de MeHg (CMeHg) obtida com *S. cerevisiae* e o teor de Hg dissolvido (Hgdiss).
- Finalmente, os resultados obtidos nos diferentes testes abrangem as condições encontradas na maioria dos sistemas aquáticos fluviais, assim, o método desenvolvido pela técnica DGT via análise direta do gel ligante de levedura permitiu a avaliação *in situ* da concentração lábil de MeHg em um lago de águas pretas tributárias do rio Tarumã Açu - AM.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEMARD, S. AND VASSILEVA, E. 2015. "Determination of Methylmercury in Marine Biota Samples with Advanced Mercury Analyzer: Method Validation." *Food Chemistry* 176: 367–75. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.085>.
- BISINOTI, M. C., SARGENTINI Jr, E. and JARDIM, W. F. 2007. "Seasonal Behavior of Mercury Species in Waters and Sediments from the Negro River Basin, Amazon, Brazil." *Journal of the Brazilian Chemical Society* 18 (3): 544–53. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000300008>.
- BOSZKE, L., GŁOSINSKA, G., SIEPAK, J. Some aspects of speciation of mercury in a water environment, *Pol. J. Environ. Stud.* 11 (2002) 285e298.
- BRASIL. 2005. "Resolução Conama N° 357, De 17 De Março De 2005* (Retificada)." *Conselho Nacional Do Meio Ambiente*, no. 204.
- BRATKIČ, A., KLUN, K., GAO, Y., BRATKIC, A., KLUN, K. and GAO, Y. 2019. "Mercury Speciation in Various Aquatic Systems Using Passive Sampling Technique of Diffusive Gradients in Thin-Film." *Science of the Total Environment* 663: 297–306. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.241>.
- BUTCHER, D. J. 2016. "Atomic Fluorescence Spectrometry: A Review of Advances in Instrumentation and Novel Applications." *Applied Spectroscopy Reviews* 51 (5): 397–416. <https://doi.org/10.1080/05704928.2016.1141099>.
- CHAMBERS, J. M., CLEVELAND, W. S., KLEINER, B. and TUKEY, P. A. 2018. *Graphical Methods for Data Analysis*. *Graphical Methods for Data Analysis*. <https://doi.org/10.1201/9781351072304>.
- CHEN, H., SUN, T., SUI, D. and DONG, J. 2011. "Effective Concentration Difference Model to Study the Effect of Various Factors on the Effective Diffusion Coefficient in the Dialysis Membrane." *Analytica Chimica Acta* 698 (1–2): 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.04.056>.
- CHEN, Y., and WU, W. 2016. "A Prospecting Cost-Benefit Strategy for Mineral Potential Mapping Based on ROC Curve Analysis." *Ore Geology Reviews* 74: 26–38. <https://doi.org/10.1016/j.oregeorev.2015.11.011>.
- CHENNURI, K., CHAKRABORTY, P., JAYACHANDRAN, S., MOHAKUD, S. K., ISHITA, I., RAMTEKE, D., PADALKAR, P. P., BABU, P. C. and BABU, K. R. 2020. "Operationally Defined Mercury (Hg) Species Can Delineate Hg Bioaccumulation in Mangrove Sediment Systems: A Case Study." *Science of The Total Environment* 701: 134842. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134842>.

