

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"

DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO POR DILUIÇÃO ISOTÓPICA SUBESTEQUIOMÉTRICA

FRANCISCO JOSÉ KRUG

Orientador:
EPAMINONDAS S. BARROS FERRAZ

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre, no Curso de Pós-Graduação em Energia Nuclear na Agricultura.

PIRACICABA
Estado de São Paulo — Brasil
1975

- À meus pais e irmãos, que sempre olharam
com amor e respeito meu trabalho,
OFEREÇO.

- À MARIA LUCIA AYRES GUIDETTI ZAGATTO, pe-
los conselhos amigos nos meus momentos di-
fíceis, e que a meu lado soube me fazer
sorrir,

DEDICO.

E R R A T A

<u>PÁG.</u>	<u>PARÁ- GRAFO</u>	<u>LINHA</u>	<u>ONDE SE LÊ</u>	<u>LEIA-SE</u>
5	1º	1ª	é à afinidade	é devida à afinidade
7	1º	4ª	manufatura	manufaturam
8	1º	7ª	injeriram	ingeriram
11	3º	5ª	fotocélula	cubeta
	4º	6ª	préconcentrado	pré-concentrado
15	2º	6ª	préconcentração	pré-concentração
	5º	2ª	Desvantagem	Desvantagens
	5º	3ª	discutidos	discutidas
16	1º	1ª	permissível	permissível
17	3º	1ª e 2ª	análises	isótopos
18	-	5ª	Adptado	Adaptado
21	1º	3ª	maça	maçã
	1º	9ª	maças	maças
22	4º	2ª	dissecador	dessecador
23	-	1ª	ditizanoato	ditizonato
	3º	4ª	K	potássio
35	3º	5ª	conhecido	conhecida
37	-	-	Cd ²⁺ n	Cd ²⁺ 2,12
43	3º	2ª	dietilamonea	dietilamoneo
44	1º	1ª e 2ª	reproditibilidade	reprodutibilidade
46	2º	4ª	Figura 4	Figura 5
49	1º	3ª	radiocalóides	radiocolóides
50	1º	3ª	bidistilada	bidestilada
51	1º	3ª	bidistilada	bidestilada
52	1º	2ª	dissecador	dessecador
53	-	16ª	(500 ml)	(1000 ml)
56	-	última	T _B	t _B
59	-	5ª	pode-se	podem-se
63	2º	2ª	amostras, com	amostras com
64	1º	3ª	é na	é, na
66	-	-	µg ²⁰³ Hg	ng ²⁰³ Hg
77	2º	1ª	convencional. na	convencional. Na
	3º	1ª e 2ª	assintética	assintótica
79	1º	7ª	utilizadas	utilizados
	3º	1ª	µg	ng
		2ª	µCi	nCi

<u>PÁG.</u>	<u>PARÁ- GRAFO</u>	<u>LINHA</u>	<u>ONDE SE LÊ</u>	<u>LEIA-SE</u>
80	- 1º	retângulo	410 g Hg-203	410 ng Hg-203
82	2º	2ª	bidistilada	bidestilada
	3º	3ª	biofilizador	liofilizador
	6º	3ª	erméticamente	hermeticamente
	7º	2ª	queimadas	queimados
85	-	19ª	Figura .	Figura 13.
88	1º	1ª	frizado	frisado
	2º	5ª	extrair	reextrair
	2º	12ª e 13ª	elémindo-se	eliminando-se
91	-	-	ao gunil (b)	ao funil (b)
94, 95 e 97			T_B e/ou T_F	t_B e/ou t_F
95	1º	3ª	quanto	quando
98	3º	5ª	do ítem 5.3. está	do ítem 5.3., está
100	-	2ª	frizar	frisar
105	3º	6ª	otimisse	otimize
	1º	3ª	(1966) sem	(1966), sem
111	2º	2ª	Figura ,	Figura 4,
117	5º	7ª	DDC = Hg ²⁺	DDC: Hg ²⁺
121	2º	4ª	disproporção	desproporção
122	4º	3ª	realizado	realizada
		4ª	ditizanato	ditizonato
127	-	2ª	anализado	analisado
135	-	3ª	permitiu	permitiram
137	-	2ª	in suggested	is suggested
138		6ª	LISK, D. do	LISK, D.J.
139		14ª	1968. 633p.	1968. cap.12, p.420-424.
140		11ª	soil-plant.	soil-plant system.
141		23ª	ZIELISNKI Jr.; W.L.	ZIELINSKI Jr., W.L.
142		9ª	complexind	complexing
145		última	1960. 476p.	1960. cap. 10, p.395-396.

A G R A D E C I M E N T O S

- Ao Dr. Admar Cervellini, Chefe do Departamento de Física e Meteorologia da ESALQ e Diretor do CENA, pelo apoio recebido.
- Ao Dr. Carl Goran Lamm, Professor da Technical University of Denmark, pela sugestão deste trabalho.
- Ao Dr. Jaromir Ruzicka, Pesquisador da Technical University of Denmark, pela constante cooperação e estímulo.
- Ao Dr. Henrique Bergamin Filho, Professor do Departamento de Química da ESALQ e Chefe da Divisão de Ciências Básicas, pelo apoio incondicional.
- Ao Prof. Virgílio Franco do Nascimento Filho, do Departamento de Física e Meteorologia da ESALQ, pelas críticas valiosas e sugestões durante a revisão deste trabalho.
- Ao M.S. Elias Ayres Guidetti Zagatto, Pesquisador da Seção de Radioquímica e Química Analítica do CENA, pelos programas de computação.
- Ao Dr. Ladaslav Sodek, Pesquisador da Seção de Bioquímica de Plantas do CENA, pelas sugestões apresentadas.
- Ao Dr. Attilio Dall'Olio, Pesquisador do Centro de Energia Nuclear da UFPe, pelas sugestões em estatística.
- Ao Dr. Valdomiro Correa de Bittencourt, do Departamento de Química da ESALQ e Seção Química de Solos do CENA, pela concessão de seus laboratórios.

- Ao Dr. Keigo Minami, do Departamento de Agricultura da ESALQ, pela colaboração na realização de um ensaio sobre resíduos de pesticidas mercuriais em tomate.
- Ao Dr. Urgel de Almeida Lima, do Departamento de Tecnologia Rural, pela orientação na técnica de liofilização de frutos de tomate.
- Aos Professores Licenciados em Física Maria Guiomar Carneiro e Fernando Antonio Pinto, pela realização das figuras e pelas sugestões.
- À Sra. Janete Lourdes Bombini de Moura, Bibliotecária Chefe do CENA, pela orientação e revisão das citações bibliográficas.
- Aos colegas e amigos, Eng^o Agr^o José Roberto Ferreira, Eng^o Agr^o José Otávio Machado Menten e Eng^o Agr^o Flavio Bussmeyer Arruda, que de diversas formas me apoiaram.
- Às técnicas Neusa Maria Mendes e Maria Angela Foltran, pelo auxílio constante nas análises realizadas e pela paciência acima de tudo.
- Aos técnicos Maria Valéria Segatto Lopes, Valdir Antonio Ximenes, Nancy de Campos Amaral e Wilson Zambello, pelo auxílio nas análises.
- Ao técnico José Osório Bertoli, pelo serviço de proteção radiológica.
- Aos funcionários Cleusval Bissi, Benedito Herculano Davanzo e Luiz Cesar Zambello, pela presteza e serviços de imprensa.

- Aos colegas das seções do CENA que emprestaram material para realização deste trabalho, e demais funcionários que de uma forma ou de outra também me ajudaram.
- À Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), pelo apoio financeiro.
- À Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA), pela compra de material radioativo através do Proj. BRA/71/556.
- À Deus que iluminou meus passos cercado-me de tantos amigos, e sobretudo por aquele que me orientou de verdade:- Epaminondas Sansígolo de Barros Ferraz.

Í N D I C E

	<u>página</u>
1. INTRODUÇÃO	01
2. A IMPORTÂNCIA DO MERCÚRIO NO MEIO AMBIENTE	03
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3.1. Métodos analíticos	10
3.2. Decomposição de amostras	20
3.3. Extração com solventes: agentes quelantes envolvidos na determinação de mercúrio (II)	26
4. ASPECTOS TEÓRICOS FUNDAMENTAIS	29
4.1. Análise por diluição isotópica	29
4.1.1. Diluição isotópica direta	30
4.2. Diluição isotópica subestequiométrica	31
4.3. Extração com solventes orgânicos	35
4.3.1. Seletividade e especificidade	35
4.3.1.1. Constante de extração	35
4.3.1.2. pH	40
4.4. Extração subestequiométrica	44
5. EXPERIMENTOS PRELIMINARES	48
5.1. Material	48
5.1.1. Reagentes	48
5.1.2. Vidraria	53
5.1.3. Espectrômetro gama monocanal	53

	<u>página</u>
5.2. Metodologia de contagem para mercúrio-203	55
5.2.1. Aspectos gerais	55
5.2.2. Considerações sobre estatística de contagens..	56
5.2.3. Influência da relação sinal/ruído na precisão das contagens	58
5.2.4. Efeito da geometria das amostras na detecção do ^{203}Hg	61
5.3. Cinética de extração	64
5.4. Estudos sobre a relação fase aquosa : fase orgânica. .	67
5.5. Curvas de extração subestequiométrica	69
5.6. Estudo sobre descontaminação de ^{203}Hg de soluções aquosas	79
5.7. Decomposição de amostras de tomate em frasco de combustão	81
5.7.1. Método	81
5.7.1.1. Liofilização de frutos de tomate . .	81
5.7.1.2. Fabricação de briquetes de tomate liofilizado com ^{203}Hg	83
5.7.1.3. Queima das amostras no frasco de combustão	84
6. MÉTODO DA ANÁLISE POR DILUIÇÃO ISOTÓPICA SUBESTEQUIOMÉTRICA	87
7. RESULTADOS OBTIDOS E DISCUSSÃO	93
7.1. Experimentos preliminares	93
7.1.1. Detecção de mercúrio-203 com cristal de NaI(Tl), 3" x 3" , tipo poço, por espectrômetro gama monocanal	93

	<u>página</u>
7.1.1.1. Influência da relação sinal/ruído na precisão das contagens	93
7.1.1.2. Efeito da geometria das amostras na detecção de ^{203}Hg	98
7.1.2. Extração com solventes	98
7.1.2.1. Cinética	98
7.1.2.2. Estudos sobre a relação fase aquosa : fase orgânica	104
7.1.2.3. Curvas de extração subestequiométrica	109
7.1.3. Frasco de combustão de oxigênio	118
7.1.4. Descontaminação de mercúrio-203	121
7.2. Diluição isotópica subestequiométrica	122
8. CONCLUSÕES	132
9. RESUMO	134
10. SUMMARY	136
11. BIBLIOGRAFIA	138

LISTA DOS QUADROS

<u>Quadro</u>		<u>página</u>
01 -	Esquema do preparo das amostras radioativas contendo mesma atividade de ^{203}Hg em volumes distintos . . .	63
02 -	Tempo de agitação, em segundos, para os tratamentos utilizados nos experimentos sobre cinética de extração para três agentes quelantes em diferentes concentrações	66
03 -	Tratamentos referentes ao estudo da relação fase aquosa/fase orgânica: 1, 2, 3 e 4 em funil de separação de 125 ml, e 5, 6, 7 e 8 em funil de 250 ml; fase aquosa = HCl 0,1 M e fase orgânica= $\text{Zn}(\text{HDz})_2 \cdot 10^{-7}\text{M}$; F_{aq} = fase aquosa e F_{org} = fase orgânica	69
04 -	Tratamentos utilizados para obtenção das curvas de extração subestequiométrica	71
05 -	Valores estequiométricos calculados para o mercúrio em função da concentração e volume do agente quelante HA e M'A	72
06 -	Quantidades de mercúrio-203 adicionada a cada funil para os respectivos tratamentos	73
07 -	Posições dos discriminadores para análise de ^{203}Hg e respectivas taxas de contagem líquida (C_L), desvio padrão da taxa de contagem líquida (σ_L) e coeficien-	

<u>Quadro</u>	<u>página</u>
te de variação (cv_L) para atividades entre 50 e 0,5 nCi ^{203}Hg	96
08 - Dados obtidos de percentagem de Hg extraído subestequiometricamente ($\% E_s$), percentagem de extração ($\% E$) e razão de distribuição (D) em função da relação fase aquosa : fase orgânica	106
09 - Ponto de início do patamar subestequiométrico calculado segundo a equação (26), ítem 5.5., para ditizona (H_2Dz) e dietilamoneo dietilditiocarbamato (DDC) em tetracloreto de carbono	110
10 - Valores esperados e observados de Y para ditizonato de zinco em diferentes concentrações	111
11 - Recuperação de mercúrio em frasco de combustão . . .	120
12 - Médias de 10 repetições em contagens por minuto para os respectivos tratamentos relativos à descontaminação de ^{203}Hg	121
13 - Resposta do método de análise por diluição isotópica subestequiométrica com soluções puras com $Y = 410$ e $205 \text{ ng } ^* \text{Hg}$; extração com $[\text{Zn}(\text{HDz})_2] \text{CCl}_4$ $5 \times 10^{-8} \text{ M}$..	128
14 - Resposta do método de análise por diluição isotópica subestequiométrica com soluções puras com $Y=102,5 \text{ ng } ^* \text{Hg}$; extração com $[\text{Zn}(\text{HDz})_2] \text{CCl}_4$ $5 \times 10^{-8} \text{ M}$	129

<u>Quadro</u>		<u>página</u>
15 -	Resposta do método de análise por diluição isotópica subestequiométrica com soluções puras com $Y=60 \text{ ng}^*\text{Hg}$; extração com $[\text{Zn}(\text{HDz})_2] \text{CCl}_4$ $5 \times 10^{-8} \text{M}$	130
16 -	Resposta do método de análise por diluição isotópica subestequiométrica com soluções puras com $Y=82 \text{ ng}^*\text{Hg}$; extração com $[\text{Zn}(\text{HDz})_2] \text{CCl}_4$ $5 \times 10^{-8} \text{M}$	131

LISTA DAS FIGURAS

<u>Figura</u>	<u>página</u>
01 - Esquema teórico do procedimento analítico da análise por diluição isotópica subestequiométrica	34
02 - Efeito do pH na extração de vários metais com um excesso de ditizona em CCl_4 ($C_{HA} = 2,5 \times 10^{-5} M$) com relação aos íons estudados (concentração da ordem de $10^{-5} M$) (<i>RUZICKA e STARY, 1968</i>).	42
03 - Efeito do pH na extração de vários metais com um excesso de dietilamoneo dietilditiocarbamato em tetracloreto de carbono ou em clorofórmio ($C_{HA} = 2 \times 10^{-3} M$), segundo <i>RUZICKA e STARY (1968)</i>	44
04 - Quantidade do metal extraído subestequiometricamente em função de C_M , para $\frac{[H]}{K} = 0$ (<i>LAMM e RUZICKA, 1969</i>).	46
05 - Quantidade do metal extraído subestequiometricamente em função de C_M , para $\frac{[H]}{K} = 0,1 C_{HA}$ (a), $\frac{[H]}{K} = C_{HA}$ (b) e $\frac{[H]}{K} = 10 C_{HA}$ (c)	47
06 - Esquema de desintegração do mercúrio-203 (<i>LEDERER et alii, 1967</i>)	55
07 - Espectro do ^{203}Hg : no eixo das abcissas está referenciada a voltagem de base (amplitude do pulso), e no eixo das ordenadas impulsos por 5 segundos (varredura de 0,1 em 0,1 volt); A, B e C = discriminadores . . .	60

<u>Figura</u>	<u>página</u>
08 - Corte transversal de um detector de NaI(Tl), tipo poço, com amostras em tubos de ensaio: em (a) 1 ml e em (b) 3 ml	62
09 - Agente complexante formado, $[MA]_{org}$, em função da concentração do metal, $[M]$ extraído subestequiometricamente. $[MA]_{org}$ vem expresso em contagens por minuto e $[M]$ em ng do metal considerado	77
10 - Gráfico "LINEWAVER e BURK" para curvas de extração subestequiométrica, onde $[M]$ é a concentração do metal (eixo das abcissas) adicionada à fase aquosa, e $[MA]_{org}$ é o complexo formado pelo agente quelante $(HA)_{org}$ (eixo das ordenadas).	78
11 - Esquema do procedimento analítico de descontaminação de ^{203}Hg . Os números representam a ordem dos passos realizados	80
12 - Esquema da peça utilizada para fazer os briquetes de material liofilizado. Dimensões em mm, escala 1 : 1..	83
13 - Frasco de combustão de oxigênio, mostrando em (1) a amostra a ser envolta pelo papel; (2) macho (A) com o suporte da amostra (cesta B); (3) frasco de combustão com barra agitadora de Teflon (C) e saída lateral (D) onde está preso um balão de borracha (E).	84

<u>Figura</u>	<u>página</u>
14 - Esquema do procedimento analítico da determinação de mercúrio por diluição isotópica subestequiométrica. .	91
15 - Coeficiente de variação (%) de amostras contendo ^{203}Hg com diferentes atividades (nCi), detectados em canais diferentes:- A - C (região integral) e B - C (região do fotopico)	97
16 - Efeito da geometria das amostras nas contagens . . .	99
17 - Percentagem de mercúrio extraído em função do tempo de agitação	101
18 - Percentagem de mercúrio extraído em função do tempo de agitação	102
19 - Percentagem de Hg extraído em função do tempo de agitação	103
20 - Percentagem de mercúrio extraído subestequiometricamente (% E_s) em função da relação fase aquosa/fase orgânica (F_{aq}/F_{org})	107
21 - Correlação entre percentagem de mercúrio extraído subestequiometricamente (% E_s) e razão de distribuição D	108
22 - Correlação entre percentagem de mercúrio extraído subestequiometricamente (% E_s) e percentagem de extração (% E)	108

<u>Figura</u>	<u>página</u>
23 - Curvas de extração subestequiométrica de mercúrio obtidas com ditizona (H_2Dz) e dietilamoneo dietilditio-carbamato (DDC) em diferentes concentrações	113
24 - Retas do tipo " <i>LINEWAVER e BURK</i> " para obtenção da quantidade Y de Hg com ditizona (H_2Dz) e dietilamoneo dietilditio-carbamato (DDC) em diferentes concentrações..	114
25 - Curvas de extração subestequiométrica de mercúrio obtidas com ditizonato de zinco $[Zn (HDz)_2]$ em diferentes concentrações	115
26 - Curva de extração subestequiométrica de mercúrio obtida com ditizonato de zinco $[Zn (HDz)_2]$ $5 \times 10^{-8} M$. .	116

LISTA DAS TABELAS

<u>Tabela</u>	<u>página</u>
I - Valores do logaritmo da constante de extração (K) dos metais quelatos com difeniltiocarbazona ditizona - H ₂ Dz) em tetracloreto de carbono (STARY, 1964). . .	37
II - Valor de $\frac{1}{n} \log K$ para os ditizonatos metálicos M(HDz) _n e dietilditioicarbamatos M(DDC) - Solvente: tetracloreto de carbono (STARY e BURCL, 1971)	40

1. INTRODUÇÃO

O mercúrio, metal de transição do grupo II da tabela periódica dos elementos, devido a sua toxidez ao ser humano e aos animais, tem sido uma preocupação cada vez mais crescente com a evolução tecnológica do mundo moderno. Paralelamente, e como consequência, a ciência tem avançado a passos largos no sentido de preservar o meio ambiente, sob todos os aspectos possíveis e dentre eles, desenvolvendo métodos, técnicas e equipamentos cada vez melhores, para a detecção de elementos e compostos nocivos à vida em nosso planeta.

