

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

**DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL E ORGÂNICO E AVALIAÇÃO DOS
PROCESSOS DE METILAÇÃO E DESMETILAÇÃO EM SEDIMENTOS DO
RESERVATÓRIO RIO GRANDE, ESTADO DE SÃO PAULO**

Robson Leocádio Franklin

São Paulo
Julho 2010

Às mulheres de vida, Gabriela e Josiane, e aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir que eu tenha chegado até aqui.

A Déborah Inês Teixeira Fávaro, pela orientação segura, pelo companheirismo, dicas, paciência, colaboração, comprometimento, por ter aceitado e ajudado muito neste desafio.

Ao Dr. José Eduardo Bevilacqua, pela co-orientação, por ter apoiado a idéia, incentivado, pelas enormes dúvidas sanadas, ajudas diversas, disponibilidade e sugestões.

Ao Msc Francisco Jorge Ferreira por idealizar e incentivar este trabalho.

Ao Dr. Gilson Alves Quinágua, por também incentivar e pelas sugestões e dúvidas sanadas.

As Dras. Maria Inês Zanolli Sato e Maria Yumiko Tominaga, por incentivarem e acreditarem neste estudo.

Aos colegas do laboratório de química inorgânica da CETESB, em especial para Adalberto Aparecido Diniz, Roberto Lirancos, Tibério Cezar Oliveira Brandi, Valter Roberto Diniz e aos demais colegas pela ampla ajuda dada; Claudia Lúcia Aguiar Araújo, Concettina Lanza, Darcísio Souza Oliveira, Dircilei de Fátima Maciel, Eliana Maria de Cerveira, Eleine Bostelmann, Leonina Machado de Sant'ana, Lisindo Roberto Coppoli, Osmar Dias de Moura, Patrícia Akemi Koga, Paula Ludmilla Marche, Sharlley Alves Silva, Sérgio Rodrigues Mendes, Silvana Marques Fernandes, Veralice Coti Xavier e Viviane da Costa Sant'anna.

A todos os funcionários do setor de Química Orgânica e do setor de Microbiologia e Parasitologia da CETESB pelas análises executadas, especialmente para Carlos Alberto Marques de Souza, Carlos Barbosa Pinto, José Américo Bombonate, José Reinaldo Leite Barros, Neusa Akemi Nema, Ana Tereza Galvani, Elyse Maria Hachich, José Antônio Padula e Nancy de Castro Stoppe.

Aos funcionários do setor de Amostragem de águas e ensaios granulométricos da CETESB, pelas coletas e determinações de campo e análise granulométrica, especialmente para Gasparino Gomes da Silva, Carlos Jesus Brandão, Débora Prata, José Aparecido Alves da Silva, Osvaldo Atanagildo da Silva, o grande “Gordela”, Paulo Sérgio Gonçalves da Rocha, Sebastião Israel Pereira de Rezende, Venício Pedro Ribeiro e Vivian Baltazar.

A Willy Vukan pela imprescindível ajuda nos cálculos de NAA.

À Dra. Marina Beatriz Agostini Vasconcellos – chefe do laboratório de Análise por Ativação com Neutrôns (LAN/CRPq), por apoiar o projeto

Às Dras. Mitiko Saiki e Maria José Aguirre Armelin pela ajuda nas análises por ativação com nêutrons e demais contribuições para a realização deste trabalho, principalmente no desenvolvimento de NAA.

A Gabriela, Josiane, Rafael Leocádio Franklin e meus pais, Geraldo e Maria, por sempre terem incentivado, ficarem juntos e apoiado nos momentos difíceis, além de terem muita paciência.

A todas as demais pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a execução deste trabalho.

Nos Bailes da Vida
Milton Nascimento/Fernando Brant

Foi nos bailes da vida ou num bar
Em troca de pão
Que muita gente boa pôs o pé na profissão
De tocar um instrumento e de cantar
Não importando se quem pagou quis ouvir
Foi assim

Cantar era buscar o caminho
Que vai dar no sol
Tenho comigo as lembranças do que eu era
Para cantar nada era longe tudo tão bom
Até a estrada de terra na boléia de caminhão
Era assim

Com a roupa encharcada e a alma
Repleta de chão
Todo artista tem de ir aonde o povo está
Se for assim, assim será
Cantando me disfarço e não me canso
de viver nem de cantar

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 - Bacia Hidrográfica do Alto Tietê.....	Pág. 03
FIGURA 1.2 – Pontos de monitoramento de água e sedimento no Res. Billings e res. Rio Grande.....	Pág. 08
FIGURA 2.1 – Ciclo do Hg em ambientes naturais.....	Pág. 32
FIGURA 2.2 Representação esquemática da interação do nêutron com um núcleo alvo	Pág. 41
FIGURA 3.1 – Pontos de amostragem no reservatório Rio Grande (1, 2, 3 e 4).....	Pág. 44
FIGURA 3.2 – Localização do Ponto 1 – Ao fundo o município de Rio Grande da Serra	Pág. 45
FIGURA 3.3 – Imediações do ponto 1 de amostragem.....	Pág. 45
FIGURA 3.4 – Imediações do ponto 2 de amostragem.....	Pág. 46
FIGURA 3.5 – Imediações do Ponto 2 de amostragem.....	Pág. 46
FIGURA 3.6 – Localização do ponto 3, em baixo da linha de transmissão.....	Pág. 47
FIGURA 3.7 – Imediações do ponto 3 de amostragem.....	Pág. 47
FIGURA 3.8 – Localização do Ponto 4, perto da captação de água da SABESP.....	Pág. 48
FIGURA 3.9 – Imediações do Ponto 4 – Lado direito da captação da SABESP.....	Pág. 48
FIGURA 3.10 - Garrafa montada pronta para o lançamento em água.....	Pág. 50
FIGURA 3.11 – Garrafa fechada, pronta para ser puxada para a superfície.....	Pág. 50
FIGURA 3.12 – Pegador Van Veen com seu sistema destravado.....	Pág. 51
FIGURA 3.13 – Pegador van Veen montado para coleta de sedimento.....	Pág. 52
FIGURA 3.14 – Pegador fechado ao puxar a corda, simulando sua coleta no sedimento.....	Pág. 52
FIGURA 3.15 – Oxímetro com sonda de OD.....	Pág. 54
FIGURA 3.16 – Disco de Secchi.....	Pág. 55
FIGURA 3.17 – Determinação de transparência.....	Pág. 55
FIGURA 3.18 – Equações para cálculo do teste de Dixon em função de “n”.....	Pág. 74
FIGURA 4.1 – Box plot da variação de concentração de Hg total em sedimentos, nos pontos de coleta.....	Pág. 85

FIGURA 4.2 – Box plot da variação de concentração de Hg orgânico em sedimentos, nos pontos de coleta.....	Pág. 85
FIGURA 4.3 – Box plot da variação de concentração de Hg total em águas de fundo, nos pontos de coleta.....	Pág. 86
FIGURA 4.4 – Percentuais de metilação, nos 4 pontos de amostragem, nas 4 campanhas.....	Pág. 89
FIGURA 4.5 - Variação temporal de Hg total e orgânico nos pontos de amostragem....	Pág. 90
FIGURA 4.6 – Profundidade dos pontos coletados e zona eufótica calculada.....	Pág. 94
FIGURA 4.7 – Carbono Orgânico Dissolvido (COD) nos pontos coletados ao longo das campanhas.....	Pág. 97
FIGURA 4.8 – Valores de BRS em função de valores de OD e de concentração de Cu, nos sedimentos.....	Pág. 102
FIGURA 4.9 – Valores de Z-score obtidos na análise dos materiais de referencia por NAA.....	Pág. 104
FIGURA 4.10 – Comparação dos resultados das técnicas analíticas para quantificação de Hg.....	Pág. 106
FIGURA 4.11 – Variação de concentração de Ce e Cr ao longo do tempo e do reservatório.....	Pág. 109
FIGURA 4.12 – Variação de concentração de Ba e Na ao longo do tempo e do reservatório.....	Pág. 109
FIGURA 4.13 – Variação de concentração de Ta, Sb e Lu ao longo do tempo e do reservatório.....	Pág. 110
FIGURA 4.14 – Variação de concentração de Cs e U ao longo do tempo e do reservatório.....	Pág. 111
FIGURA 4.15 - Concentrações de Sc e Rb ao longo do tempo e do reservatório.....	Pág. 111
FIGURA 4.16 - Concentrações de As, Th e Br ao longo do tempo e do reservatório...	Pág. 112
FIGURA 4.17– Variação de concentração de Eu, Sm e Yb ao longo do tempo e do reservatório.....	Pág.113

FIGURA 4.18 - Variação de concentração de Nd e La ao longo do tempo e do reservatório.....	Pág. 113
FIGURA 4.19 - Variação de concentração de Hf e Co ao longo do tempo e do reservatório.....	Pág. 114
FIGURA 4.20 - Variação de concentração de Zn e Fe ao longo do tempo e do reservatório.....	Pág. 115
FIGURA 4.21 – Box plot da variação de concentração de As.....	Pág. 116
FIGURA 4.22 – Box plot da variação de concentração de Ba.....	Pág. 116
FIGURA 4.23 – Box plot da variação de concentração de Br.....	Pág. 117
FIGURA 4.24 – Box plot da variação de concentração de Co.....	Pág. 117
FIGURA 4.25 – Box plot da variação de concentração de Cr.....	Pág. 118
FIGURA 4.26– Box plot da variação de concentração de Cs.....	Pág. 118
FIGURA 4.27 – Box plot da variação de concentração de Fe.....	Pág. 119
FIGURA 4.28 – Box plot da variação de concentração de Hf.....	Pág. 119
FIGURA 4.29 – Box plot da variação de concentração de Na.....	Pág. 120
FIGURA 4.30 – Box plot da variação de concentração de Rb.....	Pág. 120
FIGURA 4.31 – Box plot da variação de concentração de Sb.....	Pág. 121
FIGURA 4.32 – Box plot da variação de concentração de Sc.....	Pág. 121
FIGURA 4.33 – Box plot da variação de concentração de Ta.....	Pág. 122
FIGURA 4.34 – Box plot da variação de concentração de Th	Pág. 122
FIGURA 4.35 – Box plot da variação de concentração de U.....	Pág. 123
FIGURA 4.36 – Box plot da variação de concentração de Zn.....	Pág. 123
FIGURA 4.37 – Análise de agrupamento para todas as amostras e todos os elementos analisados: a) elementos e b) campanhas de amostragem.....	Pág. 129
FIGURA 4.38 – Análise de agrupamento para todas as amostras e todos os elementos analisados (exceto os ETR): a) elementos e b) campanhas de amostragem.....	Pág. 130

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 – Valores de concentração de Hg total em sedimentos, superficiais e testemunhos, publicados na literatura (1996 a 2009).....	Pág. 10
TABELA 1.2 – Valores guias estabelecidos pelo “Canadian Council of Ministers of the Environment”.....	Pág. 16
TABELA 3.1 – Preparação das soluções para a construção da curva de calibração e carta controle.....	Pág. 60
TABELA 3.2 – Curva de calibração obtida com as soluções padrão preparadas.....	Pág. 61
TABELA 3.3 – Resultados dos padrões de controle preparados.....	Pág. 61
TABELA 3.4– Desvio padrão da leitura da solução de menor concentração do analito (Hg) (n=10).....	Pág. 63
TABELA 3.5 – Limites de Detecção (LD) e Quantificação para a determinação de Hg total por CV AAS.....	Pág. 64
TABELA 3.6 – Valores obtidos para o materiais de referência BCR CRM 580 ($\text{MeHg} = 75 \pm 4 \mu\text{g L}^{-1}$) na determinação de Hg orgânico.....	Pág. 68
TABELA 3.7 – Valores obtidos para os materiais de referência IAEA 405 ($\text{MeHg} = 5,49 \pm 0,53 \mu\text{g L}^{-1}$) na determinação de Hg orgânico.....	Pág. 69
TABELA 3.8 – Resultados e recuperações das soluções preparadas de cloreto de MeHg.....	Pág. 70
TABELA 3.9 – Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ) para a determinação de Hg orgânico por CV AAS.....	Pág. 72
TABELA 3.10 – Resultados do teste de t de Student para validação por comparação padrão.....	Pág. 73
TABELA 3.11 – Resultados obtidos para verificação de outliers por BOX e Dixon.....	Pág. 75
TABELA 3.12 – Padrões pipetados e suas respectivas massas para os elementos de interesse.....	Pág. 76
TABELA 3.13 – Radioisótopos identificados na análise das amostras de sedimento por NAA.....	Pág. 78

TABELA 3.14 – Valores de LD e LQ (mg kg^{-1}) para os materiais de referencia analisados por NAA.....	Pág. 80
TABELA 4.1 – Valores obtidos na análise dos materiais de referência pela técnica de CV AAS (Hg total).....	Pág. 82
TABELA 4. 2 – Resultados de Hg total e Hg orgânico nas amostras de água e sedimento..	Pág. 84
TABELA 4.3 – Valores de MeHg obtidos em amostras de sedimentos de outros locais do Brasil e no Mundo.....	Pág.91
TABELA 4.4 – Resultados dos parâmetros de campo determinados para as amostras de água e sedimento.....	Pág. 93
TABELA 4.5 – Concentrações (mg L^{-1}) de N, COD, COT, P total, Fe, Co, Cu e Mn, nas amostras de águas de fundo.....	Pág. 96
TABELA 4.6 – Resultados analíticos (em %) para granulometria, umidade e resíduos, para as amostras de sedimentos.....	Pág. 98
TABELA 4.7 - Concentrações (mg kg^{-1}) de N kjeldahl, P total, Fe, Co, Cu e Mn, COT (%) e BRS (NMP/100g) nas amostras de sedimentos.....	Pág. 100
TABELA 4.8 - Resultados (mg kg^{-1}) da análise de Hg total no BRC CRM 580 por NAA (n = 3).....	Pág. 105
TABELA 4.9 – Resultados de Hg total (mg kg^{-1}) por NAA para as amostras de sedimentos.....	Pág. 105
TABELA 4.10 - Resultados obtidos (mg kg^{-1}) para as amostras de sedimentos por NAA.	Pág. 108
TABELA 4.11 – Fatores de enriquecimento calculados em relação aos valores da crosta terrestre (Wedepohl, 1995).....	Pág. 125
TABELA 4.12 Fatores de Enriquecimento (FE) calculados em relação aos valores do testemunho.....	Pág. 126

SIGLAS E ABREVIACÕES

AAS – Espectrometria de Absorção Atômica, do inglês Atomic Absorption Spectrometry

BRS – Bactérias Redutoras de Sulfato

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

GC-ECD – Cromatografia Gasosa com Detector de Captura de Elétrons, do inglês Gas Chromatography – Electron Capture Detector

GC-MS – Cromatografia gasosa com detector de massas, do inglês Gas Chromatography – Mass spectrometry

GC-AFS – Cromatografia gasosa com detecção por Espectrometria de Fluorescência Atômica, do inglês Gas Chromatography – Atomic Fluorescence Spectrometry

COD – Carbono Orgânico Dissolvido

COT – Carbono Orgânico Total

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CV AAS – Espectrometria de Absorção Atômica por Vapor Frio, do inglês Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry

CV AFS – Espectrometria de Fluorescência Atômica por Vapor Frio, do inglês Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry

DP – Desvio Padrão

FE – Fator de enriquecimento

FIMS – Sistema de Injeção em Fluxo, do inglês Flow Injection Mercury System

IAEA – Agência Internacional de Energia Atômica, do inglês International Atomic Energy Agency

ICP OES – Espectrometria de Emissão Ótica por Plasma Acoplado Indutivamente, do inglês Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry

ICP-MS – Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente, do inglês Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

IQA – Índice de Qualidade das Águas

IVA – Índice de Proteção a Vida Aquática

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

MCA – Analisador Multicanal

MeHg – Metilmercúrio

NAA – Análise por Ativação Neutrônica, do inglês Neutron Activation Analysis.

NMP – Número Mais Provável

OD – Oxigênio Dissolvido

RBC – Rede Brasileira de Calibração

SABESP – Saneamento Básico do Estado de São Paulo

SNC – Sistema Nervoso Central

$T_{1/2}$ – Tempo de Meia Vida

US EPA – Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana – do inglês United States Environmental Protection Agency.

VVC – Valor Verdadeiro Convencionado

Determinação de Mercúrio Total e Orgânico e Avaliação dos Processos de Metilação e Desmetilação em Sedimentos do reservatório Rio Grande, Estado de São Paulo

Robson Leocádio Franklin

O Reservatório Rio Grande, localizado na Região Metropolitana de São Paulo (RMSP), é um importante manancial de abastecimento de água dessa região. Foram analisadas amostras de água de fundo e de sedimentos coletadas nesse reservatório em 4 pontos, em 4 campanhas, de setembro de 2008 a janeiro de 2010, sendo estas quantificadas em relação à concentração de Hg total pela técnica de CV AAS. Em seguida, adaptou-se uma metodologia da literatura para quantificação de Hg orgânico em sedimentos, que consistiu na extração dos compostos organomercuriais com diclorometano em meio ácido e, posterior destruição dos compostos orgânicos com cloreto de bromo. A validação dessa metodologia, em termos de precisão e exatidão, foi realizada por meio da análise dos materiais de referência BCR CRM 580 e IAEA 405. Para avaliação dos mecanismos de metilação e desmetilação de Hg nesse ambiente, foram determinados os seguintes parâmetros físicos e químicos, *in situ*: pH, temperatura da água, potencial redox (E_H), transparência e profundidade. Nos sedimentos foram determinados também a granulometria, carbono orgânico total, bactérias redutoras de sulfato, N total e P total, além de Co, Cu, Fe e Mn. A seleção destes parâmetros esteve relacionada diretamente a fatores que influenciam o comportamento do MeHg em sedimentos e sua zona de transição. Foram encontradas concentrações para Hg total variando entre 1,0 e 71,0 mg kg⁻¹ e de Hg orgânico entre <10,0 a 47,2 µg kg⁻¹ e taxas de metilação entre 0,06 e 1,4% em sedimentos, ao longo do reservatório. Discutiram-se também as diferentes condições de metilação e suas influências, ao longo do reservatório. Como estudo suplementar, avaliou-se a concentração de outros metais e elementos traço presentes nos sedimentos, por meio da técnica de ativação neutrônica. Foram quantificados os elementos As, Ba, Br, Co, Cr, Cs, Hf, Fe, Na, Rb, Sb, Sc, Zn e os elementos terras raras Ce, Eu, La, Lu, Nd, Sm, Tb e Yb. Os fatores de enriquecimento calculados em relação aos valores da crosta terrestre utilizando-se Sc como elemento normalizador apresentaram valores acima de 2,0 para os elementos As, Br, Sb, U e Zn. Verificou-se uma forte influência antrópica para alguns dos elementos analisados, principalmente nos pontos localizados na entrada do reservatório, que recebem descarga de efluentes domésticos e industriais dos rios que alimentam o reservatório.

**Determination of Total and Organic Mercury and Evaluation of Methylation
and Demethylation Processes in Sediments of the Rio Grande Reservoir, State
of Sao Paulo**

Robson Leocádio Franklin

The Rio Grande reservoir is located in the metropolitan area of São Paulo and it is a very important water supply for this region. In the present study bottom waters and sediment samples collected in this reservoir, in four sampling points, in four campaigns, from September 2008 to January 2010, were analyzed. Firstly total Hg was determined in sediment and bottom waters by cold vapor atomic absorption technique (CV AAS). Following, the analytical methodology for organic Hg was adapted from literature, where the organomercurial compounds were extracted with dichloromethane in acid medium and subsequent destruction of organic compounds by bromine chloride. The validation of this methodology, in terms of precision and accuracy, was performed by means of IAEA 405 and BCR-CRM 580 reference materials analyses. For methylation and demethylation processes evaluation in this environment, the following physical and chemical parameters were assessed, in situ: pH, water temperature, redox potential (E_H), transparency and depth. For the sediment samples, granulometry, total organic carbon, sulphate-reducing bacteria, total N and P, besides the metals Co, Cu, Fe and Mn were evaluated. The selection of these parameters was related to the factors that influence the behavior of MeHg in the sediments and its transition zone. Total Hg ranging from 1.0 to 71.0 mg kg⁻¹ and organic mercury from <10.0 to 47.2 µg kg⁻¹ in sediments and methylation rates from 0.06 to 1.4% were found, along the reservoir. Different methylation conditions along the reservoir and its influences were also discussed. As supplementary study the concentration of some metals and trace elements in the sediments by neutron activation analysis technique was determined. As, Ba, Br, Co, Cr, Cs, Hf, Fe, Na, Rb, Sb, Sc and Zn and rare earth elements Ce, Eu, La, Lu, Nd, Sm and Yb were determined. The enrichment factor in relation to earth crust values using Sc as normalizer element reached values higher than 2.0 for the elements As, Br, Sb, Th, U and Zn, indicating a strong enrichment. A strong anthropogenic influence was verified for some of the elements analyzed, mainly in the points located in the entrance of the reservoir that receives domestic and industrial effluents from the rivers that reach the reservoir.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2
1.1 Área de estudo	3
1.2 Toxicidade do Mercúrio	11
1.3 Sedimentos	15
1.4 Técnicas analíticas usadas na análise de sedimentos	17
1.5 Objetivos Gerais	19
1.5.1 Objetivos Específicos	19
2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE MERCÚRIO, METILMERCÚRIO, PROCESSOS DE METILAÇÃO E METODOLOGIAS ANALÍTICAS	20
2.1 Mercúrio e Metilmercúrio em sedimentos	20
2.2 Fatores que afetam a metilação	21
2.2.1 Metilação biótica e abiótica	22
2.2.2 Aspectos Microbiológicos	24
2.2.3 Matéria orgânica e enxofre (S)	26
2.2.4 Temperatura, pH e condições redox	28
2.3 O ciclo do elemento mercúrio na natureza	31
2.4 Técnicas analíticas para a determinação de Hg inorgânico e orgânico	32
2.5 Metodologias Analíticas	36
2.5.1 Determinação de mercúrio total e orgânico	36
2.5.1.1 Determinação de mercúrio total em amostras de águas e sedimentos	36
2.5.1.2 Determinação de mercúrio orgânico	38
2.5.2 Formação acidental de metilmercúrio durante o procedimento analítico	38
2.6 Análise por Ativação Neutrônica (NAA)	40
2.6.1 Análise por Ativação Neutrônica para determinação de Hg total	42
3. MATERIAIS E MÉTODOS	44
3.1 Localização e Amostragem dos pontos	44
3.2 Coleta e preparo das amostras de água	49
3.3 Coleta e preparo das amostras de sedimentos	51
3.4 Determinações auxiliares para avaliação dos mecanismos de metilação e desmetilação de Hg	53
3.4.1 Determinações em campo	53
3.4.2 Análise Granulométrica	56
3.4.3 Bactérias Redutoras de Sulfato	56
3.4.4 Carbono Orgânico Dissolvido (COD) e Total (COT)	57
3.4.5 Nutrientes e outros metais	58
3.4.5.1 Análises de amostras de águas	58
3.4.5.2 Análises de amostras de sedimentos	59

3.4.6 Determinação de umidade e Resíduos sólidos fixos e voláteis _____	59
3.5 Determinação de Hg total por CV AAS _____	59
3.5.1 Procedimento de análise _____	59
3.5.2 Preparação das curvas de calibração _____	59
3.5.3 Cálculo da incerteza de medição na determinação de Hg total _____	61
3.5.4 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) _____	63
3.5.5 Verificação da precisão e exatidão da metodologia de Hg total em sedimentos por CV AAS _____	64
3.6 Determinação de Hg orgânico em sedimentos _____	65
3.6.1 Preparo de soluções, limpeza e descontaminação do material utilizado _____	65
3.6.1.1 Preparo de soluções _____	65
3.6.1.2 Limpeza e Descontaminação do material utilizado _____	65
3.6.2 Procedimento analítico _____	66
3.6.3 Cálculo da incerteza de medição na determinação de Hg orgânico _____	66
3.6.4 Cálculo do LD e LQ _____	71
3.6.5 Verificação da precisão e exatidão da metodologia para a determinação de Hg orgânico _____	72
3.7 Critérios de aceitação estabelecidos para os resultados das amostras e procedimentos para verificação de valores outliers _____	73
3.8 Determinação multielementar em amostras de sedimentos por NAA _____	75
3.8.1 Preparação dos padrões sintéticos _____	75
3.8.2 Preparação e irradiação das amostras _____	76
3.8.3 Medidas da atividade gama induzida _____	77
3.8.4 Verificação da precisão e da exatidão da metodologia de NAA _____	78
3.8.5 Cálculo de limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) _____	79
3.9 Determinação de Hg total nas amostras de sedimento por NAA _____	80
3.9.1 Procedimento de análise _____	80
3.9.2 Verificação da precisão e exatidão dos resultados de Hg total em sedimentos por NAA _____	81
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO _____	82
4.1 Verificação da precisão e exatidão dos resultados obtidos pelas metodologias analíticas para Hg total e Hg orgânico por CV AAS _____	82
4.1.1 Determinação de Hg total por CV AAS _____	82
4.1.2 Determinação de Hg orgânico _____	83
4.2 Resultados obtidos para Hg total e orgânico e taxas de metilação de Hg _____	83
4.3 Resultados obtidos nas análises de sedimentos por NAA _____	103
4.3.1 Verificação da precisão e exatidão dos resultados obtidos nas análises de sedimentos por NAA _____	103
4.3.2 Resultados obtidos para a determinação de Hg total por NAA _____	105
4.3.3 Resultados obtidos nas análises de sedimentos por NAA _____	107
4.3.4 Cálculo dos Fatores de Enriquecimento (FE) _____	124
4.3.5 Análise Estatística _____	128
5. CONCLUSÕES _____	131
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	134

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

Com a revolução industrial no séc. XVIII na Inglaterra e sua conseqüente disseminação mundo afora nos séculos seguintes, a humanidade, devido a todo este potencial de descobertas e necessidades, passou também a intervir de maneira mais drástica na natureza.

Este novo modelo de civilização trouxe, além da industrialização em massa, um novo afago científico, sendo crescentes neste período as descobertas científicas, com muitas delas propiciando mais ainda o desenvolvimento industrial. Uma gama cada vez maior de novos produtos químicos com diversas finalidades veio surgindo ao longo dos anos e o crescimento populacional também é notório neste período.

Desta forma, a geração de resíduos em quantidade prejudicial ao meio ambiente começou a aumentar em um ritmo rápido. A cólera foi uma das primeiras grandes doenças de veiculação hídrica que assolou a humanidade no século XIX devido à falta de saneamento básico, e a diversidade de produtos químicos tóxicos também fizeram diversas vítimas já no início do século passado. Porém, somente por volta de 1960 o termo poluição passa a ser considerado realmente como um problema ao homem e ao meio ambiente.

A concepção de que as águas, mais especificamente aqui os rios, são um compartimento de “diluição infinita” para os rejeitos urbanos e industriais começa a cair por terra e torna-se evidente uma mudança nas ações, devido à escassez de água de qualidade para consumo humano, em um primeiro momento, e posteriormente para a proteção da vida aquática, com vistas à preservação do equilíbrio ecológico.

Desta forma, torna-se de grande valor análises que avaliem e predigam o risco ambiental sendo, portanto, necessário integrar análises físicas, químicas e biológicas para um correto diagnóstico, com vistas à preservação da vida aquática e a qualidade do meio ambiente para esta e futuras gerações.

1.1 Área de estudo

O Reservatório Rio Grande está localizado na Região Metropolitana de São Paulo (RMSP), entre os municípios de Santo André, São Bernardo do Campo, Ribeirão Pires e rio Grande da Serra, no Estado de São Paulo.

O Reservatório Rio Grande faz parte da sub-bacia Billings-Tamanduateí, pertencente à Bacia Hidrográfica do Alto Tietê, dentro da Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos nº 6 (UGRHI 6); Alto Tietê (FIG. 1.1), que por sua vez, é uma das bacias que constituem a Bacia Hidrográfica do Paraná (CETESB, 2004, 2005, 2006).



FIGURA 1.1 - Bacia Hidrográfica do Alto Tietê

As águas do Reservatório Rio Grande compõem parte do sistema de abastecimento da RMSP (SABESP, 2009) e por este motivo geram preocupações em relação à sua qualidade, devido ao recebimento de cargas poluentes dos lançamentos de esgotos residenciais e de contaminantes de origem industrial, antigos e atuais, transportados para o reservatório, ou ressuspensos do sedimento, que podem acarretar danos ao meio ambiente e até mesmo para a população atendida por este reservatório.

O histórico de ocupação e desenvolvimento da região onde hoje se localiza o reservatório do Rio Grande remonta ao Séc. XVI com a abertura de trilhas pelos índios e bandeirantes para acesso entre a recém fundada cidade de São Paulo e o litoral. Tal situação não sofreu modificações até o início do Séc. XVIII, onde devido ao aumento no fluxo de transporte foi construído um novo acesso entre a cidade de São Paulo e o litoral, através da Serra de Cubatão. Chamava-se à época “Calçada de Lorena”. Com alguns anos, tal acesso passou a tornar-se insuficiente e em 1842, foi concluída e inaugurada a Estrada da Maioridade, que depois passaria a ser conhecida como “Caminho do Mar” (Moraes, 1994).

Paralelamente a isto, a região onde hoje se localiza a cidade de Ribeirão Pires por volta do Séc. XVII era passagem daqueles que pretendiam sair de São Paulo rumo a Mogi das Cruzes ou vice-versa, bem como daqueles que se dirigiam a Santos. No século XVII, as terras nas proximidades de Ribeirão Pires começaram a ser cobiçada e deu-se início a um novo processo de povoamento, com o principal objetivo de explorar minas de ouro. Houve a formação de um núcleo de povoamento na região decorrente da exploração do ouro, mas que não durou muito tempo (Pires, 2007).

Em 1.714, Ribeirão Pires começou seu povoamento atraindo muitas famílias que se fixaram ao redor da Igreja Nossa Senhora do Pilar, construindo casas e comércio. A área era tida como passagem entre São Bernardo e Mogi das Cruzes. Durante o século XIX, a produção cafeeira expandia-se pelo Estado, exigindo a implantação de uma ferrovia que ligasse as áreas produtoras ao Porto de Santos. Em 1885, a estação de Ribeirão Pires foi inaugurada. Às margens da ferrovia cresciam núcleos de povoamento e comércio, desenvolvendo a região (Pires, 2007).

Ao longo dos séculos XIX e início do XX ocorreu um grande crescimento populacional na região entre a cidade de São Paulo e o litoral. Vale ressaltar que a população da cidade de São Paulo em 1876 era cerca de 30 mil habitantes, era mais de 130 mil habitantes no fim do séc. XIX. Isto ocorreu principalmente devido à grande produção de café que se alastrou pelo Estado, com os “barões do café” dominando as residências na recém projetada Avenida Paulista. No início do Séc. XX, vários imigrantes italianos, japoneses, alemães, espanhóis e judeus desembarcaram no estado. Isto fez com que a demanda de consumo de energia elétrica aumentasse 10% ao ano entre 1911 e 1921 e nos anos de 1922 e 1923, de 15% ao ano. (Moraes,1994; São Paulo, 2007).

Desde 1910, a Empresa Canadense The São Paulo Trainway Light and Power Company, conhecida como Light, atuante à época no Brasil por um decreto Federal, já

realizava estudos para a construção de um reservatório utilizando as quedas d'água da serra do mar para a obtenção de energia (Moraes, 1994).

Devido ao grande aumento populacional e a um período de grande estiagem ocorrido na região entre 1924 e 1925, onde os índices pluviométricos ficaram 58% abaixo do esperado, houve racionamento de energia elétrica à época na região, e a formação do reservatório, além de garantir a geração de energia para abastecimento de uma população em vertiginoso crescimento, também poderia servir para abastecimento desta população. Mediante a nova dinâmica, o presidente Arthur Bernardes, em 1925, concede a Light o direito de formar a represa (Moraes, 1994).

A área ocupada atualmente pela Represa Billings foi inundada a partir de 1927 com a construção da Barragem de Pedreira, já dentro do município de São Paulo, no curso do Rio Grande, também denominado Rio Jurubatuba, com o intuito de aproveitar as águas da bacia hidrográfica do Alto Tietê para gerar energia elétrica na Usina Hidrelétrica (UHE) de Henry Borden, em Cubatão, aproveitando-se do desnível da Serra do Mar, que por sinal começara a operar comercialmente seus geradores no início daquele mesmo ano (Moraes, 1994).

Em 1935 teve início a retificação do Rio Pinheiros (antigo Jurubatuba), com a construção das usinas elevatórias de Traição e a barragem do Cebolão, conhecida também como estrutura Retiro (Bostelmann, 2006; Moraes, 1994).

Durante as décadas de 1930 e 1940 as indústrias começaram a se instalar no pólo de Cubatão para aproveitar a energia elétrica presente (Moraes, 1994).

No início dos anos 40, iniciou-se o desvio de parte da água do Rio Tietê e seus afluentes para o reservatório Billings, a fim de aumentar a vazão da represa e, conseqüentemente, ampliar a capacidade de geração de energia elétrica na UHE Henry Borden. Este processo foi viabilizado com as Usinas Elevatórias de Pedreira e Traição, ambas em seu leito. Esta operação, que objetivava o aumento da produção de energia elétrica, também se mostrou útil para as ações de controle das enchentes e de afastamento dos efluentes industriais e do esgoto gerado pela cidade em crescimento (Mananciais, 2007).

Na região de Ribeirão Pires, durante a década de 40, ocorreu uma nova fase de expansão, com a implantação de chácaras de veraneio para moradores provenientes da Baixada Santista, em busca de áreas de lazer. Em 1953, Ribeirão Pires possuindo cerca de 15 mil habitantes, foi emancipado de Santo André, o que provocou uma onda especulativa que

resultou em rápida expansão da mancha urbana, através da abertura de loteamentos destituídos de infra-estrutura e cuidados urbanísticos (Pires, 2007).

No ano de 1958, através do decreto federal 15969 de 04.07.58 foi autorizada a captação da água da então represa Billings para abastecimento público.

Na década de 1960 as margens da Billings começaram a ser densamente povoada. Este crescimento desordenado passou também a contribuir com o lançamento de esgoto in natura na represa (Moraes, 1994).

O bombeamento das águas do Tietê para a Billings, no entanto, começou a mostrar suas graves conseqüências ambientais anos depois. O crescimento da cidade de São Paulo e a falta de coleta e tratamento de esgotos levaram à intensificação da poluição do Tietê e seus afluentes que, por sua vez, passaram a comprometer a qualidade da água da Billings. Após o aumento da poluição desta represa, a população de alto poder aquisitivo que freqüentava a Billings com barcos de luxo e mantinham imensas propriedades como casas de veraneio deixaram o local e a população de baixa renda começou a desenvolver o processo de ocupação em larga escala visto nos dias de hoje nos arredores da represa de forma clandestina, sendo que este desenvolvimento urbano ocorrera, obviamente, sem planejamento e infra-estrutura adequados (Moraes, 1994).

Em 1963, foi aberta a Rodovia Índio-Tibiriçá (SP-31) - via de ligação regional entre a Baixada Santista e o Vale do Paraíba, a rodovia provocou uma expansão populacional na região de Ribeirão Pires. Nas décadas de 60 e 70, a região do ABC foi palco de expansão do parque automobilístico, provocando um crescimento urbano desordenado. Nesta época a região do grande ABC, em franca expansão apresentava um elevado valor pelo metro quadrado de terra. O município de Ribeirão Pires passou a acenar com terras mais baratas e isenção de impostos. Fatores preponderantes para a instalação de diversas indústrias na região neste período. A indústria mais antiga é a Solvay do Brasil S.A., indústria de capital Belga, sediada no município desde 1946 produzindo diversos produtos químicos, tais como cloro, hidróxido de sódio, ácido clorídrico entre outros, e que utiliza mercúrio em seus processos produtivos (Simões *et. al.*, 1998).

Este desenvolvimento pouco afetou o perfil econômico do município de Ribeirão Pires, tendo em vista sua localização afastada e em relação às indústrias sediadas no município, tinham como característica a não vinculação direta aos pólos industriais da região, predominando o setor de produção de móveis, alimentos e componentes eletrônicos. Os

efeitos do crescimento regional no município foram sentidos apenas posteriormente, por meio do aumento da população notadamente de trabalhadores das indústrias da região, que passaram a ocupar loteamentos precários implantados anteriormente ao redor do centro histórico, transformando Ribeirão Pires em cidade-dormitório. Estes assentamentos exigiram maiores investimentos públicos em infra-estrutura para atender demandas crescentes (Pires, 2007).

Em 1976, foi aprovada a Lei Estadual de Proteção aos Mananciais, que transformou todo o território municipal de Ribeirão Pires e Rio Grande da Serra em área de interesse para a manutenção dos recursos hídricos necessários ao abastecimento da região metropolitana. Este instrumento visava garantir a qualidade das águas, através - principalmente - da ocupação pouco intensiva do solo, vinculada a baixos limites de densidade (Simões *et. al.*, 1998).

Como resultado imediato, pode-se apontar a desaceleração do incipiente processo de crescimento industrial e da expansão da mancha urbana, dadas às maiores exigências que acabaram por inviabilizar os investimentos (Pires, 2007).

Em 1982, devido à grande quantidade de esgotos, que resultaram em sérios problemas de presença excessiva de algas cianofíceas, algumas potencialmente tóxicas, surge a necessidade de interceptação total do Braço do Rio Grande, através da construção da Barragem Anchieta, para garantir o abastecimento de água do ABC, iniciado em 1958. (Mananciais, 2007; Moraes, 1994).

Em 2008, segundo IBGE 2008 (apud CETESB 2009), a cidade de Ribeirão Pires contava com 115,4 mil habitantes e Rio Grande da Serra com 41,2 mil habitantes, sendo que em Ribeirão Pires 65% do esgoto da cidade era coletado e 70% recebiam tratamento, sendo todo o esgoto (bruto e tratado) lançado no Rio Ribeirão Pires (um dos formadores do reservatório do Rio Grande). Em Rio Grande da Serra 25% do esgoto era captado com tratamento de 85%, sendo estes lançados no rio Grande.

Este reservatório atualmente produz 4,8 mil litros de água por segundo e abastece 1,6 milhões de pessoas em Diadema, São Bernardo do Campo e parte de Santo André (SABESP, 2009), possuindo 11 km de extensão navegáveis a partir da ponte da rodovia índio-tibiricá (SP-031), tendo em média 800 metros de largura, com máximo de 1500 metros.

A qualidade das águas do reservatório é verificada por meio de programa de monitoramento efetuado pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), por

meio de pontos ao longo do reservatório, conforme FIG. 1.2 (CETESB 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009).

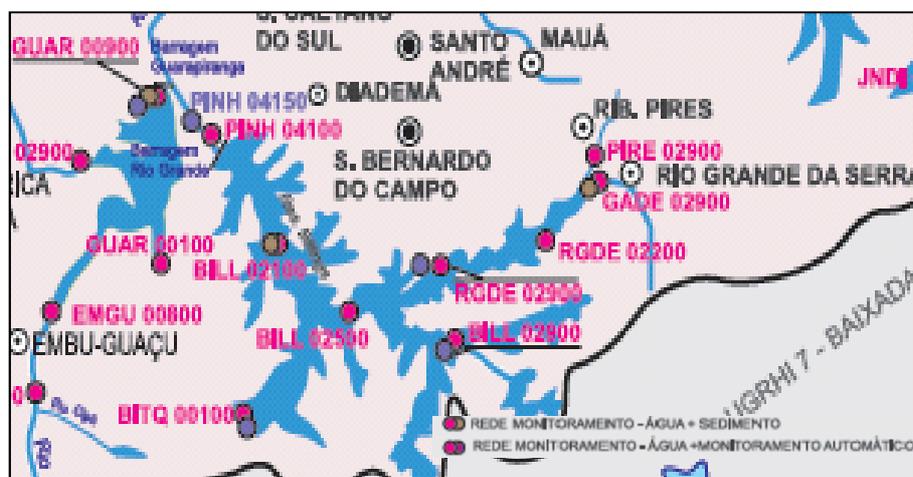


FIGURA 1.2 – Pontos de monitoramento de água e sedimento no Res. Billings e res. Rio Grande (CETESB, 2007).

As principais fontes de poluição das águas desse reservatório encontram-se em seu trecho inicial, representada pelo Rio Grande (GADE02900) e Rio Ribeirão Pires (PIRE02900). O ponto GADE02900 situa-se a jusante do município de Rio Grande da Serra e, portanto, reflete a qualidade das águas após o recebimento dos lançamentos tanto de origem doméstica quanto industrial, proveniente deste município. O ponto PIRE02900 tem a mesma representatividade, só que em relação ao município de Ribeirão Pires. O IQA (Índice de Qualidade das Águas), utilizado pela CETESB, classifica a qualidade das águas de acordo com diversos parâmetros físicos e químicos e oscila seus valores entre zero e cem. Quanto menor o resultado pior é a qualidade das águas. O IQA médio entre os anos de 2005 a 2008 foi de 32 no PIRE02900, sendo classificado como qualidade “ruim” pela CETESB e 51 no GADE02900, classificado como qualidade “regular” (CETESB, 2006-2009). Em relação ao IVA (índice de qualidade da água para proteção da vida aquática), tais valores podem oscilar entre hum e quinze, sendo que para valores mais baixos é atribuída qualidade ótima e à medida que aumentam, indicam uma piora na qualidade. A média deste critério para estes pontos de monitoramento entre os anos de 2005 e 2008 foi de 7,3 para o PIRE02900 e 4,4 para o GADE02900, respectivamente. Desta forma, o primeiro ponto é classificado como “péssimo” e o segundo, como “regular” dentro deste critério. Os pontos situados no interior do reservatório mostram uma recuperação na qualidade dessas águas, devido ao processo de autodepuração, notadamente observado ao longo do eixo deste sistema.

Em relação aos sedimentos, a CETESB realizou análises desta matriz na década de 90 em alguns anos e desde o ano de 2002, a CETESB, desenvolve programa de monitoramento da qualidade dos sedimentos no estado de São Paulo e, para este reservatório, são monitorados os pontos marcados na FIG.1.2 como RGDE02900 e RGDE02100, e em ambos vêm sendo encontrado o elemento mercúrio (Hg) em concentrações variando, ao longo destes anos, entre 0,50 e 19,0 mg kg⁻¹, determinada como mercúrio total (CETESB, 2003-2009).

Tais pontos ainda se caracterizam pela elevada presença de finos (silte e argila em todos estes anos sempre superior a 55%) e quantidades significativas de matéria orgânica e de sulfetos reativos, que segundo a CETESB (2003 e 2007) não favorecem a disponibilidade de metais para a biota. Entretanto, estudos da CETESB (2004, 2005, 2006) ainda indicam que existe a possibilidade de estar ocorrendo tal disponibilidade, visto que os resultados dos testes de toxicidade com *Hialella Azteca* e *Chironomus Xanthus* apresentaram efeitos tóxicos nos anos de 2004 a 2006 (CETESB 2005, 2006, 2007).

Uma preocupação adicional vem do fato de que concentrações elevadas de Hg nos sedimentos podem sofrer o processo de metilação, formando espécies organomercuriais, como o metilmercúrio, o dimetilmercúrio, entre outras, que são bioacumuláveis e podem biomagnificar, comprometendo toda cadeia alimentar local.

Em estudos recentes realizados por Bostelman (2006) e Favaro *et. al.* (2007), foram verificadas altas concentrações de Hg total em amostras de sedimento desse reservatório, chegando a 165 mg kg⁻¹. Nesses estudos foram feitas apenas as quantificações de Hg total. A partir desses estudos, despertou-se o interesse no conhecimento da forma de Hg presente no compartimento sedimento.

A TAB. 1.1 apresenta um histórico da concentração de Hg total em sedimentos do reservatório do Rio Grande indicando o período de coleta, a indicação com a proximidade dos pontos de coleta deste trabalho e suas respectivas referencias bibliográficas.

TABELA 1.1 Valores de concentração de Hg total em sedimentos do reservatório do Rio Grande, publicados na literatura (1996 a 2009)

Ano/ Período Coletado	Local da coleta	Profundidade da coleta	Valor Encontrado de Hg total (mg kg ⁻¹)	Localização em relação aos pontos deste trabalho	Referência
1984	Rio Grande a jusante da Solvay	superficial	59,0	Próximo ao ponto 1	CETESB, 1996
Out.1992 a out.1993	Próximo a captação da SABESP	superficial	3,47	Próximo ao ponto 4	CETESB, 1996
1997	Próximo a captação da SABESP	superficial e profundidade	superfície - 0,90 20 cm prof. - 21,1 42 cm prof. - 0,27	Próximo ao ponto 4	UFSCAR e SABESP 1997
	Próximo a captação da SABESP	superficial e profundidade	superfície - 0,29 10 a 50 cm - 0,18 (média) 52 cm prof. - 0,39	Próximo ao ponto 4	
	Meio do Reservatório	superficial e profundidade	superfície - 0,18 10 cm prof. - 0,15	próximo ao ponto 3	
1997	Corpo central - próximo ao clube Tahiti	superficial e profundidade	superfície - 165,0 5 a 50 cm - 0,21	Entre os pontos 2 e 3	Fávaro <i>et. al.</i> (2007)
	Próximo ao Ribeirão Pires	superficial e profundidade	superfície - 0,47 5 a 60 cm - 0,70 (média) 62 cm - 11,5 65 - 80 cm - 0,15	Próximo ao ponto 2	
2003	Vários ao longo do reservatório	superficial	superiores a 0,50 em todos os pontos*	Pontos 3 e 4	IPT 2005
2002	Próximo a captação da SABESP	superficial	0,60	Próximo ao ponto 4	CETESB, 2003
	Próximo a captação da SABESP	superficial	0,52	Próximo ao ponto 4	
2003	Entrada do Reserv. - Braço do ribeirão Pires	superficial	2,8	Entre os pontos 2 e 3	CETESB, 2004
	Próximo a captação da SABESP	superficial	19,5	Próximo ao ponto 4	
2004	Em frente ao Clube Tahiti	superficial	17,9	Entre os pontos 2 e 3	CETESB, 2005
	Próximo a captação da SABESP	superficial e profundidade	superfície - 0,37 5 a 20 cm - 0,39	Próximo ao ponto 4	
2004	Meio do Reservatório	superficial e profundidade	superfície - 9,13 10 a 20 cm - 13,2 20 a 30 cm - 31,9	Próximo ao ponto 3	Bostelmann (2006)
	Reserv.Rio Grande a jusante SP-031	superficial e profundidade	superfície - 16,5 5 a 30 cm - 11,7	Entre os pontos 2 e 3	

	Reserv.Rio Grande a montante da SP-031	superficial e profundidade	superfície - 45,3 5 a 30 cm - 29,9	Próximo ao ponto 2	
2005	Próximo a captação da SABESP	superficial	2,27	Próximo ao ponto 4	CETESB, 2006
2006	No Rio Grande próximo a rod. SP-122	superficial	2,21**	Próximo ao ponto 1	CETESB, 2007
	Próximo a captação da SABESP	superficial	10,6	Próximo ao ponto 4	
2007	Rio Grande a jusante da Solvay	superficial	0,41	Próximo ao ponto 1	CETESB, 2008
	Próximo a captação da SABESP	superficial	0,15	Próximo ao ponto 4	
2008	Rio Grande a jusante da Solvay	superficial	2,49**	Próximo ao ponto 1	CETESB, 2009
	Próximo a captação da SABESP	superficial	4,95	Próximo ao ponto 4	
2009	No meio do Reservatório	superficial e profundidade	superfície - 14,5 10 a 20 cm - 42,6 25 a 35 cm - 41,5	Próximo ao ponto 3	CETESB (no prelo)

* - valores não declarados. É citado somente que se encontram superiores a esta concentração.

** - valores obtidos em amostras com mais de 90% de areia, segundo os autores.

1.2 Toxicidade do Mercúrio

O elemento químico Hg já era conhecido desde 1500 A.C., e sempre foi utilizado pelas civilizações para os mais diversos fins, desde a execução de desenhos e escrita, através das pedras vermelhas de cinábrio (HgS), bem como na amalgamação com outros metais, principalmente o ouro (Azevedo, 2003). A primeira referencia escrita que se tem deste metal foi feita por Aristóteles no quarto século AC, onde foi chamado de prata líquida (*hydrargyrum*), dando origem ao símbolo Hg (Miranda *et. al.*, 2007). Os povos antigos também faziam uso terapêutico do Hg, obviamente sem o devido conhecimento de sua toxicidade. Existem relatos do uso de compostos mercuriais para tratamento de doenças venéreas, males nos olhos, fígado, pulmões e intestinos. Os chineses, antigamente, acreditavam que o Hg prolongava a vida e os hindus o tinham como afrodisíaco. Por volta do século IX, foi utilizado para tratamento de doenças cutâneas, e nesta mesma época começaram a serem relatados os efeitos tóxicos dos compostos mercuriais. No séc. XVI tem-se os primeiros relatos sobre os sinais e sintomas de intoxicação por Hg e no século seguinte

passaram a ser objeto de legislação para controle de exposição de doenças em trabalhadores, sendo o Hg o primeiro elemento químico na história a ser legislado, e no ano de 1700, na Itália, ocorrera a primeira ação judicial contra uma fábrica de cloreto de mercúrio, por conta das emanações que contaminaram numerosos cidadãos (Azevedo, 2003).

