

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS  
ANALÍTICAS PARA QUANTIFICAÇÃO DE MERCÚRIO  
TOTAL E METILMERCÚRIO EM ÁGUA UTILIZANDO A  
TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA ATÔMICA DO VAPOR  
FRIO**

**Rafael Rodrigo Piva Vasconcelos**

Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do título de  
MESTRE PROFISSIONAL EM QUÍMICA,  
área de concentração: QUÍMICA  
TECNOLÓGICA

**Orientador: Prof. Dr. Pedro Sérgio Fadini**

**Co-orientadora: Dra. Vanessa Pezza Franzini**

**\*bolsista (Venturo Análises Ambientais Ltda. EPP)**

**SÃO CARLOS - SP**

**2016**

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar  
Processamento Técnico  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V331d Vasconcelos, Rafael Rodrigo Piva  
Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para quantificação de mercúrio total e metilmercúrio em água utilizando a técnica de fluorescência atômica do vapor frio / Rafael Rodrigo Piva Vasconcelos. -- São Carlos : UFSCar, 2016.  
56 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2016.

1. Técnica de espectrometria de fluorescência atômica do vapor frio. 2. Mercúrio. I. Título.



---

**Folha de Aprovação**

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Rafael Rodrigo Piva Vasconcelos, realizada em 23/02/2016:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'P. S. Fadini', is written above a horizontal line.

Prof. Dr. Pedro Sergio Fadini  
UFSCar

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'A. S. Venturo', is written above a horizontal line.

Prof. Dr. Ademir dos Santos  
Venturo

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'A. A. Mozeto', is written above a horizontal line.

Prof. Dr. Antonio Aparecido Mozeto  
UFSCar

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito”

Chico Xavier

**Dedico este trabalho à minha esposa Mayara pelo apoio e amor incondicionais e ao meu filho Rodrigo que ilumina todos os meus dias.**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por este presente maravilhoso que é a vida.

Aos meus pais, Maria e Juarez, pelo exemplo de vida no qual me espelho.

A minha irmã, Ana Claudia, pelo companheirismo de sempre.

Ao meu orientador Prof. Dr. Pedro Sérgio Fadini por acreditar nesse projeto.

A minha co-orientadora e amiga Dra. Vanessa Pezza Franzini pelo companheirismo.

Ao Prof. Dr. Ademir dos Santos pelo incentivo ao meu crescimento profissional.

A todos os colegas do laboratório Venturo Análises Ambientais pelos ensinamentos e conhecimentos trocados.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ANA</b>	Agência Nacional de Águas
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>APDC</b>	Ditiocarbamato de Amônio e Pirrodilina
<b>BPL</b>	Boas Práticas de Laboratório
<b>CETESB</b>	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
<b>CONAMA</b>	Conselho Nacional do Meio Ambiente
<b>CV-AAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica do Vapor Frio
<b>CV-AFS</b>	Espectrometria de Fluorescência Atômica do Vapor Frio
<b>CV-ICP OES</b>	Espectrometria de Emissão Óptica com Geração do Vapor Frio
<b>DAEE</b>	Departamento de Águas e Energia Elétrica
<b>GC</b>	Cromatografia Gasosa
<b>HG-AAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos
<b>IBAMA</b>	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
<b>ICP-MS</b>	Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente
<b>INMETRO</b>	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
<b>LD</b>	Limite de Detecção
<b>LQ</b>	Limite de Quantificação
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
<b>PIB</b>	Produto Interno Bruto
<b>POP</b>	Procedimento Operacional Padrão
<b>RBC</b>	Rede Brasileira de Calibração
<b>RBLE</b>	Rede Brasileira de Laboratórios de Ensaio
<b>RSD</b>	Desvio Padrão Relativo
<b>VMP</b>	Valor Máximo Permitido

## LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 - Valores orientadores para mercúrio total em águas brasileiras. VM (Valor Máximo); VMP (Valor Máximo Permitido). .....	17
TABELA 2.2 - Menor limite de quantificação alcançado pelos laboratórios da RBLE para mercúrio total em águas e técnicas analíticas mais utilizadas (INMETRO, 2016). .....	18
TABELA 2.3 - Limite de detecção e limite de quantificação de métodos analíticos para determinação de metilmercúrio (MACHADO, 2011).....	20
TABELA 3.1 – Porcentagem de laboratórios da RBLE com escopo em Meio Ambiente e Ensaio Químico por regiões e participação das regiões no PIB brasileiro.....	22
TABELA 6.1 - Resultados obtidos para a construção da curva analítica – mercúrio total. ....	39
TABELA 6.2 - Resultados obtidos para o cálculo do limite de detecção e de quantificação – mercúrio total.....	40
TABELA 6.3 - Resultados obtidos para o cálculo de recuperação e repetitividade do método – mercúrio total.....	41
TABELA 6.4 - Resultados da recuperação e repetitividade. ....	42
TABELA 6.5 - Resumo dos resultados obtidos na validação para mercúrio total.....	45
TABELA 6.6 - Resultados obtidos para a construção da curva analítica – metilmercúrio.....	45
TABELA 6.7 - Resultados obtidos para o cálculo do limite de detecção e de quantificação – metilmercúrio.....	47
TABELA 6.8 - Resultados obtidos para o cálculo de recuperação e repetitividade do método – metilmercúrio.....	48
TABELA 6.9 - Resultados da recuperação e repetitividade. ....	49
TABELA 6.10 - Resumo dos resultados obtidos na validação para metilmercúrio....	51

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1 - Laboratórios da RBLE, com escopo e Meio Ambiente e Ensaios Químicos, por regiões e estados em 27/03/2016.....	23
FIGURA 3.2 - Total de laboratórios da RBLE, com escopo em Meio Ambiente, acreditados para quantificação de mercúrio total em águas em 27/03/2016. ....	24
FIGURA 3.3 - Técnicas analíticas utilizadas e seus limites de quantificação para mercúrio total em águas.....	24
FIGURA 4.1 - Equipamento para quantificação de mercúrio total – 1 (amostrador automático); 2 (módulo mercúrio total); 3 (detector por CV-AFS). ....	25
FIGURA 4.2 – Tratamento de amostras para quantificação de mercúrio total. ....	26
FIGURA 4.3 - Vial de purga para quantificação de mercúrio total.....	27
FIGURA 4.4 - Módulo para quantificação de mercúrio total - 1 (coluna de areia de quartzo recoberta por ouro para pré-concentração) e 2 (coluna analítica de areia de quartzo recoberta por ouro).....	28
FIGURA 4.5 – Sistema de detecção - 1 (célula de fluxo de quartzo); 2 (lâmpada de mercúrio). ....	29
FIGURA 4.6 – Sistema de detecção - 1 (tubo fotomultiplicador); 2 (filtro de banda óptica). ....	29
FIGURA 4.7 - Diagrama de blocos - detector CV-AFS.....	29
FIGURA 4.8 – Espectro com o pico do mercúrio elementar para quantificação de mercúrio total.....	30
FIGURA 5.1 - Equipamento para quantificação de metilmercúrio - 1 (amostrador automático); 2 (cromatógrafo gasoso); 3 (módulo metilmercúrio); 4 (detector por CV-AFS). ....	31
FIGURA 5.2 - Sistema de destilação - 1 (controlador de fluxo de gás); 2 (bloco de aquecimento); 3 (bloco de alumínio refrigerado); 4 (controlador de temperatura).....	32
FIGURA 5.3 – Início do sistema montado para destilação de amostras. ....	32
FIGURA 5.4 – Final do sistema montado para destilação de amostras. ....	33
FIGURA 5.5 – Etapa da etilação aquosa utilizando o tetraetilborato de sódio.....	34
FIGURA 5.6 – Equipamento para quantificação de metilmercúrio - 1 (Amostrador automático); 2 (compartimento de purga).....	35

FIGURA 5.7 - Módulo para quantificação de metilmercúrio - 1 (colunas contendo Tenax® para pré-concentração) e 2 (coluna analítica de Tenax®).....	36
FIGURA 5.8 - Coluna cromatográfica utilizada para adsorção dos compostos orgânicos de mercúrio.....	37
FIGURA 5.9 - Coluna pirolítica utilizada para reduzir todas as espécies orgânicas de mercúrio a mercúrio elementar.....	37
FIGURA 5.10 – Cromatograma com picos das formas orgânicas de mercúrio para quantificação do metilmercúrio.....	38
FIGURA 6.1 - Curva de calibração para o mercúrio total. ....	39
FIGURA 6.2 - Diagrama de causa e efeito - fontes de incerteza para quantificação do mercúrio total.....	43
FIGURA 6.3 - Contribuição dos tipos de incerteza - mercúrio total. ....	44
FIGURA 6.4 - Curva de calibração para o metilmercúrio. ....	46
FIGURA 6.5 - Diagrama de causa e efeito - fontes de incerteza para quantificação do metilmercúrio.....	49
FIGURA 6.6 - Contribuição dos tipos de incerteza – metilmercúrio. ....	50
FIGURA 6.7 - Resultado obtido no ensaio de proficiência para mercúrio total. ....	52
FIGURA 6.8 - Certificado e símbolo de acreditação do laboratório Venturo Análises Ambientais.....	53
FIGURA 6.9 - Escopo da acreditação - ABNT NBR ISO/IEC 17025/2005, para mercúrio total e metilmercúrio. ....	53

## RESUMO

### DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS PARA QUANTIFICAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL E METILMERCÚRIO EM ÁGUA UTILIZANDO A TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA ATÔMICA DO VAPOR FRIO

Neste trabalho foi empregada a técnica de espectrometria de fluorescência atômica do vapor frio para quantificação de mercúrio total e metilmercúrio. A importância da quantificação de mercúrio total em água está associada à sua toxicidade, quando presente em concentrações iguais ou superiores aos valores estabelecidos nas legislações ambientais vigentes. Já a quantificação do metilmercúrio é necessária, pois se trata da espécie mais tóxica do metal, sendo facilmente bioacumulada e biomagnificada ao longo da cadeia alimentar. Foram utilizados como referência os métodos vigentes *USEPA Method 1631* (2002) – para o mercúrio total e *USEPA Method 1630* (2001) – para o metilmercúrio.

Com relação aos parâmetros utilizados para avaliar o desempenho analítico do método, a escolha baseou-se no documento orientativo do INMETRO – DOQ-CGCRE-008 (2011) – Orientação sobre validação de métodos analíticos. Na realização do estudo prático experimental foram utilizadas, tanto para o metilmercúrio quanto para o mercúrio total, os seguintes padrões:

Para o mercúrio total, foram utilizadas soluções padrões nas concentrações de 2 ng L<sup>-1</sup>, 8 ng L<sup>-1</sup>, 20 ng L<sup>-1</sup>, 100 ng L<sup>-1</sup>, 200 ng L<sup>-1</sup> e 400 ng L<sup>-1</sup>, e cada ponto da curva analítica foi analisado em triplicata, obtendo-se de suas médias um coeficiente de correlação linear ( $r^2$ ) de 0,9998. O limite de detecção calculado foi de 0,61 ng L<sup>-1</sup> e o de quantificação calculado foi de 1,94 ng L<sup>-1</sup>. A recuperação do analito foi estimada pela análise, em triplicata, de 3 (três) diferentes concentrações em cada nível de adição - nível baixo (8 ng L<sup>-1</sup>), nível médio (100 ng L<sup>-1</sup>) e nível alto (400 ng L<sup>-1</sup>). As recuperações obtidas ficaram entre 95,1 e 105,9%. A precisão foi calculada pelo desvio padrão relativo (RSD), tendo sido obtido um valor de 12,7%. A incerteza expandida do método ficou em 18%.

Para o metilmercúrio, foram utilizadas soluções padrões nas concentrações de 0,25 ng L<sup>-1</sup>, 1,25 ng L<sup>-1</sup>, 2,5 ng L<sup>-1</sup>, 6,25 ng L<sup>-1</sup>, 12,5 ng L<sup>-1</sup> e 25,0 ng L<sup>-1</sup>, e cada ponto da

curva analítica foi analisado em triplicata, obtendo-se de suas médias um coeficiente de correlação linear ( $r^2$ ) de 0,9995. O limite de detecção calculado foi de 0,08 ng L<sup>-1</sup> e o de quantificação calculado foi de 0,24 ng L<sup>-1</sup>. A recuperação do analito foi estimada pela análise, em triplicata, de 3 (três) diferentes concentrações em cada nível de adição - nível baixo (2,50 ng L<sup>-1</sup>), nível médio (12,5 ng L<sup>-1</sup>) e nível alto (25,0 ng L<sup>-1</sup>). As recuperações obtidas ficaram entre 86,0 a 104,2%. A precisão foi calculada pelo desvio padrão relativo (RSD), tendo sido obtido um valor de 7,9%. A incerteza expandida do método ficou em 12%.

O laboratório Venturo Análises Ambientais foi auditado pelo INMETRO, e as metodologias foram avaliadas e inseridas no escopo oficial do laboratório. Os limites de quantificação alcançados são os menores obtidos por um laboratório brasileiro acreditado na Norma ABNT ISO/IEC 17025/2005, e no caso do metilmercúrio, o laboratório foi o primeiro a ter a metodologia acreditada pelo INMETRO.

## ABSTRACT

### DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ANALYTICAL METHODOLOGIES FOR MEASUREMENT OF TOTAL MERCURY AND METHYL-MERCURY IN WATER USING THE COLD VAPOUR ATOMIC FLUORESCENCE TECHNIQUE

In this work, we used the cold vapour atomic fluorescence spectrometer technique for quantification of total mercury and methylmercury. The importance of quantification of total mercury in water is associated with toxicity when present in concentrations equal to or greater than those established in the applicable environmental legislation. Since the quantification of methylmercury is necessary because it is the most toxic metal species, easily bioaccumulated and biomagnificated along the food chain. They were used as reference, methods used by: USEPA Method 1631 (2002) - for total mercury and USEPA Method 1630 (2001) - for methyl mercury.

Regarding the parameters used to evaluate the analytical performance of the method, the choice was based on the guidance document INMETRO - DOQ - CGCRE - 008 (2011) - Guidance on validation of analytical methods. In practical experimental realization of the study were used for both methylmercury as for total mercury, the following standards:

For total mercury concentrations standard solutions were used at concentrations of 2 ng L<sup>-1</sup>, 8 ng L<sup>-1</sup>, 20 ng L<sup>-1</sup>, 100 ng L<sup>-1</sup>, 200 ng L<sup>-1</sup> and 400 ng L<sup>-1</sup>. Each point calibration curve was analyzed in triplicate to obtain their averages a correlation coefficient ( $r^2$ ) of 0,9998. The calculated detection limit was 0,61 ng L<sup>-1</sup> and the calculated quantification was 1,94 ng L<sup>-1</sup>. The recovery of the analyte was estimated by analysis in triplicate, three (3) different concentrations for each addition level - low level (8 ng L<sup>-1</sup>), medium (100 ng L<sup>-1</sup>) and high (400 ng L<sup>-1</sup>). The recoveries were between 95,1 and 105,9%. Accuracy was calculated by the relative standard deviation (RSD) was obtained having a value of 12,7%. The expanded uncertainty of the method was 18%.

For methyl mercury, standard solutions were used at concentrations of 0,25 ng L<sup>-1</sup>, 1,25 ng L<sup>-1</sup>, 2,5 ng L<sup>-1</sup>, 6,25 ng L<sup>-1</sup>, 12,5 ng L<sup>-1</sup> and 25,0 ng L<sup>-1</sup>. Each point calibration

curve was analyzed in triplicate to obtain their averages a correlation coefficient ( $r^2$ ) of 0,9995. The calculated detection limit was  $0,08 \text{ ng L}^{-1}$  and the calculated quantification was  $0,24 \text{ ng L}^{-1}$ . The recovery of the analyte was estimated by analysis in triplicate, three (3) different concentrations for each addition level - low level ( $2,50 \text{ ng L}^{-1}$ ), middle ( $12,5 \text{ ng L}^{-1}$ ) and level high ( $25,0 \text{ ng L}^{-1}$ ). The recoveries were between 86,0 to 104,2%. Accuracy was calculated by the relative standard deviation (RSD) was obtained having a value of 7,9%. The expanded uncertainty of the method was 12%.