Com o aparecimento do método de análise por diluição isotópica subestequiométrica em 1961, a química analítica teve um desen-

volvimento significativo na determinação de traços de elementos. Até a presente data, mais de uma centena de referências envolvendo a determinação de 35 elementos são disponíveis, como consequência das vantagens deste método de análise.

Organismos internacionais, bem como os de diversas nações, tem se preocupado com o problema da poluição mercurial, incentivando as instituições de pesquisa a desenvolver uma adequada metodologia de análise. Desde então muitos métodos tem sido sugeridos, porém estudos de intercomparação mostram discrepâncias significativas entre eles, principalmente em amostras cujo teor total de mercúrio seja inferior a 100 ppb.

A Agência Internacional de Energia Atômica, um órgão das Nações Unidas, congregando esforços de cientistas de todo o mundo, tem recomendado o método de análise por diluição isotópica subestequiométrica, por ser preciso, de boa reprodutibilidade e de alta sensibilidade. Porém, a metodologia preconizada pela AIEA é muito trabalhosa, morosa e conseqüentemente, de elevado custo, em virtude do grande número de operações necessárias quando não automatizada.

O objetivo principal do presente trabalho, foi o de se aperfeiçoar o método preconizado, tornando-o possível de ser utilizado em análises de rotina de traços de mercúrio, particularmente em vegetais, animais e águas, usadas na alimentação do homem.

2. A IMPORTÂNCIA DO MERCÚRIO NO MEIO AMBIENTE

O objetivo deste capítulo é ressaltar a importância do mercúrio na biosfera, quer como poluente, quer como a serviço do bem estar do homem. Inicia-se por um breve histórico e passa-se a seguir, ao relato dos acontecimentos mais marcantes onde se constataram danos consideráveis ao homem, à fauna e à flora, tão como suas aplicações benéficas.

A história do mercúrio começou há cerca de 4,5 bilhões de anos, quando a terra foi formada (PUTMAN, 1972). Com o passar do tempo, este elemento passou a se distribuir na superfície da terra, aparecendo em rochas, água, ar e organismos vivos. Nos tempos pré-

históricos um homem foi atraído por uma rocha vermelha, apanhou-a, misturou um pouco com água, e descobriu que ela poderia ser usada para desenhar nas paredes das cavernas. A rocha era cinabar, ou seja, um minério de sulfeto de mercúrio. Através deste minério é que se obtém o Hg metálico, como é feito atualmente em Almaden, Espanha, que colabora com 15% da produção mundial (*PUTMAN, 1972*).

Assim como o homem se move em direção progressiva à tecnologia moderna, o mercúrio move-se com ele.

Em 1953, famílias de pescadores que viviam em volta da Baía de Minamata, no Japão, foram tomadas por misteriosa doença neurológica. A doença de Minamata, como ela veio ser chamada, produzia progressivo enfraquecimento dos músculos, perda de visão, debilitação de funções cerebrais, eventuais paralisias e em alguns casos, a morte. As vítimas tinham sofrido injúrias estruturais no cérebro. Logo se constatou que pássaros e gatos domésticos que, como o povo da região, viviam substancialmente de peixes, mostravam sintomas da mesma doença. Este fato levou à descoberta de altas concentrações de compostos mercuriais em peixes pescados na baía, como consequência dos efluentes despejados no mar, na forma de metil mercúrio por uma indústria de plásticos da região (*GOLDWATER, 1971*).

Peixes e crustáceos, bombeando a água através de suas guelras, absorvem e concentram metil mercúrio em seus tecidos, transmitindo-o finalmente ao homem como uma consequência da fauna marinha contaminada (*PUTMAN, 1972*).

Apesar de o cérebro humano apresentar um sistema protetor que barra a maioria das toxinas, um dano catastrófico pode ocorrer devido à habilidade que o mercúrio possui em penetrar na "barreira sangue-cérebro" (*LAGERWERFF, 1973*).

O mercúrio no homem acumula-se, após ingestão, no fígado e

principalmente nos rins. A inalação de Hg^0 provoca retenção no sangue onde ocorre a oxidação parcial por eritrócitos para Hg^{2+} . A acumulação de Hg no cérebro é da ordem de 10 a 15% do total presente no corpo de um indivíduo, sendo que 98% está na forma de metil mercúrio.

A toxidez dos mercuriais é à afinidade dos íons Hg^{2+} pelos grupos - SH, tais como aqueles que ocorrem em proteínas contendo cisteína e cistina. A inativação dos grupos - SH por Hg debilita a saúde do organismo. Observou-se que danos nos cromossomos ocorrem em pessoas com alto teor de mercúrio no sangue depois de assimilarem metil mercúrio de peixes usados na alimentação diária. Os cromossomos apresentam quebras e se fragmentam (GOLDWATER, 1971; PUTMAN, 1972; LAGERWERFF, 1973).

Há mais de 150 anos, vários fungicidas mercuriais têm sido usados para tratamento de sementes, visando ao controle de fungos. Apesar deste tratamento ser notadamente bom, compostos de alquil-mercúrio, especialmente os metil mercúrio utilizados neste controle, não podem ser usados continuamente devido a seu poder acumulativo. Os fungicidas organo mercuriais são largamente aplicados no tratamento de sementes de cereais, forrageiras, leguminosas, oleaginosas, algodão, beterraba, etc. e também para certos bulbos, tubérculos e sementes de hortaliças (SMART, 1968).

Segundo RISSANEN e MIETINEN (1972) e ULFVARSON (1970), os compostos inorgânicos (HgCl , HgCl_2 , HgO) têm sido pouco usados na agricultura, enquanto que centenas de derivados orgânicos o são, em abundância. Todos eles são do tipo R-Hg-X, onde R é um radical orgânico e X é originário de uma substância orgânica ou inorgânica possuindo um átomo de hidrogênio dissociável. Cloretos, brometos, sulfatos, acetatos, são exemplos de X.

Embora o ânion possa modificar as propriedades de um compos

to, ele tem menor importância quando comparado com o radical R. A classificação dos fungicidas baseia-se neste mesmo radical:

a. Compostos de alquil mercúrio:

Metil mercúrio ($\text{CH}_3\text{Hg} -$)

Etil mercúrio ($\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg} -$)

b. Compostos de alcoialquil mercúrio:

Metoxietil mercúrio ($\text{CH}_3\text{OC}_2\text{H}_4\text{Hg} -$)

Etoxietil mercúrio ($\text{C}_2\text{H}_5 \text{ O } \text{C}_2\text{H}_4 \text{ Hg} -$)

c. Compostos de aril mercúrio:

Fenil mercúrio ($\text{C}_6\text{H}_5 \text{ Hg} -$)

Os exemplos acima (*RISSANEN e MIETINEN, 1972*) fornecem os mercuriais mais utilizados na agricultura que atuam como fungicidas em três estágios do desenvolvimento dos fungos, a saber: germinação conidial, formação de apressórios e penetração na superfície da planta.

Uma faixa ampla de utilização do mercúrio pela indústria e pela medicina dá ênfase ao problema levantado. Uma revisão feita por *SAITO (1972)* apresenta diversas aplicações do mercúrio (fabricação de lâmpadas a vapor de mercúrio, manufatura de baterias, fabricação de amálgamas com fins odontológicos, fabricação de papel para finado visando ao controle de doenças de frutos e na medicina como antisséptico). Em vista disto, muito material é rejeitado, tornando-se lixo, e eventualmente, aumentando a poluição deste metal pesado. Por isso, muitas aplicações foram abandonadas devido ao risco a que o mercúrio expõe o homem e os animais. *HOLDEN (1972)* analisa as diversas fontes de mercúrio no respectivo ambiente apresentando uma distribuição zonal de níveis de mercúrio no homem, como também a im-

plicação tóxica conferida pelo metal.

O mercúrio é também usado como catalizador para produzir acetaldeído que produz cloreto de vinil em indústrias de plásticos. Os compostos orgânicos de mercúrios são usados na maioria por indústrias que manufatura preservativos de madeira. Assim, a polpa da madeira é tratada com calomel ou fenil acetato de mercúrio a fim de controlar a formação de limo.

Outra fonte de mercúrio para poluição do nosso meio ambiente, é a queima de carvão e óleo. Antracita é o minério responsável pelo carvão que contém Hg. Supõe-se que até 3000 ton de Hg podem anualmente alcançar a atmosfera devido à queima do carvão (*LAGERWERFF, 1973*).

Deve-se observar que é muito comum identificar indiscriminadamente como maiores agentes de poluição de mercúrio, os seus maiores consumidores. É muitas vezes ignorado, que no mundo todo uma quantidade estimada em 230 toneladas de Hg alcança os oceanos anualmente de fontes naturais (rochas e minerais) que se transformam por processos físicos e químicos, fato este denominado como "poluição geoquímica" por *JOENSUU* em 1971. Por outro lado, 36000 toneladas, por evaporação natural, alcançam a atmosfera.

Dados importantes sobre toxidez de mercúrio em homens e animais foram revisados por *LU et alii (1972)*. Em síntese, intoxicação por vapores de mercúrio metálico é bastante rara, mas morte do indivíduo é notada quando mercúrio metálico é injetado no mesmo (1 a 2 ml). Relativamente, sais de mercuriosos insolúveis não são tóxicos. Por outro lado, cloreto mercúrico é altamente tóxico. A mínima dose letal para o homem foi reportada em torno de 7 mg de $HgCl_2$ /Kg de

peso-corpo. Para os compostos orgânicos é interessante observar a forma do radical pelo qual são formados.

Inalação de compostos de fenil mercúrio em níveis acima de 5 mg Hg/m³ de ar não apresentaram injúrias em seres humanos. A dose letal 50 para ratos varia entre 13 e 70 mg Hg/Kg de peso-corpo. Por outro lado, compostos de metil mercúrio, comumente encontrados nos nossos alimentos quando contaminados, apresentam LD₅₀ para ratos entre 26 e 58 mg/Kg de peso-corpo. Para seres humanos, mortes foram constatadas quando várias pessoas ingeriram milho com 15 a 20 ppm Hg.

BERLIN (1972) afirma que muitos autores asseguram que pessoas expostas a pó de metil mercúrio sofreriam mais injúrias que aquelas expostas a fenil mercúrio mas não provam tal fato.

HOLDEN (1972) registra muitos casos de intoxicação de populações em diversas partes do mundo, devido aos resíduos de mercúrio. Tal fato não concerne somente aos homens, mas também aos animais.

Assim, com relação aos produtos tratados com compostos mercuriais, vários países têm estabelecido "tolerâncias" (máxima concentração de resíduos de pesticidas que é permitida em alimentos) que têm oscilado entre 0 e 0,1 ppm. Em confronto com o problema um grupo de "experts" em resíduos de pesticidas da *WHO (Organização Mundial de Saúde)* e a *FAO (Organização para Alimentos e Agricultura)* sugerem limites práticos que flutuam entre 0,02 ppm a 0,05 ppm (20 a 50 nanogramas de mercúrio por grama de alimento) para cada indivíduo de acordo com as condições locais do ambiente (*FAO/WHO Pesticide Residues in Food, Report of the 1969 Joint Meeting of the FAO Working Party of Experts on Pesticide Residues and the WHO Expert Group on Pesticide Residues, FAO Agricultural Series 84, Roma 1970, p. 39*) citam *RISSANEN e MIETTINEN (1972)*.

Um outro dado interessante é que o mercúrio é tóxico ao organismo em concentrações que variam de 1 a 10 ppm (BERLIN, 1972).

HOLDEN (1972) diz que em estudos realizados com ^{203}Hg , usando metil mercúrio em voluntários humanos, indicaram que o mercúrio era excretado principalmente pelas fezes, e em determinada fase na urina. Concluiu-se que 50% ficam retidos no fígado, e 10% na cabeça (cérebro e parte nos cabelos). A meia-vida biológica encontrada foi de 70 a 74 dias.

Afirma-se que mulheres não podem ficar expostas a compostos de alquil mercúrio durante a maioria de seus anos de fertilidade (BERLIN, 1972). A resposta a estas exposições só será conhecida numa próxima geração.

O presente trabalho já estava concluído quando os jornais brasileiros divulgaram as notícias referentes aos elevados índices de poluição mercurial na Enseada dos Tanheiros, no Estado da Bahia. Tal fato foi fruto dos despejos de uma indústria de soda cáustica da região, no mar. Um controle eficiente e rápido torna-se necessário para saber quanto se "come" de mercúrio no Brasil, principalmente nos pescados, o que só será possível com um laboratório para análises de rotina deste elemento associado a um método de análise com ótima sensibilidade, fácil de ser executado e rápido.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A presente revisão foi dividida em três aspectos distintos, face a importância dos itens abordados, ou seja, métodos analíticos, decomposição de amostras e extração com solventes intimamente relacionados com determinação de mercúrio. No fim de cada parágrafo, referente a cada autor, os métodos são julgados com relação a suas inconveniências ou desvantagens.

3.1. Métodos analíticos

Em 1972, num programa desenvolvido pela Agência Internacional de Energia Atômica, foi publicado um boletim onde foram apre-

sentados diversos trabalhos relacionando o mercúrio com o homem e seu meio ambiente. Neste, *LAMM e RUZICKA*, fazem uma revisão sobre determinação de traços de mercúrio por espectrofotometria, absorção atômica, diluição isotópica, análise por ativação neutrônica, cromatografia de gás e eletrodos seletivos. Um resumo deste trabalho, com a maioria das citações compiladas, associado a uma revisão mais completa e recente (1968 até 1974), salienta os métodos mais importantes que serão descritos neste tópico.

Estes métodos instrumentais se situam entre aqueles que permitem determinação de rotina de mercúrio na faixa de 1 a 0,001 ppm de Hg em diferentes materiais.

Um dos principais métodos analíticos para determinar mercúrio é o *espectrofotométrico do ditizonato de mercúrio*.

O ditizonato de mercúrio (II), $\text{Hg}(\text{HDz})_2$, é um composto de cor alaranjada, insolúvel em água, mas solúvel na maioria dos solventes orgânicos. O tetracloreto de carbono comumente utilizado, permite a extração, e na faixa de onda igual a 485 nm, considerando uma fotocélula de 5 cm de altura, com um volume de 10 ml, um mínimo de 0,2 a 0,5 μg de Hg pode ser teoricamente determinado espectrofotometricamente, desde que não haja preconcentração do mercúrio em soluções muito diluídas.

Assim, *NABRZYSKY (1973)* modificou o procedimento recomendado pela *AMC* (1965)* na determinação de mercúrio por espectrofotometria de ditizonato de mercúrio, aumentando a sensibilidade do método. As amostras foram decompostas através de oxidação por via úmida com mistura de ácido nítrico, sulfúrico e perclórico. No procedimento da *AMC (1965)*, o mercúrio é préconcentrado com ditizona em tetracloreto de carbono com posterior oxidação da ditizona com ní-

* Analytical Methods Committee

trito de sódio que permite separar o mercúrio da fase orgânica para a fase aquosa (HCl diluído) num volume aproximadamente dez vezes mais reduzido. *NABRZYSKY* modificou o método na fase de extração com ditizona, combinando os extratos de ditizonatos obtidos de duas ou mais amostras digeridas e preparando uma outra mais rica em mercúrio. Para amostras com teores mais baixos que 50 ppb, torna-se necessária a combinação com nitrito de sódio fazendo o "back-extraction".

KIWAN e FOUDA (1968) desenvolveram um método para determinar íons de mercúrio (II) e organomercúrio (II), presentes numa mesma amostra, através de diferentes reações estequiométricas com ditizona. O método é bastante interessante, mas sua sensibilidade não é discutida, sendo provavelmente baixa para análise de traços deste elemento, visto que o mercúrio é determinado espectrofotometricamente.

Um outro método interessante e muito utilizado para determinação de mercúrio, é o *espectrofotométrico de absorção* atômica. Este apresenta duas alternativas: com chama e sem chama, sendo que este último explora o fato de que os vapores de mercúrio absorvem radiação de ressonância de 253,7 nm.

HATCH e OTT (1968) descrevem um método extremamente sensível e preciso para determinação de mercúrio abaixo de 1 ppb em solução, a partir de rochas, solos, amostras de níquel e cobalto metálicas. O mercúrio é medido por absorção atômica sem chama, após redução de Hg^{2+} com meio de cloreto de sódio-sulfato de hidroxilamina.

LING (1968) desenvolveu um aparato portátil para determinar mercúrio por absorção atômica sem chama. Amostras de solos e rochas podem ser analisadas sem necessidade de decomposição prévia, como convencionalmente é realizada por via úmida com ácido ní-

trico. Tais amostras foram pirolisadas a 500°C e o mercúrio foi me dido fotometricamente, com sensibilidade de 5 ppb Hg, através de um sistema de fluxo contínuo.

LIDUMS e ULFVARSON (1968) determinaram mercúrio em material vegetal por combustão direta em frasco de oxigênio com posterior me dida espectrofotométrica de absorção de luz ultravioleta de 253,7 nm. Amostras contendo 1 ppb de Hg foram analisadas sem dificuldades. O único inconveniente deste método é a aparelhagem ser bastante complexa para a realização das medidas. Aspectos mais significativos sobre o programa de operação do modelo desenvolvido para análises de materiais vegetais não são discutidos. Espectrofotômetro com alta sensibilidade e expansão de escala são necessários para análises de baixas concentrações de mercúrio.