- CHOSTAK, C. L. 2014. Dispositivos DGT modificados com materiais alternativos para uso na especiação de elementos traço. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química – Universidade Federal do Paraná: Curitiba - PR, 92 p.
- CLARISSE, O., LOTUFO, G. R., HINTELMANN, H. and BEST, E. P.H. 2012. “Biomonitoring and Assessment of Monomethylmercury Exposure in Aqueous Systems Using the DGT Technique.” *Science of the Total Environment* 416: 449–54. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.11.077>.
- CLARISSE, O., FOUCHER, D. and HINTELMANN, H. 2009. “Methylmercury Speciation in the Dissolved Phase of a Stratified Lake Using the Diffusive Gradient in Thin Film Technique.” *Environmental Pollution* 157 (3): 987–93. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.10.012>.
- CORDEIRO, R. C., TURCQ, B., RIBEIRO, M. G., LACERDA, L. D., CAPITÂNEO, J., OLIVEIRA DA SILVA, A., SIFEDDINE, A., TURCQ, P.M. 2002. Forest fire indicators and mercury deposition in an intense land use change region in the Brazilian Amazon (Alta Floresta, MT). *Sci. Total Environ.* 293, 247–256. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(02\)00045-1](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00045-1).
- DESTRO COLAÇO, C., YABUKI, L. N. M., ROLISOLA, A. M., MENEGÁRIO, A. A., ALMEIDA, E., SUÁREZ, C. A., GAO, Y., CORNS, W. T. and NASCIMENTO FILHO, V. F. 2014a. “Determination of Mercury in River Water by Diffusive Gradients in Thin Films Using P81 Membrane as Binding Layer.” *Talanta* 129: 417–21. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.05.025>.
- . 2014b. “Determination of Mercury in River Water by Diffusive Gradients in Thin Films Using P81 Membrane as Binding Layer.” *Talanta*. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.05.025>.
- DÍEZ, S. and GIAGGIO, R. 2018. “Do Biofilms Affect the Measurement of Mercury by the DGT Technique? Microcosm and Field Tests to Prevent Biofilm Growth.” *Chemosphere* 210: 692–98. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.047>.
- DIVIŠ, P., SZKANDERA, R., DOCEKALOVA, H. Characterization of sorption gels used for determination of mercury in aquatic environment by diffusive gradients in thin films technique, *Cent. Eur. J. Chem.* 8 (2010) 1105e1109, <http://dx.doi.org/10.2478/s11532-010-0090-3>.
- DOČEKALOVÁ H., DIVIŠ, P. Application of diffusive gradient in thin films technique (DGT) to measurement of mercury in aquatic systems, *Talanta* 65 (2005) 1174e1178, <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2004.08.054>
- FADINI, P. S. and JARDIM, W. F. 2000. Storage of Natural Water Samples for Total and Reactive Mercury Analysis in PET Bottles. *Analyst* 125 (3): 549–51. <https://doi.org/10.1039/a909623j>.
- . 2001. Is the Negro River Basin (Amazon) impacted by naturally

occurring mercury? *Science of The Total Environment* 275 (1–3): 71–82. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(00\)00855-X](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00855-X).

FERNÁNDEZ-GÓMEZ, C., DIMOCK, B., HINTELMANN, H. and S. DÍEZ. 2011. Development of the DGT technique for Hg measurement in water: Comparison of three different types of samplers in laboratory assays, *Chemosphere*, Volume 85 (9) 1452–1457, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.080>.

FIGUEIREDO, M., CHRISTOPHE, B. Y., CORDELLA, D., BOUVERESSE, J.-R., ARCHER, X., BÉGUÉ, J. M. and RUTLEDGE, D. N. 2018. “A Variable Selection Method for Multiclass Classification Problems Using Two-Class ROC Analysis.” *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 177 (March): 35–46. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2018.04.005>.

GAO, Y., CANCK, E., LEERMAKERS, M., BAEYENS, W., VAN DER VOORT, P. Synthesized mercaptopropyl nanoporous resins in DGT probes for determining dissolved mercury concentrations, *Talanta* 87 (2011) 262e267, <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2011.10.012>.

GOMES, V. M., SANTOS, A., ZARA, L. F., RAMOS, D. D., FORTI, J. C., RAMOS, D. D. and SANTOS, F. A. 2019. “Study on Mercury Methylation in the Amazonian Rivers in Flooded Areas for Hydroelectric Use.” *Water Air And Soil Pollution* 230 (9). <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4261-3>.

GÓRECKI, J. 2018. “Semi-Automatic System for Methylmercury Determination in Biological Samples.” *Measurement* 117: 419–28. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.measurement.2017.12.035>.

GOSNELL, K. J. and MASON, R. P. 2015. “Mercury and Methylmercury Incidence and Bioaccumulation in Plankton from the Central Pacific Ocean.” *Marine Chemistry* 177: 772–80. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2015.07.005>.

HONG, Y. S., RIFKIN, E., BOUWER, E. J. Combination of diffusive gradient in a thin film probe and IC-ICP-MS for the simultaneous determination of CH₃Hg⁽⁺⁾ and Hg⁽²⁺⁾ in oxic water, *Environ. Sci. Technol.* 45 (2011) 6429e6436, <http://dx.doi.org/10.1021/es200398d>.

JĘDRUCH, A., BEŁDOWSKA, M., KWASIGROCH, U., NORMANT-SAREMBA, M. and SANIEWSKA, D. 2018. “Mercury Fractionation in Marine Macrofauna Using Thermodesorption Technique: Method and Its Application.” *Talanta* 189 (May): 534–42. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.07.047>.

KASPER, D., FORSBERG, B. R. ALMEIDA, R. BASTOS, W. R. and MALM, O. 2015. “Metodologias de Coleta, Preservação e Armazenamento de Amostras de Água Para Análise de Mercúrio - Uma Revisão.” *Química Nova* 38 (3): 410–18. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150020>.