The Venturo Análises Ambientais laboratory has been audited by INMETRO, and the methods were evaluated and inserted in the official scope of the laboratory. The achieved quantification limits are the lowest obtained by a Brazilian laboratory accredited to the Standard ISO / IEC 17025/2005, and in the case of methylmercury , the lab was the first to have the methodology accredited by INMETRO .

## SUMÁRIO

1 -	INTRODUÇÃO .....	16
2 -	TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS .....	18
2.1 -	FLUORESCÊNCIA ATÔMICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL 18	
2.2 -	FLUORESCÊNCIA ATÔMICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE METILMERCÚRIO .....	19
3 -	SISTEMAS DE QUALIDADE .....	21
4 -	REDE BRASILEIRA DE LABORATÓRIOS DE ENSAIOS - RBLE .....	22
5 -	TEORIA E OPERAÇÃO – MÓDULO MERCÚRIO TOTAL .....	25
5.1 -	TRATAMENTO DAS AMOSTRAS .....	25
5.1.1 -	OXIDAÇÃO .....	26
5.1.2 -	PRÉ REDUÇÃO .....	26
5.1.3 -	REDUÇÃO .....	26
5.2 -	PURGA .....	27
5.3 -	ADSORÇÃO DO MERCÚRIO ELEMENTAR .....	27
5.4 -	DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO .....	28
5.5 -	SOFTWARE GURU .....	30
6 -	TEORIA E OPERAÇÃO – MÓDULO METILMERCÚRIO .....	30
6.1 -	TRATAMENTO DAS AMOSTRAS .....	31
6.1.1 -	DESTILAÇÃO .....	31
6.1.2 -	PROCESSO DE ETILAÇÃO .....	33
6.2 -	PURGA .....	34
6.3 -	ADSORÇÃO E SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA .....	35
6.4 -	DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO .....	37
6.5 -	SOFTWARE GURU .....	37
7 -	RESULTADOS .....	38

7.1 - MERCÚRIO TOTAL .....	38
7.1.1 - CURVA ANALÍTICA .....	38
7.1.2 - LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO .....	40
7.1.3 - RECUPERAÇÃO E REPETITIVIDADE .....	40
7.1.4 - INCERTEZA DO MÉTODO .....	42
7.1.5 - CONCLUSÃO .....	44
7.2 - METILMERCÚRIO .....	45
7.2.1 - CURVA ANALÍTICA .....	45
7.2.2 - LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO .....	46
7.2.3 - RECUPERAÇÃO E PRECISÃO .....	47
7.2.4 - INCERTEZA DO MÉTODO .....	49
7.2.5 - CONCLUSÃO .....	51
7.3 - ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA MERCÚRIO TOTAL .....	51
7.4 - ACREDITAÇÃO DO LABORATÓRIO PARA QUANTIFICAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL E METILMERCÚRIO .....	52
8 - CONCLUSÕES FINAIS .....	54
9 - BIBLIOGRAFIA .....	54

## 1 - INTRODUÇÃO

O mercúrio e seus compostos possuem diferentes e importantes aplicações na medicina, agricultura, indústrias, mineração, dentre outros, porém durante séculos, por desconhecimento dos seus efeitos toxicológicos, foi utilizado por trabalhadores indiscriminadamente, causando-lhes graves problemas de saúde. Segundo SKOOG *et al.* (2006), o mercúrio é absorvido através da pele e dos pulmões, destruindo as células do cérebro e causando diversos sintomas, como a perda de dentes, tremores, espasmos musculares, alterações de personalidades, irritabilidade e nervosismo. Ainda, segundo os autores, a alta toxicidade do mercúrio é dada por causa da sua tendência a formar compostos orgânicos e inorgânicos, sendo o metilmercúrio o composto orgânico de mercúrio mais solúvel em tecidos gordurosos como o fígado, acumulado em níveis tóxicos, sendo expelido muito lentamente pelo corpo.

Essa toxicidade do mercúrio para a biota e para os seres humanos tem ocasionado um aumento crescente das pesquisas direcionadas ao seu ciclo biogeoquímico, envolvendo a distribuição, bioacumulação, biomagnificação, transformação e transporte no ambiente e as técnicas analíticas para especiação do mercúrio são fundamentais para o entendimento deste ciclo, segundo VÁSQUES *et al.* (1999).

Ainda, de acordo com BISINOTI (2005), características químicas como alcalinidade, pH, matéria orgânica, potencial redox e outras influenciam diretamente na quantidade de cada espécie nos ambientes aquáticos, onde o mercúrio pode ser metilado por processos biológicos e/ou químicos, bem como processos abióticos.

Nos sedimentos depositados no fundo de lagos, riachos e outros corpos d'água, bactérias anaeróbias convertem o mercúrio inorgânico em orgânico. Segundo SKOOG *et al.* (2006), pequenos animais aquáticos consomem o mercúrio orgânico e, por sua vez, são consumidos por animais maiores; por ser lipossolúvel, à medida que o elemento se move para cima na cadeia alimentar, o mercúrio torna-se cada vez mais concentrado. Algumas espécies marinhas, como as ostras, podem concentrar o mercúrio por um fator de 100.000.

De acordo com BISINOTI (2005), acredita-se que pelo menos 80% do mercúrio orgânico esteja na forma de metilmercúrio, composto extremamente tóxico.

Levando em consideração a grande utilização do mercúrio, seus compostos e sua alta toxicidade para os seres vivos, agências reguladoras de diversos países estudaram seus efeitos e estabeleceram valores orientadores para o mercúrio total em diversas matrizes, como alimentos, bebidas, brinquedos e produtos infantis, água potável, águas salinas, águas salobras, efluentes, dentre outras.

Na TABELA 2.1, encontra-se os valores orientadores para mercúrio total em águas brasileiras.

TABELA 1.1 - Valores orientadores para mercúrio total em águas brasileiras. VM (Valor Máximo); VMP (Valor Máximo Permitido).

<b>Matriz</b>	<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Comentário</b>	<b>Referência</b>
Água potável	1	Padrão de potabilidade	Portaria MS-2914/2011
Água subterrânea	1	VMP (consumo humano)	Resolução CONAMA 396/2008
	10	VMP (dessedentação)	
	2	VMP (irrigação)	
	1	VMP (recreação)	
Água subterrânea	1	VMP (intervenção)	CETESB (Decisão de Diretoria 045/2014/E/C/I, de 20-02-2014)
Águas doces	0,2	VM (classes 1 e 2)	Resolução CONAMA 357/2005
	2	VM (classe 3)	
Águas salinas	0,2	VM (classe 1)	Resolução CONAMA 357/2005
	1,8	VM (classe 2)	
Águas salobras	0,2	VM (classe 1)	Resolução CONAMA 357/2005
	1,8	VM (classe 2)	
Efluentes	10	Padrão de lançamento	Resolução CONAMA 430/2011

Apesar dos diversos estudos já realizados comprovando a toxicidade do metilmercúrio, o Brasil ainda não tem estabelecido valores de referência para esse composto.

O laboratório Venturo Análises Ambientais Ltda. EPP tem tradicionalmente participado de estudos sobre o ciclo biogeoquímico do mercúrio,

especializando-se na quantificação e especificação deste metal. Os trabalhos têm sido conduzidos de acordo com órgãos ambientais como o IBAMA, por exemplo, que vem exigindo a acreditação dos ensaios pelo INMETRO na Norma ABNT NBR ISO/IEC 17025/2005, com a finalidade de garantir a qualidade e confiabilidade dos resultados. Desta forma, surgiu a necessidade da validação dos métodos para quantificação do mercúrio total e do metilmercúrio objetivando atender às necessidades do mercado.

O presente trabalho tem como principal objetivo o desenvolvimento e validação de metodologias para quantificação de mercúrio total e metilmercúrio em água, utilizando a técnica de espectrometria de fluorescência atômica do vapor frio e acreditação desses ensaios pelo INMETRO.

## 2 - TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS

### 2.1 - FLUORESCÊNCIA ATÔMICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL

O método utilizado nesta pesquisa consiste na espectrometria de fluorescência atômica do vapor frio (CV-AFS), que detecta o sinal de fluorescência emitido pelo mercúrio no comprimento de onda de 253,7 nm. O mercúrio é considerado um bom elemento para a fluorescência, pois absorve e emite no mesmo comprimento de onda (fluorescência de ressonância), característica importante para eliminar interferentes, sendo a técnica capaz de alcançar os menores limites de detecção para esse elemento.

Na TABELA 2.2 estão relacionados os menores limites de quantificação para o mercúrio total alcançados por técnicas utilizadas pelos laboratórios que fazem parte da RBLE, concluindo-se que a técnica CV-AFS é a que apresenta o menor limite dentre todas as outras técnicas.

TABELA 2.1 - Menor limite de quantificação alcançado pelos laboratórios da RBLE para mercúrio total em águas e técnicas analíticas mais utilizadas (INMETRO, 2016).

Técnica Analítica	LQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
CV-AFS	0,002
CV-AAS	0,02
CV-ICP OES	0,1

Técnica Analítica	LQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
ICP-MS	0,1

Neste estudo, para o desenvolvimento e validação do método para quantificação de mercúrio total, foram utilizadas como principais referências a metodologia *USEPA Method 1631* (2002) e protocolos sugeridos pelo fabricante do equipamento. O método consiste basicamente das seguintes etapas:

- Oxidação das formas orgânicas de mercúrio com cloreto de bromo;
- Redução do excesso de cloreto de bromo com cloridrato de hidroxilamina;
- Redução a  $\text{Hg}^0$  com cloreto estano;
- Purga com argônio;
- Adsorção em colunas de areia de quartzo recoberta por ouro e,
- Detecção e quantificação por fluorescência atômica.

## 2.2 - FLUORESCÊNCIA ATÔMICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE METILMERCÚRIO

Segundo MACHADO (2011), a maior parte dos trabalhos sobre especiação das formas orgânicas dos metais, principalmente os organomercuriais como o metilmercúrio, explora as técnicas hífenadas, que combinam a cromatografia e um sistema de detecção. Essas técnicas apresentam melhor resposta para a quantificação de níveis traço do metilmercúrio contido em diversas matrizes ambientais, principalmente nas águas naturais, conforme TABELA 2.3.

Ainda, de acordo com MACHADO (2011), em águas naturais, matriz de interesse neste trabalho, são normalmente encontrados traços de metilmercúrio na ordem de  $\text{ng L}^{-1}$  ou ainda inferiores. Para atingir esses limites de detecção e quantificação, a técnica que combina a separação por cromatografia gasosa acoplada a quantificação por espectrometria de fluorescência atômica é a mais indicada.

TABELA 2.2 - Limite de detecção e limite de quantificação de métodos analíticos para determinação de metilmercúrio (MACHADO, 2011).

<b>Método Analítico</b>	<b>LD (ng L<sup>-1</sup>)</b>	<b>LQ (ng L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Referência</b>
Extração com diclorometano, oxidação com cloreto de bromo e redução com cloreto estano. Quantificação por CV-AFS.	0,9	1,6	BISINOTI (2005)
Etilação com tetraetilborato de sódio seguida de cromatografia com gás criogênico acoplado ao CV-AFS	0,003	--	BLOOM, 1989
Destilação e etilação com tetraetilborato de sódio seguida de GC-CV-AFS	0,005	--	Brooks Rand Labs, 2009
Destilação e etilação com tetraetilborato de sódio seguida de GC-CV-AFS	0,002	0,006	MACHADO (2011)
Destilação e etilação com tetraetilborato de sódio seguida de GC-CV-AFS	0,08	0,24	A presente pesquisa

Foram utilizadas como principais referências deste estudo a metodologia *USEPA Method 1630* (2001) e protocolos sugeridos pelo fabricante do equipamento, para quantificação do metilmercúrio. O método consiste basicamente das seguintes etapas:

- Destilação a 125 °C;
- Etilação com tetraetilborato de sódio;
- Purga com argônio;
- Adsorção dos compostos orgânicos de mercúrio em colunas Tenax®;
- Separação por cromatografia gasosa;
- Redução a Hg<sup>0</sup> por aquecimento em coluna pirolítica e,
- Determinação quantitativa por fluorescência atômica.

### 3 - SISTEMAS DE QUALIDADE

Criados com o propósito de assegurar a qualidade de diversas atividades, como indústrias e laboratórios, os sistemas de qualidade estão cada vez mais sendo disseminados em todos os setores.

Segundo OLIVARES (2006), em laboratórios químicos nacionais, a preocupação com a implementação de Sistemas de Qualidade surgiu em grande escala na década de 1990 com um conjunto de iniciativas capitaneadas pelo IBAMA.

Visando uma maior confiabilidade dos dados gerados pelos laboratórios nacionais, diversos órgãos do governo como ANVISA, ANA, MAPA, CETESB e DAEE seguiram os passos do IBAMA e passaram a tornar obrigatória implementação de sistemas da qualidade nos laboratórios.

O INMETRO é o órgão responsável por avaliar e acreditar os laboratórios nacionais de acordo com os requisitos da BPL e ISO/IEC 17025/2005.

Em laboratórios prestadores de serviços na área de meio ambiente, a acreditação é exigida para aceitação de relatórios de ensaios, com isso, faz-se necessário investir em mão de obra especializada, padrões analíticos certificados, calibração de equipamentos, controle ambiental, instalações apropriadas, dentre outros.

Em 30 de agosto de 2006, a Resolução SMA nº 36, artigo 2º, da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, determinou que todos os resultados de ensaios físicos, químicos orgânicos e inorgânicos, microbiológicos, biológicos e toxicológicos somente seriam aceitos quando realizados por laboratórios de ensaio acreditados, nos parâmetros determinados, segundo a Norma ISO/IEC 17025/2005. Foi dado um prazo de 2 (dois) anos para que os laboratórios se adequassem.

Em novembro de 2011, a Portaria MS-2914, artigo 21º, do Ministério da Saúde, estabeleceu que “As análises laboratoriais para controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano podem ser realizadas em laboratório próprio, conveniado ou subcontratado, desde que se comprove a existência de sistema de gestão da qualidade, conforme os requisitos especificados na NBR ISO/IEC 17025/2005.”, estabelecendo um prazo de 24 (vinte e quatro) meses, contados a partir da data de publicação da Portaria, para que os laboratórios

promovessem as adequações necessárias para a implantação do sistema de gestão da qualidade.

Em novembro de 2012, a Resolução nº 90, artigo 2º, da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, inovou ao exigir a acreditação na norma ISO/IEC 17025/2005 também das operações de amostragem no campo ambiental. A justificativa apresentada pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) foi que a qualidade dos ensaios é diretamente influenciada pela qualidade da amostragem.

Conclui-se que, apesar de ainda ser tratada como voluntária, a acreditação dos laboratórios já pode ser tratada como fundamental, não apenas como diferencial competitivo, mas sim como imprescindível para a permanência no mercado.

#### **4 - REDE BRASILEIRA DE LABORATÓRIOS DE ENSAIOS - RBLE**

Com os objetivos de facilitar o comércio interno e externo e identificar e reconhecer oficialmente laboratórios no Brasil, a Rede Brasileira de Laboratórios de Ensaio – RBLE – é o conjunto de laboratórios acreditados pelo INMETRO para a execução de serviços de ensaio, aberto a qualquer laboratório, nacional ou estrangeiro, que realize ensaios e atenda aos critérios do INMETRO.