LINDSTEDT (1970) descreve um método rápido para determinação de mercúrio em urina. Tal método permite esta determinação, após digestão das amostras, na razão de 1 amostra por minuto. O limite de detecção é de 2 ng de Hg por ml de urina.

Interferências de ouro, paládio e platina são significativas, mas na prática, utilizando-se de urina, tais elementos não aparecem em concentração que afetem a sensibilidade do método.

MAGOS (1971) descreve um método para determinação de mercúrio por absorção atômica sem chama em amostras biológicas contaminadas com mercúrio inorgânico e metil mercúrio. O mercúrio inorgânico é medido através da redução de Hg^{2+} para Hg^0 quando se adiciona cloreto de estanho (II), e o mercúrio orgânico é medido pela diferença entre inorgânico e total, sendo que este último é determinado por redução com solução de cloreto de estanho (II) - cloreto de cádmio. A sensibilidade é da ordem de 10 ppb Hg.

MUNS e HOLLAND (1971) determinaram mercúrio em peixes por

absorção atômica sem chama e afirmaram que tal método é o mais sensível e específico para análises desta natureza, recomendando-o como método oficial. *UTHE et alii* (1971) compararam diversos métodos de análise de mercúrio e confirmaram ser este o mais rápido, além das vantagens já descritas.

MAGOS (1972) descreve um método para determinação de mercúrio total e, seletivamente, mercúrio inorgânico por absorção atômica em sangue. O método é suficientemente simples, fazendo duas determinações em 8 minutos, usando padrão interno. A sensibilidade é da ordem de 0,5 ppb Hg.

SKARE (1972) ampliou o método previamente descrito por *LINDSTEDT* (1970), e posteriormente por *LINDSTEDT e SKARE* (1971) em análises de leite, papel, gema de ovos, maçã e alguns materiais de origem vegetal. Com o mesmo procedimento analítico, determinou mercúrio em urina, peixe e sangue. A sensibilidade varia de acordo com o tamanho da amostra, oscilando entre 1 e 100 ppb de Hg. A única limitação deste método é o grau de pureza dos reagentes, que atenua a sensibilidade, devido aos altos valores de Hg nas provas em branco.

HAMM e STEWART (1973) descrevem um procedimento simplificado para medir o teor total de mercúrio em solos. As amostras são digeridas em água régia a baixas temperaturas, seguindo-se a determinação de Hg com a técnica de absorção atômica sem chama. Com este método é possível atingir-se a sensibilidade de 10 ppb Hg.

GRACEY (1973) aplicando o método acima descrito, realizou uma série de estudos com mercúrio no sistema solo-planta. A análise do teor de Hg em plantas foi possível seguindo-se após a digestão das amostras, o mesmo procedimento utilizado para a medida de Hg em solos.

HEAD e NICHOLSON (1973) descrevem uma técnica para determinar mercúrio em materiais geológicos por absorção atômica sem chama, cujo limite de detecção é de 0,001 µg Hg. A digestão das amostras é feita por via úmida com solução ácida de permanganato. Este procedimento acarreta 3 horas de trabalho para cada amostra.

ISSAQ e ZIELINSKI (1974) desenvolveram uma técnica que permite a determinação de Hg por espectrofotometria de absorção atômica através do uso de um atomizador de grafite. Esta técnica mostrou maior sensibilidade do que aquela por absorção atômica sem chama. Cerca de sessenta amostras podem ser analisadas por hora quando se dispõe de amostras concentradas de Hg. O tempo de préconcentração com ditizona é de 1 hora para 10 amostras.

Por outro lado, *fluorescência atômica* também permite determinação de mercúrio.

Por este método é medida a intensidade da fluorescência dos vapores de mercúrio, excitada pela luz de uma lâmpada de mercúrio. O processo difere da espectrofotometria de absorção atômica, pois o feixe de luz excitante é perpendicular ao feixe de luz que alcança a fotocélula.

Com este método, *VICKERS e MERRICK (1968)* determinaram mercúrio em urina em níveis abaixo de 0,1 µg Hg/ml. Desvantagem sobre este procedimento foram discutidos por *BROWNER et alii (1969)*.

THOMPSON e REYNOLDS (1971) apresentam um método para determinar mercúrio por fluorescência atômica, concluindo que o mesmo é mais simples que o de absorção atômica sem chama, no tocante ao sistema analisador empregado. O efeito de memória na fotocélula é minimizado, e bandas de absorção com comprimentos de onda próximas a 253,7 nm não interferem na medida. O limite de detecção é de 0,002 µg Hg. Em amostras líquidas a sensibilidade é de 2 ppb de Hg.

As vantagens deste método são comparáveis com as do método de *LINDSTEDT* (1970).

Uma vez que os limites na concentração máxima permitida de mercúrio em água de mar, rios e lagos, água potável e alimentos são estabelecidos em função do teor total deste elemento, a *cromatografia de gases* foge aos objetivos deste trabalho, visto que tal método só é viável quando se deseja analisar compostos orgânicos de mercúrio individualmente.

Basicamente o método de determinação de compostos organomercuriais por cromatografia de gás se prende à análise de resíduos de metilmercúrio. Normalmente o método envolve a extração de metilmercúrio com benzeno de um extrato homogeneizado de peixe, ou outro material, com água bidestilada em meio acidificado com HCl concentrado. Como as gorduras também são extraídas junto ao solvente, o metilmercúrio é transferido para uma fase aquosa de acetato de cisteína. Posteriormente, esta fase é acidificada com HCl concentrado e o metilmercúrio reextraído com benzeno do qual toma-se uma alíquota que é analisada no cromatógrafo de gás. Este método, desenvolvido por *HOLDEN* (1973), apresenta alta sensibilidade e possibilita 95% de recuperação de metilmercúrio em tecidos de peixes e mamíferos aquáticos. Apesar deste método aparentar rapidez, normalmente um operador pode analisar somente 10 - 12 amostras por dia.

Outros trabalhos, também merecem atenção.

UTHE et alii (1972) apresentaram um método rápido para determinar metilmercúrio em tecidos de peixe com sensibilidade de 0,01 ppm. O método é bastante seletivo em termos de compostos organomercuriais. Em trabalho mais recente, *ZARNEGAR e MUSLAK* (1974) desenvolveram um método para determinar mercúrio inorgânico e orgânico por cromatografia de gás em água e meio biológico. Os limites de detecção variam entre 10 a 30 ng Hg/ml do meio considerado. Mer-

cúrio metálico e inorgânico foram analisados simultaneamente. Este método pode ser considerado como um dos melhores em análises desta natureza.

TALL (1974) descreve um método para determinação de Hg em produtos marinhos enlatados e compara o método de absorção atômica sem chama com o de cromatografia de gás. Com isto demonstra que 89% ou mais do teor de Hg encontrado em atum está na forma de metil-Hg.

A recuperação de Hg em várias amostras foi no máximo de 84% na análise por cromatografia de gás em amostras que continham 0,25 3,0ng CH₃HgCl. Alta sensibilidade associada à boa recuperação indicaram que a cromatografia de gás pode substituir a absorção atômica sem chama quando a mesma não é disponível.

Na natureza, o mercúrio consiste de uma mistura de sete análises estáveis. Estes, quando expostos a um fluxo de neutrons térmicos formam cinco radionuclídeos por reação (n, γ). Desde que todos estes radionuclídeos são emissores gama, cada um deles permite a determinação de mercúrio por *análise por ativação neutrônica*. As reações mais utilizadas neste tipo de análise são ¹⁹⁶Hg(n,γ) ¹⁹⁷Hg e ²⁰²Hg (n, γ) ²⁰³Hg.

Desta forma, *SILVA (1970)* desenvolveu um método para determinar mercúrio em frutos de tomate e industrializados de tomate. O método é bastante trabalhoso envolvendo uma série de passos para determinar mercúrio com sensibilidade de 10 ng Hg. O mesmo trabalho é apresentado em separata por *SILVA e LIMA (1970)*.

Merece mais atenção o trabalho de *NADKARNI e HALDAR (1972)* que desenvolve um método para determinação de mercúrio substequimetricamente por análise por ativação neutrônica, baseado na extração seletiva do complexo Hg (II) - Bindschedler's Green em 1,2 - di-

cloroetano. "Bindschedler's green" é uma leuco base (BG), 4,4 - bis (dimetilamina) - difenilamina, que é oxidada na forma de BG^{+} . O íon Hg^{2+} é convertido em um ânion bromo complexo e é extraído com BG^{+} ($BG^{+} Hg Br_3^{-}$). Tanto amostras biológicas como geológicas podem ser analisadas por este método. Adptado à diluição isotópica apresentaria desvantagens no tocante ao custo dos reagentes e também no que tolhe a um número mais elevado nos passos realizados para análise. A sensibilidade do método não é discutida.

Dentre os trabalhos mais interessantes na análise por ativação neutrônica, situam-se também o de *KOSTA e BYRNE (1969)*; *FILBY et alii (1970)*; *ROOK et alii (1972)*; *HEITZMANN e SIMPSON (1972)*.

O primeiro trabalho realizado com o método de *diluição isotópica subestequiométrica* foi apresentado por *RUZICKA e STARY (1961)*.

Traços de mercúrio foram determinados em 15 ml de solução contendo 4 ml de ácido sulfúrico 50% e 1 ml de cloridrato de hidroxilamina 10%. A extração subestequiométrica foi feita com solução de ditizona $2 \times 10^{-5} M$. A sensibilidade foi de 10^{-8} a 10^{-9} g/ml com solução $4 \times 10^{-7} M$ de ditizona. Interferências não foram notadas com excesso (500 vezes a concentração de Hg) de cádmio, cobalto, cobre, chumbo, ferro, manganês, tálio, zinco, prata, bismuto e níquel.

RUZICKA e LAMM (1968) adaptaram o método de diluição isotópica subestequiométrica, previamente descrito por *RUZICKA e STARY (1961)* e por *BRISCOE et alii (1967)*, a um sistema automático de análises. A sensibilidade obtida foi extremamente elevada, 0,3 ppb de Hg, mas o volume da fase aquosa era de 2 ml. A extração foi feita com ditizonato de zinco, e a interferência de bismuto foi contornada com solução de EDTA. A única desvantagem do método é o elevado custo do equipamento associado a baixo rendimento (no máximo 10 amostras por hora são analisadas quando a concentração de Hg varia entre 0,0003 e 0,24 ppm).

RUZICKA e LAMM (1969) adaptaram o método desenvolvido em soluções puras (*RUZICKA e LAMM, 1968*) para determinar mercúrio em materiais biológicos. As amostras eram queimadas em frasco de combustão e o mercúrio recuperado em HCl 0,1M. Todo mercúrio era extraído com solução de ditizona em tetracloreto de carbono e posteriormente reextraído em HCl diluído. Esta fase aquosa era então analisada automaticamente. Quantidades entre 2 e 0,00004 ppm Hg foram determinadas em vários materiais. Resultados de amostras padrão da Agência Internacional de Energia Atômica mostraram concordância com análise por ativação neutrônica.

Tais autores salientaram a maior simplicidade e rapidez deste método quando comparado com análise por ativação.

LAMM e RUZICKA (1972) compararam o método de diluição isotópica subestequiométrica com aqueles já descritos (comparação baseada na revisão de literatura por eles realizada até 1970) mostrando que este método é o melhor quanto à simplicidade, seletividade, sensibilidade e rapidez. Provavelmente, nos dias de hoje esta idéia possa ser considerada ultrapassada, visto o profundo desenvolvimento do método por absorção atômica sem chama.

Finalmente, uma técnica que não parece ser muito promissora na determinação de traços de mercúrio é aquela com *eletrodos seletivos*.

RUZICKA e TJELL (1970) aplicaram esta técnica a soluções de ditizonatos metálicos, desenvolvendo toda teoria e experimentação para medir-se concentrações de Hg^{2+} com sensibilidade de 2 $\mu\text{g Hg/ml}$. Interferências de Cl^- , CN^- foram observadas.

3.2. Decomposição de amostras

LAMM e RUZICKA (1972) discutiram a possibilidade de se usar dois métodos, ambos destrutivos, nos quais as amostras são completamente decompostas, a fim de que todo o mercúrio seja recuperado para que a análise proceda. Geralmente, temos duas alternativas que podem ser adotadas: decomposição por via seca ou por via úmida. Assim, por exemplo, amostras de soluções aquosas, urina, metais, solos ou minerais, têm que ser decompostas por via úmida, ao passo que amostras de materiais biológicos, sementes, alimentos, papel; etc., podem ser decompostas das duas formas. Entretanto, mesmo quando uma escolha é possível entre estas alternativas, a combustão a seco é sempre preferível. A presente revisão ilustra várias formas de decomposição associadas aos respectivos métodos de análise segundo uma disposição lógica, com mais ênfase ao método de decomposição por via seca, escolhido para o presente trabalho.

Com relação ao método de decomposição por via seca, *MACDONALD (1964)* apresentou uma revisão sobre o frasco de oxigênio, onde destaca que este método foi introduzido em 1892 por *Hempel*, mas somente em 1955 é que *SCHÖNIGER* mostrou sua utilidade, motivo porque o método tem hoje seu nome: "Schoniger-flask method". O método tem a vantagem de ser simples e rápido, e apesar de seu uso não ser frequente em nossos laboratórios, pode-se afirmar que o mesmo traz grandes proveitos em análises de materiais orgânicos. Essencialmente, o método consiste em confirmar a amostra em envoltório, normalmente papel, suspensa em um frasco fechado com atmosfera de oxigênio e uma solução absorvedora de íons, adequada para o elemento que se de seja analisar.

Assim, *SOUTHWORTH et alii (1958)* determinaram mercúrio em compostos orgânicos baseados no método de combustão de *SCHÖNIGER (1955)*. Após a queima da amostra, o mercúrio era absorvido em ácido nítrico concentrado. Posteriormente, o pH era ajustado a 7,5 e

o mercúrio titulado amperometricamente com EDTA.

O frasco Schöniger de combustão teve sua primeira utilização, para determinação de resíduos de mercúrio em materiais biológicos, em 1960 por *GUTENMANN e LISK*. Tecido de maçã (10 gramas) foi seco, envolto em papel celofane, e queimado em balão de fundo chato de 5 litros, que possuía um balão de borracha numa saída lateral para controlar a pressão exercida contra as paredes do frasco durante a combustão da amostra. Os íons de mercúrio foram determinados pelo método espectrofotométrico do ditizonato de mercúrio. A recuperação do mercúrio adicionado às maçãs foi de 84%. Vinte amostras eram analisadas por dia com cada balão.

LISK (1962) apresentou uma revisão sobre o método do frasco de oxigênio para diversos elementos: mercúrio, selênio, cloro, manganês e níquel, descrevendo suas particularidades e salientando que o método deve ser recomendado para análises de mercúrio e selênio.

Em 1963, *BERCK* usou o frasco de combustão para determinar resíduos de mercúrio em sementes tratadas com fungicidas mercuriais. Amostras tão pequenas quanto uma única semente podiam ser analisadas, mas maior precisão foi obtida com um número grande de sementes. A recuperação média de acetato de fenil mercúrio em trigo, cevada, aveia, centeio e linho com 1 a 7 µg de Hg foi de 89 a 104%, com erro padrão de 8,4 a 8,5% para o trigo e linho. *JONES e SCHWARTZMAN (1963)* também usaram o frasco de combustão para determinar resíduos de mercúrio em trigo.

RAJAMA et alii (1964) usaram o método do frasco de oxigênio para determinar resíduos de mercúrio em ovos. A amostra era primeiro liofilizada, e tabletes com 1 a 1,5 gramas eram preparados com o produto seco para posterior combustão. Os produtos da combustão eram extraídos com ditizona e o mercúrio determinado espectrofotometricamente.

O método era sensível para 0,1 ppm de mercúrio. Até esta data, segundo a revisão do autor, a literatura não cita a perda de mercúrio durante a liofilização de produtos tratados com organo-mercúrais.

PAPPAS e ROSEMBERG (1966) utilizaram o frasco de combustão para determinação de mercúrio em sementes. Amostras de 1 grama eram queimadas, e os produtos de combustão eram absorvidos em ácido clorídrico. Após neutralização, os íons de mercúrio eram coletados na forma de sulfetos e posteriormente co-precipitados. O mercúrio foi determinado por absorção atômica sem chama. A recuperação de mercúrio com níveis entre 0,01 e 2,00 ppm foi de 86%.

RUZICKA e LAMM (1969) modificaram o método descrito por *GUTENMANN e LISK (1960)*, usando um balão de fundo chato de 2,0 litros com saída lateral, na qual também acoplaram um balão de borracha. Neste trabalho eles discutiram que sérias perdas de mercúrio poderiam ocorrer devido à presença de agentes redutores, resultando uma extração incompleta do mercúrio por ditizona. Afirmam que iodeto e sulfeto evitam de certa forma, a extração do mercúrio e para remover estes íons, pequenas quantidades de permanganato ou peróxido de hidrogênio foram adicionados à solução absorvedora. Assim, amostras de maçã, farinha, fígado, batata, peixe, ovos e outros alimentos, contendo menos que 30% de umidade, foram queimadas no frasco de oxigênio. A recuperação do mercúrio foi de aproximadamente 100% em todas as amostras. O mercúrio foi analisado por diluição isotópica subestequiométrica.

BACHE et alii (1971) utilizaram um frasco de combustão de 5 litros para decompor amostras de peixes previamente secas em dissecador. O mercúrio, após a combustão da amostra, foi recuperado em solução contendo 100 ml de HCl 0,1 M e 4 ml de KMnO_4 0,02 M. A recuperação média do mercúrio adicionado a 1 grama de tecido de peixes, foi de $83,3 \pm 6,73\%$. A sensibilidade, 0,5 ppm Hg, foi baixa

devida ao método espectrofotométrico do ditizano de mercúrio, em pregado na análise.

OKUNO et alii (1972) utilizaram o frasco de combustão para determinar mercúrio em amostras biológicas. Amostras de 1 grama foram queimadas, e o mercúrio foi recuperado em 20 ml de HCl 10%. A recuperação foi da ordem de 91,4% para amostras contendo 0,01 a 1,0 ppm de Hg. Com 12 frascos de combustão, pôde-se analisar rotineiramente 12 ou mais amostras por dia. O mercúrio foi determinado por absorção atômica sem chama.

O método de decomposição de amostras por via úmida sofreu uma série de mudanças com relação ao recomendado pela *AMC (1965)*.