- KASPER, D., FORSBERG, B. R., AMARAL, J. H. F., PY-DANIEL, S. S., BASTOS, W. R. and MALM, O. 2017. "Methylmercury Modulation in Amazon Rivers Linked to Basin Characteristics and Seasonal Flood-Pulse." *Environmental Science and Technology* 51 (24): 14182–91. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04374>.
- KASPER, D., FORSBERG, B.R., DO AMARAL KEHRIG, H., AMARAL, J.H.F., BASTOS, W.R., MALM, O., 2018. Chapter 3 - Mercury in Black-Waters of the Amazon, in: Igapó (Black-Water Flooded Forests) of the Amazon Basin. pp. 39–56. https://doi.org/10.1007/978-3-319-90122-0_3.
- KIM, H. JEONG, H., JEON, J. and BAE, S. 2016. "The Impact of Impervious Surface on Water Quality and Its Threshold in Korea." *Water (Switzerland)* 8 (4): 1–9. <https://doi.org/10.3390/w8040111>.
- KIM, MOON-KYUNG, WON, A-YOUNG AND ZOH, KYUNG-DUK. 2017. "Effects of Molecular Size Fraction of DOM on Photodegradation of Aqueous Methylmercury." *Chemosphere* 174: 739–46. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.033>.
- LI, P., PAN, Y., FANG, Y., DU, M. PEI, F., SHEN, F., XU, B. and HU, Q. 2019. "Concentrations and Health Risks of Inorganic Arsenic and Methylmercury in Shellfish from Typical Coastal Cities in China: A Simultaneous Analytical Method Study." *Food Chemistry* 278: 587–92. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.085>.
- LUKO, K. S., MENEGÁRIO, A. A., SUÁREZ, C. A. TAFURT-CARDONA, M., PEDROBOM, J. H., ROLISOLA, A. M. C. M, SULATO, E. T. and KIANG, C. H. 2017. "In Situ Determination of V(V) by Diffusive Gradients in Thin Films and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Techniques Using Amberlite IRA-410 Resin as a Binding Layer." *Analytica Chimica Acta* 950: 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.11.031>.
- MADRID, Y., PEREZ-CORONA, T., CÁMARA, C. and CABRERA, C. 1995. "Speciation of Methylmercury and Hg(II) Using Baker's Yeast Biomass (*Saccharomyces Cerevisiae*). Determination by Continuous Flow Mercury Cold Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry." *Analytical Chemistry* 67 (4): 750–54. <https://doi.org/10.1021/ac00100a010>.
- MENEGÁRIO, A. A., TONELLO, P. S. AND DURRANT, S. F. 2010. "Use of *Saccharomyces Cerevisiae* Immobilized in Agarose Gel as a Binding Agent for Diffusive Gradients in Thin Films." *Analytica Chimica Acta* 683 (1): 107–12. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.10.016>.
- MENEGÁRIO, A. A., YABUKI, L. N. M., LUKO, K. S., WILLIAMS, P. N. and BLACKBURN, D. M. 2017. "Use of Diffusive Gradient in Thin Films for in Situ Measurements: A Review on the Progress in Chemical Fractionation, Speciation and Bioavailability of Metals in Waters." *Analytica Chimica Acta*. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.06.041>.