Hoje no Brasil, 260 laboratórios são acreditados pelo INMETRO na área de Meio Ambiente e Ensaios Químicos (INMETRO, 2016), fazendo parte da RBLE. Desses, 76,1% estão localizados na região sudeste, que tem a maior participação no PIB nacional (IBGE, 2015) (TABELA 3.1 e FIGURA 3.1).

TABELA 4.1 – Porcentagem de laboratórios da RBLE com escopo em Meio Ambiente e Ensaios Químicos por regiões e participação das regiões no PIB brasileiro.

<b>Região</b>	<b>Total de laboratórios (%)</b>	<b>Participação no PIB em 2012 (%)</b>
Sudeste	76,1	55,2
Sul	15,4	16,2
Nordeste	5,4	13,6
Centro Oeste	1,9	9,8

Região	Total de laboratórios (%)	Participação no PIB em 2012 (%)
Norte	1,2	5,3

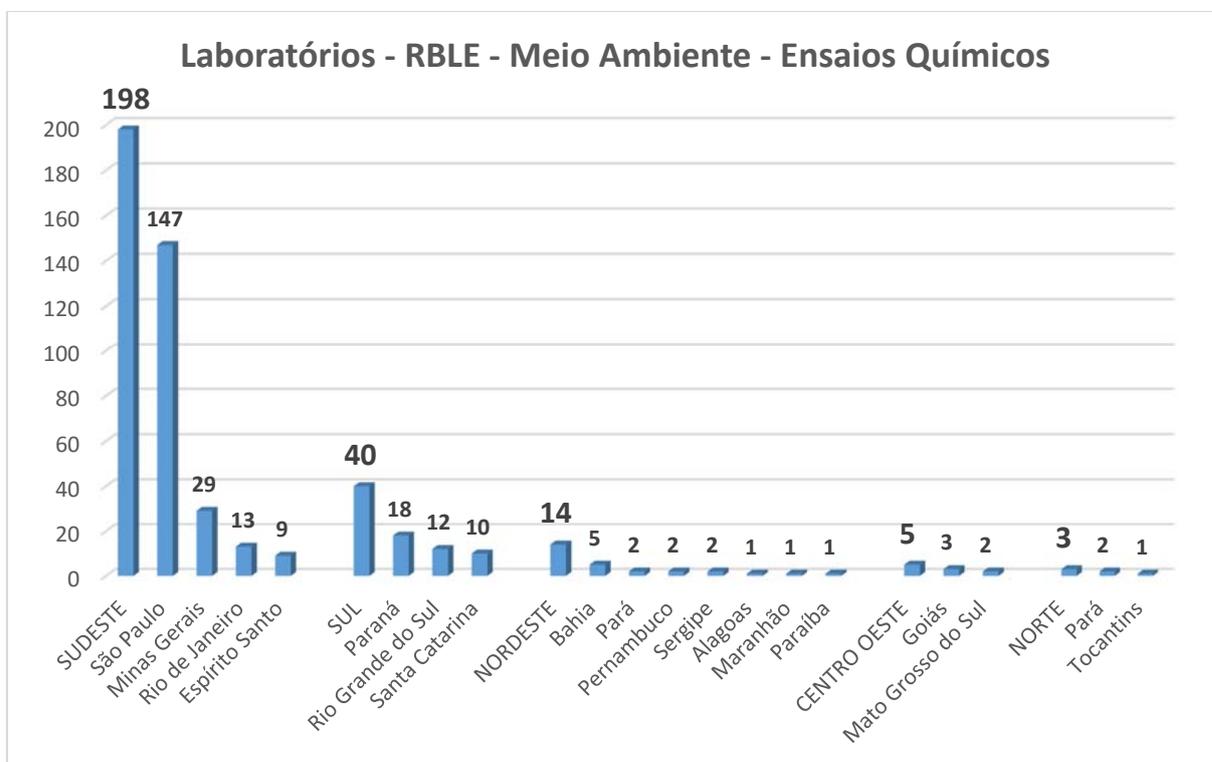


FIGURA 4.1 - Laboratórios da RBLE, com escopo e Meio Ambiente e Ensaio Químicos, por regiões e estados em 27/03/2016.

Pode-se concluir que a preocupação com a qualidade metrológica está diretamente relacionada ao desenvolvimento econômico das regiões brasileiras.

Dos 260 laboratórios da RBLE com escopo em meio ambiente, 70 possuem escopo para análise de mercúrio total em águas; desses, 45 concentram-se no estado de São Paulo (FIGURA 3.2).

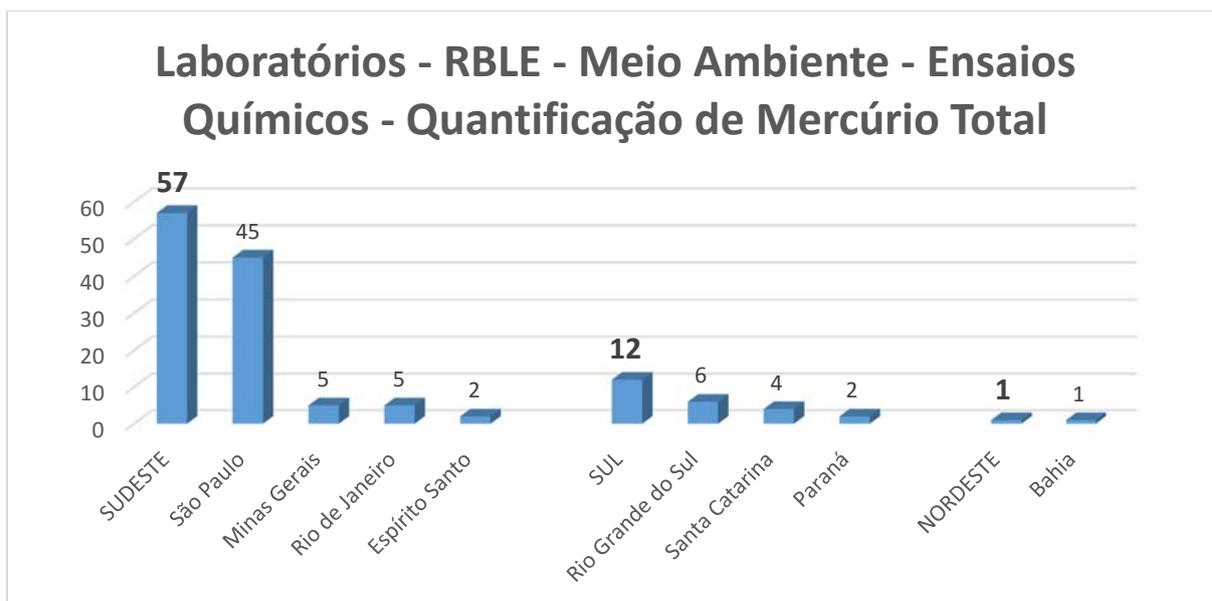


FIGURA 4.2 - Total de laboratórios da RBLE, com escopo em Meio Ambiente, acreditados para quantificação de mercúrio total em águas em 27/03/2016.

Dos laboratórios acreditados para quantificação de mercúrio total em águas, 51,4% realizam a análise por CV-AAS (menor LQ de  $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ ), 34,3% por CV-ICP OES (menor LQ de  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ), 10,0% por CV-AFS (menor LQ de  $0,002 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e 4,3% por ICP-MS (menor LQ de  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (FIGURA 3.3).

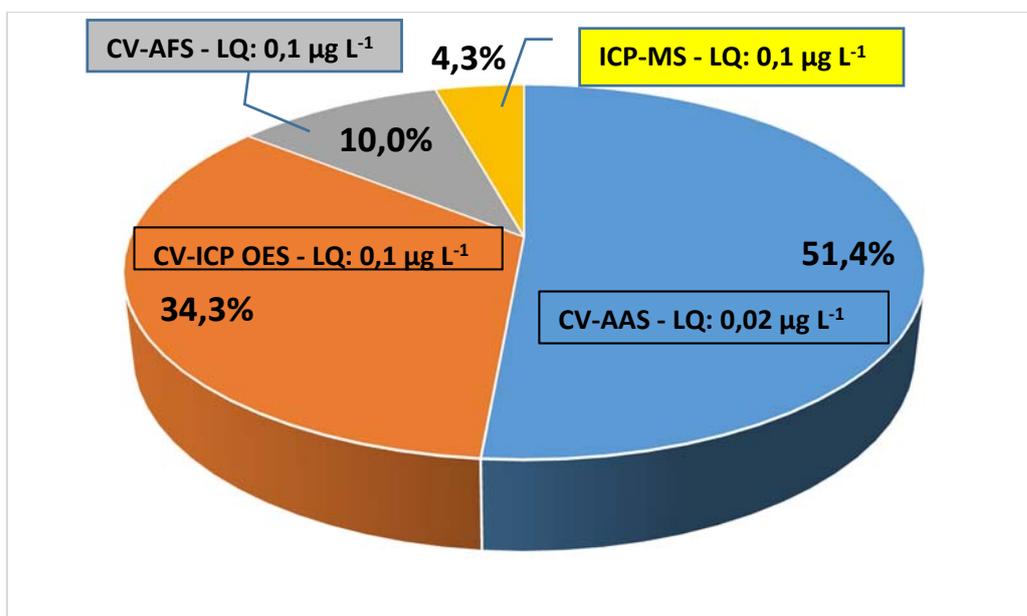


FIGURA 4.3 - Técnicas analíticas utilizadas e seus limites de quantificação para mercúrio total em águas.

O menor limite de quantificação para mercúrio total alcançado por um laboratório pertencente à RBLE é de  $0,002 \mu\text{g L}^{-1}$ , por CV-AFS. Esse limite foi alcançado no presente trabalho e faz parte do escopo acreditado do laboratório Venturo Análises Ambientais.

Já para quantificação do metilmercúrio, o laboratório Venturo Análises Ambientais foi o primeiro a conseguir a acreditação do INMETRO, alcançando um limite de quantificação de  $0,24 \text{ ng L}^{-1}$ .

## 5 - TEORIA E OPERAÇÃO – MÓDULO MERCÚRIO TOTAL

O sistema utilizado para quantificação do mercúrio total (FIGURA 4.1) é composto por um amostrador automático, um módulo para mercúrio total e um detector por CV-AFS.

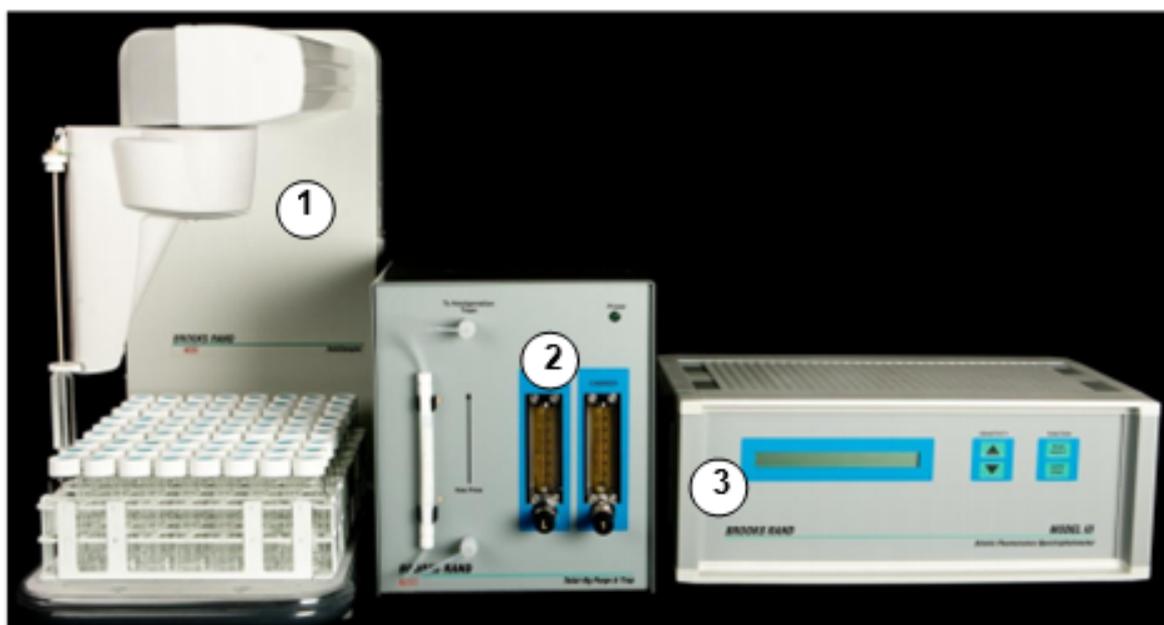


FIGURA 5.1 - Equipamento para quantificação de mercúrio total – 1 (amostrador automático); 2 (módulo mercúrio total); 3 (detector por CV-AFS).

### 5.1 - TRATAMENTO DAS AMOSTRAS

Antes de serem levadas para o amostrador automático, as amostras foram digeridas e preparadas, como mostrado na FIGURA 4.2, para garantir que todo o mercúrio presente estivesse na forma de  $\text{Hg}^0$  (disponível para ser quantificado).

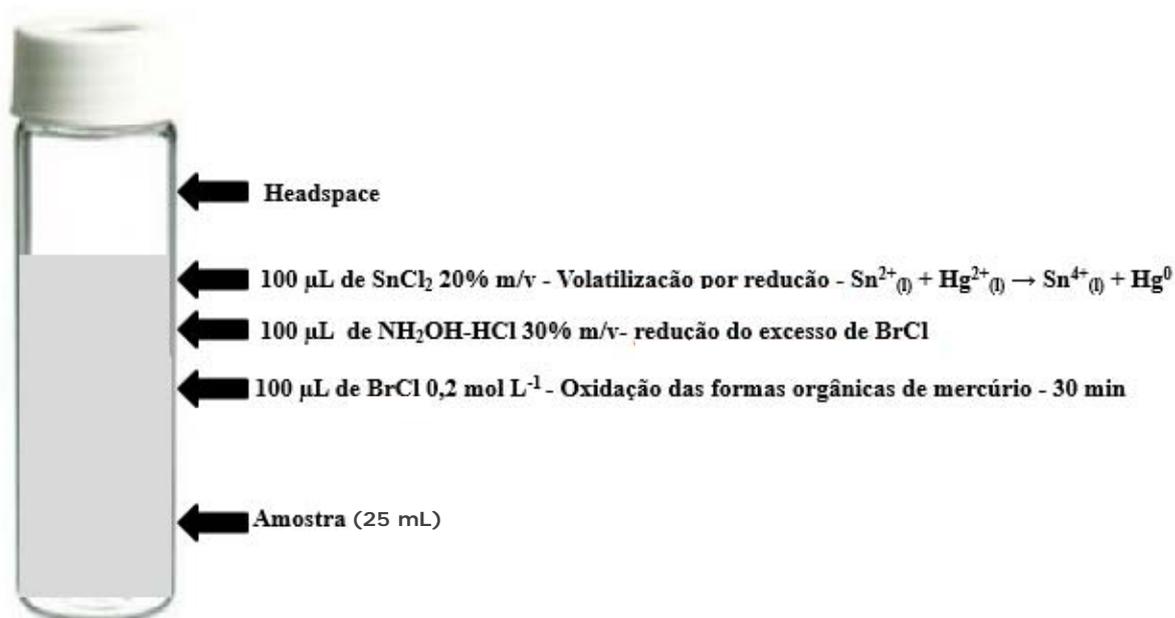


FIGURA 5.2 – Tratamento de amostras para quantificação de mercúrio total.

### 5.1.1 - OXIDAÇÃO

Para oxidar toda matéria orgânica, o cloreto de bromo (BrCl) foi adicionado em excesso às amostras, convertendo todo o mercúrio a Hg<sup>2+</sup>, sua forma mais solúvel em água. É devido a essa etapa que esse método quantifica o mercúrio total.

