

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Biota

Todas as amostras foram liofilizadas (processo de secagem da amostra baseado no fenômeno da sublimação). Este processo apresenta as vantagens de manter a estrutura do material e remover a umidade em baixas temperaturas.

Após a liofilização as amostras secas foram trituradas e então pesadas em triplicatas numa massa próxima aos 0,05 g cada. Todas as amostras foram feitas como amostras compostas, dado o pequeno tamanho dos indivíduos que conseqüentemente apresentam pouca massa para as análises químicas.

5.1.1 Digestão das amostras

As amostras sofreram processo de digestão ácida (oxidante) a quente em sistema aberto. Este procedimento permite a oxidação de matéria orgânica e a liberação de átomos de Hg para solução (Bastos et al., 1998).

Às amostras secas foram adicionados 3,0 mL da solução ácida sulfo-nítrica (1:1v/v, H₂SO₄ e HNO₃) e 1,0 mL de uma solução concentrada de H₂O₂ em tubos digestores, seguida com banho-maria a 60°C por 45 minutos. As soluções foram resfriadas à temperatura ambiente para o acréscimo de 5,0 mL de KMNO₄ 5% (m/v). A seguir, foram aquecidas novamente a 60°C desta vez por 15 minutos. Em seguida as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente por 12h (overnight). Antes das amostras serem submetidas à análise no espectrômetro, foram adicionadas aproximadamente 10 gotas de cloridrato de hidroxilamina 12% (v/v) até a solução se tornar límpida e incolor.

Na figura 15 está apresentado um esquema da metodologia para a determinação de mercúrio total em tecidos da biota aquática.

Para se verificar a pureza dos reagentes e a existência de qualquer contaminação, dois brancos analíticos (sem a “presença” do analito) foram

preparados a cada batelada e analisados conforme o procedimento descrito por Kehrig et al. (2008). Da mesma forma, foram tratados os materiais de referência certificados (CRM) para a análise de Hg_{Total} do National Research Council – Canadá (DORM-3) que foi utilizado para checar a exatidão do método analítico aplicado. Os resultados foram obtidos a partir das médias de pelo menos duas medidas de cada amostra.

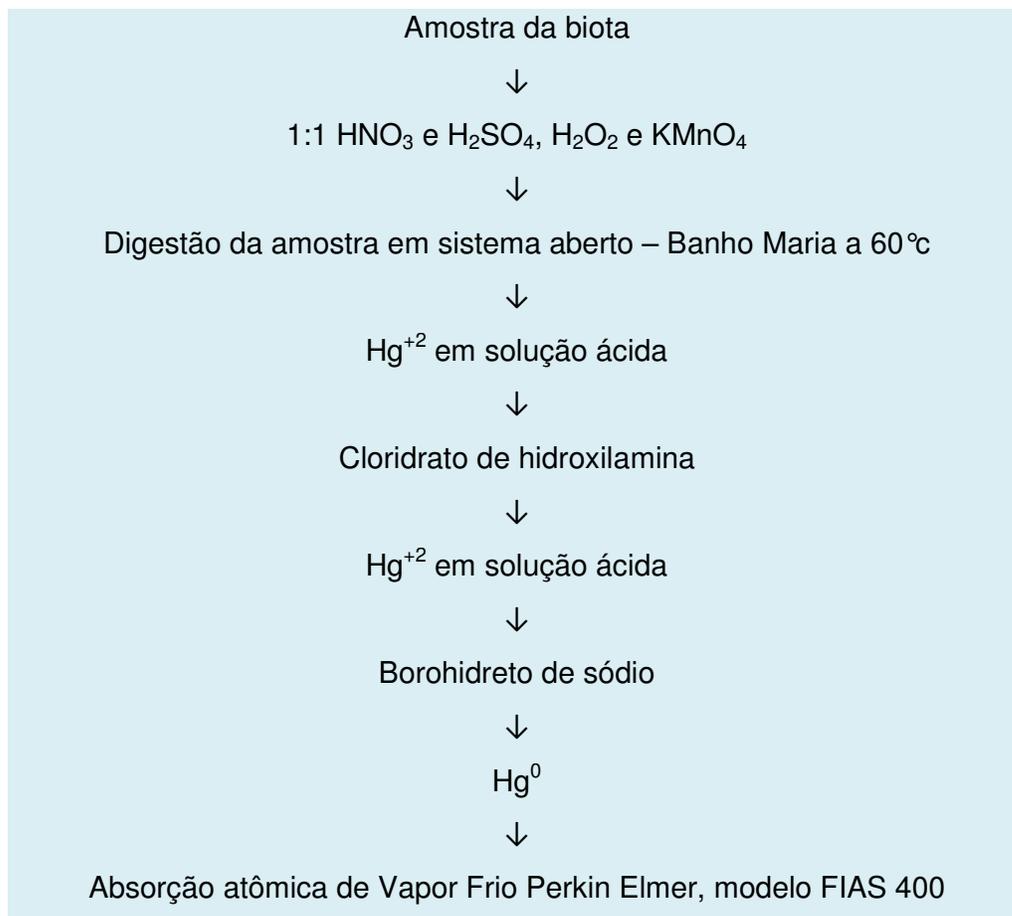


Figura15. Esquema da abertura de amostras da biota para determinação das concentrações de mercúrio total em Sistema de Injeção em Fluxo (Adaptado de Palermo, 2002).

5.2 Recife arenoso de poliquetas

Como nas amostras da biota, as amostras do recife de poliquetas também foram liofilizadas e sofreram uma digestão ácida (oxidante) a quente em sistema aberto. Entretanto antes da digestão e após o processo de liofilização, as amostras foram peneiradas em malhas de 1000 μm , 220 μm e 63 μm , e a seguir foram trituradas e homogêneas. Essas amostras foram agrupadas em quatro classes de tamanho para facilitar a análise comparativa sendo elas: recife grosso ($> 1000 \mu\text{m}$), recife fino (1000 – 220 μm), recife muito fino (220 – 63 μm) e recife de silte e argila ($< 63 \mu\text{m}$).