- NAGANUMA, A., MIURA, N., KANEKO, S., MISHINA, T., HOSOYA, S., MIYAIRI, S., FURUCHI, T. and KUGE, S. 2000. “GFAT as a Target Molecule of Methylmercury Toxicity in *Saccharomyces Cerevisiae*.” *The FASEB Journal* 14 (7): 968–72. <https://doi.org/10.1096/fasebj.14.7.968>.
- NOH, S., KIM, Y. H., KIM, H. K., SEOK, K. S., PARK, M., BAILON, M. X. and HONG, Y. 2020. “The Performance of Diffusive Gradient in Thin Film Probes for the Long-Term Monitoring of Trace Level Total Mercury in Water.” *Environmental Monitoring and Assessment* 192 (1). <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7966-2>.
- PELCOVÁ, P., DOČEKALOVÁ, H. and KLECKEROVÁ, A. 2014. “Development of the Diffusive Gradient in Thin Films Technique for the Measurement of Labile Mercury Species in Waters.” *Analytica Chimica Acta* 819: 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.02.013>.
- PESCIM, G. F., MARRACH, G., VANNUCI-SILVA, M., SOUZA, L. A. and MENEGÁRIO, A. A. 2012. “Speciation of Lead in Seawater and River Water by Using *Saccharomyces Cerevisiae* Immobilized in Agarose Gel as a Binding Agent in the Diffusive Gradients in Thin Films Technique.” *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 404 (5): 1581–88. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6248-4>.
- REZENDE, P. S., SILVA, N. C., MOURA, W. D. and WINDMOLLER, C. C. 2018. “Quantification and Speciation of Mercury in Streams and Rivers Sediment Samples from Paracatu, MG, Brazil, Using a Direct Mercury Analyzer (R).” *Microchemical Journal* 140 (July): 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.04.006>.
- ROULET, M.; LUCOTTE, M.; FARELLA, N.; SERIQUE, G.; COELHO, H.; PASSOS, C.J.D.; DA SILVA, E.D.; DE ANDRADE, P.S.; MERGLER, D.; GUIMARÃES, J.R.D. & AMORIM, M. 1999. Effects of recent human colonization on the presence of mercury in Amazonian ecosystems. *Water Air Soil Pollution*, 112: 297-313.
- SCHISTERMAN, E. F., PERKINS, N. J., LIU, A. and BONDELL, H. 2005. “Optimal Cut-Point and Its Corresponding Youden Index to Discriminate Individuals Using Pooled Blood Samples.” *Epidemiology* 16 (1): 73–81. <https://doi.org/10.1097/01.ede.0000147512.81966.ba>.
- SCHUIRMANN, D. J. 1987. “A Comparison of the Two One-Sided Tests Procedure and the Power Approach for Assessing the Equivalence of Average Bioavailability.” *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 15 (6): 657–80. <https://doi.org/10.1007/BF01068419>.
- SILVA, G. S., JARDIM, W. F., FADINI, P. S., 2006. Elemental gaseous mercury flux at the water/air interface over the Negro River basin, Amazon, Brazil. *Sci. Total Environ.* 368, 189–198.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.09.082>.

SINGER, M. B., HARRISON, L. R., DONOVAN, P. M., BLUM, J. D. and MARVIN-DIPASQUALE, M. 2016. “Hydrologic Indicators of Hot Spots and Hot Moments of Mercury Methylation Potential along River Corridors.” *Science of the Total Environment* 568: 697–711. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.005>.

TAFURT-CARDONA, M., EISMANN, C. E., SUÁREZ, C. A., MENEGÁRIO, A. A., LUKO, K. S. and SARGENTINI Jr, E. 2015. “In Situ Selective Determination of Methylmercury in River Water by Diffusive Gradient in Thin Films Technique (DGT) Using Baker’s Yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*) Immobilized in Agarose Gel as Binding Phase.” *Analytica Chimica Acta* 887: 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.07.035>.

TAY, A. Y. W., TAY, K. S., THEVER, Y., HAO, Y. and YEO, N. E. M. 2020. “An Epidemiological Review of 623 Foot and Ankle Soft Tissue Tumours and Pseudo-Tumours.” *Foot and Ankle Surgery*, no. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fas.2020.05.004>.

TAYLOR, V. F., BUCKMAN, K. L. and BURGESS, R. M. 2019. “Preliminary Investigation of Polymer-Based in Situ Passive Samplers for Mercury and Methylmercury.” *Chemosphere* 234: 806–14. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.093>.

US EPA, Environmental Protection Agency. 2007. “Mercury Total (Organic and 7439-97-6 Inorganic).” *Methods, United States Environmental Protection Agency*, no. February: 1–17. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-7473.pdf>.

US EPA, Environmental Protection Agency. 2002. “Method 1631, Revision E: Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry.” *United States Environmental Protection Agency*, no. August.

VIEIRA, M., BERNARDI, J. V. E., DÓREA, J. G., ROCHA, B. C. P., RIBEIRO, R. and ZARA, L. F. 2018. “Distribution and Availability of Mercury and Methylmercury in Different Waters from the Rio Madeira Basin, Amazon.” *Environmental Pollution* 235 (April): 771–79. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.020>.

WANG, YAN, DING, S., GONG, M., XU, S., XU, W. and ZHANG, C. 2016. “Diffusion Characteristics of Agarose Hydrogel Used in Diffusive Gradients in Thin Films for Measurements of Cations and Anions.” *Analytica Chimica Acta*. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.10.003>.

WANG, Y., XIE, Q., XU, Q., XUE, J., ZHANG, C. and WANG, D. 2019. “Mercury Bioaccumulation in Fish in an Artificial Lake Used to Carry out Cage Culture.” *Journal of Environmental Sciences (China)* 78: 352–59. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.11.016>.