### 5.1.2 - PRÉ REDUÇÃO

Após a etapa da oxidação, é realizada a pré redução, em que o cloridrato de hidroxilamina (NH<sub>2</sub>OH.HCl) é adicionado ao *vial* para reduzir o excesso de haletos reativos na amostra (em especial o brometo, adicionado na etapa de oxidação), que podem diminuir a eficiência da areia de quartzo recoberta por ouro presente no equipamento. Mesmo sendo um agente redutor, o cloridrato de hidroxilamina não é suficientemente forte para reduzir o Hg<sup>2+</sup> para Hg<sup>0</sup>.

### 5.1.3 - REDUÇÃO

Após a etapa de pré redução, foi adicionado cloreto estânico (SnCl<sub>2</sub>) ao *vial*, que foi rapidamente fechado, pois todo Hg<sup>2+</sup> é reduzido para Hg<sup>0</sup> volátil. O *vial* foi

invertido para homogeneizar e colocado no amostrador automático. Depois de fechados os *vials*, as soluções são estáveis por até 48 horas.

## 5.2 - PURGA

Após as etapas de tratamento descritas anteriormente, os *vials* contendo as amostras foram colocados no amostrador automático, onde uma agulha perfura o septo e estende-se próxima ao fundo do *vial*. A agulha possui duas aberturas e cada uma delas possui um percurso diferente. A abertura da parte inferior injeta argônio para dentro do *vial*, promovendo o borbulhamento da solução. Através da abertura superior da agulha, o argônio faz o “carreamento” do  $\text{Hg}^0$  até as colunas de adsorção. A FIGURA 4.3 representa a etapa de purga das amostras.

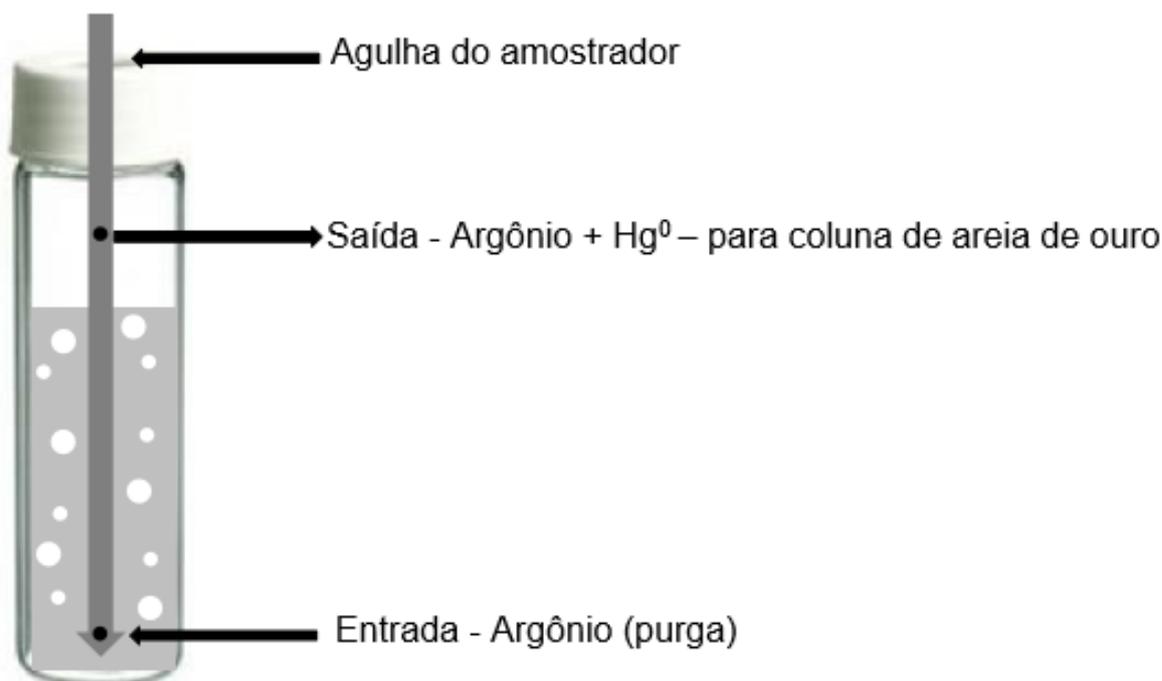


FIGURA 5.3 - *Vial* de purga para quantificação de mercúrio total.

## 5.3 - ADSORÇÃO DO MERCÚRIO ELEMENTAR

Após o módulo de purga, o gás passa através de uma coluna com cal sodada afim de remover a umidade e vapores ácidos, que podem interferir na análise. Em seguida, o gás de arraste contendo o  $\text{Hg}^0$  passa através de uma coluna de areia de quartzo recoberta por ouro para pré-concentração. Nesta coluna, o mercúrio

elementar se amalgama fortemente com o ouro, ficando adsorvido. Quando a purga se completa, essa coluna é aquecida, liberando o mercúrio elementar que é adsorvido em uma segunda coluna de areia de quartzo recoberta por ouro, chamada coluna analítica.

Sendo o mercúrio completamente adsorvido, a coluna analítica é aquecida e um fluxo do gás argônio o transporta para o detector.

A FIGURA 4.4 ilustra o módulo do mercúrio total.

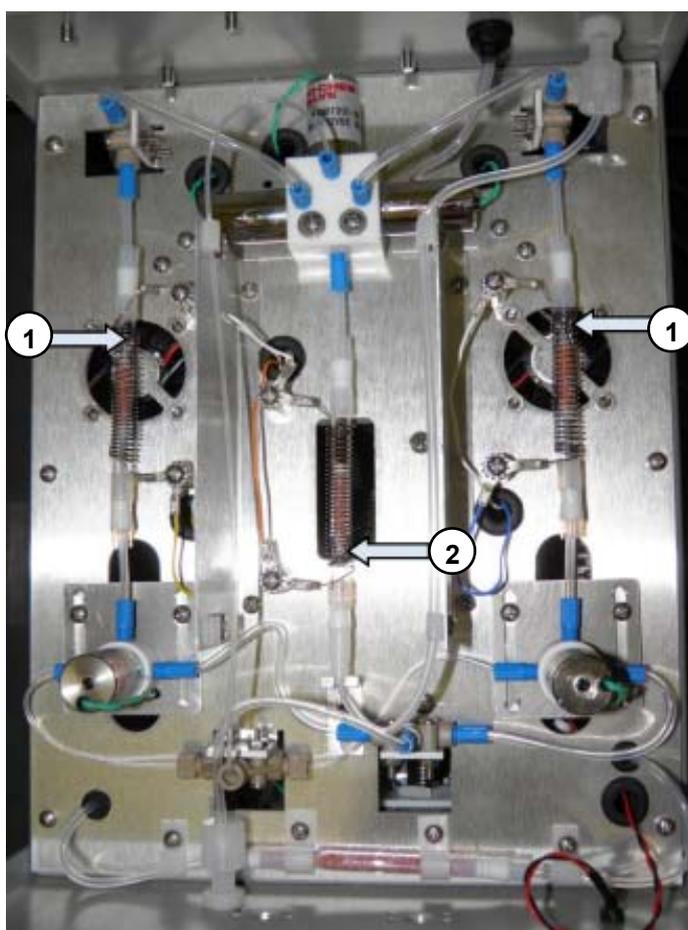


FIGURA 5.4 - Módulo para quantificação de mercúrio total - 1 (coluna de areia de quartzo recoberta por ouro para pré-concentração) e 2 (coluna analítica de areia de quartzo recoberta por ouro).

## 5.4 - DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

O detector de fluorescência é constituído por:

- Uma célula de fluxo de quartzo (FIGURA 4.5), por onde passa o vapor de mercúrio;

- Uma lâmpada UV (FIGURA 4.5), que emite um comprimento de onda de 253,7 nm, o comprimento de onda de maior fluorescência do mercúrio;
- Um filtro de banda óptica (FIGURA 4.6), que só permite a passagem do comprimento de onda de 253,7 nm;
- Um tubo fotomultiplicador (FIGURA 4.6), que captura os fótons incidentes, os converte em um sinal elétrico e amplifica o sinal, em proporção à tensão aplicada, convertendo o sinal luminoso em corrente elétrica, que permite a quantificação do mercúrio.

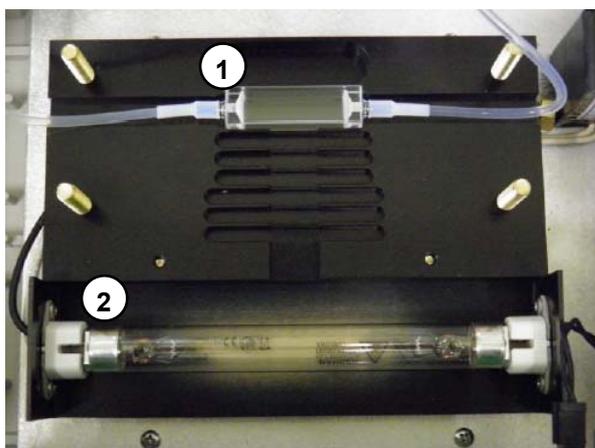


FIGURA 5.5 – Sistema de detecção - 1 (célula de fluxo de quartzo); 2 (lâmpada de mercúrio).

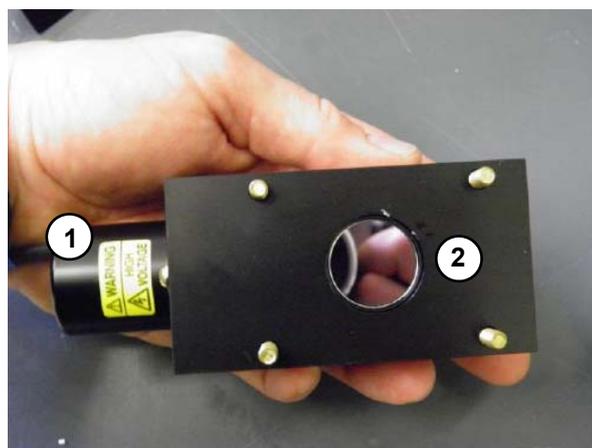


FIGURA 5.6 – Sistema de detecção - 1 (tubo fotomultiplicador); 2 (filtro de banda óptica).

A FIGURA 4.7 traz um diagrama de blocos que ilustra o funcionamento do detector utilizado.

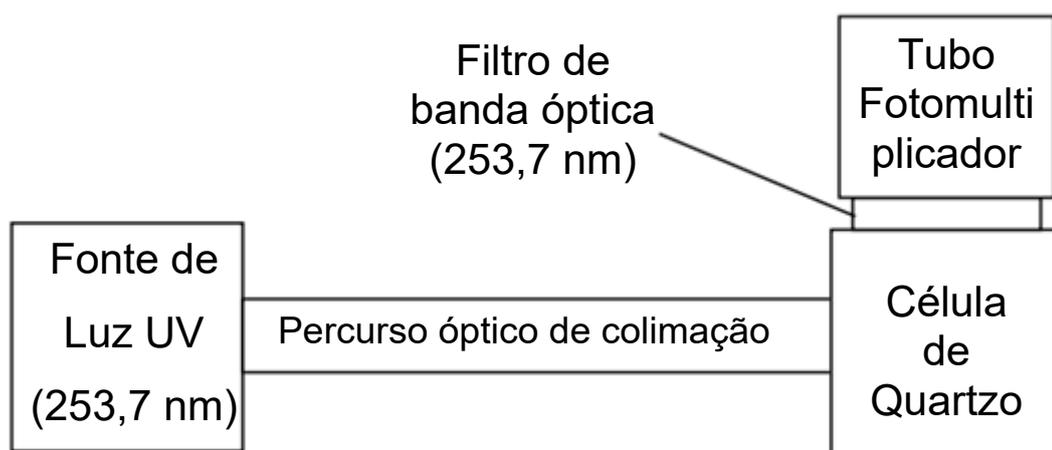


FIGURA 5.7 - Diagrama de blocos - detector CV-AFS.

## 5.5 - SOFTWARE GURU

O equipamento é controlado através de um software denominado Guru, onde todos os dados são visualizados. O pico do mercúrio elementar, que representa o mercúrio total presente nas amostras, aparece entre 0,7 e 1,2 min, conforme FIGURA 4.8.

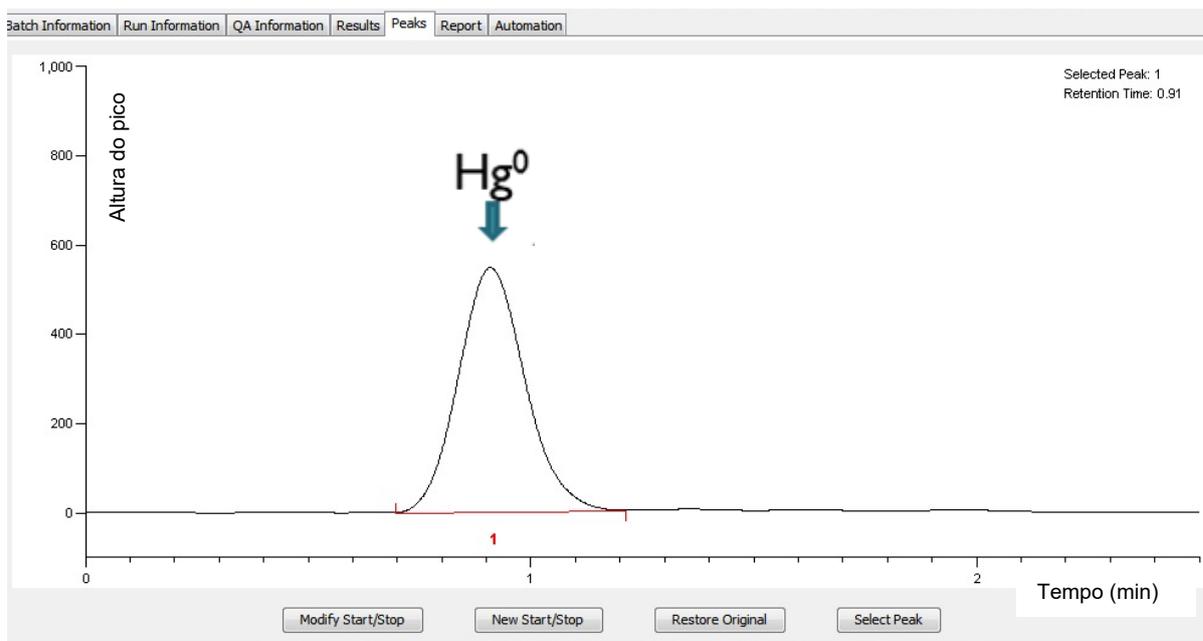


FIGURA 5.8 – Espectro com o pico do mercúrio elementar para quantificação de mercúrio total.

## 6 - TEORIA E OPERAÇÃO – MÓDULO METILMERCÚRIO

O sistema utilizado para quantificação do metilmercúrio (FIGURA 5.1) é composto por um amostrador automático, um cromatógrafo gasoso, um módulo para metilmercúrio e um detector por CV-AFS.

