



**UFOP**

Universidade Federal  
de Ouro Preto

**UNIVERSIDADE FEDERAL  
DE OURO PRETO**

**Instituto de Ciências Exatas e  
Biológicas**



**Dissertação**

**Desenvolvimento de Métodos de Extração  
de Mercúrio em Vegetais e Avaliação da  
contaminação no Distrito de Antônio  
Pereira, Ouro Preto, MG**

**Júlia Condé Vieira**

**Programa de Pós-Graduação em Química**

**PPGQUIM**

**Ouro Preto**

**2017**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

Universidade Federal de Ouro Preto

Instituto de Ciências Exatas e Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Química

---

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE MERCÚRIO EM  
VEGETAIS E AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO NO DISTRITO DE ANTÔNIO  
PEREIRA, OURO PRETO, MG**

Autora: **Júlia Condé Vieira**

Orientadora: **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Roberta Eliane Santos Froes-Silva**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação Química da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração:  
**Química Analítica**

Ouro Preto/MG  
Fevereiro de 2017

V658d

Vieira, Júlia Condé.

Desenvolvimento de Métodos de Extração de Mercúrio em Vegetais e Avaliação da contaminação no Distrito de Antônio Pereira, Ouro Preto, MG [manuscrito] / Júlia Condé Vieira. - 2017.

76f.: il.: color; grafs; tabs; mapas.

Orientador: Prof. Dr. Roberta Eliane S. Froes-Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Jorge Carvalho de Lena.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química.

Área de Concentração: Química Ambiental.

1. Mercúrio. 2. Ultra-sonografia. 3. Hortaliças - Extração (Química). I. Froes-Silva, Roberta Eliane S. . II. Lena, Jorge Carvalho de. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 550.4

Catálogo: [www.sisbin.ufop.br](http://www.sisbin.ufop.br)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Universidade Federal de Ouro Preto  
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Química



**“Desenvolvimento de Métodos de Extração de  
Mercúrio em Vegetais e Avaliação da contaminação  
no Distrito de Antônio Pereira, Ouro Preto, MG”**

Autora: Julia Condé Vieira

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, em 23 de fevereiro de  
2017, pela comissão examinadora composta pelos membros:

*Flávia Regina de Amorim*

Prof.<sup>o</sup> Dr.<sup>o</sup> Flávia Regina Amorim  
CEFET-MG

*Liliane Catone Soares*

Prof.<sup>o</sup> Dr.<sup>o</sup> Liliane Catone Soares  
UFOP

*Roberta Eliane Santos Froes-Silva*

Prof.<sup>o</sup> Dr.<sup>o</sup> Roberta Eliane Santos Froes-Silva  
UFOP

*“Combati o bom combate, completei a corrida, guardei a fé.”*

*2 Timóteo 4:7*

## **Agradecimentos**

Com a certeza de que sem fé jamais seria capaz de chegar ao fim de qualquer conquista, agradeço a Deus em primeiro lugar. Sou incessantemente grata por todas as bênçãos concedidas;

Agradeço de modo especial aos meus pais, Sérgio e Ana, e ao meu irmão, Pedro, por comemorarem comigo cada passo dado, ínfimo que seja, e por partilharmos juntos nossos sonhos. Muito obrigada por toda dedicação, amor e amparo, fundamentais em todas as etapas da minha vida;

Agradeço a toda família, padrinhos, tios, primos e carinhosamente, as minhas avós, Marília e Maria da Conceição, por me servirem de inspiração pelos exemplos reais de grandes mulheres que são;

Aos verdadeiros amigos, agradeço a torcida e por estarem sempre presentes, mesmo em momentos nos quais estive distante fisicamente. Dentre eles, aos parceiros de laboratório e da universidade, Mariana, Diogo, Emylle, Roberto, PH, Jussara e Fernanda, por terem deixado esses dois anos mais doces com a convivência diária, e aos queridos: Letícia, Beatriz, Roberta, Sther, Maka, Amanda e Thaís, por serem meus companheiros de vida;

A minha orientadora, Profa. Dra. Roberta, por todo apoio, confiança, constante incentivo, paciência e por ter sido, além de orientadora, uma amiga. Ao meu coorientador, Prof. Dr. Jorge, agradeço os valiosos conselhos, a disposição nas coletas, disponibilidade e atenção. Foi de extrema importância ser orientada por excelentes pesquisadores e além disso, pessoas de caráter brilhante. Obrigada por tantos ensinamentos;

Ao Prof. Dr. Geraldo Magela, do Departamento de Química da UFOP, e à Profa. Dra. Cláudia Carvalhinho Windmüller, do Departamento de Química da UFMG, por concederem o uso de equipamentos pertencentes aos seus respectivos laboratórios, e à Profa. Dra. Liliane Catone por todas as sugestões e ajudas;

Aos membros da banca, agradeço por gentilmente aceitarem o convite para participarem da defesa;

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Química e da Universidade Federal Ouro Preto, por facilitarem minha formação e o desenvolvimento desta pesquisa;

Aos órgãos de fomento, principalmente à CAPES e à UFOP, pela concessão da bolsa de estudos e auxílios de participação em congressos;

Por fim, a todos que me apoiaram e acreditaram em mim e neste trabalho, muito obrigada!

## RESUMO

Antônio Pereira, distrito de Ouro Preto, MG, possui desde o século XVIII, quando foi fundado, a mineração como principal atividade. Uma situação atual vem alarmando a população local e Secretarias Públicas da região. Alguns casos de Pênfigo Foliáceo (PF) ou “fogo selvagem”, como também é conhecida a patologia, apareceram no distrito. Estudos apontam possíveis desencadeadores do fogo selvagem, e alguns deles se enquadram no contexto no qual se encontra Antônio Pereira. Um deles é a exposição ao mercúrio, metal muito utilizado na amálgama para extração do ouro, atividade ainda realizada por muitos garimpeiros na região. No Brasil, a endemia vem sendo historicamente associada à exploração do ouro e às contaminações ambientais decorrentes dessa atividade.

O presente trabalho teve como intenção investigar a disponibilidade de um dos possíveis desencadeadores da doença na biota do distrito e averiguar a contaminação por metais pesados a fim de comparar com dados extraídos em anos anteriores da mesma região, já existentes em literatura. Para isso, amostras de água, sedimentos e vegetais foram coletadas em pontos estratégicos para o estudo, em períodos sazonais definidos. Essas amostras foram preparadas por digestão e/ou extração em Micro-ondas e Ultrassom e analisadas por Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio (CVAAS), Analisador Direto de Mercúrio (DMA), Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (HG-AAS) e Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS). Uma técnica analítica de extração de mercúrio por meio de banho ultrassônico em amostras de vegetais foi validada para análise por CVAAS, e comparada com técnicas de extração consolidadas. A técnica desenvolvida mostrou-se mais vantajosa, em termos de recuperação do analito, que as técnicas já existentes. A conclusão dos resultados obtidos com as matrizes estudadas poderá auxiliar em medidas de mitigação a serem adotadas no local da presente pesquisa.

**Palavras-chave:** Determinação de mercúrio; Extração de mercúrio; Ultrassom; Metais em água; Sedimentos; Extração em vegetais alimentícios.



## ABSTRACT

Antônio Pereira, a district in Ouro Preto, MG, has since the eighteenth century, when it was founded, mining as its main activity. A current situation has alarmed the local population and Public Secretaries in the region. Cases of Pemphigus Foliaceus (PF) or "*fogo selvagem*", as is also known the pathology, appeared in the district. Studies point to possible triggers of "*fogo selvagem*" and some of them fall within the context of Antônio Pereira. One of them is the exposure to mercury, a widely used metal in amalgam for gold extraction, an activity still performed by many gold miner in the region. In Brazil, the illness has been historically associated with gold exploit and the environmental contaminations resulting from this activity.

The present work intends to investigate the availability of one of the possible triggers of the disease in the biota of the district and to investigate the contamination by heavy metals in order to compare with data obtained in previous years from the same region already existing in the literature. For this, water, sediment and plant samples were collected at strategic points for the study, in defined seasonal periods. These samples were prepared by digestion and/or extraction in Microwave and Ultrasound and analyzed by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry (CVAAS), Direct Mercury Analyzer (DMA), Hydrogen Generation Atomic Absorption Spectrometry (HG-AAS) and Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS). An analytical method of extracting mercury by ultrasonic bath in plant samples was validated for analysis by CVAAS, and compared with consolidated extraction methods. The method developed was more advantageous, in terms of analyte recuperation, than the existing methods. The conclusion of the results obtained with the matrices studied could help the mitigation procedures to be adopted at the place of the present research.

**Keywords:** Mercury determination; Mercury Extraction; Ultrasonic methods; Metals in water; Sediments; Extraction in food plants.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mapa de Antônio Pereira e região com a localização dos pontos de amostragem – gerado com base na folha Mariana SF-23-X-B-I-3 do IBGE [56]. Detalhes retirados de Costa, [3] e Basílio, [57] .....	19
<b>Figura 2.</b> Pontos de amostragem com suas respectivas denominações. ....	21
<b>Figura 3.</b> Gráfico condutividade elétrica <i>versus</i> pontos de coleta, de acordo com o curso do rio Gualaxo do Norte, nos períodos de seca e chuva .....	42
<b>Figura 4.</b> Gráfico condutividade elétrica <i>versus</i> pontos de coleta, de acordo com o curso do córrego Água Suja, nos períodos de seca e chuva .....	42
<b>Figura 5.</b> Gráfico potencial de oxidação e redução <i>versus</i> pontos de coleta, de acordo com o curso do rio Gualaxo do Norte, nos períodos de seca e chuva .	43
<b>Figura 6.</b> Gráfico potencial de oxidação e redução <i>versus</i> pontos de coleta, de acordo com o curso do córrego Água Suja, nos períodos de seca e chuva.....	44
<b>Figura 7.</b> Composição das espécies mineralógicas e difratograma, obtidos com a técnica de DRX, para o ponto 2 .....	51
<b>Figura 8.</b> Composição das espécies mineralógicas e difratograma, obtidos com a técnica de DRX, para o ponto 4 .....	52
<b>Figura 9.</b> Composição das espécies mineralógicas e difratograma, obtidos com a técnica de DRX, para o ponto 6 .....	52
<b>Figura 10.</b> Superfície de resposta gerada pelo planejamento CCD 2 <sup>4</sup> preliminar realizado na tentativa da obtenção de um método de extração .....	58
<b>Figura 11.</b> Gráfico de pareto do planejamento CCD 2 <sup>3</sup> .....	60
<b>Figura 12.</b> Superfície de resposta gerada pelo planejamento do método de extração para mercúrio em vegetais .....	61
<b>Figura 13.</b> Gráfico comparativo dos métodos de extração de mercúrio em vegetais.....	63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Identificação das amostras coletadas e seus locais de amostragem. .....	20
<b>Tabela 2.</b> Descrição e nomenclatura dada às amostras de vegetais utilizadas	25
<b>Tabela 3.</b> Condições operacionais do FAAS para análise de Fe e Mn em água. .....	27
<b>Tabela 4.</b> Variáveis e níveis do CCD 2 <sup>3</sup> utilizado.....	31
<b>Tabela 5.</b> Condições operacionais para o planejamento multivariado de extração de mercúrio .....	32
<b>Tabela 6.</b> Resultados das análises de mercúrio em água nas três campanhas realizadas.....	35
<b>Tabela 7.</b> Análise de As, Mn e Fe nas amostras de água coletadas nas duas primeiras campanhas (época de seca) .....	38
<b>Tabela 8.</b> Análise de As, Mn e Fe nas amostras de água coletadas na terceira campanha (época chuvosa) .....	39
<b>Tabela 9.</b> Parâmetros medidos das amostras de água coletadas nas duas primeiras amostragens (época de seca) .....	40
<b>Tabela 10.</b> Parâmetros medidos das amostras de água coletadas na terceira amostragem (época de chuva).....	41
<b>Tabela 11.</b> Porcentagens granulométricas dos sedimentos classificadas em faixas.....	45
<b>Tabela 12.</b> Resultados das análises de mercúrio em DMA dos sedimentos da primeira coleta.....	47
<b>Tabela 13.</b> Resultados das análises de mercúrio em DMA dos sedimentos da segunda coleta.....	48
<b>Tabela 14.</b> Teores de ferro nas amostras de sedimento nos dois períodos, por AAS.....	51
<b>Tabela 15.</b> Concentrações de mercúrio e desvio padrão das análises das folhas <i>in natura</i> encontrados no período de seca .....	55
<b>Tabela 16.</b> Concentrações de mercúrio e desvio padrão das análises das folhas <i>in natura</i> encontrados no período chuvoso, e dos vegetais do grupo-controle	55
<b>Tabela 17.</b> Resultados obtidos das análises dos ensaios realizados pelo planejamento CCD 2 <sup>3</sup> .....	59

<b>Tabela 18.</b> Desvio Padrão das análises de mercúrio em DMA dos sedimentos da primeira coleta.....	75
<b>Tabela 19.</b> Desvio Padrão das análises de mercúrio em DMA dos sedimentos da segunda coleta.....	76

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	1
2. Estado da arte .....	4
2.1. O distrito de Antônio Pereira .....	4
2.2. O pênfigo foliáceo .....	5
2.3. A contaminação por mercúrio .....	7
2.4. O acúmulo do mercúrio no meio ambiente.....	10
2.5. Determinação de metais .....	11
2.6. Métodos de extração de metais .....	14
2.7. Otimização multivariada .....	15
3. Objetivos .....	17
3.1. Gerais .....	17
3.2. Específicos .....	17
4. Materiais e métodos .....	18
4.1. Amostragem e preparação das amostras .....	18
4.1.1. Água.....	22
4.1.2. Sedimento .....	23
4.1.3. Vegetais.....	24
4.2. Determinação de metais.....	26
4.2.1. Água.....	26
4.2.2. Sedimentos .....	28
4.2.3. Vegetais.....	30
4.3. Desenvolvimento de método de extração de mercúrio em vegetais utilizando banho ultrassônico .....	30
4.3.1. Análise multivariada para a determinação das condições ótimas de extração do mercúrio em vegetais .....	30
4.3.2. Comparação com métodos de extração existentes .....	32
4.3.3. Estudo de validação do método de extração.....	33
5. Resultados e Discussões.....	35
5.1. Água .....	35
5.1.1. Análises de mercúrio .....	35
5.1.2. Determinação de arsênio, manganês e ferro .....	37
5.1.3. Parâmetros físico-químicos da água .....	40

<b>5.2. Sedimentos</b> .....	45
<b>5.2.1. Análise Granulométrica</b> .....	45
<b>5.2.2. Determinação de mercúrio</b> .....	46
<b>5.2.3. Determinação de ferro</b> .....	50
<b>5.3. Vegetais</b> .....	54
<b>5.3.1. Determinação de mercúrio</b> .....	54
<b>5.3.2. Desenvolvimento de método de extração de mercúrio em vegetais</b> .....	57
<b>5.3.2.1. Comparação com métodos de extração existentes</b> .....	62
<b>5.3.2.2. Validação do método proposto</b> .....	64
<b>6. Conclusões e considerações finais</b> .....	66
<b>7. Referências Bibliográficas</b> .....	68
<b>8. Apêndice</b> .....	75

## 1. Introdução

O Quadrilátero Ferrífero tem se destacado desde o final do século XVII como uma das mais importantes regiões produtoras de ouro do Brasil. Desde então, metodologias modernas de exploração mineral e técnicas rudimentares de extração por garimpo se instalaram no local. Essas metodologias têm como consequência o aumento da disponibilidade de arsênio e a inserção de mercúrio através da queima de amálgama [1]. Na região se encontra Antônio Pereira, um distrito do município de Ouro Preto, MG, e localizado próximo ao município de Mariana, MG. A atividade principal da população é a mineração, desde quando o vilarejo foi fundado. Atualmente o distrito é cercado de grandes mineradoras, que exploram principalmente o minério de ferro local.

Estudos foram realizados na região e constataram um aumento da deposição de metais [1-3]. Esse aumento é decorrente da ascendência da atividade mineradora de empresas e do garimpo, fonte de renda de muitos habitantes de Antônio Pereira. Três barragens de rejeitos de mineração se encontram nas redondezas do distrito, causando consequências aos cursos d'água e levando à intensificação da poluição ambiental.

Em 2013, Antônio Pereira registrou 12 casos de Pênfigo Foliáceo (PF), também conhecido como “fogo selvagem”. Atualmente os relatos dos profissionais de saúde os quais trabalham no distrito são que já existem 31 casos, sendo que um deles levou o paciente a óbito. A própria endemicidade da doença demonstra a importância de fatores ambientais e socioculturais no desencadeamento do PF endêmico, com a existência de focos geograficamente definidos. Os doentes são habitualmente lavradores ou seus familiares que vivem em más condições sociais, em habitações precárias próximas a córregos, com higiene pobre, em meio a animais domésticos e grande quantidade e variedade de insetos. Percebe-se, no distrito, a ausência de saneamento básico adequado e esgotos domiciliares sendo despejados no córrego Água Suja, que passa pelo vilarejo, sem nenhum tratamento prévio. A ocorrência de pênfigo foliáceo endêmico no Brasil vem sendo historicamente associada à exploração do ouro e às contaminações ambientais decorrentes dessa atividade, inclusive a exposição ao mercúrio [4, 5].

A exposição humana ao mercúrio pode ocorrer principalmente pelos vegetais alimentícios cultivados em áreas contaminadas, peixes e animais aquáticos contaminados e pelo ar [6]. Essas áreas contaminadas são normalmente associadas às atividades mineradoras.

Um estudo aprofundado da biota do município está sendo realizado no intuito de colaborar com dados sobre os fatores que podem ser desencadeadores da doença, com foco principal no mercúrio. O intuito é observar os índices desse metal na região. Foram tomados como objetos de análise água, sedimentos e vegetais consumidos pelos habitantes do distrito. Foi delimitada uma área de controle em pontos antes, dentro e depois da área urbana.

A presença do Pênfigo Foliáceo na região estudada foi o fator estimulador para o estudo em questão determinar o mercúrio oriundo do distrito de Antônio Pereira, e também determinar outros metais como o ferro, a fim de obter-se uma possível correlação com o aumento da incidência do mercúrio. Ademais, o desenvolvimento de um método de extração de mercúrio em vegetais foi incluído como objetivo da pesquisa. Este propósito foi uma necessidade surgida nas análises de vegetais coletados na região por conta da observância da ineficiência de métodos existentes para a finalidade proposta. Nas análises ambientais, em sua maioria, os metais são encontrados em níveis traços, e assim qualquer perda pode vir a causar uma mudança significativa na determinação do elemento, a exemplo da perda por volatilização, problema encontrado atrelado às análises de mercúrio. Como o estudo teve como foco as análises ambientais, essas perdas foram minimamente evitadas.

### **Justificativa**

O motivo do enfoque da pesquisa neste determinado local é devido ao fato de que o distrito pertence a Ouro Preto e vem chamando a atenção pela alta incidência da doença pênfigo foliáceo, além de indicativos de contaminação por mercúrio. O rápido aumento no número de casos da patologia vem intrigando um grupo de pesquisa constituído por profissionais na área médica, farmacêutica,



ambiental e química. Como parte do projeto, o estudo visa analisar o aumento da deposição metálica na área e apontar as possíveis fontes de contaminação.

O mercúrio é sugerido como um dos fatores desencadeadores da doença. Logo, uma análise aprofundada sobre o teor de mercúrio na região pode vir a possibilitar uma correlação do metal com os índices da patologia no distrito. O presente estudo visa quantificar o mercúrio em sedimentos, água, além de vegetais locais, desenvolvendo um método de extração do mercúrio eficaz para essa última matriz supracitada.

## **2. Estado da arte**

### **2.1. O distrito de Antônio Pereira**

Antônio Pereira é um distrito do município de Ouro Preto, MG. Sua população local é de aproximadamente 4400 habitantes. Dista 16 km de Ouro Preto e 9 km de Mariana. Apesar da proximidade com duas das principais cidades históricas da região, as construções em Antônio Pereira não seguem a arquitetura do barroco mineiro por retratar um estilo de vida mais simples. Possui apenas ruínas da igreja de Nossa Senhora da Conceição, a qual foi destruída em decorrência de um incêndio [7].

O arraial foi fundado por volta de 1700 por um bandeirante chamado Antônio Pereira, originando o nome do distrito, e foi povoado por pessoas que exploravam minas de ouro. Na segunda metade do século XIX, foi incorporado ao município de Ouro Preto prosseguindo, ainda hoje, em sua tradicional vocação mineradora, sediando lavras de minério de ferro. Após esta segunda fase, voltou ao declínio econômico, que só foi amenizado na década de 1980, quando o distrito recebeu novas empresas de mineração, as quais atuam até hoje na região, explorando o minério de ferro [7]. Devido à pobreza do local, violência, ou mesmo drogas, vários projetos sociais foram introduzidos, mas poucos sobrevivem, especialmente devido à falta de atenção dada ao local pelas autoridades.

O distrito é cercado por duas grandes mineradoras que geram empregos para os moradores de Antônio Pereira. De acordo com a população local, nos últimos meses a quantidade de habitantes desempregados do distrito aumentou, acarretando também o aumento do número de garimpeiros nas margens do córrego Água Suja e do rio Gualaxo do Norte, os dois cursos d'água que banham Antônio Pereira. Para garimpar, fazem o uso do mercúrio para formar amálgama com o ouro. Durante a queima da amálgama, o mercúrio é vaporizado para a separação do ouro. O processo de amalgamação leva à perda de mercúrio metálico para a atmosfera, que é posteriormente depositado no meio ambiente. Conforme o artigo 2º do Decreto nº. 97.507, de 13 de fevereiro de 1989, o uso de mercúrio é proibido na atividade de extração de ouro, a não ser que a atividade seja licenciada pelo órgão ambiental competente, neste caso o Instituto

Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) [8]. No distrito, o processo de queima é feito ilegalmente, muitas vezes na beira do rio, próximo aos garimpos, ou até mesmo dentro das casas dos garimpeiros, expondo-os a um risco iminente de contaminação mercurial.