Em relação aos compostos organomercuriais, em 1863, dois químicos interessados em determinar a valência do composto dimetilmercúrio morreram, sendo a causa mortis desconhecida naquela época. Somente em 1940 e que se atribuiu a morte destes pesquisadores à contaminação neurotoxicológica causada por compostos organomercuriais (Azevedo, 2003; Baird, 2002; Bisinoti & Jardim, 2004).

O primeiro grande desastre ambiental envolvendo o metilmercúrio pode ser também considerado o maior deles. Estima-se que centenas de pessoas morreram e outros milhares contraíram a chamada doença de Minamata, que é a contaminação neurotoxicológica causada pelos compostos organomercuriais, provocada pela ingestão de peixes e frutos do mar contaminados por metilmercúrio na baía da cidade de Minamata e também na foz do rio Agano, ambas as cidades no Japão. Na década de 50, uma empresa começou a produzir acetaldeído utilizando o Hg como catalisador no processo, o qual formava como um subproduto o metilmercúrio. Os efluentes desta fábrica eram lançados diretamente na baía. Em 1956 começaram a serem registrados os primeiros casos de pessoas com sintomas nervosos, disfunções sensoriais, ataxia nas extremidades e perturbações da visão. No início, concluiu-se que poderia ser uma encefalite provocada por alguma intoxicação química, mas sem a devida correlação com o metilmercúrio, pois o quadro clínico dos pacientes apresentava algumas características diferentes do que se conhecia à época em relação à intoxicação pelo elemento químico Hg (Baird, 2002; Bisinoti & Jardim, 2004; Dias, 2004). Contudo, com o aumento do número de casos tornou-se evidente que aquela doença diferia das intoxicações químicas conhecidas até aquele período.

Após doze anos do aparecimento do primeiro caso foi quando se chegou a uma conclusão correta e oficial do caso, porém isto não impediu que vários casos de contaminação por metilmercúrio ocorressem pelo mundo no final dos anos 60 e início da década de 70, dentre os quais nos Estados Unidos, Iraque, Paquistão e Guatemala, onde a contaminação foi devida a fungicidas produzidos à base de etil e metilmercúrio (Bisinoti & Jardim, 2004; Dias, 2004).

Na época, o conhecimento científico era escasso em relação a bioacumulação dos compostos organomercuriais ao longo da cadeia alimentar, bem como as técnicas analíticas para determinação de baixas concentrações de metilmercúrio (Dias, 2004).

É de extrema importância a distinção entre as formas de intoxicação pelas espécies do mercúrio: mercúrio metálico (Hg^0), formas inorgânicas (Hg^{+1} , Hg^{+2}) e pelos compostos organomercuriais, especialmente os alquilmercuriais (metil e etilmercúrio), visto que a sintomatologia pode variar bastante de caso para caso (Azevedo, 2003).

Os principais sintomas em relação à intoxicação aguda devido aos vapores de Hg ou Hg metálico são os efeitos nocivos nos sistemas nervoso central (SNC), digestivo, respiratório e renal, incluindo-se fadiga, febre e tumores, além de edema pulmonar em episódios mais graves, podendo haver dispnéia, tosses e escarros sanguinolentos (WHO, 1976).

A intoxicação aguda por sais de Hg produz efeito inflamatório e necrótico em membranas mucosas, principalmente na boca, faringe e estômago, podendo ocorrer dores gástricas e vômitos. Outros efeitos da intoxicação aguda podem aparecer em algumas horas após a exposição e persistir por vários dias, assim como no caso dos vapores de Hg metálico, e causam ainda danos pela ação do íon mercúrico nos sistemas de eliminação; rim, cólon e boca; provocando estomatites, inflamação das gengivas e sialorréia, necrose de células epiteliais e do túbulo contornado nos rins, fazendo com que sejam perdidas através da urina grandes quantidades de glicose e aminoácidos. No cólon também ocorre necrose da membrana mucosa, que se dilacera e produz um aumento da diarreia. No sistema nervoso central, ocorre ataxia (não coordenação da atividade muscular voluntária, principalmente nas pernas e mãos), disartrias (problemas nas articulações das palavras), parestesia (perda de sensibilidade das mãos e dos pés e na região próximo à boca), além de possível perda auditiva. (Azevedo, 2003)

A intoxicação crônica por Hg, também conhecida como mercurialismo ou hidrargirismo é caracterizada por neurastenia e por pelo menos três destes achados clínicos: hipertrofia da tireóide, aumento da captação de iodo radioativo pela tireóide, pulso fraco, taquicardia, dermografismo, gengivite, alterações hematopoiéticas (anemias, linfocitose), indução a auto-imunidade (produção de anticorpos que destroem as próprias proteínas), e aumento da eliminação urinária de Hg, podendo ocorrer também tremores musculares, ataque ao cristalino e alterações no comportamento (Azevedo 2003; Baird, 2002)

Os rins são afetados em menor intensidade na intoxicação crônica em relação à aguda, mas é comum ocorrer nefropatia e síndrome nefrótica. O Hg também provoca mutações em níveis cromossômicos e gênicos, o que leva ao câncer e doenças hereditárias. Em relação ao SNC, este é rapidamente atingido pela intoxicação por Hg elementar, assim como o metilmercúrio (MeHg)¹, pois cruzam sem dificuldades a barreira hematoencefálica, sendo seqüestrados pelos corpos densos dos lisossomos dos neurônios. (Azevedo, 2003; WHO, 1976)

A intoxicação pelas formas orgânicas de Hg, além da alta permeabilidade no cérebro, também é mais severa pelo fato destas formas serem rápida e totalmente absorvidas pelo trato gastrointestinal e serem lentamente eliminadas. Como grande agravante da contaminação pelas formas orgânicas, tem-se o fato desta permear a barreira placentária e causar prejuízos no desenvolvimento fetal, além de também ser eliminado através do leite materno (Azevedo, 2003). O Sistema Nervoso Central é o órgão-alvo da ação do etil e do metilmercúrio, sendo a ataxia, na maioria dos casos, o primeiro sinal clínico. A parestesia, a disartria e a surdez costumam aparecer nesta ordem, ocorrendo também redução no campo visual, com evolução para a cegueira, além de perdas olfativas e do paladar, podendo o indivíduo apresentar também contorções corporais e sacolejos sem motivos aparentes em casos de grande exposição. (Dias, 2004; WHO, 1990)

No ano de 1997 foi registrada uma tragédia ocorrida com a pesquisadora americana Karen Wetterhahn da Universidade de Dartmouth. Ela morreu contaminada, alguns meses após uma ou duas gotas de dimetilHg puro terem atravessado as luvas de látex empregadas pela pesquisadora em experimento usando o composto (Baird, 2002).

Segundo Nagashima (1997) apud Azevedo (2003), a natureza neuropatológica de lesão ocorrida pela contaminação por MeHg e outros compostos organomercuriais consiste em degenerações dos nervos periféricos e a raiz dos nervos sensores. Dependendo do tempo de exposição aos organomercuriais e da intensidade, os sintomas são irreversíveis.

Portanto, compreender como o MeHg, a forma mais tóxica do Hg em ambientes naturais se distribui no ambiente é de grande interesse, ainda mais pela sua capacidade de ser bioacumulado por meio da adsorção em corpos superficiais, na ingestão de alimentos, principalmente de peixes, bem como sua entrada antrópica no ambiente, em até um milhão de

¹ A partir deste ponto, será utilizada a expressão MeHg para referir-se ao metilmercúrio.

vezes ao longo da cadeia alimentar aquática, quando comparado aos valores encontrados em águas (Baird, 2002).

1.3 Sedimentos

Sedimentos são compartimentos ambientais que possuem elevado potencial de acumulação, tanto de substâncias naturais, quanto de natureza antrópica. Tal propriedade o qualifica como uma matriz de interesse singular na avaliação dos corpos d'água, pois funciona como um excelente registro da informação ambiental, tanto no aspecto sazonal, quanto espacial, comportamento este que o distingue da pura e simples avaliação da qualidade das águas brutas. (Bevilacqua, 1996)

Quanto mais fino o sedimento, maior sua capacidade de reter substâncias químicas, devido às elevadas razões de área e superfície que partículas como argila e pequenos siltes possuem, proporcionando, portanto, grande capacidade de interação com íons e moléculas diversas.

Tem sido verificado que os sedimentos não somente demonstram potencial de acumulação de espécies químicas, mas também redistribuem tais substâncias à biota aquática. Atualmente tal fato tem sido estudado com maior detalhamento, inclusive pela amostragem da interface sedimento/água, cujos parâmetros associados podem indicar se o sedimento está absorvendo ou redistribuindo alguma substância para o corpo d'água (Bevilacqua, 1996)

Processos naturais responsáveis pela formação dos sedimentos podem ser alterados por atividades antrópicas. As análises de sedimentos fornecem informações significativas sobre o meio ambiente. Sua caracterização química é necessária para o entendimento dos processos naturais e também da influência antrópica nesses processos (IAEA, 2003).

A fração silto-argilosa de sedimentos superficiais, dada a sua composição química e mineralógica e sua superfície específica, é a fração que contém os principais carreadores geoquímicos tanto de origem natural, quanto antrópica e, conseqüentemente, apresenta as maiores concentrações de metais (Bevilacqua 1996; Forstner, 1993).

O grau de contaminação química do sedimento, com vistas à proteção da vida aquática, em sistemas de água doce, é classificado segundo os valores guias estabelecido pelo ministério do Meio Ambiente do Canadá – “Canadian Council of Ministers of the

Environment” (CCME, 2001) – para arsênio, metais tóxicos e compostos orgânicos, conforme demonstra a TAB. 1.2.

Baseados na probabilidade de ocorrência de efeito deletério sobre a biota, o menor limite - TEL (*Threshold Effect Level*) - representa a concentração abaixo da qual raramente são esperados efeitos adversos para os organismos, ou seja, concentrações abaixo deste valor são raramente associadas a efeitos biológicos adversos. O maior limite - PEL (*Probable Effect Level*) representa a concentração acima da qual é freqüentemente esperado efeito adverso para os organismos, ou seja, concentrações acima deste valor são freqüentemente associadas a efeitos biológicos adversos. Na faixa entre TEL e PEL situam-se os valores onde ocasionalmente esperam-se tais efeitos. A adoção desses valores tem caráter meramente orientador na busca de evidências da presença de contaminantes em concentrações capazes de causar efeitos deletérios, sobretudo com relação à toxicidade para a biota.

TABELA 1.2 Valores guias estabelecidos pelo “Canadian Council of Ministers of the Environment” para sistemas de água doce (CCME, 2001)

<i>Variáveis</i>	<i>TEL(mg kg⁻¹)</i>	<i>PEL(mg kg⁻¹)</i>	<i>Variáveis</i>	<i>TEL (mg kg⁻¹)</i>	<i>PEL (mg kg⁻¹)</i>
Arsênio	5,9	17	Cromo	37,3	90
Cádmio	0,6	3,5	Mercúrio	0,17	0,486
Chumbo	35	91,3	Níquel	18,0	35,9
Cobre	35,7	197	Zinco	123	315

No Brasil, até o presente momento, ainda não estão definidos os critérios para classificação da qualidade de sedimentos em relação aos teores de metais e, por isso, a CETESB utiliza os critérios do ministério do Meio Ambiente do Canadá (Environment Canada) para a classificação dos sedimentos coletados no estado de São Paulo e os valores estabelecidos pela resolução do conselho nacional do meio ambiente (CONAMA) número 344 (Brasil 2004), que estabelece valores orientadores para disposição do material dragado

em águas brasileiras, especificando valores limites de contaminantes químicos para dragagem e disposição final, que institui os mesmos valores estabelecidos pelo CCME.

O monitoramento do Hg é de extrema importância do ponto de vista ambiental e de saúde pública, uma vez que ele e seus derivados são considerados poluentes ambientais originados de várias fontes. A preocupação maior a respeito da poluição mercurial é decorrente dos efeitos à saúde relacionados à exposição ao MeHg encontrado na água e alimentos aquáticos.

1.4 Técnicas analíticas usadas na análise de sedimentos

Técnicas analíticas nucleares e relacionadas são usadas para análise de sedimentos. A espectrometria de raios gama é usada para a determinação de radionuclídeos naturais e/ou artificiais, enquanto a análise por ativação neutrônica (AAN) e fluorescência de raios X (FRX), são usadas para a caracterização multielementar. Outras técnicas não destrutivas utilizadas na análise de sedimentos são: Análise por feixe de íons (IBA) que inclui a técnica PIXE (Emissão de partículas induzidas por raios X) e “Rutherford Backscattering Spectrometry” (RBS) (IAEA, 2003).

A maioria das determinações de elementos maiores, menores e traço em sedimentos usando técnicas analíticas destrutivas, envolvem técnicas como a espectrometria de absorção atômica, espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massa (ICP-MS). Alguns métodos eletroquímicos, espectrometria de massa por diluição isotópica, métodos fluorimétricos e espectrofotométricos são usados, mas as técnicas de preparação da amostra não são diferentes.

A análise por ativação com nêutrons foi descoberta em 1936, sendo bastante utilizada para análises multielementares (Ward Center Staff, 2000). Glascock (2006) cita aplicações dessa técnica em diferentes áreas como: arqueologia toxicologia, bioquímica, geologia e análises de solo em geral.

A avaliação de sedimentos e sua correlação com o meio ambiente tornaram-se importante e necessária nos últimos anos.

A ativação neutrônica (AAN) vem sendo largamente utilizada para a análise de sedimentos e solos (Al-jundi *et. al.*, 2000, 2001; Dinescu *et. al.*, 1998, 2001; Freitas & Pacheco, 2010; Latif *et. al.*, 2009) e no Brasil, essa técnica está sendo utilizada em diferentes

estudos e regiões de interesse, pelo grupo de pesquisadores do Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica (LAN) do IPEN/CNEN – SP (Amorim *et. al.*, 2008; Arine *et. al.*, 2000; Fávares *et. al.*, 2000, 2006, 2007; Larizzatti *et. al.*, 2001; Silva, 2004)

Arine *et. al.* (2000) analisaram 24 amostras de sedimentos de fundo coletados em 6 pontos distintos (à jusante, nos limites e à montante do Centro Experimental de Aramar) nos rios Ipanema e Sorocaba, durante um período de 2 anos. As concentrações dos metais (Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn) foram determinadas por espectrometria de absorção atômica, após extração parcial com ácido acético 25%. Os demais elementos foram determinados por NAA.

Fávares *et. al.* (2000) iniciando um estudo com o objetivo de verificar se havia um registro histórico de atividade antrópica, analisaram amostras de sedimentos de um testemunho de 57 cm de profundidade do reservatório Billings, braço Rio Grande, na região da grande São Paulo, pela técnica de NAA. Determinaram-se a concentração de 26 elementos (metais, terras raras, U, Th, As e Br) e verificou-se uma grande contribuição antrópica para os metais Cr, Fe, Hg e Zn e para os elementos As, Br, Ce Co e Th. Dando continuidade a essa pesquisa, Favares *et. al.* (2007) analisaram mais 3 testemunhos de sedimentos do mesmo local e realizaram a datação pelo método de ^{210}Pb e análise multielementar por NAA em todas essas amostras. Os resultados obtidos para Hg total foram muito acima dos limites permitidos pela legislação indicando uma contribuição antrópica. Verificaram também, a partir desses resultados, que essa contaminação variava com a profundidade sendo que a primeira descarga de Hg ocorreu nos anos 50 e as mais severas, durante os anos 80 e 90. Os elementos As, Cr Hg e Zn apresentaram valores de concentração acima de TEL do CCME (2001) e os demais elementos analisados, mostraram uma tendência de decréscimo de concentração com a profundidade, dando indicação de uma contaminação recente.

Larizzatti *et. al.* (2001) analisaram testemunhos de sedimentos da Laguna Mar Chiquita, Argentina, utilizando a técnica de NAA. A partir desses resultados e dos dados de datação e medida das taxas de sedimentação, obtidas pelo método do ^{210}Pb , foi possível verificar a associação das amostras ao longo dos testemunhos com a origem dos sedimentos e também com as flutuações temporais.

Silva (2004) realizou uma caracterização química e radiológica de sedimentos do estuário de Santos, São Vicente e Baía de Santos utilizando as técnicas de NAA e espectrometria gama, respectivamente. Procurou-se avaliar as possíveis influências antrópicas

nos níveis de radioatividade dos sedimentos e dos metais e elementos traço, tanto horizontal como verticalmente e em função da granulometria.

Amorim *et. al.* (2008) analisaram 26 amostras de sedimentos de fundo coletadas no complexo estuarino-lagunar de Cananéia, São Paulo, coletadas em 2005, nos períodos de verão e inverno. A determinação multielementar dos sedimentos foi feita por NAA e Hg total por CV AAS. Os valores de concentração de As, Cr, Hg e Zn foram comparados com os valores orientadores TEL e PEL. Concluíram que as condições climáticas e os processos hidrodinâmicos e biogeoquímicos promovem diferenças sazonais nas concentrações de elementos em alguns pontos de coleta, que contribuem para distribuições especiais.

1.5 Objetivos Gerais

O presente estudo teve por objetivo, primeiramente, quantificar o Hg presente em amostras de sedimento do reservatório Rio Grande, estado de São Paulo. Em seguida, verificar sob qual forma o elemento químico Hg está disponível nessas amostras, por meio da diferenciação entre Hg inorgânico e Hg orgânico e compreender a dinâmica da conversão destas formas de Hg nesse ambiente e seus impactos ambientais e regionais.

1.5.1 Objetivos Específicos

- Desenvolver e validar a metodologia de análise de Hg orgânico em amostras de sedimentos por CV AAS
- Avaliar os aspectos que favorecem a metilação do Hg neste reservatório e suas taxas de metilação
- Além da presença de Hg, verificar a presença de outros metais e elementos traço nos sedimentos por meio de uma caracterização multielementar, utilizando-se a técnica de ativação neutrônica

CAPÍTULO 2

2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE MERCÚRIO, METILMERCÚRIO, PROCESSOS DE METILAÇÃO E METODOLOGIAS ANALÍTICAS

2.1 Mercúrio e Metilmercúrio em sedimentos

O termo organomercurial engloba todos os compostos nos quais o átomo de mercúrio está ligado a radicais orgânicos. Os mais encontrados neste compartimento ambiental são o MeHg ($\text{H}_3\text{C-Hg-X}$, onde X pode ser Cl^- , S^{2-} , OH^- ou outro ligante) e o dimetilmercúrio ($\text{H}_3\text{C-Hg-CH}_3$), existindo ainda outras formas orgânicas. Dentre os compostos orgânicos, o MeHg corresponde à cerca de 90% da forma orgânica de Hg em sedimentos, e o MeHg representa, em média, neste compartimento, apenas cerca de 1,0 a 1,5% do Hg total em ambientes não contaminados por altas concentrações de Hg (Baird, 2002; Bisinoti & Jardim 2004; Hintelmann, 1999; Ullrich *et. al.*, 2001), podendo ser menor em ambientes potencialmente contaminados, chegando a concentração de MeHg a ser 0,1 % do teor de Hg total. (Hintelmann, 1999; Ullrich *et. al.*, 2001)

O Hg é o elemento químico mais preocupante no que tange aos seus efeitos de bioacumulação e biomagnificação no meio ambiente, sendo sua forma mais tóxica justamente o MeHg, um composto bem estável em águas naturais, mas nem tanto em sedimentos, que dependendo das condições físico-químicas destes, podem funcionar como sumidouro ou fonte de MeHg (Bisinoti & Jardim, 2004; WHO, 1976, 1990).

O Hg inorgânico, Hg^{+2} , quando em sedimento é estável e geralmente não disponível para a biota aquática. O contrário pode-se dizer para o MeHg, que além de ser mais facilmente disponível para a ictiofauna, tem uma meia-vida longa e uma eliminação muito lenta pelos organismos quando comparada a outras formas de Hg, inclusive o inorgânico e o metálico (WHO, 1976). Portanto, observa-se uma grande capacidade de bioacumulação deste ao longo da cadeia alimentar aquática, fato que causa grande preocupação quanto a ecotoxicologia deste elemento. Em amostras biológicas (peixes, mariscos e mexilhões), os

teores de MeHg variaram entre 35 e 100% do Hg total, demonstrando que o potencial tóxico do MeHg é muito maior do que o do inorgânico (Kehrig *et. al.*, 2002).

Em função do acima exposto, surge a necessidade de se conhecer o comportamento e a forma na qual se encontra o Hg em sedimentos no Reservatório do Rio Grande e se há tendências para a ocorrência do processo de metilação, por ser um reservatório que abastece a cerca de 1,6 milhões de pessoas, circundado por duas cidades onde uma das alternativas de consumo da população é a pesca de peixes deste reservatório onde há o conhecimento de grandes quantidades de Hg total em seu sedimento.

2.2 Fatores que afetam a metilação

O ciclo e a distribuição de Hg entre o sedimento e as fases aquosas podem ser física, química ou biologicamente mediado e, portanto, podem ser afetadas por parâmetros tais como pH, temperatura, condições redox, a disponibilidade de nutrientes e agentes complexantes. Isto deve ser considerado quando se avalia o efeito de fatores ambientais sobre a metilação do Hg.

Os sedimentos de rios, lagos e oceanos poluídos com Hg são perigosos porque o Hg confinado pode permanecer ativo como substrato para a metilação por cerca de 100 anos, mesmo quando a fonte é eliminada. A distribuição de Hg nos sedimentos está relacionada com o conteúdo de carbono orgânico, argila, ferro, fósforo, potencial redox e enxofre, dentre outros (Bisinoti & Jardim, 2004).

A maioria dos estudos publicados aponta que a metilação pode ocorrer em condições aeróbias e anaeróbias, sendo dependente das características de quantidade de matéria orgânica, presença de sulfeto, dentre outros (Bisinoti & Jardim, 2004; Ullrich *et. al.*, 2001).

É importante notar que ambos os processos de metilação e desmetilação ocorrem simultaneamente. Concentrações ambientais de MeHg refletem a metilação líquida ao invés de taxas reais de síntese de MeHg. Parece que o efeito combinado da produção e degradação dos organomercuriais leva a um estado de equilíbrio com um nível quase constante destes em sedimentos que raramente ultrapassa os 1,5% da concentração total de Hg (Ullrich *et. al.*, 2001).

O balanço das reações de metilação e desmetilação determina se um ambiente atuará como fonte ou sumidouro de MeHg, assim como de organomercuriais. A dinâmica do MeHg no ambiente não está totalmente esclarecida, muito embora existam diversos trabalhos na literatura centrados na dinâmica de geração e consumo do MeHg em variadas matrizes ambientais (Bisinoti & Jardim, 2004; Miranda *et. al.*, 2007). A degradação do MeHg em água e sedimento pode, assim como na metilação, ser mediada microbiologicamente por bactérias aeróbias e anaeróbias. Os principais produtos desta degradação são o Hg metálico e o metano, sendo a decomposição fotolítica a principal via de decomposição abiótica (Bisinoti & Jardim, 2004).

Chen *et. al.* (1996) relata que sedimentos com valores muito altos de Hg (100 mg kg^{-1}) podem inibir a metilação pelo fato do próprio Hg inibir a atividade microbiana, devido ao alto teor de HgS do sedimento.

A metilação do Hg ocorre predominantemente nos sedimentos e em menor extensão, na coluna d'água. Entretanto, Guimarães *et. al.* (1998) afirma que em macrófitas aquáticas flutuantes as taxas de metilação podem ser até nove vezes maiores do que em sedimentos, sendo que nestes o MeHg ocorre em sua camada superficial até no máximo cerca de cinco centímetros de profundidade, visto estes autores terem detectado MeHg até esta profundidade.

Os processos de metilação do Hg requerem a presença de convenientes doadores de grupos metila. Em ambientes aquáticos naturais existe uma grande variabilidade de potenciais doadores de moléculas, muitos destes biologicamente sintetizados. Considerando que primeiramente foi assumido que a metilação de Hg exige a presença de bactérias, tanto os mecanismos de metilação microbiano e abiótico são conhecidos, embora o último seja considerado de menor relevância (Ullrich *et. al.*, 2001).

2.2.1 Metilação biótica e abiótica

O Hg inorgânico pode ser metilado em condições aeróbias e anaeróbias por dois mecanismos distintos: o biológico ou biótico e o abiótico. O biótico é mediado por microorganismos, que ocorrem principalmente por meio da reação com a metilcobalamina, um composto derivado da vitamina B₁₂. Ela pode estar disponível em quantidades significativas no ambiente, porque é uma coenzima produzida pelas bactérias tanto aeróbias

quanto anaeróbias, sendo predominante neste último. (Bisinoti & Jardim, 2004; Miranda *et. al.*, 2007; Ullrich *et. al.*, 2001).

A maioria dos estudos tem focado a metilcobalamina como a enzima capaz de realizar a transferência do grupo metil para o Hg sobre a forma de Carbanion (H_3C^-), sendo que este processo ocorre no interior das células bacterianas (Miranda, 2007; Ullrich *et. al.*, 2001).

Há divergências sobre uma maior formação do MeHg em meio aeróbio ou anaeróbio. Para alguns autores, é esperada maior metilação em meio aeróbio; no entanto, isto nem sempre é observado. Em ambientes aeróbios a matéria orgânica e outros agentes oxidantes podem oxidar o Hg para Hg^{+2} , enquanto o processo inverso é observado em ambientes anaeróbios, especialmente na presença de ácido húmico. (Bisinoti & Jardim, 2004).

Segundo Compeau & Bartha (1985), os organismos capazes de metilar o Hg foram encontrados entre os anaeróbios, anaeróbios facultativos e aeróbios. Mas, o potencial para a metilação microbiana geralmente se pensa ser maior em condições anaeróbias, e as bactérias redutoras de sulfato foram identificadas como as principais metiladoras de Hg inorgânico em sedimentos anaeróbios.

Miranda *et. al.* (2007) citam que a eficiência da metilação biótica do Hg depende muito mais da atividade microbiana do que necessariamente da quantidade de Hg total existente nos sedimentos.

O outro mecanismo, o químico ou abiótico, pode ocorrer por três caminhos principais: (a) via reação de transmetilação; (b) por meio da radiação ultravioleta na presença de compostos orgânicos doadores do grupo metila e (c) por reação com os ácidos fúlvico e húmico (Bisinoti & Jardim, 2004)

Segundo Ullrich *et. al.*, (2001), diversos autores afirmam que a metilação puramente química do Hg também é possível se adequados grupos metil doadores estiverem presentes. Como exemplo, pode-se citar os grupos organosiloxanos e outros compostos orgânicos contendo silício que são considerados metiladores. Sugere que a metilação pode também ocorrer como um resultado de reações de transmetilação entre o Hg e compostos alquilados de As, Sn e Pb, usados como aditivos da gasolina.

Weber (apud Ullrich *et. al.*, 2001) cita que o material húmico pode ser outro significativo agente de metilação ambiental, sendo demonstrado a formação abiótica de MeHg

por compostos húmicos. Entretanto, Miranda *et. al.* (2007) apontaram que a velocidade deste tipo de reação é muito mais lenta do que as mediadas bioticamente.

A metilação de Hg pode se biótica ou abiótica ou pode envolver os dois processos simultaneamente, entretanto os processos bióticos são mais freqüentes e predominantes. Berman & Bartha (apud Ullrich *et. al.*, 2001) demonstraram que em sedimentos anóxicos os níveis de MeHg resultantes da metilação química ou fotoquímica são aproximadamente uma ordem de magnitude menor do que a metilação bioquímica.

2.2.2 Aspectos Microbiológicos

Microorganismos desempenham um papel essencial no ciclo aquático do Hg e catalisam muitas das inter-conversões entre as diferentes formas de Hg, tais como as conversões de Hg^{+2} para MeHg e dimetilmercúrio, e a redução de Hg^{+2} para Hg^0 . Mesmo apesar de sua elevada toxicidade, muitas bactérias são conhecidas por terem desenvolvido mecanismos de resistência para o Hg. (Azevedo, 2003; Miranda, *et. al.*, 2007; Ullrich *et. al.*, 2001)

Diversos estudos têm indicado que as bactérias anaeróbicas redutoras de sulfato (BRS) como principal agente metilador do Hg inorgânico em sedimentos tanto estuarinos quanto de água doce (Azevedo, 2003; Bisinoti & Jardim, 2004; Miranda, *et. al.*, 2007; Ullrich *et. al.*, 2001)

Compeau & Bartha (1985) concluíram que a inibição da sulfato-redução em amostras ambientais, provocou uma diminuição acentuada das taxas de metilação de Hg em sedimentos e, inibindo a metanogênese, não houve redução nas taxas de metilação do sedimento, indicando que, provavelmente, as bactérias metanogênicas não mediam o processo de metilação e sim as bactérias redutoras de sulfato, sendo este estudo o precursor de diversos outros focando as BRS como as principais metiladoras de Hg.

A atividade de metilação de Hg em sedimentos é freqüentemente correlacionada com as taxas de sulfato-redução ou com a distribuição de população de BRS, mas nem todas as BRS são capazes de realizar a metilação do Hg. Muitos estudos têm focado na população do gênero *Desulfovibrio*. Ranchou-Peyruse *et. al.* (2009) em seus estudos concluíram que nem todas as espécies de *Desulfovibrio* realizam a metilação de Hg. O autor menciona também que existem determinadas cepas que não conseguem uma reprodução satisfatória em condições com altos teores de Hg e outras, que apresentam comportamento indiferente.

Ekstrom & Morel (2008) realizaram estudos com duas cepas de BRS, a *Dessulfococcus multivorans* e *Dessulfovibrio africanus* em relação às taxas de metilação que estas cepas produziram na presença e ausência de Co inorgânico, visto este elemento ser o átomo central da metilcobalamina. Concluíram que o Co é fator limitante para o crescimento e conseqüente metilação de Hg para *Dessulfococcus multivorans*, mas que não causa limitações significativas para *Dessulfovibrio africanus*.

O gênero *Desulfovibrio* é anaeróbio obrigatório, caracterizando sua respiração pela redução de sulfatos e outros compostos de enxofre redutíveis à H₂S. Também oxidam lactato, piruvato e malonato a acetato e gás carbônico. A temperatura ótima para seu crescimento é entre 25 e 35°C e o pH entre 5,5 e 9,0; sendo o valor ótimo 7,2. Não sobrevivem em ambientes com presença de oxigênio ou luminosidade natural intensa (CETESB, 1989).

No mecanismo de respiração, o íon sulfato atua como receptor terminal de elétrons em lugar do oxigênio. Crescem em condições redutoras bem severas, com potencial redox na ordem de -100 mV (em relação ao sistema Prata/cloreto de prata). Condições como esta, associadas a altas concentrações de sulfato, proporcionam o ambiente adequado para o desenvolvimento destas bactérias (CETESB, 1989).

A metilação bacteriana ainda é favorecida por ambientes com apropriadas concentrações de material orgânico e elevadas taxas de decomposição, sendo favorecidas por águas ricas em carbono orgânico dissolvido (Bisinoti & Jardim, 2004).

Diversos autores citados por Ullrich *et. al.* (2001), afirmam que a disponibilidade de nutrientes é um importante fator que controla a metilação microbiana de Hg em sistemas aquáticos. A metilação e as taxas de redução de sulfato são geralmente maiores nas camadas superiores do sedimento, onde a atividade microbiana e o fornecimento de nutrientes são maiores e há matéria orgânica suspensa. Vários estudos têm encontrado boas e positivas correlações entre o conteúdo de matéria orgânica do sedimento e a produção de MeHg.

A eficiência de produção microbiana de MeHg parece depender principalmente da atividade e estrutura da comunidade bacteriana, a disponibilidade de Hg, de nutrientes e a abundancia de aceptores de elétrons tais como sulfato. Em baixas concentrações o íon SO₄⁻² estimula tanto a redução de sulfato como a metilação. A adição *in situ* de pequenas quantidades de SO₄⁻² pode liderar o incremento da produção de MeHg em ambientes aquáticos quando a concentração de sulfato é limitante (Ullrich *et. al.*, 2001).

Curiosamente, as mesmas bactérias que são as principais responsáveis pela produção de MeHg também parecem mediar a degradação deste. As BRS e as metanogênicas são importantes desmetiladoras em estuários e sedimentos de água doce (Ullrich *et. al.*, 2001). Bisinoti & Jardim (2004) também citam que em adição a metilação, as bactérias presentes no sedimento podem também desmetilar o MeHg, via reação reversa.

Outros fatores que podem afetar os processos de metilação e/ou desmetilação microbiana do Hg são discutidos a seguir. Em muitos casos, estes parâmetros parecem afetar a metilação, controlando a biodisponibilidade do Hg inorgânico. A produção de MeHg em sistemas aquáticos naturais parece depender, em grande parte, das condições ambientais que determinam se a metilação bacteriana será dominante ou não.

2.2.3 Matéria orgânica e enxofre (S)

O papel da matéria orgânica na metilação do Hg permanece indefinido quanto a funções mais precisas. Parece que, por um lado, o carbono orgânico pode aumentar a taxa de metilação, estimulando a atividade dos microrganismos heterotróficos, ou através de metilação abiótica direta do Hg por substâncias húmicas ou fúlvicas. Por outro lado, a metilação do Hg pode ser inibida em altas concentrações de COD (carbono orgânico dissolvido), devido ao aumento da complexação do Hg com ligantes orgânicos, reduzindo a biodisponibilidade de Hg para as bactérias, em particular na faixa de pH neutro. As diferenças observadas podem, em parte, refletir diferentes mecanismos de metilação.

Os agentes orgânicos complexantes solúveis em água, tais como humatos e fulvatos, podem quelar as espécies solúveis e insolúveis na água, que se precipitam no sedimento. O pH ácido favorece a absorção do Hg pelo húmus. No entanto, em pH básico o Hg tem maior afinidade pela fração mineral, desfavorecendo a formação do MeHg (Bisinoti & Jardim, 2004).

Do mesmo modo que a matéria orgânica é um excelente substrato para o pleno desenvolvimento das BRS, muitos trabalhos (apud Ullrich *et. al.*, 2001; Ravichandran, 2004; Miranda *et. al.*, 2007) relatam a diminuição da metilação em altas concentrações de matéria orgânica, e sugerem que o carbono orgânico dissolvido (COD) pode ter um efeito atenuante sobre a produção e/ou bioacumulação de MeHg em águas naturais, visto que este pode blindar o Hg⁺² e não deixá-lo disponível para a metilação pelas bactérias. Tais autores relatam que os níveis naturais de COD não tiveram nenhum efeito sobre a produção de MeHg em sedimentos

embora tenham melhorado sua solubilidade em água. Contudo, foi demonstrado que a produção de MeHg na água de lagos é reduzida em altas concentrações de COD, presumivelmente como resultado da complexação de Hg inorgânico com matéria orgânica. A redução do pH de 7,0 para 5,0 aumentou significativamente as taxas de metilação tanto em baixas quanto em altas concentrações de COD (6 a 31 mg L⁻¹), possivelmente devido à competição de H⁺ com Hg⁺² para os sítios de ligação carregados negativamente e aumento da biodisponibilidade de Hg.

Barkay *et. al.* (apud Ullrich *et. al.*, 2001), demonstraram que o COD afeta a taxa de síntese de MeHg, reduzindo a disponibilidade de Hg⁺² para metilação por bactérias. No entanto, a natureza exata da interação Hg-COD ainda é desconhecida. A redução da biodisponibilidade de Hg foi mais pronunciada em pH neutro (pH 7) do que em ácido (pH 5).

Cabe ressaltar também que em ambientes aeróbios a matéria orgânica pode oxidar o Hg⁰ para Hg⁺², sendo o processo inverso observado em ambientes anaeróbios, especialmente na presença de ácido húmico. No entanto, a função do ácido húmico ainda não é muito clara dentro dos processos de metilação, visto ser este um estimulante das atividades bacterianas, atuando como substrato e também blindando o Hg ligando-se fortemente a ele, reduzindo desta forma sua biodisponibilidade em ambientes tropicais (Bisinoti & Jardim, 2004; Ravichandran, 2004).

A disponibilidade do Hg para as reações de metilação pode, também, ser diminuída pela complexação com ligantes de enxofre. A degradação da matéria orgânica em ambientes aquáticos leva à produção de compostos de baixa massa molecular de S que podem, potencialmente, formar complexos com Hg⁺² que não ficariam disponíveis para interagir com a biota aquática. Por outro lado, o aumento do consumo de oxigênio durante a degradação da matéria orgânica faz com que, progressivamente, ocorram mais condições anóxicas na interface sedimento/água, o que pode levar à mobilização do potencial de metilação do Hg inorgânico (Ravichandran, 2004; Ullrich *et. al.*, 2001).

O sulfeto desempenha um papel importante na química de sedimentos anaeróbios onde é produzido, como resultado da redução do sulfato por via bacteriana. Condições de altas concentrações de sulfeto são desenvolvidas em um ambiente anóxico. Diversos estudos (apud Ullrich *et. al.*, 2001) observaram que altas concentrações de sulfetos parecem inibir a formação de MeHg em sedimentos. Em alguns destes foi observada uma relação inversa entre as concentrações de sulfetos dissolvidos e a produção ou concentração de MeHg em sedimentos ou nas águas intersticiais destes sedimentos e, também, que outros trabalhos

sugerem que a presença de altas quantidades de sulfeto pode favorecer a conversão do MeHg em dimetilmercúrio. A formação de dimetilmercúrio é considerada uma das formas potenciais de redução do conteúdo de MeHg de sedimentos aeróbios com altos teores de sulfeto.

É comum especular-se que os efeitos inibitórios do sulfeto na metilação do Hg é resultado do decréscimo da solubilidade e biodisponibilidade do Hg^{+2} devido à precipitação deste com HgS. Entretanto, altas concentrações de Hg(II) dissolvido em águas intersticiais de sedimentos sulfídricos indicam que a solubilidade do HgS tende a aumentar na presença de excesso de sulfetos, devido a formação de complexos solúveis de sulfetos (Bisinoti & Jardim, 2004; Ravichadran, 2004; Ullrich *et. al.*, 2001).

A metilação abiótica direta através de ácidos húmicos e fúlvicos geralmente é considerada como de menor importância, mas é plenamente possível de ocorrer quando há uma grande quantidade de compostos orgânicos disponíveis (Miranda *et. al.*, 2007; Ullrich *et. al.*, 2001).

2.2.4 Temperatura, pH e condições redox

As variações sazonais na produção e decomposição de MeHg, geralmente, têm sido atribuída aos efeitos da temperatura, mas também podem ser relacionadas com as mudanças sazonais nas condições de produtividade e oferta de nutrientes, além das condições redox.

Callister & Winfrey (1986) relatam que as taxas de metilação tendem a decrescer com a diminuição da temperatura, devido à diminuição nas taxas de crescimento e metabolização de bactérias e reportam que em sedimentos superficiais de rios, a temperatura ótima de metilação é de 35°C. Guimarães *et. al.* (1998) em estudos realizados no Pantanal, também indicaram que a temperatura ideal para metilação está na faixa de 33° C a 45° C.

Diversos trabalhos concluíram que a desmetilação é favorecida em baixas temperaturas, enquanto que a metilação é favorecida com temperaturas mais elevadas, liderando o incremento produtivo de MeHg no verão (Callister & Winfrey, 1986; Muresan *et. al.*, 2008).

Condições de pH ácido, geralmente facilitam a liberação de metais tóxicos de sedimentos e partículas em suspensão, mas segundo Ullrich *et. al.* (2001) os dados sobre a partição e mobilidade de Hg são um pouco contraditórios. Xun *et. al.* (apud Ullrich *et. al.*,

2001), afirma que altos valores de pH (maiores que 8,0) podem favorecer a formação de dimetilmercúrio, sendo que a produção de MeHg em água de lagos é cerca de 7 vezes mais rápida em pH ácido (por volta de 4,5) do que em pH alcalino (maior que 8,5).

Um decréscimo no pH na interface água-sedimento em condições aeróbias, resulta em um incremento de duas a três vezes a produção de MeHg. Miskimmin *et. al.* (apud Ullrich *et. al.*, 2001), relataram também que uma redução do pH de 7 para 5 aumenta, de modo significativo, as taxas de metilação. Por outro lado, em sedimentos anaeróbios, a produção de MeHg geralmente decresce em baixos valores de pH.

Uma das maneiras na qual o pH pode afetar a metilação pode ser pela diminuição da atividade microbiana em condições ácidas, causando uma diminuição correspondente nas taxas de metilação bacteriana. Miskimmin *et. al.* (apud Ullrich *et. al.*, 2001), descobriram que as taxas de respiração microbiana tiveram um efeito muito pequeno sobre a produção líquida de MeHg em águas de represas e foram insensíveis a mudanças de pH entre pH 5 e 7. No entanto, há indícios de que a atividade de bactérias redutoras de sulfato pode ser significativamente diminuída na faixa de pH ácido.

Segundo Ullrich *et. al.* (2001), parece que as condições ácidas geralmente favorecem a metilação de Hg em água doce e na interface sedimento/água, ao passo que a metilação em sedimentos anóxidos é menor, possivelmente, devido ao aumento na atividade de desmetilação em baixos valores de pH (pH ácido). Águas doces ácidas, portanto, podem levar ao aumento da taxa de metilação na fase água, mas é improvável que afetem substancialmente a metilação em sedimentos mais profundos. As diferenças observadas no efeito do pH sobre a metilação de Hg nas águas e sedimentos, podem estar relacionadas às diferenças nas condições redox.

Não está claro se o estímulo à metilação em águas doces é um efeito direto do pH ácido sobre o processo de metilação, ou se está relacionado a outros fatores que são influenciados pelo pH, como a perda de espécies voláteis de Hg da superfície água, ou alterações na solubilidade e partição do Hg. Winfrey & Rudd (1990), apresentam a hipótese de que a provável diminuição nos sítios de ligação do COD em baixos valores de pH, resultantes da protonação de grupos funcionais podem estimular a metilação através da promoção da ligação do Hg diretamente para as células microbianas. O aumento da concentração de MeHg na fase aquosa em pH ácido também é suscetível de ser parcialmente atribuído ao aumento da dessorção de MeHg em sedimentos superficiais (Miller & Akagi, 1979). Portanto, não refletem, necessariamente, maior metilação, indicando ainda que o pH

apenas controla a partição sedimento/água em relação ao MeHg, não tendo impactos em seus processos de metilação.

Em ambientes naturais, as taxas de metilação acabam sendo maiores em sedimentos anóxicos e é aceito que a metilação do Hg tem lugar principalmente em condição anaeróbia (Ullrich *et. al.*, 2001).

Segundo alguns autores (apud Ullrich *et. al.*, 2001), as taxas de metilação e de estabilidade em sedimentos para o MeHg parecem ser melhoradas em condições anaeróbias. A metilação do Hg em sedimentos estuarinos é fortemente favorecida em baixos valores de E_H , (cerca de -220 mV, apontado por Ullrich *et. al.* 2001) e a oxigenação dos sedimentos inibe a metilação microbiana, enquanto que a degradação do MeHg parece ser mais favorecida em condições aeróbias. Em águas intersticiais de sedimentos, as concentrações de MeHg foram muito baixas na zona aeróbia, mas foram elevadas nas camadas anóxicas sugerindo que a máxima atividade de metilação em sub-superfície, logo abaixo da interface sedimento/água, são causadas pelo aumento da produção de MeHg sob condições moderadamente anaeróbias, enquanto a degradação bacteriana de MeHg é dominante na zona de superfície oxigenada, e nas camadas mais profundas do sedimento, onde condições fortemente sulfeto-redutoras, limitam a disponibilidade de Hg para a metilação. Concentrações de MeHg nos sedimentos também são influenciados pelos ciclos redox de óxidos de Fe e Mn que controlam parcialmente as concentrações de Hg dissolvido na água intersticial de sedimentos influenciando na biodisponibilidade do Hg (Ullrich *et. al.*, 2001).

O aumento da decomposição de matéria orgânica e produção primária durante os meses de verão tornam os sedimentos progressivamente mais anóxicos, que juntamente com as temperaturas mais elevadas, geralmente supõe-se ter um efeito estimulante sobre a atividade de metilação bacteriana.

Em resumo, é evidente que a metilação microbiana é mediada e geralmente favorecida por condições anaeróbias, enquanto a desmetilação é favorecida por condições aeróbias. Por outro lado, a metilação abiótica parece ser em grande parte aeróbia. O estado redox e o pH do sedimento também afetam a partição de espécies de Hg entre os sedimentos e fases de água.

Além disto, em relação aos mecanismos de metilação, não existe um consenso sobre quais são as condições mais ou menos favoráveis ao processo, visto que diversos fatores influenciam o mecanismo sendo citado por Bisinoti & Jardim (2004), que talvez seja

necessário um estudo em cada ambiente específico para determinar estas condições e a tendência do comportamento de metilação ou desmetilação.

2.3 O ciclo do elemento mercúrio na natureza

O MeHg apresenta elevada toxicidade para os seres humanos e animais, devido ao seu acúmulo na biota e sua biomagnificação na cadeia alimentar aquática. O interesse pelo transporte e dinâmica do Hg e do MeHg no ambiente é necessário para prever o impacto potencial sobre os seres humanos, sendo a principal fonte antrópica a poluição industrial (principalmente das indústrias de cloro-alcali e de lâmpadas fluorescentes), as atividades de garimpo e as deposições de Hg originadas também por deposição atmosférica e de origem vulcânica. (Baird, 2002; Bisinoti & Jardim, 2004; WHO, 1991). Tal interesse pela compreensão do ciclo biogeoquímico deste elemento ocorreu principalmente após o incidente de Minamata.

O ciclo biogeoquímico do Hg é caracterizado pelas várias rotas que este composto pode seguir no ambiente. Dentre elas destaca-se sua liberação do solo e da água para atmosfera, devido a sua alta volatilidade e ao processo comum de degaseificação da crosta terrestre. Ocorre também a deposição atmosférica das espécies de Hg para a água e solo. Quando em contato com o solo ou sedimento, pode ocorrer sorção do Hg na forma insolúvel, seguida de metilação/desmetilação. O ciclo é completado pelas rotas de precipitação, bioconversão em formas voláteis ou solúveis, reiteração deste na atmosfera ou bioacumulação na cadeia alimentar aquática ou terrestre (Azevedo, 2003; Bisinoti & Jardim, 2004; WHO 1976).

O conhecimento do ciclo biogeoquímico do Hg no ambiente é de extrema importância para se entender o grau de toxicidade do Hg e seus compostos. Mais do que 85% do estoque total de Hg na biota de água doce está na forma de MeHg, indicando que a formação deste é o processo chave que regula o conteúdo de Hg neste compartimento (Azevedo, 2003; WHO, 1991).

A FIG. 1.3 apresenta um esquema do ciclo do Hg na natureza, indicando as principais reações que podem ocorrer no sedimento ou solo, água e atmosfera. Nota-se uma grande influência das bactérias e da luz solar no ciclo do Hg, caracterizando as transformações do Hg metálico, inorgânico e MeHg (Baird, 2002; Bisinoti & Jardim, 2004).

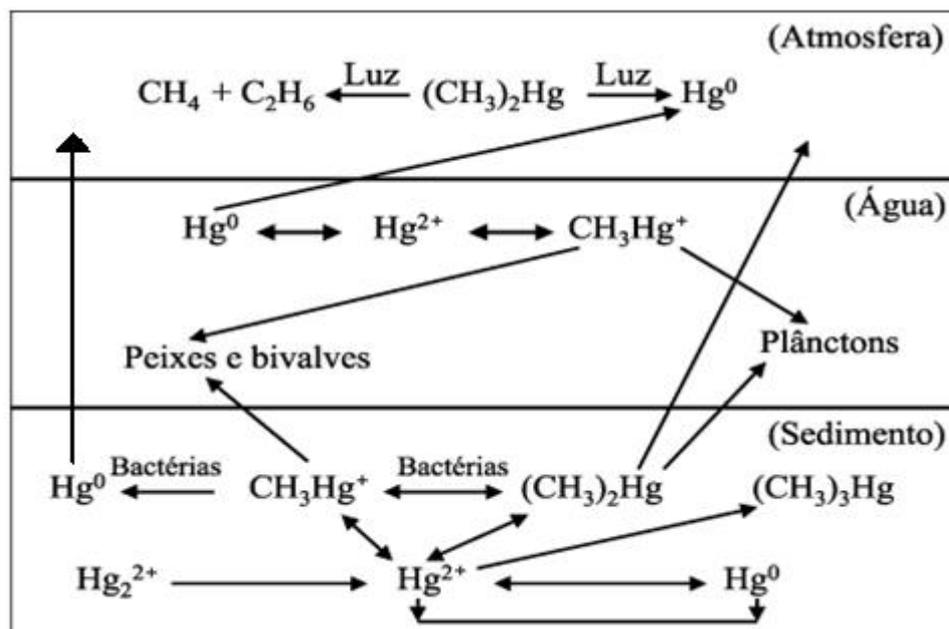


FIGURA 2.1 – Ciclo do Hg em ambientes naturais (Bisinoti & Jardim, 2004)

2.4 Técnicas analíticas para a determinação de Hg inorgânico e orgânico

Como já citado, após o acidente de Minamata as pesquisas sobre novas possibilidades analíticas para detecção de Hg e seus compostos orgânicos aumentaram, assim como o estudo sobre sua mobilidade no meio ambiente e biomagnificação na cadeia trófica, incluindo as análises destes compostos em urina, sangue e cabelo humanos e matrizes ambientais como água, solo, sedimento, peixes e crustáceos.