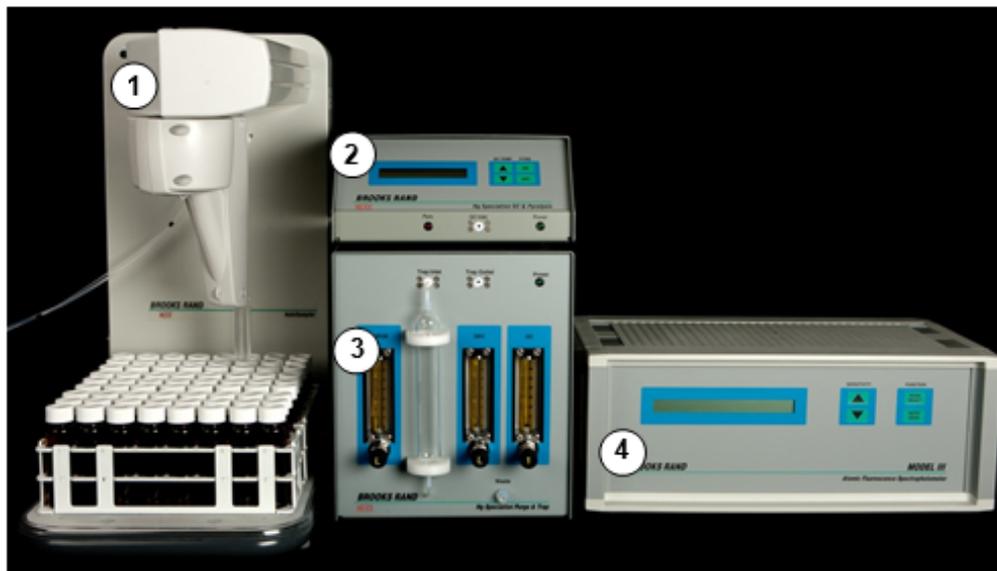


FIGURA 6.1 - Equipamento para quantificação de metilmercúrio - 1 (amostrador automático); 2 (cromatógrafo gasoso); 3 (módulo metilmercúrio); 4 (detector por CV-AFS).

## 6.1 - TRATAMENTO DAS AMOSTRAS

Antes de serem levadas para o amostrador automático, as amostras foram destiladas para eliminar possíveis interferentes e foram adicionados alguns reagentes (FIGURA 5.5), garantindo que todo o metilmercúrio estivesse disponível para ser quantificado.

### 6.1.1 - DESTILAÇÃO

De acordo com *USEPA Method 1630* (2001), o metilmercúrio são todos os destiláveis ácidos de mercúrio, que, em reação com tetraetilborato de sódio formam metiletilmercúrio.

Antes da destilação, foi adicionado às amostras 200  $\mu\text{L}$  de APDC, que tem a função de formar quelatos insolúveis com alguns metais, evitando que esses sejam destilados juntamente com o mercúrio e posteriormente etilados. As amostras foram destiladas em tubos de teflon inseridos em um bloco com aquecimento controlado a 125  $^{\circ}\text{C}$  e coletadas em tubos de teflon refrigerados em bloco de alumínio congelado, estes tubos foram conectados com tampas especiais e tubos inertes (FIGURA 5.2). Durante o processo de destilação, a amostra foi borbulhada com argônio, utilizado como gás de arraste.

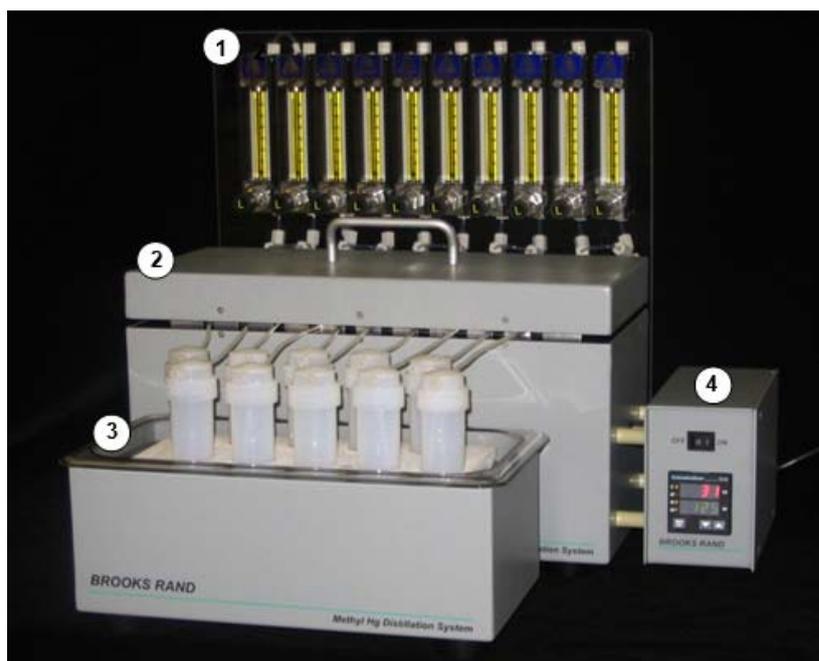


FIGURA 6.2 - Sistema de destilação - 1 (controlador de fluxo de gás); 2 (bloco de aquecimento); 3 (bloco de alumínio refrigerado); 4 (controlador de temperatura).

A FIGURA 5.3 ilustra o sistema montado no início da destilação, onde foram adicionados aos tubos de teflon do bloco de aquecimento 45 g da amostra e 200  $\mu\text{L}$  de APDC 1% e, no tubo de teflon inserido no bloco de resfriamento (que recebe o destilado), foi adicionado 10 g de água ultrapura.

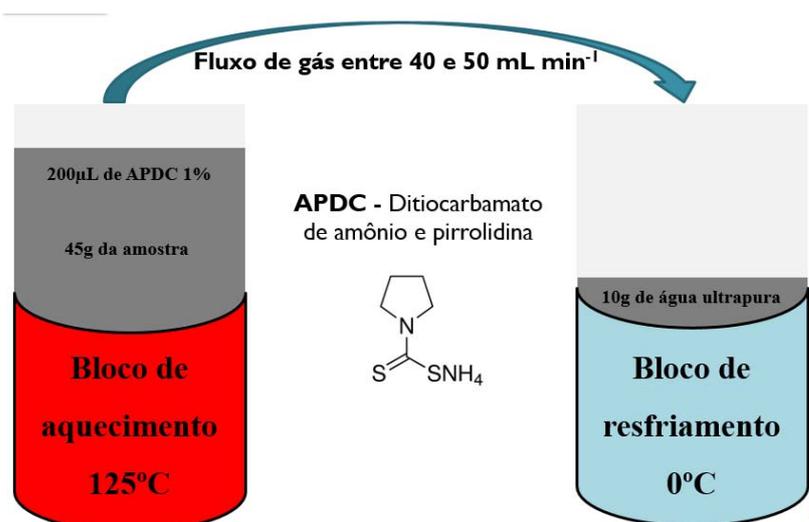


FIGURA 6.3 – Início do sistema montado para destilação de amostras.

A FIGURA 5.4 ilustra o sistema no final da destilação, onde sobra um resíduo da amostra de aproximadamente 5 g e, no tubo de teflon que recebeu o destilado, é coletada aproximadamente 50 g da amostra.

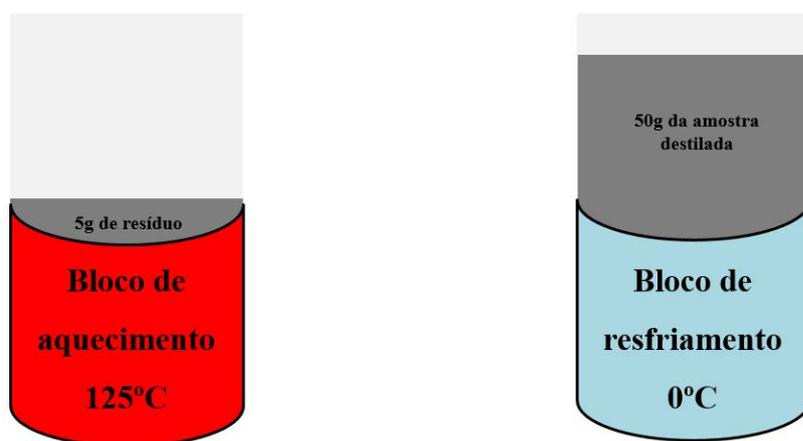


FIGURA 6.4 – Final do sistema montado para destilação de amostras.

### 6.1.2 - PROCESSO DE ETILAÇÃO

Após a etapa de destilação, *vials* foram preenchidos com a amostra destilada até o “pescoço”. Em seguida, foram adicionados 300  $\mu\text{L}$  de tampão de acetato de sódio (afim de manter o pH entre 4,5 e 5,0) e 50  $\mu\text{L}$  de tetraetilborato de sódio em cada *vial*. Então, os *vials* foram completados com suas respectivas amostras até formar um menisco invertido, afim de ficarem isentos de bolhas de ar quando tampados (FIGURA 5.5).

A etilação aquosa utilizando o tetraetilborato de sódio ( $\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ ) tem a função de formar etilderivados voláteis.

Segundo CAI e BAYONA (1995), a principal vantagem da etilação em relação a outras técnicas de derivatização, além de ser mais rápida e fácil, é que a reação de alquilação ocorre em fase aquosa, eliminando a necessidade de extrações com solventes orgânicos.

A FIGURA 5.5 ilustra o processo de etilação.

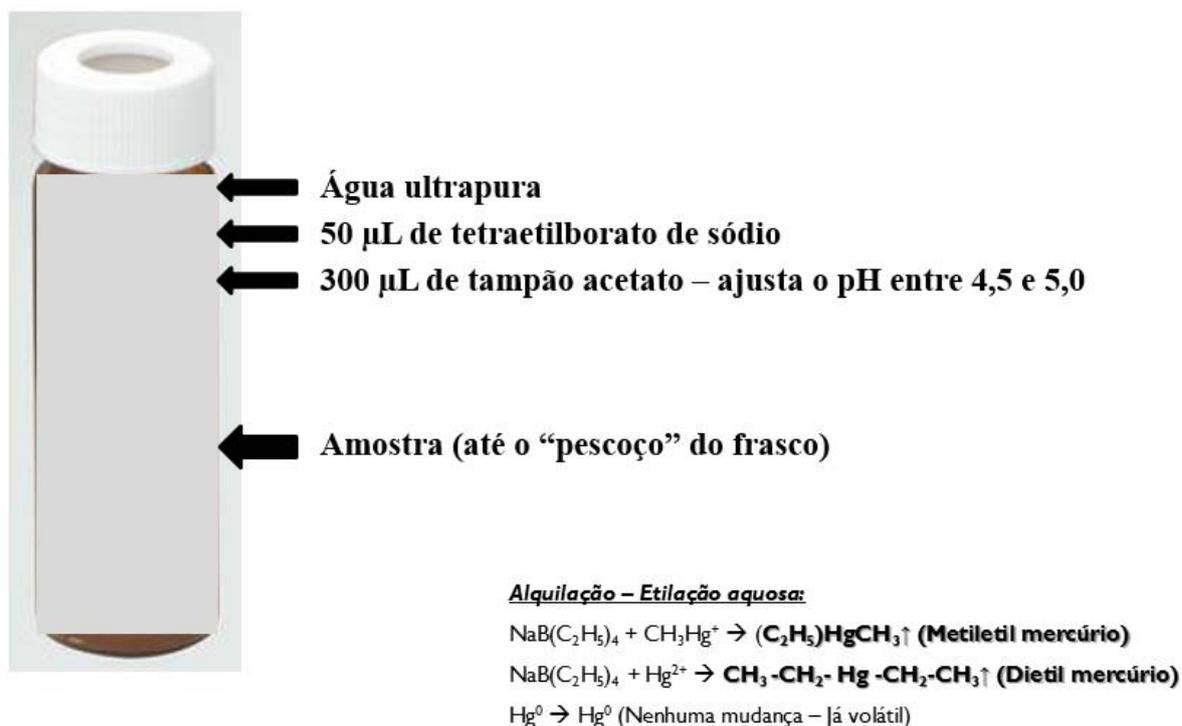


FIGURA 6.5 – Etapa da etilação aquosa utilizando o tetraetilborato de sódio.

## 6.2 - PURGA

Após a etapa de tratamento, os *vials* contendo as amostras são colocados no amostrador automático, onde uma agulha perfura o septo e estende-se próxima ao fundo do *vial*. A agulha tem duas aberturas, cada uma das quais está ligada a um percurso diferente. A abertura na parte superior injeta gás de purga limpo (utilizado argônio) para dentro do *vial*. Com a pressão do gás, toda a amostra entra na abertura inferior da agulha, sendo transportada para o compartimento de purga (FIGURA 5.6), onde a amostra é borbulhada com argônio e todas as espécies etiladas de mercúrio são arrastadas para o processo de adsorção em colunas contendo Tenax<sup>®</sup>, que adsorve as formas orgânicas de mercúrio, permitindo a especificação.

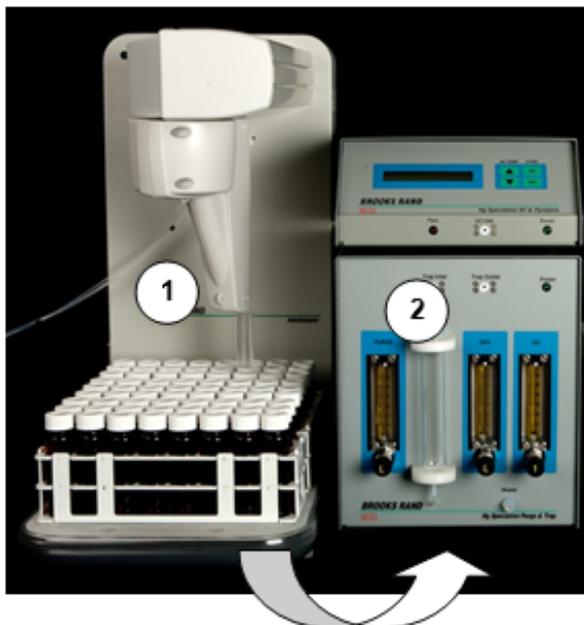


FIGURA 6.6 – Equipamento para quantificação de metilmercúrio - 1 (Amostrador automático); 2 (compartimento de purga).

### 6.3 - ADSORÇÃO E SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA

O módulo de purga e adsorção possui três colunas com Tenax<sup>®</sup>, sendo que duas delas funcionam em paralelo, adsorvendo e liberando as espécies de mercúrio etiladas para a terceira, que funciona como coluna analítica, recebendo alternadamente as espécies etiladas de mercúrio das duas primeiras, adsorvendo e liberando para a separação cromatográfica (FIGURA 5.7).

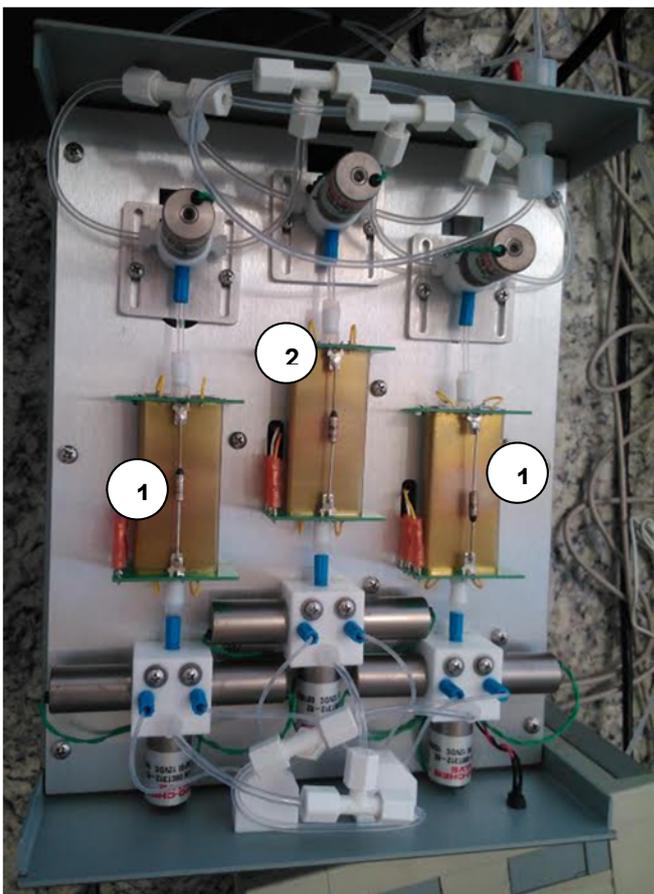


FIGURA 6.7 - Módulo para quantificação de metilmercúrio - 1 (colunas contendo Tenax<sup>®</sup> para pré-concentração) e 2 (coluna analítica de Tenax<sup>®</sup>).