- XU, PING, ZHANG, B., ZENG, X., XU, Y., LUO, G. and YAO, H. 2017. "Influence of Hg Occurrence in Coal on Accuracy of Hg Direct Measurement Based on Thermal Decomposition." *International Journal of Coal Geology* 170: 14–18. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coal.2016.08.023](https://doi.org/10.1016/j.coal.2016.08.023).
- YABUKI, L. N. M., DESTRO-COLAÇO, C., MENEGÁRIO, A. A., DOMINGOS, R. N., KIANG, C. H. and PASCOALOTO, D. 2014. "Evaluation of Diffusive Gradients in Thin Films Technique (DGT) for Measuring Al, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, and Zn in Amazonian Rivers." *Environmental Monitoring and Assessment* 186 (2): 961–69. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3430-x>.
- ZARA, L. F., SANTOS, A. dos, ROCHA, J. C., PADILHA, P. de M., and JARDIM, W. de F. 2017. *Biomarcadores de Toxicidade de Mercúrio Aplicados Ao Setor Hidrelétrico Na Região Amazônica. São Carlos: Editora Cubo. 36p.*
- ZHANG, H. and DAVISON, W. 1995. "Performance Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution." *Analytical Chemistry* 67 (19): 3391–3400. <https://doi.org/10.1021/ac00115a005>.

CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE

No Capítulo I foi apresentado a Introdução Geral, Hipóteses e Objetivos desta Tese. De modo que foi ressaltado que as condições químicas e físicas do ambiente podem influenciar na especiação química do mercúrio e consequentemente, no seu ciclo biogeoquímico e acúmulo pela biota. Neste sentido, ainda se faz necessário avançar no aprimoramento de metodologias que permitam a quantificação de espécies desse metal em diferentes matrizes ambientais, em um tempo relativamente curto, com baixo teor de interferentes e boa reprodutibilidade.

No Capítulo II foi apresentado um Breve Histórico e Revisão Bibliográfica sobre o Hg na região Amazônica. No presente estudo, é visto que a associação das diferentes espécies de Hg a partículas sólidas, assim como a vários agentes complexantes, pode alterar a especiação química do metal influenciando na sua distribuição, mobilidade, transporte e destinação, além da sua biodisponibilidade.

Na Bacia Amazônica, destacam-se principalmente 3 tipos de águas: brancas, claras e pretas. E dentre os ambientes aquáticos, as águas pretas são as mais favoráveis para a metilação do Hg, pois apresentam pH baixo, menor condutividade elétrica e maior quantidade de matéria orgânica. Neste sentido, é importante realizar investigações mais detalhadas sobre as metodologias mais reprodutíveis e robustas, considerando as dificuldades apresentadas sobre o ambiente de amostragem e processamento das amostras das diferentes espécies de Hg.

No Capítulo III foi demonstrado através do Estado da Arte que na Bacia Amazônia as concentrações de Hg são relativamente altas, embora em sua grande maioria existam trechos com pouca atividade humana. A presença natural de Hg em solos e a deposição atmosférica são as principais fontes deste metal.

No Capítulo IV foi apresentado um estudo de especiação operacional de Hg na região Amazônica, onde foi observado o aumento na quantidade de publicações com procedimentos operacionais refletindo a importância da especiação de Hg na Amazônia como um dos principais tópicos de estudos para análises químicas.

Atualmente existe uma busca incessante pela miniaturização das análises, facilidade de manuseio e aplicação pelo usuário. Dessa forma, as perspectivas futuras são otimizações que permitam maior seletividade, sensibilidade, repetibilidade e reprodutibilidade, a fim de se obter técnicas analíticas cada vez mais sensíveis e robustas. No Capítulo V verificou-se a presença de Hg lábil (Hg_L) em amostras de material em suspensão total de água coletada do rio Negro-AM. E também foi evidenciado que houve aumento na concentração de mercúrio conforme o conteúdo de sólidos suspensos totais (SST) também aumentava.

A metodologia empregada serviu para diagnóstico da fração de HgL e pode inclusive ser utilizada em qualquer ambiente aquático, atentando-se para as condições especiais empregadas para análise de Hg (controle térmico e uso de material de referência certificado), afim de se evitar possíveis perdas e contaminações durante o processamento da amostra, principalmente na etapa gravimétrica e etapa de abertura da amostra através da digestão parcial por micro-ondas.

O uso do Analisador direto de Hg é conveniente, principalmente pelo seu baixo custo, além de ser uma análise direta que evita possíveis perdas do analito e não requer adição de reagentes. Também apresenta uma etapa de pré-concentração que promove uma melhora no sinal de quantificação do Hg, quando comparada com a técnica CV-AFS que requer um rigor analítico mais acentuado por eventualmente apresentar mais etapas, como a adição de reagentes para análise, que podem promover possíveis contaminações ou perdas do analito.