5.2.1 Digestão das amostras

Cada fração de recife foi pesada, em triplicata, com aproximadamente 1,0 g cada. A seguir foram adicionados a essas massas 2 mL de água destilada MilliQ e 5 mL de água-régia (3:1 - HCl, HNO₃). Por cerca de 5 minutos foi realizada a digestão das amostras em sistema aberto em um banho-maria a 60°C. Após o resfriamento a temperatura ambiente foram adicionados mais 5 mL de água MilliQ.

Neste momento as amostras que apresentavam maior granulação (recife grosso $> 1000 \mu\text{m}$ e recife fino 1000 – 220 μm) receberam um tratamento diferenciado das frações de recife muito fino (220 – 63 μm) e recife de silte e argila ($< 63 \mu\text{m}$). Nas amostras de maior granulação havia a possibilidade da presença de matéria orgânica, i.e. de presença de poliquetas.

Assim sendo, o processo de digestão das amostras, com maior granulação, foi feito a partir daqui, como o procedimento realizado na biota, i.e., onde foram adicionados 3 mL de solução sulfonídrica (1:1 de H₂SO₄ e HNO₃) e 1 mL H₂O₂. A digestão seguiu com banho-maria a 60°C por 40 minutos.

Após o resfriamento à temperatura ambiente das soluções digeridas, de todas as frações de amostra de recife, i.e., todas as granulações, foram adicionados

as mesmas 5 mL de uma solução de KMnO_4 5% (v/v). Estas soluções foram aquecidas novamente em banho-maria a 60°C por 15 minutos. Após este tempo as soluções permaneceram em repouso, a temperatura ambiente por uma noite.

Após este tempo, todas as amostras sofreram acréscimo de 1 mL de cloridrato de hidroxilamina até a solução ficar límpida e transparente. Antes da determinação do mercúrio total no CV-AAS, todas as amostras foram filtradas com papel de filtro de vibra de vidro Schleicher e Schuell - $\varnothing 90,0 \pm 1,0$ mm, com aferição de volume em 25 mL.

Na Figura 16 é mostrado o fluxograma da digestão da amostra do recife de poliquetas.

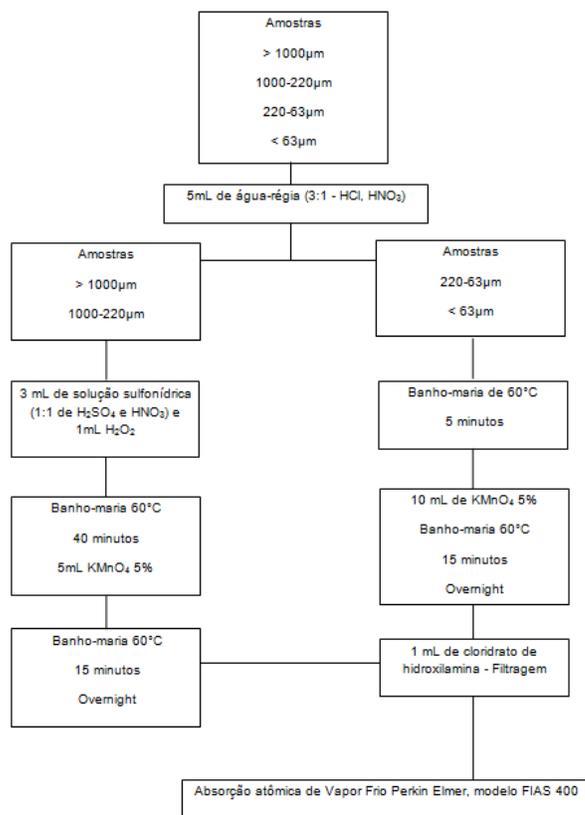


Figura 16. Fluxograma da digestão da amostra do recife de poliquetas (fonte: autor).

5.3 Material de referência e limite de detecção (L.D.)

O limite de detecção (L.D.) é definido como a menor massa ou concentração de mercúrio, que pode ser detectada com 95% de certeza estatística. É determinado pela razão entre duas vezes o desvio-padrão calculado, com base em uma série de leitura de uma solução de branco.

Os limites de detecção encontrados para mercúrio total obtidos através de uma série de leituras (N=10) de uma solução de branco foram 0,012 ng ml⁻¹ para o compartimento biótico e 0,07 ng ml⁻¹ para o compartimento abiótico. Com base nos resultados obtidos para L.D., calculou-se a quantidade mínima de Hg possível de ser determinada para amostras bióticas e abióticas pelo método em questão; obtendo-se os valores de 2,9 µg kg⁻¹ e 1,75 µg kg⁻¹, respectivamente.

A exatidão dos métodos analíticos foi determinada utilizando materiais de referência certificado (CRM) do National Research Council – Canadá (DORM-3, Material de Referência Certificado de Proteína de Peixe para Metais Traço) (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados para a análise dos materiais de referência certificados.

Mercúrio Total	N	Valor certificado (mg Kg ⁻¹ p.s.)	Valor Encontrado* (mg Kg ⁻¹ p.s.)
Biota	4	0,382 ± 0.060	0,322 ± 0,006
Sedimento	6	7,620 ± 0,300	7,130 ± 0,220

* Reportados como média das determinações do elemento com um intervalo de confiança de 95%.

Para a determinação do Hg_{Total} utilizando o método FI-CV-AAS, os resultados obtidos demonstraram, uma boa exatidão do método analítico empregado.