Após serem liberadas pela coluna analítica, as espécies de mercúrio seguem para separação na coluna Tenax<sup>®</sup> do cromatógrafo gasoso (FIGURA 5.8), sendo liberadas na sequência: mercúrio elementar, metiletilmercúrio e, por último, o dietilmercúrio. Posteriormente, todas as espécies orgânicas são reduzidas a mercúrio elementar na coluna pirolítica (FIGURA 5.9). Por fim, o mercúrio elementar segue para o processo de detecção que é realizado pelo espectrômetro de fluorescência atômica do vapor frio (CV-AFS).

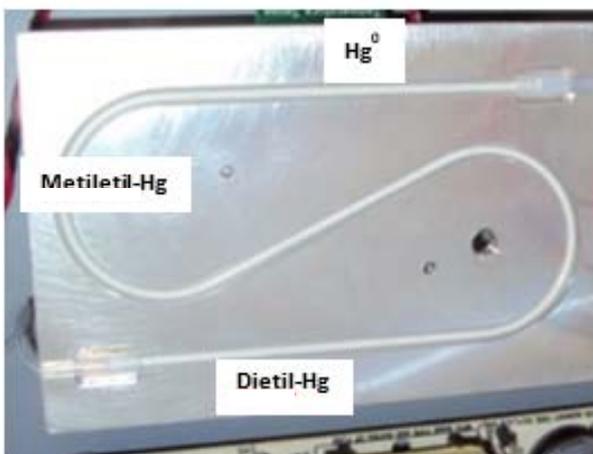


FIGURA 6.8 - Coluna cromatográfica utilizada para adsorção dos compostos orgânicos de mercúrio.

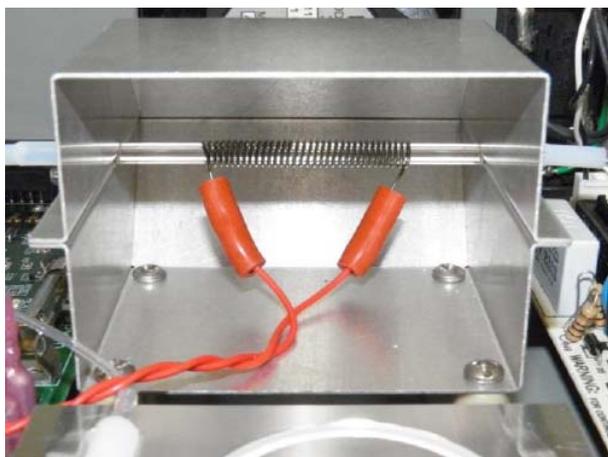


FIGURA 6.9 - Coluna pirolítica utilizada para reduzir todas as espécies orgânicas de mercúrio a mercúrio elementar.

## 6.4 - DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

O sistema de detecção e quantificação para o metilmercúrio é o mesmo do mercúrio total (ITEM 4.4)

## 6.5 - SOFTWARE GURU

Assim como o módulo para quantificação do mercúrio total, o módulo para quantificação do metilmercúrio é controlado através de um software denominado Guru, onde todos os dados são visualizados.

No cromatograma, normalmente se apresentam três picos (FIGURA 5.10), o primeiro aparece com menos de 1 minuto de retenção e equivale ao  $\text{Hg}^0$ , residual e não quantitativo. Já com um tempo entre 0,7 e 1,5 min de retenção, aparece o segundo pico que representa o  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  etilado (metilmercúrio) e por fim, com mais de 2 minutos de retenção o pico de dimetilmercúrio proveniente do produto da reação de etilação do  $\text{Hg(II)}$  contido na amostra.

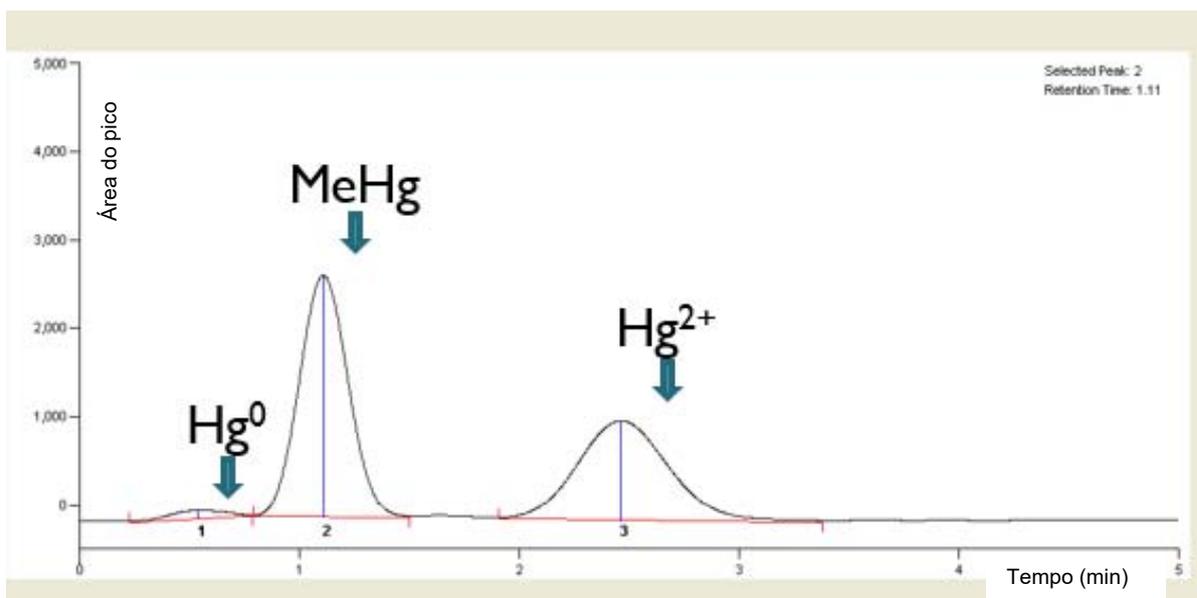


FIGURA 6.10 – Cromatograma com picos das formas orgânicas de mercúrio para quantificação do metilmercúrio.

## 7 - RESULTADOS

Os métodos para quantificação do mercúrio total e do metilmercúrio foram validados seguindo as instruções do documento orientativo do INMETRO - DOQ-CGCRE-008 (2011), utilizado como referência nas auditorias realizadas nos laboratórios de análises químicas.

### 7.1 - MERCÚRIO TOTAL

#### 7.1.1 - CURVA ANALÍTICA

A curva analítica correlaciona matematicamente a concentração de analito encontrada em soluções padrão com sua intensidade de resposta.

A curva analítica foi feita em triplicata, sendo a média utilizada para a construção da curva. Na TABELA 6.1, encontram-se os resultados obtidos:

TABELA 7.1 - Resultados obtidos para a construção da curva analítica – mercúrio total.

Concentração (ng L <sup>-1</sup> )	Área de Pico			Média
	1	2	3	
0,0	104933	110015	98765	104571
2	213817	201946	209898	208554
8	522529	564901	516460	534630
20	1361718	1262285	1406215	1343406
100	5717555	6871008	6022490	6203684
200	14046184	10757670	14563386	13122413
400	24821922	29061060	24415568	26099517

Na FIGURA 6.1, encontra-se a curva analítica obtida pela média das áreas de pico x concentração do padrão.

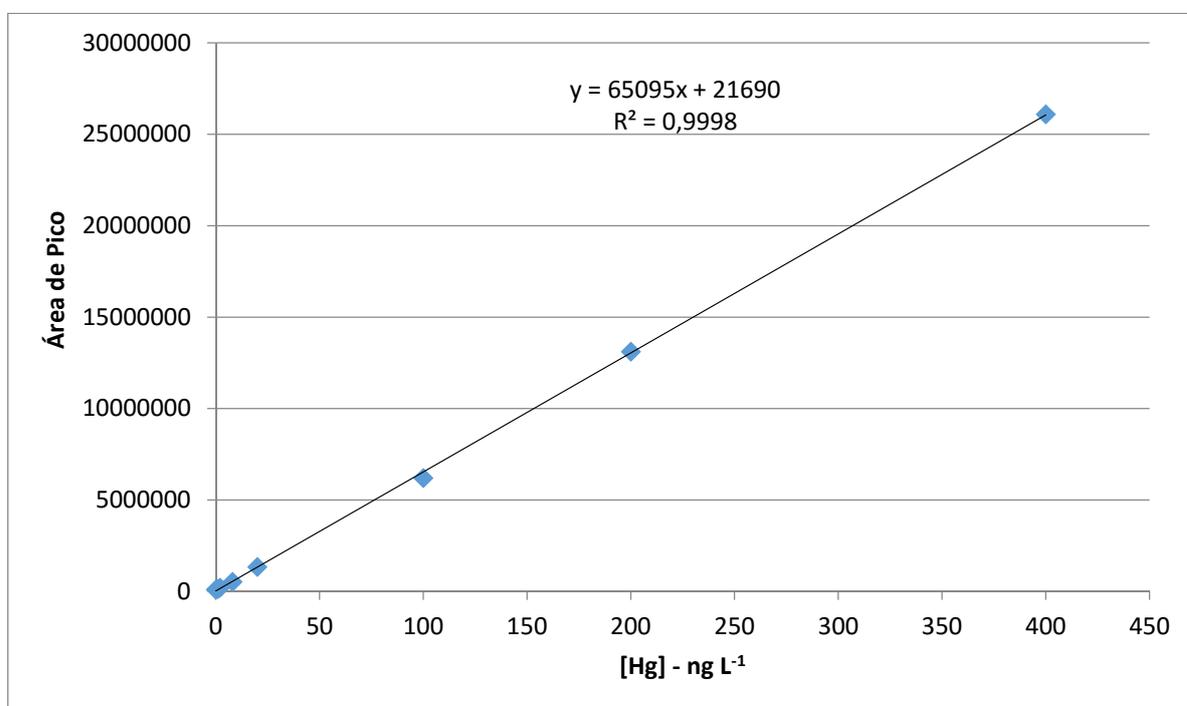


FIGURA 7.1 - Curva de calibração para o mercúrio total.

A curva analítica obtida apresenta boa linearidade na faixa de concentração estudada, onde o valor do coeficiente de correlação linear ( $r^2$ ) alcançado (FIGURA 6.1) - 0,9998 que é satisfatório, uma vez que o laboratório estabelece como aceitáveis coeficientes de correlação linear maiores ou iguais a 0,99.

### 7.1.2 - LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Para a determinação dos limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), foram analisadas sete réplicas de uma amostra fortificada com solução padrão diluída no nível mínimo da curva analítica. A razão da escolha deste nível é devido a ele apresentar, teoricamente, a maior dispersão entre os dados. Os resultados obtidos encontram-se na TABELA 6.2:

TABELA 7.2 - Resultados obtidos para o cálculo do limite de detecção e de quantificação – mercúrio total.

Concentração do analito (ng L <sup>-1</sup> )	Concentração (ng L <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão (S)	L.D. (ng L <sup>-1</sup> )	L.Q. (ng L <sup>-1</sup> )
2,00	2,26	0,19	<b>0,61</b>	<b>1,94</b>
	2,29			
	2,59			
	2,58			
	2,69			
	2,68			
	2,74			

O limite de detecção calculado foi de 0,61 ng L<sup>-1</sup> (L.D. = 3,143 x S) e o limite de quantificação 1,94 ng L<sup>-1</sup> (L.Q. = 10 x S). O valor 3,143 corresponde o *t* unilateral para 99% de confiança para 6 graus de liberdade.

### 7.1.3 - RECUPERAÇÃO E REPETITIVIDADE

A recuperação do método é a relação entre a quantidade do componente de interesse analisado e a quantidade teórica na amostra, expressa em porcentagem. O teste da recuperação consiste na análise da amostra pura e da amostra com adição de um determinado conteúdo do analito, na qual a concentração é determinada. A razão entre o conteúdo determinado do analito e o adicionado fornece o fator de recuperação do método.

A precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou

padrões (materiais de referência), em condições definidas. Neste trabalho, foi expressa pela repetitividade e expressa pelo desvio-padrão.

A recuperação e precisão do método foram determinadas em uma amostra branco e em três diferentes concentrações da faixa de uso do método: baixa, média e alta. As quatro soluções foram injetadas em triplicata

Nas TABELAS 6.3 e 6.4, encontram-se os resultados da recuperação e repetitividade obtidos.

TABELA 7.3 - Resultados obtidos para o cálculo de recuperação e repetitividade do método – mercúrio total.

<b>Branco</b>		
<b>Replicatas</b>		<b>Resultado</b>
1		0,00
2		0,00
3		0,00
		<b>Média: 0,00</b>

<b>Nível Baixo (fortificado)</b>		<b>8,00 ng L<sup>-1</sup></b>
<b>Replicatas</b>		<b>Resultado</b>
1		7,97
2		6,64
3		8,21
		<b>Média: 7,61</b>
		<b>Desv.Padrão 0,85</b>

<b>Nível Médio (fortificado)</b>		<b>100,00 ng L<sup>-1</sup></b>
<b>Replicatas</b>		<b>Resultado</b>
1		88,05
2		109,58
3		90,66
		<b>Média: 96,10</b>
		<b>Desv.Padrão 11,75</b>

<b>Nível Alto (fortificado)</b>		<b>400,00 ng L<sup>-1</sup></b>
<b>Nº Replicatas</b>		<b>Resultado</b>
1		452,36
2		361,17
3		456,69
		<b>Média: 423,41</b>
		<b>Desv.Padrão 53,94</b>

TABELA 7.4 - Resultados da recuperação e repetitividade.

<b>Concentração Adicionada (ng L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Concentração Encontrada (ng L<sup>-1</sup>)</b>	<b>% de Recuperação</b>	<b>Repetitividade (% RSD)</b>
8,00	7,61	95,1	11,1
100,00	96,10	96,1	12,2
400,00	423,41	105,9	12,7

O laboratório define como aceitável a faixa de recuperação de 80 a 120% e o desvio padrão relativo como sendo menor do que 15%. Portanto, observando as recuperações obtidas (95,1 a 105,9%) e o desvio padrão relativo (11,1 a 12,7%), pode-se dizer que os resultados encontrados são satisfatórios.

#### **7.1.4 - INCERTEZA DO MÉTODO**

O guia da EURACHEM/CITAC (2012) define a incerteza como “um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão de valores que poderiam ser razoavelmente atribuídas ao mensurando”.

A metodologia utilizada para a estimativa de incerteza seguiu como referência o guia da EURACHEM/CITAC (2012) e o POP-Q 006 Rev.01 (procedimento interno do laboratório), e pode ser resumida em 3 etapas:

##### **ETAPA 01: Identificação das fontes de incerteza**

Nessa etapa, foi realizado um levantamento de todas as fontes de incerteza relevantes para o método analítico, ilustrado pelo diagrama de “causa e efeito” (FIGURA 6.2).