A comparação de métodos evidenciou que ambas as técnicas podem ser consideradas semelhantes em termos de quantificação da fração lábil de mercúrio e que o DMA pode aplicado em análises de rotina de HgL em SST.

No Capítulo VI foi aplicada uma modificação da técnica de especiação de Hg utilizando a técnica DGT, eliminando-se a etapa de eluição ácida antes da etapa de quantificação de MeHg. A técnica proposta demonstrou uma minimização na geração de resíduos e redução do tempo e custo da análise. Também foi demonstrado que a associação da técnica DGT com o DMA foi excelente. Fato este comprovado através de uma abordagem estatística com testes ainda não reportados em estudos de especiação (curvas do Q-Q Plot e curvas de Característica de Operação do Receptor - Teste de Youden), as quais demonstram a razão entre as técnicas instrumentais.

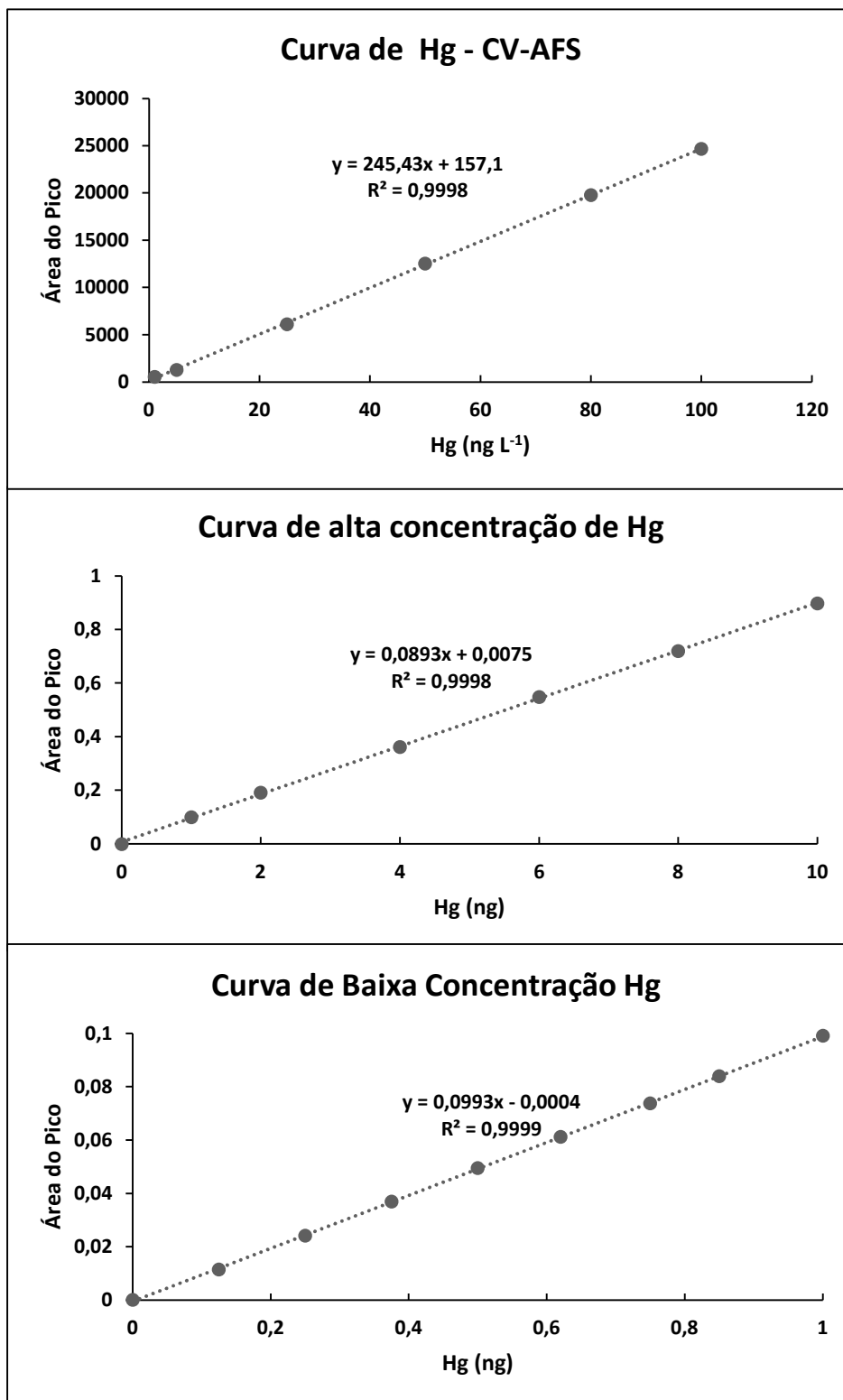
Finalmente, o plano de estudos proposto neste trabalho pode ser aplicado para diferentes condições encontradas na maioria dos sistemas aquáticos fluviais, assim, tanto o método desenvolvido pela técnica do SST para análise de HgL, quanto pela DGT via análise direta do gel ligante de levedura, cujo qual permitiu a avaliação da concentração lábil de MeHg em um lago de águas pretas tributárias do rio Tarumã Açu - AM.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar o estudo da correlação entre a concentração de Hg_L e o teor de carbono orgânico dissolvido (COD), bem como os demais parâmetros físico-químicos.
- Realizar uma simulação em softwares de especiação (*e.g.* Visual MINTEQ e CHEAQS Next) com os dados obtidos no estudo de especiação com o uso da Técnica DGT.
- Analisar a influência da estratificação térmica e química na coluna d'água no processo de metilação.
- Analisar a possível interconversão das concentrações das espécies de Hg na coluna d'água no período do dia e da noite (condições de anoxia e alta atividade microbiana).
- Analisar a concentração de Hg em plâncton e fitoplâncton e sua influência na mobilidade/biodisponibilidade de MeHg na coluna d'água).