Littlejohn et.al. (1976) desenvolveram um procedimento para análise de Hg total e inorgânico em urina por CV AAS (Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry - Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio), sendo o Hg extraído da amostra de urina com L-cisteína em solução ácida com ácido nítrico. Após a extração adicionou-se o cloreto estânico para redução do Hg e elevou-se o pH da amostra, liberando-se o Hg inorgânico para determinação por CV AAS. Em relação ao Hg total, segue-se o mesmo procedimento com a adição de cloreto de cádmio junto ao cloreto estânico no frasco. O Cd reage com os compostos organomercuriais substituindo o Hg na estrutura orgânica e liberando o Hg, que foi prontamente reduzido pelo cloreto estânico.

Horvat et. al. (1993) compararam a destilação com KCl e H_2SO_4 a outras diversas formas de extração de MeHg em amostras de sedimentos, citando também possíveis

interferentes e outras correlações com parâmetros ambientais, tais como teores de sulfeto e carbono orgânico total.

Pinheiro *et. al.* (2000) fizeram uma avaliação da exposição humana ao MeHg em comunidades ribeirinhas do rio Tapajós, no estado do Pará, região caracterizada pela atividade garimpeira de ouro. As amostras para Hg total foram analisadas por AAS (Atomic Absorption Spectrometry – Espectrometria de Absorção Atômica) com pré-concentração em fio de ouro (amalgamador) e as análises de MeHg, realizadas por cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons.

Kehrig *et. al.* (2002) conduziram um estudo na baía de Guanabara entre os anos de 1990 e 2000, em amostras de água e organismos de três diferentes níveis tróficos, mexilhões (*Perna perna*), peixes não carnívoros (*Mugil liza*) e peixes carnívoros (*Micropogonias furnieri*) nas águas da baía, impactadas com matéria orgânica proveniente da Baixada Fluminense, óleos e metais pesados. As amostras de Hg total em tecidos e águas foram determinadas por espectrometria de absorção atômica com sistema de injeção em fluxo (FIMS – Flow Injection Mercury System) com borohidreto como agente redutor, e o MeHg através de uma digestão com KOH em meio alcoólico, seguida por uma extração com ditizona e tolueno e analisadas por GC-ECD (gás chromatography – electron capture detector – Cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons).

Yang *et. al.* (2002) descreveram uma metodologia para análise de Hg total em tecidos biológicos utilizando a espectrometria de absorção atômica com utilização de forno de grafite recoberto com uma liga de paládio e zircônio e uma técnica de concentração de amostras na qual se obtêm limites de detecção da ordem de $0,033 \text{ mg kg}^{-1}$, sendo as amostras digeridas em forno de microondas com HNO_3 a 10%.

Lazo & Cullaj (2002) determinaram as diferentes formas de Hg nas águas do mar em duas cidades da Albânia e descreveram um método para determinar Hg total e orgânico por CV AAS. A amostra foi acidificada com ácido sulfúrico e extraída com tolueno e brometo de potássio. Após agitação, a fase orgânica foi coletada e adicionou-se cloreto de amônio na fase orgânica para uma re-extração. A fase inorgânica foi coletada para a determinação do Hg total e do inorgânico. A amostra foi separada em duas porções, sendo a primeira utilizada para a determinação do Hg inorgânico. Esta foi aquecida a $80\text{-}90^\circ\text{C}$ com H_2SO_4 a 5% por 30 minutos e determinada por CV AAS, com redução por cloreto estânico. A outra parte foi digerida em vaso aberto com H_2SO_4 , HNO_3 , H_2O_2 e $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a temperatura de $80\text{-}90^\circ\text{C}$ por 3

horas e a amostra foi analisada para Hg total por CV AAS com redução por cloreto estanoso. A diferença entre a primeira e a segunda etapa, corresponde ao Hg orgânico.

Logar *et. al.* (2002) desenvolveram um método para determinação simultânea de Hg inorgânico e MeHg em águas naturais. O método foi baseado na extração simultânea do Hg inorgânico e MeHg na forma de ditizonato com tolueno, após lixiviação ácida da amostra com H_2SO_4 , $KMnO_4$, $NaOH$, $NH_2OH \cdot HCl$ e EDTA sódico, seguido pela extração do ditizonato de Hg com uma solução de ditizona em tolueno. A fase orgânica foi extraída com Na_2S em solução alcalina/alcoólica. No extrato aquoso, adicionam-se algumas gotas de HCl e 1 mL de tolueno. O excesso de Na_2S foi removido como H_2S formado por purga com N_2 . O pH da amostra foi ajustado em 4,9 com um tampão de acetato e adicionou-se uma solução a 1% de tetraetilborato de sódio. A amostra foi acondicionada em vasos fechados para reação sem borbulhamento. O Hg inorgânico presente na amostra formou dietilmercúrio $(CH_3CH_2)_2Hg$ e o MeHg formou etilmetilmercúrio $(CH_3HgCH_2CH_3)$, sendo então passados por uma coluna cromatográfica isotérmica para separação e quantificados por CV AFS (Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry – Espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio.)

Serfor-Armah *et. al.* (2004) analisaram Hg total em sedimentos dos rios de Gana. O método analítico escolhido foi a análise por ativação neutrônica (NAA) por ser seletiva, precisa, sensível e multielementar. Foram preparadas seis réplicas de cada amostra, pesadas e irradiadas por uma hora, e, após um determinado tempo de decaimento, foi realizada a contagem com sistema de espectrometria de raios gama durante 30 minutos, sendo as intensidades dos espectros acumuladas por meio de um analisador multi-canal (MCA). Foi utilizado o fotopico de Hg (77,3 keV) do ^{197}Hg para qualificar e quantificar o Hg total pelo método de comparação com uma solução padrão pura de Hg, sendo realizados spikes em todas as amostras de água, um branco dos frascos irradiados e a análise do material de referência IAEA 405.

Siqueira *et. al.* (2005) analisaram Hg total em vários pontos no estuário de Santos. As amostras de sedimento após a coleta foram secas em estufas com circulação de ar a 40 °C por 48 horas, peneiradas em peneira de malha 0,063 mm e digeridas com V_2O_5 e HNO_3 , sendo determinadas posteriormente por ICP OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry - Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente) com o auxílio da geração de vapor frio, atingindo-se limites de detecção instrumental de $10 \mu g kg^{-1}$.

Bisinoti *et. al.* (2006) propuseram um método para quantificação do Hg orgânico (compostos orgânicos contendo Hg, incluindo o MeHg), tanto para águas naturais como também solos e sedimentos, baseado na extração dos compostos orgânicos com HCl 6 mol L⁻¹ em ultra-som por 15 minutos seguido da adição de CH₂Cl₂ com agitação em agitador orbital por 12 horas a 150 rpm. Após decantação, a fase orgânica era separada e aquecida a 50°C, para remoção do excesso de cloreto de metileno, com purga de N₂. A seguir, adicionou-se à amostra uma solução de BrCl (cloreto de bromo) e esta solução produz Cl₂, que consegue oxidar a ligação do Hg com os grupos orgânicos, disponibilizando o Hg⁺², sendo depois reduzido com SnCl₂, e determinado por CV AFS, com auxílio de amalgamador.

Farias *et. al.* (2009) descreveram a metodologia para análise de Hg e MeHg em amostras biológicas (peixe e cabelo) utilizando a separação do Hg orgânico do inorgânico por cromatografia iônica e a detecção do Hg por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS).

WCAS (2007) determinou MeHg em amostras de tecidos biológicos por meio de uma extração com a mistura de L-cisteína e 2-mercaptoetanol, seguida de uma digestão em microondas. As amostras, após digestão, foram conduzidas a uma coluna para separação dos compostos e determinadas por ICP-MS (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry - Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente) com nebulizador pneumático.

Delgado *et. al.* (2007) determinaram MeHg em sedimentos e materiais de referência com diferentes técnicas de extração e analisaram por CG-AFS e CG-MS. Discutiram também sobre as possibilidades de metilação que podem ocorrer de acordo com as etapas de extração e demais condições analíticas.

Windmüller *et. al.* (2007) em trabalho desenvolvido na região de Ouro Preto, Minas Gerais, realizaram as análises de sedimentos com digestão na presença de permanganato e analisaram o Hg total por CV AAS. A especiação de Hg foi realizada por meio da técnica de TDAAS (Termo Desorption Atomic Absorbance Spectrometry - termodessorção acoplada à absorção atômica) com correção por lâmpada de deutério. Esta especiação foi aplicada para as formas inorgânicas de Hg.

A US EPA possui diversas metodologias para determinação tanto de Hg total quanto de MeHg em matrizes ambientais. O método 1630E (US EPA, 2002) determina Hg total em amostras aquosas por meio da oxidação dos compostos de Hg presentes na amostra

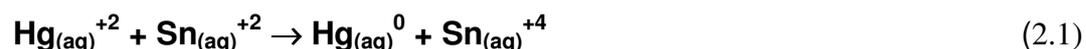
com BrCl, para formar Hg^{+2} e posterior adição de hidroxilamina para eliminar interferências, com posterior redução com cloreto estanoso, para produzir Hg^0 e este ser quantificado por CV AFS. O método 7471b (US EPA 2007c) trata da quantificação de Hg em matrizes sólidas (solos, sedimentos, resíduos e lodos) com aquecimento da amostra na presença de ácido clorídrico, ácido nítrico e permanganato de potássio, com redução posterior com sulfato estanoso e quantificação por CV AAS. No método 7473 (US EPA 2007d), a quantificação de Hg por decomposição térmica da amostra seguida pela captura do Hg liberado pela queima da amostra em amalgamador para posterior detecção por AAS é recomendada para matrizes líquidas e sólidas, enquanto que o método 7474 (US EPA 2007e) apresenta a metodologia para quantificar Hg total em amostras de sedimentos e materiais biológicos, por meio da digestão das amostras em sistema de microondas (uma variação do método US EPA 3051 (US EPA 2007b)) com ácido nítrico e clorídrico e também BrCl, sendo o Hg extraído da amostra quantificado por CV AFS. Já o método 3200 (US EPA 2005) apresenta a metodologia para a especiação do Hg, nas formas orgânicas e inorgânicas, incluindo ainda a separação em formas extraíveis e não extraíveis.

2.5 Metodologias Analíticas

2.5.1 Determinação de mercúrio total e orgânico

2.5.1.1 Determinação de mercúrio total em amostras de águas e sedimentos

A técnica da Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio (CV AAS) é utilizada na determinação de Hg. O método consiste da redução do Hg ao estado fundamental, pela reação com um agente redutor (cloreto estanoso). A redução é feita em sistema fechado, em uma célula de reação, usando argônio ou nitrogênio, como gás de arraste, conforme método 3112 do Standard Methods of Water and Wastewater (AWWA, 2009).



Os átomos de Hg são transportados pelo gás de arraste para a cela de absorção, que é colocada no percurso óptico do espectrômetro de absorção atômica, onde há uma lâmpada de Hg emitindo radiação eletromagnética em seu comprimento de onda específico, no caso do Hg, a 253,7 nm. A quantidade de energia absorvida é proporcional à quantidade do elemento

de interesse na amostra. A quantificação do metal ocorre com a comparação do sinal analítico obtido na leitura da amostra com uma curva analítica.

A grande vantagem desta técnica está na sensibilidade, em comparação com o método de atomização por chama, pois todo o Hg da solução é quimicamente atomizado e transportado para a cela. Em geral os níveis de detecção desta técnica atingem concentrações de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$.

Essa metodologia (CV AAS) foi utilizada para a determinação de Hg total em amostras de águas e sedimentos, no presente estudo.

É necessário um preparo prévio das amostras para a determinação por esta técnica, uma vez que esta é conduzida somente em amostras aquosas. Mesmo as amostras líquidas necessitam de um processo de digestão por microondas. Ao se analisar uma amostra é preciso que seus componentes sejam postos em solução para que o constituinte de interesse possa ser determinado e para que os interferentes sejam removidos ou tenham seu efeito contornado.

Muitas vezes é indispensável uma eliminação eficiente dos compostos orgânicos, tanto para a liberação de constituintes, como para eliminação de interferências. A maioria das amostras para análise de metais é submetida a tratamento sob aquecimento por meio de ácidos minerais oxidantes concentrados ou misturas de ácidos oxidantes visando a oxidação da matéria orgânica. Tal processo é costumeiramente chamado de digestão ácida. Na maioria dos casos utiliza-se somente o ácido nítrico.

O emprego de volumes relativamente elevados de reagentes concentrados introduz o risco de contaminação, sobretudo na determinação de constituintes que ocorrem em baixas concentrações. Neste caso será necessário empregar ácidos de elevada pureza.

A US EPA define nas metodologias 3015 e 3051 (US EPA 2007a, 2007b) as condições para digestão assistida por microondas e quais elementos são extraíveis desta forma em matrizes aquosas e sedimentos, respectivamente. Optou-se pela digestão assistida por microondas, por sua eficiência, rapidez e baixa contaminação. Esta técnica tem sido uma ferramenta analítica indispensável na preparação de amostras. A grande redução de tempo de digestão vem da combinação da velocidade de aquecimento, com a possibilidade de se trabalhar sob pressões mais altas e controladas em sistema fechado.

Os materiais interagem com as microondas basicamente de três formas: refletindo-as sem se aquecerem, como fazem os metais; sendo transparentes a elas e também não se aquecendo, como os plásticos e as cerâmicas e, finalmente, absorvendo-as e se

aquecendo. O aquecimento de materiais por microondas se dá por condução iônica, ou seja, a migração de íons dissolvidos sob a influência de um campo eletromagnético e por rotação de dipolo, quando moléculas com dipolo permanente ou dipolo induzido se alinham a um campo eletromagnético aplicado (CEM, 1997).

O processo de oxidação de matéria orgânica assistida por microondas pode ser conduzido em sistemas fechados, onde não ocorrem perdas por volatilização. O aumento da pressão faz com que se aumente a temperatura de ebulição dos ácidos e, conseqüentemente, a eficiência da oxidação, permitindo que menores quantidades de ácidos possam ser empregadas.

2.5.1.2 Determinação de mercúrio orgânico

Há de se esclarecer que o presente trabalho pretendeu determinar o Hg orgânico, ou seja, todas as formas alquilmercuriais presentes em sedimentos, tendo como princípio a extração destas em uma fase orgânica. O termo Hg orgânico, portanto, compreende todos os alquilmercuriais presentes em uma amostra. Ressalta-se que, no caso de sedimentos, segundo Bisinoti *et. al.* (2006), 90% do Hg orgânico se encontra na forma de MeHg.

No presente estudo, o Hg orgânico é separado da amostra conforme adaptação de metodologia analítica desenvolvida por Bisinoti *et. al.* (2006) e determinado por CV AAS.

2.5.2 Formação acidental de metilmercúrio durante o procedimento analítico

Diversos autores, dentre eles Delgado (2007), Falter *et. al.* (1999), Horvat *et. al.* (1993a e 1993b), Hiltelmann *et. al.* (1999), Leermakers *et. al.* (2005) Martín-Doimeadios *et. al.* (2003), citam a formação acidental de MeHg como o principal problema na determinação deste analito e por conseqüência na determinação do Hg orgânico.

De acordo com estes autores, pode ocorrer a metilação do Hg^{+2} existente na própria amostra para MeHg, durante o processo de extração da amostra. O percentual de Hg^{+2} metilado, é sempre baixo (até 0,5%, mas normalmente no intervalo 0,01-0,05% em relação ao Hg^{+2}). O erro positivo na concentração de MeHg derivado deste efeito é importante apenas quando a relação de MeHg para Hg^{+2} na amostra é inferior a 1%, como pode acontecer em alguns sedimentos poluídos e certas águas residuárias. Até mesmo a validade de materiais de referência certificados disponíveis no mercado foi severamente questionada, o que levou a um

workshop realizado em Wiesbaden (Alemanha) em maio de 1998, para debater sobre o tema. Um resumo das atividades desse workshop foi publicado em um número especial da revista *Chemosphere* (Falter *et. al.*, 1999), e as principais conclusões foram as seguintes:

(i) o MeHg “extra” (ou seja, aquele que é derivado da formação acidental no preparo, e não existente na amostra original) é formado por metilação do Hg^{+2} presente na amostra,

(ii) a magnitude da formação acidental depende da quantidade de Hg^{+2} e do potencial de metilação da amostra que, por sua vez, é uma função do conteúdo de matéria orgânica,

(iii) a formação de falsas quantidades de MeHg apresenta dependência da matriz e da técnica utilizada, sendo máxima em sedimentos após destilação da amostra, mas também perceptível em outras matrizes e técnicas de extração e

(iv), embora a extração pareça ser o passo crítico, a formação acidental de MeHg também está propensa a ocorrer durante a derivatização, separação e pré-concentração.

Contudo, os participantes concordaram em afirmar que "não houve provas científicas suficientes para pôr em xeque a qualidade dos materiais de referência existentes", mas também reconheceu que "a preocupação geral com o problema justifica uma investigação mais aprofundada".

Alguns destes autores (Delgado, 2007; Falter *et. al.*, 1999; Leermakers *et. al.*, 2005; Martín-Doimeadios *et. al.*, 2003) relataram problemas quando analisaram MeHg em materiais de referência certificados para sedimentos, por exemplo, IAEA-356, IAEA-405 e BCR-580.

Hammerschmidt *et. al.* (2001), encontraram MeHg em concentrações superiores ao valor de referência em extratos do material de referência IAEA-405 obtidos por destilação aquosa ou extração ácida, sendo a magnitude da formação adicional uma função tanto da disponibilidade de Hg^{+2} como também do potencial de metilação. De acordo com os seus resultados, concentrações elevadas de ácido ($> 1,2 \text{ mol L}^{-1}$) durante a extração, promovem a metilação de Hg^{+2} . Concentrações superiores de MeHg em relação ao valor certificado foram encontradas em todos os casos. Na opinião do autor, a metilação de Hg^{+2} tem lugar durante a etapa de derivatização/extração orgânica e está diretamente relacionada à presença de Hg^{+2} e a quantidade de matéria orgânica no extrato.

Hintelmann (1999) afirma que esta metilação acidental em amostras de sedimentos é estimada em 0,008% para extrações com HCl e que esta apresenta melhores resultados do que as técnicas de destilação, com metilação acidental estimada em 0,04%. Este percentual de metilação acidental pode ser considerado de pouca importância, particularmente quando se trata da determinação em amostras onde a razão MeHg/Hg total é maior que 1%, valor típico de ambientes levemente ou não contaminados por Hg. Em ambientes muito impactados pelo Hg inorgânico, a razão MeHg/Hg pode ser de até 0,1% e então nestes casos, a formação acidental passa a ter uma influência maior.

A alteração proposta no presente estudo e descrita no capítulo 3 para a metodologia escolhida para quantificação do Hg orgânico foi tomada levando-se em consideração os fatos descritos anteriormente. O método original (Bisinoti *et. al.*, 2006) prevê a extração com HCl a 6,0 mol L⁻¹, concentração que segundo Delgado *et. al.* (2007) e Hammerschmidt (2001) pode favorecer a metilação acidental do Hg inorgânico durante o processamento da amostra. Por este motivo, após a execução de dois testes preliminares com o método original, já utilizando um gás apropriado para a execução da análise, optou-se pela redução da concentração original de HCl 6,0 para 2,0 mol L⁻¹, visto que nestes testes foram analisados os materiais de referência BCR CRM 580 e IAEA 405, e ambos apresentaram recuperações consideradas elevadas. O material IAEA 405 apresentou resultados entre 9,0 e 12,0 µg kg⁻¹ nas duas tentativas, sendo que o valor de referência para MeHg neste material é 5,5 µg kg⁻¹, ou seja, uma recuperação entre 160 e 220%. O material de referência BCR CRM 580 apresentou resultados entre 95 e 110 µg kg⁻¹ de Hg orgânico, resultados acima do valor de referência certificado, de 75 µg kg⁻¹ como MeHg, com recuperação entre 127 e 146%. Ambos os materiais de referência apresentaram valores de concentração acima dos valores certificados para MeHg. A metodologia adotada, com a redução da concentração de HCl de 6,0 para 2,0 mol L⁻¹, foi testada e validada com estes materiais de referência, tendo seus resultados aceitos e plenamente discutidos no item 3.6, apresentando recuperação satisfatória para ambos os materiais.

2.6 Análise por Ativação Neutrônica (NAA)

A Análise por Ativação Neutrônica - NAA é um dos métodos mais importantes dentre os disponíveis para a análise de elementos traço. A sua principal vantagem é a capacidade de determinação de muitos elementos com alta sensibilidade sendo possível a sua determinação em níveis de µg kg⁻¹ até %, com exatidão e precisão. É uma técnica não

destrutiva que preenche dois requisitos básicos: a especificidade, que é a habilidade de correlacionar diretamente e de forma não ambígua o sinal obtido com o elemento procurado, e a seletividade, que vem a ser a possibilidade de medir o elemento em questão na presença de outros que emitam sinais da mesma natureza.

O método de análise por ativação com nêutrons consiste no bombardeamento com nêutrons em um dado material, o qual forma radionuclídeos artificiais, a partir de elementos estáveis (FIG. 2.2).

No caso da AAN comparativa a amostra é irradiada juntamente com um padrão de composição o mais similar possível, nas mesmas condições. Após a irradiação, amostra e padrão são medidos no mesmo detector, o que permite que a concentração desconhecida possa ser diretamente calculada a partir das taxas de contagens da amostra e do padrão e conhecendo-se a massa do padrão e da amostra.

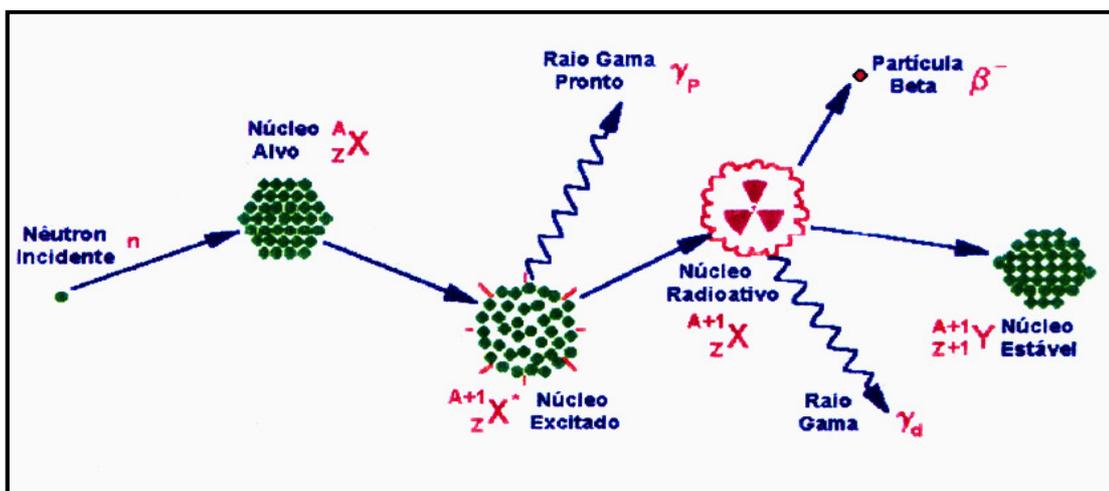


FIGURA 2.2 Representação esquemática da interação do nêutron com um núcleo alvo

A concentração dos elementos presentes na amostra é obtida pela comparação de áreas de picos referentes a padrões que são ativados juntamente com as amostras, utilizando-se para o cálculo a seguinte expressão (2.2):

$$C_a^i = \frac{(A_a^i m_p C_p^i) e^{\lambda(t_a - t_p)}}{A_p^i m_a} \quad (2.2)$$

onde:

C_a^i : Concentração do elemento i na amostra

C_p^i : Concentração do elemento i no padrão

A_a^i : Atividade do elemento i na amostra

A_p^i : Atividade do elemento i no padrão

m_a e m_p : massas da amostra e padrão, respectivamente

λ : constante de decaimento do radioisótopo

t_a : tempo de resfriamento da amostra

t_p : tempo de resfriamento do padrão

Durante o período de contagem, as intensidades dos espectros são acumuladas no computador por meio de um analisador multicanal (MCA). A intensidade dos espectros acumulados é analisada qualitativa e quantitativamente.

No presente estudo, foram determinadas as concentrações dos seguintes elementos por NAA: As, Ba, Br, Co, Cr, Cs, Hf, Rb, Sb, Ta, Th, U, Zn e os elementos terras raras Ce, Eu, La, Lu, Nd, Sc, Sm, Tb e Yb.

2.6.1 Análise por Ativação Neutrônica para determinação de Hg total

Pode-se fazer a quantificação de Hg total por NAA em amostras de sedimentos, quando as concentrações deste analito são relativamente altas (acima de 1,0 mg kg⁻¹). As amostras podem ser irradiadas sob um fluxo de nêutrons de 1E10¹² n cm⁻²s⁻¹ por uma hora. Ao final da irradiação, as cápsulas são devolvidas e espera-se o tempo de decaimento de 48 horas até as atividades atingirem níveis aceitáveis para manipulação. As amostras e materiais de

referencia são irradiados conjuntamente e, posteriormente, são feitas as medidas da atividade gama em espectrômetros de raios gama, sob condições geométricas idênticas.

A análise qualitativa envolve a identificação do fotopico de Hg em 77,3 keV do ^{197}Hg . A análise quantitativa envolve a conversão das contagens (área) do fotopico de ^{197}Hg para concentração pelo método de comparação com um padrão puro de Hg.

CAPÍTULO 3

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Localização e Amostragem dos pontos

As amostragens foram efetuadas em quatro pontos ao longo do reservatório, sendo os dois primeiros próximos às cidades de Ribeirão Pires e Rio Grande da Serra (pontos 1 e 2), um terceiro ponto no meio do reservatório (ponto 3) e em outro ponto próximo à captação da SABESP, perto da rodovia Anchieta (ponto 4) (FIG. 3.1).



FIGURA 3.1 – Pontos de amostragem no reservatório Rio Grande (1, 2, 3 e 4) (Google earth)

O ponto 1- Rio Grande, cerca de 500 metros a jusante da SP 122, próximo a cidade de Rio Grande da Serra, perto da linha de transmissão. (FIG. 3.2 e 3.3) Coordenadas S 23°44'518'' e O 46°25'015'' – caracteriza-se como um regime lântico, apesar de apresentar

velocidade de deslocamento superficial de suas águas – cerca de 1 cm s^{-1} , pode ser considerado o início do reservatório, devido à sua característica predominantemente lântica e é a segunda grande área de deposição do Rio Grande. Neste local, a calha do rio tem uma profundidade entre 3,5 a 4,0 metros e a área deposicional (várzea alagada) fora da calha apresenta uma profundidade de cerca de dois metros. O local amostrado foi a calha do rio. Infelizmente, a primeira área de deposição sedimentar, que seria originalmente o objeto de estudo do primeiro ponto, não pode ser alcançada por água devido à baixa profundidade local – cerca de um metro a um metro e meio de profundidade.



FIGURA 3.2 – Localização do ponto 1 – ao fundo o município de Rio Grande da Serra



FIGURA 3.3 – Imediações do ponto 1 de amostragem

O Ponto 2 – Reservatório do Rio Grande, a 100 metros a montante da SP-031 (Rod. Índio Tibiriçá), próximo ao município de Ribeirão Pires, (FIG. 3.4 e 3.5) coordenadas S 23°43'916'' e O 46°25'633'' – é caracterizado com um comportamento típico de reservatório, não se percebendo correnteza em superfície. Apesar disto, a calha do rio neste ponto ainda apresenta profundidade entre 4,0 a 4,5 metros, e a área deposicional apresenta-se com uma profundidade entre 2,0 a 2,5 metros.



FIGURA 3.4 – Imediações do ponto 2 de amostragem



FIGURA 3.5 – Imediações do ponto 2 de amostragem

O ponto 3 – Reservatório do Rio Grande, no corpo central próximo da linha de transmissão da Eletropaulo (FIG 3.6 e 3.7), com coordenadas S 23°45'182'' e N 46°28'372''- está localizado no meio do reservatório e apresenta profundidade média de 6,0 a 8,0 metros.



FIGURA 3.6 – Localização do ponto 3, embaixo da linha de transmissão



FIGURA 3.7 – Imedições do ponto 3 de amostragem

O ponto 4 – Reservatório do Rio grande, próximo á captação da SABESP e cerca de cem metros a montante da rodovia Anchieta. (FIG.3.8 e 3.9) Coordenadas S 23°46'114'' e N 46°31'565'' – está próximo de uma captação de água da SABESP que abastece a região e apresenta uma profundidade de cerca de onze metros.



FIGURA 3.8 – Localização do ponto 4, perto da captação de água da SABESP (ao fundo, a Rodovia Anchieta)

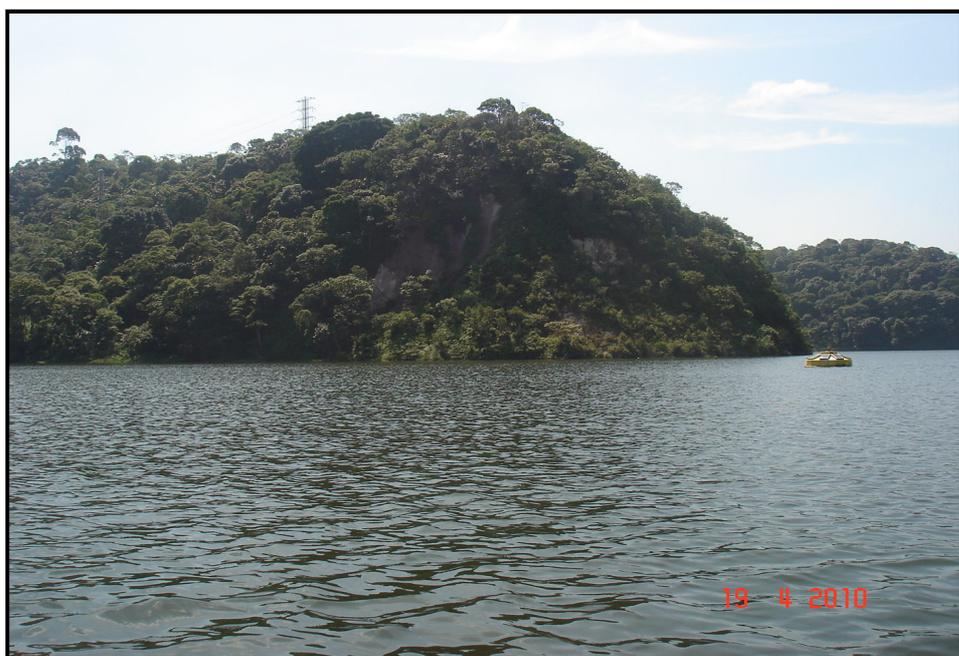


FIGURA 3.9 – Imediações do ponto 4 – lado direito da captação da SABESP (vista do reservatório)

Os pontos foram amostrados em quatro campanhas sendo coletadas amostras de sedimento e água de fundo, com o apoio de embarcações, equipamentos e técnicos do Setor de Amostragem em Ambientes Aquáticos e Ensaio Granulométricos da Companhia Ambiental de São Paulo – CETESB.

A primeira campanha de amostragem foi realizada em 10 de setembro de 2008 e não foram coletadas amostras do ponto quatro, devido a problemas climáticos ocorridos no reservatório no decorrer deste dia.

A segunda campanha de amostragem foi realizada no dia 04 de fevereiro de 2009 e os quatro pontos propostos foram amostrados, não havendo nenhuma ocorrência significativa em campo.

A terceira campanha de amostragem foi realizada em dias diferentes. Em 27 de julho de 2009 foram amostrados os pontos 2, 3 e 4. O ponto 1 não foi amostrado por conta de um impedimento no reservatório para chegar ao local. Havia uma densa colônia de aguapés que fechava a passagem em toda a largura da represa entre os pontos 1 e 2 que impossibilitava a chegada ao primeiro ponto. Tentamos até remover e passar com a embarcação, porém, a grande quantidade de vegetação iria despendar muito tempo para ser removida e tornaria inviável o trabalho. Este ponto foi amostrado em 19 de agosto de 2009 e percebemos que a vegetação tinha se deslocado para as áreas de várzea próximo ao ponto 2, provavelmente por ação dos ventos e correnteza.

A última campanha de amostragem foi realizada no dia 06 de janeiro de 2010 e não houve nenhum problema em relação à amostragem nos quatro pontos.

3.2 Coleta e preparo das amostras de água

As amostras de água foram coletadas com o auxílio de uma garrafa de Van Dorn de descida horizontal da Wildco (FIG. 3.10 e 3.11) com capacidade para amostrar um volume de cerca de 15000 cm³, imersa na água com o auxílio de uma corda até que a mesma encostasse-se ao sedimento, sendo então lançado o mensageiro para o fechamento da garrafa. Após puxar a garrafa à superfície, foi aberta a mangueira de retirada de amostra da garrafa e desprezado cerca de 500 - 1000 mL da amostra para lavagem desta mangueira com a própria amostra. Nestas foram analisados os parâmetros de campo e coletadas amostras para quantificação de carbono orgânico dissolvido (COD) e total (COT), sulfeto, sulfato,

nitrogênio amoniacal, fósforo total, nitrato, nitrito, bactérias redutoras de sulfato, mercúrio, ferro, manganês e cobalto.



FIGURA 3.10 - Garrafa montada pronta para o lançamento em água



FIGURA 3.11 – Garrafa fechada, pronta para ser puxada para a superfície

As amostras de COT e COD foram coletadas em frasco de vidro âmbar de 60 mL e preservadas com 1,0 mL de H_2SO_4 1:1. Os parâmetros sulfato, nitrito e nitrato foram coletados em frasco de polietileno. A amostra de sulfeto foi coletada em frasco de OD de 300

mL e preservada com acetato de zinco e hidróxido de sódio para acertar o pH entre 9 e 10. Nitrogênio amoniacal e fósforo total foram determinados em amostras coletadas em frasco de polietileno de 500 mL e preservadas com H₂SO₄ 1:1 até pH < 2,0. Bactérias redutoras de sulfato (BRS) foram coletadas em frascos de 500 mL esterilizados em autoclave e pré preservados com EDTA (Ácido Etileno Diamino Tetracético), e as amostras para determinação de metais foram coletadas em frascos de 250 mL pré lavados com HNO₃ e preservadas com HNO₃ 1;1 até pH < 2,0 . Todas as amostras foram mantidas sob refrigeração desde o momento da coleta até serem encaminhadas para os laboratórios, onde foram mantidas nas condições de refrigeração recomendadas pela referência analítica de cada parâmetro (APHA, 2009, CETESB, 1989).

3.3 Coleta e preparo das amostras de sedimentos

As amostras de sedimento foram coletadas com um pegador de Van Veen (FIG. 3.12 a 3.14) com capacidade para amostrar uma área superficial de 256 cm² com profundidade de até nove centímetros, em meia lua, sendo amostrada somente a camada superficial do sedimento. É um equipamento de funcionamento simples, robusto e prático podendo ser construído em vários tamanhos que podem amostrar volumes variados de sedimentos. Ele é constituído de duas conchas articuladas por uma dobradiça através de duas barras cruzadas presas a um cabo ou corda. As conchas se mantêm abertas por um sistema de trava que é liberado assim que o equipamento toca o fundo. O recolhimento do cabo ou corda faz com que as conchas se fechem coletando o sedimento.



FIGURA 3.12 – Pegador Van Veen com seu sistema destravado



FIGURA 3.13 – Pegador van Veen montado para coleta de sedimento, com o sistema travado



FIGURA 3.14 – Pegador fechado ao puxar a corda, simulando sua coleta no sedimento

Nos sedimentos foram determinados também a granulometria, COT, bactérias redutoras de sulfato, nitrogênio total e fósforo total, além de ferro, manganês, cobalto e cobre.

As amostras para determinação de metais e nitrogênio e fósforo total foram coletadas em dois potes de polietileno de 1000 gramas. As amostras para granulometria foram coletadas em potes de polietileno de 500 gramas, COT em frascos de vidro âmbar de 200

gramas e bactérias redutoras de sulfato foram determinadas em amostras coletadas em frasco de polietileno de 1000 gramas esterilizados em autoclave.

3.4 Determinações auxiliares para avaliação dos mecanismos de metilação e desmetilação de Hg

3.4.1 Determinações em campo

Foram determinados em campo pH, temperatura da água, potencial redox (E_H), transparência e profundidade.

A concentração de oxigênio dissolvido (OD), analisado de acordo com o método do Standard Methods of Water and Wastewater 4500-O G (APHA, 2009)², foi determinado com um oxímetro da marca WTW e sonda TA OXI 197 com um eletrodo de membrana Celloxi® 325 fixado nesta sonda com cabo de 25 metros acoplada com agitador magnético (FIG 3.15). Desta forma, o eletrodo de OD fica protegido pelo corpo do agitador e não toca o sedimento, permanecendo a uma altura de aproximadamente 10 a 15 cm do sedimento. Foi determinado o OD da água de fundo imergindo a sonda no corpo hídrico até que o agitador magnético tocasse o sedimento aguardando o tempo necessário para a estabilização automática de leitura do equipamento, para determinar o OD da água de fundo. A temperatura da água foi medida também através deste conjunto com um sensor de temperatura integrado ao eletrodo de OD.

O pH da água de fundo foi determinado de acordo com o método 4500-H B, com um medidor de pH da WTW com sonda de profundidade com cabo de 20 metros e eletrodo combinado de pH tipo Xerolit® (KCl sólido) e sensor de temperatura integrado previamente calibrado. Antes de determinar o pH foi medida a profundidade do local e a sonda foi imersa no corpo hídrico até cerca de 10 centímetros antes de encostar no sedimento. O pH do sedimento foi determinado pela inserção direta da sonda de pH com eletrodo no sedimento, sendo em cada caso, aguardado um tempo de cerca de um minuto para estabilização automática de leitura.

² Todas as metodologias do Standard Methods of Water e Wastewater estão disponíveis na mesma fonte, conforme apontado nas referências. Não mais será citada a fonte quando forem referenciadas tais metodologias. Para acesso, é necessário apenas citar o número do método



FIGURA 3.15 – Oxímetro com sonda de OD e eletrodo conectado ao agitador magnético (em pé)

O potencial redox (E_H) foi determinado com um medidor de pH da WTW trabalhando em mV com eletrodo de combinado ORP de platina tipo Xerolit® previamente verificado com uma solução de Zobell de +220 mV (Bevilacqua, 1996) acoplado a sonda com cabo de 20 metros. O conjunto sonda/eletrodo foi imerso no corpo hídrico até tocar o sedimento e afundar neste devido ao seu peso, sendo aguardado um tempo de estabilização de cerca de três minutos para efetuar a medida do E_H do sedimento.

A transparência foi determinada com um disco de Secchi (FIG 3.16). O disco de Secchi é um disco feito de madeira naval ou material plástico com 25 a 30 centímetros de diâmetro, e cerca de um centímetro de espessura, tendo sua superfície dividida em quatro partes iguais pintadas na cor branca e preta, alternadamente. Conta ainda com um peso disposto na parte inferior para que o mesmo afunde na água e uma corda metrada a cada dez centímetros na frente. A transparência foi determinada pela imersão deste na superfície da água através da corda metrada até o ponto no qual não mais se consiga observar o contraste entre as partes branca e preta do disco (FIG 3.17). A distância do disco imersa, verificada através da corda metrada, é a transparência do corpo hídrico, com a qual se pode calcular a zona eufótica do corpo hídrico, ou seja, até onde há penetração de luz. (Esteves, 1998).

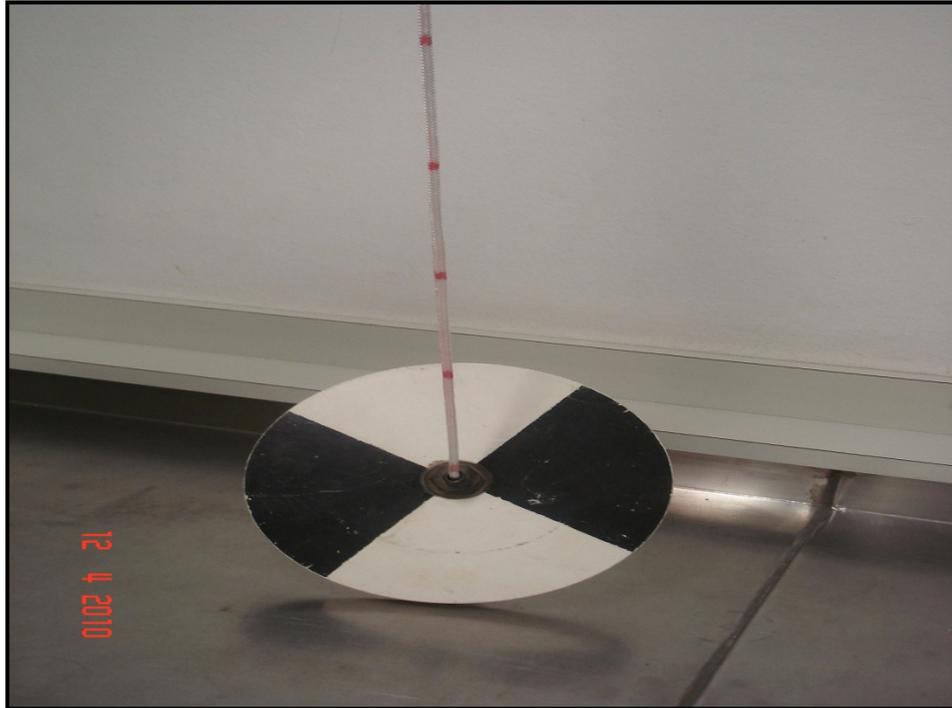


FIGURA 3.16 – Disco de Secchi

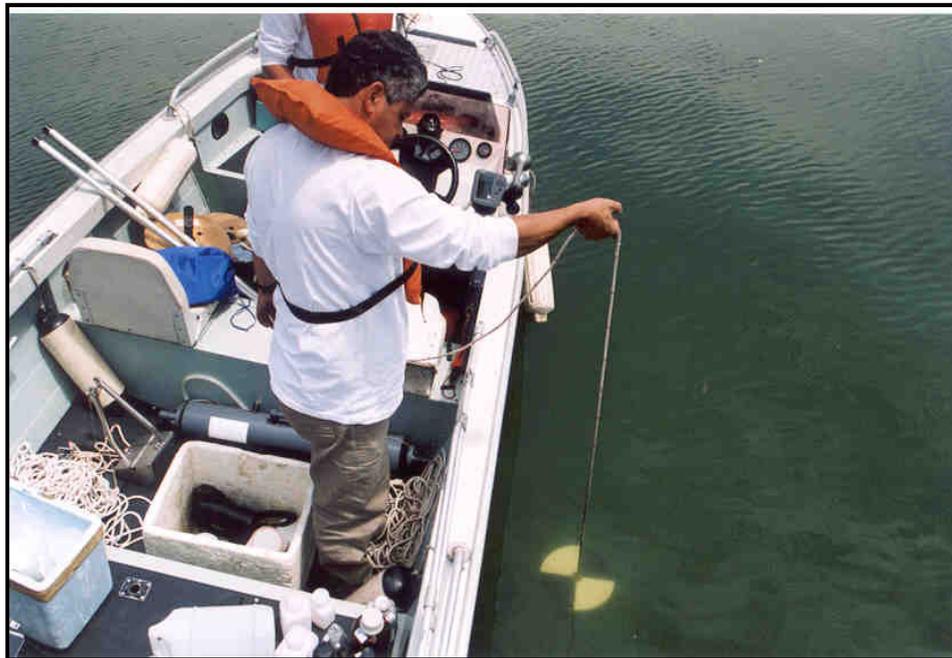


FIGURA 3.17 – Determinação de transparência

As coletas e determinações de campo foram realizadas pelo excelente corpo técnico do Setor de Amostragem em Ambientes Aquáticos e de Ensaio Granulométricos da CETESB.

3.4.2 Análise Granulométrica

A determinação da granulometria do sedimento foi realizada de acordo com a norma CETESB L6.160 (CETESB, 1995), sendo esta análise baseada nos princípios de peneiramento e sedimentação norteados pela escala de Wentworth, que tem como fundamento as velocidades médias das partículas em um meio aquoso. Quanto maior as partículas, maior sua velocidade de sedimentação. A amostra deve ser previamente tratada com H_2O_2 à quente para remoção da matéria orgânica e depois acertado o pH para evitar floculação durante a execução do ensaio sendo posteriormente seca e macerada para proceder-se o peneiramento. Nessa etapa, separam-se e pesam-se as frações de areia mais grossa antes da execução do ensaio de sedimentação para determinação das frações de silte e argila, avolumando uma massa conhecida da amostra em proveta de um litro adicionando um sal para desagregação das partículas e depois executando o ensaio de sedimentação para posteriormente separar as frações de areias mais finas. Segundo esta norma, a fração areia é constituída de partículas com dimensões entre 2,0 e 0,063 milímetros, estando a areia grossa compreendida entre os diâmetros de 1,0 a 2,0 mm.; os siltes, são as partículas com tamanho entre 0,063 e 0,0004 milímetros a as argilas, com diâmetro menor que 0,0004 milímetros.

As determinações de granulometria foram executadas pelo Setor de Amostragem em Ambientes Aquáticos e Ensaio Granulométricos da CETESB.

3.4.3 Bactérias Redutoras de Sulfato

As bactérias redutoras de sulfato (BRS) são um grupo de microorganismos Gram-negativos, estritamente anaeróbios que necessitam de uma fonte orgânica de carbono e efetuam a redução do sulfato a sulfeto mediante a capacidade de oxidar diretamente o hidrogênio, obtendo desta forma energia para seu desenvolvimento.

A norma CETESB L5.210 (CETESB, 1989) trata da determinação das bactérias redutoras de sulfato, focada no gênero *Desulfovibrio* e fornece o Número Mais Provável (NMP), sendo este a estimativa da densidade de bactérias em uma amostra, calculada a partir dos resultados positivos e negativos obtidos mediante a técnica de tubos múltiplos, que consiste na inoculação de volumes decrescentes da amostra em meio de cultura propício ao desenvolvimento das bactérias, sendo cada volume inoculado em uma série de tubos, que ficam incubados em condições de anaerobiose à temperatura de 25 a 28°C durante período de

14 a 21 dias. A presença de um precipitado preto de sulfeto férrico é considerado resultado positivo para estas bactérias, que, no caso de sedimentos, deve ser confirmado pela adição de uma solução de cloreto de cádmio. A formação de um precipitado amarelo de sulfeto de cádmio confirma a presença deste gênero.

As amostras para determinação de bactérias redutoras de Sulfato foram analisadas pelo Setor de Microbiologia e Parasitologia da CETESB.

3.4.4 Carbono Orgânico Dissolvido (COD) e Total (COT)

Carbono orgânico total é definido como todos os átomos de carbono ligados covalentemente em moléculas orgânicas e o carbono orgânico dissolvido (DOC) é a fração de COT que passa por uma membrana filtrante de 0,45 micrometros. O COT é independente do estado de oxidação da matéria orgânica e não mede outros elementos organicamente vinculados, tais como nitrogênio e hidrogênio.

Para a análise destes parâmetros é necessária a preservação das amostras de água com H_2SO_4 1:1 até pH <2,0 para a eliminação das formas inorgânicas de carbono, como os carbonatos e bicarbonatos, convertendo-os a CO_2 que depois é eliminado da amostra através da purga com nitrogênio. É necessária esta remoção pelo fato de que o método utilizado, o 5310-B do Standard Methods, parte do princípio de que todo o carbono orgânico é oxidado a CO_2 . A amostra é homogeneizada e uma micrométrica porção é injetada em uma câmara de reação aquecida com um catalisador oxidativo. A água é vaporizada e o carbono orgânico é oxidado. O CO_2 é transportado por um gás e é determinado por meio de um analisador infravermelho.