O esgoto da área urbana é depositado no córrego Água Suja, causando despejo de matéria orgânica nos mananciais e aumentando casos de diversas doenças. Uma delas é a esquistossomose, popularmente conhecida como xistose, doença infecciosa parasitária, de veiculação hídrica, cuja transmissão ocorre quando o indivíduo suscetível entra em contato com águas superficiais onde existam caramujos, hospedeiros intermediários, liberando cercárias. A suscetibilidade ao verme do gênero *Schistosoma*, causador da xistose, é geral, portanto qualquer pessoa pode vir a contrair a doença [9]. O distrito de Antônio Pereira já apresentou vários surtos da patologia, mais comum nos habitantes que adentram córregos e rios sem proteção para a extração de ouro e minerais. A situação ambiental na qual a região se encontra é susceptível ao aparecimento de outras epidemias.

## **2.2. O pênfigo foliáceo**

A Secretaria de Estado de Saúde (SES) de Minas Gerais tem dado uma atenção maior ao distrito de Antônio Pereira depois do aparecimento repentino de pênfigo foliáceo. Os pacientes pertencem a diversas faixas etárias e gênero, totalizando 31 pessoas até a presente data.

Há dois tipos principais de pênfigo: pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo. Ambas são doenças raras caracterizadas pela formação de bolhas na pele, principalmente no couro cabeludo, costas, peito e, no caso do pênfigo vulgar, também nas mucosas (como boca, garganta, olhos, nariz e região genital). São consideradas doenças autoimunes, desencadeadas porque o sistema imunológico produz, de forma errônea, anticorpos contra estruturas da pele, que são responsáveis pela união entre as células, causando bolhas e posteriores feridas em pele e mucosas. Por serem autoimunes, não são doenças contagiosas. O fator formador desses anticorpos ainda é desconhecido. Não são doenças hereditárias, ainda que seja preciso uma pré-disposição genética. Não

há fatores da alimentação ou fatores emocionais que levam ao aparecimento dos pênfigos [10].

Humanos de todas as idades, são alvos da doença, mas os pênfigos são mais frequentes em pessoas a partir dos 40-50 anos, tanto homens como mulheres. O tratamento dessa doença bolhosa autoimune é realizado à base de corticosteroides orais em altas doses, com um acompanhamento de um dermatologista [10]. Em alguns casos, é necessário acrescentar outros medicamentos. Casos graves requerem muita atenção, pois podem causar o óbito do paciente. Na maioria das vezes, é possível controlar a doença, e em geral os medicamentos podem ser retirados de forma lenta. De qualquer modo, a doença não é considerada curada, mas sim, controlada, podendo ocorrer recaídas no futuro.

Abréu-Vélez e colaboradores desenvolveram estudos em pacientes de uma forma endêmica de pênfigo foliáceo em uma área nas cercanias de El Bagre, Colômbia. Concentrações mais altas de mercúrio e outros compostos foram encontrados na pele, unha, cabelo e urina de pacientes, comparando-se às mesmas análises feitas com um grupo-controle de moradores saudáveis da mesma região. Os resultados indicaram que a forma endêmica colombiana parece estar associada ao mercúrio e outros compostos ligados à mineração [11, 12].

Pesquisas realizadas no Brasil relatam a maior ocorrência do pênfigo em zonas rurais. No estado de Goiás, onde houve o aparecimento de vários casos de fogo selvagem, foi feita uma correlação do domicílio ou atividade profissional dos pacientes com a composição populacional do estado, que confirmou maior incidência na zona rural [13]. Além disso, assim como na Colômbia e outros casos na América Latina, pesquisadores também associaram a doença no país com a exploração de ouro e às consequências da atividade no meio ambiente [4].

Quando pacientes tratados e controlados retornam à área onde adoeceram, a probabilidade de reativações é maior em comparação aos indivíduos que mudam-se para áreas não endêmicas, reafirmando a importância do ambiente que o paciente ocupa para o desenvolvimento da doença. Na literatura, diversos fatores ambientais são apontados como possíveis

desencadeadores da resposta autoimune causadora do fogo selvagem, tais como uso de drogas contendo um radical sulfidril (forma fármaco-induzida), exposição a mercúrio, exposição a poeiras que contêm sílica, além da exposição à sílica livre cristalina. Alguns estudos em andamento sugerem que a picada do mosquito *Simulium nigricans*, popularmente conhecido como “borrachudo”, pode ser um dos precursores do pênfigo foliáceo endêmico. Essa seria a explicação para os casos estarem mais concentrados nas áreas próximas às regiões de desmatamento do País [5, 14].

### **2.3. A contaminação por mercúrio**

O mercúrio (Hg) é um metal de alta toxicidade e não essencial à saúde humana. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO), está entre os dez elementos químicos que causam maiores preocupações para a saúde pública, podendo causar efeitos tóxicos em pulmões, rins, pele e olhos, e ainda sobre os sistemas nervoso, digestivo e imunológico [15]. Todos os compostos químicos são tóxicos, dentre eles, os compostos organomercuriais de cadeia curta ocupam lugar de destaque, causando alterações severas e até mesmo irreversíveis ao sistema nervoso. O metil mercúrio ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ) é incorporado ao organismo humano através da ingestão de peixes e demais frutos do mar, que, através de bioacumulação e biomagnificação, retém o composto. O  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  é de absorção rápida no organismo humano, e de lenta eliminação, que ocorre via fezes, urina e leite materno.

Muitos desastres ambientais levaram a contaminação humana por mercúrio e seus compostos. O mais famoso teve seus primeiros casos reportados em 1953, na cidade japonesa de Minamata. A fábrica Chisso, localizada na região, produzia cloreto de vinila e acetaldeído e como catalisadores das reações eram usados respectivamente  $\text{HgCl}_2$  e  $\text{HgSO}_4$ . No processo químico de metilação do acetaldeído parte do mercúrio, proveniente do sulfato utilizado na catálise da reação, também era metilado. Os resíduos industriais com o metil mercúrio eram despejadas diretamente na baía de Minamata, culminando na poluição do ecossistema aquático. A população, contaminada via alimentação de peixes e crustáceos aumentou drasticamente,

e todos os pacientes apresentavam os mesmos sintomas neurológicos. Milhares de pessoas foram contaminadas, sendo que um grande número das vítimas faleceu. Muitos pacientes apresentavam elevadas concentrações de mercúrio nos rins, fígado e cérebro [16]. Em 2013 foi criada a Convenção de Minamata, reunião internacional que discute o mercúrio como metal causador de efeitos significativos na saúde e no ambiente, e elabora tratados mundiais para evitar emissões e lançamentos, com representantes de todos os governos. Abre também pauta para discussões sobre os problemas causados por mercúrio liberado por diversas fontes ao redor do planeta [17, 18].

Depois de 15 anos do ocorrido na Baía de Minamata, um caso idêntico, mas de proporções menores, ocorreu na cidade de Niigata, também no Japão. Pessoas foram envenenadas por mercúrio, por meio do consumo de peixes contaminados pela liberação de compostos de mercúrio de uma indústria que usava o mercúrio como catalisador [19].

Outros países, como Suécia, Guatemala, Paquistão, México e Iraque, relataram outros surtos de doenças causadas pelo consumo de compostos mercuriais. Nestes casos, o mercúrio era associado à agricultura, usado como componentes em fungicidas. As formas de mercúrio se acumulavam no tecido animal e em fluidos no corpo humano, levando a mortes e diversas formas de doenças em humanos e animais. No maior desastre, ocorrido no Iraque, em 1972, os grãos de trigo tratados com fungicidas metil-mercuriais foram usados na confecção de pães. A safra foi fornecida em diversas partes do país, causando mais de 400 óbitos, e os mais variados sintomas afetando aproximadamente 6000 pessoas [19, 20].

Um incidente de grande repercussão e importância no meio acadêmico ocorreu na cidade de Lyme, em New Hampshire, Estados Unidos. A professora de química da Universidade de Dartmouth e diretora fundadora do Programa de Pesquisa de Metais Tóxicos de Dartmouth, Karen Wetterhahn faleceu em 1997, aos 48 anos, como resultado de um trágico acidente de laboratório envolvendo um composto de mercúrio. Especialista nos mecanismos de toxicidade dos metais, a professora Wetterhahn, mais conhecida por sua pesquisa sobre cromo, estudava a estrutura de moléculas biologicamente ativas como DNA, RNA e proteínas e as interações de metais com essa estrutura. Ao realizar pesquisas

nessa área com o mercúrio, usava dimetilmercúrio como material de referência para medidas de RMN de  $^{199}\text{Hg}$ . Em 1996, ao preparar uma experiência que envolveu o uso de dimetilmercúrio, a dedicada professora Wetterhahn derramou algumas gotas do composto em suas mãos. Como as luvas de látex são permeáveis a esse composto potencialmente tóxico do mercúrio, fato desconhecido na época, a pesquisadora foi contaminada. Meses depois, ela entrou em coma e morreu por intoxicação aguda por dimetilmercúrio [21].

O modo mais comum de exposição ocupacional ao mercúrio é a inalação de vapores de mercúrio metálico. Além dos gases nobres, o metal é o único elemento cujo vapor é monoatômico à temperatura ambiente. Sua pressão de vapor a  $25^{\circ}\text{C}$  é de  $2 \times 10^{-3}$  mmHg, considerada suficientemente alta para produzir concentrações perigosas na atmosfera. Se não forem limpos corretamente, derramamentos de até mesmo pequenas quantidades de mercúrio, como a quebra de termômetros, pode acarretar na contaminação do ar acima dos limites recomendados e levar a consequências graves à saúde [22].

No Brasil, inúmeros casos de contaminação de mercúrio podem ser citados, principalmente em garimpos da região norte e, em especial, na jazida conhecida mundialmente como Serra Pelada, no Pará. Na década de 1980, o local ganhou o título de maior garimpo a céu aberto do mundo. Na corrida do ouro, o minério era garimpado e purificado no próprio local. Os garimpeiros, dotados de um tipo de cadinho para derreter o minério, e maçarico, misturavam o mercúrio ao minério para formar a amálgama. No processo, podem ocorrer três tipos de intoxicação por mercúrio: por inalação, via cutânea devido ao manuseio sem equipamento de proteção e via contaminação ambiental, pois o mercúrio é volatilizado e restos são descartados no meio ambiente, com potencial para causar sérios danos ambientais e à saúde. Em Serra Pelada, por todos esses fatores, garimpeiros sofreram graves complicações de saúde chegando, em certos casos, à óbito [23]. Além dos problemas de saúde, principalmente nas regiões Norte e Centro-Oeste e em fronteiras com os países Bolívia e Colômbia, a exploração do ouro é um fator desencadeador de outros que causam diversos impactos sociais, ambientais, econômicos e culturais à sociedade, como aglomerações urbanas não planejadas, tráfico de drogas, violência, desmatamento e queimadas [24].

Para controlar o cenário brasileiro de uso indiscriminado do mercúrio, criaram-se algumas legislações. Dentre elas as mais importantes são:

- O Decreto nº. 97.507 (13/02/89), que trata do licenciamento da atividade garimpeira e veda o uso de mercúrio em atividades não licenciadas [8];
- O Decreto nº. 97.634 (10/04/89), o qual regulamenta o controle sobre a comercialização de mercúrio e dá competência ao IBAMA para o cadastramento de importadores, produtores e comerciantes [25];
- A Portaria Normativa nº. 435/89 (09/08/89), que trata do registro de equipamentos de controle de mercúrio metálico em garimpos. Incluem-se no registro obrigatório os equipamentos de recuperação de mercúrio metálico em operações de queima do amálgama, que devem atender a uma eficiência de 96% de recuperação do mercúrio [26];
- A Portaria nº. 32 (15/05/95), a qual detalha o Decreto nº. 97.634/89, instituindo o cadastramento de pessoas físicas e jurídicas que importem, produzam e comercializem a substância mercúrio metálico [27].

O grande problema é que essas legislações existem apenas no papel. A maior parte do uso do mercúrio é ilegal e não se encontra regulamentado, como ocorre nos garimpos de Antônio Pereira.

#### **2.4. O acúmulo do mercúrio no meio-ambiente**

Embora o mercúrio seja encontrado em pelo menos 25 minerais, a única forma economicamente explorada é o cinábrio (HgS, sulfeto de mercúrio (II)), que ocorre em depósitos em áreas com atividade vulcânica recente, em veios e fraturas minerais, e próximo a fontes de águas termais. Considerado, então, bastante raro, mas com extração e purificação simples. Importantes depósitos deste mineral se localizam na Espanha, Quirguistão, Algélia, China, Estados Unidos e México. No Brasil, o mercúrio comercializado provém tanto de importação da extração primária quanto, ainda em menor escala, do reuso do metal já utilizado em extrações [23].

Apesar de sua ocorrência natural, a concentração do mercúrio no meioambiente tem sido alterada de forma drástica por atividades



antropogênicas. Vários estudos de determinação de mercúrio em amostras ambientais de áreas impactadas têm sido realizados. Niu e colaboradores avaliaram a bioacumulação de mercúrio atmosférico em amostras de folhas de vegetais e solo e o possível emprego destes no biomonitoramento. Foi verificado que existe uma correlação linear entre a concentração de mercúrio atmosférico e as folhas coletadas na área contaminada [28]. Um estudo da correlação da concentração de mercúrio em plantas com a concentração de mercúrio em solos foi realizado por Qian e colaboradores. Concentrações maiores de mercúrio foram encontradas nas partes aéreas das plantas do que nas raízes, o que pode indicar que a principal fonte de contaminação por mercúrio das plantas é o mercúrio atmosférico [29]. O teor de mercúrio atmosférico foi avaliado na vizinhança de uma fábrica produtora de cloreto, hidrogênio e hidróxido de sódio por Gibicar e colaboradores. Foi verificado que em um raio de 3 km encontrou-se uma concentração de 2 ng/m<sup>3</sup> e em áreas bem próximas à fábrica foram encontradas concentrações máximas de 8,7 ng/m<sup>3</sup> no verão e 4,2 ng/m<sup>3</sup> no inverno [30].

## **2.5. Determinação de metais**

A concentração de mercúrio pode ser precisamente determinada no ar, água, solo e amostras biológicas (sangue, urina, tecido, cabelo, leite materno e ar) por uma variedade de métodos analíticos. A maioria destes métodos fazem a análise do mercúrio total e são normalmente baseados em oxidação por via úmida seguido de uma etapa de redução. Há também os métodos que realizam a especiação do mercúrio, quantificando compostos orgânicos e inorgânicos do metal separadamente. Alguns métodos analíticos exigem também a pré-digestão da amostra antes da redução a mercúrio elementar. Essa etapa de preparação requer cuidados para evitar a perda do mercúrio por volatilização [31].

Tal como acontece com as amostras biológicas, um grande número de métodos analíticos pode ser utilizado para determinar os níveis de mercúrio no ar, água, solos, sedimentos, produtos farmacêuticos, peixes e outros alimentos. Em amostras complexas, geralmente é necessária a decomposição do composto de mercúrio e redução do mercúrio à sua forma elementar.

Os métodos de Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio (CVAAS) e Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Vapor Frio (CVAFS) demonstraram-se sensíveis (de baixos limites de detecção) e precisos e para o monitoramento de mercúrio no ar sob a forma de vapores e partículas suspensas [32]. Após a digestão das amostras por forno micro-ondas, o CVAFS com análise por injeção em fluxo, devido à sua sensibilidade e alta exatidão e precisão está ganhando popularidade em análises de mercúrio [33, 34].

Para a especiação das formas de mercúrio, a combinação de AFS, AAS, e Cromatografia Gasosa (GC) tem demonstrado eficácia há algum tempo [35]. Em meios aquosos, a detecção e quantificação de mercúrio podem ser realizadas por métodos analíticos variados. A Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICPAES), Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-MS), a CVAAS, a CVAFS, a cromatografia gasosa, a cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) com detecção ultravioleta e a HPLC com detecção por captura de elétrons são técnicas que já foram empregadas para quantificar mercúrio na água potável, água de superfície, água subterrânea, água da neve, do mar e águas de efluentes residuais, com bons resultados nas análises [32].

Para a detecção de mercúrio em solos e sedimentos no local da coleta, pode-se usar um aparelho portátil de fluorescência de raio-x, exclusivo para análises em campo. O aparelho foi usado para monitorar amostras de solo com baixos níveis de contaminação, em torno de miligramas de mercúrio por quilograma de amostra [36]. Para alimentos, o CVAAS, com a sua elevada sensibilidade e consistente fiabilidade, é um dos métodos mais comuns utilizados para quantificar mercúrio em peixes, mariscos, outros alimentos, e até mesmo em produtos farmacêuticos. Outros métodos utilizados com sucesso incluem AAS sem chama para quantificar o mercúrio em peixe e vinho [32].

Uma técnica bastante interessante para a análise de HgT (mercúrio total) é a Análise Direta de Mercúrio (DMA), pelo fato de dispensar a etapa de pré-tratamento da amostra, ou seja, a amostra sólida não requer a conversão do mercúrio para o meio aquoso para determinar HgT [37]. Além do mais, os produtos químicos gerados na preparação da amostra, na maioria das vezes são

tóxicos e geram rejeitos que precisam ser tratados. Algumas publicações mostram a simplicidade na utilização da técnica para análises de variadas matrizes. Plantas, solos e sedimentos são matrizes que podem ser analisadas usando a técnica de análise direta de mercúrio [38, 39]. Maggi e colaboradores (2009) desenvolveram um método analítico simples e rápido para determinação de MeHg em sedimentos utilizando como técnica para quantificação de mercúrio o DMA. Segundo os autores, com a abertura parcial adequada das amostras, pode-se utilizar mesmo instrumento para quantificar mercúrio total e metil-mercúrio. Para o metil-mercúrio, o limite de detecção alcançado quando analisou-se 1,5 g de amostra seca foi de 1,5 ng/g [40].

O princípio de funcionamento desta técnica consiste no aquecimento da amostra até uma temperatura superior a 700 °C para posterior concentração do vapor de mercúrio, em fios de ouro (Au), formando um amálgama com mercúrio. Esta amálgama pode formar compostos como  $AuHg_2$ ,  $Au_2Hg$  e/ou  $AuHg$  [41]. A amálgama é aquecida em outra etapa de aquecimento e então o mercúrio é reduzido ao seu vapor monoatômico e detectado por absorção atômica. A amostra tem apenas que estar seca, de modo a garantir que na massa da amostra levada ao equipamento a água não seja incluída, dispensando outras demais etapas de pré-tratamento requeridas por outras técnicas de Absorção Atômica.

Como o mercúrio existe na forma monoatômica à temperatura ambiente, para analisá-lo, não há necessidade de aquecimento da cela. Com isso sua determinação por absorção atômica também pode ser conduzida com a adição de cloreto estânico ( $SnCl_2$ ), que permite a sua redução a  $Hg^0$  e consequente volatilização permite sua determinação pela técnica espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio. A técnica de CVAAS é sensível e confiável, apresentando limites de quantificação ao nível de  $\mu g/L$ . Requer pouca preparação de amostras além da digestão da matriz e a redução do mercúrio para sua forma elementar. É o método mais comum usado na quantificação de mercúrio em sedimentos, solos e em rejeitos [32]. CVAAS é o método usual indicado para análises de água pela Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA) [42, 43] e pela Associação de Químicos Analíticos Oficiais (AOAC) [44]. As amostras de água geralmente não requerem pré-digestão, mas em outras

matrizes, durante esse processo o mercúrio pode ser pré-concentrado antes da análise.

## **2.6. Métodos de extração de metais**

Uma vez que o mercúrio é relativamente volátil, com alta pressão de vapor à temperatura ambiente, cuidados devem ser tomados para evitar a sua perda durante preparação de amostras. Amostras de vegetais, sedimentos, solos e outras amostras complexas necessitam de algum preparo que disponibilize o mercúrio para análise em CVAAS, sem a ocorrência de perdas por volatilização.

Um dos métodos de preparo mais utilizados é a digestão empregando forno micro-ondas, pois possui parâmetros para a digestão da amostra já estabelecidos, e inclusive alguns equipamentos tem o método incluído em seu *software*, facilitando a abertura da amostra pelo operador. A Administração de Fármacos e Alimentos dos Estados Unidos (FDA), por exemplo, sugere a preparação de amostras alimentícias por digestão micro-ondas para extração e análise de As, Cd, Cr, Hg e Pb por ICP-MS [45].

Apesar de muito usado devido à praticidade, o método de digestão por micro-ondas pode apresentar perdas de mercúrio por volatilização. Se tratando de amostras ambientais, que podem conter níveis traço do metal, essas perdas são ainda mais significativas. Portanto, o desenvolvimento de uma metodologia para a extração de mercúrio por banho ultrassônico se mostra uma alternativa viável por ser uma metodologia relativamente rápida, e que pode ser aplicada para diversos tipos de matrizes complexas. Muitos trabalhos fizeram uso deste método de extração em solos, sedimentos e peixes para determinação de mercúrio [46-48]. Em vegetais a técnica também já foi usada na quantificação de outros metais [49]. Os fatores tempo de sonicação, temperatura e concentração dos ácidos utilizados para abertura das amostras podem ter suas taxas variadas, com a finalidade de se encontrar um melhor resultado de extração do metal.

A possibilidade do emprego de um grande número de variáveis no desenvolvimento de novas metodologias faz com que um extenso número de experimentos seja gerado. Por essa razão, otimizações univariadas nem sempre

são alternativas viáveis para a elaboração de novas técnicas de preparo de amostras. Além disso, esse tipo de otimização não expõe as interações entre as variáveis e não permite a análise do grau de relevância de cada uma delas no experimento ao todo.

## **2.7. Otimização multivariada**

Com o intuito de minimizar a quantidade de experimentos e obter condições ótimas de extração de mercúrio para as amostras que foram estudadas, ferramentas quimiométricas foram empregadas baseadas em planejamentos experimentais. O uso destas técnicas permite obter informações importantes e nem sempre simples de serem obtidas de outras maneiras, como por exemplo a mobilidade e disponibilidade de um elemento em matrizes sólidas, como solos, sedimentos, lamas e material particulado, por meio de reconhecimento de padrões em ensaios de extração [50].