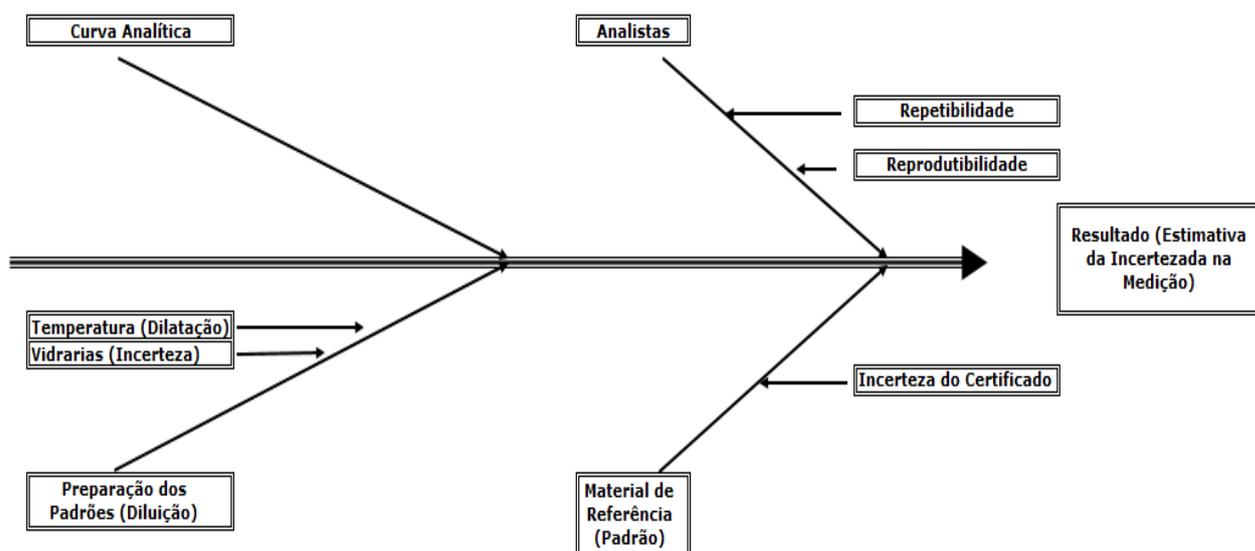


FIGURA 7.2 - Diagrama de causa e efeito - fontes de incerteza para quantificação do mercúrio total.

## ETAPA 02: Quantificação dos componentes de incerteza

Nessa etapa, foram quantificadas as fontes de incerteza relevantes levantadas na etapa anterior:

- a) Incerteza da amostragem ( $u_{\text{Amostragem}}$ );
- b) Incerteza da curva de calibração ( $u_{\text{Ca}}$ );
- c) Incerteza da Recuperação – Reprodutibilidade ( $u_{\text{reprô}}$ );
- d) Incerteza da Repetitividade ( $u_{\text{A-Repê}}$ );
- e) Incerteza da Diluição ( $u_{\text{Diluição}}$ )
- f) Incerteza dos Padrões ( $u_{\text{MRC}}$ )

A contribuição (em porcentagem) dos tipos de incerteza para quantificação do mercúrio total são demonstradas na FIGURA 6.3:

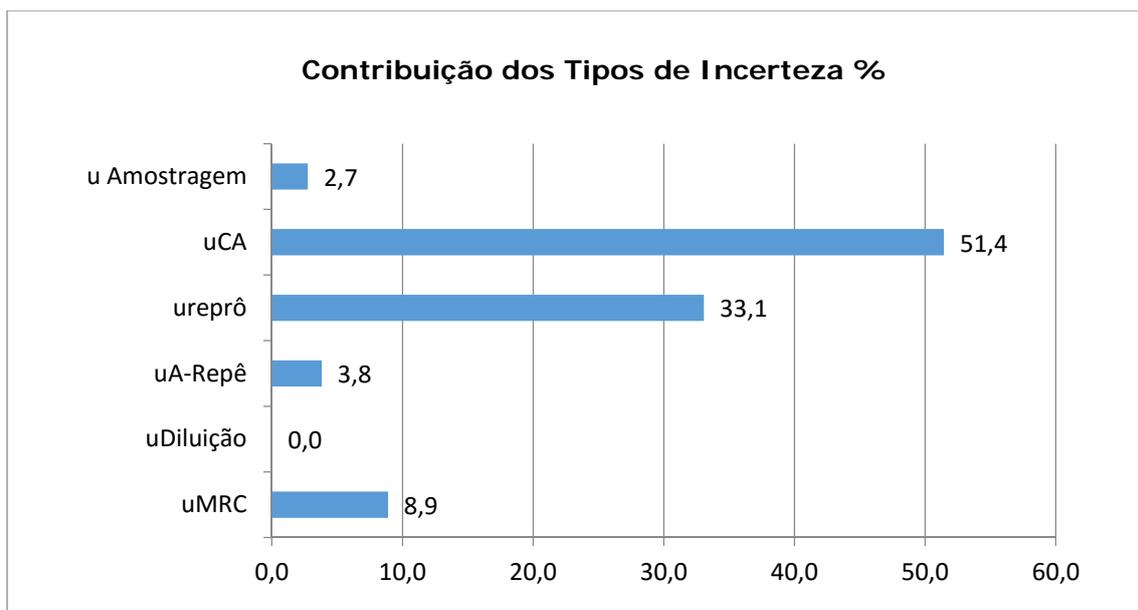


FIGURA 7.3 - Contribuição dos tipos de incerteza - mercúrio total.

Observando a FIGURA 6.3, conclui-se que a curva analítica e a reprodutibilidade são os fatores de maior contribuição para o aumento da incerteza.

### ETAPA 03: Cálculo da incerteza expandida

Nessa etapa, a incerteza expandida foi obtida a partir da multiplicação da incerteza padrão por uma constante  $k$ , denominada de fator de abrangência. Tal incerteza está relacionada com 95,45% de resultado mais provável para  $K$  igual a 2. Para o mercúrio total, foi determinada uma incerteza expandida de 17,61%.

### 7.1.5 - CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos apresentados e levando-se em consideração os valores de referência para validação de métodos analíticos do laboratório, a metodologia para quantificação de mercúrio total está apta para uso nos laboratórios da Venturo Análises Ambientais.

A FIGURA 6.5 apresenta um resumo dos resultados obtidos na validação para o mercúrio total.

TABELA 7.5 - Resumo dos resultados obtidos na validação para mercúrio total.

Parâmetro	Valor aceito pelo laboratório	Resultado
Coeficiente de correlação linear - $r^2$	$\geq 0,99$	0,99
Limite de Detecção	--	0,61 ng L <sup>-1</sup>
Limite de Quantificação	--	1,94 ng L <sup>-1</sup>
Recuperação – Nível baixo (8 ng L <sup>-1</sup> )	80 – 120%	95,1%
Recuperação – Nível médio (100 ng L <sup>-1</sup> )	80 – 120%	96,1%
Recuperação – Nível alto (400 ng L <sup>-1</sup> )	80 – 120%	105,9%
Repetitividade – Nível baixo (8 ng L <sup>-1</sup> )	$\leq 15$ % RSD	11,1% RSD
Repetitividade – Nível médio (100 ng L <sup>-1</sup> )	$\leq 15$ % RSD	12,2% RDD
Repetitividade – Nível alto (400 ng L <sup>-1</sup> )	$\leq 15$ % RSD	12,7% RSD
Incerteza expandida total	--	17,61%

## 7.2 - METILMERCÚRIO

### 7.2.1 - CURVA ANALÍTICA

A curva analítica correlaciona matematicamente a concentração de analito encontrada em soluções padrão com sua intensidade de resposta.

A curva analítica foi feita em triplicata, sendo a média utilizada para a construção da curva. Na TABELA 6.6, encontram-se os resultados obtidos:

TABELA 7.6 - Resultados obtidos para a construção da curva analítica – metilmercúrio.

Concentração (ng L <sup>-1</sup> )	Altura do Pico			Média
	1	2	3	
0,0	111	98	100	103
0,25	1220	1098	1117	1145
1,25	3840	3698	3750	3763
2,50	8240	8405	8339	8328
6,25	24999	24635	24717	24784
12,50	47950	47773	47899	47874
25,00	97888	99124	98731	98581

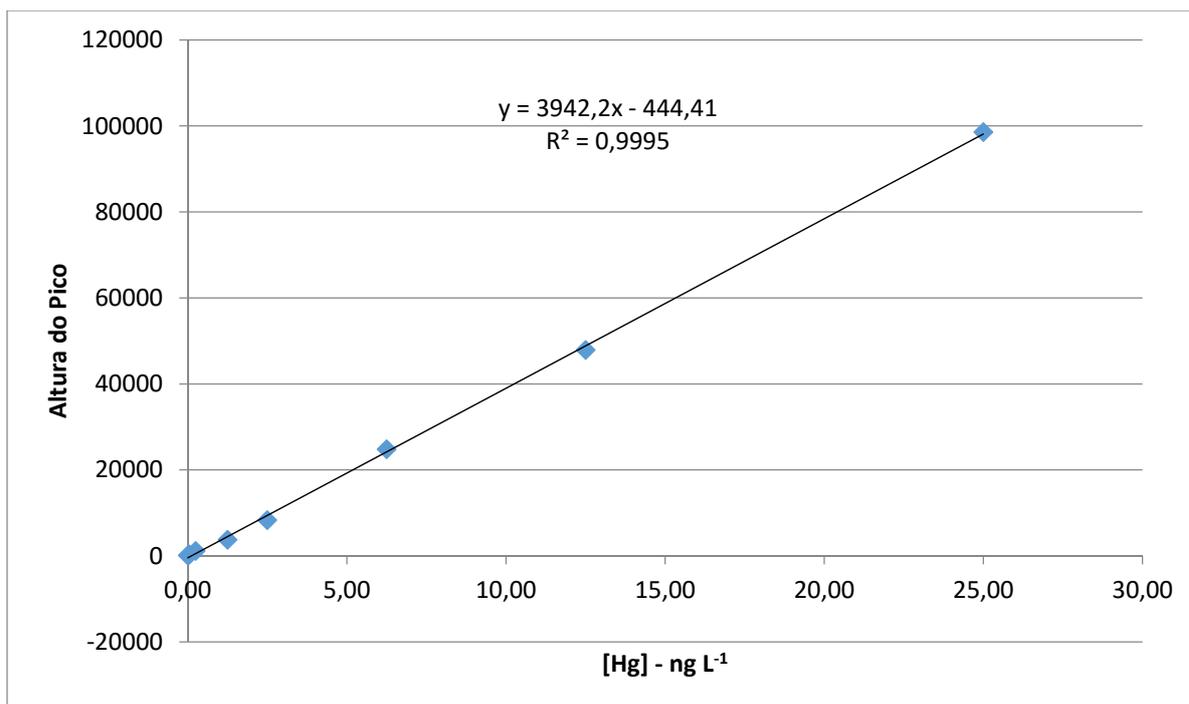


FIGURA 7.4 - Curva de calibração para o metilmercúrio.

A curva analítica obtida apresenta boa linearidade na faixa de concentração estudada, onde o valor do coeficiente de correlação linear ( $r^2$ ) alcançado (FIGURA 6.4) - 0,9995 é satisfatório, uma vez que o laboratório estabelece como aceitáveis coeficientes de correlação linear maiores ou iguais a 0,99.

### 7.2.2 - LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

O limite de detecção é a concentração mínima de um determinado analito que pode ser considerado como detectável com determinado nível de confiança (geralmente 95-99%). É a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada com significância estatística.

O limite de quantificação, é a concentração mínima de um determinado analito que pode ser quantificada com determinado nível de confiança (geralmente 95%-99%). Este nível de determinação é a menor quantidade do analito determinada com significância estatística (geralmente 95-99%).

Para a determinação dos limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), foram analisadas sete réplicas de uma amostra fortificada com

solução padrão diluída no nível mínimo da curva analítica. A razão da escolha deste nível é devido a ele apresentar, teoricamente, a maior dispersão entre os dados. Os resultados obtidos encontram-se na TABELA 6.7.

TABELA 7.7 - Resultados obtidos para o cálculo do limite de detecção e de quantificação – metilmercúrio.

Concentração do analito (ng L <sup>-1</sup> )	Concentração (ng L <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão (S)	L.D. (ng L <sup>-1</sup> )	L.Q. (ng L <sup>-1</sup> )
0,25	0,21	0,02	<b>0,08</b>	<b>0,24</b>
	0,21			
	0,22			
	0,27			
	0,26			
	0,22			
	0,24			

O limite de detecção calculado foi de 0,08 ng L<sup>-1</sup> (L.D. = 3,143 x S) e o limite de quantificação 0,24 ng L<sup>-1</sup> (L.Q. = 10 x S). O valor 3,143 corresponde o *t* unilateral para 99% de confiança para 6 graus de liberdade.

### 7.2.3 - RECUPERAÇÃO E PRECISÃO

A recuperação do método é a relação entre a quantidade do componente de interesse analisado e a quantidade teórica na amostra, expressa em porcentagem. O teste da recuperação consiste na análise da amostra pura e da amostra com adição de um determinado conteúdo do analito, na qual a concentração é determinada. A razão entre o conteúdo determinado do analito e o adicionado fornece o fator de recuperação do método.

A precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões (materiais de referência), em condições definidas. Neste trabalho, foi expressa pela repetitividade e expressa pelo desvio-padrão.

A recuperação e precisão do método foram determinadas em uma amostra branco e em três diferentes concentrações da faixa de uso do método: baixa, média e alta. As quatro soluções foram injetadas em triplicata

Nas TABELAS 6.8 e 6.9, encontram-se os resultados da recuperação e repetitividade obtidos.

TABELA 7.8 - Resultados obtidos para o cálculo de recuperação e repetitividade do método – metilmercúrio.

<b>Branco</b>		
<b>Replicatas</b>		<b>Resultado</b>
1		0,00
2		0,00
3		0,00
	<b>Média:</b>	<b>0,00</b>

<b>Nível Baixo (fortificado)</b>	<b>2,50 ng L<sup>-1</sup></b>	
<b>Replicatas</b>		<b>Resultado</b>
1		2,03
2		2,30
3		2,12
	<b>Média:</b>	<b>2,15</b>
	<b>Desv.Padrão</b>	<b>0,14</b>

<b>Nível Médio (fortificado)</b>	<b>12,50 ng L<sup>-1</sup></b>	
<b>Replicatas</b>		<b>Resultado</b>
1		11,98
2		13,04
3		14,05
	<b>Média:</b>	<b>13,02</b>
	<b>Desv.Padrão</b>	<b>1,04</b>

<b>Nível Alto (fortificado)</b>	<b>25,00 ng L<sup>-1</sup></b>	
<b>Nº Replicatas</b>		<b>Resultado</b>
1		25,98
2		26,62
3		24,81
	<b>Média:</b>	<b>25,80</b>
	<b>Desv.Padrão</b>	<b>0,92</b>

TABELA 7.9 - Resultados da recuperação e repetitividade.

Concentração Adicionada (ng L <sup>-1</sup> )	Concentração Encontrada (ng L <sup>-1</sup> )	% de Recuperação	Repetitividade (% RSD)
2,50	2,15	86,0	6,4
12,50	13,02	104,2	7,9
25,00	25,80	103,2	3,6

O laboratório define como aceitável a faixa de recuperação de 80 a 120% e o desvio padrão relativo como sendo menor do que 15%. Portanto, observando as recuperações obtidas (86,0 a 104,2%) e o desvio padrão relativo (3,6 a 7,9%), pode-se dizer que os resultados encontrados são satisfatórios.

