

# MERCÚRIO – METILMERCÚRIO EM MATRIZES BIOLÓGICAS: SEPARAÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA E DETECÇÃO POR CV AAS

**Déborah Inês Teixeira Fávaro, Luciana Aparecida Farias**

Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica (LAN-CRPQ) – IPEN/CNEN-SP  
Av. Prof. Lineu Prestes, n 2242 – Cidade Universitária – São Paulo CEP : 05508-000 , Fone :  
011-38169182, e-mail : [defavaro@ipen.br](mailto:defavaro@ipen.br)

## 1 INTRODUÇÃO

O mercúrio (Hg) é um elemento persistente que provem de fontes naturais e antrópicas. O Hg que entra em oceanos, lagos e rios é convertido para metilmercúrio (MeHg) pela biota aquática e biocumula-se na cadeia alimentar aquática. Os seres humanos estão expostos ao MeHg principalmente através do consumo de peixe contaminado, particularmente espécies de peixe predadores. Em seres humanos, o MeHg é considerado neurotóxico [1].

O interesse em determinar teores de Hg para estimar o seu real impacto no meio ambiente, principalmente no sistema aquático, na vegetação e nos seres humanos, levou a um grande progresso no desenvolvimento de técnicas de análise para este metal. Além disso, a alta toxicidade aliada ao baixo nível de Hg em algumas amostras, bem como a sua natureza volátil e associação com outros compostos, faz com que sejam necessárias técnicas bastante sensíveis e precisas para a sua determinação em diferentes matrizes. Durante os últimos anos técnicas analíticas surgiram e têm contribuído significativamente para o entendimento da química do Hg em sistemas naturais. Os métodos analíticos são selecionados dependendo da natureza da amostra e, em particular, dos níveis de Hg [2].

## 2 DETERMINAÇÃO DE Hg (CV AAS)

A determinação de Hg por espectrometria de absorção atômica dispensa o uso da chama para a atomização do metal, porque no produto final a ser submetido à operação, o Hg inorgânico, é reduzido a seu vapor monoatômico por meio de um agente redutor. Em geral, a determinação do elemento envolve as seguintes etapas: coleta da amostra, pré-tratamento/preservação/estocagem, liberação do Hg da matriz, extração/"clean-up"/pré-concentração, separação das espécies de interesse de Hg, quantificação, sendo que existem dois aspectos importantes que são críticos na análise de Hg: procedimentos de descontaminação e calibração de padrões [2].

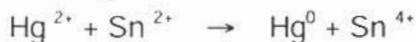
11568

2

Para se conseguir uma liberação quantitativa do Hg da amostra, os procedimentos de oxidação via úmida, requerem um ou mais agentes oxidantes com qualidade apropriada (baixo nível de Hg). As amostras são normalmente digeridas em sistemas fechados ou semifechados, em temperaturas elevadas (no máximo 90-100°C). Deve-se ter cuidado para prevenir perdas de Hg em temperaturas de digestão elevadas. O agente redutor ( $\text{SnCl}_2$  ou  $\text{NaBH}_4$ ) é adicionado ao frasco de reação contendo a amostra preparada. O vapor de  $\text{Hg}^0$  é então liberado da solução amostra e arrastado diretamente para a célula do espectrômetro ou é pré-concentrado numa superfície de ouro, antes de ser dessorvido por meio de calor antes da análise. Tais processos redução-aeração são fáceis de realizar, rápidos, seletivos e exatos quando comparados com muitas outras técnicas.

O Laboratório de Análise por Ativação com Nêutrons (LAN) do IPEN/CNEN-SP, vem utilizando a espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS), que vem a ser uma técnica bastante apropriada para a determinação dos teores de Hg total e MeHg em amostras biológicas. Os procedimentos são baseados no princípio desenvolvido por Poluektov e colaboradores [3,4].