Com a possibilidade de se trabalhar com sistemas multivariados, técnicas quimiométricas vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de solucionar os problemas gerados e analisar os dados desse tipo de sistema [51]. Essas ferramentas permitem estabelecer condições experimentais ótimas, e então extrair o máximo de informação da análise de um conjunto de dados experimentais.

## Planejamento Experimental

A evolução das técnicas analíticas levantou também a questão de como tantas variáveis podem influenciar no sistema de medição e alterar a resposta. A melhoria na resposta requerida, as variáveis que devem ser controladas para se obter uma melhor resposta final e as variáveis que influenciam diretamente na resposta do experimento são informações relevantes para o desenvolvimento de um método. O desenvolvimento de um planejamento experimental faz-se relevante por demonstrar as interações entre fatores e como estes influenciam a resposta do sistema [52].

Planejamentos fatoriais completos são métodos estatísticos que tornam possível medir a influência de uma ou mais variáveis na resposta da análise. Esse tipo de planejamento também prevê a interação entre as variáveis, pois permite a combinação de todas elas em todos os níveis estabelecidos obtendo a análise de uma variável sujeita a todas as combinações das demais [53]. A representação de um planejamento fatorial é  $n^k$ , em que  $n$  é o número de níveis e  $k$  é o número de variáveis. O planejamento composto central (CCD, *Central Composite Design*) possibilita a obtenção dos níveis críticos das variáveis significativas. A aplicação sequencial do planejamento fatorial e do planejamento CCD (metodologia de superfície de resposta) permite a modelagem inicial da superfície pelo ajuste de modelos mais simples (fatorial) com posterior deslocamento para os níveis críticos.

A extração de mercúrio em matrizes complexas apresenta vários fatores ou variáveis que podem influenciar na resposta. Através de um planejamento de triagem, são verificadas quais variáveis e suas interações são significativas ou não para um determinado experimento, ou seja, quais são as variáveis críticas que podem influenciar significativamente na resposta [54]. O planejamento fatorial subsequente usando superfície de resposta deve ser feito para estimar os níveis das variáveis e as interações críticas que resultam em um melhor desempenho do processo. Alguns estudos já empregaram essa ferramenta estatística no intuito de extrair outros metais, como cobre, zinco e cádmio de vegetais [55].

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Gerais**

O objetivo deste trabalho é desenvolver novas metodologias para a extração de mercúrio em vegetais e avaliar a presença, distribuição e disponibilidade deste mesmo metal em água, sedimentos e vegetais originários do distrito de Antônio Pereira, Ouro Preto, MG.

#### **3.2. Específicos**

O trabalho possui os seguintes objetivos específicos:

- Selecionar as técnicas e metodologias analíticas adequadas para analisar o mercúrio, no intuito de avaliar parte da biota da área de estudo;
- Desenvolver novas metodologias de extração para análises de mercúrio em vegetais e compará-las com métodos já existentes na literatura;
- Validar a metodologia de extração de mercúrio desenvolvida, empregando materiais certificados e realizando ensaios químicos padrões para a validação de métodos;
- Avaliar o mercúrio na região em água, sedimentos e vegetais e observar se há um aumento em sua incidência, visto que a atividade garimpeira é uma das fontes de renda da população local;
- Verificar a distribuição do mercúrio nos sedimentos coletados no córrego Água Suja, que atravessa o distrito de Antônio Pereira, e em uma pequena parte do rio Gualaxo do Norte;
- Colaborar com o projeto CNPq 448203/2014-6 intitulado “Diagnóstico ambiental do distrito de Antônio Pereira, Ouro Preto, MG - Qualidade do ar e biota - Verificação da presença de mercúrio e sua relação com a incidência da patologia Pênfigo Foliáceo”, fornecendo dados de análises dos metais nas amostras coletadas, contribuindo assim para a descoberta de efeitos agravantes e/ou causadores da patologia pênfigo foliáceo na região.

## **4. Materiais e métodos**

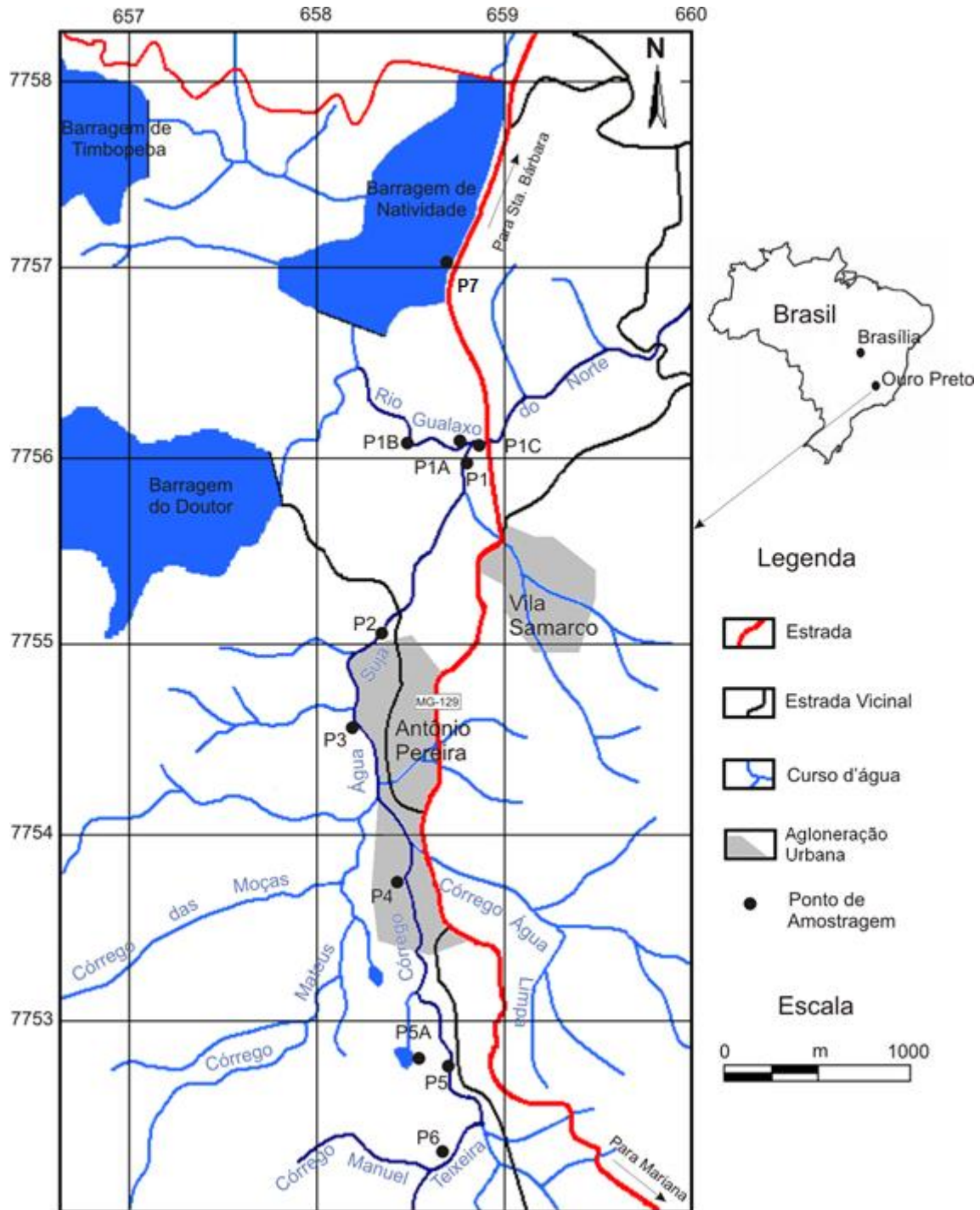
### **4.1. Amostragem e preparação das amostras**

O plano de coleta foi delimitado de maneira a acompanhar a contaminação por metais pesados na água e nos sedimentos do córrego Água Suja e em uma parte do rio Gualaxo do Norte. As coletas foram realizadas em dois períodos, sendo um período de seca, no qual as amostras foram coletadas nos dias 01/09/2015 e 30/09/2015, e o outro de cheia, em que a coleta foi executada dia 20/04/2016.

No curso do córrego Água Suja há pontos de coleta antes do córrego chegar ao distrito de Antônio Pereira, ao longo do distrito e após a passagem neste último. A Figura 1 demonstra o mapa detalhado com as marcações do plano de amostragem. O escoamento da água ocorre no sentido de sul a norte no Córrego Água Suja, e de oeste a leste no rio Gualaxo do Norte. O córrego desagua no rio, onde há três pontos de coleta, um antes, outro próximo ao encontro dos corpos d'água e o terceiro após o desaguamento do córrego. Também foi feita uma coleta na barragem Natividade, localizada ao norte dos demais pontos. A denominação dos pontos, assim como as coordenadas UTM, as amostras coletadas e uma breve descrição dos locais se encontram na Tabela 1. Fotos dos locais de coleta foram organizadas e esquematizadas na Figura 2.



**Figura 1.** Mapa de Antônio Pereira e região com a localização dos pontos de amostragem – gerado com base na folha Mariana SF-23-X-B-I-3 do IBGE [56]. Detalhes retirados de Costa, [3] e Basílio, [57]



Fonte: Prof. Jorge C. de Lena, Departamento de Geologia, UFOP.

**Tabela 1.** Identificação das amostras coletadas e seus locais de amostragem.

Ponto (data)	Coordenadas UTM	Local	Amostras coletadas
<b>1</b> (01/09/15 e 20/04/16)	23K 658681 7755989	Córrego Água Suja	Água Sedimento
<b>1A</b> (01/09/15, 30/09/15 e 20/04/16)	23K 658659 7756112	Rio Gualaxo do Norte	Água <sup>1</sup> Sedimento
<b>1B</b> (30/09/15 e 20/04/16)	23K 658481 7756010	Rio Gualaxo do Norte	Água Sedimento <sup>2</sup>
<b>1C</b> (30/09/15 e 20/04/16)	23K 658690 7756015	Rio Gualaxo do Norte	Água Sedimento <sup>2</sup>
<b>2</b> (01/09/15 e 20/04/16)	23K 658385 7755185	Córrego Água Suja	Água Sedimento
<b>3</b> (01/09/15 e 20/04/16)	23K 658223 7754537	Córrego Água Suja	Água Sedimento
<b>4</b> (01/09/15 e 20/04/16)	23K 658460 7753833	Córrego Água Suja	Água Sedimento
<b>5</b> (01/09/15 e 20/04/16)	23K 658758 7752668	Córrego Água Suja	Água Sedimento
<b>5A</b> (01/09/15 e 20/04/16)	23K 658758 7752668	Lago ao lado do córrego	Água Sedimento
<b>6</b> (01/09/15 e 20/04/16)	23K 658795 7752441	Córrego Água Suja	Água Sedimento
<b>7</b> (01/09/15 e 20/04/16)	23K 658663 7756918	Barragem Natividade	Água

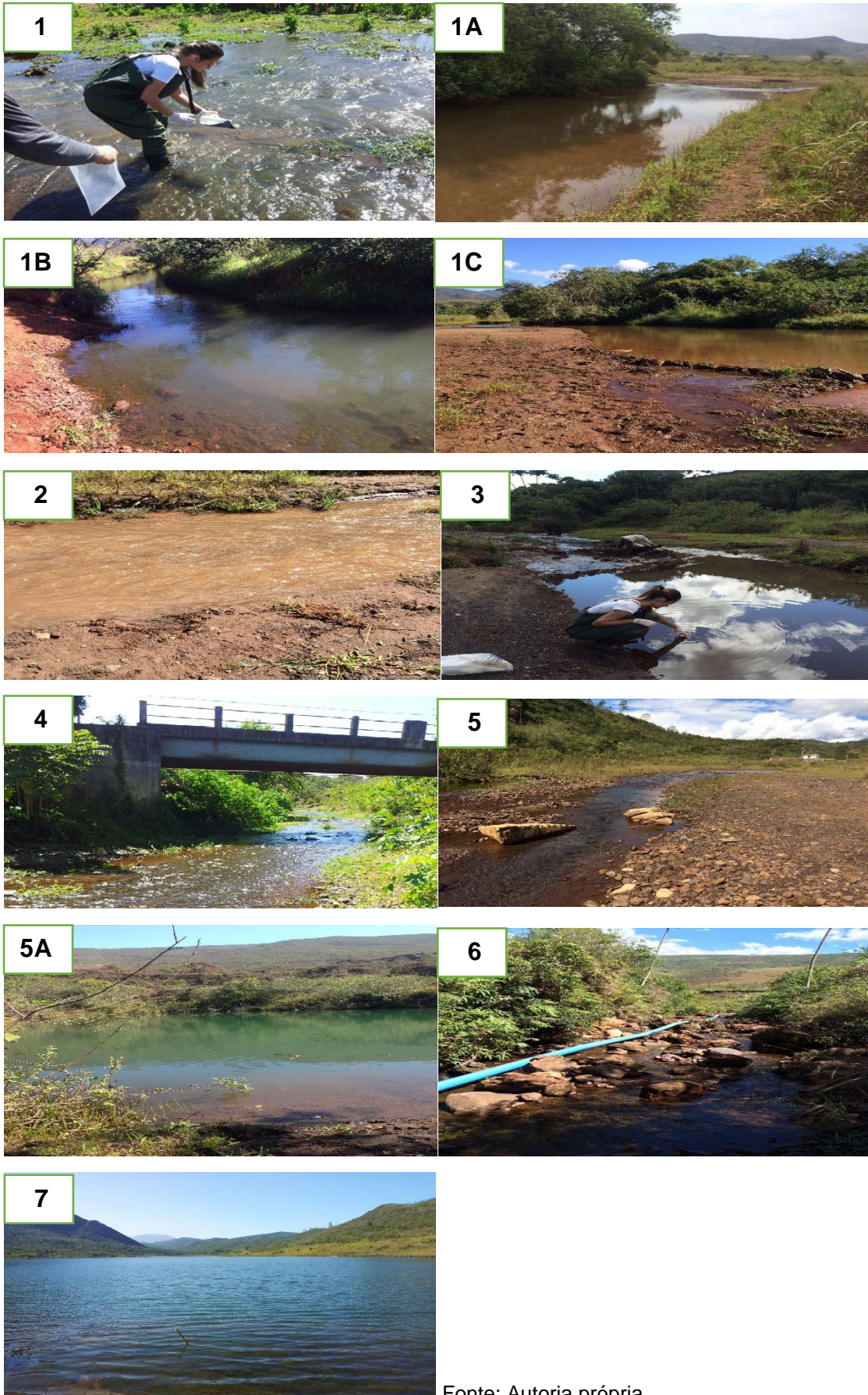
<sup>1</sup>: No ponto 1A foram coletadas duas amostras de água no período da seca, já para o sedimento houve coleta apenas no dia 01/09/2015.

<sup>2</sup>: Como os pontos 1B e 1C foram inseridos no plano de amostragem apenas na segunda campanha, não houve coleta de amostras de sedimento no período da seca para estes pontos.

Fonte: Autoria própria.



**Figura 2.** Pontos de amostragem com suas respectivas denominações.



Fonte: Autoria própria.

Foram feitas duas campanhas para a primeira coleta, realizada no período de seca, nos dias 01/09/2015 e 30/09/2015, sendo que, neste último, amostras de sedimentos não foram coletadas e só foram coletadas amostras de água dos pontos 1A, 1B e 1C do mapa da Figura 1 por ter sido uma campanha complementar à primeira, sendo que pontos 1B e 1C foram inseridos apenas na segunda campanha. Posteriormente, foi feita outra campanha para coleta correspondente ao período chuvoso, no dia 20/04/2016. Ademais, nas campanhas foram coletadas algumas amostras de vegetais presentes na região e consumidos pela população local. Na primeira campanha foram coletadas folhas de couve (*Brassica oleracea*) e alface (*Lactuca sativa*) cultivadas por moradores de três casas do distrito, duas casas próximas ao ponto de coleta 2 e outra próxima ao ponto de coleta 4. Na segunda campanha, apenas couve foi coletada, de uma das casas nas imediações do ponto de coleta 2, para garantir uma quantidade adequada de material para os testes efetuados em laboratório. Para a terceira campanha, houve coleta de couve e também de cebolinha (*Allium schoenoprasum*), na mesma casa da campanha anterior.

#### **4.1.1. Água**

Amostras de água dos pontos descritos na Tabela 1 foram coletadas durante os períodos de seca e de cheia para comparação das análises. A amostragem de água demanda procedimentos adequados uma vez que a maioria dos elementos estão presentes em águas naturais em baixos níveis. Os procedimentos adotados foram baseados pelos recomendados nos Métodos Padrões para análise de água e águas residuais [58, 59].

Usou-se, para armazenamento das amostras, frascos de politereftalato de etileno (PET) de 500 mL. Os frascos foram limpos em banho de Extran (Merck) 5%, em banho ácido 10% ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>, Synth), água destilada e deionizada, e abertos apenas no local de amostragem, a fim de evitar a contaminação das amostras. No local, também foi feito o ambiente nos frascos, enchendo-os três vezes com a água correspondente a cada ponto e esvaziando-os no sentido do curso d'água de modo a não comprometer a integridade das amostras. Posteriormente, as amostras foram filtradas em membrana de 0,45

µm (Sartorius Stedim Biotech GmbH) usando um sistema de filtração a vácuo portátil autoclavável Nalgene com bomba Mityvac Silverline MV8510.

Para a conservação das amostras, adicionou-se 1 mL de ácido nítrico com baixo teor de mercúrio (Fmaia Gold) em cada frasco, e até a chegada no laboratório os frascos foram armazenados em isopor com gelo. Em laboratório, as amostras foram mantidas sob refrigeração (4°C) até as análises.

Os parâmetros: potencial hidrogeniônico (pH), temperatura (T°C), condutividade elétrica (CE), potencial de oxidação e redução (Eh) e sólidos totais dissolvidos (TDS) foram medidos *in situ* com um equipamento multiparâmetro portátil Myron L modelo 6P.

#### **4.1.2. Sedimento**

As amostras de sedimento foram coletadas com uma pá de plástico e armazenadas em sacos de polietileno (PE). A água em excesso foi retirada cuidadosamente com o auxílio de seringas de plástico para evitar a perda de finos. Depois de secas ao ar, por um período de aproximadamente 40 dias, as amostras foram empilhadas quarteadas três vezes a fim de reduzir a quantidade de amostra para o manuseio e garantir a homogeneidade das alíquotas a serem analisadas.

A caracterização granulométrica das amostras foi realizada através de peneiramento a seco com um peneirador automático Bertel, por 30 minutos. Utilizou-se uma série Tyler de peneiras de -0,053 a +1,70 mm (10 a 270 mesh), obtendo-se quantidades fracionadas em diferentes granulometrias (> 1,70mm, 1,70 – 0,50 mm, 0,50 – 0,250 mm, 0,250 – 0,150 mm, 0,150 – 0,053 mm e < 0,053 mm). As frações foram pesadas individualmente em balança analítica modelo AUY 220 da Shimadzu e a porcentagem correspondente a cada uma delas foi calculada como estimativa da distribuição granulométrica das amostras.

### **4.1.3. Vegetais**

Foram coletadas, inicialmente, amostras de couve de três casas do distrito, sendo que a terceira casa também forneceu folhas de alface para o estudo. Na terceira campanha, correspondente ao período de chuva, foram coletadas mais amostras de couve e outras de cebolinha. A pequena produção e o plantio em épocas sazonais distintas impediram um acompanhamento da contaminação de todas as espécies nos dois períodos coletados. Em todos os casos, os vegetais eram usados para consumo próprio, retirados em hortas familiares. Para comparação dos resultados, foram analisadas também amostras de couve, alface e cebolinha, todas as espécies de vegetais coletados em Antônio Pereira, de outro lugar que não possui atividade mineradora. Essa porção valeu-se de grupo-controle, originada de uma fazenda de vegetais orgânicos, na Região Metropolitana de Belo Horizonte. As especificações de cada amostra empregada no trabalho encontram-se discriminadas na Tabela 2.

**Tabela 2.** Descrição e nomenclatura dada às amostras de vegetais utilizadas

Nome usado	Espécie	Origem
1 <sub>C</sub>	Couve	Antônio Pereira, casa 1 próxima ao ponto de coleta 2 (1ª campanha)
2 <sub>C</sub>	Couve	Antônio Pereira, casa 2 próxima ao ponto de coleta 2 (1ª campanha)
3 <sub>C</sub>	Couve	Antônio Pereira, casa 2 próxima ao ponto de coleta 2 (2ª campanha)
4 <sub>C</sub>	Couve	Antônio Pereira, casa 2 próxima ao ponto de coleta 2 (3ª campanha)
5 <sub>C</sub>	Couve	Antônio Pereira, casa 3 próxima ao ponto de coleta 4 (1ª campanha)
X <sub>C</sub>	Couve	Fazenda de orgânicos, Região Metropolitana de Belo Horizonte
1 <sub>A</sub>	Alface	Antônio Pereira, casa 3 próxima ao ponto de coleta 4 (1ª campanha)
X <sub>A</sub>	Alface	Fazenda de orgânicos, Região Metropolitana de Belo Horizonte
Y <sub>A</sub>	Alface	Fazenda de orgânicos, Região Metropolitana de Belo Horizonte
1 <sub>CE</sub>	Cebolinha	Antônio Pereira, casa 3 próxima ao ponto de coleta 4 (3ª campanha)
X <sub>CE</sub>	Cebolinha	Fazenda de orgânicos, Região Metropolitana de Belo Horizonte

Depois de coletados em campo, os vegetais foram mantidos em sacos plásticos. Uma vez em laboratório, as amostras de vegetais foram lavadas com água de torneira em abundância para retirada de resquícios de terra, água destilada e água deionizada. As amostras foram colocadas abertas em papel toalha para a retirada do excesso de água. Depois de separadas e rotuladas, foram então moídas em um moinho analítico limpo (IKA A11 Basic). O moinho era limpo com papéis toalha embebidos em etanol e água deionizada. Depois de



seco e pronto para uso, as primeiras alíquotas das amostras moídas eram descartadas. Após o processo, os vegetais foram mantidos em freezer até a liofilização.