Em amostras de sedimento é determinado apenas o COT e o método utilizado é o de Gaudette (1974) onde a amostra é seca em temperatura ambiente, macerada e passada em peneira de 35 mesh – malha de 500 milímetros de abertura. Em seguida, uma massa de amostra seca a temperatura ambiente é colocada para reagir com uma quantidade conhecida de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ em meio fortemente ácido (H_2SO_4 e H_3PO_4) sendo posteriormente titulado o excesso de dicromato que não reagiu com o carbono, com uma solução de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, e o teor de COT determinado por esta titulação de retorno com uma solução indicadora de difenilamina.

Estas análises foram executadas no Laboratório de Química Orgânica da CETESB.

3.4.5 Nutrientes e outros metais

3.4.5.1 Análises de amostras de águas

Foram determinados nas amostras de água de fundo nitrogênio amoniacal, nitrogênio Kjeldahl, fósforo total, ortofosfato total, sulfato e sulfeto, além dos metais Cu, Cd, Co, Fe, Mn e Pb.

Nitrogênio amoniacal foi determinado de acordo com a metodologia da ISO 11732, onde o analito foi determinado por colorimetria automática com ácido dicloroisocianídrico e a determinação de N Kjeldahl foi fundamentada também na ISO 11732 e na metodologia do Standard Methods 4500 N-org item B. Nesse método a amostra foi digerida em bloco digestor com ácido sulfúrico, óxido de Hg e sulfato de potássio e, posteriormente, quantificada por colorimetria automática na forma de Amônia. A diferença entre o N Kjeldahl e o N amoniacal fornece o N orgânico presente na amostra. Esta metodologia de digestão não provoca reação com as formas mais oxidadas de nitrogênio, tais como nitritos e nitratos.

Ortofosfato total foi determinado de acordo com a metodologia 4500-P item F do Standard Methods através da reação do analito presente na amostra com molibdato de amônio e ácido ascórbico, seguido da quantificação por colorimetria automática. O fósforo total é determinado da mesma forma, porém a amostra necessita de uma prévia digestão ácida em meio sulfúrico com persulfato ou óxido de Hg para a transformação das espécies de fósforo ligadas a radicais orgânicos em ortofosfato. A diferença entre o P total e o ortofosfato é considerada como P orgânico.

Sulfato foi determinado de acordo com o método 4110-C do Standard Methods por cromatografia iônica com prévia filtração da amostra em membrana de 0,45 µm.

Sulfeto foi determinado pelo método 4500-S item E do Standard Methods por meio da titulação de retorno com tiosulfato de sódio de uma quantidade conhecida de iodo adicionada à amostra preservada conforme descrito no item 3.2.

Os metais Fe, Mn, Co e Cu em amostras de águas foram determinados pela técnica de espectrometria de emissão atômica conforme método 3120-B do Standard Methods.

3.4.5.2 Análises de amostras de sedimentos

Nos sedimentos, foram determinados os mesmos metais quantificados na água de fundo pelas mesmas técnicas analíticas. Também foram quantificados o P total e N Kjeldahl nos sedimentos, de acordo com as metodologias já citadas no item 3.4.5.1.

3.4.6 Determinação de umidade e Resíduos sólidos fixos e voláteis

A umidade representa o teor de água presente no sedimento. Diversas metodologias analíticas nem sempre são executadas diretamente na matriz seca e são executadas em matriz úmida. Para uma correta interpretação do resultado este deve ser corrigido pela umidade da amostra. A umidade e os resíduos totais, fixos e voláteis, foram determinados de acordo com a metodologia 2540-G do Standard Methods. A umidade e os resíduos totais foram determinados pelo aquecimento de uma alíquota da amostra a cerca de 100 graus Celsius até peso constante. Os resíduos fixos e voláteis foram quantificados pela calcinação da amostra a cerca de 550 graus Celsius por cerca de uma hora.

3.5 Determinação de Hg total por CV AAS

3.5.1 Procedimento de análise

As determinações de Hg total foram realizadas pelo método atualmente disponível na CETESB, por espectrometria de absorção atômica com injeção em fluxo e geração de vapor frio (FIAS CV AAS), conforme discutido no item 2.1.1. A digestão foi realizada de acordo com a US EPA (Environmental Protection Agency) métodos 3015a (amostras aquosas) e 3051a (amostras sólidas). Tais métodos descrevem com precisão as quantidades de amostras (massa) que devem ser tratadas, com quais ácidos e em quais condições de potência, tempo, temperatura e/ou pressão as amostras devem ser digeridas (US EPA, 2007a; 2007b).

3.5.2 Preparação das curvas de calibração

A curva de calibração utilizada para a quantificação das amostras de Hg total e Hg orgânico foi preparada a partir de uma solução padrão rastreada ao NIST (National Institute of Standards and Technology, USA) e avaliada através de outros três pontos de controle, preparados com uma solução padrão diferente da utilizada para a curva de calibração. Tanto

as soluções da curva de calibração quanto os controles, foram preparados da mesma forma que as amostras, inclusive passando também pelo processo de digestão assistida por microondas em meio ácido.

Para a curva de calibração, foi utilizada uma solução padrão de 1000 mg L^{-1} (estoque 1) da marca Accustandard rastreadas ao NIST, e para as soluções de controle, uma solução da marca VHG labs (estoque 2), sendo preparada uma solução intermediária de $1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para cada uma delas. A partir destas soluções estoque foram pipetados com uma micropipeta calibrada junto à RBC (Rede Brasileira de Calibração), os volumes descritos na TAB. 3.1 para a preparação da curva de calibração e dos padrões de controle, sendo avolumados nos respectivos balões, também rastreados à RBC.

TABELA 3.1 – Preparação das soluções para a construção da curva de calibração e carta controle

Ponto	Concentração teórica ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Volume solução pipetado (μL)	Balão volumétrico (mL)
Curva de Calibração (Estoque 1)			
Branco Calib	0,00	0	100
S1	0,25	25	100
S2	0,50	50	100
S3	2,50	250	100
S4	5,00	500	100
S5	10,00	250	25
Controles (Estoque 2)			
Controle 1	1,00	100	100
Controle 2	2,50	250	100
Controle 3	4,00	400	100

Estas soluções forneceram a curva de calibração apresentada na TAB. 3.2, com coeficiente de correlação de 0,99967, fornecido pelo equipamento FIMS 100 da Perkin-Elmer.

TABELA 3.2 – Curva de calibração obtida com as soluções padrão preparadas

Ponto	Concentração teórica ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Absorbância	Concentração Calculada ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Branco Calib	0,00	0,0001	
S1	0,25	0,0036	0,2495
S2	0,5	0,0070	0,4896
S3	2,5	0,0376	2,618
S4	5,0	0,0735	5,134
S5	10,0	0,1423	9,989

Os padrões de controle apresentaram os resultados mostrados na TAB. 3.3

TABELA 3.3 – Resultados dos padrões de controle preparados

	Concentração teórica ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Absorbância	Concentração calculada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Faixa de aceitação
Controle 1	1,00	0,0148	1,030	0,862 - 1,181
Controle 2	2,50	0,0374	2,598	2,374 - 2,730
Controle 3	4,00	0,0604	4,203	3,866 - 4,298

3.5.3 Cálculo da incerteza de medição na determinação de Hg total

A faixa de aceitação mencionada acima na TAB. 3.3 corresponde à incerteza expandida (U) destas soluções. A incerteza de medição de uma amostra é definida como um parâmetro associado ao resultado de uma medição que caracteriza a dispersão dos valores que

podem ser fundamentalmente atribuídos a um mensurando (INMETRO, 1995). Esta é calculada a partir do conhecimento das incertezas padrão de todos os fatores de variabilidade que influem na medição, por exemplo, a incerteza da solução padrão fornecida pelo fabricante, a incerteza de medição da micropipeta utilizada no preparo da solução, a incerteza do balão volumétrico relacionada com a aferição de seu volume, entre outras.

Segundo Rangel (2001), pode-se calcular a incerteza combinada padrão “u” através da raiz quadrada da soma de todas as variâncias do processo. Obtém-se a incerteza expandida “U” para um nível de confiança de 95%, multiplicando-se o valor encontrado da incerteza combinada “u” pelo fator de cobertura igual a 2.

O método de determinação de Hg total por CV AAS é utilizado pela CETESB há vários anos e os valores de incerteza expandida das soluções de controle incluem neste valor além das tradicionais incertezas de entrada (balões volumétricos, micropipetas e reagentes), todas as variabilidades de processo e do método, pois são calculadas com base na variabilidade dos últimos cem valores de determinação de cada um destes controles.

Portanto, para o cálculo da incerteza combinada dos resultados analíticos para Hg total obtidos neste trabalho, será levado em consideração apenas o desvio padrão relativo obtido a partir da média da determinação das replicatas, fornecido pelo instrumento no ato da determinação, associado com a incerteza de medição expandida das cartas controles, pela equação 3.1:

$$U = \sqrt{dp^2 + ic^2} \quad (3.1)$$

Onde:

U – incerteza combinada expandida

dp – valor do desvio padrão da amostra

ic – incerteza combinada do método obtido pela média das cartas controles

O parâmetro ic é o valor médio das incertezas de método calculado a partir dos dados históricos das soluções de controle, ou seja, $0,16 \mu\text{g L}^{-1}$.

Portanto, o valor de incerteza calculado para Hg total será a combinação da incerteza do método analítico tendo como base os valores de incerteza obtidos através de

dados históricos das soluções de controle de valores conhecidos associado com o desvio padrão obtido pelas replicatas da amostra.

3.5.4 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação foram determinados levando-se em consideração a curva de calibração constante da TAB. 3.2.

Tais limites foram determinados como proposto por Rangel (2001), efetuando-se o cálculo do desvio padrão (DP) de uma amostra estimada como a menor concentração de analito mensurável pelo método. O limite de detecção é considerado como 3 vezes este desvio padrão e o limite de quantificação, como dez vezes este desvio. Para este levantamento foi utilizada uma diluição de três vezes o ponto mais baixo da curva de calibração, sendo a determinação realizada imediatamente após esta diluição. Os resultados obtidos estão dispostos na TAB. 3.4.

TABELA 3.4 – Desvio padrão da leitura da solução de menor concentração do analito (Hg) (n=10)

Leitura	Sinal	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1	0,0009	0,0712
2	0,0010	0,0740
3	0,0012	0,0875
4	0,0012	0,0791
5	0,0013	0,0912
6	0,0011	0,0745
7	0,0011	0,0756
8	0,0010	0,0721
9	0,0013	0,0928
10	0,0013	0,0894
Média (M)		0,0807
Desvio Padrão (DP)		0,0085

Como critério de aceitação, adota-se que o valor de $10 \cdot DP$ deve ser maior do que a média das leituras. Neste levantamento o limite de detecção do método é calculado, portanto com o sendo $3 \cdot 0,00853 = 0,0256 \approx 0,03 \mu\text{g L}^{-1}$ e o limite de quantificação como sendo $10 \cdot 0,00853 = 0,0853 \approx 0,09 \mu\text{g L}^{-1}$, que será considerado para efeito de cálculos $0,10 \mu\text{g L}^{-1}$ para as amostras de água de fundo analisadas sem diluição ou digeridas conforme US EPA (2007a).

Como as amostras de sedimento são preparadas de acordo com US EPA (2007b), ou seja, cerca de 0,50 gramas de amostra são tratadas e avolumadas em balão volumétrico de 50 mL, o “fator diluição”, ou seja, a razão entre o volume de amostra preparada e sua massa inicial, é estimado em cem vezes. Logo, o limite de detecção de Hg total em sedimento passa a ser de $10,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ou $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$. A TAB. 3.5 apresenta os valores de LD e LQ para a determinação de Hg total em amostras de água de fundo e sedimento.

TABELA 3.5 – Limites de Detecção (LD) e Quantificação para a determinação de Hg total por CV AAS

Amostras	Hg total	
	LD	LQ
Água de fundo	$0,03 \mu\text{g L}^{-1}$	$0,10 \mu\text{g L}^{-1}$
Sedimento		$10 \mu\text{g kg}^{-1}$

3.5.5 Verificação da precisão e exatidão da metodologia de Hg total em sedimentos por CV AAS

Para verificação da precisão e exatidão do método foram analisados os materiais de referência certificados BCR CRM 580 (Trace elements in estuarine sediment) e IAEA 405 (Trace and major elements in estuarine sediment), com valores certificados para Hg total.

3.6 Determinação de Hg orgânico em sedimentos

3.6.1 Preparo de soluções, limpeza e descontaminação do material utilizado

3.6.1.1 Preparo de soluções

- Solução de cloreto de bromo – Pesar 1,00 grama de KBr, 0,73 grama de KBrO_3 e dissolver em no máximo 10 mL de água desionizada. Adicionar com cuidado 80 mL de HCl P.A. e esperar esfriar. Transferir para balão de 100 mL e completar o volume com água desionizada até o menisco (Bisinoti, 2002)

- Cloridrato de Hidroxilamina 30% - Pesar 30,0 gramas de cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH.HCl}$) e dissolver em 50 mL de água desionizada. Transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água desionizada até o menisco. (Morita e Assumpção, 1976)

- Ácido clorídrico 2 mol L^{-1} – Em balão de 250 mL, adicionar água desionizada até um pouco acima da metade do balão. Adicionar 50 mL de HCl P.A. bem lentamente e depois completar o volume do balão com água desionizada até o menisco.

3.6.1.2 Limpeza e Descontaminação do material utilizado

Os balões, béqueres, frascos lavadores, funis e demais vidrarias foram considerados descontaminados e limpos após uma dupla lavagem em máquina com HNO_3 10% a quente, seguido de duplo enxágüe com água desionizada. Após isto, foram imersos em banho nítrico a 10% por pelo menos 48 horas, sendo novamente realizada uma dupla lavagem com HNO_3 a 10% e duplo enxágüe. Tais materiais foram dispostos em bandejas de alumínio e colocados em estufa a 180°C por pelo menos 48 horas, sendo retirados e novamente lavados com HNO_3 a 10% em máquina e duplamente enxaguados.

Os materiais plásticos utilizados, frascos de polietileno ou polipropileno estéreis para avolumar as amostras ou funis de filtração somente foram utilizados quando novos e ainda assim ficaram de molho em solução nítrica a 10% por 48 horas, sendo posteriormente lavados em máquina com HNO_3 a 10% e depois duplamente enxaguados e secos em estufa a 50°C por 48 horas.

A lã de vidro utilizada foi previamente tratada com diclorometano, ficando um período de 24 horas imerso neste solvente. Após essa etapa, foi lavada com o mesmo e colocada em estufa a 40°C por três horas para evaporação completa do solvente. Depois foi

tratada com HCl 2 mol L⁻¹ ficando imersa também, por cerca de duas horas no ácido e depois lavada com água desionizada até que a água desta lavagem saísse com pH superior a 5, sendo novamente seca em estufa a 50 °C por doze horas.

3.6.2 Procedimento analítico

Conforme já mencionado no item 2.1.2, o Hg orgânico foi separado da amostra conforme adaptação de Bisinoti *et. al.*(2006) e determinado por CV AAS.

Uma massa de 1,0 a 2,0 gramas da amostra foi pesada em um frasco de vidro com tampa esmerilhada e tratada com 15,0 mL de HCl 2 mol L⁻¹, sendo depois mantida em ultrassom por 15 minutos para desagregação do sedimento. Após este tempo, adicionou-se 15,0 mL de diclorometano sendo o sistema colocado em agitação por pelo menos 12 horas em mesa de agitação a 150 rotações por minuto. Separou-se a fase líquida do sedimento por filtração em lã de vidro pré-tratada e transferiu-se esta para um funil de decantação para separação da fase orgânica. Esta foi separada para um frasco lavador de gás com 30 mL água desionizada e 1 mL de HNO₃. O excesso do diclorometano foi removido pela passagem de N₂ ou Argônio (White Martins, grau ECD) por 15 minutos com aquecimento a 40°C em banho-maria. Posteriormente, transferiu-se a amostra para balão volumétrico ou tubo de teflon graduado de 50 mL, adicionou-se 0,30 mL de BrCl com uma micropipeta para destruição do Hg orgânico, oxidando este para Hg inorgânico (bivalente). Após cerca de 30 minutos, adicionou-se 0,80 mL de cloridrato de hidroxilamina a 30% para eliminação do excesso de cloro. O Hg foi determinado por CV AAS, utilizando-se o cloreto estanoso para posterior redução do mercúrio bivalente em mercúrio metálico, conforme descrito no item 3.5.

A validação da metodologia para a determinação de Hg orgânico foi feita por meio da análise dos materiais de referência BCR CRM 580 (Trace elements in estuarine sediment) e IAEA 405 (Trace and major elements in estuarine sediment), com valores certificados para MeHg.

3.6.3 Cálculo da incerteza de medição na determinação de Hg orgânico

Para o cálculo da incerteza na determinação de Hg orgânico, além do cálculo para a determinação do Hg total descrito no item 3.5.3, existe uma variável a mais no processo, a extração em fase orgânica. Devido à complexidade do processo, principalmente para

identificação e cálculo das fontes de incerteza de entrada durante o processo de extração orgânica, como estimativa da incerteza de medição desta fase do processo foi calculado o desvio padrão percentual das extrações dos materiais de referência utilizados em todos os experimentos, o IAEA 405 com valor certificado de concentração para MeHg de $5,49 \mu\text{g kg}^{-1}$ e o BRC 580 com $75 \mu\text{g kg}^{-1}$, seja ainda na fase de teste da metodologia ou quando da determinação das amostras de Hg orgânico. Tais valores nos materiais de referencia são para MeHg, e não Hg orgânico. É esperado, portanto, um valor ligeiramente maior de Hg orgânico, tendo como fundamento que a concentração do Hg orgânico será sempre maior ou igual a concentração do MeHg.

A fórmula para a estimativa da incerteza na determinação do Hg orgânico, portanto será a seguinte (3.2) :

$$U = \sqrt{dp^2 + ((mdmr/100) * Vl)^2 + ic^2} \quad (3.2)$$

Sendo:

U – incerteza combinada expandida para a determinação do Hg orgânico.

dp – valor do desvio padrão da amostra.

mdmr – valor da média dos desvios dos materiais de referencia

Vl – valor determinado

ic – incerteza combinada do método obtido pela média das cartas controles, conforme descrito em 3.4.6.3

Os materiais de referência analisados nas campanhas de coleta para quantificação do Hg orgânico e na fase de testes preliminares estão descritos na TAB. 3.6 e 3.7, onde a sigla VVC corresponde ao Valor Verdadeiro Convencionado.

TABELA 3.6 – Valores obtidos para o materiais de referência BCR CRM 580 (MeHg = $75 \pm 4 \mu\text{g kg}^{-1}$) na determinação de Hg orgânico

Valor determinado ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Desvio padrão determinação	Data Campanha	Erro em relação ao VVC ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Recuperação (%)
77,9	0,6	08/01/2010	-2,9	103,9
84,2	0,4	08/01/2010	-9,2	112,3
60,5	0,7	27/03/2009	14,5	80,7
48,5	0,6	27/03/2009	26,5	64,7
53,3	1,1	29/10/2009	21,8	71,0
74,5	0,6	30/07/2009	0,5	99,4
48,3	1,3	09/09/2009	26,8	64,3
58,7	0,4	06/02/2009	16,3	78,3
48,0	3,5	29/11/2008	27,0	64,0
70,3	0,2	29/11/2008	4,7	93,8
75,4	3,9	12/12/2008	-0,4	100,5
63,6		Média	11,4	84,8
11,3		Desv pad	13,3	17,8

VVC – valor verdadeiro convencionado

TABELA 3.7 – Valores obtidos para os materiais de referência IAEA 405 (MeHg = 5,49 ± 0,53 µg kg⁻¹) na determinação de Hg orgânico

Valor determinado (µg kg ⁻¹)	Desvio padrão determinação	Data Campanha	Erro em relação ao VVC (µg kg ⁻¹)	Recuperação (%)
5,29	0,67	08/01/2010	0,20	96,36
4,19	0,35	11/01/2010	1,30	76,36
4,89	0,33	09/09/2009	0,60	89,07
5,98	0,91	09/09/2009	-0,49	108,96
7,37	0,70	30/07/2009	-1,88	134,26
7,04	0,21	30/07/2009	-1,55	128,27
5,21	0,29	27/03/2009	0,28	94,90
5,32	0,33	06/02/2009	0,17	96,92
5,60	0,89	06/02/2009	-0,11	102,08
7,42	0,62	12/12/2008	-1,93	135,15
6,06	0,27	12/12/2008	-0,57	110,44
5,85		Média	-0,36	106,60
1,05		Desv pad	1,05	19,1/

VVC – valor verdadeiro convencionado

Também foi utilizado o desvio padrão percentual obtido nas determinações de MeHg através do preparo de uma solução de cloreto de metilmercúrio P.A., da Aldrich, extraída com diclorometano nas mesmas condições dos padrões e amostras, sendo preparada pela pesagem de uma massa aleatória da solução de cloreto de metilmercúrio diretamente em uma balão volumétrico calibrado de 100,00 mL (optou-se por não definir uma massa, visto que o frasco no qual vem este sal não permite que seja retornado nada para dentro dele, pois é um frasco tipo agulha), dissolvida em cerca de 50 mL de água desionizada e sonicada em ultrassom por 15 minutos. A esta solução, foi adicionado 30 mL de uma solução 1,0 mg L⁻¹ de Hg⁺² e completado o volume do balão com água desionizada, sendo o padrão preparado no mesmo dia do início da extração. Este padrão de cloreto de MeHg contaminado por Hg⁺² foi

utilizado para verificar a eficiência da extração de MeHg puro na presença de Hg. Na TAB 3.8 estão apresentados os valores obtidos para estas soluções.

TABELA 3.8 – Resultados e recuperações das soluções preparadas de cloreto de MeHg

Valor Obtido ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Desvio padrão	Concentração teórica ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Erro em relação ao VVC ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
8,76	0,38	9,57	0,81	91,54
12,30	0,36	11,40	-0,90	107,89
16,36	1,02	16,95	0,59	96,52
11,30	0,12	11,60	0,30	97,41
9,03	0,45	10,75	1,72	84,04
13,89	0,76	12,43	-1,46	111,75
Média			0,18	98,2
Desv Pad			1,17	10,3

Retornando para a equação de determinação da incerteza, equação 3.2, a variável “*ic*” nas equações 1 e 2 tem o valor fixo e constante de $0,16 \mu\text{g L}^{-1}$ e o valor da variável “*mdmr*” para a equação 2, foi a raiz quadrada da soma dos desvios padrões obtidos para os materiais de referência e o padrão de cloreto de MeHg, ou seja;

$$\sqrt{1,05^2 + 1,08^2 + 13,34^2} = 13,43 \mu\text{g L}^{-1}$$

Estes resultados constantes nas TAB. 3.6 a 3.8 também evidenciam a validação do procedimento aqui adotado para a extração do Hg orgânico. Os percentuais de recuperação médios tanto dos materiais de referência quanto do cloreto de MeHg (84 a 112%) ficaram dentro da faixa de aceitação recomendada pela US EPA, através do método 1630, (US EPA,

1998) para extração de adições padrão de MeHg em matrizes aquosas, definindo o percentual de recuperação ideal entre 69% a 131%, com desvio padrão percentual máximo de 31%.

Entretanto, verificaram-se pontualmente alguns valores com recuperação abaixo de 69% para o material BCR CRM 580 e outras acima de 131%, para o material IAEA 405. Em relação às recuperações abaixo do esperado para o BCR CRM 580, ocorreram em quase 30% das avaliações, entretanto, o valor mais baixo verificado foi de 64%. Tais valores foram considerados aceitos devido ao fato de o critério estabelecido para recuperação ser definido em amostra aquosa, e não para sedimento. Para esta matriz, não há uma definição sobre o percentual de recuperação. Entretanto, Bisinoti (2006) afirma ter obtido recuperações a partir de 57% para adições padrões de MeHg em amostras sólidas determinadas como Hg orgânico.

Em relação aos valores superiores a 131% obtido no material IAEA 405, ocorreram três episódios em dez de extrapolação deste valor, sendo que o maior dele, 135,2% não estava tão acima e cabe ressaltar que o desvio do valor certificado no material de referência também é elevado ($5,49 \pm 0,53$), o que pode flexibilizar um pouco mais os critérios de aceitação dos resultados deste material.

Ressalta-se que esta metodologia determina Hg orgânico, e não apenas o Metilmercúrio certificado, logo, pode haver outros organomercuriais presentes no sedimento que também são quantificados por este método, o que pode justificar resultados mais altos do que o esperado.

3.6.4 Cálculo do LD e LQ

Para as amostras de Hg orgânico, além do cálculo descrito no item 3.5.4 para a determinação de LD e LQ para Hg total, a metodologia utilizada indica o tratamento de uma massa de um a dois gramas de material úmido e esta amostra foi preparada para frascos volumétricos de 50 mL. Considerando que a massa inicial possui uma grande variação, foi adotado aqui o cálculo com uma massa inicial de 1,5 gramas, que condiz a uma diluição final de 33 vezes. Portanto, para o Hg orgânico determinado por esta metodologia em sedimentos, o limite de quantificação ficou expresso como $33 * 0,10 = 3,3 \mu\text{g kg}^{-1}$. Tal cálculo foi realizado considerando-se a amostra úmida. Se for levada em consideração a umidade da amostra e o resultado em base seca, o limite foi estimado como $10,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ para uma amostra com 70% de umidade. A TAB. 3.9 apresenta os valores de LD e LQ para Hg orgânico.

TABELA 3.9 – Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ) para a determinação de Hg orgânico por CV AAS

Hg orgânico		
Amostras	LD	LQ
Sedimento*	3,3 µg Kg ⁻¹	10 µg Kg ⁻¹

* Valor calculado para base seca.

3.6.5 Verificação da precisão e exatidão da metodologia para a determinação de Hg orgânico

A verificação da precisão e exatidão da metodologia para a determinação de Hg orgânico foi feita por meio da análise dos materiais de referência BCR CRM 580, (Trace elements in estuarine sediment) e IAEA 405 (Trace and major elements in estuarine sediment), com valores certificados para MeHg. Os valores obtidos na análise dos materiais de referência se encontram apresentados no item 3.6.3 (TAB. 3.6 e 3.7). Para a validação da metodologia, foi utilizado o teste estatístico de t de student para validação por amostra padrão (Rangel, 2001), onde se valida pela exatidão do material de referência certificado empregado na validação. Deve-se verificar previamente antes da aplicação deste teste estatístico a existência de valores outliers na distribuição, pois deve ser executado apenas em distribuições normais. Trabalha-se neste teste com duas hipóteses, a primeira, H_0 ou hipótese nula, é a da igualdade das médias, ou seja, $\mu_1 = \mu_0$ e a segunda hipótese, H_1 ou hipótese alternativa de diferença das médias, ou seja, $\mu_1 \neq \mu_0$. A estatística t aplicada foi calculada pela equação 3.3;

$$t_0 = \frac{\bar{X} - \mu_0}{s/\sqrt{n}} \quad (3.3)$$

Onde:

\bar{X} – Média do conjunto de dados.

μ_0 – Valor do desvio padrão.

s – Desvio padrão amostral.

n – Tamanho da amostra.

O valor obtido para o parâmetro t_0 deve ser comparado com a tabela t de Student, sendo a hipótese nula aceita se o valor de módulo da estatística calculada for menor do que o valor tabelado, considerando os graus de liberdade adequados. Tal cálculo foi realizado para os conjuntos de dados apresentados nas TAB. 3.6 e 3.7, onde estão listados os resultados obtidos pelos materiais de referência BCR 580 e IAEA 405 e o resultado destes está apresentado na TAB. 3.10. Os resultados obtidos para a estatística t são inferiores aos valores tabelados para os dois materiais, portanto, não se pode rejeitar a hipótese de igualdade das médias para um nível de confiança de 95%.

TABELA 3.10 – Resultados do teste de t de Student para validação por comparação padrão.

Material	Médias das determinações	Grau de liberdade (n-1)	Desvio Padrão	t_0 obtido	valor tabelado
BCR 580	63,6	9	13,3	-0,205	2,262
IAEA 405	5,92	10	1,08	-1,137	2,228

3.7 Critérios de aceitação estabelecidos para os resultados das amostras e procedimentos para verificação de valores outliers

Todas as amostras, tanto para a quantificação do Hg total quanto para Hg orgânico, foram analisadas em duplicata, sendo executadas ainda duas leituras de cada duplicata no equipamento utilizado para quantificação por CV AAS (FIMS). Foi adotado como critério de aceitação dos resultados analíticos um desvio máximo de 20%, como desvio padrão relativo dentro de cada replicata e de 30%, entre as replicatas de uma mesma amostra. Resultados que não se enquadraram dentro destes critérios deveriam ser reanalisados. No caso de desvio entre os valores de uma replicata, esta foi novamente analisada para confirmação ou então toda a amostra seria reprocessada, novamente em duplicata, quando da ocorrência de desvios superiores a 30% entre as replicatas de uma mesma amostra.

Os resultados obtidos para levantamento dos controles, definidos no item 3.5.2 e 3.5.3, os resultados obtidos para determinação do LD e LQ dos métodos e os resultados obtidos para os conjuntos de análise dos materiais de referência para Hg total e para Hg

orgânico e padrões de MeHg foram avaliados quanto a existência de valores outliers, ou seja, valores que, avaliando-se o conjunto de dados pudessem ser considerados como fora desta população ou até mesmo serem aceitos sob suspeita. Foram utilizados para esta verificação os testes de Box e Dixon, simultaneamente ou apenas um destes em todos os grupamentos (Rangel, 2001). O teste de Box consiste em agrupar os valores na ordem crescente e calcular o primeiro quartil (Q1) e o terceiro quartil (Q3) do conjunto de dados. Após isto, calcula-se a diferença L, como sendo $L = Q3 - Q1$. Podem ser considerados outliers os valores abaixo do valor mínimo de aceitação do teste, M_i , calculado como $Q1 - 1,5 * L$ e máximo do teste, M_a , definido como $Q3 + 1,5 * L$. Entretanto, para ser um pouco mais restritivo, tais valores para o teste Box foram trabalhados da forma $Q1 - L$ e $Q3 + L$, visto o fato de serem poucos os valores trabalhados.

Para o teste de Dixon, deve-se utilizar as equações constantes no esquema da FIG. 3.18, dependendo do número de observações “n” realizadas. Devem-se ordenar os valores em ordem crescente e aplicar as equações, conforme for; se X_1 , ou seja, o menor valor é considerado suspeito, ou X_n , o maior valor, é considerado suspeito. O resultado da equação deve ser menor do que o valor tabelado, admitindo-se um nível de confiança de 95% para o teste, para que o valor não seja considerado como outlier. Os resultados obtidos para a determinação do limite de detecção de Hg por CV AAS e os resultados dos materiais de referência BCR 580 e IAEA 405 quantificados tanto para Hg total quanto para Hg orgânico, foram avaliados por este teste para verificação da consistência dos resultados de suas determinações anteriormente a aplicação destes resultados para a validação destas metodologias.

n	Razão	se x_n é suspeito	se x_1 é suspeito
$3 \leq n \leq 7$	τ_{10}	$(x_n - x_{n-1}) / (x_n - x_1)$	$(x_2 - x_1) / (x_n - x_1)$
$8 \leq n \leq 10$	τ_{11}	$(x_n - x_{n-1}) / (x_n - x_2)$	$(x_n - x_1) / (x_{n-1} - x_1)$
$11 \leq n \leq 13$	τ_{21}	$(x_n - x_{n-2}) / (x_n - x_2)$	$(x_3 - x_1) / (x_{n-1} - x_1)$
$14 \leq n \leq 25$	τ_{22}	$(x_n - x_{n-2}) / (x_n - x_3)$	$(x_3 - x_1) / (x_{n-2} - x_1)$

FIGURA 3.18 – Esquema de equações para cálculo do teste de Dixon em função de n (Rangel, 2001).

Deste modo, os valores limites para outliers aplicando-se estes testes para os conjuntos de dados das TAB. 3.4; 3.6 e 3.7 para avaliação dos resultados calculados para determinação do LQ e os materiais de referências BCR 580 e IAEA 405, estão apresentados na TAB. 3.11. Não sendo verificado outliers em nenhum conjunto independente do método de verificação utilizado.

TABELA 3.11 – Resultados obtidos para verificação de outliers por BOX e Dixon.

	Dixon (verificar com valor crítico)		BOX (Valores limites)	
	Dixon para X_n .	Dixon para X_1 .	Q1-L	Q3+L
BCR 580	0,2448	0,0167	26,8	99,1
IAEA 405	0,0198	0,3406	3,95	7,85
Valores do cálculo p/ LQ	0,0773	0,0450	0,0593	0,1037
Valor Crítico Dixon	Para n = 10 valor limite é 0,477 e para n=11º valor limite é 0,576			

3.8 Determinação multielementar em amostras de sedimentos por NAA

3.8.1 Preparação dos padrões sintéticos

Os padrões sintéticos foram preparados a partir de soluções padrões mono ou multielementares. Essas soluções foram pipetadas em uma matriz conveniente, como por exemplo, papel de filtro.

No presente estudo, foram utilizados como solução padrão dos elementos As, Co, Cr, Cs, Fe, Rb, Sb, Sc, Se, Th, Zn e elementos terras raras (La, Ce, Eu, Lu, Nd, Sc, Sm, Tb, Yb), soluções padrão da marca SPEX CERTIPREP, diluídas a concentrações adequadas para a análise.

Em seguida, os padrões sintéticos dos elementos analisados foram preparados pipetando-se 50 μ L das soluções padrão dos elementos, em alguns casos soluções multielementares, apresentando concentrações variadas para os elementos, sobre uma tira de

papel de filtro Whatman nº 41, a qual foi deixada à temperatura ambiente para secagem. Em seguida, essas tiras de papel foram acondicionadas em envelopes de polietileno, previamente limpos com ácido nítrico e água destilada e, posteriormente selados.

Foram preparados sete padrões sintéticos multielementares. Os elementos foram agrupados de modo a evitar interferência química ou espectral, entre os elementos presentes. As composições dos padrões sintéticos e suas concentrações (massas) finais estão descritas na TAB. 3.12.

TABELA 3.12 - Padrões pipetados e suas respectivas massas para os elementos de interesse

Padrão	Elementos	Massa Calculada (µg)
NaBr	Na	999,8
	Br	4,91
KU	K	1002,7
	U	5,01
As	As	2,50
	Ba	499
Zn	Zn	9,84
	Co	1,0
	Th	1,0
	Fe	999,0
Rb	Rb	9,99
	Cr	10,02
	Cs	1,00
	Sc	1,01
	Sb	1,01
ETR	La	1,00
	Ce	2,50
	Sm	0,50
	Eu	0,51
	Nd	2,50
	Lu	0,50
	Tb	0,51
	Yb	0,51

3.8.2 Preparação e irradiação das amostras

Foram pesados aproximadamente 0,15 grama de cada amostra (duplicata) e 0,12 grama de cada material de referência em envelopes plásticos e posteriormente embalados em papel alumínio e identificados. As amostras de sedimentos (duplicata), materiais de referência

e padrões sintéticos foram irradiados por oito horas, sob um fluxo de nêutrons térmicos de 1 a $5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, no Reator de Pesquisa IEA-R1 do IPEN/CNEN-SP.

A primeira contagem foi realizada após um tempo de decaimento de 5 a 7 dias, por aproximadamente duas horas para amostras e materiais de referência, e de 15 a 30 minutos para os padrões sintéticos. Os seguintes radioisótopos de $T_{1/2}$ intermediária: ^{76}As , ^{82}Br , ^{140}La , ^{24}Na , ^{147}Nd , ^{239}Np , ^{122}Sb , ^{153}Sm e ^{175}Yb puderam ser determinados.

A segunda contagem foi realizada após um tempo de decaimento de quinze a vinte dias, e um tempo de contagem idêntico ao utilizado na primeira contagem. Os seguintes radioisótopos de $T_{1/2}$ longa: ^{131}Ba , ^{141}Ce , ^{60}Co , ^{57}Cr , ^{134}Cs , ^{152}Eu , ^{59}Fe , ^{181}Hf , ^{177}Lu , ^{233}Pa , ^{86}Rb , ^{124}Sb , ^{46}Sc , ^{75}Se , ^{182}Ta , ^{160}Tb , ^{169}Yb , ^{65}Zn e ^{95}Zr , puderam ser determinados.

3.8.3 Medidas da atividade gama induzida

As medidas da atividade gama induzida foram realizadas em um espectrômetro de raios gama, consistindo de um detector de germânio hiperpuro GMX20190 da marca **CANBERRA**, acoplado a um analisador multicanal S-100 e a um microcomputador. A resolução do sistema é de 1,90 keV para o pico de 1332 keV do ^{60}Co e de 0,88 keV, para o pico de 121,97 keV do ^{57}Co . A incerteza da medição foi calculada por propagação de erros.

A TAB. 3.13 apresenta as características nucleares dos radioisótopos analisados no presente trabalho.

TABELA 3.13 – Radioisótopos identificados na análise das amostras de sedimento por NAA (IAEA, 1990)

<i>Radioisótopo</i>	<i>Energia (kev)</i>	<i>Tempo de meia-vida</i>	<i>Radioisótopo</i>	<i>Energia (kev)</i>	<i>Tempo de meia-vida</i>
⁷⁶ As	559,1	26,32 horas	⁸⁶ Rb	1076,6	18,66 dias
¹³¹ Ba	496,26	11,8 dias	¹²² Sb	564,24	2,7 dias
⁸² Br	554	35,3 horas	¹²⁴ Sb	1690,98	60,20 dias
¹⁴¹ Ce	776,52	32,5 dias	⁴⁶ Sc	889,28;	83,81 dias
⁶⁰ Co	145,4	5,27 anos	⁷⁵ Se	264,6	119,77 dias
⁵⁷ Cr	1173,2	27,7 dias	¹⁵³ Sm	103,18	46,27 horas
¹³⁴ Cs	1332,5	2,06 anos	¹⁸² Ta	1221,41	114,5 dias
¹⁵² Eu	320,1	13,33 anos	¹⁶⁰ Tb	879,38	72,3 dias
⁵⁹ Fe	1408	44,5 dias	²³³ Pa	312,01	27,0 dias
¹⁸¹ Hf	1099,25	42,39 dias	²³⁹ Np	228,18	2,36 dias
¹⁴⁰ La	482,18	40,27 horas	¹⁶⁹ Yb	277,6	32,2 dias
¹⁷⁷ Lu	328,7	6,71 dias	¹⁷⁵ Yb	177,21	4,19 horas
²⁴ Na	1596,21	14,96 horas	⁶⁵ Zn	197,96	243,9 dias
¹⁴⁷ Nd	208,36	10,98 dias		282,52	
	91,10			396,33	
	531,01			1115,5	

3.8.4 Verificação da precisão e da exatidão da metodologia de NAA

A validação da metodologia em termos de precisão e exatidão, foi verificada por meio da análise dos seguintes materiais de referência certificados; WQB-3 (Lake Ontario Blended Sediment for Trace Elements, Environmental Canada), BEN-basalt (CRPG-CNRS, França) e Soil-7 (IAEA).

3.8.5 Cálculo de limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Em NAA, o limite de detecção (LD) representa a mais baixa concentração da substância em exame que pode ser detectada com certo limite de confiabilidade utilizando um determinado procedimento experimental.

A expressão fornece LD em termos de taxas de contagem, sendo necessário convertê-las para unidades de concentração pela divisão por fatores como massa da amostra, massa e atividade do padrão.

Os limites de detecção para amostras foram calculados isoladamente, partindo-se dos espectros dos materiais de referência utilizados na análise.

Os limites de detecção da técnica NAA, foram calculados utilizando-se a equação 3.4 descrita abaixo (Keith *et. al.*, 1983) para cada elemento determinado nos materiais de referência WQB-3 (Lake Ontario Blended Sediment for Trace Elements), BEN-basalt (CRPG-CNRS, França) e Soil-7 (IAEA). Os valores utilizados nos cálculos foram médias de 5 determinações.

$$LD = 3 * \sqrt{Bg} / T \quad (3.4)$$

Onde: **Bg** é o valor da contagem do background no fotopico do elemento de interesse (em cps) no material de referência, e **T** é o tempo vivo (em segundos) = tempo de contagem

Os limites de quantificação foram calculados pela equação, 3.5:

$$LQ = 10 * \sqrt{Bg} / T \quad (3.5)$$

Os respectivos limites de detecção para cada elemento determinado por NAA, encontram-se descritos na TAB. 3.13.

TABELA 3.13 – Valores de LD e LQ (mg kg⁻¹) para os materiais de referencia analisados por NAA

Elemento	WQB3		Soil 7		BEN	
	LD	LQ	LD	LQ	LD	LQ
As	0,9	2,8	0,5	1,6	1,1	3,2
Ba	212	637	48	145	135	405
Br			0,36	1,08		
Ce	2,4	7,1	1,0	2,9	1,6	4,9
Co	0,3	0,8	0,10	0,29	0,31	0,94
Cr	2,0	6,0	1,8	5,3	3,7	11,0
Cs	0,9	2,6	0,3	1,0	0,5	1,5
Eu	0,1	0,3	0,03	0,10	0,09	0,26
Fe (%)	0,02	0,07	0,01	0,04	0,03	0,08
Hf	0,2	0,6	0,21	0,64	0,38	1,13
La	0,2	0,7	0,07	0,20	0,21	0,64
Lu	0,04	0,11	0,01	0,04	0,03	0,08
Na (%)	0,005	0,001	0,002	0,007	0,006	0,017
Nd			2,5	7,6	4,3	13,0
Rb	16	49	7	22	11	34
Sb	0,05	0,16	0,07	0,20		
Sc	0,08	0,24	0,03	0,09	0,02	0,05
Sm	0,07	0,20	0,04	0,12	0,08	0,23
Ta	3,4	10,1	0,11	0,33	0,28	0,84
Tb	0,77	2,32	0,20	0,60	0,32	0,96
Th	0,4	1,3	0,2	0,6	0,3	1,0
U	1,0	2,9	0,37	1,12	0,49	1,47
Yb			0,08	0,24	0,17	0,51
Zn	3	8	7	20	14	43

3.9 Determinação de Hg total nas amostras de sedimento por NAA

3.9.1 Procedimento de análise

No presente estudo, a determinação de Hg total pela técnica de NAA também foi realizada. Aproximadamente 100 mg de amostra e dos materiais de referencia foram pesados em sacos de polietileno duplos e limpos. O padrão de Hg foi preparado em filtros de papel Whatman N° 41, onde previamente foram pipetados 100 µL de uma solução de tioacetamida 10 mg mL⁻¹ e após cerca de uma hora, 50 µL de uma solução padrão de Hg na concentração de 90,0 mg L⁻¹. Nestas condições o Hg⁺² fica estabilizado e retido no papel de filtro por complexação com a tioacetamida, não sendo perdido por volatilização durante a irradiação.

Em seguida, amostras e padrões foram irradiados sob um fluxo de nêutrons de $5,0 \times 10^{11} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (potencia de 2 MW) por uma hora no reator IEA -R1 do IPEN/CNEN-SP. Após um tempo de decaimento de 48 horas, amostras e padrões foram medidos em espectrômetros de raios gama, sob condições geométricas idênticas. Determinou-se o Hg total por meio do radioisótopo ^{197}Hg , utilizando-se o fotopico de 77 keV.

3.9.2 Verificação da precisão e exatidão dos resultados de Hg total em sedimentos por NAA

A validação da metodologia para a determinação de Hg total por NAA foi feita por meio da análise dos materiais de referência BCR CRM 580 (Trace elements in estuarine sediment) e IAEA 405 (Trace and major elements in estuarine sediment), com valores certificados para Hg total.

CAPITULO 4

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Verificação da precisão e exatidão dos resultados obtidos pelas metodologias analíticas para Hg total e Hg orgânico por CV AAS

4.1.1 Determinação de Hg total por CV AAS

Para a determinação de Hg total de acordo com a metodologia descrita no item 3.5.1, foram utilizados os materiais de referência certificados BCR CRM 580 e o IAEA 405, ambos sedimentos de área estuarina. Tais materiais sofreram o mesmo processo de digestão das amostras, utilizando-se o método 3051a (US EPA, 2007b). Os resultados das análises destes materiais estão apresentados na TAB. 4.1.

TABELA 4.1 – Valores obtidos na análise dos materiais de referência pela técnica de CV AAS (Hg total)

Materiais de referencia	BCR 580	IAEA 405
Valor certificado Hg total (mg kg ⁻¹)	132 ± 6	0,81± 0,04
	103 ± 6	0,67± 0,09
	144 ± 7	0,82 ± 0,09
Hg total obtido (mg kg ⁻¹)	142 ± 6	0,76 ± 0,08
	129 ± 5	0,79 ± 0,06
	118 ± 5	0,86 ± 0,08
Media	127	0,78
Desvio padrão	17	0,07

Foram utilizados os testes de Box e Dixon, conforme descrito em 3.7 para avaliação de supostos valores outliers para os valores de 103 mg kg^{-1} para o material de referência BCR CRM 580 e $0,67 \text{ mg kg}^{-1}$ para o IAEA 405, que apresentaram valores de recuperação mais baixos e ambos os valores foram aceitos, para ambos os testes.

Em geral, a média de recuperação destes materiais foi da ordem de 96%, para ambos. Esses materiais apresentaram-se sempre com recuperações dentro dos critérios de aceitação prescritos no método 1631 da US EPA (2002), entre 79% e 121 % (matrizes aquosas) e também o método 7471B (US EPA 2007c) que referencia uma recuperação de 80% a 120% para adições padrões em matrizes sólidas.

4.1.2 Determinação de Hg orgânico

A verificação da precisão e exatidão dos resultados para a determinação de Hg orgânico foi discutida no capítulo 3, item 3.6 onde os resultados das análises dos materiais de referência foram apresentados.

4.2 Resultados obtidos para Hg total e orgânico e taxas de metilação de Hg

A TAB. 4.2 apresenta os resultados das análises de Hg total e Hg orgânico em amostras de águas e sedimentos, conforme procedimento descrito nos itens 3.5 e 3.6, respectivamente. As FIG. 4.1, 4.2 e 4.3 apresentam os box plot para Hg total e orgânico nas amostras de sedimentos e Hg total nas amostras de água de fundo, respectivamente.

Com relação aos resultados obtidos para as amostras de água de fundo (Tabela 4.2 e FIG. 4.3), o ponto 1 apresentou, em todas as campanhas, valores superiores ao estabelecido pela resolução CONAMA 357 (Brasil, 2005), que determina como valor máximo para águas brutas brasileiras o valor de $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para Hg total. Os demais pontos também apresentaram concentrações de Hg total acima deste limite e o ponto 3, valores bem próximos ao limite ($0,30 \mu\text{g L}^{-1}$). No ponto 4, onde fica a captação de água da SABESP, não foi possível a quantificação de Hg total na água de fundo ($<0,10 \mu\text{g L}^{-1}$).

A presença de Hg total na água de fundo nos pontos 1 e 2 em altas concentrações indica que este elemento, presente nesta fase limiar entre a coluna d'água e o sedimento, pode tanto ter sido ressuspensionado ou ser um aporte ao reservatório.