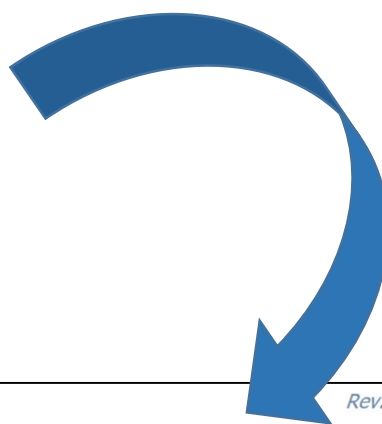
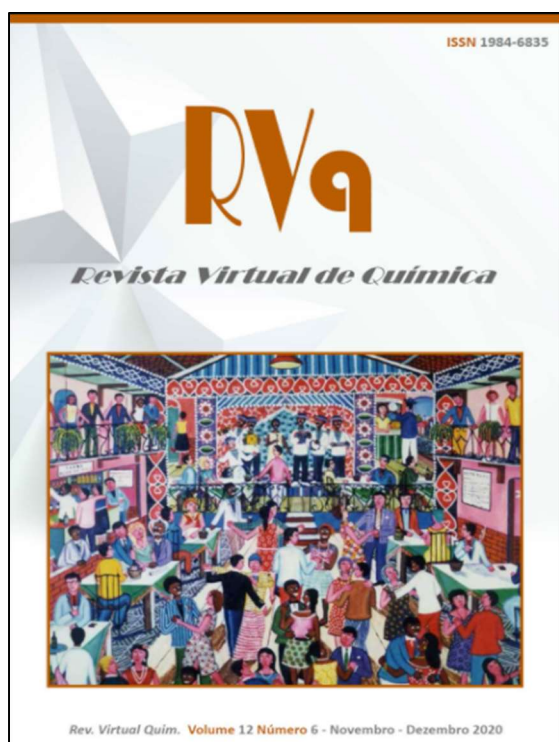
Apêndice 1

- Curvas padrão de Hg para calibração dos equipamentos CV-AFS e DMA.



Apêndice 2

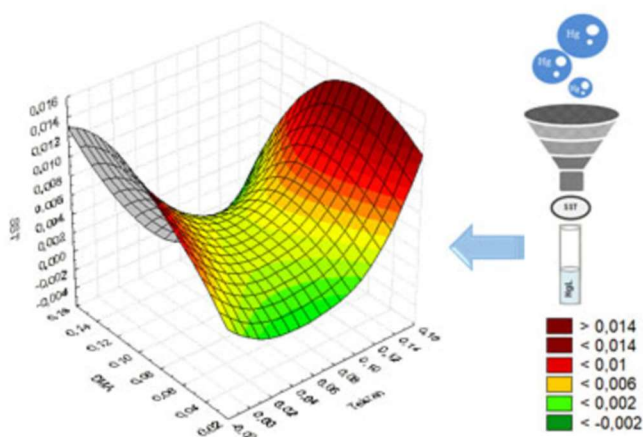
➤ Artigos Publicados – Revista Virtual de Química (2020).



Rev. Virtual Quím. **2020**, 12(6), 1398-1410

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

Siomara D. da Rocha , Larissa Torrezani, Marcos A. Bolson, Ézio Sargentini Junior, Raiza F. da Silva, Amauri A. Menegário



<http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20200108>

Publicado online: setembro 22, 2020

PDF

Compartilhar

Apêndice 3

➤ Artigos Publicados – Escolhido como Capa da Revista Química Nova (2021).