A técnica de liofilização (do inglês *freeze drying*) é usual para análise de metais voláteis, como é o caso do mercúrio, em amostras biológicas. Essa técnica realiza a remoção integral da água a baixas temperaturas e, com a desidratação, proporciona a concentração dos metais traços nas amostras.

O processo de liofilização foi feito em um liofilizador Virtis Benchtop K, com duração de aproximadamente 16 horas para a garantia da eliminação da água para a obtenção do peso seco da amostra. Em seguida, as amostras secas foram armazenadas em dessecador para análises e outros procedimentos futuros.

## **4.2. Determinação de metais**

Com o intuito de identificar metais presentes na região, técnicas analíticas adequadas foram selecionadas para determinação de mercúrio e outros elementos. Em água analisaram-se os teores totais de mercúrio, arsênio, ferro e manganês. Nas amostras de sedimento, foram determinadas as espécies de ferro presentes, bem como o teor de ferro e mercúrio total. Nos vegetais, apenas mercúrio total foi determinado. Todas as soluções foram preparadas com água deionizada por deionizador modelo ORBC 30A, marca BFilters.

### **4.2.1. Água**

Para a análise de ferro e manganês nas amostras de água foi usado um Espectrômetro de Absorção Atômica por Chama (FAAS) SpectrAA 50B da Varian. As condições operacionais são apresentadas na Tabela 3, em que  $\lambda$  é o comprimento de onda específico e LD é o limite de detecção do equipamento para o metal apresentado. Foram utilizadas nas análises as lâmpadas de cátodo de ferro (Narva) e manganês (XplorAA). Para a preparação da curva de calibração usaram-se padrões 1000 mg/L da SpecSol. Além disso, foram



preparados outros padrões para serem recuperados durante a análise, para garantir confiabilidade.

**Tabela 3.** Condições operacionais do FAAS para análise de Fe e Mn em água.

Metal	Corrente (mA)	Tipo de chama	Fenda (nm)	$\lambda$ (nm)	LD (mg/L)
Fe	5	Ar/Acetileno	0,2	248,3	0,06
Mn	5	Ar/Acetileno	0,2	279,5	0,02

Fonte: Manual do FAAS, [60].

As análises de arsênio total foram realizadas em FAAS acoplado a um sistema de geração de hidretos (HG) Buck Scientific modelo 420. A mistura de ácidos utilizada no sistema do HG é composta por soluções de ácido clorídrico (HCl, Synth) 10% v/v e ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Synth) 3% v/v. A solução de borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub> ≥ 99%, Fluka Analytical) é preparada no dia da análise e é constituída por 1,5% m/v de NaBH<sub>4</sub> e 0,5% m/v de hidróxido de sódio (NaOH, Synth) [61]. Amostras ambientais são tratadas com 1% v/v de solução de 5% m/v iodeto de potássio (KI, Synth) e 5% v/v de HCl, para garantir que todo o arsênio presente esteja na forma de As<sup>3+</sup>. Os padrões utilizados na curva de calibração e outros padrões para recuperação foram preparados utilizando padrão de arsênio 1000 mg/L da SpecSol e também foram tratados com soluções de iodeto de potássio e ácido clorídrico.

Utilizaram-se as seguintes condições de análise no FAAS acoplado ao gerador: lâmpada de cátodo oco de arsênio (Shuguangming) com corrente de 7 mA, largura da fenda 0,5 mm e  $\lambda$  de 193,7 nm [60]. A mistura gasosa utilizada foi de ar/acetileno. O tempo de análise para cada amostra é de aproximadamente um minuto. O limite de detecção obtido foi de 2,00 µg/L e o limite de quantificação 7,00 µg/L.

Para a análise de mercúrio total em água, foi utilizado um Espectrômetro de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio (CVAAS) com Sistema de Injeção em Fluxo (FIMS) modelo 400, Perkin Elmer. Tal técnica requer que o mercúrio total presente na amostra esteja em sua forma inorgânica Hg<sup>2+</sup>, em solução aquosa ácida [1]. Todo mercúrio inorgânico (Hg<sup>2+</sup>) é reduzido a mercúrio metálico (Hg<sup>0</sup>) no momento da análise através da solução de cloreto estano

( $\text{SnCl}_2$ ). O mercúrio elementar é liberado da solução pela passagem de um fluxo de argônio, transportado a uma célula de quartzo inserida na trajetória de um feixe de radiação de comprimento de onda característico do elemento ( $\lambda = 253,7$  nm). Essa radiação é emitida por uma lâmpada de cátodo oco de mercúrio e é absorvida pelo mercúrio elementar presente. Um detector determina a quantidade de luz absorvida, proporcional à concentração do elemento na solução da amostra.

Para a curva de calibração das análises, fez-se uso de padrão de mercúrio 1000 mg/L da SpecSol. Tanto os padrões quanto as amostras foram tratados com 1 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado, aproximadamente 0,2 mL de solução 5% m/v de permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ) da Synth, que tem como papel oxidar o mercúrio presente na amostra para a forma de  $\text{Hg}^{2+}$ , e 0,5 mL de solução 20% m/v de cloridrato de hidroxilamina ( $\text{H}_3\text{NO.HCl}$ ) da Fluka, que elimina o excesso de  $\text{KMnO}_4$ . A solução carreadora é preparada com ácido nítrico e ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Synth) 2:1 v/v em 3% do volume total da solução. Para preparo da solução redutora utiliza-se 1,1% m/v de cloreto estanoso ultrapuro da Merck e 3% v/v de HCl P.A.

#### **4.2.2. Sedimentos**

Para analisar o mercúrio total nos sedimentos utilizou-se o Analisador Direto de Mercúrio, (DMA) modelo 80 Milestone. O DMA-80 é um equipamento de termodecomposição e detecção por espectrometria de absorção atômica, específico para determinação de mercúrio. Foram analisadas as amostras das seguintes faixas granulométricas: 0,50 – 0,250 mm; 0,250 – 0,150 mm; 0,150 – 0,053 mm e < 0,053 mm, além de uma amostra global retirada dos sedimentos quarteados e homogeneizados, antes de passarem pelo peneiramento, com o objetivo de avaliar a influência da granulometria na retenção do mercúrio. As amostras foram pesadas em pequenos recipientes, coloquialmente chamados de “barquinhos”, de quartzo e inseridas diretamente no forno catalisador. As massas foram de aproximadamente 50 mg e todas as amostras e suas respectivas frações foram analisadas em triplicata. Os valores calculados de

limite de quantificação e detecção foram respectivamente de 1,07 µg/kg e 0,97 µg/kg para a análise.

O método usado no DMA apresenta etapas de aquecimento programadas do seguinte modo: nos 30 segundos iniciais, ocorre um aumento da temperatura ambiente até 200 °C, dando início à secagem e decomposição térmica da amostra. Durante 60 segundos a temperatura permanece em 200 °C para que a volatilização do mercúrio seja completada sob catálise. O metal é todo volatilizado e vai para um sistema de amalgamação (amalgamador), onde ocorre um aquecimento que chega até 750 °C em 60 segundos. A temperatura é mantida por mais 180 segundos e finalmente ocorre a detecção por absorção atômica do mercúrio a um comprimento de onda de 253,7 nm. Durante o aquecimento da amostra um fluxo de oxigênio de 165 mL/min auxilia na decomposição térmica da amostra.

Para determinar ferro total nos sedimentos por FAAS, as amostras foram digeridas em um Micro-ondas da marca CEM modelo MARS 6, seguindo o procedimento de digestão para amostras de sedimento recomendado pela USEPA através do método 3051 A [62]. Por não digerir silicatos, o teor de ferro determinado é considerado como o teor de ferro total do sedimento, sem levar em consideração possíveis silicatos deste metal que possam compor a amostra. Seguindo o método, foram pesados ( $0,5000 \pm 0,0001$ ) g das amostras, colocados em tubos de Teflon® (politetrafluoretileno) chamados tubos *Xpress*, compatíveis com o equipamento usado, e adicionados ( $9,0 \pm 0,1$ ) mL de HNO<sub>3</sub> e ( $3,0 \pm 0,1$ ) mL de HCl concentrado. O procedimento tem aproximadamente 20 minutos de duração, levando de ( $5,50 \pm 0,25$ ) minutos para aquecer a ( $175 \pm 5$ ) °C, mantém ( $4,50 \pm 0,25$ ) minutos nesta temperatura e mais ( $10 \pm 1$ ) minutos de resfriamento. Depois de finalizada a digestão, as amostras foram centrifugadas (centrífuga Nyitott Fedellel Centrifugalni Tilos) e filtradas em papel de filtro quantitativo faixa branca (Unifil).

No intuito de determinar o teor de ferro nas soluções, utilizou-se o FAAS. A curva de calibração para a quantificação do ferro foi preparada após diluição adequada de solução de referência 1000 mg/L da SpecSol. Para a caracterização dos sedimentos, a técnica de Difração de Raio-X (DRX) foi

aplicada em algumas amostras selecionadas. Usou-se um difratômetro da marca Panalytical modelo Empyrean.

#### **4.2.3. Vegetais**

Nos procedimentos de extração de mercúrio em amostras de matrizes diversas, deve-se ter cuidado para não ocorrer perdas por volatilização do analito durante as etapas de preparo e extração [63]. Portanto, o DMA foi escolhido para determinar o mercúrio nos vegetais *in natura* coletados. As condições do método utilizado foram as mesmas aplicadas às amostras de sedimentos e os resultados foram confirmados utilizando a técnica de CVAAS.

#### **4.3. Desenvolvimento de método de extração de mercúrio em vegetais utilizando banho ultrassônico**

Como objetivo do trabalho, foi proposto o desenvolvimento de nova metodologia para extração de mercúrio em vegetais. Para tal finalidade, técnicas quimiométricas foram empregadas, para gerar um número de experimentos viável e condições otimizadas de extração. Os vegetais testados foram couve, alface e cebolinha. Além disso, o método proposto foi comparado a métodos que são amplamente usados no intuito da extração em questão.

##### **4.3.1. Análise multivariada para a determinação das condições ótimas de extração do mercúrio em vegetais**

Um planejamento experimental foi utilizado na obtenção de uma nova metodologia de extração de mercúrio em vegetais. Para tal, foi realizado o *spike* das amostras com quantidades específicas de mercúrio. O *spike* consistiu em adicionar uma quantidade conhecida de mercúrio nas folhas de couve, e essa quantidade foi posteriormente extraída em banho ultrassônico com soluções de ácido nítrico de acordo com os experimentos propostos pelo planejamento. Foi adicionado um volume de solução de referência de mercúrio de modo a atingir uma concentração 1,2 µg/kg de mercúrio nas amostras *in natura*. As amostras

carregadas passaram novamente pelo processo de liofilização e armazenadas até o procedimento de extração. Para a análise do resultado da recuperação, foi utilizado o CVAAS com FIMS. As amostras utilizadas durante todo o procedimento foram as intituladas como 1c.

Para otimizar a extração, foi desenvolvido um planejamento composto central  $2^3$  (2 níveis, 3 variáveis), usando o *software* Statistica. As variáveis estudadas foram: porcentagem de ácido nítrico v/v (%), temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) e tempo de sonicação (minutos), e seus níveis são apresentados na Tabela 4. Antes de testar esse planejamento, foi experimentado um outro, também CCD, mas  $2^4$ , pois além dessas variáveis foi utilizada a porcentagem de ácido clorídrico v/v (%) como quarta variável. Os resultados não satisfatórios levaram ao desenvolvimento do CCD  $2^3$ .

A massa de cada amostra foi de  $(0,0500 \pm 0,0001)$  g, retirada das amostras *in natura* carregadas, e 50,00 mL de solução ácida (na concentração exigida pelo planejamento) foram submetidas aos experimentos gerados pelo planejamento, que estão apresentados na Tabela 5. Respeitando a curva utilizada na análise no espectrômetro de absorção atômica com geração de vapor frio, com padrões de 0,50  $\mu\text{g/L}$  a 5,00  $\mu\text{g/L}$ , foi obtida uma concentração total de 1,2  $\mu\text{g/L}$  de mercúrio a ser extraída com a massa das amostras com *spike* e o volume de solução utilizados. A extração foi feita em ultrassom modelo E 30H Elmasonic (potência 240 Watts e frequência 60 Hz).

**Tabela 4.** Variáveis e níveis do CCD  $2^3$  utilizado

Variável	Nível mais baixo (-1)	Nível mais alto (+1)
% $\text{HNO}_3$ concentrado	10	30
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	25	45
Tempo de sonicação (minutos)	10	25

O planejamento realizado gerou um gráfico de pareto e uma superfície de resposta. Os valores críticos foram extraídos e usados para testar o resultado do planejamento até mesmo em outros tipos de vegetais.

**Tabela 5.** Condições operacionais para o planejamento multivariado de extração de mercúrio

Teste	% HNO <sub>3</sub>	Temperatura (°C)	Tempo (min)
1	10	25	10
2	10	25	25
3	10	45	10
4	10	45	25
5	30	25	10
6	30	25	25
7	30	45	10
8	30	45	25
9C*	20	35	18
10	3	35	18
11	37	35	18
12	20	18	18
13	20	52	18
14	20	35	5
15	20	35	30
16C*	20	35	18

\*Pontos centrais gerados.

Fonte: *Software* Statistica.

#### 4.3.2. Comparação com métodos de extração existentes

Para comparação de métodos de extração, (0,0500 ± 0,0001) g de amostras *in natura* previamente carregadas com 1,20; 2,00; 3,00 µg/L e 4,00 µg/L de mercúrio foram colocadas em tubos Teflon® *Xpress*, juntamente com 10,00 mL HNO<sub>3</sub> concentrado e foram digeridas em micro-ondas. O método usado foi o *Plant Material*, do próprio software do equipamento. Esse método é o mesmo indicado pela Administração de Fármacos e Alimentos dos Estados Unidos (FDA) para extração e análise de metais pesados em vegetais [45], e estabelece um tempo de rampa de aquecimento de 25 minutos até atingir a temperatura de 200°C, mantém a essa temperatura durante 15 minutos e

posteriormente entra em processo de resfriamento. A amostra foi filtrada em papel de filtro quantitativo faixa branca e a leitura foi realizada em CVAAS.

#### **4.3.3. Estudo de validação do método de extração.**

Para validar o método desenvolvido, alguns parâmetros foram estudados. Primeiramente, curvas de calibração foram preparadas com soluções padrão de mercúrio de 1000 mg/L de alta pureza e água deionizada com condutividade de 0,8  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Os parâmetros analisados foram linearidade, limites de detecção e quantificação, repetibilidade e reprodutibilidade e avaliação da exatidão do método. Para os ensaios de validação do método, foram seguidas: a Norma do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), que descreve orientações para ensaios de validação de métodos de ensaios químicos, 2007; O Manual de garantia da qualidade analítica para resíduos e contaminantes em alimentos, MAPA, 2011 e o Regulamento da União Europeia (UE) N° 836/2011 da comissão de 19 de Agosto de 2011, que estabelece métodos de amostragem e de análise para o controle oficial dos teores de chumbo, cádmio, mercúrio, estanho na forma inorgânica, 3-MCPD e benzo(a)pireno nos gêneros alimentícios [64-67].

A fim de avaliar a linearidade do método, quatro curvas foram preparadas, com cinco pontos: 0,00; 0,50; 1,00; 2,00 e 5,00  $\mu\text{g}/\text{L}$  de mercúrio. O coeficiente de regressão linear ( $R^2$ ) de cada curva foi obtido e comparado aos demais.

Os limites de detecção e quantificação foram calculados usando a média de 21 brancos das amostras, de acordo com as Equações 1 e 2, em que S é o desvio padrão.

$$\text{LD} = \bar{X} + 3S \quad (\text{Equação 1})$$

$$\text{LQ} = \bar{X} + 10S \quad (\text{Equação 2})$$

A repetibilidade foi expressa como desvio padrão relativo (DPR), dado em porcentagem, e a reprodutibilidade foi analisada utilizando os mesmos procedimentos descritos anteriormente, realizados por diferentes operadores.

Para garantir confiabilidade nas análises, foi usado na leitura um material de referência, código CA 713, de água de efluentes, certificado pela *European Reference Materials* (ERM), que apresenta valor certificado para mercúrio de  $(1,84 \pm 0,11) \mu\text{g/L}$ .

O ponto de extração máxima, obtido através do planejamento composto central 2<sup>3</sup>, também foi testado em materiais com concentração conhecida de mercúrio para constatar a exatidão do método. Os materiais certificados utilizados foram: folhas de maçã, produzidas pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST) SRM 1515, com concentração de mercúrio de  $(0,044 \pm 0,004) \mu\text{g/g}$  e *Montana Soil*, NIST SRM 2710a, com  $(9,88 \pm 0,21) \mu\text{g/g}$  de mercúrio.



## 5. Resultados e Discussões

### 5.1. Água

Para analisar as amostras de água, foram respeitados os parâmetros de controle de qualidade para esse tipo de análise conforme o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* [59] e as conclusões dos resultados foram tomadas de acordo com normas e legislações vigentes.

#### 5.1.1. Análises de mercúrio

Na Tabela 6 estão descritos os resultados das análises de mercúrio em água por CVAAS, dados em concentração (conc.), bem como o desvio padrão (DP) de cada análise, calculado pela porcentagem representativa do desvio padrão pela média calculada.

**Tabela 6.** Resultados das análises de mercúrio em água nas três campanhas realizadas

Ponto de coleta	1ª campanha		2ª campanha		3ª campanha	
	01/09/2015 – Período de seca		30/09/2015 – Período de seca		20/04/2016 - Período chuvoso	
	Conc. (µg/L)	DP (µg/L)	Conc. (µg/L)	DP (µg/L)	Conc. (µg/L)	DP (µg/L)
1	< LD	-	-	-	< LD	-
1A	0,192	0,006	0,023	0,008	0,011	0,004
1B	-	-	0,017	0,000	< LD	-
1C	-	-	0,011	0,008	< LD	-
2	< LD	-	-	-	< LD	-
3	0,012	0,000	-	-	< LD	-
4	< LD	-	-	-	< LD	-
5	< LD	-	-	-	< LD	-
5A	< LD	-	-	-	< LD	-
6	< LD	-	-	-	< LD	-
7	< LD	-	-	-	< LD	-

<LD: Menor que o limite de detecção.

Fonte: Autoria própria.

É conhecido que a migração do mercúrio elementar e dos íons de  $Hg^{2+}$  dos efluentes para materiais particulados ocorre quase instantaneamente, o que causa a precipitação e adsorção do metal nos sedimentos. Essa incorporação do mercúrio faz com que a disponibilidade do elemento em água seja fortemente diminuída. Portanto, o principal fator de controle de solubilidade, do tempo de residência e inclusive do potencial tóxico do mercúrio em águas e efluentes é a interação desse com o material particulado presente no ambiente [1, 68].

De acordo com a Portaria nº. 2914/2011 do Ministério da Saúde (MS) [69], a concentração de mercúrio em água potável que representa risco à saúde é de  $1 \mu g/L$  e o valor máximo permitido em águas de Classe 1 é de  $0,2 \mu g/L$ , de acordo com a Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº. 1/2008 [70]. Embora o rio Gualaxo no Norte, onde é realizada a coleta do ponto 1A, não possa ser classificado como Classe 1, ocorre no rio a recreação de contato primário e a pesca de espécies de peixes destinadas à alimentação humana, uma vez que foi observado a atividade de pesca por moradores do distrito de Antônio Pereira no local, que relataram o consumo dos pescados retirados de tal ponto, e ainda garimpeiros entrando no rio sem qualquer proteção.

Como demonstrado na Tabela 6, o valor encontrado de mercúrio no local de coleta denominado 1A se encontra próximo ao limite da COPAM nº. 1/2008. No dia de tal coleta, a água estava bastante turva, e foi relatado que a barragem do Doutor, situada acima do ponto 1A, tinha sido aberta, liberando rejeitos de mineração para o rio Gualaxo do Norte. Com a justificativa do teor alto de mercúrio encontrado nesse ponto, díspar dos demais, resolveu-se então realizar outra campanha, na mesma época, realizada 29 dias depois, para tentar observar o comportamento da água no local. Para melhor análise, foram incorporados mais 2 pontos, 1B e 1C, nas coletas.

Conforme observado, os valores da concentração de mercúrio em todos os pontos na segunda e terceira coleta foram baixos, até mesmo no ponto 1A. As observações fazem surgir a hipótese que a liberação do rejeito da mina faz o sedimento revirar e liberar mercúrio em água. De acordo com as análises realizadas, o metal, devido a sua alta densidade, não permanece em água por muito tempo. Isso foi comprovado com o resultado do teor de mercúrio encontrado vinte e nove dias depois, na segunda campanha na mesma época de seca. O que pôde-se esperar com a determinação de mercúrio em água foi

que nos sedimentos naquele ponto e em pontos de coleta próximos apareceriam concentrações consideráveis deste metal. A hipótese de o mercúrio detectado ter sido proveniente dos rejeitos de mineração oriundos da barragem foi descartada porque no processo da empresa de exploração do minério de ferro não utiliza este reagente.

As análises foram confirmadas com a leitura de uma amostra de água de efluentes certificada, CA 713, com valor de mercúrio de  $(1,84 \pm 0,11)$  µg/L.

### **5.1.2. Determinação de arsênio, manganês e ferro**

Determinações de outros metais foram feitas para monitorar a qualidade das águas do distrito. Os resultados das concentrações de arsênio, manganês e ferro para os dois períodos sazonais, o primeiro pertencente à época de seca, e o segundo à época de cheia, são expressos na Tabela 7 e na Tabela 8, respectivamente. Os limites de detecção para arsênio, ferro e manganês são 2,0 µg/L, 0,02 mg/L e 0,06 mg/L respectivamente. Todos os metais foram analisados utilizando FAAS, sendo que para o arsênio, usou-se FAAS acoplado a um sistema de geração de hidretos.