JEFFUS e ELKINS (1970) apresentam um método bastante trabalhoso para determinar mercúrio em amostras biológicas. Tais amostras são digeridas em ácido nítrico, sulfúrico e em permanganato de K, seguidas de redução com meio de NaCl - NH₂OH HCl. Apesar de os autores afirmarem que o método é simples, 4 horas são necessárias para que cada amostra seja analisada. A sensibilidade é da ordem de 1 ppb Hg, utilizando-se o método de *HATCH e OTT (1968)*, onde o mercúrio é determinado por absorção atômica sem chama.

HOOVER et alii (1971) determinaram mercúrio com alta precisão, ao nível de 0,01 µg Hg, em alimentos, por absorção atômica sem chama. A digestão das amostras com ácido nítrico a quente permitiu recuperação de Hg em torno de 95 a 102%.

THORPE (1971) descreveu um método para determinar mercúrio em peixes e outros produtos alimentícios por absorção atômica sem chama. As amostras foram digeridas por via úmida com H₂SO₄ e KMnO₄ e a recuperação do mercúrio em amostras de peixes e ovos foi da ordem de 90% para fenil mercúrio, e 75% para metil mercúrio. Com este método foi capaz de detectar, 0,05 a 10,0 µg Hg em amostras cujos

pesos variaram entre 1 e 3 gramas.

MALAIYANDI e BARRETE (1972) descreveram um método de digestão para grãos de cereais utilizando uma mistura de ácidos nítrico e sulfúrico em presença de pentóxido de vanádio, tornando-a mais rápida que a digestão convencional. O mercúrio é analisado por absorção atômica sem chama, com sensibilidade de 1 ppb Hg. A vantagem deste método é que as amostras são digeridas em apenas 1 hora quando comparado com o método de *JEFFUS e ELKINS (1970)*. Os autores deste trabalho criticam o método do frasco de combustão, afirmando que as amostras devem ser pequenas (no máximo 1 grama), contendo alto teor de mercúrio, com o que não concordo.

KRINITZ e HOLAK (1974) descreveram um método rápido para digestão de alimentos marinhos usando um sistema fechado com vaso de Teflon. Tal método, descrito previamente por *HOLAK et alii (1972)* permite digestão de 1 grama de amostra fresca em 5 ml de HNO_3 , em vaso de Teflon, após queima por 1 hora em estufa a 150°C . O mercúrio foi determinado pelo método de *HATCH e OTT (1968)*. É possível determinar-se concentração menor que 0,1 ppm de Hg, embora a sensibilidade deste método de digestão não seja discutida.

ALBERTS et alii (1974) apresentaram um trabalho sobre determinação de mercúrio em água natural, com prévia oxidação da matéria orgânica por persulfato de potássio e subsequente análise por absorção atômica sem chama. O preparo da amostra acarreta cerca de três horas, e após este procedimento, 30 a 40 amostras ao nível de 10 ppb de Hg podem ser analisadas em 1 hora.

VOYCE e ZEITLIN (1974) descreveram um novo método para extrair Hg da água do mar quantitativamente e determiná-lo a níveis tão baixos quanto $0,02 \mu\text{g}/\text{l}$. O mercúrio, presente em 25 amostras, pode ser separado em 2 horas. A análise é feita por absorção atômica sem chama.

A revisão seguinte refere-se a outros métodos de decomposição.

PIGATTI et alii (1967) apresentaram um método de combustão em sistema aberto para determinação de resíduos de mercúrio em tomate. As amostras foram previamente secas em estufa a 50^oC, para que se procedesse a combustão. O mercúrio, recuperado em permanganato de potássio, foi analisado pelo método espectrofotométrico do ditizonato de mercúrio. A sensibilidade foi de 50 ppb Hg, mas o tempo para desenvolvimento da cor foi extremamente longo (45 minutos). O sistema de combustão é altamente complexo.

FUJITA et alii (1968) determinaram mercúrio pelo método da bomba de combustão de oxigênio, e afirmam que o método de combustão sugerido por *SCHÖNIGER (1955)*, apesar de rápido e sensível, só é viável em amostras muito pequenas, com o que não concordo. O método sugerido por *FUJITA et alii* permite recuperação de Hg da ordem de 94% em amostras de 1 grama de arroz, sendo que, no máximo, podem ser analisadas 4 gramas. O processo de determinação do mercúrio é lento, pois é necessário pré-concentrá-lo em ditizona, para posterior análise por absorção atômica. A sensibilidade será de 100 ppb Hg.

BRETHAVER et alii (1974) apresentaram um método de extração de Hg em amostras vegetais de 10 gramas, com recuperação em torno de 85%, com uma bomba de combustão de oxigênio. A sensibilidade é relativamente baixa, menor que 60 ppb Hg para amostras de alfafa. Os estudos de recuperação foram realizados com mercúrio-203 e o mercúrio estável foi analisado por espectrofotometria de absorção atômica.

3.3. Extração com solventes: agentes quelantes envolvidos na determinação de mercúrio (II)

Os trabalhos de maior importância na extração de mercúrio (II), referem-se aos agentes quelantes difeniltiocarbazona (ditizona) e dietilditiocarbamato em tetracloreto de carbono. Eles não constam deste ítem da revisão porque serão analisados com maior atenção no capítulo 4, ítem 4.3. (*STARY, 1964; RUZICKA e STARY, 1968; STARY e KRATZER, 1968; STARY e BURCL, 1971; STARY, 1973*). Mesmo assim, dar-se-á ênfase a outros trabalhos que também são considerados úteis na avaliação dos agentes quelantes escolhidos.

MAY e SCHUBERT (1961) descreveram uma série de reagentes orgânicos como agentes quelantes em aplicações inorgânicas. Dentre eles situam-se o zincon (2-carboxi-2'-hidroxi-5'-sulfoformazilbenzeno) com interferência de zinco; o 2-(0-Hidroxifenil) benzimidazol com interferência de ferro; o mercaptobenzotiazol para vários elementos além do mercúrio; e a ditizona, idem, idem. Considerações especiais são dadas a dois agentes quelantes escolhidos para o propósito deste trabalho: difeniltiocarbazona e dietilamoneo dietilditiocarbamato.

ELLIOT e BANKS (1965) estudaram a extração de vários metais, incluindo Hg (II), com sulfeto de tri-n-octilfosfina em tetracloreto de carbono. Afirmam que este agente complexante é muito mais seletivo como extrator em ácido clorídrico, que em ácido nítrico. Somente Au (III) e Hg (II) são extraídos de solução aquosa de ácido clorídrico.

MORRISON e FREISER (1966) recomendam os métodos do dietilditiocarbamato e da ditizona. As características destes dois agentes quelantes são apresentadas com detalhes. As constantes de extração para os ditizonatos metálicos diferem significativamente das calculadas por *STARY (1964)*. Recomendam separação de Hg^{2+} em solução áci

da diluída (0,1 - 0,5 N).

STARY e RUZICKA (1968) determinaram constantes de troca e extração de ditizonatos (H_2Dz) e dietilditiocarbamatos (DDC), através do método de *RUZICKA e STARY (1967)*. Estes autores mostraram que paládio (II) possui constantes de extração maiores que 27 e 28 respectivamente para $Pd(HDz)_2$ e $Pd(DDC)_2$, possibilitando interferência na determinação de mercúrio (II) que possui constantes iguais à 26,79 e 31,9 para $Hg(HDz)_2$ e $Hg(DDC)_2$.

KUKULA e SIMKOVA (1970) estudaram a extração de Hg^{2+} em presença de Au^+ e Cu^{2+} com dietilditiocarbamato de zinco em clorofórmio. A separação destes elementos de amostras vegetais irradiadas mostrou-se favorável para Hg^{2+} e embora o Au^+ possa interferir, sua concentração é desprezível quando comparada com Hg^{2+} . Íons brometo interferem na extração e uma prévia extração deste elemento torna-se necessária.

TANDON et alii (1971) estudaram a extração de Hg^{2+} com 2-aminobenzotiazol com diferentes solventes orgânicos. Etil-acetato e eter diisopropil foram os melhores solventes quando comparados com clorofórmio e tetracloreto de carbono entre pH 3,5 e 7,0. Ag^+ e Au^{3+} interferem na extração. Ag^+ é removido com cloreto e Au^{3+} forma complexos na razão de 2% em presença de Hg^{2+} . A presença de SCN^- , CN^- e I^- , na forma de sais, diminuem significativamente a extração.

VEVERIS et alii (1971) estudaram a aplicação de 8-mercaptoquinolina na separação de vários elementos. A extração de mercúrio (II) sofre interferências de cobre (II) e ferro (III) apesar do coeficiente de distribuição para o $Hg(tox)_2$ ser maior que $Cu(tox)_2$ e $Fe(tox)_3$. Não é possível separação por escolha de pH.

JOSHI et alii (1973) estudaram a extração de zinco (II), cádmio (II) e mercúrio (II) com vários solventes orgânicos usando

tiocarbhidrazida como agente complexante. O mercúrio pode ser separado de cádmio por uma escolha adequada de pH (entre 0 e 2), por um solvente orgânico (benzeno, clorofórmio ou tetracloreto de carbono a pH 1) e por mascaramento de Zn (II) com citrato ou tartarato.

RIEDEL (1973) realizou um estudo sistemático sobre a extração de metais usando n-benzoil-n-fenil hidroxilamina com elementos marcados. Apesar de concluir que para o mercúrio (II) o logarítmo da constante de extração é maior que 1,5 em clorofórmio, para o ferro (III) tal valor é igual a 5,27 e para o Co (II) igual a 1,02, de notando alta interferência de Fe^{3+} e Co^{2+} na extração de Hg^{2+} . Não é possível separação de Fe^{3+} ajustando-se o pH.

4. ASPECTOS TEÓRICOS FUNDAMENTAIS

4.1. Análise por diluição isotópica

A análise por diluição isotópica se baseia na mudança da atividade específica causada pela mistura de um isótopo radioativo com seu isótopo estável a ser analisado. Este método foi sugerido por *HEVESY e HOBBIE* em 1932 e introduzido por *Hevesy e Hofer** em 1934. A grande vantagem deste método, quando comparado a outros métodos analíticos, é que, para se proceder à análise de um elemento ou composto, não é necessário isolar quantitativamente o componente a ser determinado em uma amostra ou mistura qualquer. O método de análise por diluição isotópica tem, basicamente, duas alternativas: direta e inversa, das quais dar-se-á ênfase somente à primeira variação.

* *HEVESY, G. & HOFER, E. Nature, 134:879, 1934.*

4.1.1. Diluição isotópica direta

A técnica consiste em determinar a quantidade de um elemento estável em uma mistura conhecida, da qual é difícil de separá-lo quantitativamente por métodos convencionais.

CHASE e RABINOWITZ (1968) desenvolveram um modelo didático para demonstrar a equação fundamental da diluição isotópica direta, adaptado neste trabalho em confronto com o modelo apresentado em *OVERMAN e CLARK (1960)*.

Depois de se adicionar uma quantidade Y do elemento marcado com seu isótopo radioativo, possuindo uma atividade específica S_o , a uma amostra contendo uma quantidade X desconhecida do elemento a ser determinado, ter-se-á uma atividade específica S_x . Desde que o número de átomos radioativos permanece constante antes e depois da mistura ser realizada, pode-se afirmar que as atividades antes e depois da mistura permanecem constantes, e que no equilíbrio isotópico pode ser expressa como:

$$Y \cdot S_o = (X + Y) \cdot S_x$$

Esta equação conduz à equação fundamental da diluição isotópica direta

$$X = Y \left(\frac{S_o}{S_x} - 1 \right) \dots \dots \dots (1)$$

onde

$$S_o = \frac{A_o}{m_o} \quad e \quad S_x = \frac{A_x}{m_x}$$

Sendo:

A_o = Atividade do elemento marcado correspondente à massa isolada m_o da amostra padrão (não diluída isotopicamente).

A_x = Atividade do elemento marcado correspondente à massa isolada m_x da amostra cujo elemento marcado foi diluído isotopicamente.

4.2. Diluição isotópica subestequiométrica

Uma das limitações da análise por diluição isotópica direta é a determinação da atividade específica S_x . Assim, é necessário isolar uma quantidade suficiente do elemento para tornar possível não só a determinação de sua atividade, mas também de sua quantidade. Este problema pode ser contornado pela subestequiometria.

O princípio da diluição isotópica subestequiométrica foi apresentado por *RUZICKA e STARY (1961)*, e se fundamenta no seguinte princípio:

— "Se isolarmos sempre as mesmas quantidades do elemento da solução com atividade original e da solução obtida por diluição com o elemento a ser determinado, então as atividades específicas S_o e S_x podem ser substituídas pelas atividades relativas, medidas nas mesmas condições". Isto é possível se isolarmos estas quantidades subestequiometricamente, implicando em $m_o = m_x$. Desta forma a equação fundamental da diluição isotópica direta se reduz a:

$$X = Y \left(\frac{A_o}{A_x} - 1 \right) \dots \dots \dots [2]$$

Assim, não é necessário conhecerem-se os valores m_o e m_x para calcular a quantidade do elemento a ser determinado, uma vez que é suficiente saber a relação entre atividades (A_o/A_x), e a quantidade do elemento marcado (Y) adicionado à solução a ser analisada.

O esquema da Figura 1 mostra uma síntese do procedimento analítico.

Como existe uma correspondência direta entre atividade e taxa de contagens de isótopo radioativo nas amostras, pois a eficiência de detecção no caso é uma constante, a equação (2) pode ser colocada na forma:

$$X = Y \left(\frac{C_{L_o}}{C_{L_x}} - 1 \right) \dots \dots \dots (3)$$

onde:

$$C_{L_o} = C_{B_o} - C_F \quad e$$

$$C_{L_x} = C_{B_x} - C_F$$

sendo:

C_{L_o} = Taxa de contagem líquida da amostra padrão (cpm).

C_{L_x} = Taxa de contagem líquida da amostra diluída isotopicamente (cpm).

C_{B_o} = Taxa de contagem bruta da amostra padrão (cpm).

C_{B_x} = Taxa de contagem bruta da amostra diluída isotopicamente (cpm).

C_F = Taxa de contagem da radiação de fundo (cpm).

Por outro lado,

$$C_{B_o} = \frac{N_{B_o}}{t_o}$$

$$C_F = \frac{N_F}{t_F}$$

$$C_{B_x} = \frac{N_{B_x}}{t_x}$$

onde:

N_{B_o} = Total de impulsos acumulados no tempo t_o (min.) da amostra padrão.

N_{B_x} = Total de impulsos acumulados no tempo t_x (min.) da amostra diluída isotopicamente.

N_F = Total de impulsos acumulados no tempo t_F (min.) da radiação de fundo.

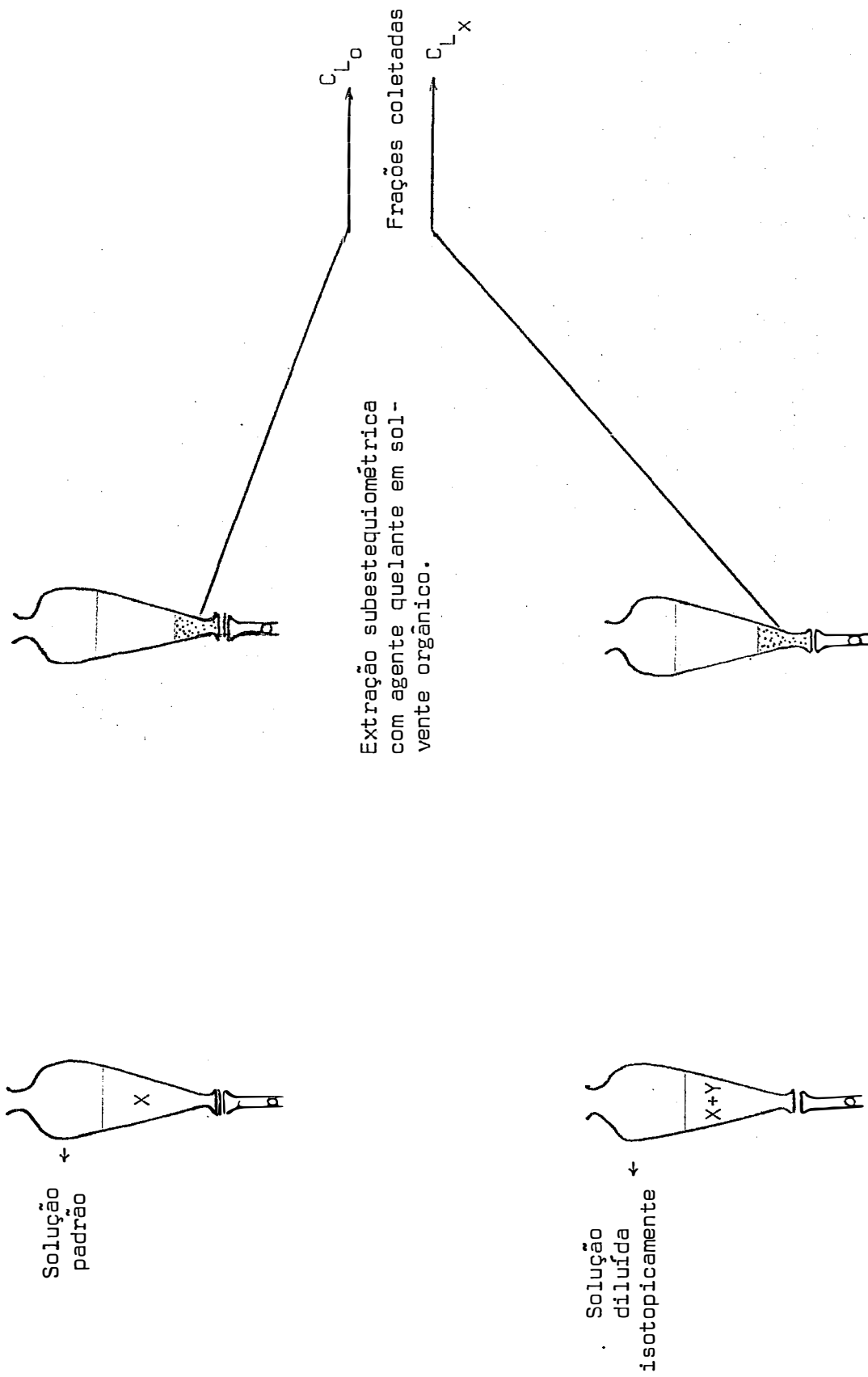


Figura 1 - Esquema teórico do procedimento analítico da análise por diluição isotópica subestequiométrica.