O método consiste na redução do mercúrio ao estado fundamental, pela reação com um agente redutor (Cloreto Estanoso). A redução é feita em sistema fechado, usando argônio ou nitrogênio, como gás de arraste, que borbulha na solução.



Os átomos de mercúrio são transportados para a cela de absorção, que é colocada no percurso ótico do espectrômetro de absorção atômica. A quantidade de energia absorvida é proporcional à quantidade do elemento de interesse na amostra. A quantificação do metal se dá, pela comparação do sinal analítico obtido na leitura da amostra, com uma curva analítica.

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

### 3 DETERMINAÇÃO DE MEHG

A toxicidade do Hg, assim como muitos outros metais tóxicos, varia de acordo com a sua forma química. Metilmercúrio ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ) é muito mais tóxico do que o  $\text{Hg}^{+2}$ , devido a sua alta permeabilidade em membranas e maior capacidade de fixação em tecidos [5]. Na literatura são encontradas várias técnicas analíticas para a determinação de Hg total e/ou para a especificação de MeHg. Para diferenciar o Hg orgânico do Hg inorgânico, geralmente utiliza-se uma etapa de separação ou extração

antes de sua quantificação [6]. Por exemplo, Evans & McKee [7], utilizaram a combinação de cromatografia líquida de alta resolução com detecção amperométrica. Saouter & Blattman [8], usaram a cromatografia gasosa/espectrometria de fluorescência atômica. Em outros artigos, vários processos de extração foram utilizados para a etapa de separação antes da detecção por ICPMS [9,10].

Uma alternativa extremamente interessante para especiação de Hg é a redução seletiva. Limaverde Filho & Campos [11], apresentaram um método alternativo baseado no método de Magos [12], utilizando a redução seletiva. O  $\text{SnCl}_2$  é usado para a redução do mercúrio inorgânico e a mistura  $\text{SnCl}_2/\text{CdCl}_2$  para a redução do Hg total, em outra alíquota da amostra, sendo o Hg orgânico encontrado por diferença. Esse trabalho também apresenta uma boa revisão da literatura de outros métodos utilizados para a especiação do Hg utilizando cromatografia (gasosa, líquida de alta resolução, de camada fina e de troca iônica), destilação, decomposição por UV, eletrólise, extração seletiva, etc.

Então, para a determinação do MeHg há a necessidade de se distinguir a concentração de Hg total da concentração do MeHg em uma determinada amostra, antes da sua quantificação. O método aqui apresentado, utiliza uma lixiviação ácida e posterior separação do Hg orgânico e inorgânico, utilizando-se uma coluna de troca iônica e posterior determinação do Hg por CV AAS. A Figura 1 apresenta um fluxograma do método utilizado para a determinação do MeHg em materiais biológicos.

Primeiramente a extração do MeHg da amostra é feita com HCl 6M, que extrai quantitativamente o MeHg dos tecidos biológicos. O Hg inorgânico ( $\text{Hg}^{2+}$ ) é também extraído, mas na maioria dos casos, não quantitativamente. Os frascos contendo a amostra e o ácido devem ser envolvidos em papel alumínio, para impedir a passagem de luz e evitar a decomposição do MeHg e deixados reagir durante toda a noite.

No dia seguinte, os frascos devem ser colocados no agitador por duas horas e centrifugados por aproximadamente 10 min, a uma velocidade de 3000 rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante deve ser percolado através de uma resina de troca iônica condicionada previamente na forma  $\text{Cl}^-$  (1 ml de resina de troca iônica - Dowex 1- X8, 200-400 mesh). Essa etapa tem por objetivo separar o MeHgCl não iônico (que passa através da resina de troca iônica) do complexo  $\text{HgCl}_4^{2-}$ , que fica retido na coluna. Uma vez separado, o MeHg tem que ser decomposto para  $\text{Hg}^{2+}$ , porque o  $\text{SnCl}_2$  pode reduzir somente o Hg iônico inorgânico.