**Tabela 7.** Análise de As, Mn e Fe nas amostras de água coletadas nas duas primeiras campanhas (época de seca)

Ponto de coleta	As		Mn		Fe	
	Conc. (µg/L)	DP (µg/L)	Conc. (mg/L)	DP (mg/L)	Conc. (mg/L)	DP (mg/L)
1	< LD	-	0,842	0,002	0,260	0,001
1A (1ª)	< LD	-	3,605	0,004	2,430	0,005
1A (2ª)*	< LD	-	0,045	0,001	0,020	0,001
1B*	< LD	-	0,058	0,001	0,100	0,001
1C*	3,0	0,1	0,161	0,001	0,070	0,001
2	< LD	-	0,902	0,002	0,210	0,001
3	2,0	0,1	1,491	0,003	0,510	0,001
4	< LD	-	0,032	0,001	0,100	0,001
5	< LD	-	0,020	0,001	0,100	0,001
5A	< LD	-	0,128	0,001	0,200	0,002
6	< LD	-	0,020	0,001	0,070	0,007
7	< LD	-	0,041	0,001	0,080	0,001

\*Os pontos 1A 2ª, 1B e 1C foram coletados na segunda coleta mas pertencem ao mesmo período sazonal que os demais.

Fonte: Autoria própria.

**Tabela 8.** Análise de As, Mn e Fe nas amostras de água coletadas na terceira campanha (época chuvosa)

Ponto de coleta	As		Mn		Fe	
	Conc. (µg/L)	DP (µg/L)	Conc. (mg/L)	DP (mg/L)	Conc. (mg/L)	DP (mg/L)
1	< LD	-	0,258	0,001	0,151	0,004
1A	< LD	-	0,042	0,001	0,101	0,007
1B	< LD	-	0,044	0,001	0,126	0,001
1C	< LD	-	0,158	0,001	0,160	0,009
2	< LD	-	0,533	0,004	0,280	0,012
3	< LD	-	0,335	0,002	0,131	0,008
4	< LD	-	0,095	0,001	0,094	0,003
5	2	0,1	0,064	0,001	0,103	0,001
5A	< LD	-	0,480	0,001	0,106	0,003
6	< LD	-	0,035	0,001	0,124	0,001
7	< LD	-	0,073	0,001	0,157	0,004

Fonte: Autoria própria.

Comparando-se os dois períodos, uma diminuição na concentração dos elementos é geralmente observada na época chuvosa, o que já era esperado pelo aumento da vazão da água.

Em relação ao arsênio, tem-se baixas concentrações, sendo limite estabelecido pela COPAM nº. 1/2008 para águas doces classe 1 de 0,01mg/L, o mesmo delimitado pela Portaria nº. 2914/2011 da MS. Dados encontrados na literatura relatam a presença de arsênio em águas próximas à atividade de mineração em grande escala de estanho e ouro [71, 72]. A exploração destes elementos citados é incomum na região do estudo, que privilegia a atividade mineradora de ferro e manganês.

De acordo com os limites da Portaria nº 2914/2011 [69] e COPAM nº. 01/2008 [70], observa-se que a concentração de manganês encontra-se acima do limite estabelecido, de 0,1 mg/L. Os pontos 2 e 3 aparecem em destaque, por terem elevadas concentrações e serem localizados em pontos dentro do distrito, sendo o primeiro situado ao final de Antônio Pereira. Ambos recebem diretamente o esgoto oriundo da comunidade urbana. O ponto 1A também

chama atenção na primeira coleta, quando ocorreu a abertura da barragem situada acima do ponto. O mesmo ocorreu com a concentração de ferro, no mesmo ponto e período. É discrepante a diferença de concentrações em tal ponto nessa coleta com os demais, até mesmo se comparados o mesmo ponto em coletas posteriores. O limite para ferro para ambas legislações de água citadas é de 0,3 mg/L, e apenas o ponto 1A na primeira amostragem superou o limite. É nítido a contaminação por metais causada por essa abertura da barragem, uma vez que nas demais coletas a concentração diminuiu drasticamente.

### 5.1.3. Parâmetros físico-químicos da água

Na Tabela 9 estão descritos os resultados de condutividade elétrica (CE), sólidos totais dissolvidos (TDS), potencial hidrogeniônico (pH), potencial redox (Eh) e temperatura (T°C) das amostras coletadas na época de seca. Na Tabela 10 relatam-se os mesmos parâmetros, para a campanha realizada na época chuvosa.

**Tabela 9.** Parâmetros medidos das amostras de água coletadas nas duas primeiras amostragens (época de seca)

Pontos	CE ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	TDS (mg/L)	pH	Eh (mV)	T (°C)
1	118,0	49,87	6,90	198	23,9
1A	145,5	88,40	7,07	206	24,2
2	85,9	51,78	7,01	202	27,5
3	88,2	54,39	6,90	115	28,9
4	79,6	48,00	7,38	180	28,7
5	13,2	7,80	7,23	170	29,3
5A	55,7	33,36	6,70	202	28,7
6	6,6	3,95	6,79	191	26,6
7	115,0	59,30	8,01	195	27,7

Fonte: Autoria própria.

**Tabela 10.** Parâmetros medidos das amostras de água coletadas na terceira amostragem (época de chuva)

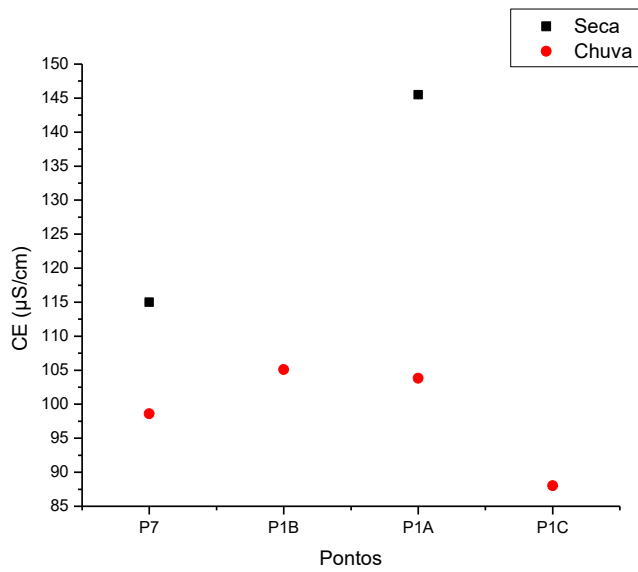
Pontos	CE ( $\mu\text{S/cm}$ )	TDS (mg/L)	pH	Eh (mV)	T ( $^{\circ}\text{C}$ )
1	77,16	46,71	7,38	155	27,8
1A	103,80	62,80	7,87	160	26,4
1B	105,10	63,67	6,69	271	25,0
1C	88,03	53,06	7,64	161	28,8
2	71,95	43,44	7,25	147	28,2
3	74,54	44,91	7,15	134	28,4
4	72,82	43,32	7,64	166	27,4
5	10,70	3,68	6,88	180	27,9
5A	47,42	28,59	7,03	194	28,2
6	6,22	3,68	6,88	180	26,4
7	98,61	59,38	7,74	194	28,9

Fonte: Autoria própria.

Nota-se que, para os parâmetros CE, TDS e Eh, os valores mais baixos nesta última campanha em relação à campanha anterior e isto se deve à chuva, que diluiu o material em suspensão com o aumento da vazão da água. Para os parâmetros pH e temperatura, a variação não foi uniforme. A temperatura é influenciável pelo horário da coleta e pelo período sazonal, tornando a análise aprofundada dos dados pouco relevante no trabalho. O pH apresenta pouca flutuação de valores no decorrer do curso d'água, indicando um comportamento estável e de difícil análise.

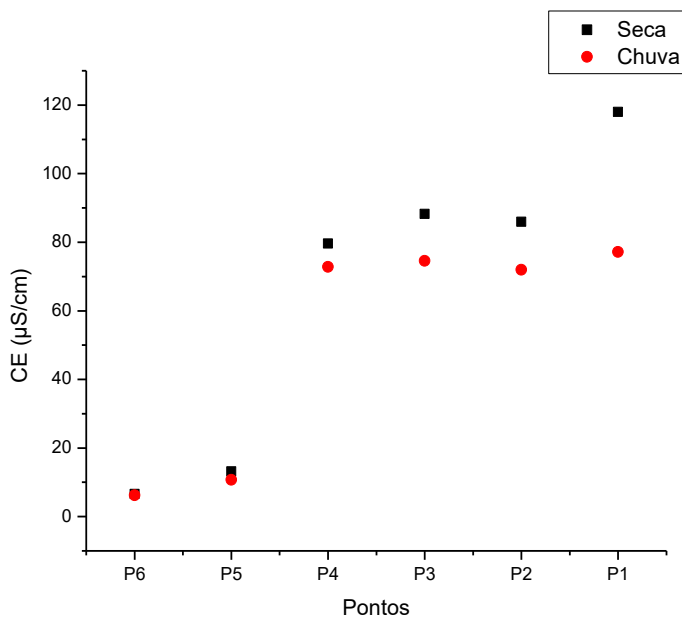
Os parâmetros CE e TDS apresentam o mesmo comportamento pois a quantidade de sólidos totais dissolvidos é modelada em função da condutividade do medidor. Por isso, são grandezas diretamente proporcionais e, ao analisar CE, as mesmas considerações são válidas para os valores encontrados para TDS. Para os valores de Eh e de CE foram plotados gráficos seguindo a direção do fluxo do rio Gualaxo do Norte e do córrego Água Suja, respeitando essa sequência, para melhor análise dos valores obtidos. Os gráficos para CE são apresentados na Figura 3 e na Figura 4.

**Figura 3.** Gráfico condutividade elétrica *versus* pontos de coleta, de acordo com o curso do rio Gualaxo do Norte, nos períodos de seca e chuva



Fonte: Autoria própria.

**Figura 4.** Gráfico condutividade elétrica *versus* pontos de coleta, de acordo com o curso do córrego Água Suja, nos períodos de seca e chuva



Fonte: Autoria própria.

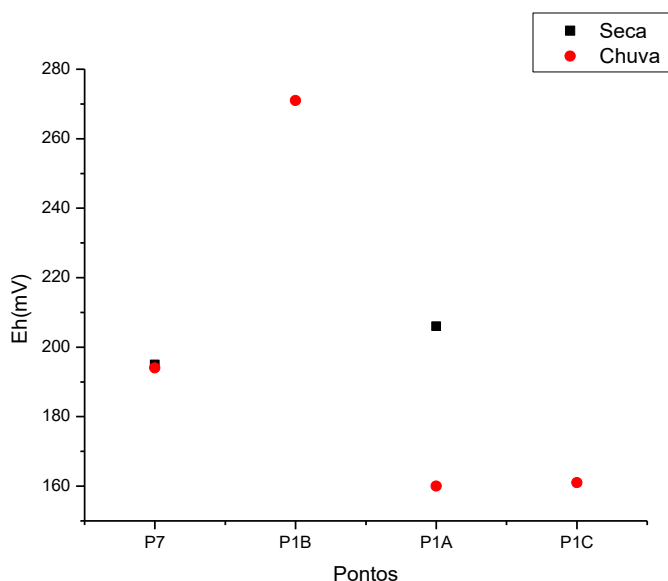


A condutividade elétrica representa a capacidade da água de conduzir corrente elétrica devido a materiais dissolvidos e coloidais, podendo ser voláteis ou não, com carga orgânica ou sem carga orgânica [73, 74]. Analisando o rio Gualaxo do Norte, o ponto 1A apresenta desregrado valor de CE, novamente pela razão de se encontrar rejeitos da barragem que estavam sendo liberados na data, aumentando os materiais dissolvidos na água do local, causando assim elevação do valor de CE e de TDS.

No córrego Água Suja, conforme observado no mapa o qual determina a região de amostragem, representado na Figura 1, quando o córrego entra no distrito, nota-se a diferença na quantidade de sólidos dissolvidos. Os pontos 6 e 5 são antes de áreas povoadas, com valores baixos, e então já no ponto 4, dentro de Antônio Pereira, observa-se a elevação de valor de CE. O comportamento se mantém até o ponto 2, mas no ponto 1 o valor de CE é ainda maior na seca. O fato deve-se justificar pela diminuição do fluxo d'água nesse ponto, bastante estreito se comparado aos demais, causando um acúmulo do material advindo do distrito e aumento da condutividade da água.

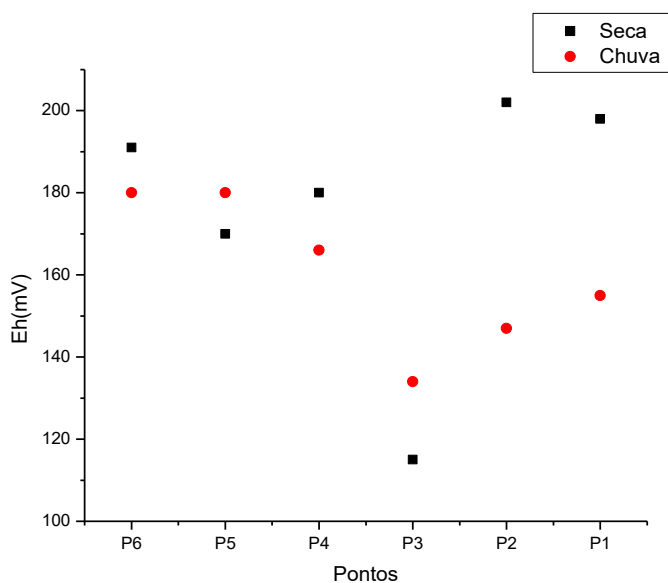
Os gráficos para Eh são apresentados na Figura 5, seguindo o fluxo do Gualaxo do Norte, e na Figura 6, seguindo o córrego Água Suja.

**Figura 5.** Gráfico potencial de oxidação e redução *versus* pontos de coleta, de acordo com o curso do rio Gualaxo do Norte, nos períodos de seca e chuva



Fonte: Autoria própria.

**Figura 6.** Gráfico potencial de oxidação e redução *versus* pontos de coleta, de acordo com o curso do córrego Água Suja, nos períodos de seca e chuva



Fonte: Autoria própria.

O potencial de oxidação e redução é calculado com a função logaritmo da atividade de elétrons na água, equivalente a  $Eh = -\log[a_e]$ , o que indica a capacidade desses elétrons, associados às espécies solvente e soluto, têm de interagir com o meio [75]. Conclui-se que para altos valores de Eh, os elétrons das substâncias presentes não se encontram muito disponíveis em água, sendo o meio oxidante. Com essa análise, infere-se que a matéria orgânica proveniente de esgotos faz com que o potencial redox diminua, o que é notavelmente visto no ponto 3 do córrego Água Suja, na Figura 6, ponto este em que se tem uma liberação da rede de esgoto próxima, inferindo que é um ponto de maior matéria orgânica e maior número de bactérias. No decorrer do fluxo, o valor de Eh é reestabelecido, mudando o sistema para um meio novamente mais oxidante, assim como no início do curso d'água, no ponto 6. A profundidade não deve ser um fator relevante, uma vez que os pontos foram coletados em profundidades basicamente iguais.

Para o rio Gualaxo do Norte, observa-se um meio oxidante no ponto 1B, que é mais livre de contaminação que os demais desse curso d'água, e um meio redutor para os pontos 1A e 1B pela proximidade do encontro com o córrego Água Suja.

## 5.2. Sedimentos

### 5.2.1. Análise Granulométrica

As amostras foram devidamente separadas, de acordo com a série Tyler de peneiras disponíveis nos laboratórios do Departamento de Química da UFOP. Foram então pesadas com o intuito de calcular as porcentagens granulométricas dos sedimentos, demonstradas na Tabela 11.

**Tabela 11.** Porcentagens granulométricas dos sedimentos classificadas em faixas

Faixa granulométrica	Porcentagem granulométrica (%)							
	Pontos 1ª campanha							
	1	1A	2	3	4	5	5A	6
>1,70 mm	0,620	46,3	2,90	10,1	29,1	43,0	17,8	62,4
1,70-0,50 mm	9,35	27,4	6,32	5,36	6,53	31,7	12,9	22,1
0,50-0,250 mm	43,7	8,15	21,3	5,24	15,0	17,8	25,5	8,51
0,250-0,150 mm	34,5	3,74	48,1	17,3	34,2	5,25	29,8	4,12
0,150-0,053 mm	11,1	8,03	20,1	53,6	12,4	1,52	13,5	2,25
<0,053mm	0,780	6,36	1,32	8,34	2,75	0,670	0,400	0,680

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a classificação estabelecida pela Resolução CONAMA nº. 344, de 25 de março de 2004, [76], todas as amostras são constituídas majoritariamente de frações de areia. Para os pontos 1, 2, 3, 4 e 5A, as frações correspondentes à maior porcentagem granulométrica pertencem a classe das areias finas. Já os pontos 1A, 5 e 6 correspondem a areia muito grossa e cascalho, podendo visivelmente identificar grãos grossos e densos do material como porcentagem majoritária. Ainda, em todas as amostras foi possível extrair

pequenas quantidades de silte, podendo ter um pouco de argila incorporada nessa fração, que não foi possível separá-la pela série de peneiras disponível. Logo fração <0,053mm pode ser denominada de silte + argila, uma vez que a Resolução CONAMA nº. 344/2004 [76] estabelece como silte as amostras de sedimento na faixa de 62 µm a 3,94 µm, e argila na faixa de 3,94 µm a 0,2 µm.

### **5.2.2. Determinação de mercúrio**

Depois do procedimento de coleta, preparo, secagem e separação granulométrica, sempre tomando as precauções para não haver perdas de mercúrio nas amostras, todas as frações granulométricas de cada ponto foram analisadas no DMA, a fim de quantificar o mercúrio total em cada fração. Os resultados se encontram na Tabela 12, correspondentes ao período de seca, e na Tabela 13 correspondentes ao período chuvoso. Os desvios se encontram em Apêndice.

A amostra global é equivalente à fração da amostra antes do peneiramento, ou seja, uma parte de cada ponto sem faixa granulométrica definida. As frações mais grossas (>0,50 mm) não foram analisadas por não apresentarem boa homogeneidade de resultados. Os pontos 1B e 1C só foram analisados no período chuvoso, não sendo assim possível comparação nos dois períodos para o par de pontos, uma vez que foram inseridos no plano de amostragem posteriormente.

**Tabela 12.** Resultados das análises de mercúrio em DMA dos sedimentos da primeira coleta

Fração Granulo-métrica	Concentração de mercúrio ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )							
	Pontos 1ª coleta – Período de seca							
	1	1A	2	3	4	5	5A	6
0,50-0,250 mm	584	545	906	1404	226	142	159	224
0,250-0,150 mm	366	656	506	959	241	198	88	236
0,150-0,053 mm	380	495	480	751	406	424	112	496
<0,053m	1349	539	2866	1821	1077	884	373	1490
Amostra Global	1132	523	2361	1442	1031	902	316	1423

Fonte: Autoria própria.

**Tabela 13.** Resultados das análises de mercúrio em DMA dos sedimentos da segunda coleta

Fração Granulo-métrica	Concentração de mercúrio ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )									
	Pontos 2ª coleta- Período chuvoso									
	1	1A	1B	1C	2	3	4	5	5A	6
0,50-0,250 mm	912	2289	1224	1058	819	2635	312	220	161	143
0,250-0,150 mm	608	1763	937	575	425	1544	320	166	120	113
0,150-0,053 mm	759	1542	765	584	556	1423	377	192	96	260
<0,053mm	3955	2269	1232	1769	1439	1852	1194	771	188	781
Amostra Global	821	1665	831	776	819	1660	320	199	94	150

Fonte: Autoria própria

De posse dos resultados, de acordo com o período de seca, o ponto 2 apontou ser o mais alarmante, que aparece com concentrações de mercúrio maiores que 2000 ppb na fração global. Para a fração mais fina, a concentração aumenta ainda mais, o que já era esperado, devido ao fato de frações mais finas acumular maiores quantidades de metais, por interações sólido-líquido envolvendo espécies metálicas [77]. A concentração na fração silto-argilosa é próxima a 2900 ppb. Na época chuvosa, os pontos que apresentaram maiores teores de mercúrio, encontrados também na fração mais fina foram os pontos 1 e 1A, sendo que o ponto 2 teve a concentração de mercúrio diminuída, mas ainda assim alta. No ponto 1, na época citada, encontrou-se uma concentração de mercúrio próxima a 4 ppm, a maior concentração encontrada de mercúrio no presente estudo.

Os pontos 3 e 4 também apresentaram altos teores de mercúrio, bem como o ponto 1, sendo que os primeiros passam no interior do distrito e os pontos 1 e 2 recebem esgoto urbano. A matéria orgânica presente nos sedimentos não foi analisada, mas com os valores obtidos na quantificação do teor de mercúrio e um estudo minucioso da região é sabido que os pontos recebem uma maior sobrecarga de matéria orgânica que os demais. Logo, pode-se inferir que os pontos mais poluídos com efluentes oriundos do esgoto do distrito são os que apresentam maior contaminação. Estudos realizados em solos correlacionam maior retenção de mercúrio de acordo com o aumento na quantidade de matéria orgânica, dependente do tipo de solo. Essa retenção ocorre na interface solo-ar através da oxidação do metal [78, 79]. Além disso, os pontos citados sofrem grande influência do garimpo artesanal, podendo causar a deposição atmosférica de mercúrio nos sedimentos. A deposição atmosférica de mercúrio também já foi estudada em solos, e em alguns casos foi constatado que o mercúrio atmosférico tem maior influência na deposição do que o mercúrio litogênico. [80, 81].