4.3. Extração com solventes orgânicos

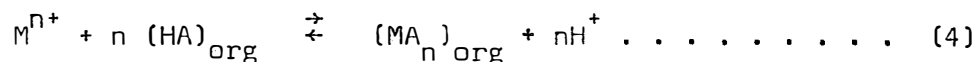
4.3.1. Seletividade e especificidade

Segundo *MARTELL e CALVIN (1953)*, o termo seletividade tem sido geralmente empregado em química analítica para indicar que um certo composto reage com um número limitado de íons metálicos. Por outro lado, especificidade significa geralmente que um composto reagirá com somente um íon metálico, de acordo com as condições empregadas. Muito tem sido escrito sobre especificidade de certas estruturas orgânicas que permitem a precipitação e a análise de um determinado íon metálico na presença de outros íons. Reagentes desta natureza quase sempre formam complexos ou quelatos com o metal.

Uma das formas de se extrair o complexo formado é através de solventes orgânicos e a seletividade e especificidade deste método se prende a dois aspectos importantes: constante de extração e pH.

4.3.1.1. Constante de extração

Considere-se inicialmente o agente complexante na sua forma livre HA. Segundo o processo de extração (*RUZICKA e STARY, 1968*):



onde o subscrito org denota a fase orgânica, a constante de equilíbrio (K) deste processo, também conhecido por constante de extração, é dada pela relação:

$$K = \frac{[MA_n]_{org} [H^+]^n}{[M^{n+}] [HA]_{org}^n} \dots \dots \dots (5)$$

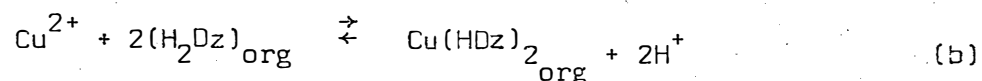
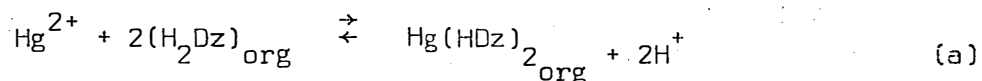
Sabe-se que cada reagente orgânico forma complexos extraíveis somente com um certo número de metais. Torna-se evidente que um metal extraível pode ser determinado na presença de qualquer excesso de metais não extraíveis. Por outro lado, alguns dos elementos que aparecem na Tabela I, extraída de *STARY (1964)*, podem ser determinados na presença de todos os metais mencionados na mesma que não são extraídos com difeniltiocarbazona (ditizona - H_2Dz) em tetracloreto de carbono.

Tabela I - Valores do logaritmo da constante de extração (K) dos metais quelatos com difeniltiocarbazona(ditizona - H_2Cz) em tetracloreto de carbono (STARY, 1964).

Cátion	logK	Cátion	logK
Ag ⁺	7,18	In ³⁺	4,84
Al ⁺	n	La ³⁺	n
Am ³⁺	n	Lu ³⁺	n
Ba ²⁺	n	Mg ²⁺	n
Bi ³⁺	9,98	Mu ²⁺	n
Ca ²⁺	n	H ₂ MoO ₄	n
Cd ²⁺	n	Nd ³⁺	n
Ce ³⁺	n	Ni ²⁺	1,18
Cf ³⁺	n	Pa ⁴⁺	n
Cm ³⁺	n	Pb ²⁺	0,44
Co ²⁺	1,53	Pd ²⁺	> 27
Cu ²⁺	10,53	Pm ³⁺	> 2
Dy ³⁺	n	Po ⁴⁺	n
Er ³⁺	n	Pr ³⁺	n
Eu ³⁺	n	Pu ⁴⁺	n
Fe ³⁺	n	Se ³⁺	n
Fm ³⁺	n	Sm ³⁺	n
Ga ³⁺	- 1,3	Sr ²⁺	n
Hf ⁴⁺	n	Tb ³⁺	n
Hg ²⁺	26,85	Th ⁴⁺	n
Ho ³⁺	n	Tl ⁺	- 3,3
		Tl ³⁺	n
		Tm ³⁺	n
		U ⁴⁺	n
		Y ³⁺	n
		Yb ³⁺	n
		Zn ²⁺	2,3
		Zr ⁴⁺	n

n = não extraídos

Uma determinação seletiva de um certo metal pode ser realizada, mesmo na presença de metais que também formam complexos extraíveis com o reagente empregado. Como exemplo podemos citar as reações que ocorrem com mercúrio e cobre quando utilizamos ditizona como reagente em tetracloreto de carbono:



Desta forma, ter-se-á, segundo a equação (5), para as reações (a) e (b), os valores das constantes de extração K_a e K_b (Tabela I).

$$K_a = \frac{[\text{Hg}(\text{HDz})_2]_{\text{org}} [\text{H}^+]^2}{[\text{Hg}^{2+}] [\text{H}_2\text{Dz}]_{\text{org}}^2} = 10^{26,85}$$

$$K_b = \frac{[\text{Cu}(\text{HDz})_2]_{\text{org}} [\text{H}^+]^2}{[\text{Cu}^{2+}] [\text{H}_2\text{Dz}]_{\text{org}}^2} = 10^{10,53}$$

Fazendo-se K_a/K_b , obter-se-á:

$$\frac{[\text{Hg}(\text{HDz})_2]_{\text{org}}}{[\text{Cu}(\text{HDz})_2]_{\text{org}}} = \frac{10^{26,85} [\text{Hg}^{2+}]}{10^{10,53} [\text{Cu}^{2+}]}$$

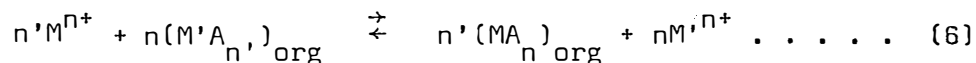
Nota-se que neste caso a relação $\frac{[\text{Hg}(\text{HDz})_2]_{\text{org}}}{[\text{Cu}(\text{HDz})_2]_{\text{org}}}$ independe

de do pH e da concentração da ditizona $(\text{H}_2\text{Dz})_{\text{org}}$. Assim, a concentração dos íons de mercúrio, na fase orgânica, será 10^{16} vezes maior

que a concentração dos íons de cobre. Quando a concentração de ditizona for muito maior que a estequiométrica para complexar o mercúrio, os íons de cobre poderão ser extraídos quase totalmente.

Do exposto, é evidente que o metal complexado tendo maior valor de K (equação 5) pode ser separado de outros metais que formam complexos extraíveis com o mesmo reagente orgânico. Nota-se pela Tabela I, que dentre os valores encontrados somente paládio tem constante com valor próximo à do mercúrio, o que o coloca como possível interferente na extração, mais especificamente na subestequiométrica.

Numa segunda etapa, considere-se agora, o agente quelante já ligado a um metal $M'A_n$:



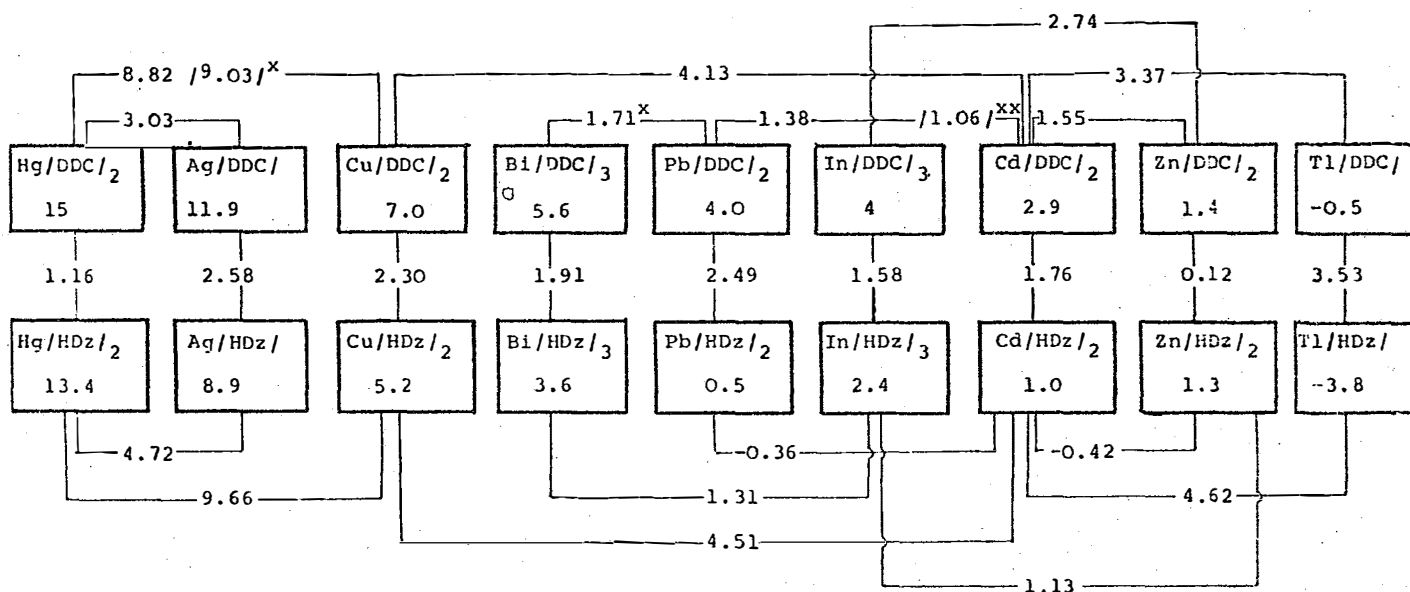
Embora a reação de troca entre íon metálico M^{n+} na fase aquosa e o quelato de um outro metal $M'A_n$, na fase orgânica seja frequentemente usada em determinações radioquímicas, somente alguns trabalhos falam sobre estes equilíbrios heterogêneos (*STARY, 1964; STARY e KRATZER, 1968; STARY e BURCL, 1971*).

As constantes de equilíbrio da reação de troca de um íon metálico na fase aquosa e o ditizonato e dietilditioicarbamato de um outro metal foram determinadas por *STARY e BURCL (1971)*, a fim de encontrar os melhores valores das constantes de extração para os metais quelatos estudados.

As constantes de equilíbrio das reações de troca estudadas estão resumidas na Tabela II. Estas constantes foram usadas neste trabalho para se estimar as condições ótimas na determinação de traços de mercúrio. A Tabela II foi extraída do trabalho de *STARY e*

BURCL (1971), e se pode observar que os maiores valores de $\frac{1}{n} \log K$ pertencem ao ditizonato e dietilditiocarbamato de mercúrio.

Tabela II - Valor de $\frac{1}{n} \log K$ para os ditizonatos metálicos $M(HDz)_n$ e dietilditiocarbamatos $M(DDC)_n$ - solvente: tetracloreto de carbono (STARY e BURCL, 1971).

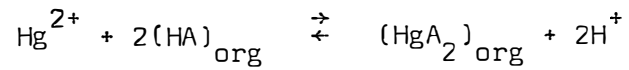


Nota: Os valores de $\frac{1}{n} \log K$ estão dentro dos retângulos; os números entre as linhas indicam as diferenças entre os retângulos considerados.

4.3.1.2. pH

De acordo com IRVING e SCHUBERT (1961), "virtualmente todos os agentes quelantes são ácidos ou bases fracas e, conseqüentemente, o pH da solução exerce um efeito bastante importante não somente na solubilidade do reagente, mas também na formação dos complexos de íons metálicos".

A reação entre um íon metálico com a forma ácida de um agente quelante, por exemplo:



resulta na liberação de íons hidrogênio e uma conseqüente mudança no pH.

Assim, também para os ditizonatos, e dietilditiocarbamatos, pode-se afirmar que a formação de seus complexos metálicos se processa em diferentes valores ótimos de pH. Nestas condições, o ajustamento do pH das soluções aquosas permite efetuar separações de diversos íons metálicos mediante extração, como exemplo, de mercúrio (II) com solução de ditizona em tetracloreto de carbono.

A Figura 2 mostra o efeito do pH na extração de vários metais com um excesso de ditizona em tetracloreto de carbono, segundo *RUZICKA e STARY (1968)*.

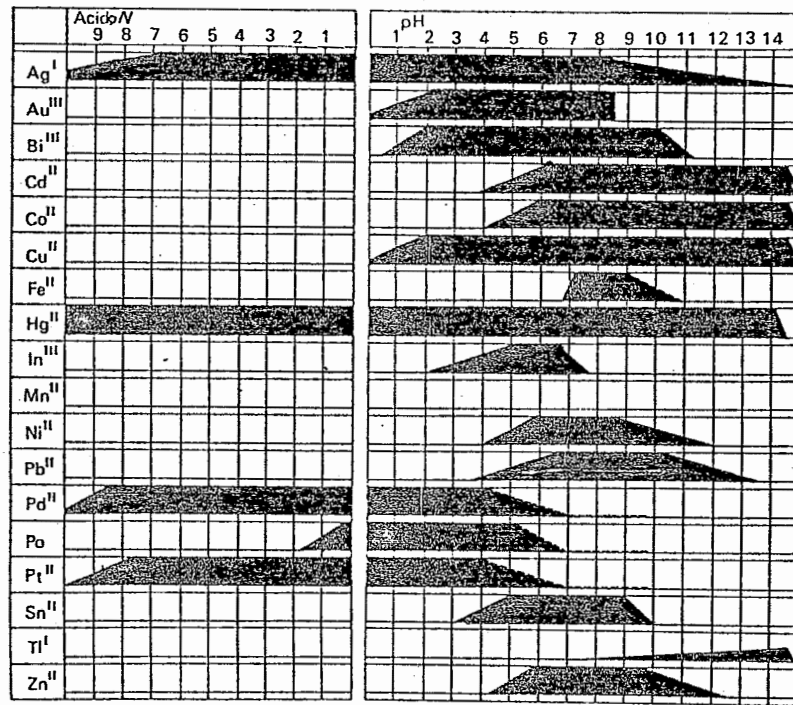


Figura 2 - Efeito do pH na extração de vários metais com um excesso de ditizona em CCl_4 ($C_{\text{HA}} = 2,5 \times 10^{-5} \text{ M}$) com relação aos íons estudados (concentração da ordem de 10^{-5} M) (RUZICKA e STARY, 1968).

Por outro lado, deve-se salientar que os valores encontrados na Figura 2 podem ser calculados a partir da equação (5). Assim, inserindo-se as concentrações de equilíbrio do complexo MA_n e do reagente HA na fase orgânica, a concentração do metal M na fase aquosa e o valor K na equação (5), o valor do pH limite pode ser calculado para o qual sempre a mesma quantidade do metal pode ser extraída. Segundo RUZICKA e STARY (1961) e STARY (1964) o valor do pH limite pode ser calculado a partir da expressão:

$$\text{pH} > 6 - \frac{1}{n} \log K \dots \dots \dots (7)$$

Para uma série de metais complexos de um mesmo reagente com solubilidades semelhantes, quanto mais estável é o complexo, menor pode ser o pH para que ocorra sua complexação.

Em vista disto, tanto para a ditizona como para o dietilditiocarbamato, a separação de metais por extração com estes reagentes, mediante o ajustamento conveniente do pH, é somente possível nos casos em que os respectivos ditizonatos e dietilditiocarbamatos possuam constantes de equilíbrio largamente diferenciadas. A equação (7) ilustra este fato, mostrando que a constante de extração K e o pH estão intimamente relacionadas.

A Figura 3 mostra o efeito do pH na extração de vários metais com solução de dietilamona dietilditiocarbamato em tetracloreto de carbono e em clorofórmio, segundo *RUZICKA e STARY (1968)*.

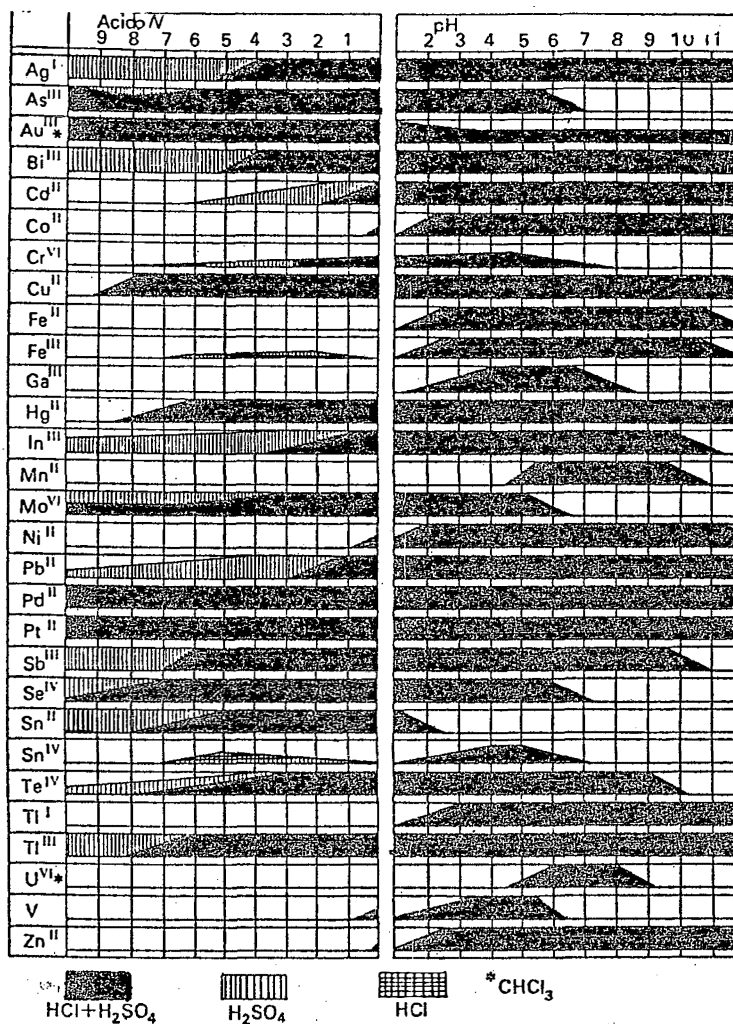


Figura 3 - Efeito do pH na extração de vários metais com um excesso de dietilamoneo dietilditiocarbamato em tetracloreto de carbono ou em clorofórmio ($C_{HA} = 2 \times 10^{-3} M$), segundo RUZICKA e STARY (1968).