TABELA 4. 2 – Resultados de Hg total e Hg orgânico nas amostras de água e sedimento

Pontos	Parâmetro	Campanhas			
		set. 2008	fev. 2009	jul. 2009	jan. 2010
Ponto 1	Água de fundo				
	Hg total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	11,6 \pm 0,9	9,1 \pm 0,4	6,6 \pm 0,4	1,0 \pm 0,1
	Sedimento				
	Hg total (mg kg^{-1})	45,7 \pm 1,0	68,3 \pm 0,9	25,9 \pm 1,0	43,4 \pm 1,5
	Hg orgânico ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	< 10,0	39,3 \pm 3,8	35,2 \pm 2,9	40,1 \pm 3,5
	Ponto 2	Água de fundo			
Hg total ($\mu\text{g L}^{-1}$)		3,1 \pm 0,2	6,2 \pm 0,4	4,6 \pm 0,2	0,42 \pm 0,08
Sedimento					
Hg total (mg kg^{-1})		71,3 \pm 1,2	61,5 \pm 0,9	68,1 \pm 0,9	57,6 \pm 0,8
Hg orgânico ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		13,7 \pm 2,6	46,3 \pm 3,2	38,0 \pm 3,9	47,2 \pm 3,9
Ponto 3		Água de fundo			
	Hg total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,30 \pm 0,04	0,30 \pm 0,05	<0,10	0,30 \pm 0,06
	Sedimento				
	Hg total (mg kg^{-1})	1,9 \pm 0,4	4,5 \pm 0,2	2,2 \pm 0,1	3,7 \pm 0,2
	Hg orgânico ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	< 10,0	16,7 \pm 2,0	18,0 \pm 2,1	19,4 \pm 2,9
	Ponto 4	Água de fundo			
Hg total ($\mu\text{g L}^{-1}$)		-----	<0,10	<0,10	<0,10
Sedimento					
Hg total (mg kg^{-1})		-----	1,02 \pm 0,09	1,8 \pm 0,1	1,5 \pm 0,1
Hg orgânico ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		-----	14,2 \pm 2,1	< 10,0	13,8 \pm 12,3

----- Amostra não coletada nesta campanha

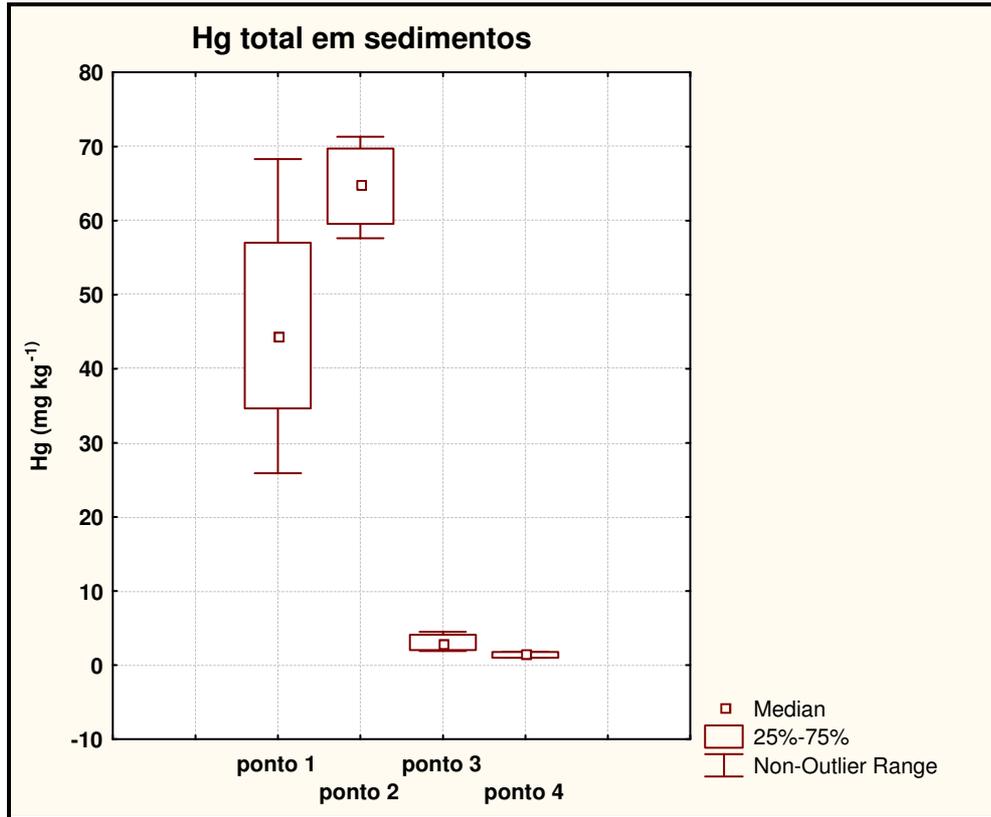


FIGURA 4.1 – Box plot da variação de concentração de Hg total em sedimentos, nos pontos de coleta

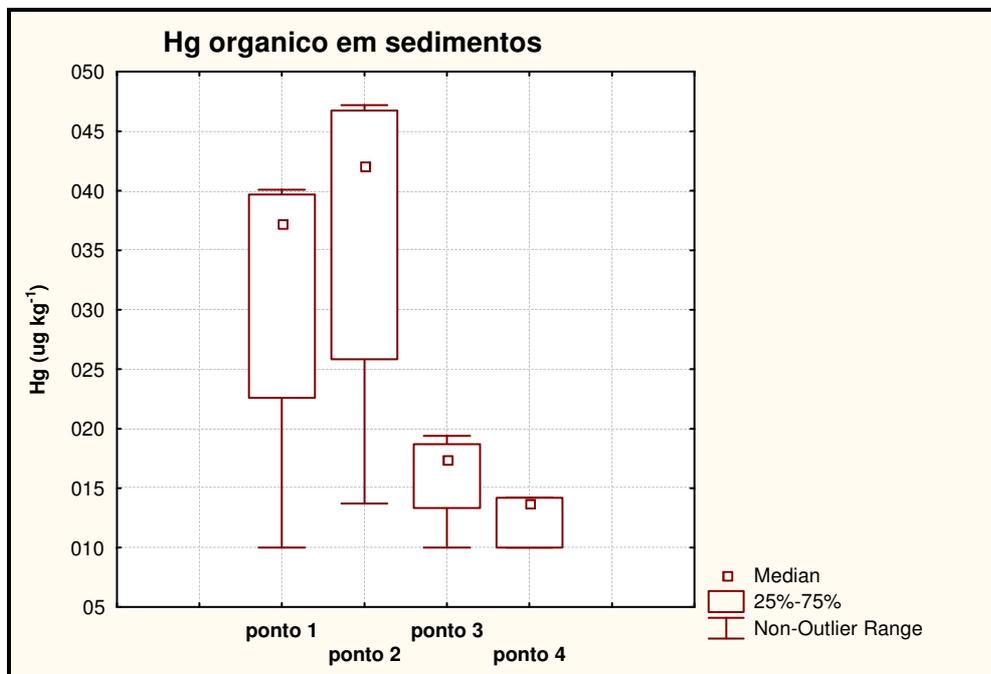


FIGURA 4.2 – Box plot da variação de concentração de Hg orgânico em sedimentos, nos pontos de coleta

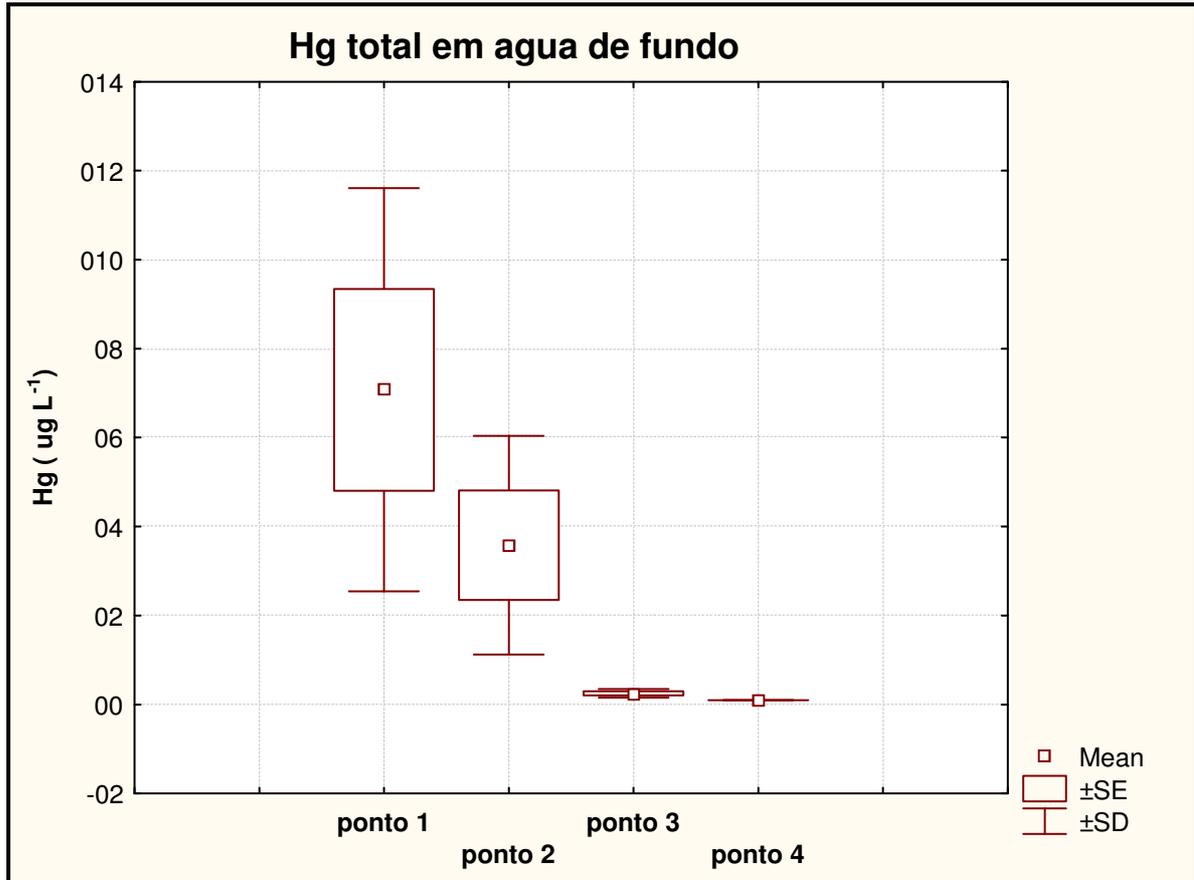


FIGURA 4.3 – Box plot da variação de concentração de Hg total em águas de fundo, nos pontos de coleta

Em relação ao Hg total em sedimentos (TAB. 4.2 e FIG. 4.1), verifica-se que nos pontos 1 e 2, existe uma alta concentração de Hg total. No ponto 1 a variabilidade apresentada foi bem grande (25,9 a 68,3 mg kg⁻¹ de Hg total), sugerindo que talvez este ponto, apesar de ter grande quantidade de Hg total, não funcione como um local de deposição definitiva. Vale lembrar de que se trata de um ponto com pequena profundidade e que estes sedimentos podem sofrer ação dos raios solares, além da ação dos ventos, fatos estes que podem ressuspender Hg do sedimento para a água ou então, ocorrer processos de redução do Hg inorgânico para Hg⁰ e este se desprendendo para a atmosfera.

O ponto 2 apresentou Hg total na faixa dos 60 mg kg⁻¹ (57,6 a 71,3 mg kg⁻¹) em todas as campanhas, indicando que este Hg parece ter uma permanência relativa neste local. O ponto 3, apresentou uma concentração de Hg total bem menor do que os pontos 1 e 2 (1,9 a 4,5 mg kg⁻¹), mas ainda assim algumas vezes superior ao valor estabelecido para PEL (probable effect level) pelo Ministério do Meio Ambiente do Canadá (CCME, 2001) e

resolução CONAMA 344 (Brasil, 2004), que estabelecem o valor de $0,486 \text{ mg kg}^{-1}$ como limite para prováveis efeitos tóxicos para a biota. O ponto 4, onde fica a captação de água e que está no outro extremo do reservatório, apresentou uma concentração de Hg duas vezes maior que o valor de PEL para Hg total ($1,02$ a $1,8 \text{ mg kg}^{-1}$) (TAB. 4.2).

Em relação ao Hg orgânico (TAB. 4.2 e FIG. 4.2), nas amostras coletadas em set/2008, apenas no ponto dois foi quantificado o analito. O valor de $13,7 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ pode ser considerado baixo frente aos valores de Hg total, representando apenas 0,02% em relação a este.

O fato de nesta primeira campanha (set. 2008) ter sido quantificado Hg orgânico apenas no segundo ponto pode ter sido em função da demora na quantificação do analito, resultando em uma possível perda do mesmo nas amostras coletadas, visto que decorreram praticamente três meses entre a coleta e a determinação analítica, apesar das amostras terem sido conservadas em geladeira. A não quantificação do analito nos demais pontos e mesmo o valor obtido nesta campanha, em setembro de 2008, para o ponto 2, são considerados sob suspeita, pois o conteúdo de Hg orgânico real nos locais poderia ter sido maior, visto que há referências que recomendam a análise de Hg não só o orgânico como também o total em até 28 dias sob pena de perda do analito, mesmo quando se conserva as amostras sob refrigeração (APHA 2009; US EPA 2002, 2007c). Nas demais campanhas, tanto o Hg orgânico quanto o Hg total foram determinados em até uma semana após a coleta

Na segunda campanha (fevereiro/2009), foi encontrado Hg orgânico em todos os pontos, indicando a presença de MeHg no sedimentos e a ocorrência de processos de metilação ao longo de todo o reservatório. Entretanto o percentual de metilação é baixo considerando os dois primeiros pontos, estando nestes abaixo de 0,1% em relação ao Hg total, apesar destes pontos apresentarem as maiores concentrações de Hg orgânico. Entretanto, no ponto ao meio do reservatório – ponto 3 – o percentual de metilação é de 0,37% enquanto que no ponto 4, onde fica a captação de água, atinge 1,4%. Tal análise vai ao encontro das afirmações de Hintelmann (1999), inferindo que sedimentos com altas quantidades de Hg total apresentam percentuais de metilação abaixo de 0,1%, ao invés dos 1,0 a 1,5% que normalmente observa-se em ambientes não muito contaminados.

Na terceira campanha (julho/2009), foi novamente detectado e quantificado o Hg orgânico. Entretanto nesta campanha os organomercuriais não foram quantificados no quarto ponto ($< \text{LD}$), onde fica a captação de água da SABESP. Em relação aos percentuais de metilação, o ponto 1 desta vez apresentou uma taxa de metilação de 0,14% em relação ao Hg

total; o ponto 2, de 0,055% e para o ponto 3, observou-se o maior percentual de metilação, 0,83%, demonstrando o mesmo comportamento observado na segunda campanha, onde nos dois primeiros pontos houve uma concentração bem mais elevada de Hg total e Hg orgânico, enquanto que no ponto 3 observou-se uma concentração de Hg total cerca de dez vezes menor ou mais, entretanto o percentual de Hg orgânico encontrado é bem maior.

Em relação à campanha realizada em fevereiro de 2009, o percentual de metilação no ponto 1 dobrou, entretanto, as concentrações de Hg orgânico foram bem similares nas duas campanhas. O Hg total deste ponto nesta campanha é que foi bem menor em relação ao período anterior. O percentual de metilação no ponto 3 também aumentou nesta campanha, entretanto, o valor quantificado de Hg orgânico foi similar ao determinado nas amostras de fevereiro de 2009. O Hg total nesta amostra é que foi o dobro do valor quantificado na amostra coletada em julho/2009. No ponto 4, foi detectada a presença de Hg orgânico, porém não em concentração suficiente para sua quantificação pelo método aqui proposto.

A quarta campanha (jan/2010) voltou a apresentar Hg orgânico em todos os pontos, com valores ligeiramente superiores aos quantificados nas amostras coletadas em julho de 2009. Em relação aos percentuais de metilação, o ponto 4 voltou a apresentar um percentual de metilação próximo a 1 %, o ponto 3 de 0,52%, e os pontos 1 e 2, abaixo de 0,1%.

Entende-se que um maior percentual de metilação significa que o ponto amostrado reúne condições mais adequadas para a transformação do Hg inorgânico em MeHg, enquanto que um percentual de metilação inferior a 0,1% indica que os processos de desmetilação de MeHg podem estar sendo mais eficientes.

A FIG 4.4 apresenta os percentuais de metilação obtidos para as campanhas de fevereiro de 2009; julho de 2009 e janeiro de 2010, nos quatro pontos de amostragem.

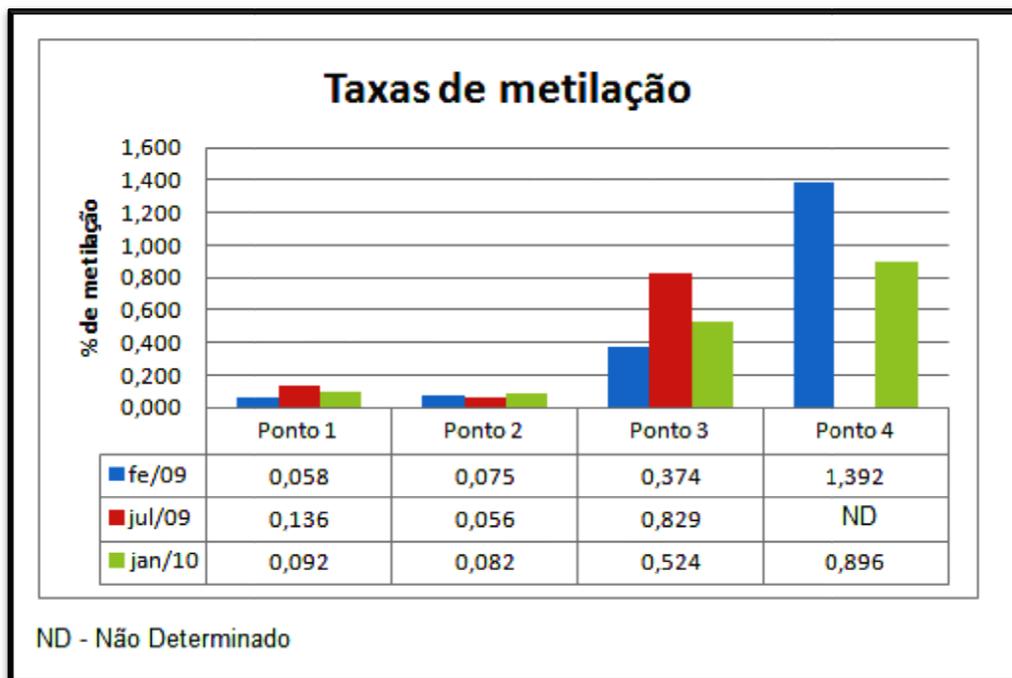


FIGURA 4.4 – Percentuais de metilação, nos 4 pontos de amostragem, nas 4 campanhas

Na FIG. 4.5 apresenta-se a variação de Hg total e orgânico ao longo dos períodos de coleta, para os quatro pontos amostrados. Pela FIG. 4.5, verifica-se que o ponto 1 apresenta uma grande variabilidade em Hg total, mas é bem estável em relação ao Hg orgânico nas 3 últimas campanhas, com valores bem próximos. Já o ponto 2, apresenta concentrações tanto de Hg total quanto orgânico estáveis ao longo do tempo, excetuando o Hg orgânico em setembro/08, os pontos 3 e 4 apresentam quantidades tanto de Hg total quanto de Hg orgânico bem menores do que os pontos 1 e 2. O ponto 3 apresenta pequena variação de concentração tanto de Hg total quanto de Hg orgânico, ao longo do tempo e ainda apresenta, em todas as campanhas, valores superiores ao ponto 4 tanto para o Hg total quanto para o orgânico.

Fica evidenciado que a concentração de Hg total e também de Hg orgânico diminui ao longo do reservatório (do ponto 1 para o ponto 4). Porém, a maior taxa de metilação ocorre no ponto 4, onde ocorre captação de água para abastecimento público, conforme mostrado nas FIG. 4.4 e 4.5.

Tal fato parece indicar que a metilação pode ocorrer independente da quantidade de Hg total existente no sedimento, mas sim das demais condições favoráveis que possam ocorrer neste ambiente, conforme apontando por Ullrich *et. al.* (2001).

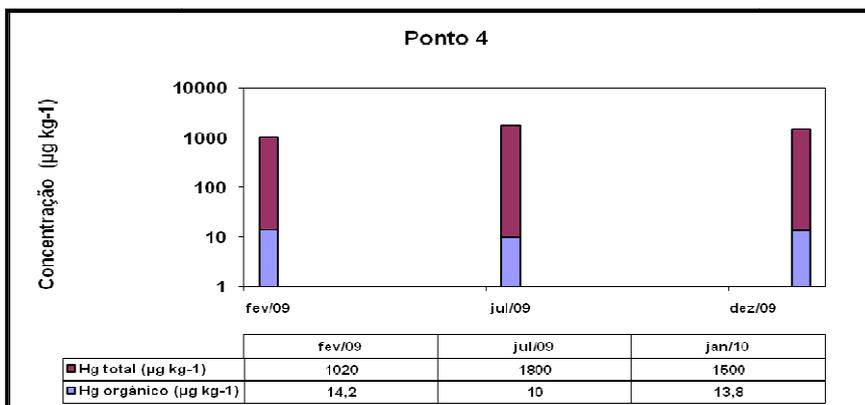
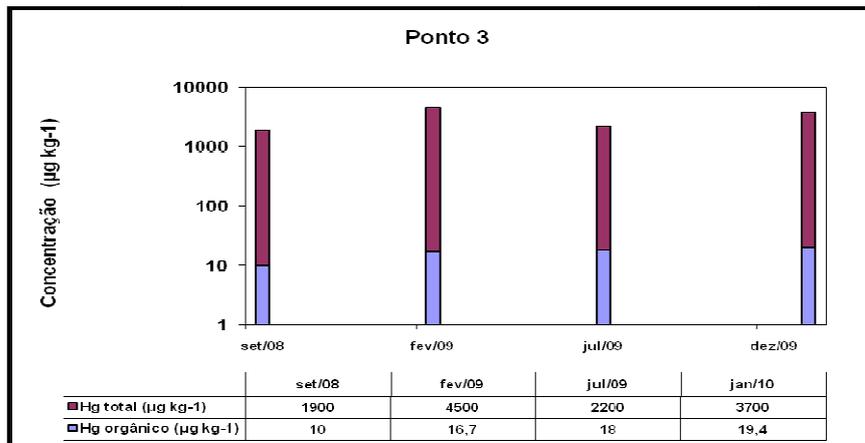
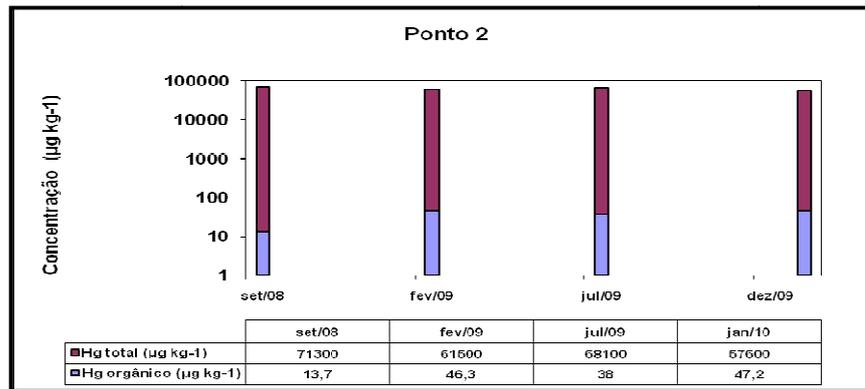
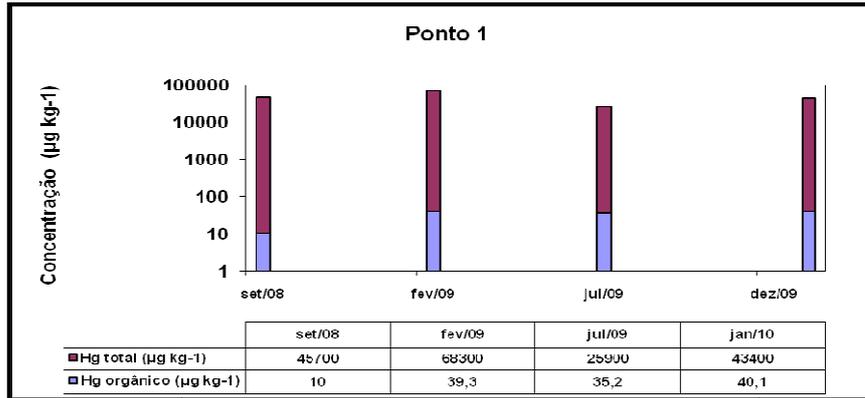


FIGURA 4.5 - Variação temporal de Hg total e orgânico nos pontos de amostragem

Cabe ressaltar que a US EPA define, para a 5ª região norte-americana, no documento “Ecological Screening Levels” (US EPA, 2003), os valores orientadores que tem como objetivo oferecer as condições de proteção aos compartimentos ambientais sob o ponto de vista ecológico, definindo para MeHg o valor de 0,01 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para sedimentos e 2,46 ng L^{-1} para água. Para elucidar que os valores encontrados neste estudo de Hg orgânico também podem ser considerados elevados, a TAB. 4.3 apresenta os valores de MeHg determinados em amostras de sedimentos em outros locais do Brasil e no mundo.

TABELA 4.3 – Valores de MeHg obtidos em amostras de sedimentos no Brasil e no Mundo

Local	MeHg ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Referencia
Ponto 1 - reservatório Rio Grande- São Paulo	38,2 ^{a,b}	Presente estudo
Ponto 2 - reservatório Rio Grande- São Paulo	43,8 ^{a,b}	Presente estudo
Ponto 3 - reservatório Rio Grande- São Paulo	18,0 ^{a,b}	Presente estudo
Ponto 4 - reservatório Rio Grande- São Paulo	12 ^{a,b}	Presente estudo
Rio Unini - Bacia Rio Negro - AM	1,14 ^b	Bisinoti <i>et. al.</i> , 2006
Lago Iara - Bacia Rio Negro - AM	2,39 ^b	Bisinoti <i>et. al.</i> , 2006
Baía de Guanabara – Rio de Janeiro – RJ	9,74	Kherig <i>et. al.</i> , 2003
Baía de Biscaia - Espanha/ França	1,8	Stoichev <i>et. al.</i> , 2004
Lagos de Ontário - Canadá	2,88	Tianrong <i>et. al.</i> , 2007
Rio Sena - França	3,0	Ouddane <i>et. al.</i> , 2008
Rio Medway - Reino Unido	4,3	Ouddane <i>et. al.</i> , 2008
Golfo de Trieste - Eslovênia	4,86	Hines <i>et. al.</i> , 2000
Reservatório de Petit Saut - Guiana Francesa	5,5	Muresan <i>et. al.</i> , 2008
Baía de Minamata - Japão	7,3	Tomyiasu <i>et. al.</i> , 2006
Estuário de Tagus - Portugal	43	Canário <i>et. al.</i> , 2007
Baía de Fukuro - Japão	45,1	Tomyiasu <i>et. al.</i> , 2006

^a - Valor médio; ^b - Determinado como Hg orgânico.

Os resultados dos parâmetros determinados em campo em água de fundo e sedimento, para todas as campanhas, nos quatro pontos de amostragem, conforme descrito no item 3.4, estão apresentados na TAB.4.4.

De uma maneira geral, o pH das amostras de água e de sedimento estão próximo a neutralidade, estando ligeiramente ácido apenas para as águas nos pontos 1 e 2. Segundo Miller & Akagi (1979), o pH tanto na água como no sedimento não cria melhores ou piores condições de metilação, apenas pode favorecer ou não a disposição do organomercuriais para a coluna d'água. Porém Ullrich *et. al.* (2001), relata que valores neutros de pH podem favorecer a formação de dimetilmercúrio, ao passo que valores mais ácidos, principalmente próximo a 5 definem o MeHg como principal organomercurial do meio. O sedimento destaca-se como um ambiente potencialmente anóxico, plenamente confirmado pela ausência ou quase ausência de OD na água de fundo e os valores acima de -100 mV de E_H , condição propícia aos processos de metilação bióticos (Muresan *et. al.*, 2008). Vale destacar que este valor de E_H foi determinado com base no sistema de referência prata/cloreto de prata (Bevilacqua, 1996).

Chama a atenção nestes dados os altos teores de OD nos pontos 1 e 2 do inverno de 2009 (julho e agosto), cujas coletas foram realizadas em dias diferentes, com temperaturas próximas a 16° C nas águas de fundo em função da época do ano. Baixas temperaturas também foram observadas para todos os outros pontos coletados em julho de 2009. Como esperado, foram encontrados os maiores valores de temperatura em água de fundo nos pontos 1 e 2, nas campanhas de fevereiro de 2009 e janeiro de 2010, devido à época do ano e também por serem os mais rasos. Conforme discutido em 1.5.4, baixas temperaturas desfavorecem a metilação de Hg.

TABELA 4.4 – Resultados dos parâmetros de campo determinados para as amostras de água e sedimento

Pontos / Campanha	Local		Água de fundo			Sedimento		
	Prof. (m)	Transparência (m)	OD (mg L ⁻¹)	pH	Temp. (°C)	pH	E _H (mV)	
Ponto1	set. 2008	1,8	0,7	0,32	6,92	19,2	6,75	-121
	fev. 2009	3,5	0,8	0,18	6,32	22,6	6,78	- 153
	ago. 2009	3,7	1,1	5,60	6,63	18,5	7,14	-177
	jan. 2010	4,4	0,6	1,28	6,22	21,9	6,88	-200
Ponto2	set. 2008	3,5	0,7	< 0,10	7,26	20,1	6,93	- 138
	fev. 2009	3,7	0,8	0,19	6,56	23,2	6,81	- 149
	jul. 2009	4,1	0,9	5,04	6,39	15,9	7,28	-185
	jan. 2010	4,6	0,7	0,59	6,23	22,2	6,89	-187
Pontos3	set. 2008	6,8	1,1	< 0,10	6,98	18,9	6,72	-155
	fev. 2009	8,2	1,0	0,12	6,62	21,9	6,75	-172
	jul. 2009	8,8	1,1	0,30	6,88	16,8	6,83	-153
	jan. 2010	8,2	1,0	0,48	7,02	21,3	6,69	-182
Ponto 4	fev. 2009	11,2	1,3	<0,10	6,92	22,3	6,86	-196
	jul. 2009	11,6	1,3	0,40	7,05	17,2	7,31	-170
	jan. 2010	12,0	1,2	0,51	6,88	20,5	6,90	-172

O ponto 1 apresentou uma profundidade muito baixa na primeira campanha de amostragem. Pode ter ocorrido da embarcação, mesmo ancorada, ter se deslocado um pouco, devido aos ventos na região e saído da calha do rio parando sobre uma margem de várzea. A determinação de transparência neste ponto indica que a zona eufótica é total (zona eufótica = transparência * 2,7), ou seja, a luz solar, e obviamente os raios UV, atingem o sedimento (Esteves, 1998). Ainda sobre o ponto 1, na coleta realizada em agosto/09 a zona eufótica também foi quase que total, ficando a apenas cerca de 70 centímetros do sedimento. No ponto 2, em setembro/08 e em fevereiro/09, a zona eufótica determinada foi mais da metade da profundidade total, mas não chegando próximo ao sedimento. Nos pontos 3 e 4, a zona eufótica foi menor que a metade da profundidade total em todas as verificações.

A FIG. 4.6 ilustra o comportamento dos pontos do reservatório em relação à profundidade e zona eufótica.

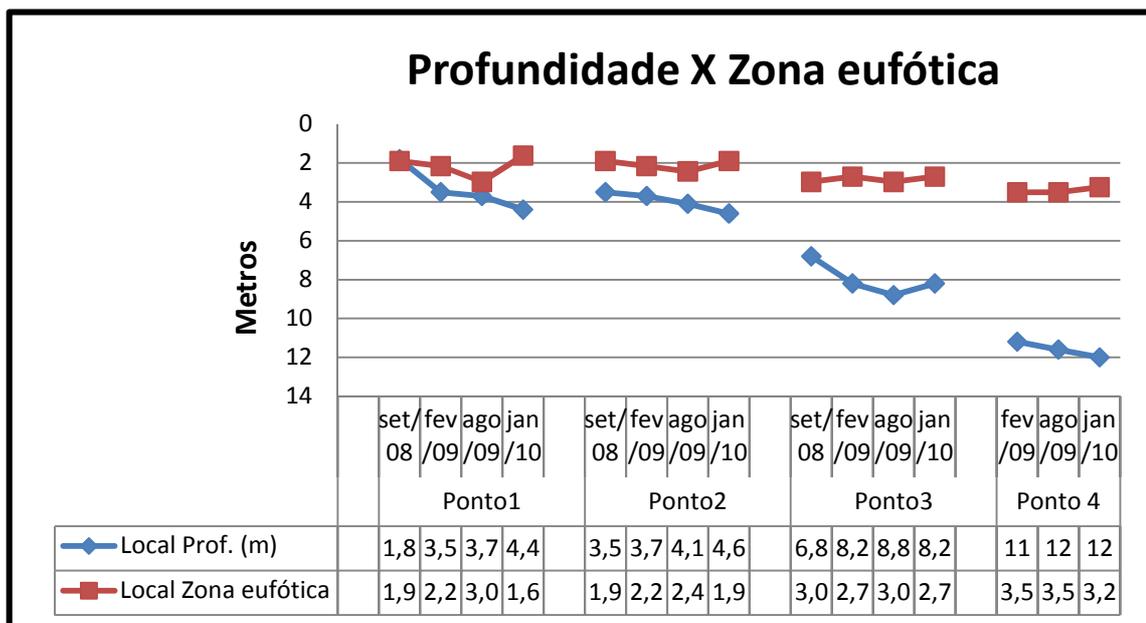


FIGURA 4.6 – Profundidade dos pontos coletados e zona eufótica calculada

Os pontos 1 e 2, por apresentarem baixa profundidade, inclusive apresentando oscilação considerável entre as campanhas devido à cheia do reservatório, (excetuando o caso do ponto 1 em setembro de 2008), estão mais sujeitos a resuspensão do sedimento, seja por ação dos ventos ou mesmo pela correnteza, principalmente no ponto 1. Os altos valores de OD obtidos no inverno de 2009 para estes pontos e outro igual a $1,2 \text{ mg L}^{-1}$, parecem indicar que a água de fundo apresenta oxigenação, além de uma maior temperatura, fatos que podem alterar constantemente a população bacteriana destes pontos em relação as bactérias

anaeróbias e aeróbias e, conseqüentemente, os processos de metilação ou desmetilação de Hg por via biótica. Devido ao ponto 1 ter apresentado zona eufótica total em uma campanha e quase total em outra, não se pode desconsiderar a princípio para este ponto, a possibilidade de haver metilação do Hg por processos fotoquímicos ou então a conversão do $\text{Hg}^{+2} \rightarrow \text{Hg}^0$, podendo este se desprender para a atmosfera neste local do reservatório, conforme discutido em 1.5.3, fato que vai ao encontro da grande oscilação da concentração de Hg total neste ponto ao longo das campanhas.

Os pontos 3 e 4 apresentaram resultados de campo mais estáveis em todas as campanhas de amostragem, caracterizados pela ausência ou quase ausência de OD na água de fundo em todas as épocas e profundidades que pouco oscilaram, assim como uma zona eufótica menor que a metade da profundidade, prevalecendo um ambiente sem radiações solares próximo aos sedimentos e, conseqüentemente, ausência de processos fotoquímicos, condições propícias à anaerobiose, além de serem menos propensos a ressuspensão dos sedimentos devido a ação dos ventos.

A TAB. 4.5 apresenta os resultados das concentrações de COD e COT nitrogênio amoniacal, nitrogênio Kjeldahl, fósforo total, sulfato e sulfeto, além dos metais Cu, Co, Fe, Mn em águas de fundo, determinados conforme descrito no item 3.4.

Apesar da variabilidade destes parâmetros por estes pontos, verificam-se maiores valores de COD nos dois primeiros pontos, sendo COT de distribuição mais anômala ao longo do reservatório nas águas de fundo, assim como todos os demais nutrientes, que, aliás, indicam uma grande carga interna do reservatório devido à poluição por esgotos, tanto em tempo presente como ao longo do tempo.

A FIG. 4.7 ilustra melhor o comportamento do COD na água de fundo ao longo dos pontos e das campanhas. O COD possui extrema importância quando se leva em consideração os processos de metilação em ambientes aquáticos. Altos valores de COD podem blindar o Hg de forma a não deixá-lo disponível para metilação, conforme relata Ravichandran (2004), ou ainda favorecer a conversão $\text{Hg}^{+2} \rightarrow \text{Hg}^0$ na presença de luz, despreendendo o Hg^0 para a atmosfera. Justamente nos pontos onde o potencial de metilação foi menor verificam-se os maiores resultados para COD.

TABELA 4.5 – Concentrações (mg L⁻¹) de N, COD, COT, P total, Fe, Co, Cu e Mn, nas amostras de águas de fundo

		N amoniacal	N Kjeldalh	COD	COT	P total	Fe	Mn	Co	Cu
Ponto 1	set/08	1,65	49,4	8,6	11,4	23,4	23,4	0,23	<0,02	0,03
	fev/09	1,01	16,4	30,1	95,8	5,51	73,5	0,72	0,02	0,08
	jul/09	0,43	2,11	16,0	25,1	0,75	22,5	0,18	0,02	0,03
	jan/10	2,00	6,40	10,1	17,8	0,34	9,27	0,19	<0,02	0,02
Ponto 2	set/08	1,91	127	69,5	2760	57	881	1,53	0,06	0,16
	fev/09	1,68	19,9	27,8	149	5,60	107	1,00	0,03	0,10
	jul/09	0,28	0,56	7,27	11,8	0,30	10,6	0,1	<0,02	<0,01
	jan/10	0,60	1,17	7,88	11,3	0,09	3,29	0,14	<0,02	0,01
Ponto 3	set/08	3,11	119	12,3	95,8	27	209	3,09	0,03	1,08
	fev/09	0,70	7,71	10,5	62,7	0,91	11,8	0,61	<0,02	0,68
	jul/09	0,63	1,02	7,66	9,45	0,07	2,9	0,16	<0,02	0,09
	jan/10	1,32	6,57	16,4	57,6	2,88	57,3	0,82	<0,02	1,81
Ponto 4	fev/09	1,57	0,12	17,9	36,6	1,44	20,4	2,11	0,02	1,30
	jul/09	17,5	0,50	5,97	6,29	0,06	1,52	0,23	<0,02	0,12
	jan/10	1,69	7,81	7,07	12,6	0,76	373	4,84	<0,02	19,8

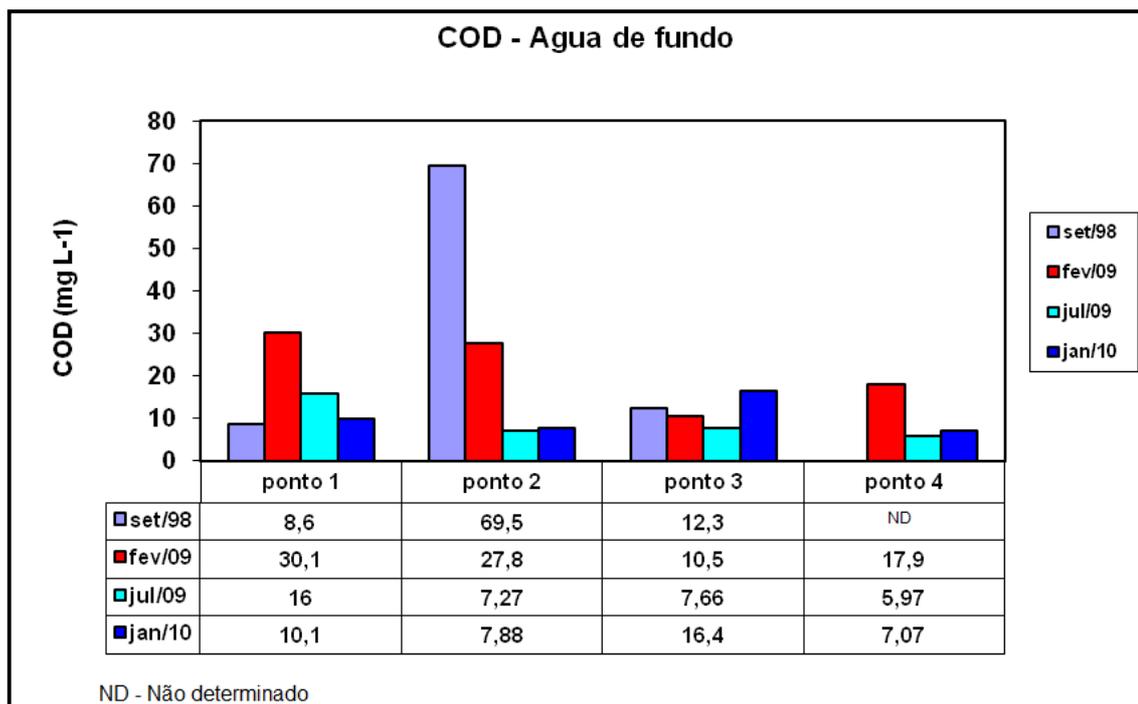


FIGURA 4.7 – Carbono Orgânico Dissolvido (COD) nos pontos coletados ao longo das campanhas

Os metais Fe, Mn, Cu e Co apresentaram grande variação de concentração entre os pontos e as campanhas, devido à amostra ter sido coletada junto ao sedimento, o que, invariavelmente traz partículas deste compartimento junto à água (TAB. 4.5). Entretanto os valores de Cu nas amostras de água seguiram a tendência de aumento da concentração ao longo do eixo do reservatório (do ponto 1 para o ponto 4). Cabe ressaltar que a SABESP utiliza-se de sulfato de cobre para controle de florações de algas neste reservatório, sendo este algicida aplicado mais intensamente próximo à captação de água, no ponto 4.

A TAB. 4.6 apresenta os dados de granulometria, umidade e resíduos relativos às amostras de sedimento, obtidos conforme procedimentos descritos nos itens 3.4.2. e 3.4.6. A composição granulométrica um pouco mais franca ou de textura média (Embrapa 1979 apud Oliveira, 2005) no ponto 1, na campanha de setembro de 2008, indica que a amostragem não ocorreu exatamente na calha do rio. Os pontos 2 e 3 apresentaram-se como locais de sedimentação, sendo o ponto 2, por estar justamente mais próximo da entrada do reservatório, aquele que concentra maiores valores de COT (TAB. 4.5) e Hg (TAB. 4.2), nas águas, indicando ser este, dentre os pontos aqui amostrados, o local de entrada tanto de Hg quanto de

esgotos no reservatório. Tais pontos configuram-se também em um ambiente anóxico e com boa carga de matéria orgânica, ambientes propícios a metilação do Hg inorgânico em suas formas orgânicas.

TABELA 4.6 – Resultados analíticos (%) para granulometria, umidade e resíduos, para as amostras de sedimentos

		Areia	Silte	Argila	Umidade	Sólidos totais	Sol. Fixos totais	Sol. Voláteis Totais
Ponto 1	set/08	34,3	40,5	25,2	52	48	91	9
	fev/09	1,0	44,3	54,7	78	22	82	18
	jul/09	3,2	51,2	44,9	82	18	80	20
	jan/10	7,8	55,8	36,4	77	23	82	18
Ponto 2	set/08	25,4	26,5	48,1	70	30	89	11
	fev/09	14,6	33,6	51,8	78	22	83	17
	jul/09	59,5	22,2	18,3	63	37	92	8
	jan/10	8,9	43,9	47,2	81	19	81	19
Ponto 3	set/08	0,5	30,7	68,8	79	21	85	15
	fev/09	9,2	33,7	57,1	80	20	84	16
	jul/09	1,4	33,7	64,9	82	18	83	17
	jan/10	0,9	33,4	65,7	80	20	83	17
Ponto 4	fev/09	0,8	48,7	50,5	85	15	83	17
	jul/09	2,7	60,9	36,4	79	21	85	15
	jan/10	1,2	52,7	46,0	80	20	85	15

A análise granulométrica indica que praticamente todos os pontos amostrados apresentam alto teor de finos, caracterizando ambientes de textura argilosa, onde, devido à grande área superficial, a capacidade de adsorção tanto de matéria orgânica quanto de metais é maior (Bevilacqua, 1996; Oliveira, 2005). As determinações granulométricas concluíram que os sedimentos são predominantemente argilosos, excetuando o ponto 1 em setembro de 2008 conforme já discutido e o ponto 2, em uma das campanhas que apresentou uma textura entre média e arenosa, entretanto rico em areia fina ($< 0,50$ mm). Mesmo estando na calha do rio, o barco durante a amostragem pode ter-se deslocado por centímetros para um local onde a sedimentação não era intensa e por conta disto foi amostrado um local com menor deposição, fato que vai ao encontro do baixo resultado de sólidos voláteis totais, ferro, COT, umidade e nutrientes obtidos neste ponto. A granulometria argilosa destes pontos correlaciona-se com os valores obtidos de umidade, resíduos, COT e ferro, indicando que todos os pontos amostrados são locais de deposição sedimentar, com fatores de correlação superiores a 0,88 em todos os pontos, excetuando-se o ponto 3, onde estas correlações foram inferiores.

A TAB. 4.7 apresenta os resultados obtidos para as análises químicas do sedimento conforme procedimento descrito nos itens 3.4.3, 3.4.4 e 3.4.5, sendo as bactérias redutoras de sulfato (BRS) expressas em número mais provável (NMP) por cem gramas de sedimento (NMP/100g) e o COT em percentagem (%).

No sedimento, o alto valor de N Kjeldahl no ponto 1 destaca o grande aporte de esgotos lançados no reservatório, mesmo na amostra de set./2008, ainda que apresentando uma composição granulométrica franca, conseguiu agregar um COT considerável, além do próprio Hg.

Tais análises confirmam as características anóxicas do reservatório devido aos altos valores de matéria orgânica e nutrientes, fortalecidos pelo valor de E_H determinado nestes pontos (vide TAB 4.4) e o resíduo volátil. Sendo então ambientes propícios à metilação bacteriana. Mas também pode ocorrer, nestas condições, do Hg estar ligado à matéria orgânica de forma não disponível para metilação bacteriana. (Bisinoti & Jardim, 2004, Ravinchandran, 2004).

TABELA 4.7 - Concentrações (mg kg⁻¹) de N kjeldahl, P total, Fe, Co, Cu e Mn, COT (%) e BRS (NMP/100g) nas amostras de sedimentos

		COT (%)	N kjeldahl	P total	BRS (NMP/100g)	Fe	Mn	Co	Cu
Ponto 1	set/08	2,76	17500	308	----	26958	107	6,7	28,2
	fev/09	4,59	7772	2200	2400	55807	192	12,2	54,7
	jul/09	5,64	12933	7850	<18	58783	192	11,8	49,3
	jan/10	5,14	5966	2217	11000	55976	180	7,55	41,6
Ponto 2	set/08	4,41	2833	1337	----	71897	192	11,1	50,1
	fev/09	4,31	7636	1855	7000	56748	184	11,8	85,2
	jul/09	2,17	2122	1123	1800	12311	128	11,2	56,6
	jan/10	4,73	6053	1811	1800	47755	183	10,5	51,7
Ponto 3	set/08	3,86	3905	1395	-----	78381	334	9,8	1989
	fev/09	4,27	7350	960	2100	56998	506	7,95	2190
	jul/09	5,88	7111	1556	150	49249	252	10,5	482
	jan/10	3,86	4175	820	310	48556	339	6,70	1399
Ponto 4	fev/09	4,46	9533	1100	330	81615	763	7,62	6019
	jul/09	3,46	6048	1262	180	69859	767	11,1	3357
	jan/10	3,85	6200	1215	940	58362	556	5,50	3711

---- Não determinado

Apenas a partir da segunda campanha foram analisadas as bactérias redutoras de sulfato nos sedimentos e os valores encontrados, principalmente nos pontos 1 e 2, foram bem mais elevados em relação ao ponto 4. Esta análise determina apenas o gênero *Desulfovibrio* dentre os outros gêneros de BRS e, além disso, nem todas as espécies de *Desulfovibrio* realizam a metilação conforme aponta Ranchou-Peyruse *et. al.* (2009) em seus estudos. O autor menciona também que existem determinadas cepas que não conseguem uma reprodução satisfatória em condições com altos teores de Hg e outras, que apresentam comportamento

indiferente. Altos valores de BRS nos pontos 1 e 2, parecem indicar que os gêneros de BRS nestes locais não são aqueles que possam vir a sofrer problemas quanto a reprodução. Entretanto, os percentuais de metilação são baixos, ainda mais em comparação ao ponto 4, onde há proporcionalmente mais MeHg e um número mais provável de bactérias menor.

Chama a atenção a ausência de BRS no ponto 1 no inverno de 2009, intercaladas por grandes quantidades no verão de 2009 e 2010 (TAB. 4.7), evidenciando o quanto este ponto sofre com alterações em sua biota. A não detecção de BRS pode ter sido em função de a zona eufótica ser quase total, ou seja, a penetração de raios UV do sol quase atinge o sedimento, fato crucial para a não existência destas bactérias, associado com o alto valor de OD nas águas de fundo, e as baixas temperaturas da água que atuam apenas como inibidora do crescimento bacteriano. Segundo a CETESB, (1989), as BRS conseguem melhores condições de reprodução quando o E_H é inferior a -100 mV, temperatura entre 25 e 30 °C e ausência de oxigênio, sendo a presença de oxigênio e radiação UV costumeiramente fatal a este gênero.

A FIG. 4.8 apresenta a variabilidade amostral obtida para os 4 pontos ao longo de três campanhas, entre fevereiro de 2009 e janeiro de 2010, onde foi possível a determinação de BRS nos sedimentos confrontado com os valores de OD na água de fundo e, Cu nos sedimentos. Observou-se que os maiores valores de OD corresponderam aos menores valores de BRS, o mesmo ocorrendo quando se faz a associação de BRS com o teor de Cu total presente nos sedimentos, utilizado para impedir as florações de algas neste reservatório, que podem trazer problemas frente ao abastecimento de água da região. Segundo Utgikar *et. al.* (2001), grandes quantidades de sulfetos insolúveis, neste caso o CuS se enquadra como um destes, pode prejudicar o desenvolvimento das BRS, inibindo seu crescimento pelo fato de não serem substâncias móveis e acabarem por impedir o acesso das bactérias ao substrato. Apesar de não ter sido quantificado sulfeto neste trabalho, esta aqui sendo considerado que este Cu possa estar associado a sulfetos e inibindo o crescimento das BRS nos pontos onde a concentração deste elemento é muito superior aos valores do CCME (2001), que estipula em 197 mg kg^{-1} o valor limite para a probabilidade de ocorrência de efeitos deletérios para a biota.