O ponto 6, por estar afastado do distrito e sendo o primeiro ponto de amostragem, mais ao sul, no início do curso do córrego, demonstrou uma concentração do metal além do esperado na época de seca. O fato levou a possíveis hipóteses que naquele ponto, apesar de parecer um local mais afastado, poderia estar havendo deposição de mercúrio por fontes antropogênicas, ou seja, até nas redondezas desse ponto poderia estar ocorrendo emissão de mercúrio por garimpo. A concentração diminuiu consideravelmente na época de cheia, bem como nos pontos 5 e 5A, que são os três pontos mais limpos e livres de esgoto urbano, localizados antes da passagem do distrito. Essa diminuição no teor mercurial na cheia não foi observada em pontos da jusante do distrito, fato que confirma a predominância do garimpo e maior deposição atmosférica do garimpo nos pontos da jusante, com maior contaminação antropogênica de rejeito urbano. Além disso, o aumento dessa concentração ao norte, mesmo na cheia, ressalta que a atividade garimpeira continua em expansão.

Valores próximos a 500 ppb podem ser considerados como *background* da região, com ressalvas, pois estudos aprofundados sobre essa quantidade a

ser considerada não foram realizados. Trabalhos realizados anteriormente encontraram valores na região acima do que era para ser esperado um valor de *background* [1-3]. Outro estudo recente do grupo de pesquisa encontrou, a dez km aproximadamente do ponto 1A, no rio Gualaxo do Norte, um valor de 1200 ppb de mercúrio no sedimento. Apesar de também altos, os outros trabalhos encontrados que exploraram a mesma região não chegaram a encontrar valores acima de 2000 ppb, como foi encontrado para o ponto 1A no período chuvoso, o que implica que a concentração de mercúrio vem aumentando na região com o passar dos anos.

Um estudo recente, realizado por Leao e colaboradores (2016), quantificou mercúrio em sedimentos originários de várias regiões de três países, China, Brasil e Estados Unidos, sendo que em território brasileiro foram estudados pontos nos estados do Rio de Janeiro e em São Paulo. Os teores encontrados variam de 12,8 a 38,5 ppb de mercúrio, o que demonstra o quanto a região do Quadrilátero Ferrífero, em Minas Gerais, apresenta altas concentrações de mercúrio frente a demais regiões, até mesmo em esfera mundial [82].

### **5.2.3. Determinação de ferro**

Para tentar correlacionar a quantidade de mercúrio com as espécies de minerais presentes nos sedimentos, foram realizadas análises de ferro por absorção atômica. Para as amostras 2, 4 e 6 foram feitas análises de difração de raio-x. Todas as análises de ferro, bem como a difração de raio-x, foram realizadas na fração silto-argilosa, a fração mais fina (<0,053mm).

Estas três amostras foram escolhidas por apresentarem pontos em que a concentração de mercúrio se mostrou mais elevada na primeira coleta e por estarem em continuação no sentido do fluxo da água do córrego Água Suja. Na Tabela 14 se encontram as porcentagens de ferro encontradas para cada amostra, nos dois períodos observados. As porcentagens correspondentes a cada constituinte e os difratogramas da difração de raio-x dos sedimentos coletados nos pontos 2, 4, e 6 foram plotados em gráficos indicados nas Figuras 7, 8 e 9.

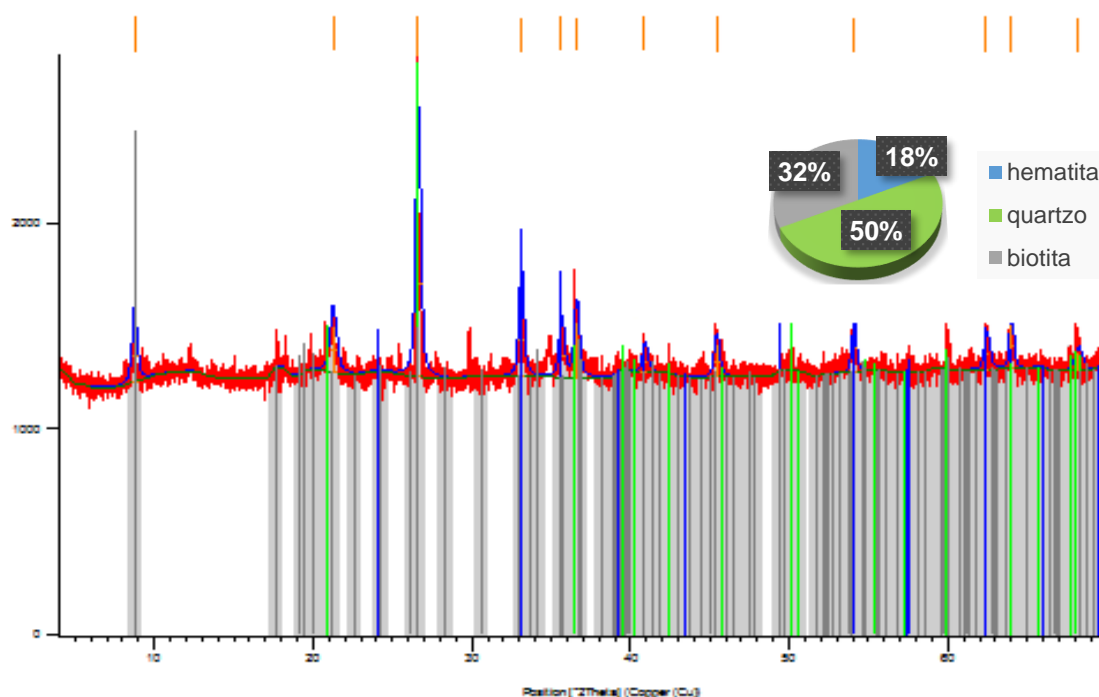


**Tabela 14.** Teores de ferro nas amostras de sedimento nos dois períodos, por AAS

Amostra	%Fe	%Fe
	Período de seca	Período chuvoso
1	10,76	13,98
1A	21,64	10,19
1B*	-	8,820
1C*	-	13,23
2	12,91	5,070
3	17,72	8,370
4	16,51	12,51
5	21,09	16,14
5A	14,23	6,110
6	25,87	13,68

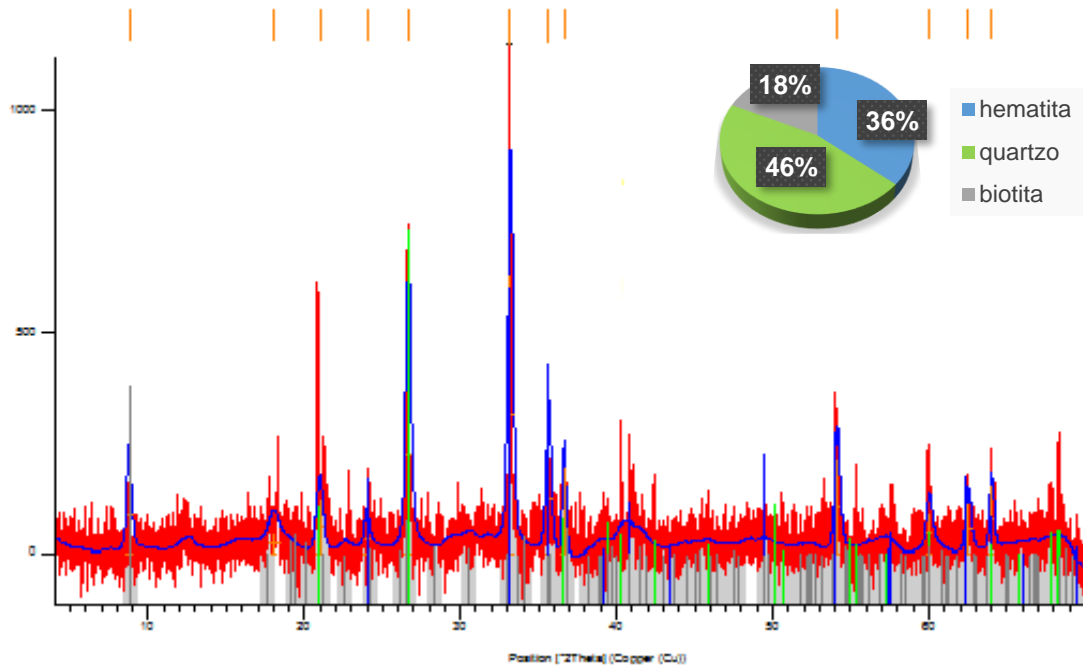
\*Os pontos 1A e 1B foram inseridos no plano de amostragem posteriormente, e como já mencionado, não foram coletadas amostras de sedimento no período de seca nestes pontos.  
Fonte: Autoria própria.

**Figura 7.** Composição das espécies mineralógicas e difratograma, obtidos com a técnica de DRX, para o ponto 2



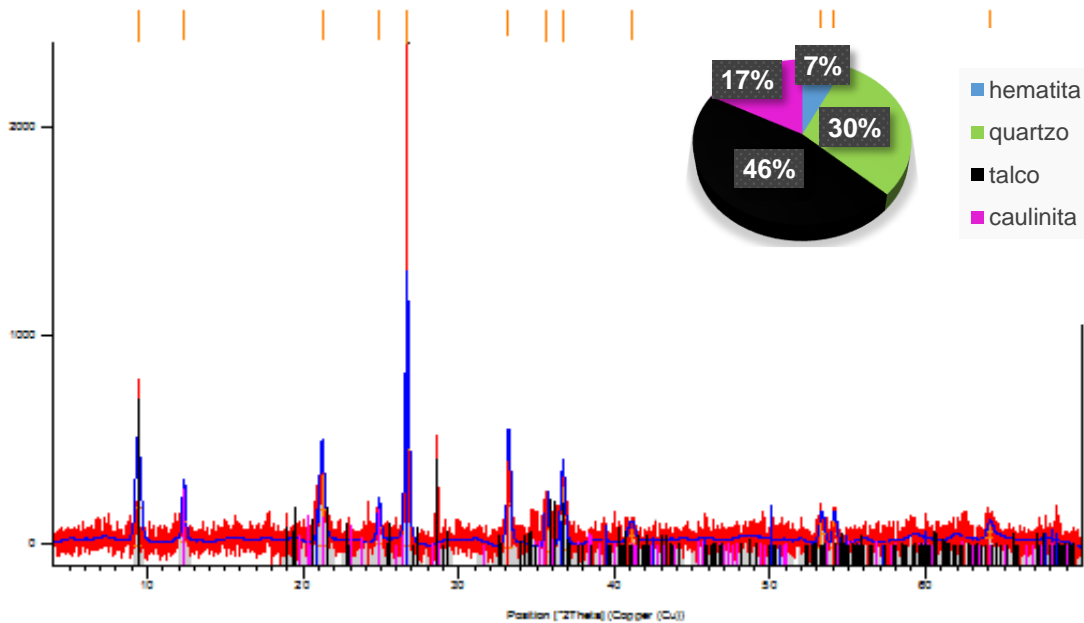
Fonte: Autoria própria.

**Figura 8.** Composição das espécies mineralógicas e difratograma, obtidos com a técnica de DRX, para o ponto 4



Fonte: Autoria própria.

**Figura 9.** Composição das espécies mineralógicas e difratograma, obtidos com a técnica de DRX, para o ponto 6



Fonte: Autoria própria.

Com base nas porcentagens apresentadas de ferro, nota-se o valor alto de ferro no sedimento do ponto 1A na primeira coleta, novamente podendo correlacionar com a abertura da barragem no dia da campanha. As análises foram confirmadas através do método titulométrico de determinação de ferro com dicromato de potássio, utilizando cloreto estânico como agente redutor, já que altos valores de ferro levaram a diluições maiores das soluções, acarretando maiores erros. O ponto 6 também apresentou alto teor de ferro total na época de seca, que diminuiu no período chuvoso. Com exceção do ponto 1, o qual teve sua porcentagem de ferro aumentada em aproximadamente 3%, os demais sofreram redução do teor desse metal durante o período chuvoso. Essa redução era prevista, uma vez que o aumento da vazão da água ocasiona a diminuição na concentração metálica, se essa concentração estiver atrelada apenas a esse fator.

Observando os gráficos com os constituintes das três amostras de sedimento analisadas e seus respectivos difratogramas, observa-se a presença de hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) e quartzo ( $\text{SiO}_2$ ) em todas elas, sendo esse último componente majoritário nos pontos 2 e 4, já esperado em função da fração granulométrica. Nestes pontos também há o aparecimento do mineral biotita. No ponto 6 aparecem talco ( $\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ ), como componente de maior porcentagem na amostra, e caulinita ( $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ). A presença da hematita já era de se esperar pois anteriormente foi realizada uma análise por Espectrometria Mössbauer de todas as amostras de sedimento, e em todas elas a hematita foi identificada. Além disso, nos espectros de Mössbauer algumas teriam magnetita ( $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ ) e goethita ( $\text{FeO}(\text{OH})$ ) em baixas porcentagens, o que não foi encontrado pela difração de raio-x. Isso porque esses minerais podem estar na fração mais fina, silto-argilosa, dificultando a detecção.

Ao tentar relacionar todos os estudos realizados com os sedimentos, verifica-se que, na primeira coleta, o alto teor de ferro pode estar correlacionado ao alto teor de mercúrio encontrado na mesma época. Processos de adsorção específica levam a uma maior retenção do mercúrio em solos ricos em ferro, como indicado em estudos realizados por Roulet e Lucotte (1995) e Roulet e colaboradores (1998), e observado em outros tipos de solo [83-86]. A associação forte do mercúrio nos solos avermelhados, que contêm maiores teores de óxidos

de ferro, pode ter sido o fator que ocasionou o maior teor de mercúrio no ponto 6, o qual é o ponto mais limpo e livre de garimpo do ponto de amostragem. Óxidos de ferro são encontrados em abundância na região, podendo ser observado na difração de raio-x e Espectrometria Mössbauer, que indicaram teores de hematita em todas as amostras analisadas. O ponto 4 apresenta maiores teores de ferro que o ponto 2, sendo que esse último contém maiores concentrações de mercúrio total. Essa exceção pode estar associada a outro fator já discutido anteriormente, o teor de matéria orgânica, que também pode causar maior deposição mercurial. Como o ponto de amostragem 2 se localiza em uma parte do córrego Água Suja na qual todos os rejeitos de esgoto oriundos do distrito de Antônio Pereira são despejados, já era esperado uma maior adsorção de mercúrio ocasionada pela matéria orgânica em abundância.

### **5.3. Vegetais**

#### **5.3.1. Determinação de mercúrio**

As concentrações médias de mercúrio total das triplicatas das análises, determinadas por DMA, dos vegetais *in natura*, assim como o desvio padrão (DP) das triplicatas, são apresentados nas Tabela 15 e 16. Houve separação das tabelas porque a primeira é referente à determinação de mercúrio dos vegetais analisados na primeira coleta, e a tabela posterior apresenta os resultados da coleta em época chuvosa, além das concentrações encontradas nos grupos-controle. Faz-se importante ressaltar que as amostras alocadas na mesma tabela foram analisadas no mesmo dia, evitando assim possíveis erros causados pelo uso do equipamento em dias distintos. As amostras foram nomeadas ao final com *c*, *a* e *ce* que correspondem a, respectivamente, couve, alface e cebolinha. X e Y correspondem às amostras pertencentes ao grupo-controle. A concentração é dada no equipamento em µg de mercúrio/kg amostra.

**Tabela 15.** Concentrações de mercúrio e desvio padrão das análises das folhas *in natura* encontrados no período de seca

Amostra	Conc. média (µg/kg)	DP (µg/kg)
1c	21	4
2c	45	3
3c	35	1
5c	25,6	0,3
1a	27	7

Fonte: Autoria própria.

**Tabela 16.** Concentrações de mercúrio e desvio padrão das análises das folhas *in natura* encontrados no período chuvoso, e dos vegetais do grupo-controle

Amostra	Conc. média (µg/kg)	DP (µg/kg)
4c	199	16
Xc	27	2
Ya	25	2
Xa	26	3
1ce	610	2
Xce	33	2

Fonte: Autoria própria.

Observa-se que a quantidade de mercúrio contido nas amostras é baixa no período de seca, pois analisando vegetais do grupo-controle de uma fazenda de vegetais orgânicos, livre de garimpo e atividades antropogênicas que possam vir a causar a deposição mercurial, os valores encontrados se mostraram similares. O fato não foi reproduzido na coleta posterior, no período chuvoso. Para essa segunda época, as concentrações de mercúrio dos vegetais coletados em Antônio Pereira foram demasiadamente superiores se comparadas às encontradas nos vegetais do grupo-controle. Nas couves analisadas, a concentração de mercúrio encontrada foi mais que sete vezes maior e nas amostras de cebolinha, a concentração encontrada nas amostras do distrito foi superior a dezoito vezes se comparadas às amostras livres de contaminação.

A situação se mostra preocupante se for levada em consideração a alta toxicidade do metal. Vários casos são associados a problemas causados pelo mercúrio na alimentação, principalmente presente em peixes, sendo o ocorrido em Minamata, Japão, o mais importante, gerando impactos na sociedade local sentidos até nos dias de hoje [87, 88].

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e a Comissão das Comunidades Europeias (EC) determinam, por meio das Resoluções nº. 42/2013 e nº 1881/2006, respectivamente, o limite máximo de mercúrio apenas em peixes, moluscos e crustáceos. Para peixes predadores o limite é de 1000 µg/kg enquanto que para peixes na condição de não-predadores, moluscos e crustáceos, o limite é de 500 µg/kg [89, 90]. Mesmo não havendo resoluções determinando a quantidade máxima de mercúrio em vegetais, sabe-se que a exposição crônica ao mercúrio, até em pequenas quantidades, pode causar sérios problemas à saúde, além de ser uma ameaça para o desenvolvimento de crianças e fetos.

Ao comparar as concentrações de mercúrio de vegetais de outras regiões, disponíveis em literatura, observa-se que os vegetais do distrito de Antônio Pereira apresentam concentrações superiores do elemento. A exemplo, Mohammadi e colaboradores encontraram valores de  $(5,9 \pm 0,1)$  µg/kg em folhas de alface, cultivadas em solo iraniano [91]. Na região do quadrilátero ferrífero, Palmieri analisou diversas espécies de samambaias, e determinou mercúrio em solos, rizomas, folhas e caules. Foram coletadas amostras de Monsenhor Horta, distrito de Mariana, Ouro Preto e amostras das redondezas do Córrego Água Suja, em Antônio Pereira, a mesma região do presente estudo. Os resultados mostraram que de todas as amostras, as samambaias colhidas em Antônio Pereira foram as que apresentaram maiores concentrações mercuriais nas folhas. Os valores encontrados no distrito foram de 110 µg/kg a 670 µg/kg de mercúrio, enquanto que nas outras regiões os valores ficaram majoritariamente entre 10 µg/kg e 30 µg/kg, sendo 70 µg/kg de mercúrio a concentração mais alta encontrada. Ainda, quando a absorção é proveniente do solo, as concentrações metálicas são maiores em raízes, caules e rizomas do que em folhas. Esse fato não foi observado em Antônio Pereira. As concentrações de mercúrio encontradas nas folhas foram superiores às observadas nas demais partes das

samambaias [1]. Com os resultados similares das pesquisas, infere-se que pode haver uma deposição mercurial atmosférica nas folhas de vegetais e plantas na região, e a atividade garimpeira na busca pelo ouro é o mais provável fator fomentador desta situação.

Em Antônio Pereira os alimentos são consumidos pela população do distrito, geralmente sem sequer passar por cocção. É notável que a contaminação está ocorrendo em épocas de cheia, e são necessárias medidas de mitigação para evitar a contaminação e/ou consumo de vegetais cultivados na região afetada.

### **5.3.2. Desenvolvimento de método de extração de mercúrio em vegetais**

Para quantificar a concentração de mercúrio recuperada na extração, a recuperação do *spike* foi calculada de acordo com a Norma do Inmetro para Validação de Ensaios Químicos [64], seguindo a Equação 3.

$$\text{Recuperação (\%)} = 100 \times \frac{(C1-C2)}{C3} \quad (\text{Equação 3})$$

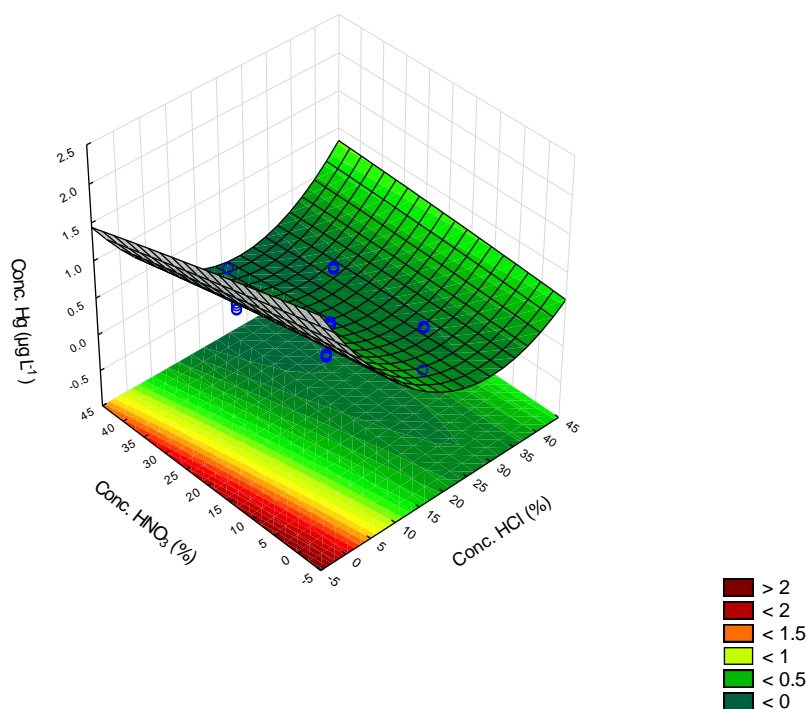
Em que: C1 = concentração determinada na amostra adicionada, C2 = concentração determinada na amostra não adicionada e C3 = concentração adicionada. Para o estudo, C1 é a concentração de mercúrio determinada pelo CVAAS, C2 é a concentração de mercúrio contida na amostra real, 0,044 µg/L, e C3 é 1,2 µg/L, valor do *spike*. A resposta dos planejamentos experimentais foi plotada em função de C1, e através desse valor, a recuperação pôde ser calculada. A recuperação não foi utilizada como resposta quimiométrica porque, em alguns experimentos, não houve recuperação do mercúrio, e uma resposta nula causa impedimento na execução das respostas do planejamento.