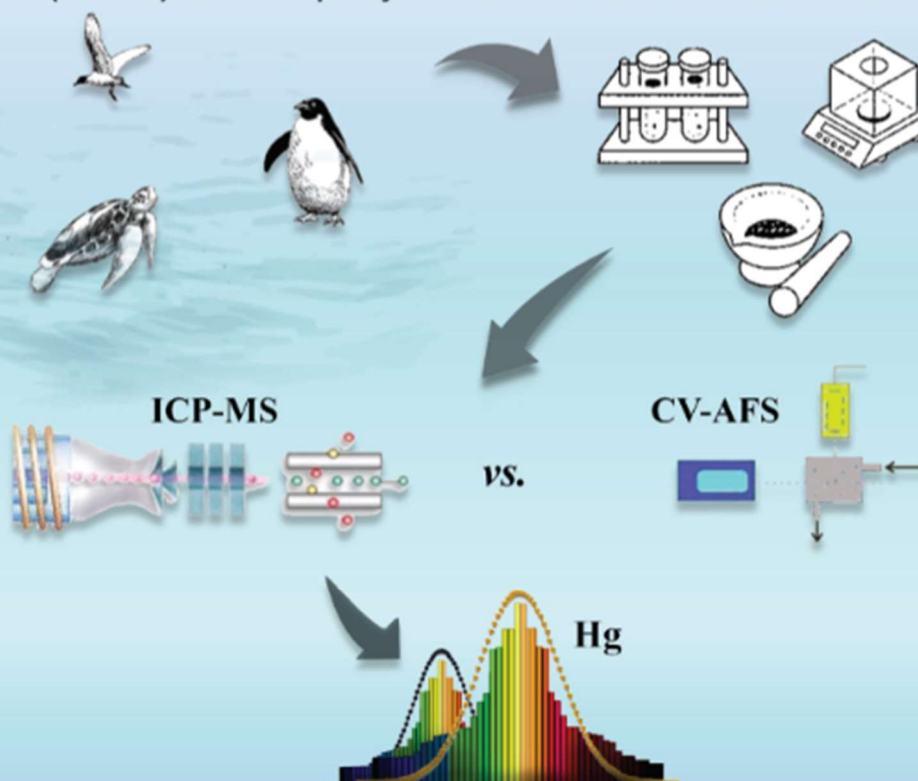
química nova

ISSN: 0100-4042

ISSN: 1678-7064 on line

Volume 44, Número 1, 2021

Determinação de mercúrio em fígado de tetrápodes marinhos por espectrometria de fluorescência atômica acoplada a geração de vapor frio (CV-AFS) e espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS): uma comparação sistemática entre as duas técnicas



Raíza F. da Silva, Siomara D. da Rocha, Amauri A. Menegário, Jorge H. Pedrobom, Everton T. Sulato, Karen S. Luko, Lucas Pellegrini Elias, Lucia M. de Souza Oliveira e Ézio Sargentini Junior; *Quim. Nova* 2021, 44, 64. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170675>

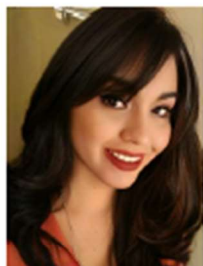
Apêndice 4

➤ Perfil de Capa da Revista Química Nova (Edição 1 - 2021).

DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM FÍGADO DE TETRÁPODES MARINHOS POR ESPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA ATÔMICA ACOPLADA A GERAÇÃO DE VAPOR FRIO (CV-AFS) E ESPECTROMETRIA DE MASSA COM FONTE DE PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP-MS): UMA COMPARAÇÃO SISTEMÁTICA ENTRE AS DUAS TÉCNICAS



Raiza F. da Silva



Siomara D. da Rocha



Amauri A. Menegário



Jorge H. Pedrobom



Everton T. Sulato



Karen S. Luko



Lucas P. Elias



L. M. S. Oliveira



Ézio Sargentini Jr

Perfil da Capa

O artigo selecionado para capa nesta edição foi realizado pelo Grupo de Pesquisa (GEMB) do Prof. Dr. Amauri Antonio Menegário, alocado no Centro de Estudos Ambientais, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (CEA/UNESP), câmpus de Rio Claro, com apoio do Dr. Ézio Sargentini Junior do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). A arte da capa ilustra as diferentes abordagens analíticas para determinação de Hg em tecido hepático de tetrápodes marinhos. Veja o artigo na íntegra em: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170675>