A maior taxa de metilação na captação pode ser em função do alto valor negativo de potencial redox neste ponto, associada com sua maior profundidade e ausência de oxigênio próximo ao sedimento, sendo estas suposições aplicadas também ao ponto 3. Os dois pontos de entrada do reservatório (pontos 1 e 2) têm sedimentos mais suscetíveis a alterações

freqüentes, pois são pontos de menor profundidade e a ação dos ventos pode também provocar alterações neste compartimento, além de serem pontos de considerável aporte de nutrientes, condições que vão favorecer o crescimento bacteriano, mas não necessariamente as condições de metilação. Nestes pontos, parece que as condições de perturbação do sedimento por ações externas e a constante deposição prejudicam a metilação de Hg.

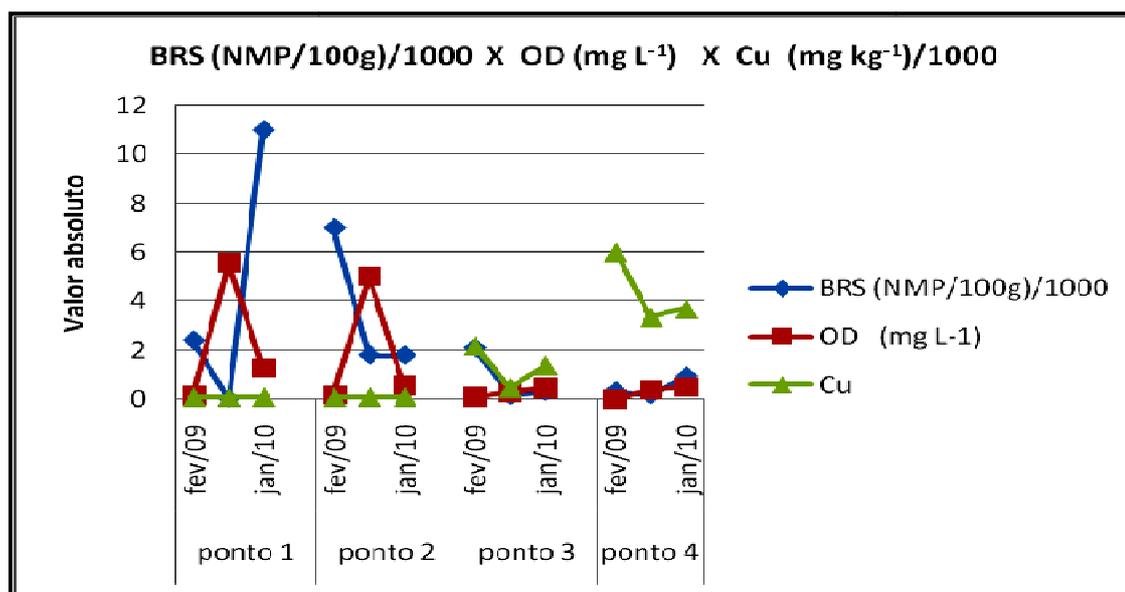


FIGURA 4.8 – Valores de BRS em função de valores de OD e de concentração de Cu, nos sedimentos

Entretanto, não pode ser descartado que exista alguma outra forma de metilação do Hg além da biótica através das BRS, visto que no inverno de 2009 estas bactérias não estavam presentes nos sedimentos do ponto 1 e mesmo assim o Hg orgânico foi quantificado, reforçando as hipóteses de que podem coexistir mais de um fator de metilação, pelo menos nestes dois pontos iniciais do reservatório. Entretanto, as condições observadas nos pontos 3 e 4, fazem com que a biota presente no sedimento seja mais estável, favorecendo o processo de metilação biótico, principalmente pelas BRS.

4.3 Resultados obtidos nas análises de sedimentos por NAA

4.3.1 Verificação da precisão e exatidão dos resultados obtidos nas análises de sedimentos por NAA

A FIG. 4.9, apresenta os resultados obtidos nas análises dos materiais de referência certificados Soil-7, BEN-basalt e WQB-3, para controle de qualidade da técnica de NAA. O cálculo da diferença padronizada ou valor Z foi efetuado de acordo com BODE (1996). Se o $|Z| < 3$, significa que o resultado individual da amostra controle (material de referência) deve estar dentro do intervalo de confiança de 99% do valor verdadeiro (ou aceito). Os resultados obtidos são as médias de 5 determinações para cada material de referência.

Utilizou-se o critério de Z para a avaliação da confiabilidade dos resultados:

$$Z_i = (C_i - C_{ref,i}) / \sqrt{(s_i^2 + s_{ref,i}^2)} \quad (4.1)$$

C_i = concentração do elemento i obtida na análise do material de referência (MR)

$C_{ref,i}$ = valor de concentração certificado ou de consenso para o elemento i

s_i = incerteza da concentração do elemento i na análise do MR

$s_{ref,i}$ = incerteza do valor certificado/consenso para o elemento i

Conforme citado acima, se $|Z| < 3$, significa que o resultado individual para os elementos analisados está no intervalo de confiança de 99% do valor esperado, indicando a precisão e exatidão do método. Conforme pode ser visto na FIG. 4.9, todos os materiais de referência analisados, apresentaram valores de Z-score, para todos os elementos com valores certificados de concentração, dentro do intervalo de $\pm 3,0$; confirmando a precisão e a exatidão da metodologia de NAA. A única exceção foi o elemento Na no material WQB-3.

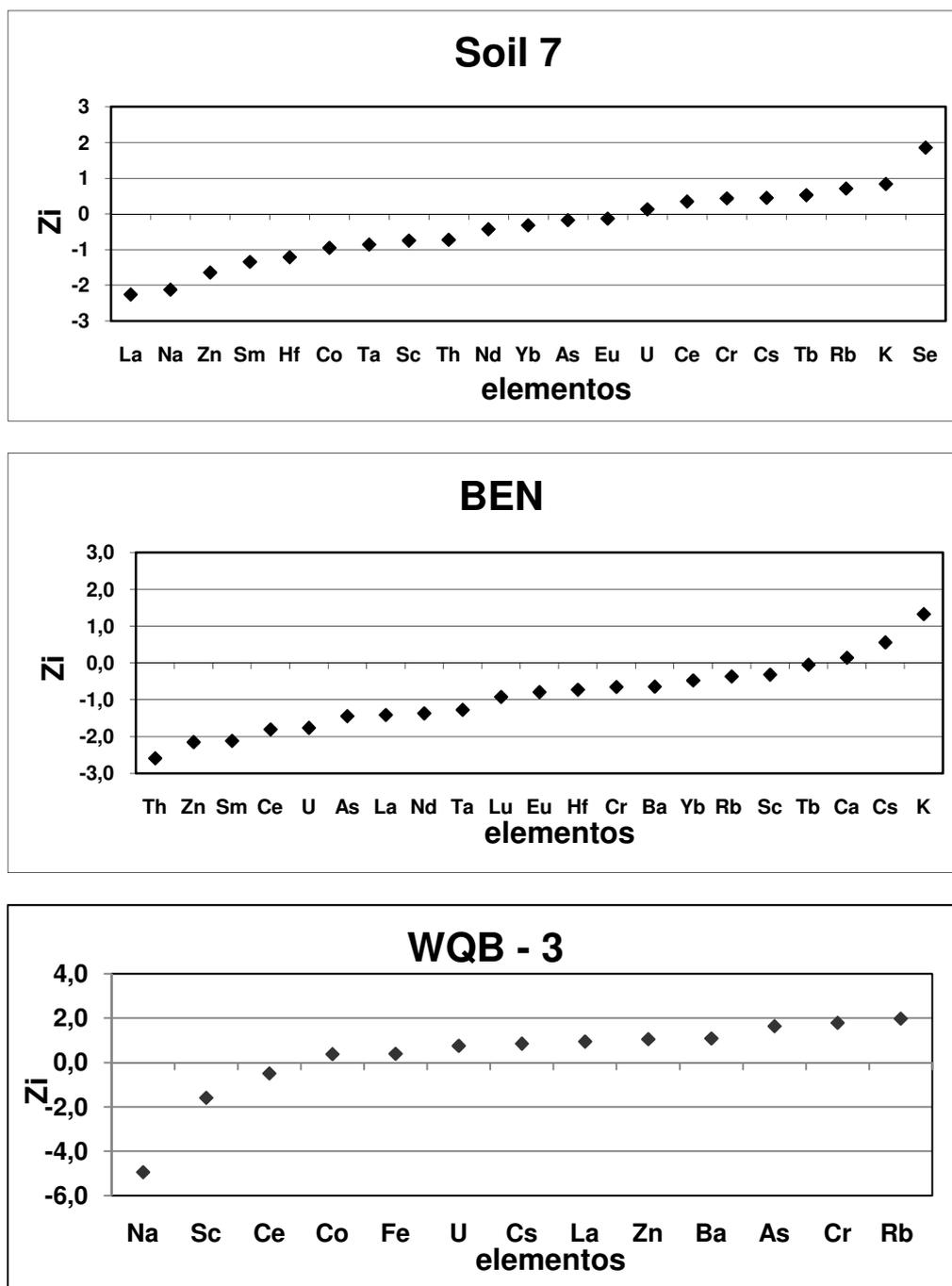


FIGURA 4.9 – Valores de Z-score obtidos na análise dos materiais de referencia por NAA

A TAB 4.8 apresenta os resultados da análise do material de referência BCR CRM 580 e os valores de Z-score, para a determinação de Hg total por NAA. Os valores de Z-score variaram de -0,03 a 0,36, indicando a precisão e a exatidão do método para determinação de Hg total por NAA. Não foi possível a quantificação de Hg total no material

de referência IAEA 405 ($0,81 \text{ mg kg}^{-1}$), devido à concentração estar abaixo do LD da técnica de NAA (1 mg kg^{-1}).

TABELA 4.8 - Resultados (mg kg^{-1}) da análise de Hg total no BRC CRM 580 por NAA (n = 3)

Resultados obtidos	Valor certificado	Z SCORE
135 ± 5	132 ± 6	0.36
130 ± 4		- 0.10
132 ± 4		-0.03

n- número de determinações

4.3.2 Resultados obtidos para a determinação de Hg total por NAA

O procedimento para a determinação de Hg por NAA seguiu a metodologia descrita no item 3.9 e os resultados obtidos estão dispostos na TAB. 4.9. Não foi quantificado Hg total por NAA em nenhuma amostra do ponto 4 ($< \text{LD}$) e devido a problemas operacionais, nas amostras irradiadas durante o ano de 2010.

TABELA 4.9 – Resultados de Hg total (mg kg^{-1}) por NAA para as amostras de sedimentos

coleta	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3
Set/08	52,5 ± 2,0	68,6 ± 2,4	3,6 ± 0,5
Fev/09	65,2 ± 2,2	59,7 ± 1,9	6,0 ± 0,9
Jul/09	29,7 ± 1,2	69,8 ± 2,6	3,2 ± 0,6

Entretanto, os resultados obtidos vão ao encontro dos valores quantificados pela técnica de CVAAS, apresentando apenas pequenas diferenças em relação ao ponto 3, onde há menor quantidade de Hg e por conseguinte, a imprecisão da técnica de NAA é maior. A FIG. 4.10 compara os resultados das duas metodologias para a quantificação de Hg total nos três pontos analisados.

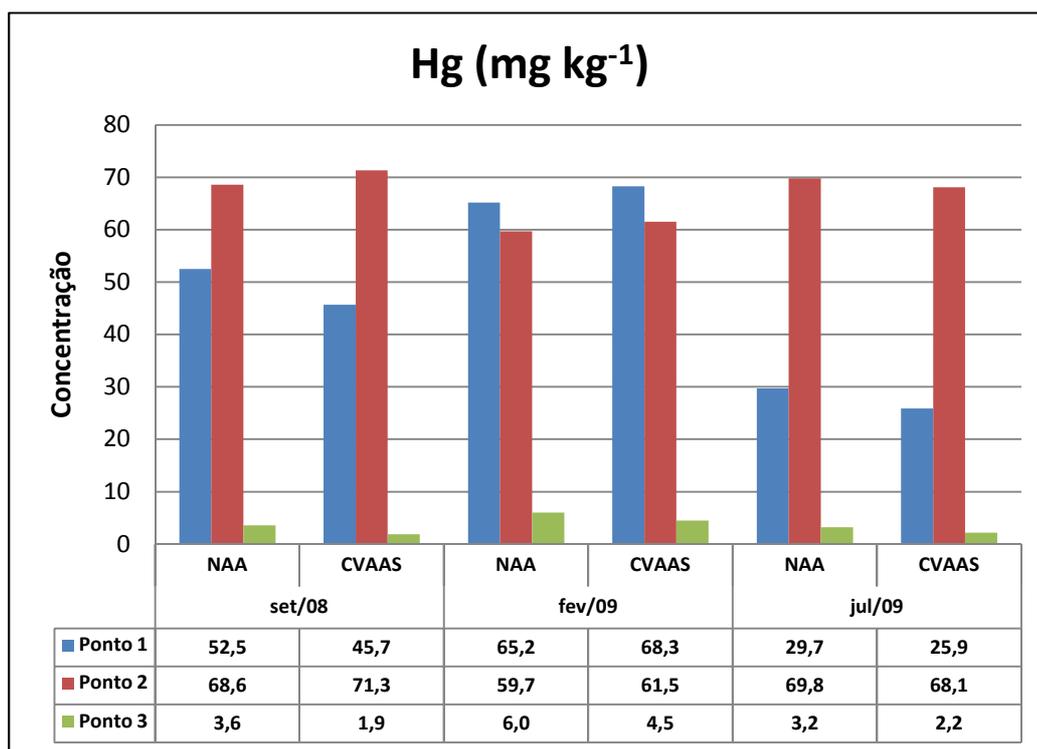


FIGURA 4.10 – Comparação dos resultados das técnicas analíticas para quantificação de Hg

Verifica-se que para os pontos 1 e 2 as metodologias são plenamente concordantes, com uma variação pequena entre os resultados. Somente no ponto 3 ocorre uma diferença maior entre os resultados obtidos. Deve ser lembrado ainda que a metodologia adotada para a extração das amostras para determinação por CVAAS, o método da US EPA 3051a (2007), preconiza apenas a extração das frações metálicas disponíveis na amostra, não tendo como foco uma extração total, atingido metais que possam estar ligados a sítios cristalinos. Tal fato pode acarretar diferenças quando se pretende comparar metodologias analíticas, visto que a NAA fornece uma quantificação total do elemento na amostra, e não de suas frações extraíveis. Entretanto, nos parece aqui que todo o mercúrio presente nestas

amostras, principalmente nos pontos 1 e 2 não está ligado a sítios cristalinos de origem geológica e provavelmente devem ser de origem antrópica.

4.3.3 Resultados obtidos nas análises de sedimentos por NAA

A TAB. 4.10 apresenta os resultados obtidos nas análises de sedimentos por NAA, conforme procedimento descrito no item 3.8. Os resultados apresentados correspondem à média de duas determinações para cada amostra analisada.

A maioria dos elementos apresentou concentrações estáveis nos pontos ao longo das campanhas, sendo verificadas poucas alterações em concentrações superiores a 25% entre uma campanha e outra, para o mesmo elemento, no mesmo ponto. É possível verificar que existem tendências de decréscimo e acréscimo de alguns metais e terras raras ao longo do eixo do reservatório.

A seguir, uma discussão agrupada de alguns elementos por ordem de concentração, para ilustrar tais comportamentos.

O elemento Tb não foi quantificado por estar muito próximo ao valor de LD da técnica de NAA, nas condições do presente estudo.

O comportamento de Cr e Ce pode ser apreciado na FIG. 4.11. Tais elementos apresentam comportamento bem estável tanto ao longo do eixo do reservatório (ponto 1 para o ponto 4) quanto comparados entre as campanhas de coleta e os pontos.

TABELA 4.10 - Resultados obtidos (mg kg⁻¹) para as amostras de sedimentos, por NAA

	ponto 1				ponto 2				ponto 3				ponto 4		
	set/08	fev/09	jul/09	jan/10	set/08	fev/09	jul/09	jan/10	set/08	fev/09	jul/09	jan/10	fev/09	jul/09	jan/10
As	10,1 ± 0,7	11,6 ± 0,4	9,5 ± 0,4	7,6 ± 0,4	12,2 ± 0,8	12,6 ± 0,9	10,8 ± 0,5	10,7 ± 0,7	19,4 ± 0,6	17,3 ± 0,9	15,9 ± 0,6	20 ± 1	31 ± 1	24 ± 1	29 ± 2
Ba	600 ± 48	554 ± 40	576 ± 32	433 ± 69	522 ± 59	539 ± 40	583 ± 37	570 ± 60	528 ± 66	497 ± 37	483 ± 71	415 ± 50	503 ± 67	671 ± 94	545 ± 61
Br	8,6 ± 0,4	24 ± 2	31 ± 5	32 ± 3	17 ± 2	17,1 ± 0,2	9,8 ± 0,4	21 ± 2	20 ± 2	19 ± 3	24 ± 3	18 ± 2	20 ± 2	14 ± 1	18 ± 2
Ce	89 ± 2	88 ± 2	113 ± 8	107 ± 7	99 ± 5	93 ± 4	113 ± 7	101 ± 6	106 ± 7	93 ± 5	96 ± 6	100 ± 6	91 ± 5	97,2 ± 4,2	96,3 ± 6,0
Co	12,0 ± 0,5	13,2 ± 0,3	12,5 ± 0,3	10,5 ± 0,2	12,8 ± 0,3	12,0 ± 0,3	8,7 ± 0,2	12,8 ± 0,3	10,4 ± 0,2	9,3 ± 0,3	9,8 ± 0,2	9,9 ± 0,2	9,5 ± 0,3	10,2 ± 0,2	8,6 ± 0,2
Cr	82 ± 3	100 ± 3	91 ± 2	82 ± 3	87 ± 3	91 ± 2	95 ± 3	85 ± 3	91 ± 4	90 ± 2	75 ± 3	93 ± 3	102 ± 3	87 ± 3	99 ± 4
Cs	7,0 ± 0,3	5,9 ± 0,3	5,7 ± 0,4	6,2 ± 0,4	5,1 ± 0,3	4,9 ± 0,3	3,7 ± 0,3	5,1 ± 0,3	6,2 ± 0,3	5,9 ± 0,3	5,8 ± 0,3	5,7 ± 0,4	6,0 ± 0,3	5,9 ± 0,4	6,1 ± 0,4
Eu	1,02 ± 0,03	1,09 ± 0,05	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,02 ± 0,08	0,96 ± 0,05	0,95 ± 0,09	1,04 ± 0,08	0,90 ± 0,05	0,82 ± 0,05	0,85 ± 0,06	0,93 ± 0,06	0,73 ± 0,03	0,71 ± 0,04	0,69 ± 0,06
Fe	40855 ± 1594	66191 ± 1569	77672 ± 807	66072 ± 654	82554 ± 963	74721 ± 573	55512 ± 580	74045 ± 639	84127 ± 3999	75839 ± 1798	81649 ± 733	83181 ± 718	82631 ± 815	76865 ± 927	81012 ± 697
Hf	16,8 ± 0,2	8,2 ± 0,2	6,4 ± 0,3	10,3 ± 0,4	6,5 ± 0,1	7,1 ± 0,2	11,4 ± 0,6	7,3 ± 0,2	4,8 ± 0,2	7,6 ± 0,2	6,8 ± 0,3	4,6 ± 0,2	5,1 ± 0,2	8,1 ± 0,3	5,5 ± 0,2
La	44 ± 1	44,5 ± 0,5	51,4 ± 0,9	47 ± 2	41 ± 2	41,0 ± 0,5	51 ± 1	43 ± 2	36,2 ± 0,6	34,6 ± 0,4	34 ± 1	35 ± 2	29 ± 2	31 ± 1	27 ± 1
Lu	0,71 ± 0,03	0,56 ± 0,06	0,46 ± 0,07	0,60 ± 0,08	0,51 ± 0,09	0,48 ± 0,05	0,64 ± 0,08	0,52 ± 0,07	0,36 ± 0,06	0,55 ± 0,05	0,44 ± 0,06	0,40 ± 0,06	0,36 ± 0,04	0,49 ± 0,07	0,43 ± 0,06
Na	1026 ± 26	1389 ± 28	1479 ± 30	1298 ± 51	1273 ± 45	1236 ± 31	1101 ± 21	1116 ± 63	1013 ± 63	957 ± 31	908 ± 39	887 ± 52	1142 ± 46	1469 ± 59	1212 ± 66
Nd	32 ± 3	35 ± 3	34 ± 3	35 ± 5	31 ± 4	34 ± 4	33 ± 3	31 ± 5	21 ± 3	31 ± 3	24 ± 2	28 ± 4	22 ± 3	21 ± 2	20 ± 4
Rb	65 ± 5	64 ± 4	73 ± 6	73 ± 7	72 ± 6	60 ± 5	71 ± 7	58 ± 4	71 ± 6	58 ± 4	59 ± 6	59 ± 6	74 ± 6	90 ± 7	94 ± 6
Sb	0,63 ± 0,08	1,2 ± 0,1	0,98 ± 0,06	0,94 ± 0,05	1,02 ± 0,05	1,20 ± 0,08	0,65 ± 0,05	0,88 ± 0,06	1,57 ± 0,07	1,36 ± 0,09	1,35 ± 0,06	1,52 ± 0,08	2,0 ± 0,1	1,60 ± 0,07	1,8 ± 0,1
Sc	17,3 ± 0,4	16,9 ± 0,5	16,5 ± 0,6	16,3 ± 0,5	17,5 ± 0,7	17,0 ± 0,4	15,6 ± 0,7	17,2 ± 0,7	18,0 ± 0,4	17,3 ± 0,5	18,2 ± 0,8	20,6 ± 0,9	19,8 ± 0,6	19,4 ± 0,9	20,7 ± 0,9
Sm	6,49 ± 0,08	6,4 ± 0,1	6,5 ± 0,1	7,0 ± 0,2	4,9 ± 0,1	5,8 ± 0,1	7,3 ± 0,2	5,7 ± 0,2	5,2 ± 0,1	5,4 ± 0,1	5,3 ± 0,1	5,1 ± 0,2	3,33 ± 0,03	3,78 ± 0,09	3,4 ± 0,1
Ta	1,9 ± 0,2	1,7 ± 0,1	2,2 ± 0,3	1,7 ± 0,2	1,9 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,9 ± 0,2	2,5 ± 0,5	1,9 ± 0,1	2,2 ± 0,2	2,3 ± 0,4	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,2	2,5 ± 0,3
Th	18,7 ± 0,6	17,4 ± 0,5	18,2 ± 0,7	15,8 ± 0,6	20,3 ± 0,7	19,0 ± 0,6	19,8 ± 0,8	18,7 ± 0,8	24,6 ± 1,1	20,9 ± 0,5	20,2 ± 0,9	25,9 ± 0,9	20,9 ± 0,54	20,3 ± 0,8	22,9 ± 1,0
U	5,3 ± 0,3	4,6 ± 0,4	4,6 ± 0,3	4,8 ± 0,5	4,6 ± 0,5	4,8 ± 0,5	4,8 ± 0,3	4,9 ± 0,6	5,7 ± 0,6	5,5 ± 0,4	5,3 ± 0,3	5,4 ± 0,7	5,0 ± 0,5	5,1 ± 0,3	5,1 ± 0,5
Yb	4,3 ± 0,1	3,3 ± 0,2	3,4 ± 0,2	3,8 ± 0,3	2,8 ± 0,2	3,2 ± 0,2	4,8 ± 0,4	3,1 ± 0,3	2,6 ± 0,2	3,2 ± 0,2	3,1 ± 0,1	2,5 ± 0,3	2,1 ± 0,2	3,2 ± 0,2	2,4 ± 0,2
Zn	224 ± 11	596 ± 31	545 ± 17	492 ± 20	422 ± 18	357 ± 26	389 ± 13	438 ± 13	119 ± 6	112 ± 6	110 ± 4	108 ± 4	118 ± 5,9	122 ± 5	112 ± 4

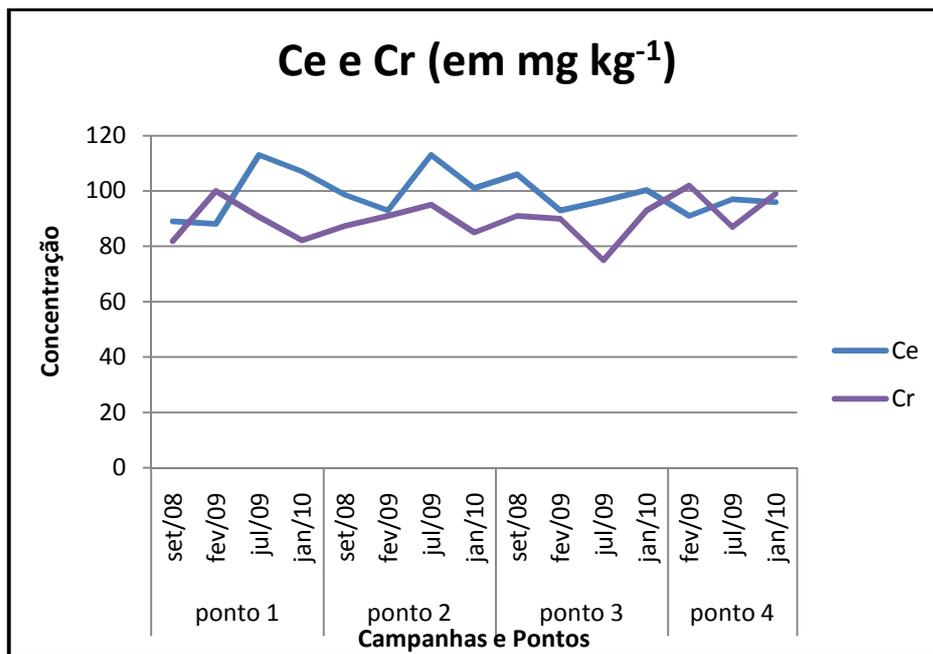


FIGURA 4.11 – Variação de concentração de Ce e Cr ao longo do tempo e do reservatório

O comportamento de Ba e Na pode ser apreciado pela FIG. 4.12, onde verifica-se a estabilidade do Ba, com uma exceção feita a amostra de janeiro de 2010 para o ponto 1, que apresentou resultado um pouco mais abaixo da média das campanhas anteriores e uma pequena e gradual tendência de declínio no ponto 3, voltando a aumentar no ponto 4, enquanto que o Na apresentou uma pequena tendência de decréscimo de concentração do ponto 1 para o ponto 3, subindo novamente no ponto 4.

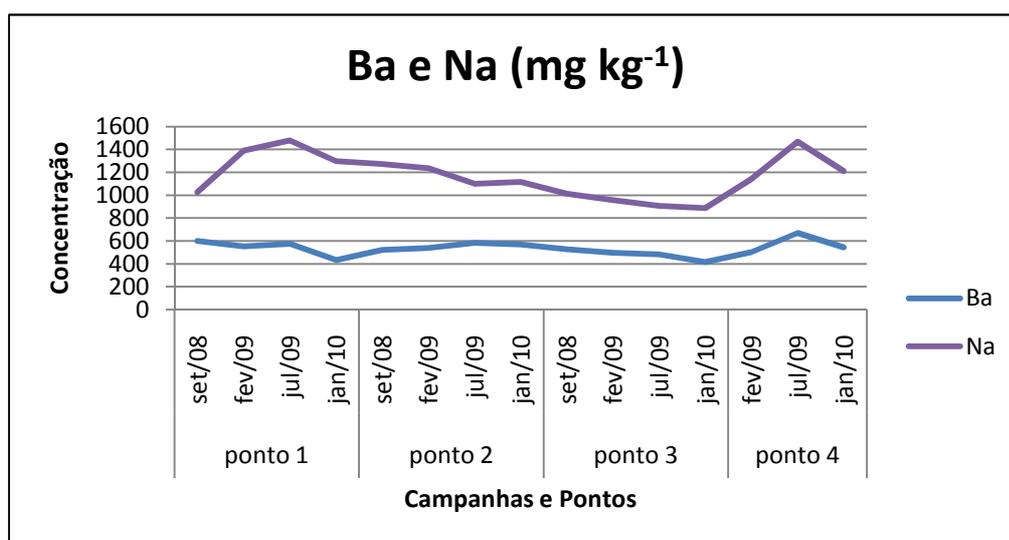


FIGURA 4.12 – Variação de concentração de Ba e Na ao longo do tempo e do reservatório

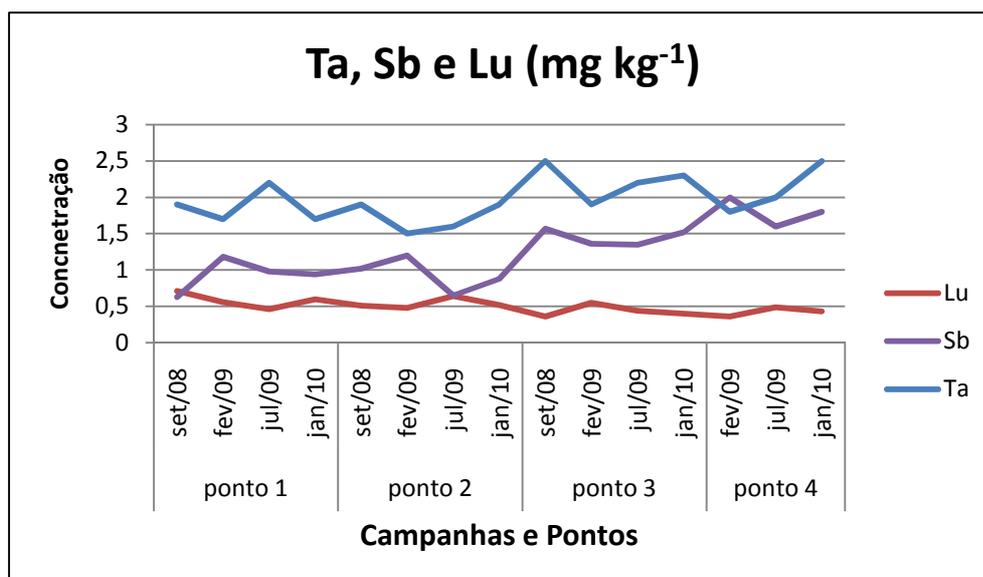


FIGURA 4.13 – Variação de concentração de Ta, Sb e Lu ao longo do tempo e do reservatório

A FIG. 4.13 apresenta a evolução de Ta, Sb e Lu em todas as campanhas ao longo do reservatório. As concentrações de Lu e Ta apresentaram-se mais estáveis, sendo o Lu praticamente constante em todo o reservatório enquanto que o Ta apresentou um discreto aumento nos pontos 3 e 4, mas ainda assim em concentrações bem próximas aos pontos 1 e 2. O Sb apresenta um comportamento diferente, uma tendência de aumento de concentração ao longo do eixo do reservatório, ou seja, do ponto 1 para o ponto 4.

A FIG. 4.14 apresenta os resultados para Cs e U. Neste caso, ocorre também a manutenção das concentrações destes elementos ao longo do reservatório, ocorrendo para o Cs um pico de concentração mais baixa no ponto 2, em julho de 2009. Além disso, o ponto 2 apresentou menores valores para este elemento em todas as campanhas, enquanto os demais pontos apresentaram sempre uma concentração ao redor de 6,0 mg kg⁻¹. A amostra desta campanha, julho de 2009, para este ponto foi a que apresentou maiores teores de areia na amostra. O U manteve-se constante ao longo do reservatório, com um ligeiro acréscimo entre os pontos 3 e 4.

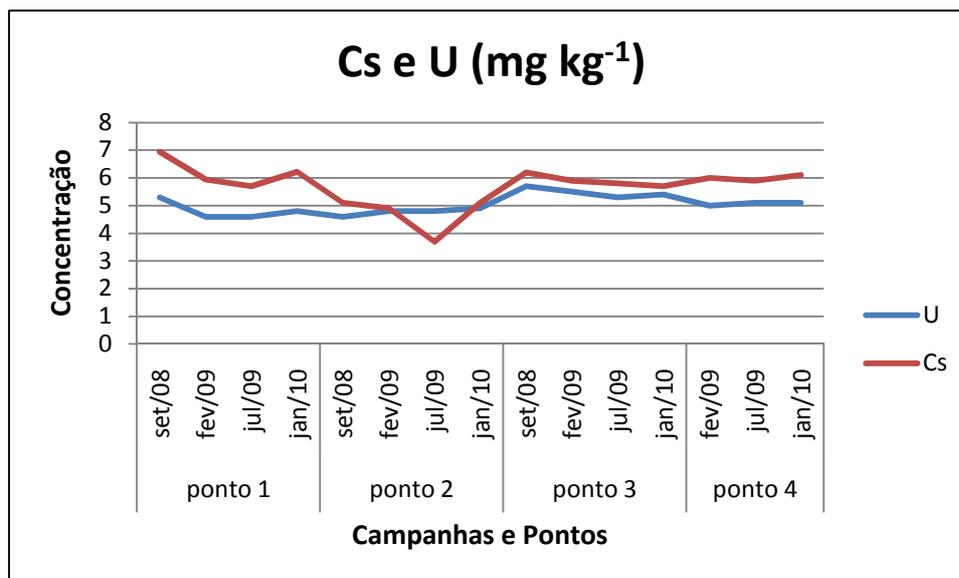


FIGURA 4.14 – Variação de concentração de Cs e U ao longo do tempo e do reservatório

A FIG. 4.15 apresenta os resultados de Sc e Rb nas campanhas e pontos coletados. Enquanto o Sc apresenta-se praticamente constante ao longo do reservatório e entre as campanhas, o Rb apresenta ligeiras oscilações ao longo das campanhas, mas não apresentando valores muito diferentes entre os pontos, exceção feita ao ponto 4, onde a concentração de Rb é um pouco superior aos demais pontos.

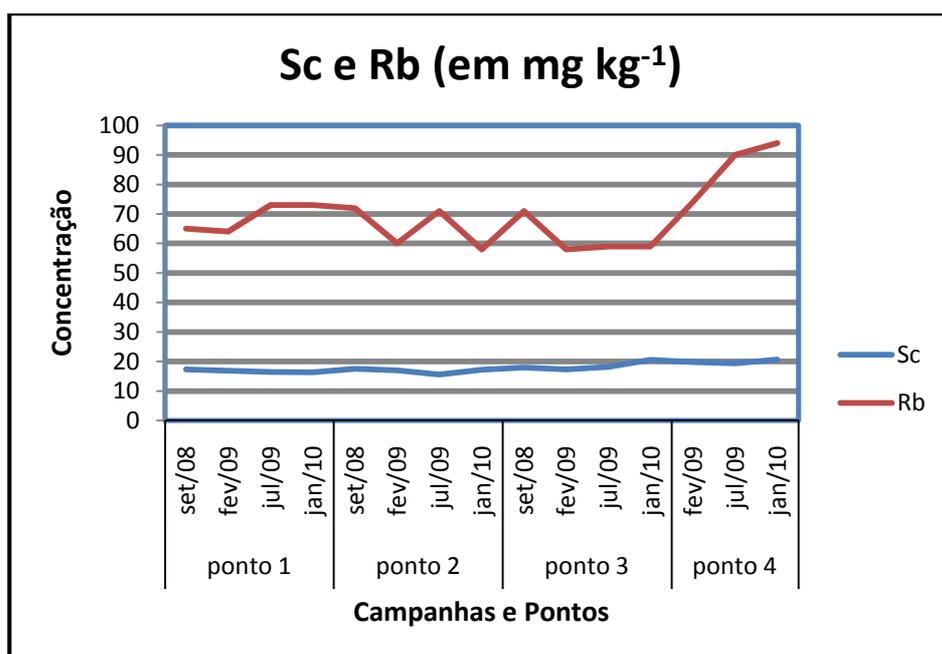


FIGURA 4.15 - Concentrações de Sc e Rb ao longo do tempo e do reservatório

A FIG. 4.16 apresenta o comportamento dos elementos As, Th e Br. Os dois primeiros apresentam uma tendência de incremento em suas quantidades ao longo do reservatório, apesar dos valores de Th terem oscilado um pouco mais entre as campanhas de coleta e o As apresentar-se de maneira bem mais estável entre as campanhas, sendo característico o incremento de seus valores ao longo do reservatório. Entretanto o Br, apresenta comportamento bem anômalo nestas amostras, não indicando nenhuma tendência mais clara ao longo do reservatório, chegando inclusive, a registrar o menor e o maior valor no mesmo ponto em épocas distintas (ponto 1).

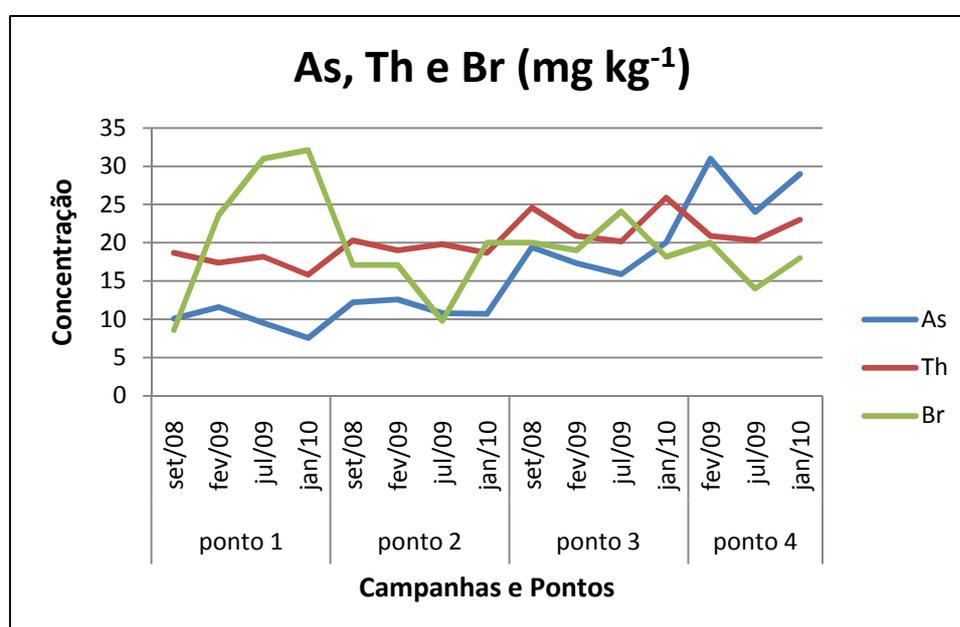


FIGURA 4.16 - Concentrações de As, Th e Br ao longo do tempo e do reservatório

A FIG. 4.17 apresenta as tendências de comportamento para Eu, Sm e Yb. O Yb, apesar de ter apresentado oscilações nas campanhas, indica uma leve tendência de decréscimo em sua concentração ao longo do eixo do reservatório, diminuindo sua concentração no ponto próximo à captação de água (ponto 4). O Sm também apresentou a mesma tendência, porém, com uma discrepância muito maior em sua concentração entre os pontos 3 e 4. O Sm também apresentou uma oscilação de concentração maior entre os pontos, principalmente no ponto 2, onde ocorreu a maior variação de concentração entre as campanhas. O Eu apresentou-se de forma bastante constante ao longo do tempo nos pontos coletados, indicando de modo bem tênue também um decréscimo de sua concentração ao longo do reservatório.

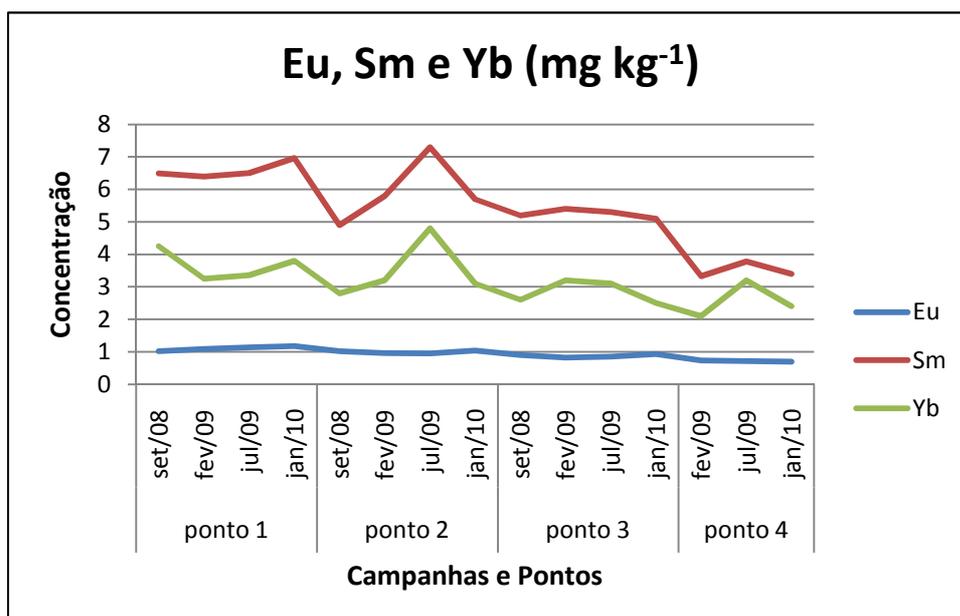


FIGURA 4.17– Variação de concentração de Eu, Sm e Yb ao longo do tempo e do reservatório

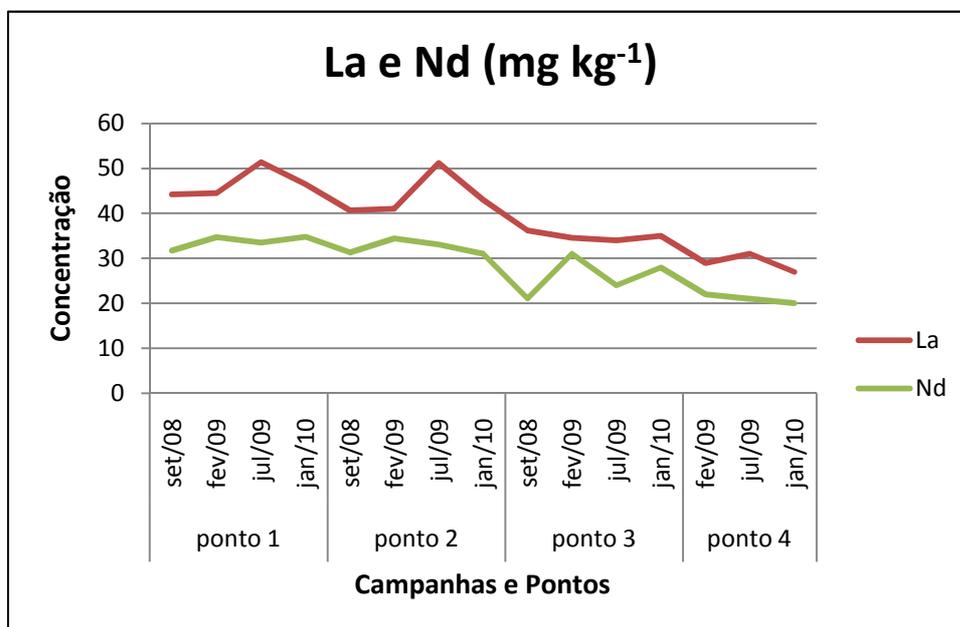


FIGURA 4.18 - Variação de concentração de Nd e La ao longo do tempo e do reservatório

A FIG. 4.18 apresenta o comportamento para Nd e La. Os dois elementos apresentaram variações de concentração dentro de um mesmo ponto, ao longo do tempo. Entretanto é nítida a tendência de ambos apresentarem decréscimo de concentração ao longo do reservatório, com as menores concentrações no ponto 4.

A FIG. 4.19 apresenta as tendências de comportamento para Hf e Co. O Co apresentou um comportamento mais estável dentro das campanhas, com duas oscilações mais significativas na campanha de janeiro de 2010 para o ponto 1 e julho de 2009 no ponto 3, mas é possível verificar uma leve tendência de decréscimo ao longo do reservatório. O Hf apresentou comportamento bem mais instável ao longo do tempo e do reservatório, sendo nítido apenas que este elemento apresenta uma grande variabilidade nos sedimentos deste reservatório. Observou-se valores de concentração similares nos pontos 3 e 4, possibilitando inclusive inferir que pode sua concentração ser menor nestes pontos do que nos dois primeiros pontos do reservatório.

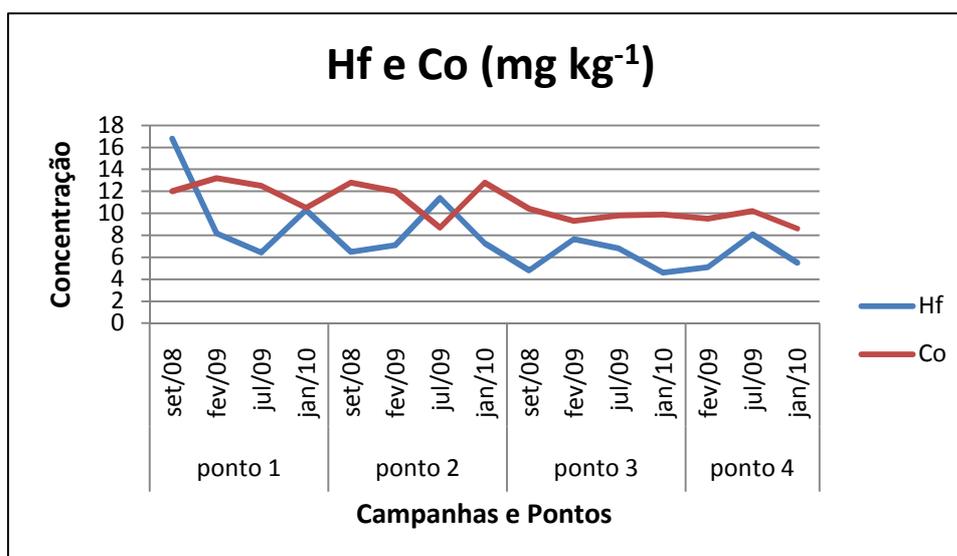


FIGURA 4.19 - Variação de concentração de Hf e Co ao longo do tempo e do reservatório

A FIG. 4.20 demonstra o comportamento dos metais Zn e Fe. O Zn apresentou uma grande oscilação no ponto 1, sendo considerado sob suspeita o resultado obtido nas amostras de setembro de 2008. Observou-se um decréscimo acentuado de concentração do ponto 1 para o 4, ao longo das campanhas, ocorrendo um decréscimo mais evidente entre os pontos 2 e 3, onde a concentração cai de 500 mg kg⁻¹ para cerca de 110 mg kg⁻¹ no

ponto 3, mantendo-se constante no ponto 4. O Fe, com seu resultado aqui expresso como mg kg^{-1} dividido por 1000, apresentou leve acréscimo no eixo do reservatório, consonante com os maiores teores de argila observados nos pontos 3 e 4.

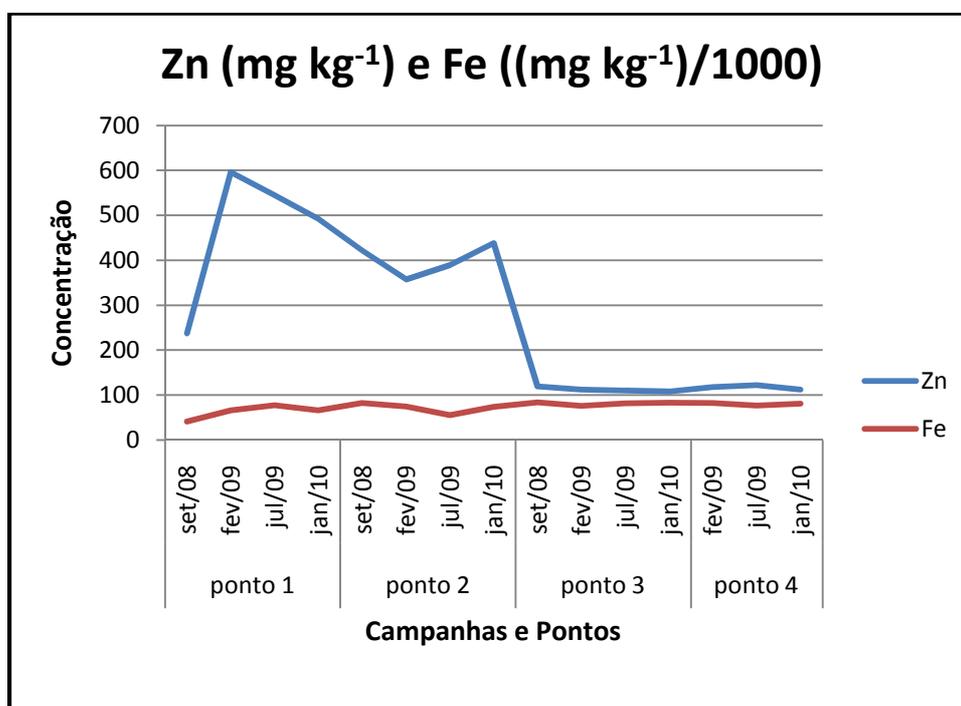


FIGURA 4.20 - Variação de concentração de Zn e Fe ao longo do tempo e do reservatório

A seguir são apresentados os gráficos box plot (FIG. 4.21) para os elementos analisados, exceto para os elementos terras raras (ETR), com valores de mediana para os 4 pontos amostrados, para todas as campanhas. Os ETR apresentam um comportamento singular e não serão discutidos no presente estudo. Tais gráficos foram calculados com o auxílio do software Statistica 6.0.