4.4. Extração subestequiométrica

Segundo LAMM e RUZICKA (1969) a fim de se obter uma reprodutibilidade no isolamento de quantidades iguais do elemento, na análise por diluição isotópica subestequiométrica, vários fatores de

vem ser obedecidos, incluindo o fato de que não mais que 0,1% do reagente pode permanecer não reagido no equilíbrio químico. Isto, é claro, limita a escolha dos reagentes para aqueles que possuem constantes de equilíbrio ou extração elevadas.

Reescrevendo a equação (5), onde as cargas dos íons são emitidas por questão de simplicidade,

$$K = \frac{[MA]_{org}^n [H]^n}{[M] [HA]_{org}^n},$$

e introduzindo a concentração total do metal C_M e a concentração total do reagente C_{HA} , e assumindo que os volumes das fases aquosa e orgânica são iguais, obtemos para $n = 1$:

$$\frac{(C_M - [MA]_{org})(C_{HA} - [MA]_{org}) [H]}{[MA]_{org}} = \frac{[H]}{K}$$

ou

$$\left(\frac{C_M}{[MA]_{org}} - 1 \right) \left(\frac{C_{HA}}{[MA]_{org}} - 1 \right) = \frac{[H]}{K} \dots \dots \dots (8)$$

O isolamento subestequiométrico é possível quando $\frac{[H]}{K}$ tende a zero (caso ideal). Segundo a equação (8), obtemos para $\frac{[H]}{K} = 0$:

$$\frac{C_M}{[MA]_{org}} - 1 = 0 \quad \therefore C_M = [MA]_{org}, \text{ quando } C_M < C_{HA}$$

ou

$$\frac{C_{HA}}{[MA]_{org}} - 1 = 0 \quad \therefore C_{HA} = [MA]_{org}, \text{ quando } C_M > C_{HA}$$

Na análise subestequiométrica ocorre que $C_M > C_{HA}$, onde C_{HA} é uma constante. Assim, ter-se-á sempre $C_{HA} = [MA]_{org}$, e a dependência entre a quantidade total do metal e a quantidade deste metal extraído subestequiometricamente, terá a forma da Figura 4:

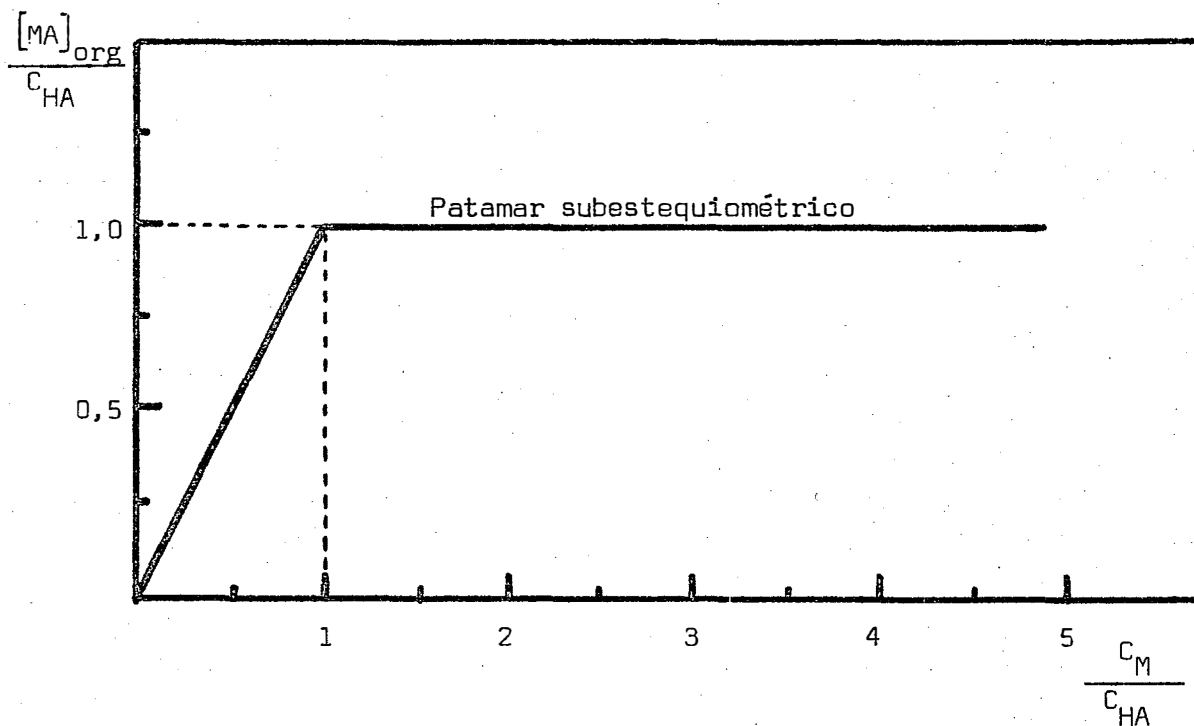


Figura 4 - Quantidade do metal extraído subestequiométricamente em função de C_M , para $\frac{[H]}{K} = 0$ (LAMM e RUZICKA, 1969).

Geralmente o valor de $\frac{[H]}{K}$ é maior do que zero, mas muito pequeno. LAMM e RUZICKA (1969) discutiram várias curvas de extração subestequiométrica para $\frac{[H]}{K}$ igual a $0,1 C_{HA}$, C_{HA} e $10 C_{HA}$. Estas curvas se encontram na Figura 4.

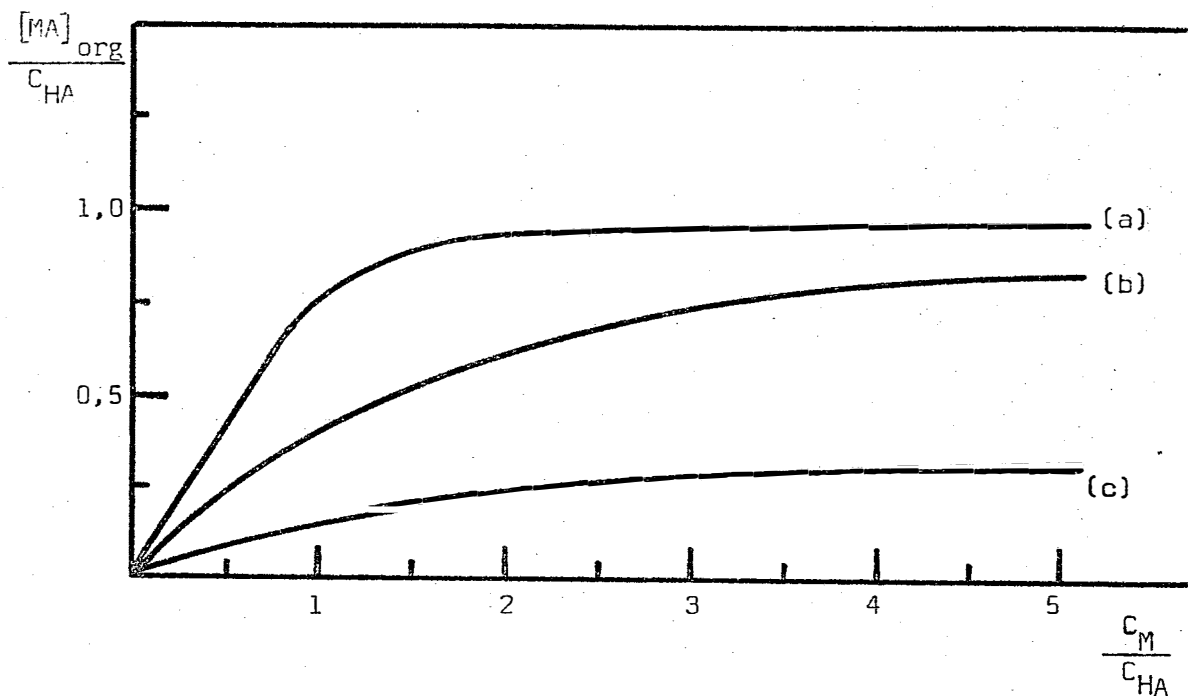


Figura 5 - Quantidade do metal extraído subestequiometricamente em função de C_M , para $\frac{[H]}{K} = 0,1 C_{HA}$ (a), $\frac{[H]}{K} = C_{HA}$ (b) e $\frac{[H]}{K} = 10 C_{HA}$ (c).

Será visto mais adiante um novo tratamento para as funções da Figura 5,

A finalidade das curvas de extração subestequiométrica é de determinar um valor ideal de Y , com a certeza de que sempre haverá um isolamento subestequiométrico das amostras padrão e diluída isotopicamente, obtendo $m_o = m_x$. Isto está resumido na condição $C_M > C_{HA}$.

Teoricamente, estas curvas denotam a reprodutibilidade do método, pois é necessário que o isolamento subestequiométrico seja sempre reprodutível, ou seja, obtendo sempre $m_o = m_x$ após a extração. Quando isto não é possível, *RUZICKA* e *STARY* (1968) sugerem uma correção, que não será discutida neste capítulo.

5. EXPERIMENTOS PRELIMINARES

Neste capítulo são apresentados o material utilizado em todos os experimentos, e um estudo sobre as melhores condições analíticas para o procedimento de diluição isotópica subestequiométrica.

5.1. Material

5.1.1. Reagentes

Solução de mercúrio radioativo

O mercúrio radioativo (^{203}Hg) produto da *AMERSHAM*, foi comprado em duas épocas diferentes a fim de se trabalhar com ativida-

des específicas maiores que 0,1 mCi/mg Hg, com as seguintes caracte-
rísticas (2a. remessa):

Elemento: ^{203}Hg

Composição química: Hg Cl_2 em solução aquosa

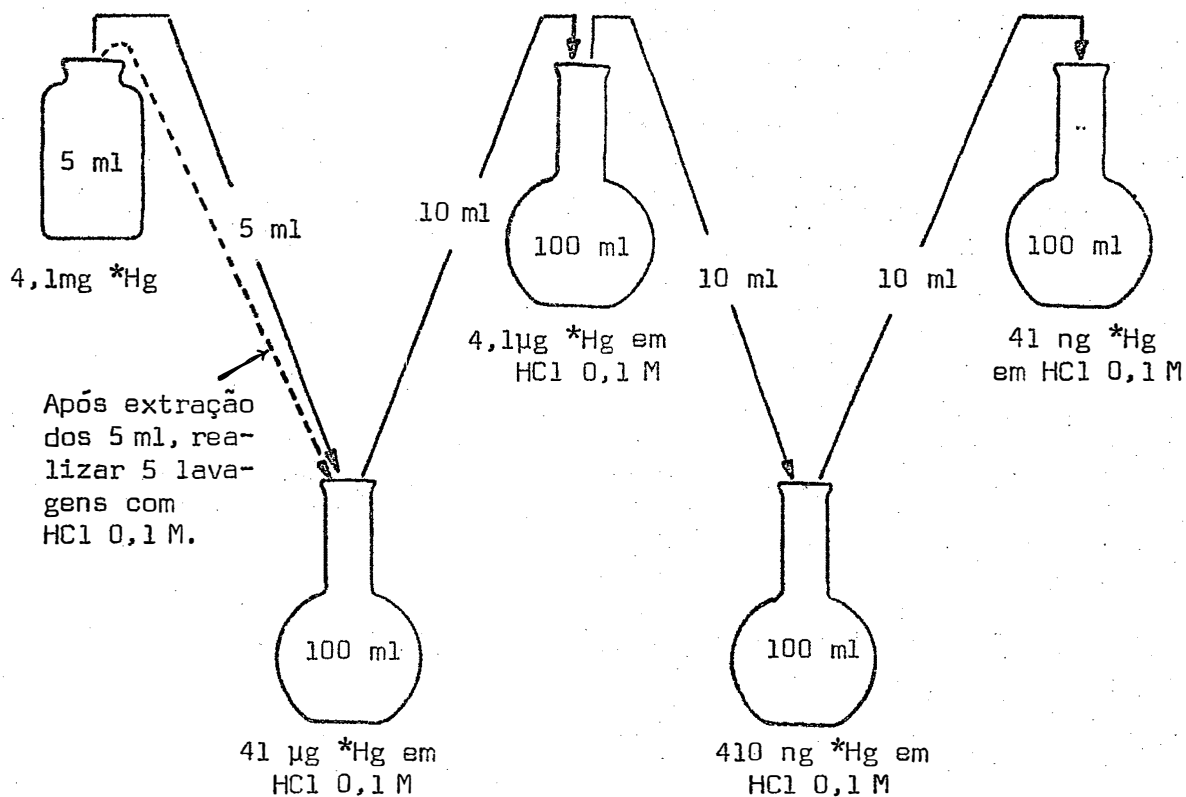
Atividade: 5 mCi

Volume: 5 ml

Carregador: 4,1 mg Hg

Atividade específica inicial: 1,22 mCi/mg Hg

Esta solução foi diluída em HCl 0,1 M, segundo mostra o es-
quema de diluição abaixo. Em todos os balões, adicionou-se 1 ml de
 NaNO_2 0,5% para se evitar a formação de radiocaloides, segundo re-
comendam *RUZICKA e LAMM (1969)*.



Solução padrão de mercúrio estável

Pesou-se 1,0939 g de HgO e diluiu-se em 1 ml de HCl concentrado. Esta solução foi transferida para balão volumétrico de 100 ml e o volume foi completado com H₂O bidistilada (esta solução contém 10,100646 mg Hg/ml). As outras soluções foram preparadas por diluição com HCl 0,1 M. Soluções contendo menos que 50 mg/ml devem ser preservadas pelo método recomendado por *FELDMAN (1974)*.

Tetracloroeto de carbono

Foi usado um produto da MERCK p.a., sem purificação.

Solução de ditizona $10^{-4}M$

Para se preparar esta solução seguiu-se o método recomendado por *WIETZ e BOAWN (1969)*. Dissolveram-se 50 mg de ditizona (difentitocarbazona, produto da MERCK p.a.) em 250 ml de CCl₄, usando um funil de separação (1 l) com torneira de teflon. A mistura foi agitada por 15 minutos. Posteriormente, adicionaram-se 500 ml de NH₄OH 0,02 M. A ditizona foi então extraída para a fase aquosa agitando vigorosamente por 1 minuto. Descartou-se a fase orgânica (CCl₄) e extraiu-se a solução aquosa de ditizona com porções de 12,5 ml de CCl₄ até os extratos ficarem com uma coloração verde pura. O CCl₄ é descartado após cada extração. Adicionaram-se 125 ml de CCl₄ e 12,5 ml de HCl 0,1 N, com posterior agitação vigorosa da mistura para transferir a ditizona da fase aquosa para a fase de CCl₄. A fase aquosa foi descartada e a fase orgânica diluída com 500 ml de CCl₄. Esta solução foi armazenada em frasco escuro de Pyrex e conservada sempre, após seu uso, em geladeira.

Teoricamente esta solução tem concentração igual a $3,12 \times 10^{-4}M$. Medidas espectrofotométricas mostraram que esta solução tem concentração $2,4 \times 10^{-4}M$, utilizando-se cubeta de 1 cm de

largura e medindo-se absorvâncias em comprimento de onda igual a 620 nm. Neste comprimento de onda, o coeficiente de absorção molar é igual a 36.300 M cm^{-1} (STARY, 1964). Para tanto utilizou-se um espectrofotômetro BECKMAN, modelo DB.

Solução de ditizonato de zinco

Para se preparar esta solução utilizou-se o método descrito em RUZICKA e LAMM (1969). Dissolveram-se 2 g de ácido ascórbico em 25 ml de H_2O bidistilada e transferiu-se tal solução para funil de separação de 1 l. Adicionaram-se 150 ml de ácido acético 1 M e 150 ml de acetato de sódio 1 M, com purificação da mistura com solução de ditizona 10^{-4} M, através de extrações sucessivas. Adicionaram-se 10 ml de ZnCl_2 0,1 M, ajustou-se o pH até 5 com hidróxido de amônia, e adicionou-se 300 ml da solução de ditizona $2,4 \times 10^{-4}$ M (purificado), fazendo-se a extração durante 2 minutos. A fase orgânica foi transferida para frasco escuro e armazenada em geladeira. (Esta solução, filtrada, é estável por mais de 1 ano). Esta solução tem concentração igual a $1,2 \times 10^{-4}$ M.

Solução de dietilamoneo dietilditiocarbamato (DDC)

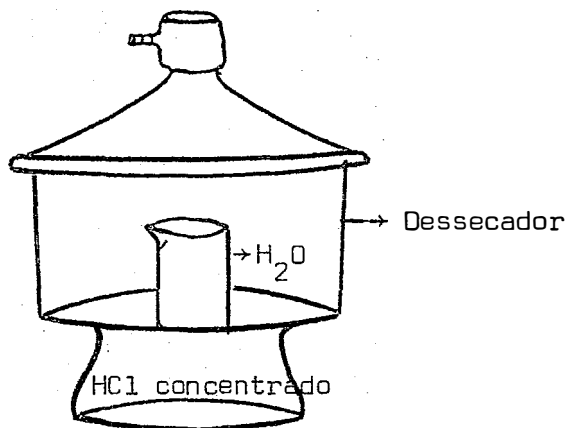
Pesaram-se 88,89 mg de DDC, produto da BDH p.a., e diluíu-se em 250 ml de CCl_4 . Esta solução apresenta concentração igual a 10^{-4} M.

Soluções diluídas de ditizona, ditizonato de zinco e dietilamoneo dietilditiocarbamato

Foram preparadas por diluição das soluções estoque com CCl_4 , diariamente.

Ácido clorídrico 0,1 M purificado

Foi preparado por destilação isotérmica (RUZICKA e STARY, 1968), a partir de HCl concentrado, em dessecador, conforme mostra a figura abaixo:



O tempo necessário para se alcançar uma concentração desejável (2 molar) foi de 14 dias.

O ácido contido no recipiente onde antes havia água destilada, é titulado para determinar sua exata concentração molar.

Solução de cloridrato de hidroxilamina (NH₂OH · HCl)

Preparou-se uma solução a 5% em água bidistilada, 50 g em 1000 ml, e purificou-se a mesma por extração com ditizona conforme o procedimento da AMC(1965): a solução foi transferida para funil de separação de 1 l em duas porções de 500 ml. Adicionaram-se 20 ml da solução de ditizona 10⁻⁴ M e agitou-se por 2 minutos. Após as fases se separarem, a fase orgânica foi descartada. Não havendo mudança na cor da ditizona, fizeram-se sucessivas extrações com CCl₄ para extrair o excesso de ditizona presente na solução, até os extratos ficarem incolores. A fase aquosa foi descartada e filtrada para reter as gotículas de CCl₄.

5.1.2. Vidraria

Funis de separação de 25 e 125 ml com torneira de teflon e tampa de polietileno tipo SQUIBB.