Um planejamento experimental preliminar foi executado, um CCD 2<sup>4</sup>, em que as variáveis usadas foram: concentração de ácido clorídrico v/v (%), concentração de ácido nítrico v/v (%), temperatura do banho ultrassônico (°C) e tempo de sonicação (minutos). O planejamento foi uma primeira tentativa para se obter um ponto crítico satisfatório para se valer de uma condição de

máxima extração. A superfície de resposta obtida, gerada pela Equação 4, foi demonstrada na Figura 10.

$$R = 1,7095 - 0,1038 \cdot C_{\text{HCl}} + 0,0018 \cdot (C_{\text{HCl}})^2 - 0,0152 \cdot C_{\text{HNO}_3} - 2,3958 \cdot 10^{-5} \cdot (C_{\text{HNO}_3})^2 + 0,0004 \cdot C_{\text{HCl}} \cdot C_{\text{HNO}_3}. \quad (\text{Equação 4})$$

**Figura 10.** Superfície de resposta gerada pelo planejamento CCD  $2^4$  preliminar realizado na tentativa da obtenção de um método de extração



Ao analisar o resultado, observa-se que majoritariamente os experimentos levaram a uma condição em que o mercúrio não pôde ser detectado, ocasionando uma porcentagem de recuperação nula para a maioria dos pontos. Ainda, os pontos em que as respostas máximas foram obtidas foram os que a concentração de ácido clorídrico adicionada foi nula ou muito inferior à concentração de ácido nítrico, o que pode ser observado claramente na superfície de resposta. Considerando a natureza do mercúrio, o metal tem forte interação com o cloreto, podendo ser formados os complexos:  $\text{HgCl}_2$ ;  $\text{HgCl}^+$ ;  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ;  $[\text{HgCl}_3]^-$  e  $[\text{HgCl}_4]^{2-}$ . Uma explicação plausível é que essa interação ter comprometido o mercúrio iônico do meio, e com isso, a eficiência da extração.



Os resultados não satisfatórios do planejamento preliminar levaram ao desenvolvimento do CCD 2<sup>3</sup>, em que a variável concentração de ácido clorídrico v/v (%) foi excluída, uma vez que não foi uma variável significativa de acordo com o gráfico de pareto desse planejamento inicial, e por gerar resultados de baixa extração de mercúrio quando usado. Os resultados do novo planejamento experimental, indicados pelos ensaios descritos na Tabela 5, foram apresentados na Tabela 17. O gráfico de pareto foi representado na Figura 11 e a superfície de resposta do planejamento, gerada pela Equação 5, foi representada na Figura 12.

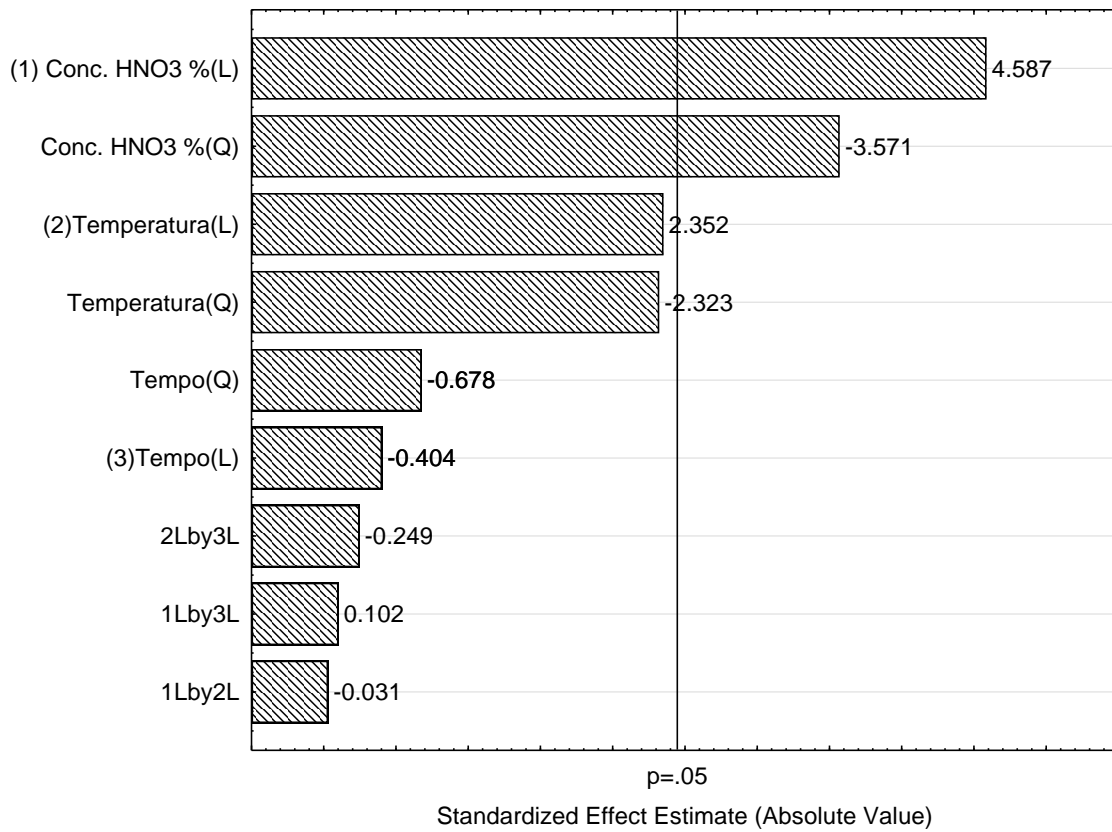
**Tabela 17.** Resultados obtidos das análises dos ensaios realizados pelo planejamento CCD 2<sup>3</sup>

Teste	Concentração Hg (C1) (µg/L)	Recuperação (%)
1	0,039	0,000
2	0,044	0,000
3	0,343	24,917
4	0,069	2,083
5	0,951	75,583
6	0,809	63,750
7	1,058	84,500
8	1,008	80,333
9C*	1,113	89,083
10	0,040	0,000
11	0,803	58,000
12	1,194	13,000
13	1,137	96,083
14	1,086	86,833
15	1,124	90,000
16C*	1,215	97,583

C\* = Pontos centrais gerados.

Fonte: Autoria própria.

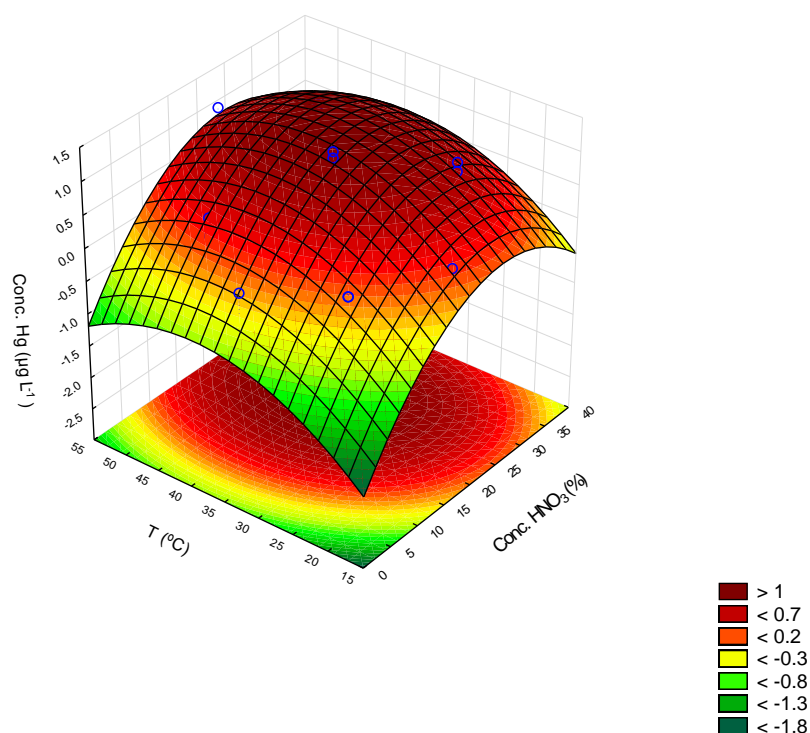
**Figura 11.** Gráfico de pareto do planejamento CCD 2<sup>3</sup>



Fonte: Software Statistica.

$$R = -4,1574 + 0,1587 \cdot C_{\text{HNO}_3} - 0,0031 \cdot (C_{\text{HNO}_3})^2 + 0,1541 \cdot T - 0,0020 \cdot T^2 - 2,8750 \cdot 10^{-5} \cdot C_{\text{HNO}_3} \cdot T. \quad (\text{Equação 5})$$

**Figura 12.** Superfície de resposta gerada pelo planejamento do método de extração para mercúrio em vegetais



Fonte: *Software Statistica*.

Os resultados do planejamento demonstram uma boa modelagem, obtendo-se uma superfície de resposta que gerou um ponto de máxima extração. Observam-se altos valores de recuperação, com valores próximos a 100% de extração. Os valores críticos gerados no planejamento foram: 25% de  $\text{HNO}_3$ , temperatura de  $39^{\circ}\text{C}$  e tempo de sonicação de 15 minutos, e esta condição foi tomada como condição ótima de extração de mercúrio em folhas. Com o gráfico de pareto, infere-se que apenas a concentração de ácido nítrico é significativa para o planejamento em questão a um nível de 95% de confiança.

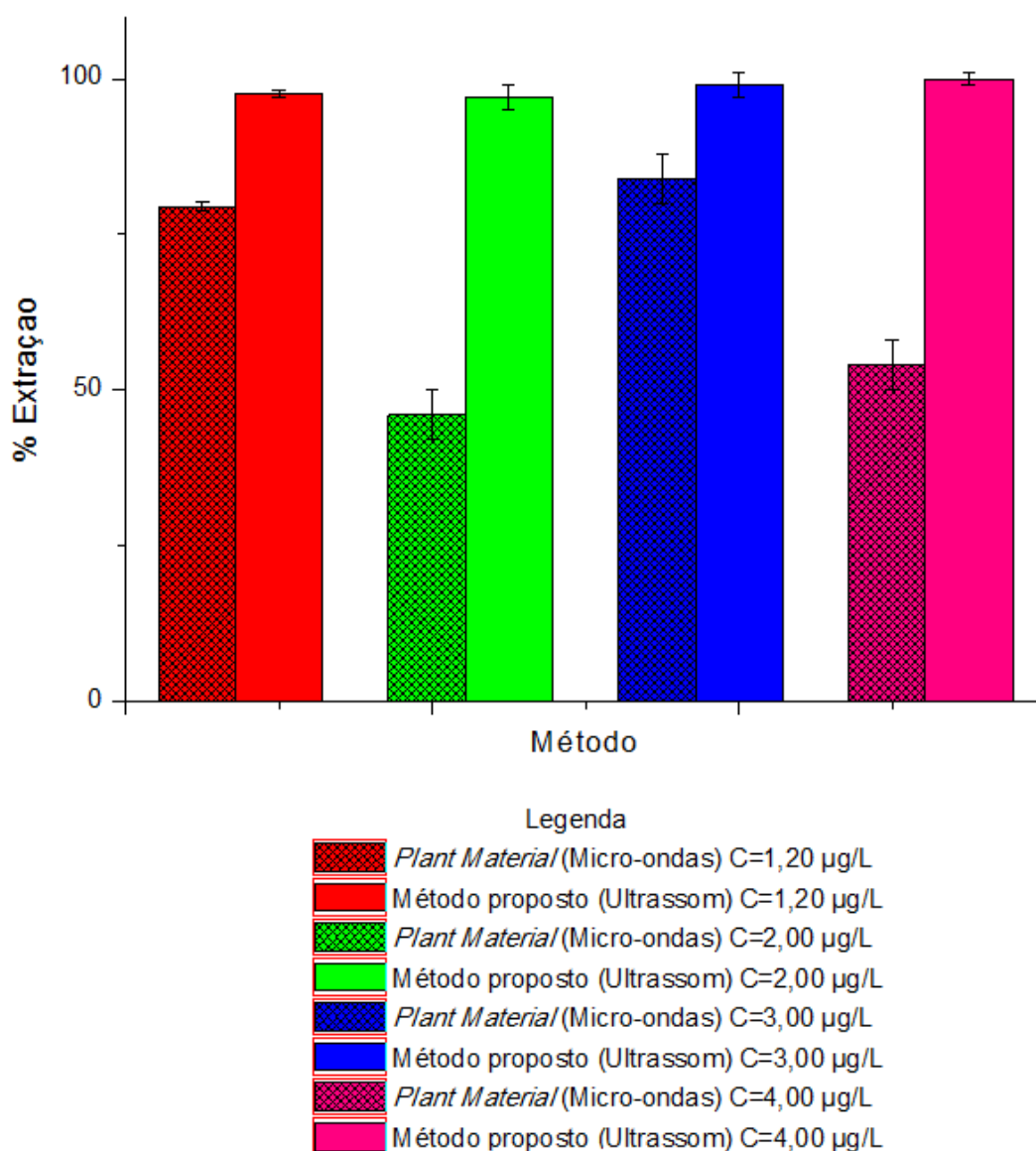
Para esse tipo de superfície de resposta gerada, o valor crítico pode ser usado como ponto de máximo por representar a condição ideal de máxima extração [92]. A fim de testar esse ponto, foram realizadas outras extrações, em outras amostras reais variadas de folhas e conseguiu-se uma extração de 100% da quantidade de mercúrio contida na amostra para os vegetais alface e couve.

Para a cebolinha, os valores de extração ficaram em torno de 50%, uma quantidade muito inferior ao esperado. É provável que a cebolinha, por possuir uma estrutura mais fibrosa que os outros vegetais analisados, não tenha absorvido toda a quantidade de mercúrio que foi adicionada por carregamento das amostras, o que atrapalhou nas extrações posteriores. Por conta disso, apenas a couve e a alface foram utilizadas nos testes comparativos dos métodos de extração.

#### **5.3.2.1. Comparação com métodos de extração existentes**

Na Figura 13 foram apresentadas as comparações do método já existente com o proposto. O método existente testado foi o *Plant Material*, indicado pela Administração de Fármacos e Alimentos dos Estados Unidos (FDA) para extração e análise de metais pesados em vegetais utilizando micro-ondas [45]. Foram testadas amostras fortificadas com quatro concentrações diferentes de mercúrio. Os níveis de *spike* foram: 1,20; 2,00; 3,00 µg/L e 4,00 µg/L de mercúrio.

**Figura 13.** Gráfico comparativo dos métodos de extração de mercúrio em vegetais



Fonte: Autoria própria.

Em todos os casos, a recuperação obtida utilizando o método desenvolvido foi superior a 90%. A menor diferença entre o método existente, empregando digestão por micro-ondas, e o método desenvolvido foi de 15% de rendimento, sendo que essa vantagem comparativa chegou até a 50%. Logo, os resultados demonstram que o método de extração de mercúrio em folhas empregando o ultrassom foi mais eficaz se comparado à digestão em micro-ondas em todos os casos, inferindo que a extração de mercúrio em micro-ondas

pode levar a perdas do metal por volatilização. Outros experimentos encontrados na literatura mostram que este tipo de perda também pode ocorrer com outros metais voláteis, como o arsênio, quando digeridos em micro-ondas, e essas perdas são minimizadas ao empregar banho ultrassônico [93].

### 5.3.2.2. Validação do método proposto

Para garantir a repetibilidade do método, obteve-se desvios padrão relativos menores que 10% em todas as análises. Além disso, análises realizadas em dias diferentes e por diferentes operadores obtiveram desvios baixos e resultados estatisticamente iguais, garantindo a repetibilidade e reprodutibilidade do método proposto.

A especificidade e seletividade é garantida pelo método usado na análise. A espectrometria de absorção atômica por vapor a frio utiliza uma lâmpada de cátodo oco específica, que emite radiação no comprimento de onda característico do elemento, no caso o mercúrio ( $\lambda = 253,7$  nm). Logo, outros elementos não serão detectados.

A linearidade foi analisada de acordo com os coeficientes de regressão linear ( $R^2$ ) das quatro curvas analisadas no mesmo dia, com cinco pontos de concentração de mercúrio. Todos os coeficientes obtidos foram bem próximos de um, mais precisamente com 9 até a segunda casa decimal (0,99), sendo a melhor curva obtida com 9 até na quinta casa decimal ( $R^2 = 0,999990$ ), indicando que as curvas obtidas para análise do método têm linearidade satisfatória. Logo, os sinais analíticos obtidos demonstraram-se diretamente proporcionais às concentrações reais dos padrões.

Os limites de detecção e quantificação foram calculados de acordo com as Equações 1 e 2 anteriormente citadas. O limite de detecção encontrado foi de 0,02  $\mu\text{g/L}$  e o limite de quantificação 0,08  $\mu\text{g/L}$ .

Para o material de referência de código CA 713, de água de efluentes, certificado pela *European Reference Materials* (ERM), a concentração de mercúrio determinada foi de 1,76  $\mu\text{g/L}$ . Este material apresenta valor certificado

para mercúrio de  $(1,84 \pm 0,11)$   $\mu\text{g/L}$ , ou seja, a concentração encontrada está dentro do intervalo e o mercúrio foi determinado de forma exata.

Para testes de exatidão do método, o ponto de extração máxima, obtido através do planejamento fatorial completo  $2^3$  foi utilizado para extração de mercúrio em materiais com concentração conhecida. O material *Montana Soil*, NIST SRM 2710a, com  $(9,88 \pm 0,21)$   $\mu\text{g/g}$  de mercúrio não obteve uma recuperação tão boa, com uma porcentagem de recuperação do metal por volta de 50%. Como solo é uma matriz diferente do material ideal para extração utilizando o método desenvolvido, que no caso foi baseado em vegetais, um resultado não satisfatório poderia ser previsto. Já para folhas de maçã, produzidas pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST) SRM 1515, com concentração de mercúrio de  $(0,044 \pm 0,004)$   $\mu\text{g/g}$ , o resultado foi consentâneo. Utilizando  $(0,2000 \pm 0,0001)$  g do material certificado, obteve-se uma concentração de 0,94  $\mu\text{g/L}$  de mercúrio nessa quantidade usada. Como foram usados 10,00 mL de solução, realizando os cálculos, a concentração de mercúrio encontrada foi de 0,047  $\mu\text{g/g}$  nas folhas de maçã. Com isso, pôde-se concluir que, para essa matriz, o método de extração desenvolvido foi satisfatório para extrair o mercúrio das folhas.

## 6. Conclusões e considerações finais

Como conclusões, pode-se salientar que a região estudada apresenta vários problemas ambientais que corroboram para o aprofundamento da pesquisa no local. Os resultados obtidos enfatizam o grande acúmulo de metais e contaminantes em um distrito de pequena densidade demográfica. A presença da atividade garimpeira em ascendência, devido ao aumento do número de habitantes locais desempregados, causa o agravante de maior deposição metálica na vegetação local.

Devido às altas concentrações de mercúrio encontradas nas amostras de sedimento, fez-se relevante o estudo de monitoramento da contaminação ao longo dos períodos de seca e cheia. Ao comparar os resultados encontrados nesta pesquisa com dados anteriormente coletados em trabalhos realizados na mesma região, observou-se uma concentração superior de mercúrio total. A principal justificativa encontrada para a questão é o aumento do garimpo com o decorrer dos anos e o reviramento de sedimentos no escoamento do curso d'água que elevou os teores de mercúrio e também de ferro, metal que foi encontrado em altas concentrações, o que já era de se esperar pela região estudada. Ao analisar as amostras pela técnica de difração de raio-x, as espécies mineralógicas mais presentes foram hematita, quartzo e biotita, sendo que talco e caulinita também foram encontrados em pontos mais ao sul, nos quais o córrego se encontra mais limpo.

Nas amostras de água foi possível observar os danos causados quando os rejeitos de mineração são liberados no curso d'água, aumentando bruscamente o teor de alguns metais encontrados. A quantidade de mercúrio encontrada não estava alta, por causa da densidade elevada desse metal, mas em dias em que a barragem é liberada, ao erguer o sedimento do fundo do rio Gualaxo do Norte, uma concentração traço do metal foi encontrada, proveniente do próprio sedimento. Mas as concentrações de ferro e manganês foram bruscamente alteradas para valores maiores no dia em que havia rejeito de mineração no rio.

Em relação às análises dos vegetais, com a coleta de folhas veio a necessidade de desenvolver uma nova técnica de extração a fim de determinar



a concentração de mercúrio nas amostras. Essa exigência surgiu uma vez que as técnicas usadas em literatura e sugeridas por agências regulamentadoras podem levar a perdas do metal. Para o desenvolvimento da nova técnica, a qual empregou o banho ultrassônico para a extração de mercúrio, ferramentas de planejamento experimental foram utilizadas. O planejamento garantiu um número de experimentos viável, e o método foi alcançado com êxito. A eficácia foi comprovada aplicando-o em amostras reais e em amostras com concentrações conhecidas de mercúrio, em amostras de couve e alface. Já para amostras de cebolinha, a extração não foi eficaz, dado que essa espécie de vegetal tem uma quantidade de fibras superior que as demais testadas.

Como não há legislação vigente que estabelece os limites que podem ser ingeridos de mercúrio em plantas, um estudo comparativo com vegetais de uma região isenta de atividade garimpeira foi realizado e os resultados comprovam que os vegetais cultivados pela população de Antônio Pereira apresentam índices de mercúrio mais elevados que os demais. Essa contaminação pode estar associada aos fatores que vem acarretando a deposição de metais na região e, conseqüentemente, aos casos de pênfigo foliáceo que vêm aumentando no distrito.