De um modo geral, pôde-se verificar pelos box plot que os pontos 1 e 2, apresentaram os maiores valores de mediana para os elementos Hf, Ba e Zn. Esses pontos se encontram também enriquecidos nos elementos terras raras La, Lu, Nd, Sm e Yb. Os pontos 3 e 4, apresentaram as maiores concentrações para os elementos As, Co, Cr, Fe, Sb, Sc, Ta, Th e U. Os elementos Br e Na, se apresentaram em maior concentração no ponto 1 e o elemento Rb, no ponto 4.

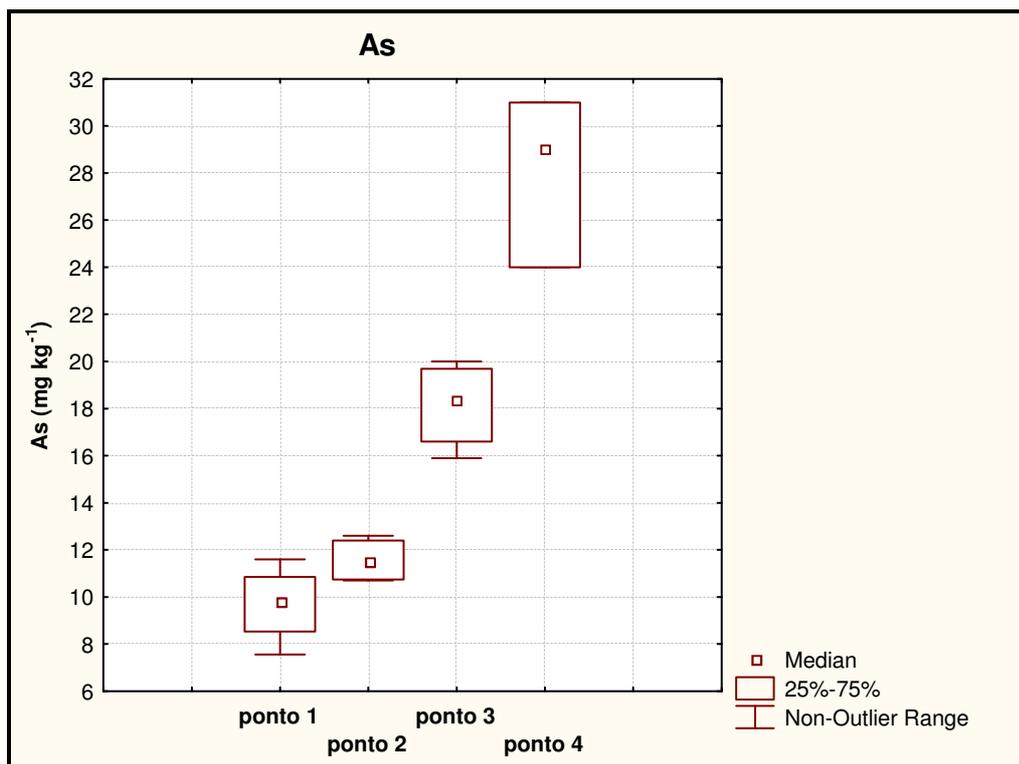


FIGURA 4.21 – Box plot da variação de concentração de As, para cada ponto, em todas as campanhas

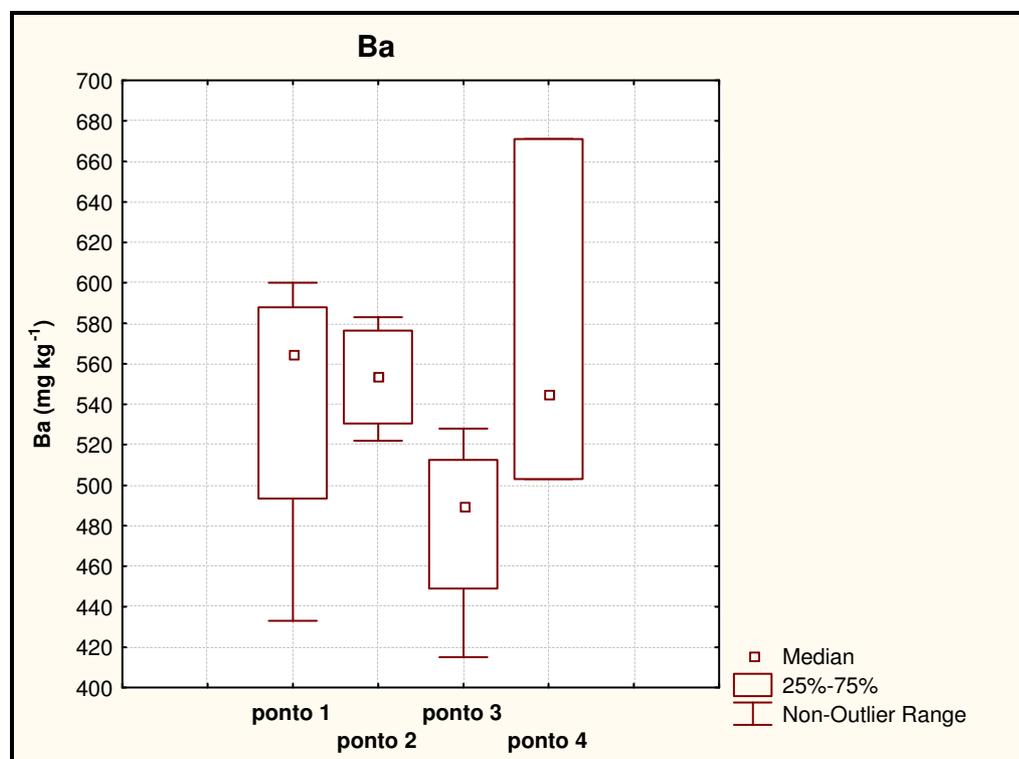


FIGURA 4.22 – Box plot da variação de concentração de Ba, para cada ponto, em todas as campanhas

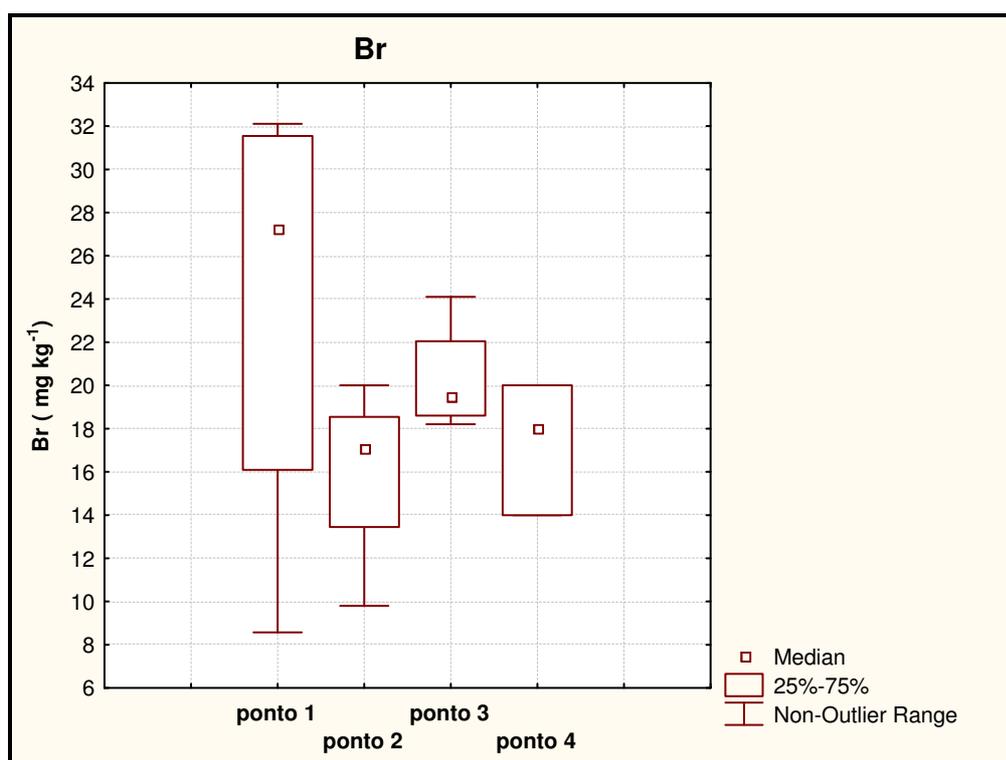


FIGURA 4.23 – Box plot da variação de concentração de Br, para cada ponto, em todas as campanhas

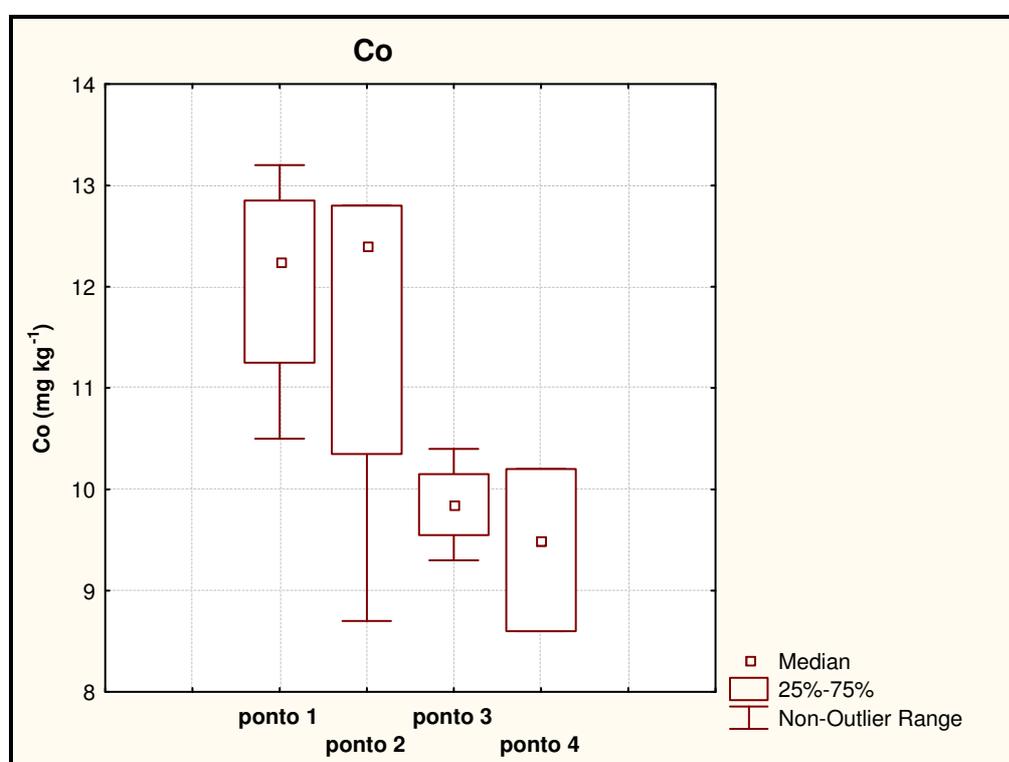


FIGURA 4.24 – Box plot da variação de concentração de Co, para cada ponto, em todas as campanhas

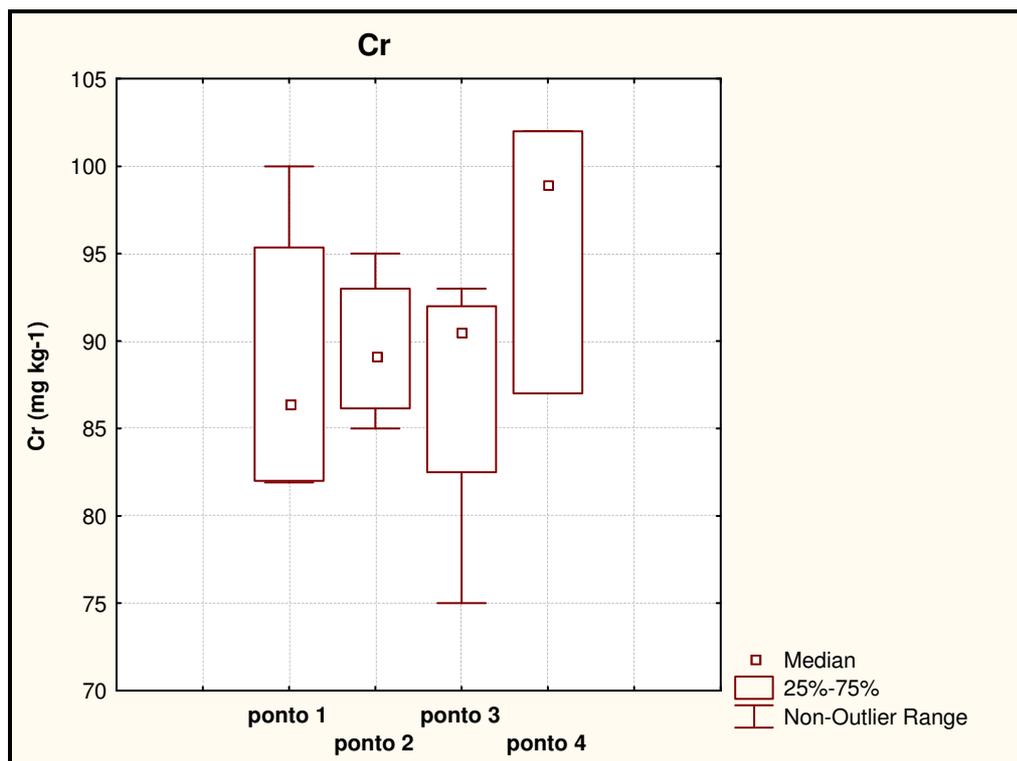


FIGURA 4.25 – Box plot da variação de concentração de Cr, para cada ponto, em todas as campanhas

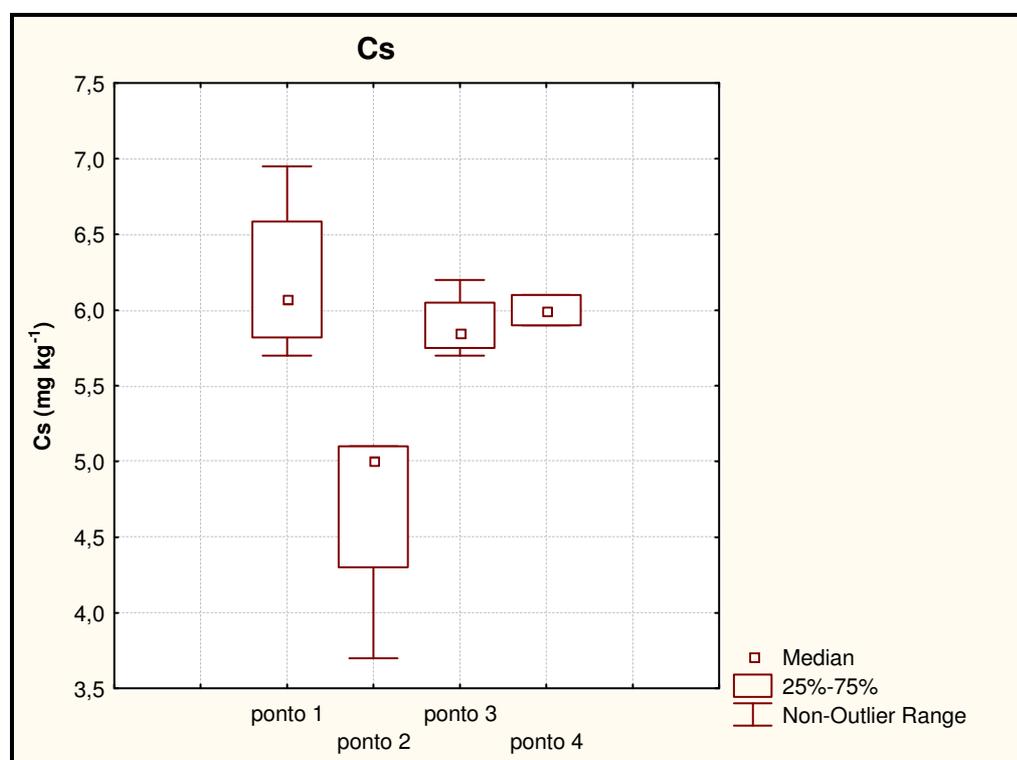


FIGURA 4.26 – Box plot da variação de concentração de Cs, para cada ponto, em todas as campanhas

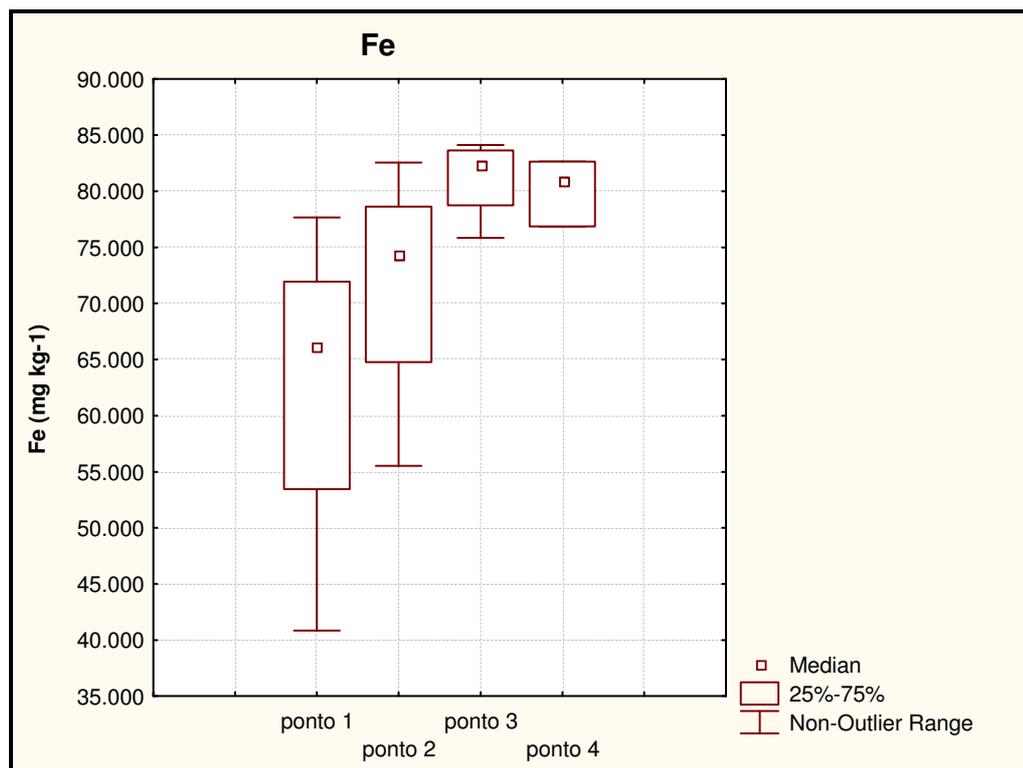


FIGURA 4.27 – Box plot da variação de concentração de Fe, para cada ponto, em todas as campanhas

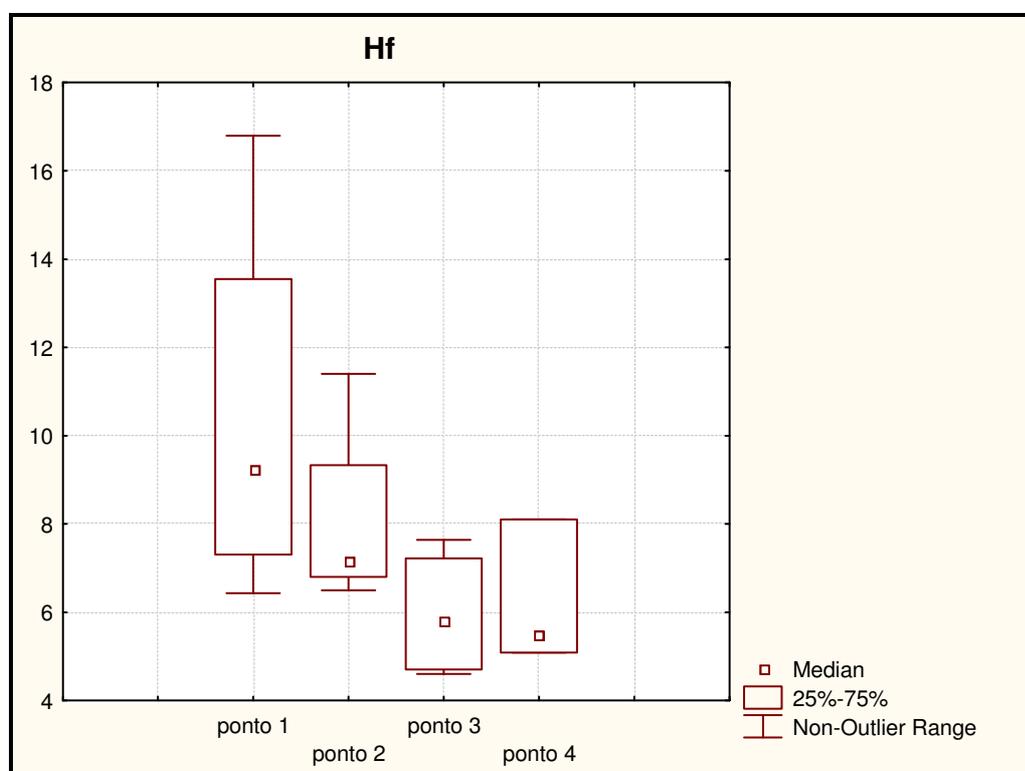


FIGURA 4.28 – Box plot da variação de concentração de Hf, para cada ponto, em todas as campanhas

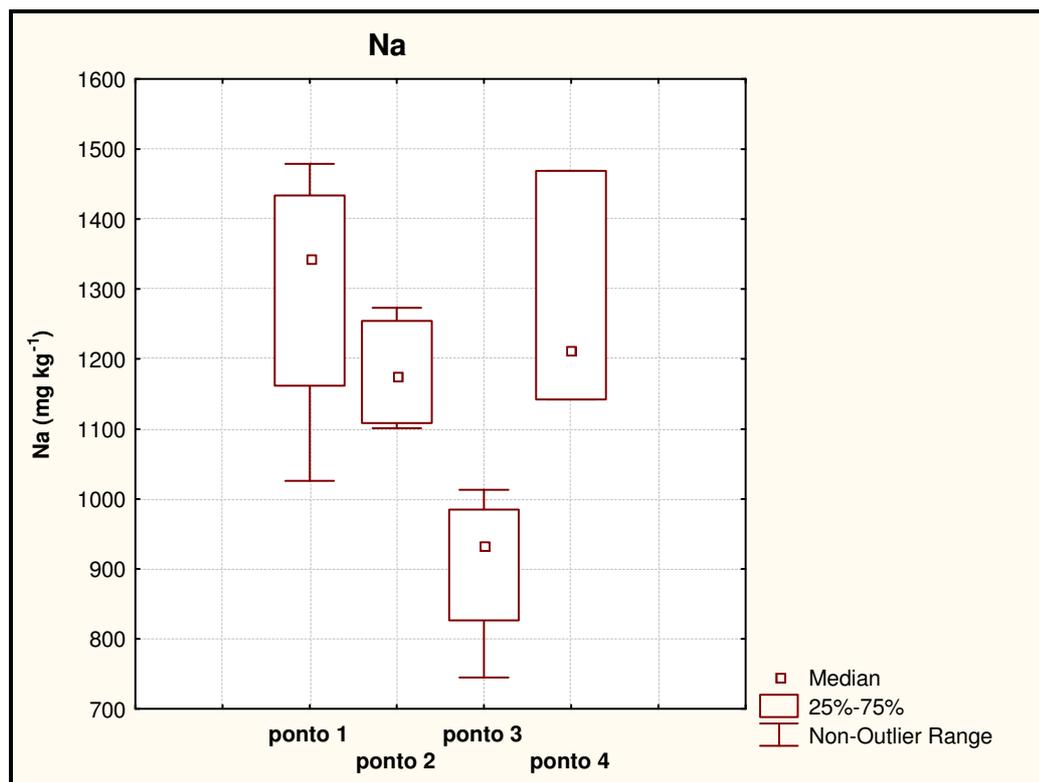


FIGURA 4.29 – Box plot da variação de concentração de Na, para cada ponto, em todas as campanhas

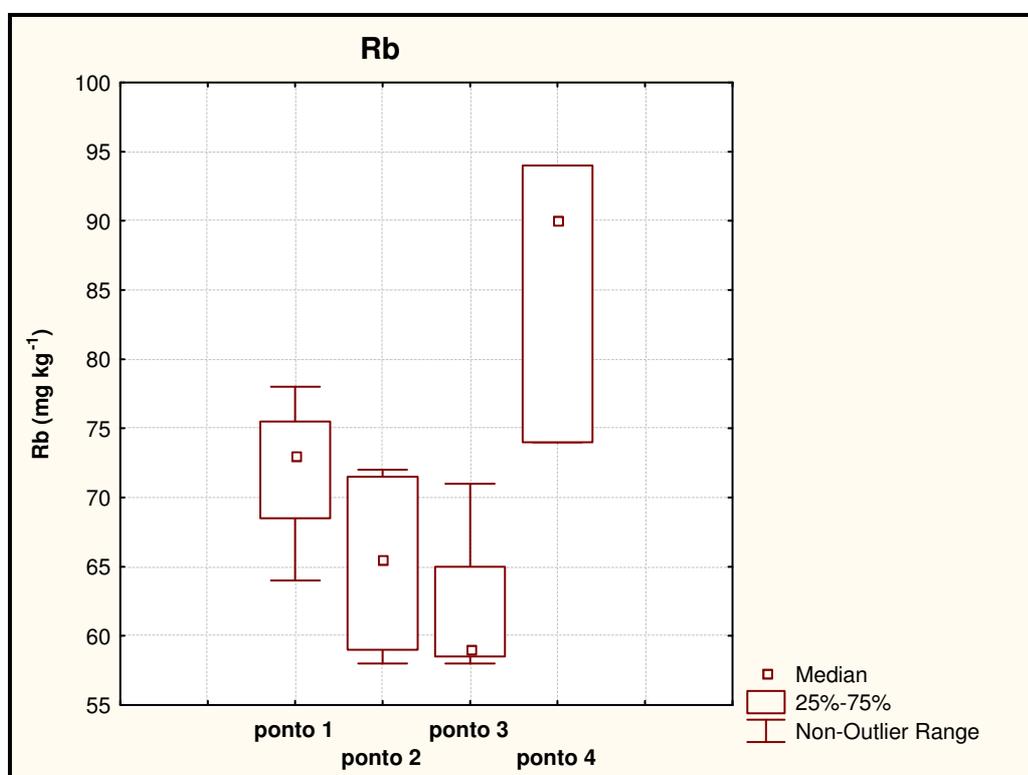


FIGURA 4.30 – Box plot da variação de concentração de Rb, para cada ponto, em todas as campanhas

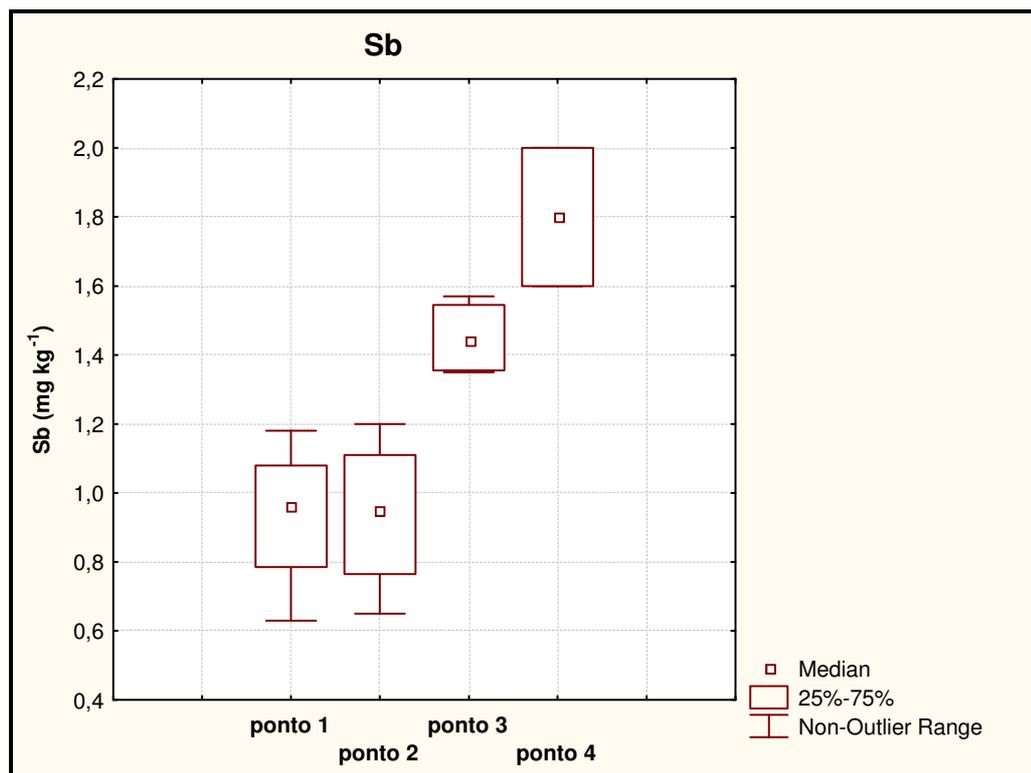


FIGURA 4.31 – Box plot da variação de concentração de Sb, para cada ponto, em todas as campanhas

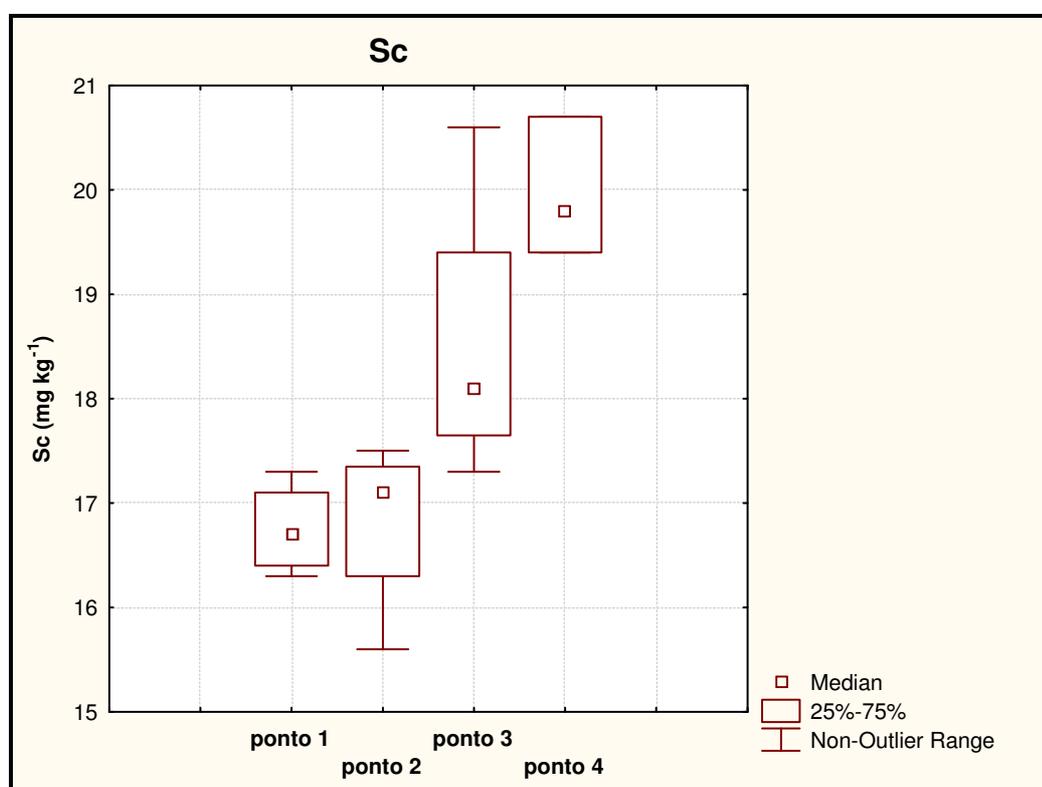


FIGURA 4.32 – Box plot da variação de concentração de Sc, para cada ponto, em todas as campanhas

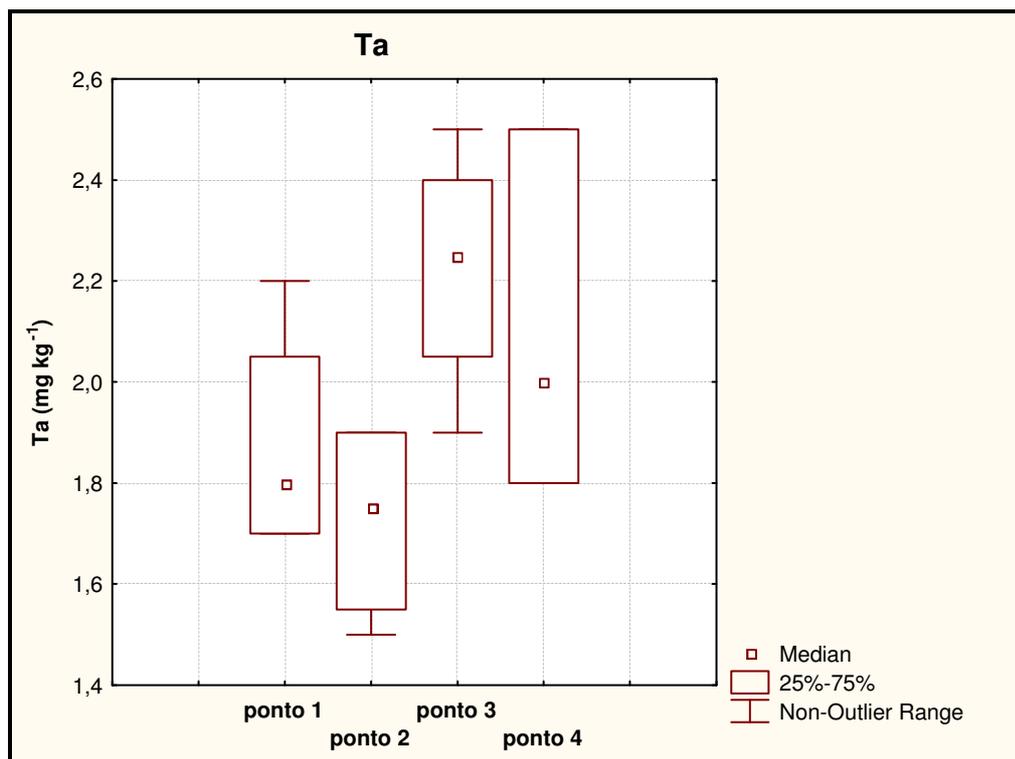


FIGURA 4.33 – Box plot da variação de concentração de Ta, para cada ponto, em todas as campanhas

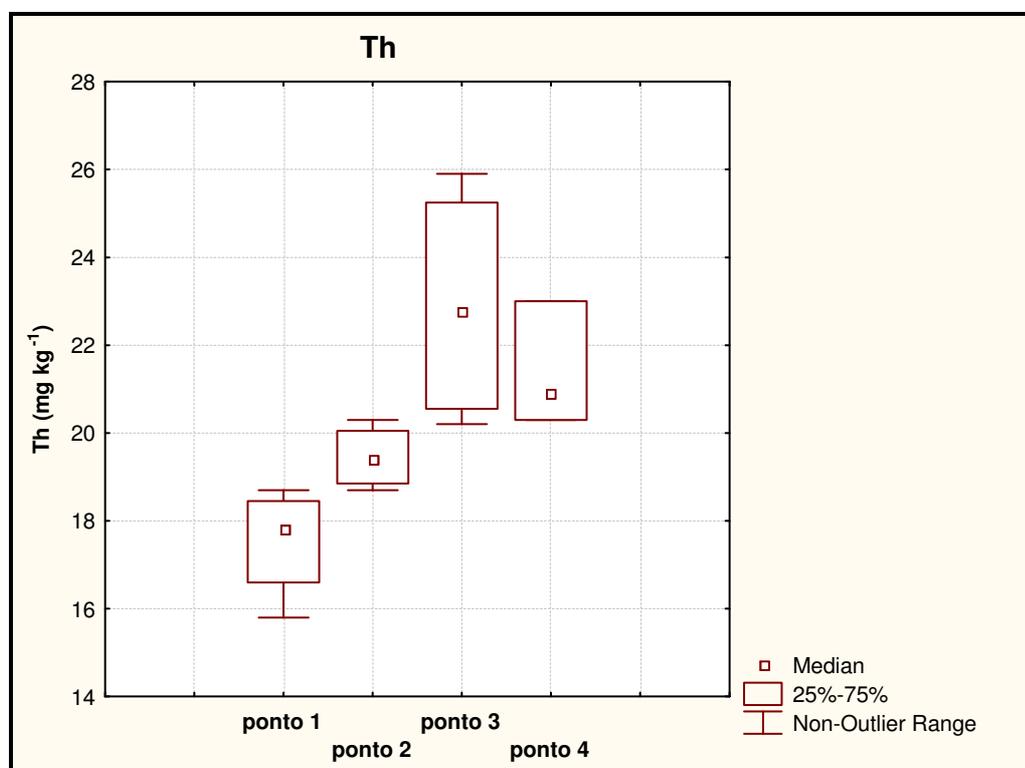


FIGURA 4.34 – Box plot da variação de concentração de Th, para cada ponto, em todas as campanhas

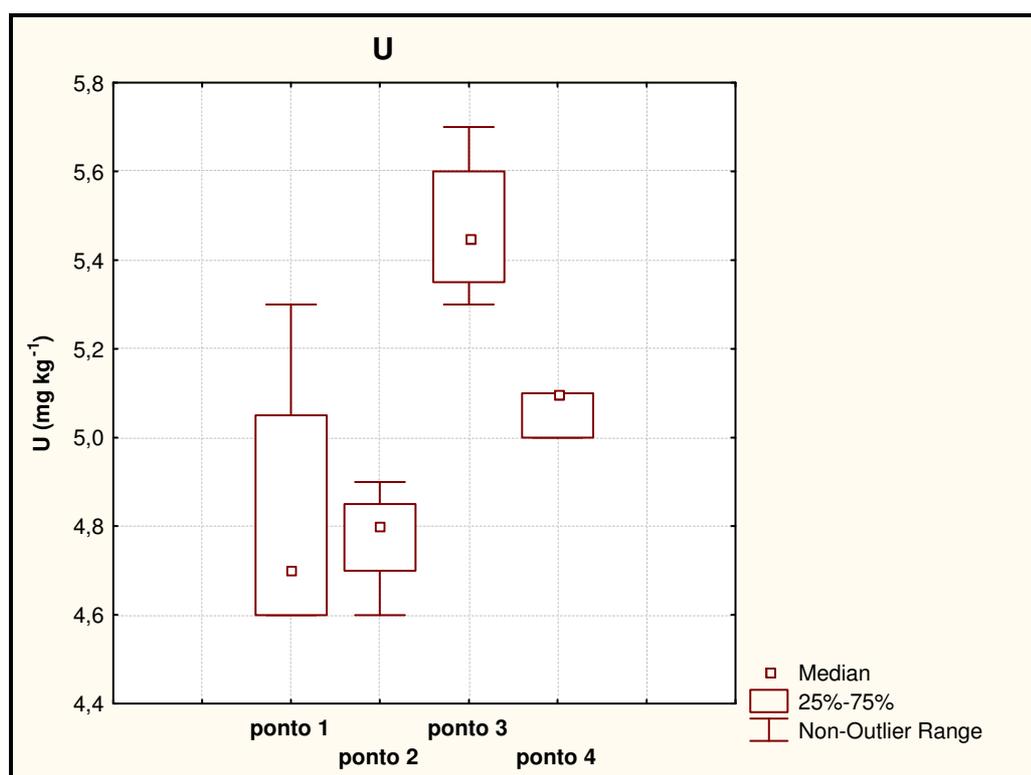


FIGURA 4.35 – Box plot da variação de concentração de U, para cada ponto, em todas as campanhas

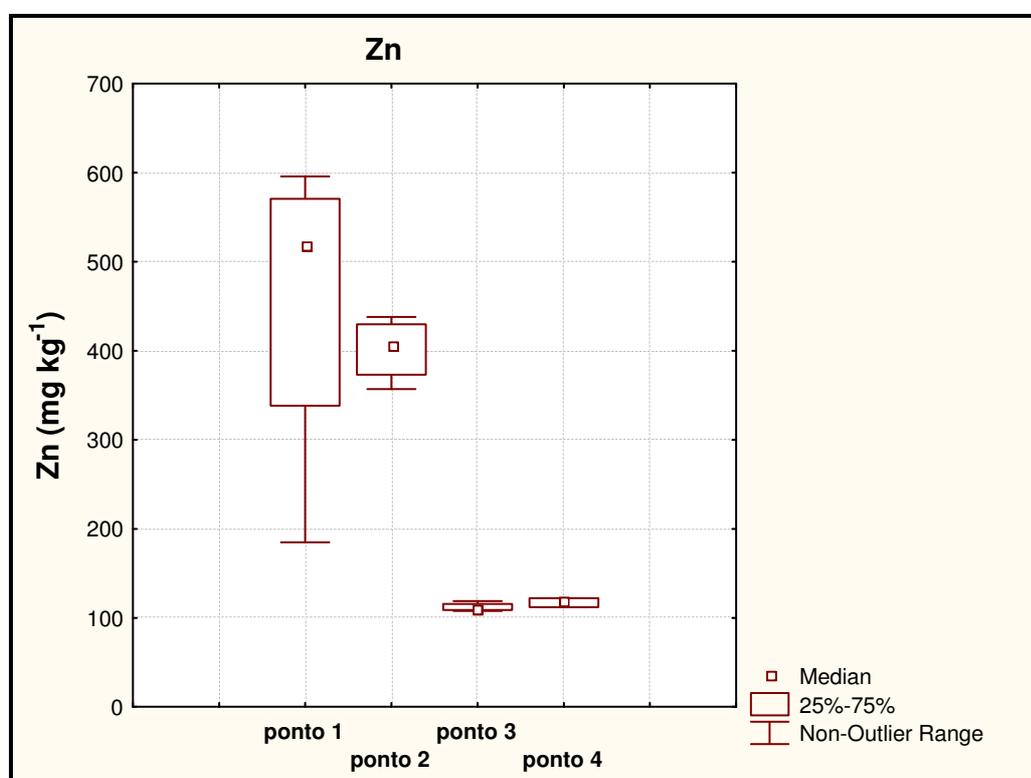


FIGURA 4.36 – Box plot da variação de concentração de Zn, para cada ponto, em todas as campanhas

4.3.4 Cálculo dos Fatores de Enriquecimento (FE)

O fator de enriquecimento (FE), definido como a dupla razão normalizada para um elemento de referência (RE), é um índice usado como uma ferramenta para avaliar a extensão da poluição por metais (Audry *et. al.*, 2004). Os metais Fe, Al e Sc são os mais usados para propósitos de normalização (Gomes *et. al.*, 2009) e no presente estudo, utilizou-se o Sc como elemento normalizador. Os valores de referência utilizados para sedimento no presente estudo foram os da crosta terrestre (Wedepohl, 1995).

No presente estudo o Fator de Enriquecimento foi calculado utilizando-se a equação 4.2:

$$FE = \frac{[\text{elemento}]/[\text{elemento}]_{\text{crosta}}}{[\text{Sc}]/[\text{Sc}]_{\text{crosta}}} \quad (4.2)$$

Onde:

[elemento] = concentração do elemento no sedimento

[elemento]_{crosta} = concentração do elemento na crosta terrestre

[Sc] = concentração do elemento Sc (elemento normalizador) no sedimento

[Sc]_{crosta} = concentração do elemento Sc na crosta terrestre

A TAB. 4.11 apresenta os valores de FE para os 4 pontos amostrados, nos diferentes períodos de coleta.

Foram observados os seguintes comportamentos para os elementos analisados, em relação aos valores de FE:

Pontos 1 e 2:

FE > 2,0: elementos muito enriquecidos em relação à crosta: **As, Br, Sb, U e Zn**

1,1 < FE < 2,0: elementos ligeiramente enriquecidos em relação à crosta: **Ce, Cs, Fe, Hf, La, Lu, Nd, Sm, Ta, Th e Yb**

0,9 < FE < 1,1: elementos não enriquecidos em relação à crosta: nenhum

FE < 0,9: elementos empobrecidos em relação à crosta: **Ba, Co, Cr, Eu, Na e Rb**

Pontos 3 e 4:

FE > 2,0: elementos muito enriquecidos em relação à crosta: **As, Br, Sb, Th e U**

1,1 < FE < 2,0: elementos ligeiramente enriquecidos em relação à crosta: **Ce, Cs, Fe, Ta e Zn**

0,9 < FE < 1,1: elementos não enriquecidos em relação à crosta: **Lu, Rb, Yb**

FE < 0,9: elementos empobrecidos em relação à crosta: **Ba, Co, Cr, Eu, Hf, La, Na, Nd, Sm.**

TABELA 4.11 – Fatores de enriquecimento calculados em relação aos valores da crosta terrestre (Wedepohl, 1995)

	PONTO 1				PONTO 2				PONTO 3				PONTO 4		
	set/ 08	fev/ 09	jul/ 09	jan/ 10	set/ 08	fev/ 09	jul/ 09	jan/ 10	set/ 08	fev/ 09	jul/ 09	jan/ 10	fev/ 09	jul/ 09	jan/ 10
As	5,50	6,44	5,43	4,36	6,77	6,99	6,48	5,83	10,1	9,42	8,20	9,12	14,7	11,7	13,2
Ba	0,95	0,89	0,96	0,73	0,84	0,87	1,02	0,90	0,80	0,79	0,73	0,55	0,69	0,95	0,72
Br	7,94	22,3	30,1	31,5	16,1	16,1	10,0	18,5	17,7	17,6	21,1	14,1	16,1	11,6	13,9
Ce	1,42	1,39	1,83	1,75	1,55	1,46	1,92	1,56	1,56	1,44	1,41	1,30	1,22	1,34	1,24
Co	0,46	0,52	0,51	0,43	0,50	0,47	0,37	0,49	0,38	0,36	0,36	0,32	0,32	0,35	0,28
Cr	0,60	0,75	0,70	0,64	0,65	0,68	0,77	0,62	0,64	0,66	0,52	0,57	0,65	0,57	0,61
Cs	1,89	1,65	1,63	1,79	1,42	1,36	1,11	1,39	1,61	1,61	1,50	1,30	1,42	1,43	1,39
Eu	0,73	0,79	0,85	0,89	0,74	0,70	0,75	0,74	0,61	0,58	0,57	0,55	0,45	0,45	0,41
Fe	0,88	1,45	1,75	1,50	1,80	1,63	1,31	1,59	1,72	1,63	1,66	1,49	1,54	1,47	1,45
Hf	3,17	1,57	1,27	2,06	1,25	1,37	2,37	1,37	0,87	1,44	1,22	0,73	0,84	1,37	0,87
La	1,36	1,40	1,66	1,52	1,28	1,29	1,74	1,33	1,07	1,07	0,99	0,90	0,78	0,85	0,70
Lu	1,88	1,51	1,28	1,68	1,37	1,29	1,87	1,38	0,91	1,46	1,10	0,89	0,83	1,16	0,95
Na	0,04	0,06	0,06	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,03	0,02	0,04	0,05	0,04
Nd	1,09	1,21	1,20	1,26	1,09	1,20	1,25	1,06	0,69	1,06	0,78	0,80	0,66	0,64	0,57
Rb	0,79	0,77	0,91	0,92	0,87	0,73	0,93	0,69	0,81	0,69	0,66	0,59	0,77	0,95	0,93
Sb	1,94	3,71	3,17	3,07	3,21	3,77	2,21	2,72	4,63	4,20	3,95	3,93	5,38	4,41	4,65
Sc	1,00	1,00	1,00	1,00	1,03	1,00	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Sm	1,13	1,14	1,19	1,29	0,87	1,03	1,41	1,00	0,87	0,94	0,88	0,75	0,51	0,59	0,50
Ta	1,60	1,46	1,94	1,52	1,63	1,29	1,48	1,60	2,01	1,60	1,75	1,62	1,32	1,50	1,76
Th	2,04	1,93	2,08	1,82	2,25	2,11	2,38	2,04	2,56	2,28	2,08	2,36	1,98	1,97	2,10
U	2,89	2,55	2,63	2,77	2,55	2,66	2,88	2,67	2,97	3,00	2,73	2,46	2,37	2,48	2,33
Yb	1,97	1,53	1,63	1,86	1,32	1,51	2,45	1,44	1,15	1,48	1,36	0,97	0,85	1,32	0,93
Zn	3,13	8,65	8,14	7,42	6,12	5,18	6,11	6,24	1,62	1,60	1,48	1,29	1,46	1,55	1,34

Calcularam-se também o FE utilizando-se como valor de referência os valores de concentração para os elementos determinados por NAA (FAVARO *et. al.*, 2007), correspondentes a última fatia de um testemunho de 80 cm, coletado em 1997 no reservatório Rio Grande. Ainda não se pode dizer que esses valores correspondem aos valores basais para esse reservatório, mas correspondem aos valores de concentração para a camada de sedimento mais profunda coletada e analisada para esse reservatório, até o presente momento. Os resultados se encontram apresentados na TAB. 4.12.