Essa decomposição pode ser feita de duas maneiras: por radiação ultravioleta (UV) ou decomposição ácida. A decomposição pela irradiação UV é simples e efetiva, mas pode demorar horas e deve ser conduzida em tubos de quartzo ou frascos de Teflon

transparentes (ambos refletem a luz UV). A digestão ácida é mais rápida e também efetiva, deve ser feita em tubos de digestão fechados e devido a grande quantidade de ácidos utilizada, o branco do reagente é alto, mas não alto o suficiente que prejudique a determinação do Hg.

Finalmente, após a decomposição do MeHg em  $\text{Hg}^{+2}$ , a quantificação do Hg é feita por CV AAS. Essa metodologia foi desenvolvida e validada no Marine Environment Laboratory da Agencia Internacional de Energia Atômica (MEL-IAEA), Mônaco, e tem sido utilizada rotineiramente para o monitoramento de poluição marinha.

O valor encontrado para o limite de quantificação (LQ) para o procedimento de determinação de Hg em materiais biológicos, é da ordem de  $1 \text{ ng mL}^{-1}$ .

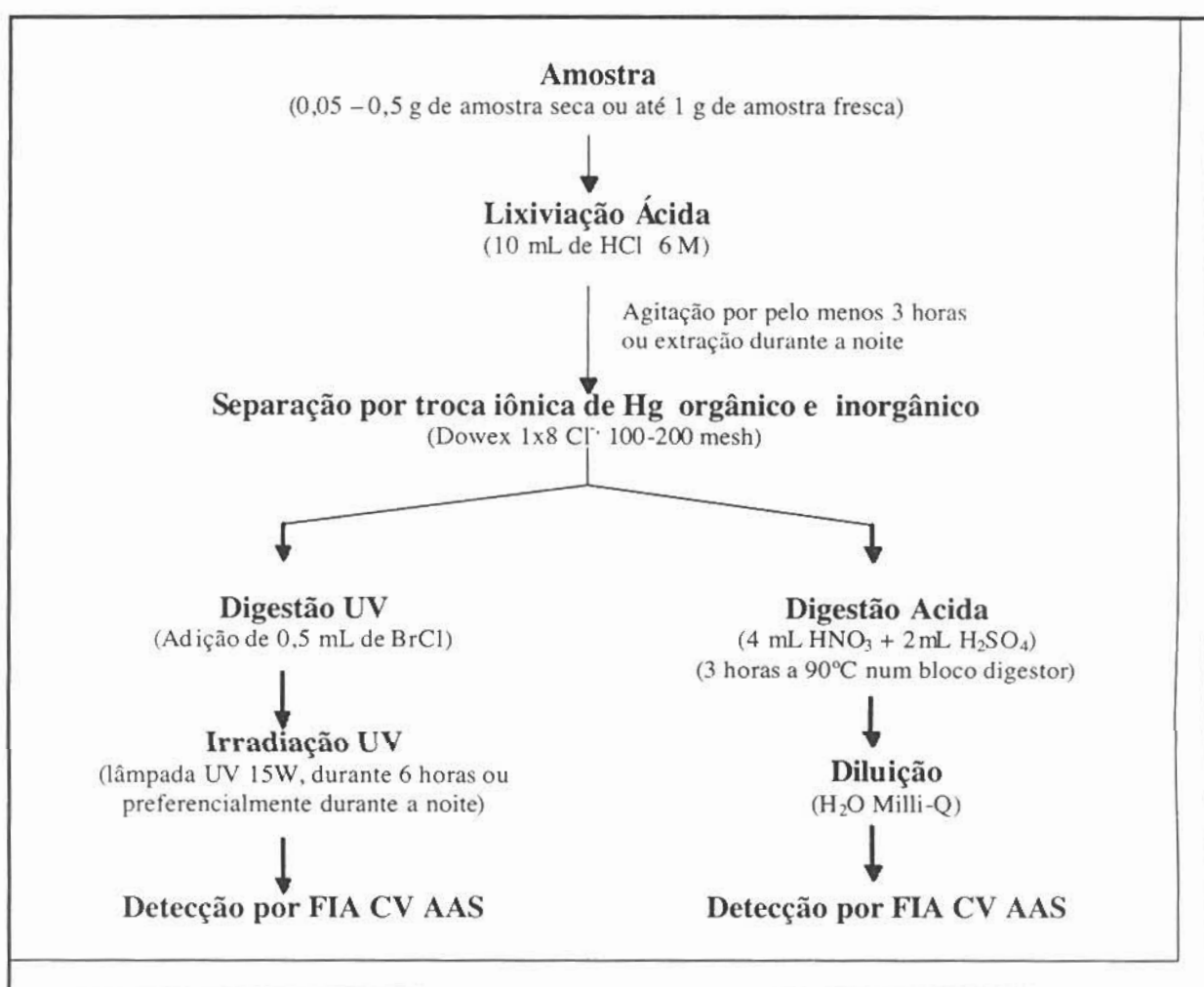


Figura 1 – Fluxograma para a determinação de MeHg em materiais biológicos (adaptado de Horvat .,[13])

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] National Research Council. **Toxicological Effects of Methylmercury**. Committee on the Toxicological Effects of Methylmercury, Board on Environmental Studies and Toxicology, Commission on Life Sciences, National academy Press, Washington, DC ([www.nap.edu](http://www.nap.edu)), 2000.
- [2] 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.
- [3] HATCH, W. R. & OTT, W. L.. Determination of sub-microgram quantities of mercury by atomic absorption spectrophotometry. **Anal. Chem.** 40 (14), 2085, 1968.