Pipetas graduadas de 1, 2, 5 e 10 ml.

Micropipetas de 10, 20 e 50 μ l

Buretas de 25 e 50 ml.

Balões volumétricos de 50, 100, 250, 500 e 1000 ml.

Copos GRIFFIN e Provetas.

Frascos de combustão (*SCHÖNIGER*) de 2000 ml (descrito com detalhes no ítem 5.7.).

Lavagem do material de vidro para análise

Todo material de vidro foi lavado criteriosamente com detergente de uso doméstico, água destilada, HCl 1 + 4, água desmineralizada, NH_4 (EDTA) 10% a pH 8, e finalmente com água desmineralizada.

Preparação de NH_4 (EDTA) 10%

100 g de EDTA mais água desmineralizada (500 ml), acertando o pH a 8 com NH_4OH concentrado.

5.1.3. Espectrômetro gama monocanal

- a. Conjunto selado modelo 12AW12, fabricado pela Harshaw Chemical Company, constituído por um cristal NaI(Tl) de 3 x 3 pol., tipo poço (1 1/2 pol. de profundidade e 7/8 pol. de diâmetro) e um tubo fotomultiplicador tipo 8054.

- b. Divisor de tensão ORTEC modelo 266.
- c. Fonte de alta voltagem fixada em 1000 V, modelo 456.
- d. Preamplificador ORTEC modelo 113.
- e. Amplificador ORTEC modelo 451.
- f. Analisador monocanal ORTEC modelo 730.
- g. Contador ORTEC modelo 430 e marcador de tempo ORTEC modelo 719.

Os dados obtidos pelo analisador foram processados numa calculadora Hewlett-Packard modelo 9810 A.

5.2. Metodologia de contagem para mercúrio-203

5.2.1. Aspectos gerais

O ^{203}Hg decai por emissão beta negativo formando um núcleo de ^{203}Tl estável.

Após a emissão β^- , há emissão γ .

A Figura 6 mostra o esquema de desintegração do mercúrio-203, com as respectivas energias das radiações emitidas, extraído de *LEDERER et alii (1967)*.

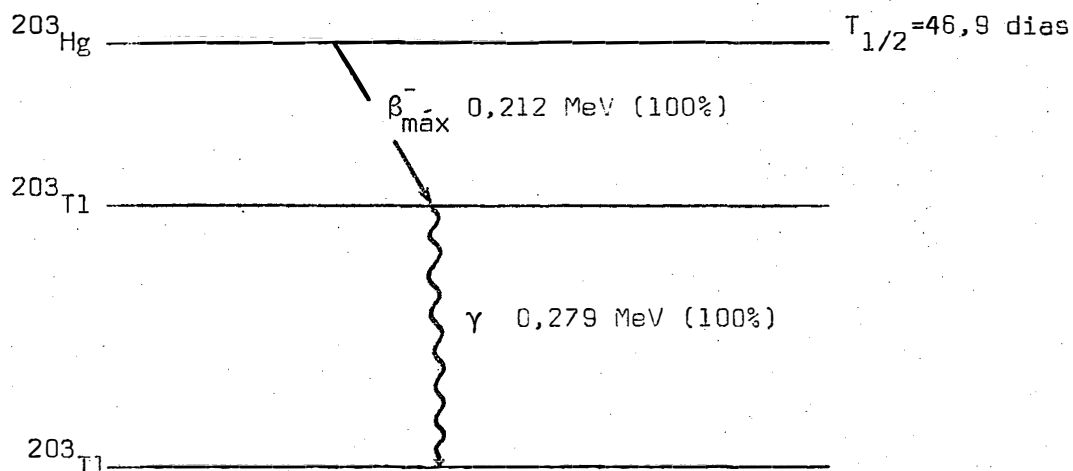


Figura 6 - Esquema de desintegração do mercúrio-203 (*LEDERER et alii, 1967*).

Segundo *CROUTHAMEL (1960)* existem interações das partículas β^- do ^{203}Hg com a camada K dos átomos de Tl presentes na amostra. Estas interações são responsáveis pela emissão de raios-X da amostra, que são representadas pelos símbolos K_{α_1} , K_{α_2} , K_{β_1} e K_{β_2} . Em resumo, segundo *LEDERER et alii (1967)* uma amostra contendo ^{203}Hg emite as seguintes energias:

Energia (X e γ -keV)	Núclídeo
70,8	Tl K_{α_1}
72,9	Tl K_{α_2}
82,5	Tl K_{β_1}
84,9	Tl K_{β_2}
279,2	^{203}Hg

5.2.2. Considerações sobre estatística de contagens

Quando se detecta uma amostra radioativa, existe uma radiação de fundo que poderá afetar significativamente os dados obtidos. O que interessa na prática é que esta taxa de contagens não interfira nos dados obtidos. Quando isto não é possível, determina-se a taxa de contagem líquida (C_L). Esta taxa é facilmente obtida, conhecendo-se a taxa de contagem bruta (C_B) e a taxa de contagem de radiação de fundo (C_F). Desta forma a taxa de contagem somente da amostra radioativa (C_L) é dada por:

$$C_L = C_B - C_F \dots \dots \dots (9)$$

Deve-se observar que tais taxas de contagem são dadas em impulsos por minuto (ipm). Se

N_B = contagem bruta, em impulsos

T_B = tempo utilizado na detecção da amostra, em

minutos, pode-se calcular o desvio padrão da taxa de contagem líquida (σ_L). Note-se que a medida da radiação de fundo será afetada pelas mesmas flutuações estatísticas sofridas pela contagem bruta, e seus desvios padrões σ_B e σ_F serão calculados pelas mesmas fórmulas. Assim,

$$\sigma_B = \sqrt{\frac{C_B}{t_B}} = \sqrt{\frac{N_B}{t_B^2}} \dots \dots \dots (10)$$

e

$$\sigma_F = \sqrt{\frac{C_F}{t_F}} = \sqrt{\frac{N_F}{t_F^2}} \dots \dots \dots (11)$$

Quando duas quantidades A e B, com desvios padrões σ_A e σ_B , são combinados por adição ou subtração, o desvio padrão do resultado corresponderá a:

$$\sigma = \sqrt{\sigma_A^2 + \sigma_B^2},$$

ou seja, os desvios padrões são acumulativos. Desta forma:

$$\sigma_L = \sqrt{\sigma_B^2 + \sigma_F^2} \dots \dots \dots (12)$$

Substituindo os valores de (2) e (3) em (4):

$$\sigma_L = \sqrt{\frac{C_B}{t_B} + \frac{C_F}{t_F}} \dots \dots \dots (13)$$

Recordando que $C_L = C_B - C_F$, a taxa de contagem líquida e o respectivo desvio padrão serão dados, portanto, pela equação:

$$C_L \pm \sigma_L = (C_B - C_F) \pm \sqrt{\frac{C_B}{t_B} + \frac{C_F}{t_F}} \dots \dots \dots (14)$$

É comum calcular-se o erro percentual cometido numa medida; este erro percentual, mais conhecido em estatística como coeficiente de variação (cv), corresponde ao desvio padrão (σ) percentual:

$$cv = \frac{\sigma}{c} \cdot 100 \dots \dots \dots (15)$$

Se tomarmos $c = \frac{N}{t}$ e $\sigma = \frac{\sqrt{N}}{t}$, a equação (15) fica:

$$cv = \frac{100}{\sqrt{N}} \dots \dots \dots (16)$$

A equação (16) ilustra bem o fato de que, quanto maior o número de acontecimentos, menor o coeficiente de variação. Podemos observar ainda, que como N é função do número total de contagens acumuladas, o erro será menor quanto maior o tempo utilizado para tal.

No nosso caso, interessa o coeficiente de variação da taxa de contagem líquida (cv_L). Desta forma, a equação (15) pode ser escrita em termos de σ_L e C_L:

$$cv_L = \frac{\sigma_L}{C_L} \times 100 \dots \dots \dots (17)$$

5.2.3. Influência da relação sinal/ruído na precisão das contagens

A melhor região do espectro de emissão do mercúrio-203 que deve ser utilizada para realizar as contagens não é perfeitamente

caracterizada em face das diversas alternativas apresentadas: existe um número elevado de emissores gama; detectores com diferentes poderes de resolução; ruído significativo ou não (dependendo da proteção que os detectores possuem); e características do próprio sistema eletrônico. No espectro, pode-se escolher diversas regiões de contagem, mas o critério adotado baseou-se na região que apresenta a maior relação sinal/ruído, o que implica num menor coeficiente de variação das taxas de contagem.

A Figura 7 mostra o espectro do ^{203}Hg obtido em espectrômetro gama monocal com detector de $\text{NaI}(\text{Tl})$, 3" x 3", tipo poço (item 5.1.). Nesta Figura, observam-se dois picos de emissão nas voltagens de base 1,0 e 3,8 volt, referentes aos raios-X do ^{203}Tl (73 keV) e ao raio γ do ^{203}Hg (279,2 keV), respectivamente; A, B e C são os discriminadores colocados nas posições 0,5; 2,9 e 4,5 volt de voltagem de base.

Face a estes 2 picos, delimitaram-se duas regiões no espectro para se estudar a relação sinal/ruído. Deve-se salientar que o sinal significa a taxa de contagem líquida, e o ruído a taxa de contagem da radiação de fundo. Utilizou-se o critério de escolher, como regiões mais adequadas do espectro, aquelas que contribuem com um número significativo de contagens: A — C (entre 0,5 e 4,5 volt) e B — C (entre 2,9 e 4,5 volt) para se proceder às contagens que foram chamadas de contagem integral e no fotopico, respectivamente.

Assim, foram preparados cinco padrões distintos, colocando-se 1 ml das soluções radioativas em tubos de ensaio com 1 cm de diâmetro e 10 cm de profundidade (volume: 10 ml) para posterior contagem nas referidas posições.

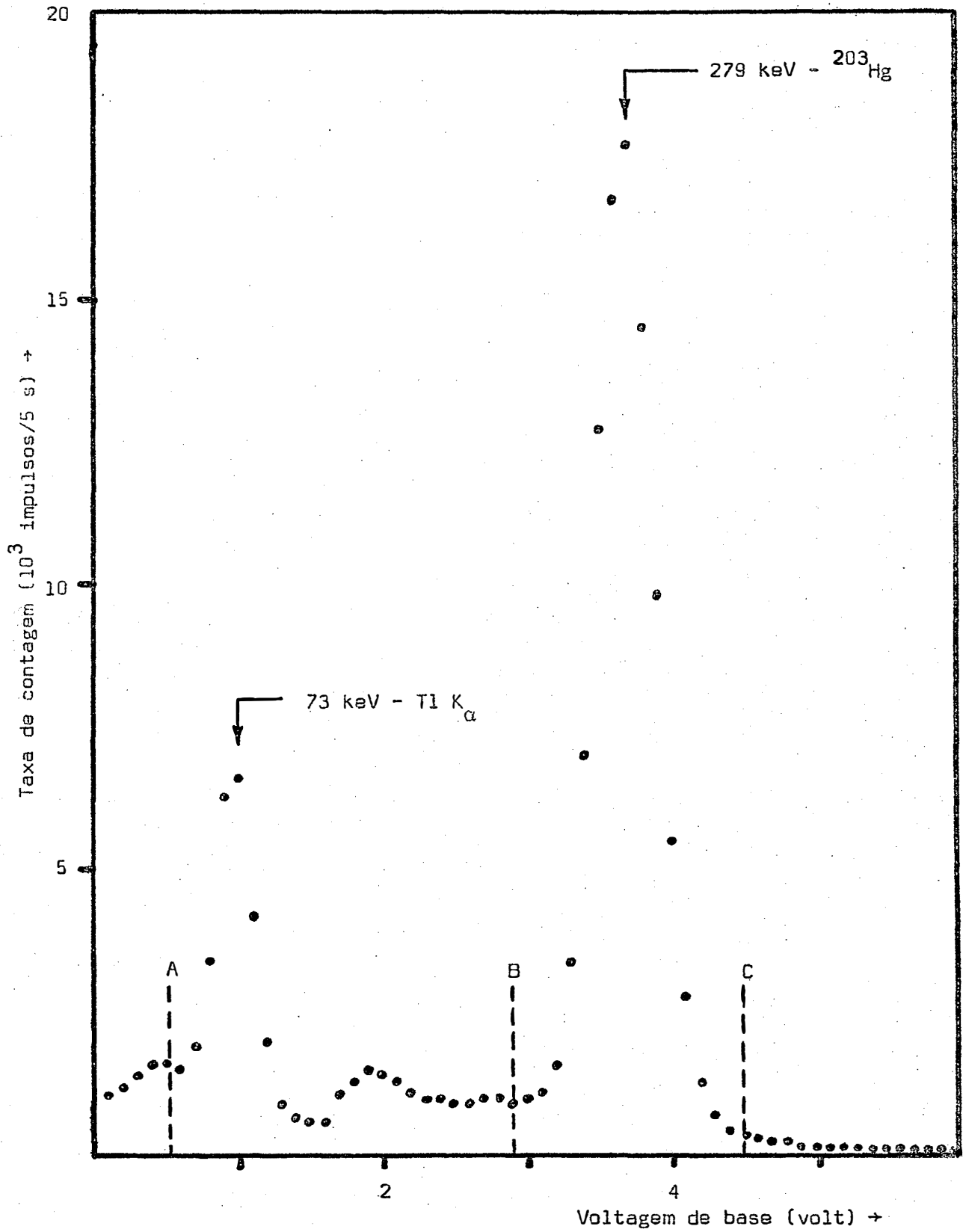


Figura 7 - Espectro do ²⁰³Hg: no eixo das abcissas está referenciada a voltagem de base (amplitude do pulso), e no eixo das ordenadas impulsos por 5 segundos (varredura de 0,1 em 0,1 volt); A, B e C = discriminadores.

Padrão	Atividade aproximada (nCi)
1	50,0
2	5,0
3	0,5
4	0,12
5	0,06

O tempo de detecção de cada amostra foi escolhido a fim de minimizar o erro individual de cada contagem.

A detecção das amostras nos experimentos seguintes baseou-se nos resultados obtidos neste experimento, e que serão discutidos em outro capítulo (7).

5.2.4. Efeito da geometria das amostras na detecção do ^{203}Hg

A não observância do fator de geometria na contagem induz a erros significativos, nos experimentos realizados com material radioativo, tanto em amostras líquidas como em amostras sólidas (*CHASE e RABINOWITZ, 1968*).

VERHEIJKE (1962) aborda o aspecto geometria no cálculo de eficiência de um cristal de NaI(Tl) 3" x 3", tipo poço, concluindo, que se a posição de uma fonte puntual se situa entre 0,5 e 2 cm da base do poço pouca influência haverá na eficiência de contagem. Por outro lado, se isto ocorrer entre 2 e 6 cm, a eficiência muda significativamente.

A Figura 8 mostra esquematicamente um detector de NaI(Tl), tipo poço, em corte transversal. Considere-se então, 2 amostras de mesma atividade, mas com volumes diferentes: 1 e 3 ml, por exemplo.

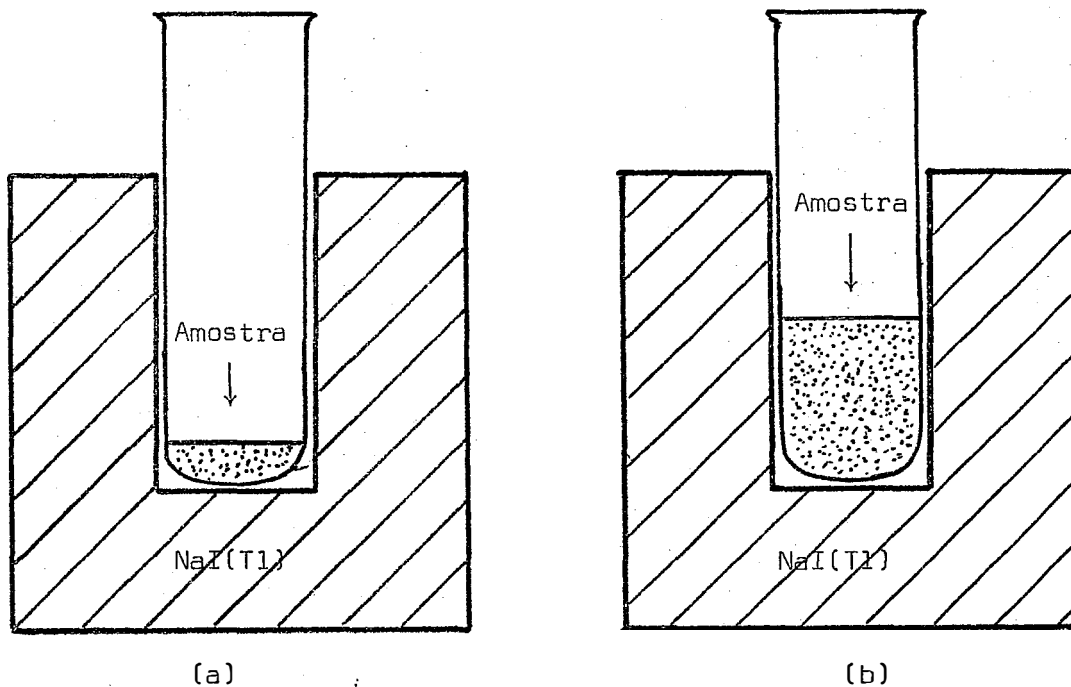


Figura 8 - Corte transversal de um detector de NaI(Tl), tipo poço, com amostras em tubos de ensaio: em (a) 1 ml e em (b) 3 ml.

A fim de comprovar o fundamento de *CHASE e RABINOWITZ(1968)* e de *VERHEIJKE (1962)*, bem como se deduz visualmente da Figura 7, o efeito da geometria foi estudado, conforme o seguinte experimento:-

Tomou-se 1 ml de uma solução contendo mercúrio radioativo com atividade em torno de 100 nCi e transferiu-se para tubos de ensaio com 1 cm de diâmetro interno e 10 cm de profundidade (capacidade = 10 ml). As amostras foram preparadas por diluição com água destilada nos próprios tubos de ensaio segundo o Quadro 1. Assim, fizeram-se 8 tratamentos com 2 repetições cada um.

Cuidados especiais foram tomados para que os tubos de ensaio fossem sempre colocados na mesma posição dentro do poço, uti-

lizando-se um outro tubo mais grosso para perfeito ajustamento dos tubos com as soluções dentro do mesmo cristal.