TABELA 4. 12 Fatores de Enriquecimento (FE) calculados em relação aos valores do testemunho

	PONTO 1				PONTO 2				PONTO 3				PONTO 4		
	set/ 08	fev/ 09	jul/ 09	jan/ 10	set/ 08	fev/ 09	jul/ 09	jan/ 10	set/ 08	fev/ 09	jul/ 09	jan/ 10	fev/ 09	jul/ 09	jan/ 10
As	4,89	5,74	4,80	3,86	5,62	6,17	5,76	5,18	9,03	8,38	7,33	8,12	13,0	10,4	11,7
Ba	1,21	1,14	1,21	0,92	1,00	1,10	1,29	1,15	1,02	1,00	0,92	0,70	0,88	1,20	0,91
Br	2,61	7,34	9,85	10,3	4,96	5,27	3,29	6,10	5,86	5,79	6,99	4,65	5,29	3,80	4,56
Ce	0,83	0,82	1,07	1,02	0,85	0,85	1,13	0,92	0,93	0,84	0,83	0,76	0,72	0,79	0,72
Co	1,51	1,69	1,64	1,39	1,53	1,52	1,20	1,61	1,25	1,17	1,17	1,04	1,03	1,14	0,90
Cr	1,42	1,77	1,64	1,50	1,44	1,60	1,82	1,48	1,52	1,56	1,24	1,35	1,54	1,35	1,43
Cs	0,62	0,54	0,53	0,58	0,43	0,44	0,36	0,45	0,53	0,53	0,49	0,42	0,46	0,47	0,45
Eu	0,68	0,74	0,79	0,83	0,65	0,65	0,70	0,69	0,58	0,55	0,54	0,52	0,42	0,42	0,38
Fe(%)	2,45	4,06	4,86	4,18	4,71	4,53	3,67	4,44	4,85	4,55	4,66	4,18	4,30	4,11	4,04
Hf	0,73	0,36	0,29	0,47	0,27	0,31	0,54	0,31	0,20	0,33	0,28	0,17	0,19	0,31	0,20
La	0,75	0,77	0,91	0,83	0,66	0,70	0,95	0,73	0,59	0,59	0,55	0,50	0,43	0,47	0,38
Lu	0,71	0,57	0,48	0,63	0,49	0,49	0,71	0,52	0,35	0,55	0,42	0,34	0,31	0,44	0,36
Na	0,93	1,29	1,41	1,25	1,10	1,14	1,10	1,02	0,89	0,87	0,79	0,57	0,90	1,19	0,92
Nd	0,56	0,62	0,61	0,64	0,52	0,61	0,64	0,55	0,36	0,55	0,40	0,41	0,34	0,33	0,29
Rb	0,62	0,62	0,72	0,72	0,65	0,57	0,74	0,55	0,64	0,55	0,53	0,47	0,60	0,76	0,74
Sb	1,74	3,33	2,82	2,74	2,68	3,35	1,98	2,43	4,17	3,76	3,55	3,52	4,79	3,94	4,13
Sc	1,00	1,00	1,00	1,00	0,97	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,01	1,00	1,00	1,00	1,00
Sm	0,62	0,62	0,64	0,70	0,44	0,56	0,76	0,54	0,47	0,51	0,48	0,41	0,27	0,32	0,27
Ta	0,53	0,49	0,64	0,50	0,51	0,42	0,49	0,53	0,67	0,53	0,59	0,54	0,44	0,50	0,58
Th	0,82	0,78	0,83	0,73	0,85	0,84	0,95	0,82	1,03	0,91	0,84	0,95	0,79	0,79	0,84
U	0,57	0,51	0,52	0,55	0,47	0,52	0,57	0,53	0,59	0,59	0,54	0,49	0,47	0,49	0,46
Yb	0,55	0,43	0,46	0,52	0,35	0,42	0,69	0,40	0,33	0,42	0,38	0,27	0,24	0,37	0,26
Zn	2,70	7,26	6,78	6,18	4,79	4,30	5,11	5,22	1,36	1,34	1,25	1,08	1,22	1,30	1,11

Novamente neste caso, os pontos 1 e 2 apresentaram comportamento bastante semelhante em relação aos valores de FE. O mesmo comportamento foi observado para os pontos 3 e 4.

Para os pontos 1 e 2, observou-se o seguinte comportamento em relação aos fatores de enriquecimento, calculados em relação aos valores de concentração dos elementos presentes no testemunho.

Pontos 1 e 2:

FE > 2,0: elementos muito enriquecidos em relação aos valores do testemunho: **As, Br, Sb, U e Zn.**

1,1 < FE < 2,0: elementos ligeiramente enriquecidos em relação aos valores do testemunho: **Co e Cr.**

0,9 < FE < 1,1: elementos não enriquecidos em relação aos valores do testemunho: **Ce.**

FE < 0,9: elementos empobrecidos em relação aos valores do testemunho: **Cs, Eu, Hf, La, Lu, Nd, Rb, Sm, Ta, Th, U e Yb.**

Para os pontos 3 e 4, observou-se os seguintes comportamentos em relação aos fatores de enriquecimento calculados em relação aos valores do testemunho.

Pontos 3 e 4:

FE > 2,0: elementos muito enriquecidos em relação aos valores do testemunho: **As, Br, Fe e Sb**

1,1 < FE < 2,0: elementos ligeiramente enriquecidos em relação aos valores do testemunho: **Co, Cr e Zn**

0,9 < FE < 1,1: elementos não enriquecidos em relação aos valores do testemunho: **Ba**

FE < 0,9: elementos empobrecidos em relação aos valores do testemunho: **Ce, Cs, Eu, Hf, La, Lu, Nd, Rb, Sm, Ta, Tb, Th, U e Yb.**

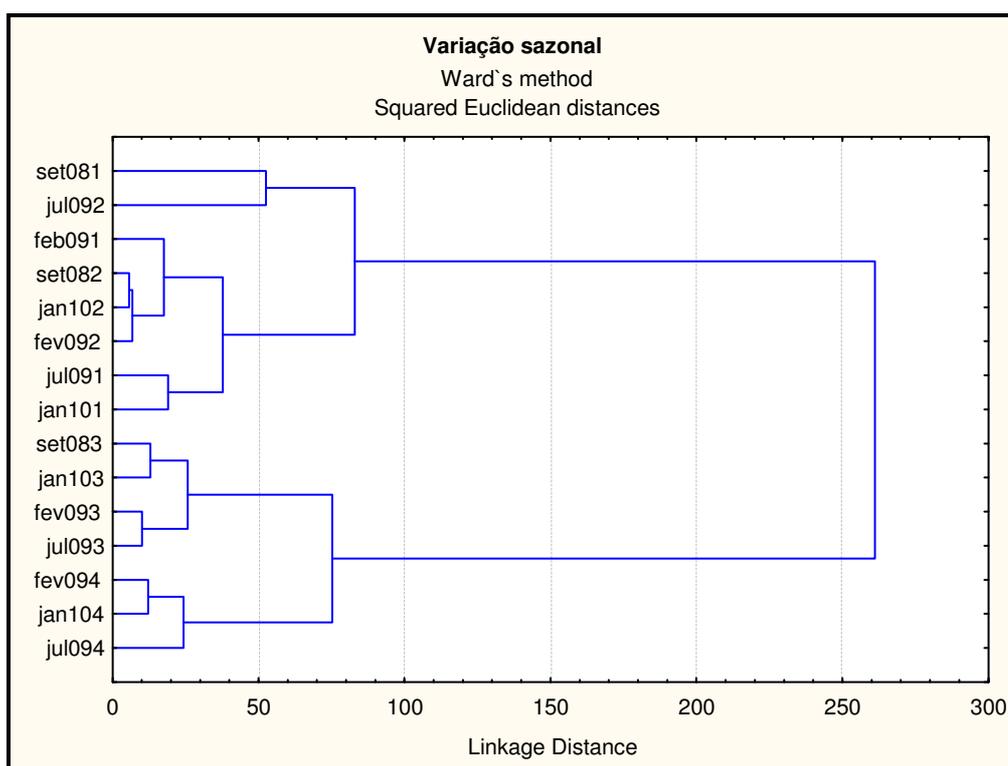
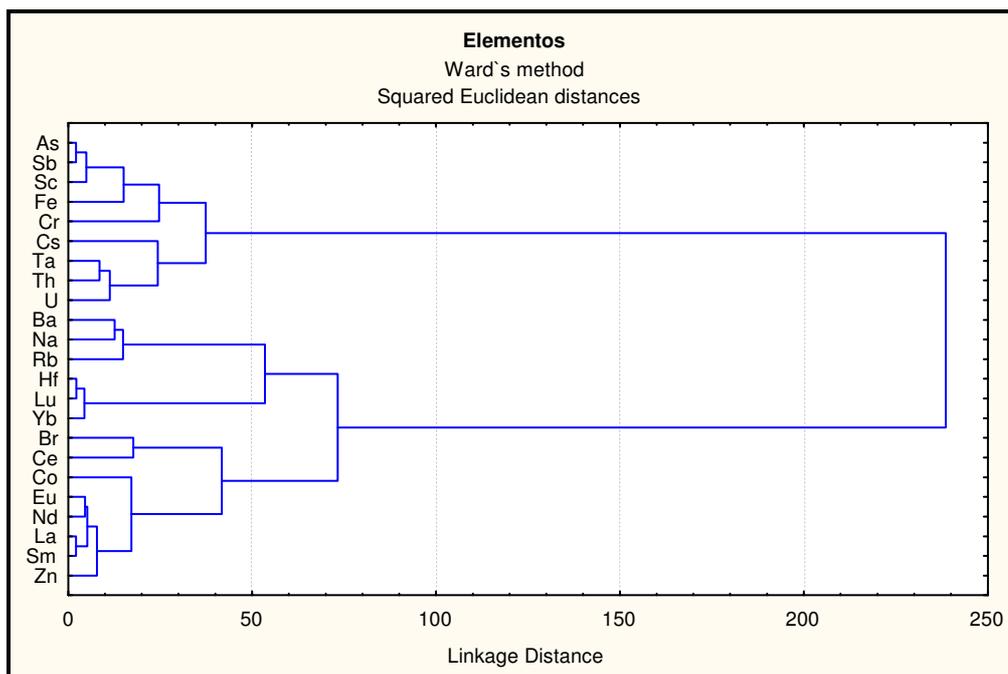
Contudo, cabe ressaltar que apesar de existirem elementos com Fator de enriquecimento superior a 2,0 nestas comparações tanto com os valores da crosta terrestre quanto com os valores de um testemunho de 80 cm, não se pode afirmar que necessariamente estes são de origem antrópica, visto que os valores médios da crosta terrestre não são valores basais da região e o testemunho também pode não ter atingido a base sedimentar do reservatório.

4.3.5 Análise Estatística

A FIG. 4.37 apresenta a análise de agrupamento (cluster analysis) para as amostras analisadas por NAA. Na FIG. 4.37 **a**, verificou-se que ocorreu a formação de 2 grupos principais A e B. O grupo A, dividido por 2 sub-grupos, constituídos pelos elementos As, Sb, Sc, Fe, Cr (sub-grupo **A₁**) e Cs, Ta, Th e U (sub-grupo **A₂**). O grupo B, ficou dividido em 4 sub-grupos: **B₁** (Ba, Na, Rb), **B₂** (Hf, Lu, Yb), **B₃** (Br e Ce) e **B₄** (Co, Eu, Nd, La, Sm e Zn).

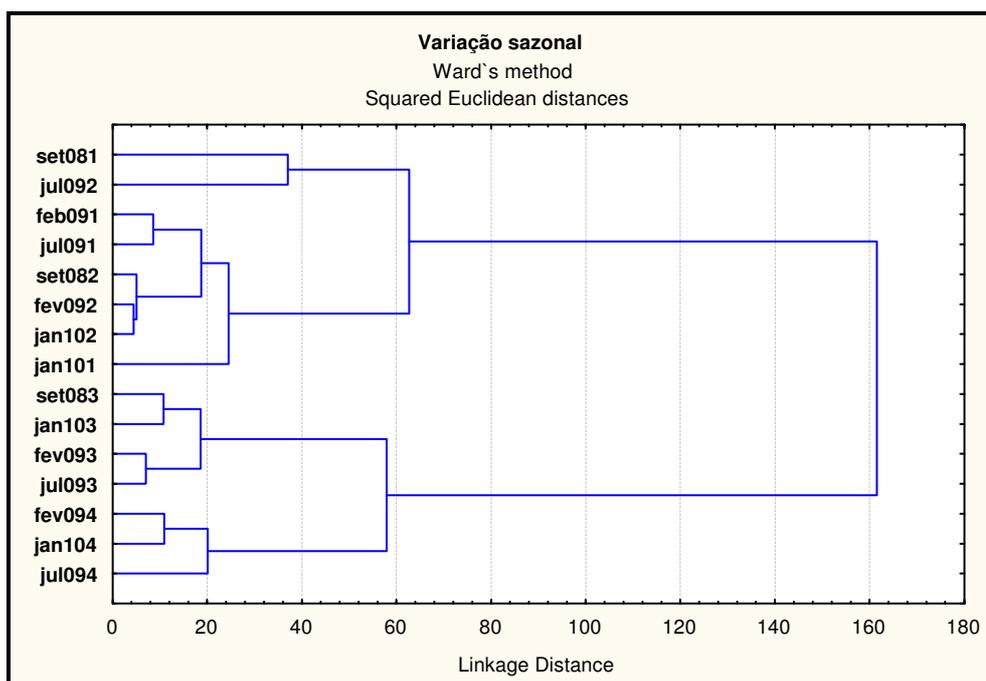
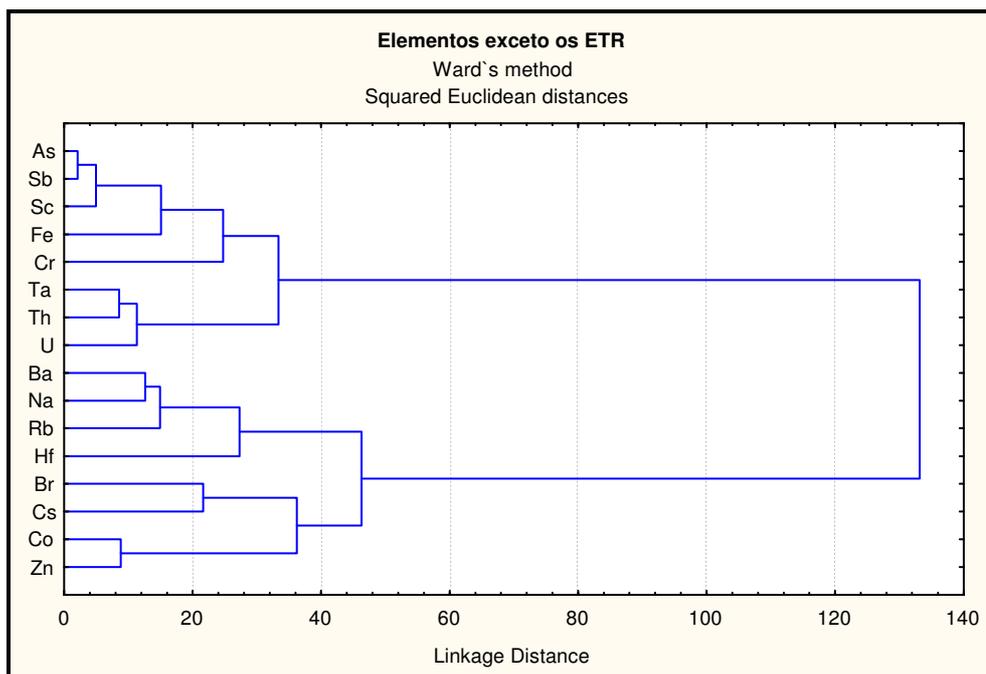
A FIG. 4.37 **b**, onde a variável foi a data de coleta para cada um dos pontos de amostragem, também ocorreu a formação de 2 grupos: **A** e **B**. O grupo A reuniu as amostras dos pontos 1 e 2, incluindo todas as campanhas. O grupo **B**, as amostras dos pontos 3 e 4, para todas as campanhas. Essa análise de agrupamento veio a confirmar o comportamento similar dos pontos 1 e 2 e pontos 3 e 4, conforme observado na discussão dos resultados apresentados no item 4.3.3.

A FIG. 4.38 (**a** e **b**) também apresenta a análise de agrupamento para os resultados obtidos nas análises por NAA das amostras de sedimentos, excluindo-se os ETR. O comportamento observado para os elementos na FIG. 4.38 **a** foi bastante semelhante ao observado na FIG. 4.37 **a**, havendo a formação de 2 grupos principais constituídos pelos mesmos elementos. A FIG. 4.38 **b**, também apresentou a divisão em 2 grupos principais, sendo o grupo **A**, constituído pelas amostras dos pontos 1 e 2, e o grupo **B**, pelas amostras dos pontos 3 e 4, semelhante ao encontrado na FIG.4.37 **b**. Verificou-se que a ausência dos ETR não alterou o padrão de comportamento das amostras na análise de agrupamento.



Legenda: set081 – campanha set08, ponto 1; fev092: campanha fev09, ponto 2; jul093: campanha jul09, ponto 3; jan104, campanha jan2010, ponto 4

FIGURA 4.37 – Análise de agrupamento para todas as amostras e todos os elementos analisados: a) elementos e b) campanhas de amostragem



Legenda: set081 – campanha set08, ponto 1; fev092: campanha fev09, ponto 2; jul093: campanha jul09, ponto 3; jan104, campanha jan2010, ponto 4

FIGURA 4.38 – Análise de agrupamento para todas as amostras e todos os elementos analisados (exceto os ETR): a) elementos e b) campanhas de amostragem

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSÕES

A quantificação de Hg total em amostras de sedimentos e de água de fundo no reservatório Rio Grande permitiu a verificação de uma maior contaminação nos pontos de coleta 1 e 2, que excederam os limites do CONAMA tanto para águas, em mais de 10 vezes quanto para sedimentos, apresentando resultados superiores a 500 vezes o valor legislado. Os pontos 3 e 4 também apresentaram valores de concentração para Hg total elevados, porém bem abaixo dos pontos 1 e 2, estando cerca de duas a nove vezes acima do valor permitido para sedimentos.

O método proposto para analisar mercúrio orgânico apresentou-se bem eficiente e foi validado pela utilização e obtenção de boas recuperações dos materiais de referência empregados. Os baixos valores de desvio padrão e erro relativo encontrados corroboram a utilização desta metodologia em amostras de sedimentos.

O comportamento dos pontos amostrados são amplamente diferentes: os pontos 1 e 2, na entrada do reservatório pelo município de Rio Grande da Serra, apresentaram uma grande variabilidade ao longo deste curto tempo de monitoramento (setembro de 2008 a janeiro de 2010), principalmente devido a profundidade destes locais, que permitem grandes variações nos sedimentos destes pontos, conforme percebido entre as campanhas. O alto aporte de nutrientes (N e P), presentes de modo similar em todo o reservatório, teria condições de propiciar um amplo desenvolvimento bacteriano nestes locais, sendo, portanto um grande potencial para a metilação do Hg. Entretanto, devido a esta característica sazonal, não é isto que ocorre nestes dois pontos, principalmente no ponto 1.

As baixas taxas de metilação destes dois primeiros pontos são compatíveis com ambientes altamente impactados por Hg, sendo na maioria dos casos inferior a 0,1%. E

nestes pontos, devido aos grandes valores de matéria orgânica, a proximidade dos raios ultravioletas ao sedimento, à baixa profundidade e a variabilidade da comunidade bacteriana, não é possível afirmar que a metilação nestes pontos ocorre devido às BRS, mas sim a algum outro processo, provavelmente abiótico. Vale ressaltar que mesmo não tendo BRS no ponto 1 no inverno de 2009, foi quantificado Hg orgânico neste ponto. Ressalta-se aqui que normalmente os processos de metilação abióticos fornecem menores taxas de metilação em relação aos processos bióticos.

Os pontos 3 e 4 apresentaram quantidades de Hg total e também de Hg orgânico bem menores do que os pontos 1 e 2, entretanto as taxas de metilação destes pontos foram maiores, sendo no ponto 3 entre 0,4 e 0,9 % e no ponto 4 chegando a 1,4%, valor este bem próximo aos valores considerados como máximos por alguns autores (1,5%). A maior capacidade de metilação do Hg nestes pontos é provavelmente devido ao fato de que as condições para a metilação por BRS sejam mais favorecidas do que nos pontos 1 e 2, pelo fato dos sedimentos nestes pontos serem mais profundos e, portanto, não sofrerem interferências da radiação solar, apresentarem menores teores de matéria orgânica e a comunidade de BRS ser mais estável, apesar de estarem presentes em quantidades menores. Apesar de estes pontos reunirem condições mais propícias a metilação biótica pelas BRS, isto não necessariamente significa que este é o único processo que possa ocorrer nestes pontos, podendo haver concomitantemente algum processo biótico, apesar de ser mais difícil a ocorrência destes, devido às condições amplamente favoráveis à metilação pelas BRS, que de fato parece ocorrer nestes locais.

Além das concentrações de Hg total deste reservatório terem sido validados pela metodologia adotada pela CETESB para este analito, a CV AAS, pela análise dos materiais de referencia certificados, a quantificação por NAA, apresentou resultados bem similares, confirmando os resultados em caráter plenamente indiscutível.

Os resultados obtidos para os demais metais e elementos terras raras determinados por NAA apresentaram-se, em geral, constantes entre os pontos coletados e as campanhas, com oscilações pontuais para alguns elementos. Para os pontos 1 e 2 observaram-se uma maior concentração dos elementos Br, Co, Hf e Zn. Para os pontos 3 e 4, uma maior concentração de As, Cr, Fe, Sb, Sc, Ta, Th e U, conforme mostrado pelos box plot apresentados no capítulo 4 (item 4.3.3). O cálculo do fator de enriquecimento em relação aos valores da crosta terrestre utilizando o Sc como elemento normalizador, se mostrou uma ferramenta muito apropriada para a marcação dos sedimentos em relação a

verificação de possíveis contaminantes, como foi verificado principalmente para As, Br, Sb nos quatro pontos deste reservatório, e em menor escala para U e Zn, inclusive quando comparados com valores de concentração de testemunhos de sedimentos (profundidade de 80 cm) de pouco mais de dez anos coletados em locais próximos aos do presente estudo.

As elevadas concentrações de Hg total e a preocupante de Hg orgânico indica que este reservatório deve ser constantemente monitorado, visto que tais concentrações de Hg total foram analisadas em amostras de sedimentos de superfície e podem ser consideradas como de recente deposição neste reservatório, principalmente nos dois primeiros pontos amostrados.

A presença de Hg orgânico remete a preocupações em relação à ictiofauna deste reservatório, pois nos peixes os fatores de bioacumulação podem chegar facilmente a 10^5 , dependendo da espécie. Torna-se necessário, portanto, além de um monitoramento mais efetivo neste reservatório, ampliar o foco com uma verificação dos organomercuriais também em peixes, visto que ainda é conservado nesta região o hábito de consumo de peixes deste reservatório. Aconselha-se também uma especificação do Hg em suas formas orgânicas mais frequentes (MeHg e Dimetilmercúrio) e não somente uma simples diferenciação entre formas orgânica e inorgânica.

Estas determinações também deverão se estender para amostras de água, além dos sedimentos e ictiofauna, ampliando também o número de locais amostrados ao longo deste reservatório.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-JUNDI, J. Determination of trace elements and heavy metals in the Zarka River sediments by instrumental neutron activation analysis. *Nuclear Instrumental Methods Physical Res.*, Sector B, v.170, n.1-2, p. 180-186, 2000.
- AL-JUNDI, J.; RANDLE, K. Instrumental neutron activation analysis (INAA) of estuarine sediments. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 249, n. 2, p. 361-367, 2001.
- AMORIM, E.P., FÁVARO, D.I.T., BERBEL, G.B.B., BRAGA, E.S. Assessment of metal and trace elements in the Cananéia estuary, Brazil, by neutron activation and atomic absorption techniques. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.278, n.2, p. 485-489, 2008.
- APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AWWA, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION AND WEF WATER ENVIRONMENT FEDERATION – *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater – edição Eletrônica*. Método 3112. Disponível em <http://www.standardmethods.org/store/ProductView.cfm?ProductID=207>. Acesso em Abril de 2009.
- ARINE, D. R.; FÁVARO, D. I. T.; OLIVEIRA, S. M. B. Determinação multielementar em amostras de sedimentos da região de Iperó, SP, por absorção atômica e ativação neutrônica. In: **V ENCONTRO NACIONAL DE APLICAÇÕES NUCLEARES**. Rio de Janeiro, Anais... , RJ, Cd-rom, 2000.
- AUDRY, S., SCHAEFER, J., BLANC, G., JOUSNEAU, J-M. Fifty-year sedimentary record of heavy-metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in Lot River reservoirs (France). *Environ. Pollut.*, v.132, p.413-426, 2004.
- AZEVEDO, F. A. *Toxicologia do mercúrio*, São Carlos, ed. Rima, 2003.
- BAIRD, C.; *Química ambiental*. trad. Maria Angeles Lobo Recio e Luiz Carlos Marques Carrera . Porto Alegre, Bookman, 2002.
- BEVILACQUA, J. E. – *Estudos Sobre a Caracterização e a Estabilidade de amostras de Sedimento do Rio Tietê, S.P.* 1996. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BISINOTI, M. C. *Produção de Hg orgânico em sedimentos tropicais a partir do Hg⁰: experimentos em microcosmos*. 2002. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

- BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. O comportamento do Metilmercúrio (MetilHg) no ambiente. *Química Nova*, v. 27, n.4, p. 593-600, 2004.
- BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F.; BRITO JÚNIOR, J. L.; GUIMARÃES, J. R. – Um novo método para quantificar mercúrio orgânico (Hg_{orgânico}) empregando a espectrometria de fluorescência atômica do vapor frio. *Química Nova*, v. 29, n.6, p.1169-1174, 2006.
- BODE, P. *Instrumental and Organizational Aspects of a Neutron Activation Analysis Laboratory*, Interfaculty Reactor Institut, Delft University of Technology, Delft, The Netherlands, p. 147, 1996.
- BOSTELMAN, E. *Avaliação da concentração de metais em amostras de sedimento do reservatório Billings, braço Rio Grande, São Paulo, Brasil*. 2006. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- BRASIL – *Resolução CONAMA 344 de 25 de março de 2004*. Disponível em <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res04/res34404.xml> Acesso em 10 de Fevereiro de 2008.
- BRASIL – *Resolução CONAMA 357 de 17 de Março de 2005*. Disponível em <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf> acesso em 10 de Fevereiro de 2008.
- CALLISTER, S. M.; WINFREY, M. R. Microbial methylation of mercury in upper Wiscosin River sediments. *Water Air Soil Pollution*, v. 29, p.453-465, 1986.
- CANÁRIO, J.; BRANCO, V.; VALE, C. Seasonal variation of monomethylmercury concentrations in surface sediments of the Tagus Estuary (Portugal) *Environmental Pollution*, v.148, p.380-383, 2007.
- CEM – *Microwave oven MDS 2100 – User’s guide*. – CEM corporation, 1997.
- CETESB, *Norma técnica L5.210 - Bactérias redutoras do sulfato (desulfovibrio) - determinação do número mais provável pela técnica de tubos múltiplos: método de ensaio*. São Paulo, 30p, 1989.
- CETESB. *Norma técnica L6.160 - Sedimentos: determinação da distribuição granulométrica -método de ensaio*. São Paulo, 15p., 1995.
- CETESB. *Avaliação do complexo Billings: Comunidades aquáticas, água e sedimento – (Out. 1992 – out.1993) DAH/1996*. São Paulo, 1996
- CETESB. *Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado De São Paulo 2002 – São Paulo, 2003*.

- CETESB. *Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado De São Paulo 2003* – São Paulo, 2004.
- CETESB. *Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado De São Paulo 2004* – São Paulo, 2005.
- CETESB. *Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado De São Paulo 2005* – São Paulo, 2006.
- CETESB. *Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado De São Paulo 2006* – São Paulo, 2007.
- CETESB. *Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado De São Paulo 2007* – São Paulo, 2008.
- CETESB. *Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado De São Paulo 2008* – São Paulo, 2009.
- CETESB. *Relatório sobre a introdução de pisciculturas no Reservatório do Rio Grande* – no prelo.
- CCME *Canadian Environmental Quality Guidelines - Summary Tables*-2001. Disponível em <<http://www.ec.gc.ca/ceqg-rcqe/English/ceqg/sediment/default.cfm>> Acesso em 12 de novembro de 2007.
- CHEN, Y.; BONZONGO, J. C.; MILLER, G.C.; Levels of methylmercury and controlling factors in surface sediments of the Carson River system, Nevada. *Environ. Poll.*, v.92, p.281-287, 1996.
- COMPEAU, G. C.; BARTHA, R. Sulfate-reducing bacteria: principal methylators of mercury in anoxic estuarine sediment. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.50, p. 498-502, 1985.
- DELGADO, A; PRIETO, A; ZULOAGA, O; DIEGO, A; MADARIAGA, J.M. Production of artifact methylmercury during the analysis of certified reference sediments: Use of ionic exchange in the sample treatment step to minimize the problem. *Analytica Chimica Acta*, v.582, p.109-115, 2007.
- DIAS, N. M. F. S.; *Manamata – Case Study – Ambicare Industrial*. 2004 disponível em <http://ekinek.pair.com/tritao/ambicare/downloads/minamata_case_study.pdf> acessado em 15.09.2007> Acesso em 13 de dezembro de 2007.
- DINESCU, I. C.; DULIU, O. G.; BADEA, M.; MIHĂILESCU, N. G.; VANGHELIE, I. M. Investigation of the vertical distribution of major and trace elements in Matita Lake (Danube Delta) sediments by activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 238, n. 1-2, p.75-81, 1988.

- DINESCU, I. C.; DULIU, O. G. Heavy metal pollution of some Danube Delta lacustrine sediments studied by neutron activation analysis. *Applied Radiation and Isotopes*, v.54, p.853-859, 2001.
- EKSTRON E. B.; MOREL, F. M. M.; Cobalt limitation of growth and mercury methylation in sulfate-reducing bacteria. *Environ. Sci. Technol.*, v.42, p.93-99, 2008.
- ESTEVEZ, F. A.; *Fundamentos de Limnologia*. Interciência/FINEP, 1988, Rio de Janeiro.
- FALTER R., H. HINTELMANN AND P. QUEVAUVILLER. Conclusion of the workshop on “sources of error in methylmercury determination during sample preparation, derivatisation and detection. *Chemosphere*, v.39, n.2, p.1039-1049, 1999.
- FAVARO, D.I.T.; MOREIRA, S.R.D. ; CAMPOS, V. A.; MAZZILLI, B. ; CAMPAGNOLI, F. Determinação Multielementar por Ativação Neutrônica de Sedimentos do Reservatório Billings, Braço Rio Grande, São Paulo –. *In: ENCONTRO NACIONAL DE APLICAÇÕES NUCLEARES*, 5, Rio de Janeiro, Anais. Rio de Janeiro: ABEN, 2000. CD Rom.
- FÁVARO, D.I.T.; DAMATTO, S.R.; SILVA, P.S.C.; RIGA, AA; SAKAMOTO, A.Y.; MAZZILLI, B.P. Chemical Characterization and ²¹⁰Pb dating in wetland sediments from the Nhecolândia Pantanal Pond, Brazil. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.269, n.3, p.719-726, 2006.
- FÁVARO, D. I. T.; DAMATTO, S. R.; MOREIRA, E. G.; MAZZILI, B. P.; CAMPAGNOLI, F. – Chemical characterization and recent sedimentation rates in sediment cores from Rio Grande reservoir, SP, Brazil. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.273, n.2, p.451-463, 2007
- FARIAS, L.A.; FÁVARO, D.I.T.; VASCONCELLOS, M.B.A. Determinação de mercúrio e metilmercúrio em amostras de cabelo e peixes. *Rev Inst Adolfo Lutz*, v.68, n.3, p.451-460, 2009.
- FOSTNER, U. Metal Speciation – General concepts and applications. *International Journal of Environmental Science & Technology*, v.13, p.5-23, 1993.
- FREITAS, M.C. & PACHECO, A.M.G. Soils of Azores islands: Elemental characterization with emphasis on rare-earth elements. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.283, p. 117-12, 2010.
- GAUDETTE H. E. & FLIGHT, W. R. an inexpressive method for determination of organic carbon in recent sediments. *Journal of Sedimentary Petrology*, v.44, n.1, p.249-253, 1974.

- GLASCOCK, M.D. – *An Overview of Neutron Activation Analysis, 2003* – Disponível em: <http://www.missouri.edu/~glascock/naa_over.htm>, Acesso em 13 de fevereiro, 2006
- GUIMARÃES, J. R. D.; MEILI, M; MALM, O.; BRITO, E.M.S.; Hg methylation in sediments and floating meadows of a tropical lake in the Pantanal floodplain, Brazil. *The Science of Total Environment*, v.213, p.165-175, 1998.
- GOMES, F.C., GODOY, J.M., GODOY, M.L.D.P., CARVALHO, Z.L., LOPES, R.T., SANCHEZ-CABEZA, J.A., LACERDA, L.D., WASSERMAN, J.C. Metal concentration, fluxes, inventories and chronologies in sediments from Sepetiba and Ribeira Bays: A comparative study. *Marine Pollution Bulletin*, v.59, p.123-133, 2009.
- HAMMERSCHMIDT, C.R., FITZGERALD, W.F. Formation of artifact methylmercury during extraction from a sediment reference material. *Anal. Chem.*, v.73, p.5930–5936, 2001.
- HINES, M. E.; HORVAT, M; FAGANELI, J; BONZONGO, J.C.J.; BARKAY, T; SCOTT, K.J.; BAILEY, E.A.;WARWICK, J.J. Mercury Biogeochemistry in the Idrija River, Slovenia, from above the Mine into the Gulf of Trieste. *Environmental Research, Section A*, v.83, p.129-139, 2000.
- HINTELMANN, H. Comparison of different extraction techniques used for methylmercury analysis with respect to accidental formation of methylmercury during sample preparation. *Chemosphere*, v.39, p.1093-1105, 1999.
- HORVAT, M. Determination of Methylmercury in Biological Certified Reference Materials. *Water, Air and Soil Pollut.*, v.56, p.95-104, 1991.
- HORVAT, M. *Mercury analysis and speciation*. In Environmental Sample in Global and Regional Mercury Cycles: Sources, Fluxes and Mass Balances, p. 1-31, W. Baeyens *et al.* (eds), 1996.
- HORVAT, M; BLOOM, N. S.; LIANG, L. Comparison of distillation with other current isolation methods for the determination of methyl mercury compounds in low level environmental samples. Part I – Sediments. *Analytica Chimica Acta*, v.281, p.135-152, 1993.
- HORVAT, M; BLOOM, N. S.; LIANG, L. Comparison of distillation with other current isolation methods for the determination of methyl mercury compounds in low level environmental samples. Part II – water. *Analytica Chimica Acta*, v.282, p.153-168, 1993.
- INMETRO - *VIM - Vocabulário Internacional de Metrologia* – 1995 – Rio de Janeiro.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, *Practical aspects of operating a neutron analysis laboratory*, IAEA - TECDOC – 564, Vienna, 1990.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY – *Collection and preparation of bottom sediment samples for analysis of radionuclides and trace elements*, IAEA-TECDOC-1360, Vienna, 2003.

IPT. *Estudo da disposição de metais pesados nos sedimentos de fundo da represa Billings, Região metropolitana de São Paulo (RMSP)*. São Paulo. 2005

KEHRIG, H.A.; COSTA, M.; MOREIRA, I.; MALM, O. Total and methylmercury in a Brazilian estuary, Rio de Janeiro. *Marine Pollution Bulletin*, v.44, p.1018-1022, 2002.

KEHRIG, H. A.; PINTO F. N.; MOREIRA, I; MALM, O. Heavy metals and methylmercury in a tropical coastal estuary and a mangrove in Brazil. *Organic Geochemistry*, v.34, p.661–669, 2003.

KEITH, L.H.; CRUMMET, W.; DEEGAN, J.R.; LIBBY, R. A.; TAYLOR, J.K.; WENTLER, G. - Principles of environmental analysis. *Anal. Chem.*, v.55, p.2210-2218, 1983.

LARIZZATTI, F. E. ; FAVARO, D. I. T. ; MOREIRA, S. R. D. ; MAZZILLI, B. P. ; PIOVANO, E. L. Multielemental Determination by Instrumental Neutron Activation Analysis and Recent Sedimentation Rates Using 210 Pb Dating Method at Laguna del Plata, Cordoba, Argentina. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 249, n.1, p.263-268, 2001.

LATIF SA, AFROJ D, HOSSAIN SM, UDDIN MS, ISLAM MA, BEGUM K, OURA Y, EBIHARA M, KATADA M. Determination of toxic trace elements in foodstuffs, soils and sediments of Bangladesh using instrumental neutron activation analysis technique. *Bull Environ Contam Toxicol.*, v.82, n.3, p.384-388, 2009.

LAZO, P.; CULLAJ, A.; Determination of the different states of Mercury in seawater near the Vlora and Durres Bays. *Anal. Bioanal. Chem.*, v.374, p.1034-1038, 2002.

LEERMAKERS, M; BAEYENS, W; QUEVAUVILLER, P; HORVAT, M. Mercury in environmental samples: speciation, artifacts and validation. *Trends in Analytical Chemistry*, v.24, n.5, p.383-393, 2005.

LITTLEJOHN, D.; FELL, G. S.; OTTAWAY, J. M.; Modified determination of total and inorganic mercury in urine by cold vapor atomic absorption spectrometry. *Clin. Chem.* v.22, n.10, p.1719-1723, 1976.

LOGAR, M.; HORVAT, M.; AKAGI, H.; PIHLAR, B.; Simultaneous determination of inorganic mercury and methylmercury compounds in natural waters. *Anal. Bioanal. Chem.*, v.374, p.1015-1021, 2002.

- MANANCAIS – *A história do reservatório Billings* – Disponível em www.manancais.org.br/site/manancais_rmsp/billings/ahistbill > Acesso em 17 de setembro de 2007
- MARTÍN-DOIMEADIOS, R. C.R.; MONPERRUS, M; KRUPP, E, AMOUROUX, D.; DONARD, O.F.X. Using speciated isotope dilution with GC-Inductively coupled plasma MS to determine and unravel the artificial formation of monomethylmercury in certified reference sediments. *Anal. Chem.*, v.75, p.3202-3211, 2003.
- MILLER, D. R.; AKAGI, H.; pH affects mercury distribution not methylation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.3, p.36-41, 1979.
- MIRANDA, M.R.; COELHO-SOUZA, S.A.; GUIMARÃES, J. R. D.; CORREIA, R.R.S.; OLIVEIRA, D. Mercúrio em sistemas aquáticos : fatores ambientais que afetam a metilação. *Oecol. Bras.*, v.11, n.2, p. 240-251, 2007.
- MORAES, P. R. *A Península do Riacho Grande – uma abordagem geográfica na análise ambiental*. 1994. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MORITA T; ASSUMPCÃO, R. M. V. *Manual de Soluções, Reagentes e Solventes*. Ed. Edgard Blucher, 1976.
- MURESAN, B.; COSSA, D.; RICHARD, S.; DOMINIQUE, Y. Monomethylmercury sources in a tropical artificial reservoir. *Applied Geochemistry*, v.23, p.1101-1026, 2008.
- PINHEIRO, M. C. N.; NAKANISHI, J.; OIKAWA, T.; GUIMARÃES, G.; QUARESMA, M.; CARDOSO, B.; AMORAS, W. W.; HARADA, M.; VIEIRA, J. L. F.; XAVIER, M. B.; BACELAR, D. R. Exposição humana ao metilmercúrio em comunidades ribeirinhas da região do Tapajós, Pará, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v.33, p.265-269, 2000.
- PIRES – *Prefeitura Municipal de Ribeirão Pires – História da Cidade* – disponível em www.ribeiraopires.sp.gov.br/novosite/cidade_historia.php > – Acesso em 17 de outubro de 2007.
- OLIVEIRA, J. B. – *Pedologia aplicada*. Ed. UNESP. Rio Claro, 2005.
- LOUDANNE, B; MIKAC, N; CUNDY, A.B.; QUILLET, L; FISCHER, J.C. A comparative study of mercury distribution and methylation in mudflats from two macrotidal estuaries: The Seine (France) and the Medway (United Kingdom). *Applied Geochemistry*, v.23, p.618–631, 2008.
- RANCHOU-PEYRUSE, M, M. MONPERRUS, R. BRIDOU, R. DURAN, D. AMOUROUX, J. C. SALVADO AND R. GUYONEAUD. Overview of Mercury Methylation capacities among anaerobic bacteria including representatives of the sulphate-reducers: implications of environmental studies. *Geomicrobiology Journal*, v.26, p.1-8, 2009.

- RANGEL, C.S. *Introdução à estatística Básica Aplicada a Laboratórios de Análises e Ensaios* – Apostila de curso – Instituto Brasileiro de Petróleo. Rio de Janeiro. 2001
- RAVICHANDRAN, M.; Interactions between mercury and dissolved organic matter—a review. *Chemosphere*, v.55, p.319-331, 2004.
- SABESP –*Abastecimento de água na região metropolitana de São Paulo* – disponível em <<http://www.sabesp.com.br/CalandraWeb/CalandraRedirect/?temp=4&proj=sabesp&pub=T&db=&docid=CC8BB4856DE5633B832571AE005B0E26>> acesso em 15 de novembro de 2009.
- SÃO PAULO – *A história da cidade*. Disponível em <http://www.prefeitura.sp.gov.br/portal/a_cidade/historia/index.php> Acesso em 12 de novembro de 2007.
- SERFOR-ARMAH, Y; NYARKO, B.J.B.; ADOLEY, D. K.; ADOMAKO, D; AKAHO, E.H.K - The impact of small-scale mining activities on the levels of mercury in the environment: The case of Prestea and its environs. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.262, n.3, p.685-690, 2004.
- SILVA, P.S.C. *Caracterização Química e Radiológica dos sedimentos do estuário de Santos, São Vicente e Baía de Santos*. 2004. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- SIMÕES, M. L. P.; LEVY, L. M.; JUNES, J. A.; *Programa de recuperação ambiental da bacia do Rio Grande* – Secretaria de Meio Ambiente – São Paulo – 1998.
- STOICHEV, T.; AMOUROUX, D.; WASSERMAN, J.C.; POINT, D.; DIEGO, A.; BAREILLE, G.; DONARD, O.F.X. Dynamics of mercury species in surface sediments of a macrotidal estuarine e coastal system (Adour River, Bay of Biscay) *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v.59, p.511-521, 2004.
- TIANRONG HE, JULIA LU, FAN YANG , XINBIN FENG Horizontal and vertical variability of mercury species in pore water and sediments in small lakes in Ontario. *Science of the Total Environment*, v.386, p.53–64, 2007.
- TOMIYASU , T; MATSUYAMA, A; EGUCHI, T; FUCHIGAMI, Y; OKI, K; HORVAT, M.; RAJAR, R.; AKAGI, H. Spatial variations of mercury in sediment of Minamata Bay, Japan. *Science of the Total Environment*, v.368, p.283– 290, 2006.
- UFSCAR – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS. *Caracterização do estoque de metais pesados, compostos orgânicos voláteis e semi-voláteis e nutrientes do sedimento e do particulado das represas do Guarapiranga e Billings (braços do Taquacetuba e Rio Grande), RMSP*. (Contrato de serviços executado pelo departamento de química da UFSCAR com a SABESP). 1997.
- ULLRICH, S. M.; TANTON, T. W.; ABDRAHITOVA, S. A. Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v.31(3), p.241-293, 2001.

- US EPA – *Method 1630. - Methyl Mercury in Water by Distillation, Aqueous Ethylation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry.* 1998. Disponível em <<http://www.epa.gov/waterscience/methods/method/mercury/1630.pdf>> acesso em 21 de Novembro de 2009.
- US EPA – *Method 1631 E. - Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry.* 2002. Disponível em <<http://www.epa.gov/waterscience/methods/method/mercury/1631.pdf>> acesso em 21 de Novembro de 2009.
- US EPA – *Ecological Screening Levels.* 2003 – US EPA region 5. Disponível em <<http://www.epa.gov/reg5rcra/ca/ESL/pdf>> Acesso em 04 de Agosto de 2010.
- US EPA – *Method 3200 – Mercury species fractionation and quantification by microwave assisted extraction, selective solvent extraction and/or solid phase extraction* 2005. Disponível em <<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/pdfs/3200.pdf>> acesso em 29 de julho de 2010.
- US EPA – *Method 3015a. – Microwave Assisted Acid Digestion of Aqueous Samples and Extracts.* 2007. Disponível em <<http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3015a.pdf>> acesso em 23 de Janeiro de 2008
- US EPA - *Method 3051A – Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils and Oils.* 2007. Disponível em <<http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3051a.pdf>> acesso em 23 de Janeiro de 2008.
- US EPA – *Method 7471b – Mercury in solid or semisolid waste (manual cold-vapor technique).* 2007. Disponível em <<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/7471b.pdf>> acesso em 17 de setembro de 2009.
- US EPA – *Method 7473 – Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry 2007.* Disponível em <<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/7473.pdf>> acesso em 29 de julho de 2010.
- US EPA – *Method 7474 – Mercury in sediment and tissue samples by atomic fluorescence spectrometry* 2007. Disponível em <<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/7474.pdf>> acesso em 29 de julho de 2010.
- UTGIKAR V.P.;HARMON,S. M.; CHAUDHARY, N.;TABAK, H. H.; GOVIND, R.;HAINES, J. R. Inhibition of Sulfate-Reducing Bacteria by Metal Sulfide Formation in Bioremediation of Acid Mine Drainage. *Environmental Toxicology*, v. 17, n.1, p. 40-48, 2002.

WARD CENTER STAFF – Neutron activation analysis, 2000 – Disponível em: <http://www.lbl.gov/abc/wallchart/chapters/13/5.html>, acesso em Julho de 2010.

WCAS – West Coast Analytical Service – *Analytical Chemists* – disponível em <<http://www.wcaslab.com/index.htm>> acessado em 12 de Setembro de 2007.

WEDEPOHL, K.H. The composition of the continental crust. *Geochim. Cosmochim. Acta*, v.59, p.1217-1232, 1995.

WHO - World Health Organization. Environmental Health Criteria 01 – *Mercury*, Geneva, 1976.

WHO - World Health Organization. Environmental Health Criteria 101 – *Methylmercury*, Geneva, 1990.

WHO - World Health Organization. Environmental Health Criteria 01 – *Inorganic Mercury*, Geneva, 1991.

WINDMÖLLER C. C.; SANTOS, R.C.; ATHAYDE, M.; PALMIERI H. E. L. Distribuição e especiação de mercúrio em sedimentos de áreas de garimpo de ouro do quadrilátero ferrífero MG. *Química Nova*, v.30, n.5, p.1088-1094, 2007.

WINFREY, M. R.; RUDD, J. W. M.; Environmental factors affecting the formation of methylmercury in low pH lakes. *Environ. Toxicol. Chem.*, v.9, p.853-869, 1990.

YANG, L.; ZHANG, D.; ZHOU, Q. Determination of mercury in biological tissues by Graphite-furnace Atomic Absorption Spectrometry with an in-situ concentration technique. *Anal. Sci.*, v.18, p.811-814, 2002.