- [4] POLUEKTOV, N. S.; ZELYUKOVA, Y. V. Atomic absorption determination of mercury microcontaminations in alkali metal hydroxides (exchange of experience). **Industrial Laboratory**, 35 (2), 222, 1969.
- [5] TESSIER, A. & TURNER, D.R. **Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic System**, vol.3, Wiley, New York, 1995, p.103.
- [6] LAI, R.; HUANG, E.L.; ZHOU, F; WIPF, D.O. Selective determination of MethylMercury by Flow-Injection Fast-Scan Voltammetry. **Electroanalysis**, 10 (13), p. 926-930, 1998.
- [7] EVANS, O. & MCKEE, G.D. Determination of Mercury (II) and Organomercury Compounds by reversed-phase liquid-chromatography with reductive electrochemical detection. **Analyst** 113, 243-246, 1988.
- [8] SAOUTER, E. & BLATTMANN, B. Analyses of Organic and Inorganic Mercury by AFS using a semiautomatic analytical system. **Anal. Chem.** 66, p. 2031-2037, 1994.
- [9] BLOXHAM, M.J.; HILL, S.J.; WORSFOLD, P.J. Determination of Mercury in filtered sea-water by flow injection with on-line oxidation and atomic fluorescence spectrometric detection. **J. Anal. At. Spect.** 11(7), 511-514, 1996.
- [10] CELA, R.; LORENZO, R.A.; MEJUTO, M.C.; BOLLAIN, M.H.; et al. Studies on Organomercury Compounds Speciation. **Mikrochimica Acta** 109 (1-4), 111-116, 1992.
- [11] LIMAVERDE FILHO, A.M. & CAMPOS, R.C.. Redução seletiva aplicada à especiação de Mercúrio em peixes: uma adaptação do método de Magos. **Química Nova**, 22(4), p. 477 – 482, 1999.
- [12] MAGOS, L. Selective Atomic-Absorption Determination of Inorganic Mercury and MethylMercury in undigested biological samples. **Analyst**, 96(1149), p. 847, 1971
- [13] HORVAT, M. An end-of-mission report. Determination of total and methylmercury by an FIA CV AAS system, Brazil, 1999.