#### 7.2.4 - INCERTEZA DO MÉTODO

A metodologia utilizada para a estimativa de incerteza seguiu como referência o guia EURACHEM/CITAC (2012) e o POP-Q 006 Rev.01 (procedimento interno do laboratório), e pode ser resumida em 3 etapas:

##### ETAPA 01: Identificação das fontes de incerteza

Nessa etapa, foi realizado um levantamento de todas as fontes de incerteza relevantes para o método analítico, ilustrado pelo diagrama de “causa e efeito” da FIGURA 6.5:

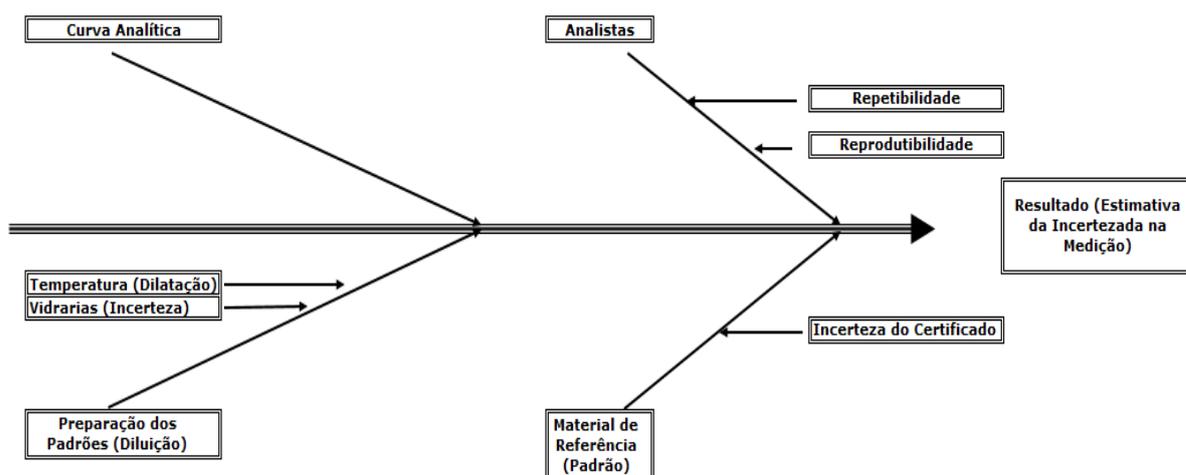


FIGURA 7.5 - Diagrama de causa e efeito - fontes de incerteza para quantificação do metilmercúrio.

## ETAPA 02: Quantificação dos componentes de incerteza

Nessa etapa, foram quantificadas as fontes de incerteza relevantes levantadas na etapa anterior:

- a) Incerteza da amostragem ( $u_{\text{Amostragem}}$ );
- b) Incerteza da curva de calibração ( $u_{\text{Ca}}$ );
- c) Incerteza da Recuperação – Reprodutibilidade ( $u_{\text{reprô}}$ );
- d) Incerteza da Repetitividade ( $u_{\text{A-Repê}}$ );
- e) Incerteza da Diluição ( $u_{\text{Diluição}}$ );
- f) Incerteza dos Padrões ( $u_{\text{MRC}}$ )

A contribuição (em porcentagem) dos tipos de incerteza para quantificação do metilmercúrio são demonstradas na FIGURA 6.3:

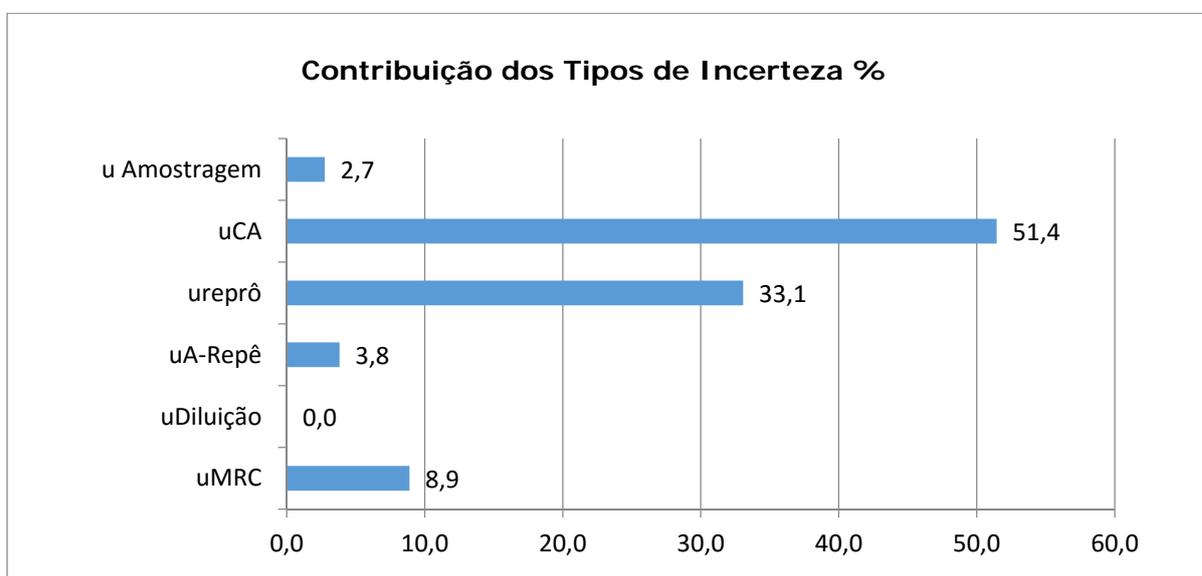


FIGURA 7.6 - Contribuição dos tipos de incerteza – metilmercúrio.

Observando a FIGURA 6.3, conclui-se que a curva analítica e a reprodutibilidade são os fatores de maior contribuição para o aumento da incerteza.

## ETAPA 03: Cálculo da incerteza expandida

Nessa etapa, a incerteza expandida foi obtida a partir da multiplicação da incerteza padrão por uma constante  $k$ , denominada de fator de abrangência. Tal incerteza está relacionada com 95,45% de resultado mais provável para  $K$  igual a 2. Para o metilmercúrio, foi determinada uma incerteza expandida de 11,96%.

### 7.2.5 - CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos e levando-se em consideração os valores de referência para validação de métodos analíticos do laboratório, a metodologia para quantificação de metilmercúrio está apta para uso no laboratório Venturo.

A FIGURA 6.10 apresenta um resumo dos resultados obtidos na validação para o metilmercúrio.

TABELA 7.10 - Resumo dos resultados obtidos na validação para metilmercúrio.

Parâmetro	Valor aceito pelo laboratório	Resultado
Coeficiente de correlação linear - $r^2$	$\geq 0,99$	0,99
Limite de Detecção	--	0,08 ng L <sup>-1</sup>
Limite de Quantificação	--	0,24 ng L <sup>-1</sup>
Recuperação – Nível baixo (8 ng L <sup>-1</sup> )	80 – 120%	86,0%
Recuperação – Nível médio (100 ng L <sup>-1</sup> )	80 – 120%	104,2%
Recuperação – Nível alto (400 ng L <sup>-1</sup> )	80 – 120%	103,2%
Repetitividade – Nível baixo (8 ng L <sup>-1</sup> )	$\leq 15$ % RSD	6,4% RSD
Repetitividade – Nível médio (100 ng L <sup>-1</sup> )	$\leq 15$ % RSD	7,9% RDD
Repetitividade – Nível alto (400 ng L <sup>-1</sup> )	$\leq 15$ % RSD	3,6% RSD
Incerteza expandida total	--	11,96%

### 7.3 - ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA MERCÚRIO TOTAL

A metodologia validada para quantificação do mercúrio total foi testada através de um ensaio de proficiência promovido pelo instituto canadense CALA (*Canadian Association for Laboratory Accreditation Inc.*). Os resultados obtidos confirmaram a eficiência da metodologia (FIGURA 6.7).



**Proficiency Testing Program  
March 2014 Study**

May 3, 2014

**MEMBERSHIP NO.:** 3950  
**LABORATORY:** Venturo Analises Ambientais Ltda  
**CONTACT:** Mr. Rafael Rodrigo Piva Vasconcelos  
**PHONE:** 16-3397-5827  
**EMAIL:** qualidade@venturoanalises.com.br; marc.

DATE: May 3, 2014

CALA PROFICIENCY TESTING REPORT

PAGE: 3

**LABORATORY NAME:** Venturo Analises Ambientais Ltda  
**STUDY DATE:** March 2014 Study  
**MATRIX:** Water (inorganic)

**PARTICIPANT NO.:** 3950

<u>SAMPLE</u>	<u>CODE</u>	<u>APP</u>	<u>ANALYTE</u>	<u>METHOD</u>	<u>N</u>	<u>UNITS</u>	<u>ASSIGNED</u>	<u>±U</u>	<u>REPORTED</u>	<u>S</u>	<u>Z SCORE</u>	<u>SCORE</u>	<u>BIAS</u>	<u>SUMMARY</u>
<b>TEST GROUP:</b> Mercury in Water														
C19-1	041235		Mercury	COLD VAPOUR ATOMIC	78	µg/L	.67	.01	0.65	.11	-1.82			
C19-2	041235		Mercury	COLD VAPOUR ATOMIC	85	µg/L	1.73	.03	1.78	.2	.25			
C19-3	041235		Mercury	COLD VAPOUR ATOMIC	85	µg/L	2.48	.04	2.63	.27	.556			
C19-4	041235		Mercury	COLD VAPOUR ATOMIC	85	µg/L	4.44	.06	4.71	.45	.6	94		Acceptable

Based on the results provided to CALA for the above study, proficiency status has changed for the following proficiency testing parameters registered for your laboratory:

<u>Reg. Code</u>	<u>Group/Parameter</u>	<u>Method/Analyst</u>	<u>Appendix (if applicable)</u>	<u>Status</u>	<u>Notes</u>
PT-041235	19 Mercury	COLD VAPOUR ATOMIC		Y	Newly Proficient

**Status Key**  
**Y = Proficient**

FIGURA 7.7 - Resultado obtido no ensaio de proficiência para mercúrio total.

## 7.4 - ACREDITAÇÃO DO LABORATÓRIO PARA QUANTIFICAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL E METILMERCÚRIO

Em novembro de 2014 o laboratório Venturo Análises Ambientais passou por uma auditoria do INMETRO, quando foram auditados os métodos para quantificação de mercúrio total e metilmercúrio. Em abril de 2015 o laboratório foi oficialmente acreditado para esses ensaios. A FIGURA 6.8 apresenta o certificado e símbolo de acreditação emitidos pelo INMETRO para o laboratório.



FIGURA 7.8 - Certificado e símbolo de acreditação do laboratório Venturo Análises Ambientais.

A FIGURA 6.9 apresenta o escopo da acreditação oficial do laboratório para quantificação de mercúrio total e metilmercúrio.

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025 - ENSAIO		
Norma de Origem: NIT-DICLA-016		Folha: 3
ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO	
CRL 0665	INSTALAÇÃO PERMANENTE	
ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E /OU PROCEDIMENTO
<b>MEIO AMBIENTE</b> ÁGUA BRUTA, ÁGUA TRATADA, ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO	<b>ENSAIOS QUÍMICOS</b> Determinação de mercúrio por espectrometria de fluorescência atômica com aprisionamento em coluna de areia de ouro.  Mercúrio total e solúvel LQ: 1,94 ng L <sup>-1</sup>  Metil mercúrio total e solúvel LQ: 0,25 ng L <sup>-1</sup>	USEPA Method 1631 (Revisão E – 08/2002)  USEPA Method 1630 (01/2001)

FIGURA 7.9 - Escopo da acreditação - ABNT NBR ISO/IEC 17025/2005, para mercúrio total e metilmercúrio.

## 8 - CONCLUSÕES FINAIS

O presente trabalho apresentou resultado plenamente satisfatório para o objetivo geral que foi o desenvolvimento e validação de metodologia analítica - nas dependências do laboratório Venturo Análises Ambientais, para quantificação de mercúrio total e metilmercúrio em água utilizando a técnica de fluorescência atômica. Foi elaborado um POP (Procedimento Operacional Padrão) para operação do equipamento – POP-EQ 019 – Revisão 00 - Operação, Controle e Calibração do Espectrômetro de Fluorescência Atômica.

Foi elaborado um POP para quantificação de mercúrio total e metilmercúrio em águas – POP-EFQ 002 – Revisão 01 - Determinação de Mercúrio em Águas por Fluorescência.

O procedimento para quantificação de mercúrio total foi avaliado através da realização de ensaio interlaboratorial, obtendo resultado positivo, que comprova a eficácia da metodologia.

As metodologias foram auditadas pelo INMETRO e inseridas no escopo oficial do laboratório. O limite de quantificação para mercúrio total alcançado é o menor obtido por um laboratório brasileiro acreditado na Norma ABNT ISO/IEC 17025/2005. O laboratório foi o primeiro a ter a metodologia para metilmercúrio acreditada pelo INMETRO.

## 9 - BIBLIOGRAFIA

ABNT, NBR ISO/IEC 17025/2005 - Requisitos Gerais para competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração - Outubro/2005.

BISINOTI, M. C. Biogeoquímica aquática do mercúrio orgânico na bacia do Rio Negro, Amazônia. Campinas, Programa de Pós-Graduação em Química - UNICAMP, 2005. Tese de doutorado, 8 p.

BLOOM, N. S. Determination of Picogram Levels of Methylmercury by Aqueous Phase Ethylation, *Followed by Cryogenic Gas Chromatography with Cold Vapor Atomic Fluorescence Detection*. Canadian J. of Fisheries and Aquatic Science, 46: 1131. 1989.

BRASIL. Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente. 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.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 396 de 3 de abril de 2008 do Conselho Nacional do Meio Ambiente. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 430 de 13 de maio de 2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA.

BROOKS RAND LABS LLC. MERX QC Certificate. Seattle, 2009, 1p.

CAI, Y.; BAYONA, J. M. *Determination of methylmercury in fish and river water sample using in situ sodium tetraethylborate derivatization following by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, n. 696, p. 113- 122, 1995.

CETESB. Decisão de diretoria nº 045/2014/E/C/I de 20 de fevereiro de 2014 da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Dispõe sobre a aprovação dos Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2014, em substituição aos Valores Orientadores de 2005 e dá outras providências.

ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY-EPA (EUA). *Method 1630: Methyl Mercury in Water by Distillation, Aqueous Ethylation, Purge and Trap, and CVAFS*. 2001.

ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY-EPA (EUA). *Method 1631, Revision E: Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry*. 2002.

EURACHEM/CITAC Guide CG 4. *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*. 3 ed., 2012

IBGE. Produto Interno Bruto - Participação das regiões no PIB em 2012. Fonte: IBGE: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/comercioservico/pas/analisePAS99.shtm> – Acesso em 26 de julho de 2015.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (Brasil). Sistema de Consulta aos Escopos de Acreditação dos Laboratórios de Ensaio Acreditados (Rede Brasileira de Laboratórios de Ensaio - RBLE). Fonte: INMETRO: <<http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/rble/>> - Acesso em 27 de março de 2016.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (Brasil). DOQ-CGCRE-008 Rev.04 – Orientação sobre validação de métodos analíticos – Julho/2011.

MACHADO, V. L. Metilmercúrio nas Águas da Bacia do Rio Madeira, na Área de Influência do Reservatório da Usina de Santo Antônio, Amazônia Ocidental.

Rondônia, Programa de Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente – UNIR, 2011. Dissertação de Mestrado, 21 - 23 p.

OLIVARES, I. R. Gestão de Qualidade em Laboratórios. 2 ed., Campinas: Átomo, 2006.

RESOLUÇÃO SMA Nº 36, DE 26 DE MAIO DE 2015: Define a Área Sob Atenção Especial do Estado em Estudo para a Expansão da Conservação da Biodiversidade do Barreiro Rico, e dá outras providências.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. *Fundamentos de química*, 2006.

*USEPA Method 1630: Methyl Mercury in Water by Distillation, Aqueous Ethylation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry*, 1998.

*USEPA Method 1631, Revision E: Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry*, 2002.

VÁSQUES, M. J.; Albuín, M.; Carro, A. M.; Lorenzo, R. A.; Cela, R. Experimental design approach for the extraction of methylmercury from certified reference materials using microwave energy. *Chemosphere* 1999, 39, 1211-1224.