A validação da metodologia para extração de mercúrio em vegetais, proposta no presente trabalho, demonstra que essa técnica, utilizando banho ultrassônico, atinge a finalidade e proporciona melhores resultados de recuperação do metal. Materiais certificados de folhas e sedimentos foram empregados e apresentaram boas recuperações. Além disso, técnicas desenvolvidas usando banho ultrassônico tem a vantagem de usar um equipamento mais simples e barato, se comparado a um micro-ondas, usualmente empregado para o mesmo fim. Ainda, a técnica de extração assistida por banho ultrassônico contorna o problema de perda de mercúrio por volatilização, que ocorre em extrações em chapas aquecedoras e digestões por micro-ondas, fato esse comprovado ao observar um ganho considerável na recuperação do analito.

## 7. Referências Bibliográficas

1. Palmieri, H.E.L., *Distribuição, especiação e transferência de Hg e As para a biota em áreas do Sudeste do Quadrilátero Ferrífero, MG*. Tese de doutorado. Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Departamento de Geologia. Programa de Pós-Graduação em Evolução Crustal e Recursos Naturais., 2006: p. 169.
2. Buscher, D.P., *Mercury in river systems from garimpeiro activities in the vicinity of Ouro Preto, Minas Gerais, Brazil*. Thesis for the Master of Science, Colorado School of Mines., 1992: p. 140.
3. Costa, A.T., *Geoquímica das águas e dos sedimentos da bacia do Rio Gualaxo do Norte, Leste-Sudeste do Quadrilátero Ferrífero (MG): Estudo de uma área afetada por atividades de extração mineral*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Departamento de Geologia. Programa de Pós-graduação em Evolução Crustal e Recursos Naturais., 2001.
4. Prado, M.R., *La historia del pénfigo foliáceo endémico en Latino América: concatenada a la historia de la explotación minera aurífera, las migraciones poblacionales y la deforestación de los bosques rivereños*. Med Cutan Iber Lat. Am., 2012. **40**(4): p. 123-127.
5. Zagonel, P.B., *Susceptibilidade ao pénfigo foliáceo e o polimorfismo de genes da família NLR*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética, 2011: p. 108.
6. Zahir, F., S.J. Rizwi, S.K. Haq, e R.H. Khan, *Low dose mercury toxicity and human health*. Environ Toxicol Pharmacol, 2005. **20**(2): p. 351-60.
7. Prefeitura de Ouro Preto. Acesso em: 30.05.2016. Disponível em <<https://web.archive.org/web/20141214003203/http://www.ouropreto.mg.gov.br/distrito/antonio-pereira>>.
8. Brasil, *Decreto nº 97.507, de 13 de fevereiro de 1989*. D.O.U. de 14.02.89, 1989: p. 1.
9. MS, *VIGILÂNCIA EM SAÚDE -Dengue, Esquistossomose, Hanseníase, Malária, Tracoma e Tuberculose*. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica, 2008. Série A. Normas e Manuais Técnicos Cadernos de Atenção Básica - n.º 21(2ª edição).
10. SBD. *Portal da Sociedade Brasileira de Dermatologia*. Acesso em: 06/06/2016: Disponível em: <<http://www.sbd.org.br/doencas/penfigo/>>.
11. Abréu-Vélez, A.M., I.J.M. Reason, M.S. Howard, e A.M. Roselino, *Endemic pemphigus foliaceus over a century: Part I*. N Am J Med Sci., 2010. **2**(2): p. 51-59.
12. Abréu-Vélez, A.M., G. Warfvinge, W.L. Herrera, C.E.A. Veléz, M.F. Montoya, D.M. Hardy, W.B. Bollag, e K. Hashimoto, *Detection of Mercury and Other Undetermined Materials in Skin Biopsies of Endemic Pemphigus Foliaceus*. Am J Dermatopathol, 2003. **25**(5): p. 384-391.
13. Silvestre, M.C. e J.C.A. Netto, *Pênfigo foliáceo endêmico: características sociodemográficas e incidência nas microrregiões do estado de Goiás, baseadas em estudo de pacientes atendidos no Hospital de Doenças Tropicais, Goiânia, GO*. An Bras Dermatol., 2005. **80**(3): p. 261-266.

14. Robledo, M.A., *Chronic methyl mercury poisoning may trigger endemic pemphigus foliaceus "fogo selvagem"*. Med Hypotheses, 2012. **78**(1): p. 60-66.
15. WHO. *World Health Organization*. Acesso em: 20.05.2016. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs361/en/>>.
16. George, T.S. e J. George, *Ten things to know about Minamata disease*. Minamata Disease Municipal Museum. The Minamata Environmental Creation Development, November 1994 (first edition), revised September 1997 and January 2001.: p. 12 p.
17. Giang;, A., L.C. Stokes;., D.G. Streets;., E.S. Corbitt;., e N.E. Selin, *Impacts of the Minamata Convention on Mercury Emissions and Global Deposition from Coal-Fired Power Generation in Asia*. Environ. Sci. Technol, 2015. **49**: p. 5326–5335.
18. UNEP. *United Nations Environment Programme; Minamata Convention Agreed by Nations*. Acesso em: <20.05.2016>. Disponível em <<http://www.unep.org/newscentre/default.aspx?DocumentID=2702&ArticleID=9373>>.
19. Mitra, S., *Mercury in the ecosystem: its dispersion and pollution today*. 1985, New York: Trans Tech Publications. 340.
20. Lacerda, L.D., *Minamata, livre de mercúrio*. Ciência Hoje, 1997. **23**(133): p. 24-31.
21. METALS, D.T. *A Tribute to Karen Wetterhahn*. Acesso em 19.02 2017. . Disponível em: < <http://www.dartmouth.edu/~toxmetal/about/tribute-to-karen-wetterhahn.html>>.
22. WHO, *World Health Organization*. *Mercury In Health Care*. Police Paper, 2005: p. 2.
23. IBAMA. *Mercúrio Metálico*. Acesso em: 22.05.2016. Disponível em <<http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-ga/mercurio-metalico-v2>>.
24. Azevedo, A.M.M.D. e C.C. Delgado, *Mineração, Meio Ambiente e Mobilidade Populacional: um levantamento nos estados do Centro-Oeste expandido*. XIII Encontro da Associação Brasileira de Estudos Populacionais, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil., 2002. **UNICAMP**: p. 23.
25. Brasil, *Decreto nº 97.634, de 10 de abril de 1989*. DOU de 10.04.89, 1989: p. 1.
26. Brasil, *Portaria Normativa nº 435, de 9 de agosto de 1989*. D.O.U. de 09.08.89, 1989: p. 2.
27. Brasil, *Portaria nº 32, de 12 de maio de 1995*. D.O.U. de 15.05.95, 1995: p. 3.
28. Niu, Z., X. Zhang, S. Wang, Z. Ci, X. Kong, e Z. Wang, *The linear accumulation of atmospheric mercury by vegetable and grass leaves: Potential biomonitoring for atmospheric mercury pollution*. Environ Sci Pollut Res Int, 2013. **20**(9): p. 6337-43.
29. Qian, J., L. Zhang, H. Chen, M. Hou, Y. Niu, Z. Xu, e H. Liu, *Distribution of mercury pollution and its source in the soils and vegetables in Guilin area, China*. Bull Environ Contam Toxicol, 2009. **83**(6): p. 920-5.
30. Gibicar, D., M. Horvat, M. Logar, V. Fajon, I. Falnoga, R. Ferrara, E. Lanzillotta, C. Ceccarini, B. Mazzolai, B. Denby, e J. Pacyna, *Human exposure to mercury in the vicinity of chlor-alkali plant*. Environ Res, 2009. **109**(4): p. 355-67.

31. WHO, *World Health Organization. Elemental Mercury And Inorganic Mercury Compounds: Human Health Aspects*. 2003: p. 68.
32. ATSDR, *U.S. Department of health and human services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological profile for mercury*. Public Health Service, 1999: p. 676.
33. Kotnik, J., M. Horvat, N. Ogrinc, V. Fajon, D. Zagar, D. Cossa, F. Sprovieri, e N. Pirrone, *Mercury speciation in the Adriatic Sea*. *Mar Pollut Bull*, 2015. **96**(1-2): p. 136-48.
34. Morales-Rubio, A., M. Mena, e C.W. Mcleod, *Rapid determination of mercury in environmental materials using on-line microwave digestion and atomic fluorescence spectrometry*. *Analytica Chimica Acta*, 1995. **308**(1): p. 364-370.
35. Bloom, N. e W.F. Fitzgerald, *Determination of volatile mercury species at the picogram level by low-temperature gas chromatography with cold-vapour atomic fluorescence detection*. *Analytica Chimica Acta*, 1988. **208**: p. 151-161.
36. Grupp, D., D. Everitt, R. Bath, e R. Spear, *Use of a transportable XRF spectrometer for on-site analysis of Hg in soils*. *American Environmental Laboratory*, 1989. **1**(2): p. 32-40.
37. Ipolyi, I., P. Massanisso, S. Sposato, P. Fodor, e R. Morabito, *Concentration levels of total and methylmercury in mussel samples collected along the coasts of Sardinia Island (Italy)*. *Analytica Chimica Acta*, 2004. **505**(1): p. 145-151.
38. Carbonell, G., R.M. de Imperial, M. Torrijos, M. Delgado, e J.A. Rodriguez, *Effects of municipal solid waste compost and mineral fertilizer amendments on soil properties and heavy metals distribution in maize plants (Zea mays L.)*. *Chemosphere*, 2011. **85**(10): p. 1614-23.
39. Chen, J., P. Chakravarty, G.R. Davidson, D.G. Wren, M.A. Locke, Y. Zhou, G. Brown, Jr., e J.V. Cizdziel, *Simultaneous determination of mercury and organic carbon in sediment and soils using a direct mercury analyzer based on thermal decomposition-atomic absorption spectrophotometry*. *Anal Chim Acta*, 2015. **871**: p. 9-17.
40. Maggi, C., M.T. Berducci, J. Bianchi, M. Giani, e L. Campanella, *Methylmercury determination in marine sediment and organisms by Direct Mercury Analyser*. *Anal Chim Acta*, 2009. **641**(1-2): p. 32-6.
41. Melamed, R. e R.C.V. Bôas, *Mecanismos de interação físico-química e mobilidade do mercúrio em solos, sedimentos e rejeitos de garimpo de ouro*, ed. CETEM. 2002, Rio de Janeiro, CETEM/MCT.
42. EPA, *Method 7470A: Mercury in liquid waste (manual cold-vapor technique)*. U.S. Environmental Protection Agency, 1994: p. 6.
43. EPA, *Method 7471B: Mercury In Solid Or Semisolid Waste (Manual Cold-Vapor Technique)*. U.S. Environmental Protection Agency, 1998: p. 8.
44. AOAC, *Official methods of analysis*, ed. Association of Official Analytical Chemists. Vol. 1. 1990, Arlington, Virginia, United States of America. 684 p.
45. FDA, *Analysis of Foods for As, Cd, Cr, Hg and Pb by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS)*. U. S. Food and Drug Administration 2011: p. 7.

46. Collasiol, A., D. Pozebon, e S.M. Maia, *Ultrasound assisted mercury extraction from soil and sediment*. *Analytica Chimica Acta*, 2004. **518**(1-2): p. 157-164.
47. Fernandez-Martinez, R. e M.I. Rucandio, *Study of the suitability of HNO<sub>3</sub> and HCl as extracting agents of mercury species in soils from cinnabar mines*. *Anal Bioanal Chem*, 2005. **381**(8): p. 1499-506.
48. Lopez, I., S. Cuello, C. Camara, e Y. Madrid, *Approach for rapid extraction and speciation of mercury using a microtip ultrasonic probe followed by LC-ICP-MS*. *Talanta*, 2010. **82**(2): p. 594-9.
49. do Carmo Federici Padilha, C., P. Martin de Moraes, L. de Arruda Garcia, C. Mariane Costa Pozzi, G. Pace Pereira Lima, J.P. Serra Valente, S. Maria Alves Jorge, e P. de Magalhães Padilha, *Evaluation of Cu, Mn, and Se in Vegetables Using Ultrasonic Extraction and GFAAS Quantification*. *Food Analytical Methods*, 2010. **4**(3): p. 319-325.
50. Lavine, B.K. e J. Workman, Jr., *Chemometrics*. *Anal Chem*, 2013. **85**(2): p. 705-14.
51. Froes-Silva, R.E.S., W.B. Neto, C.C. Nascentes, e J.B.B.d. Silva, *Multivariate Optimization and Exploratory Analysis Applied to the Internal Standardization of Complex Matrices by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*. *Atomic Spectroscopy*, 2015. **36**(1): p. 7-14.
52. Neto, B.B., J.S. Scarmínio, e R.E. Bruns, *Como fazer experimentos*. 2001, Campinas, São Paulo, Brasil: Editora Unicamp. 401.
53. Calado, V. e D. Montgomery, *Planejamento de experimentos usando o Estatística*, ed. E.-P.S. Editoriais. 2003, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 260.
54. Teófilo, R.F. e M.M.C. Ferreira, *Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial*. *Quim. Nova*, 2006. **29**(2): p. 338-350.
55. Senila, M., E.A. Levei, e L.R. Senila, *Assessment of metals bioavailability to vegetables under field conditions using DGT, single extractions and multivariate statistics*. *Chemistry Central Journal*, 2012. **6**(119): p. 10.
56. IBGE, *Folha Topográfica de Mariana SF-23-X-B-I-3* Mapeamento Geral do Brasil, 1976.
57. Basílio, M.S., *Geoquímica dos sedimentos associados aos minérios de ferro da região leste-sudeste do Quadrilátero Ferrífero, MG e seu potencial para adsorção e dessorção de metais traço*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Departamento de Geologia. Programa de Pós-graduação em Evolução Crustal e Recursos Naturais., 2005: p. 202.
58. *Standard methods: For the examination of water and waste water*. *Analytical Biochemistry*, 1990. **186**(1): p. 183.
59. SMEWW, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, Water Environment Federation, 1991: p. 541.
60. Varian, *Flame Atomic Absorption Spectrometry*. . 1989(*Analytical Methods*): p. 146.
61. Scientific, B., *Installation and operation manual, Continuous Flow Hydride for low-level determination of Arsenic and Selenium, model 420*. 2009.

62. EPA, *Method 3051A: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils*. U.S. Environmental Protection Agency, 2007: p. 30.
63. Vieira, H.P., *Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de arsênio, cádmio, cobre, mercúrio e chumbo em mel*. Tese de doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Exatas. Departamento de Química. Pós-Graduação em Ciências., 2012: p. 123.
64. INMETRO, *DOQ-CGCRE-008 - Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos*. 2007: p. 24.
65. MAPA. *Resíduos e contaminantes em alimentos*. Manual de garantia da qualidade analítica. Brasília, 2011.
66. Tomczyk-Zak, K., S. Kaczanowski, L. Drewniak, L. Dmoch, A. Sklodowska, e U. Zielenkiewicz, *Bacteria diversity and arsenic mobilization in rock biofilm from an ancient gold and arsenic mine*. *Sci Total Environ*, 2013. **461-462**: p. 330-40.
67. Commission of the European Communities (12 August 2002). *Commission Regulation (UE) No 836/2011 of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results*. *Official Journal of the European Communities, Brussels*. L215/9-L215/16.
68. Jardim, W.F., *Contaminação por Mercúrio: Fatos e Fantasias*. *Ciência Hoje*, 2008. **7** (41): p. 78-79.
69. MS, *Portaria Ministério da Saúde Nº 2914 de 12/12/2011*. 2011: p. 32.
70. COPAM, *Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG N.º 1, de 05 de Maio de 2008*. 2008: p. 36.
71. Williams M., F.F., Pajitprapapon A., Charoenchaisri P., *Arsenic contamination in surface drainage and groundwater in part of the southeast Asian tin belt, Nakhon Si Thammarat Province, southern Thailand*. *Environ. Geol.*, 1996. **27**: p. 16-33.
72. Nyanza, E.C., D. Dewey, D.S. Thomas, M. Davey, e S.E. Ngallaba, *Spatial distribution of mercury and arsenic levels in water, soil and cassava plants in a community with long history of gold mining in Tanzania*. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2014. **93**(6): p. 716-21.
73. Mestrinho, S.S.P., *Geoquímica e Contaminação de Águas Subterrâneas*. ABAS/PE, DNPM., 1999: p. 47-64.
74. P. Bezerra, J.C., K. Garcia, M. Oliveira, *Indicadores geoquímicos de contaminação por compostos orgânicos voláteis em águas subterrâneas da Bacia do Rio Lucaia, Salvador, Bahia*. *Revista Brasileira de Geociências*, 2012(42): p. 238-244,.
75. Baird, C., *The chemistry of natural waters*. *Environmental Chemistry*, 1999(2nd): p. 421-459.
76. CONAMA, *RESOLUÇÃO CONAMA nº 344, de 25 de março de 2004*. DOU, 2004. **87**: p. 56-57.
77. Förstner, U., ; Salomons, W, *Trace metal analysis on polluted sediments: Part I: Assessment of sources and intensities*. *Environmental Technology* 1980. **1**: p. 494 - 505.
78. Soares, L.C., F.B. Egreja Filho, L.A. Linhares, C.C. Windmoller, e M.I. Yoshida, *Accumulation and oxidation of elemental mercury in tropical soils*. *Chemosphere*, 2015. **134**: p. 181-91.

79. Ravichandran, M., *Interactions between mercury and dissolved organic matter—a review*. Chemosphere, 2004. **55**(3): p. 319-331.
80. Grimaldi, C., M. Grimaldi, e S. Guedron, *Mercury distribution in tropical soil profiles related to origin of mercury and soil processes*. Science of The Total Environment, 2008. **401**(1–3): p. 121-129.
81. Guedron, S., S. Grangeon, B. Lanson, e M. Grimaldi, *Mercury speciation in a tropical soil association; Consequence of gold mining on Hg distribution in French Guiana*. Geoderma, 2009. **153**(3-4): p. 331-346.
82. Leao, D.J., M.M. Silva Junior, J.B. Silva Junior, D.A.F. de Oliveira, A.F.S. Queiroz, e S.L.C. Ferreira, *Ultrasound assisted extraction for the determination of mercury in sediment samples employing cold vapour atomic absorption spectrometry*. Anal. Methods, 2016. **8**(35): p. 6554-6559.
83. Roulet, M. e M. Lucotte, *Geochemistry of mercury in pristine and flooded ferrallitic soils of a tropical rain forest in French Guiana, South America*. Water, Air, and Soil Pollution, 1995. **80**(1): p. 1079-1088.
84. Roulet, M., M. Lucotte, A. Saint-Aubin, S. Tran, I. Rhéault, N. Farella, E. De Jesus Da Silva, J. Dezencourt, C.J. Sousa Passos, G. Santos Soares, J.R.D. Guimarães, D. Mergler, e M. Amorim, *The geochemistry of mercury in central Amazonian soils developed on the Alter-do-Chão formation of the lower Tapajós River Valley, Pará state, Brazil*. Science of The Total Environment, 1998. **223**(1): p. 1-24.
85. Soares, L.C., L.A. Linhares, F.B. Egreja Filho, C.C. Windmoller, e M.I. Yoshida, *Mercúrio em Solos da Região Sudeste do Brasil sem Influência Antropogênica e sua Correlação com as Características Químicas e Físicas*. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 2015. **39**(3): p. 903-914.
86. Soares, L.C., *Mercúrio em Solos do Sudeste Brasileiro: Interações e Avaliação da Vulnerabilidade Perante Mercúrio Elementar e Mercúrio (II)*. Tese de doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química., 2015: p. 167.
87. Akuito, M., et al, *Reevaluation of Minamata Bay, 25 years after the dredging of mercury-polluted sediments*. Marine Pollution Bulletin, 2014. **89**: p. 112-120.
88. Normile, D., *In Minamata, Mercury Still Divides*. Science, 2013. **341**: p. 1446-1447.
89. ANVISA, *Resolução RDC Nº42-Dispõe sobre o Regulamento Técnico Mercosul sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2013: p. 3.
90. EC, *COMMISSION REGULATION (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs*. Official Journal of the European Union, 2006: p. 20.
91. S. Z. Mohammadia, R.R., M. A. Taherb, *Simultaneous Separation-Preconcentration and Determination of Trace Amounts of Mercury and Cadmium in Fruits, Vegetables and Biological Samples*. Journal of Analytical Chemistry, 2016. **17**(1): p. 8.
92. Bezerra, M.A., R.E. Santelli, E.P. Oliveira, L.S. Villar, e L.A. Escalera, *Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry*. Talanta, 2008. **76**(5): p. 965-77.

93. Paula, J.F.R., R.E.S. Froes-Silva, e V.S.T. Ciminelli, *Arsenic determination in complex mining residues by ICP OES after ultrasonic extraction*. *Microchemical Journal*, 2012. **104**: p. 12-16.



## 8. Apêndice

O desvio padrão de cada um dos resultados da concentração de mercúrio, encontrados através do analisador direto de mercúrio, estão indicados nas Tabela 18 e Tabela 19.

**Tabela 18.** Desvio Padrão das análises de mercúrio em DMA dos sedimentos coletados na primeira coleta

Fração Granulo-métrica	Desvio Padrão ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )							
	Pontos 1ª coleta – Período de seca							
	1	1A	2	3	4	5	5A	6
0,50-0,250 mm	3	11	53	18	5	5	14	9
0,250-0,150 mm	27	9	41	79	21	1	8	13
0,150-0,053 mm	16	3	1	31	16	26	4	14
<0,053m m	20	2	51	50	34	7	5	9
Amostra Global	10	9	47	24	11	16	8	8

Fonte: Autoria própria.

**Tabela 19.** Desvio Padrão das análises de mercúrio em DMA dos sedimentos coletados na segunda coleta

Fração Granulométrica	Desvio Padrão (µg/kg)									
	Pontos 2ª coleta- Período chuvoso									
	1	1A	1B	1C	2	3	4	5	5A	6
0,50-0,250 mm	57	35	33	67	36	48	21	17	12	6
0,250-0,150 mm	22	68	22	23	27	46	6	10	7	8
0,150-0,053 mm	32	26	24	3	6	18	18	10	4	20
<0,053mm	66	27	12	36	5	12	25	6	4	4
Amostra Global	35	62	27	25	62	79	22	7	7	6

Fonte: Autoria própria