Quadro 1 - Esquema do preparo das amostras radioativas contendo mes ma atividade de ^{203}Hg em volumes distintos.

Tratamento	Hg (ml)	Água destilada (ml)	Volume total (ml)
1	1	0	1
2	1	1	2
3	1	2	3
4	1	3	4
5	1	4	5
6	1	5	6
7	1	6	7
8	1	7	8

Apesar de o fenômeno de auto-absorção nas amostras ter um efeito sobre as contagens, o mesmo foi desprezado, partindo-se da primícia que é constante em todos os casos.

Assim, considerando-se somente o efeito de geometria, quando se quer correlacionar as atividades de duas amostras, com volumes diferentes, a correção das contagens por volume é imprescindível.

Nos experimentos subsequentes foram feitas as devidas correções, a fim de padronizar as amostras, evitando-se desta forma que a geometria influísse nos resultados obtidos.

5.3. Cinética de extração

Pouco se sabe sobre cinética de extração de metais com um agente quelante em baixas concentrações (abaixo de $10^{-6}M$). Este fenômeno, de importância significativa no processo de extração e na maioria dos casos, tratado empiricamente.

RUZICKA e STARY (1968) afirmam que o tempo de agitação necessário para atingir a máxima extração (no equilíbrio) não afeta significativamente a curva de extração subestequiométrica, mas que paládio e níquel exigem um tempo muito mais longo de agitação para atingir o equilíbrio do que no caso de outros metais. Não são feitas considerações sobre o mercúrio.

Uma apreciação teórica sobre cinética de extração foi feita recentemente por *WYTTENBACH e BAJO (1975)* para soluções $10^{-3}M$ de dietilditiocarbamato de zinco para a extração subestequiométrica de 14 metais, inclusive mercúrio (II). Os mesmos autores avaliaram a cinética de extração, para cada elemento isoladamente, usando uma quantidade de $Zn (DDC)_2$ suficiente para extrair 50% do metal presente.

Para a maioria dos casos a extração esperada ocorreu em menos de 15 segundos (Au, Hg, Cu, Bi, Sb, Te, Cd, Pb).

Outro efeito, que pode ser considerado conjuntamente com cinética de extração, é o modo de agitação. *DESREUX (1971)* faz algumas considerações sobre o assunto, uma vez que um falso equilíbrio pode ocorrer na extração do metal. São comparadas duas formas de agitação, brusca e calma, na extração de zinco com cloreto de metiltrilaurilamonio em tolueno: as diferenças são significativas.

Para estudar com um pouco mais de detalhes a influência do tempo de agitação, foram feitos vários experimentos com diferentes

agentes quelantes em diferentes concentrações, variando-se dentro de cada tratamento o tempo de agitação das soluções.

Portanto, utilizaram-se, normalmente, 10 funis de separação aos quais foram adicionadas as mesmas quantidades de HCl 0,1 M, mercúrio-203 e NH_2OH . HCl 5% e a mesma quantidade do agente quelante em tetracloreto de carbono. Os funis foram agitados normalmente, com tempos crescentes, e não simultaneamente, conforme mostra o Quadro 2.

Quadro 2 - Tempo de agitação, em segundos, para os tratamentos utilizados nos experimentos sobre cinética de extração para três agentes quelantes em diferentes concentrações.

H_2Dz $10^{-5}M$	H_2Dz $10^{-6}M$	H_2Dz 10^{-7}	H_2Dz 5×10^{-8}	$Zn(HDz)_2$ 5×10^{-7}	$Zn(HDz)_2$ 10^{-7}	$Zn(HDz)_2$ 5×10^{-6}	DDC $10^{-7}M$	DDC $5 \times 10^{-8}M$
5	1	1	1	1	1	1	1	1
15	5	5	3	5	5	5	5	5
30	10	10	5	10	10	10	10	10
45	30	30	10	30	30	30	30	30
60	60	60	30	60	60	60	60	60
75	90	90	45	90	90	90	90	90
120	120	120	60	120	120	120	120	120
150	150	150	90	180	150	180	180	180
180	180	180	120	240	180	240	240	240
	240	240	150	300	240	240		

10^{-5} ; 10^{-6} ; $5 \times 10^{-7}M$ com 410 μg Hg-203

Soluções

10^{-7} e $5 \times 10^{-8}M$ com 80 μg Hg-203

5.4. Estudos sobre a relação fase aquosa: fase orgânica

Apesar da *razão de distribuição* ter um significado bastante importante na extração com solventes (*MORRISON e FREISER, 1966*), sua aplicação em extrações subestequiométricas não foi constatada na literatura até o presente momento. Por este motivo, tentou-se correlacionar a razão de distribuição (D) com a quantidade extraída subestequiometricamente. Além disso, estudou-se a melhor relação fase aquosa: fase orgânica (F_{aq}/F_{org}) para um aumento significativo na sensibilidade do método, ou seja, uma melhor condição de extração.

A *razão de distribuição* D, segundo *MORRISON e FREISER (1966)*, é uma quantidade estequiométrica que descreve a extração, incluindo o elemento em todas as espécies presentes nas fases aquosa e orgânica, sendo definida pela relação:

$$D = \frac{\text{Concentração total do íon na fase orgânica}}{\text{Concentração total do íon na fase aquosa}} \dots \dots (18)$$

A *porcentagem de extração* %E, segundo *MORRISON e FREISER (1966)*, está relacionada com a razão de distribuição D, conforme a equação abaixo:

$$\%E = \frac{100 \cdot D}{D + (V_{aq}/V_{org})} \dots \dots \dots (19)$$

onde:

V_{aq} = Volume da fase aquosa.

V_{org} = Volume da fase orgânica.

A porcentagem relativa de extração subestequiométrica %Es é calculada pela expressão:

$$\%Es = \frac{Cns}{Cs} \cdot 100 \dots \dots \dots (20)$$

onde:

Cns = Concentração do metal na fase orgânica menos saturada (menor número de contagens por minuto com relação ao maior observado).

Cs = Concentração do metal na fase orgânica mais saturada (maior número de contagens por minuto observado).

Portanto foram colocados em funis de separação, quantidades crescentes de ácido clorídrico 0,1 M (correspondente à fase aquosa) e 1 ml da solução padrão de ^{203}Hg contendo 410 ng Hg/ml. Após agitação por 15 segundos, adicionaram-se 3 ml de $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ 5%. A mistura foi novamente agitada por 15 segundos com posterior adição através de bureta de 6 ml de $\text{Zn (HDz)}_2 \cdot 10^{-7}$ M. Após agitação por 5 minutos, as fases foram separadas.

Para se proceder à determinação, coletaram-se separadamente os 6 ml da fase orgânica e 5 ml da fase aquosa de cada funil com posterior contagem da atividade das amostras.

Foram realizados 7 tratamentos com 2 repetições cada um, variando-se a relação $F_{aq} : F_{org}$ desde 8,33 até 28,33. O Quadro 3 resume os tratamentos deste experimento.

Variações nestes tratamentos foram realizadas para obtenção de um maior número de dados.

Quadro 3 - Tratamentos referentes ao estudo da relação fase aquosa/fase orgânica: 1, 2, 3 e 4 em funil de separação de 125 ml, e 5, 6, 7 e 8 em funil de 250 ml; fase aquosa = HCl 0,1M e fase orgânica = $Zn(HDz)_2 \cdot 10^{-7} M$; $F_{aq} = \frac{V_{aq}}{V_{org}}$ = fase aquosa e F_{org} = fase orgânica.

Tratamento	Volume da fase aquosa (ml)	Volume da fase orgânica (ml)	$F_{aq} : F_{org}$
1	50	6	8,33
2	70	6	11,67
3	90	6	15,00
4	110	6	18,33
5	130	6	21,66
6	150	6	25,00
7	170	6	28,33

5.5. Curvas de extração subestequiométrica

O objetivo principal da análise gráfica das curvas de extração subestequiométrica é determinar o melhor valor de Y (equação 2, item 4.2.) que possibilite o isolamento das massas m_o e m_x consideradas no item citado (4.2.).

Face à instabilidade da ditizona (H_2Dz) com relação à luz (MORRISON e FREISER, 1966) em soluções de ácidos diluídos, e também a sua sensibilidade a agentes oxidantes possivelmente presentes no próprio solvente orgânico ou na fase aquosa (WYTTENBACH e BAJO, 1975), dois outros quelantes foram estudados: o ditizonato de zinco $Zn(HDz)_2$ e o dietilamoneo dietilditiocarbamato (DDC). Vantagens no uso destes agentes quelantes foram discutidas por LAMM e RUZICKA (1969) e por WITTENBACH e BAJO (1975), ambos ligados à ex-

trações subestequiométricas.

Por outro lado, não foram encontrados na bibliografia outros agentes quelantes que apresentassem constantes de extração tão altas para o Hg.

Segundo a Figura 4, as curvas tem 3 regiões distintas que correspondem a $C_M < C_{HA}$, $C_M = C_{HA}$ e $C_M > C_{HA}$, esta última que corresponde ao patamar subestequiométrico propriamente dito.

Para estudar o comportamento dos três agentes quelantes preparou-se uma série de 10 funis de separação com HCl 0,1M purificado, nos quais foram adicionadas concentrações crescentes de mercúrio-203, e volumes adequados de $NH_2OH.HCl$ 5%. Após adição de cada reagente, excetuando-se o ácido, houve agitação por 15 segundos. Após adicionar-se a solução de agente quelante em tetracloreto de carbono, agitou-se a mistura durante 5 minutos. A fase orgânica foi coletada, com posterior contagem das amostras no espectrômetro gama.

O Quadro 4 mostra a concentração do agente quelante (forma livre HA ou ligado a um metal M'A), os volumes das fases aquosa e orgânica e o volume de cloridrato de hidroxilamina gastos em cada tratamento.

Quadro 4 - Tratamentos utilizados para obtenção das curvas de extração subestequiométrica.

Tratamento	Agente quelante HA ou M'A	C_{HA} ou $C_{M'A}$ (M)	Volume da fase aquosa HCl 0,1M(ml)	$NH_4OH.HCl$ 5% ² (ml)	Funil de separação (ml)
1	H_2Dz	2×10^{-7}	15	1	25
2	H_2Dz	10^{-7}	15	1	25
3	DDC	10^{-7}	50	3	125
4	DDC	5×10^{-8}	50	3	125
5	$Zn(HDz)_2$	5×10^{-7}	15	1	25
6	$Zn(HDz)_2$	2×10^{-7}	15	1	25
7	$Zn(HDz)_2$	10^{-7}	15	1	25
8	$Zn(HDz)_2$	10^{-7}	50	3	125
9	$Zn(HDz)_2$	5×10^{-8}	50	3	125

Para a obtenção das curvas, e a fim de estabelecer a concentração aproximada de HA em cada caso e possibilitar uma variação de concentração do metal, de tal forma que a resposta de cada tratamento permitisse a obtenção de um patamar subestequiométrico, o seguinte cálculo foi realizado: considerando que extração dos íons de Hg^{2+} é feita com 1 ml da solução de $(HA)_{org}$ ou $(M'A)_{org}$ 10^{-8} M, que corresponde a 10^{-11} moles/ml, 1 ml da solução do agente quelante complexará 10^{-11} moles de Hg.

Sendo 1 mol de Hg \rightarrow 200 g

10^{-11} moles \rightarrow 2 ng de Hg

Assim, 1 ml da solução do agente quelante 10^{-8} M complexará 2 ng de Hg.

Da mesma forma, calculou-se a quantidade de íons de mercúrio (II) que pode ser complexada estequiometricamente para diferentes volumes do agente quelante nas concentrações correspondentes, e que aparece no Quadro 5.

Quadro 5 - Valores estequiométricos calculados para o mercúrio em função da concentração e volume do agente quelante HA e M'A.

C_{HA} ou $C_{M'A}$ (M)	Volume de HA ou M'A utilizado (ml)	Início do patamar subestequiométrico com ng Hg-203.
2×10^{-7}	3	120
	6	240
10^{-7}	3	60
	6	120
5×10^{-7}	3	300
5×10^{-8}	6	60

Desta forma, cuidou-se que as quantidades crescentes de mercúrio-203 adicionadas à fase aquosa de HCl 0,1M ultrapassassem os valores resumidos no Quadro 5, tal como aparece no Quadro 6.

Quadro 6 - Quantidades de mercúrio-203 adicionada a cada funil para os respectivos tratamentos.

(1) H ₂ Dz 2 x 10 ⁻⁷ M	(2) H ₂ Dz 10 ⁻⁷ M	(3) DDC 10 ⁻⁷ M	(4) DDC 5 x 10 ⁻⁸ M	(5) Zn(HDz) ₂ 5 x 10 ⁻⁷ M	(6) Zn(HDz) ₂ 2 x 10 ⁻⁷ M	(7) Zn(HDz) ₂ 10 ⁻⁷ M	(8) Zn(HDz) ₂ 10 ⁻⁷ M	(9) Zn(HDz) ₂ 5 x 10 ⁻⁸ M
8	4	8	4	8	8	4	8	4
16	8	16	8	16	16	8	16	8
32	16	32	16	20	32	16	32	16
40	24	40	32	32	40	28	40	32
52	32	60	40	40	60	40	60	40
80	40	80	60	60	80	52	80	60
120	60	120	80	80	120	80	120	80
160	80	160	120	120	200	120	160	120
240	120	240	240	200	280	160	240	240
400	240	400		400	400	200	400	400

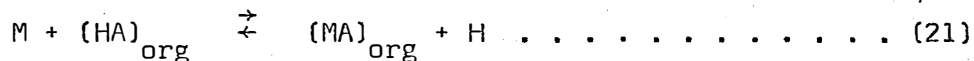
Observando-se visualmente as curvas da Figura 4, é quase impossível determinar-se o ponto de início do patamar subestequiométrico (Figura 3). Em muitos casos, a função obtida tem a forma da Figura 3, mas isto nem sempre é constatado, quando se trabalha com concentrações muito baixas do agente quelante HA*. Por esta razão, tentou-se uma analogia com a teoria que envolve o fenômeno de *Cinética de Enzimas* e a conseqüente equação de *MICHAELIS-MENTEN*, cujo princípio é assim relatado por *SOĐEK (1975)*:

"Quando a concentração do substrato é bastante alta para produzir a velocidade máxima, a enzima é saturada pelo substrato, uma vez que qualquer aumento ulterior não mais aumenta a velocidade".

Assim, fez-se a seguinte analogia, que é compatível com os aspectos teóricos já definidos:

Quando a concentração do metal M é bastante alta para produzir a concentração máxima, na forma MA_{org}, o agente quelante HA é saturado pelo metal M, uma vez que qualquer aumento ulterior não mais aumenta a concentração [MA]_{org}.

Lembrando-se mais uma vez a reação 4, agora para n = 1, ter-se-á:



As suposições de *MICHAELIS e MENTEN*, para a derivação da equação do processo cinética de enzimas, concordam com os fundamentos do processo de extração subestequiométrica:

- a) A concentração do metal é sempre bem maior do que a concentração do agente quelante ($C_M > C_{HA}$).

* ou M'A (a notação HA foi usada para generalizar).

b) O complexo formado, $(MA)_{org}$, está em equilíbrio com o agente quelante e o metal.

Devido a essa suposição, a quantidade de M envolvida no complexo não é significativa em relação ao M total, C_M , e portanto a concentração de M fica como $[M]$.

A concentração de $(MA)_{org}$ é representada por $[MA]_{org}$, e a concentração de HA é representada em função da concentração total C_{HA} , ou seja, $(C_{HA} - [MA]_{org})$.

Segundo a lei da ação das massas, ter-se-á para a equação (21), com os valores das concentrações já corrigidos,

$$\frac{[MA]_{org}}{C_{HA} - [MA]_{org} \cdot [M]} = \frac{K}{[H]} = K_e \dots \dots \dots (22)$$

ou

$$[MA]_{org} \cdot K_e = C_{HA} \cdot [M] - [MA]_{org} \cdot [M]$$

ou

$$[MA]_{org} = \frac{C_{HA} \cdot [M]}{K_m + [M]} \dots \dots \dots (23)$$

Na equação (23), C_{HA} é exatamente igual à concentração máxima do complexo $(MA)_{org}$, e será representada por $[MA]_{org}^{máx}$, ou

$$C_{HA} = [MA]_{org}^{máx} \dots \dots \dots (24)$$

A igualdade (24), concorda com o princípio da extração subestequiométrica, conforme LAMM e RUZICKA (1969), quando $C_M > C_{HA}$, e

a equação (23) torna-se igual a:

$$[\text{MA}]_{\text{org}} = \frac{[\text{MA}]_{\text{máx}_{\text{org}}} \cdot [\text{M}]}{K_e + [\text{M}]} \dots \dots \dots (25)$$

que pode ser invertida na forma:

$$\frac{1}{[\text{MA}]_{\text{org}}} = \frac{K_e + [\text{M}]}{[\text{MA}]_{\text{máx}_{\text{org}}} \cdot [\text{M}]}$$

ou

$$\frac{1}{[\text{MA}]_{\text{org}}} = \frac{K_e}{[\text{MA}]_{\text{máx}_{\text{org}}} \cdot [\text{M}]} + \frac{1}{[\text{MA}]_{\text{máx}_{\text{org}}}} \dots \dots \dots (26)$$

A equação (26) permite o cálculo da quantidade Y do metal marcado, ou seja $[\text{M}]$, que deve ser adicionada antes e depois da mistura, na diluição isotópica subestequiométrica. Fazendo-se um gráfico de *LINEWAVER e BURK*, como é apresentado por *SODEK (1975)*, pode-se encontrar o valor de $[\text{M}]$ facilmente:

Quando $[\text{MA}]_{\text{org}} = \frac{1}{2} [\text{MA}]_{\text{máx}_{\text{org}}}$, substituindo em (25), ter-se-á:

$$\frac{1}{2} [\text{MA}]_{\text{máx}_{\text{org}}} = \frac{[\text{MA}]_{\text{máx}_{\text{org}}} \cdot [\text{M}]}{K_e + [\text{M}]}$$

ou

$$K_e + [\text{M}] = 2 [\text{M}]$$

ou

$$K_e = [\text{M}]$$

Portanto, K_e é igual à concentração do metal que produz 50% da máxima concentração.

A Figura 9 mostra uma curva de extração convencional. na região 1, praticamente o efeito é estequiométrico.

A partir do ponto A, a tendência da curva é se tornar assintótica. O ponto A corresponde às coordenadas K_e e $\frac{[MA]_{\text{máx}}}{2}$.

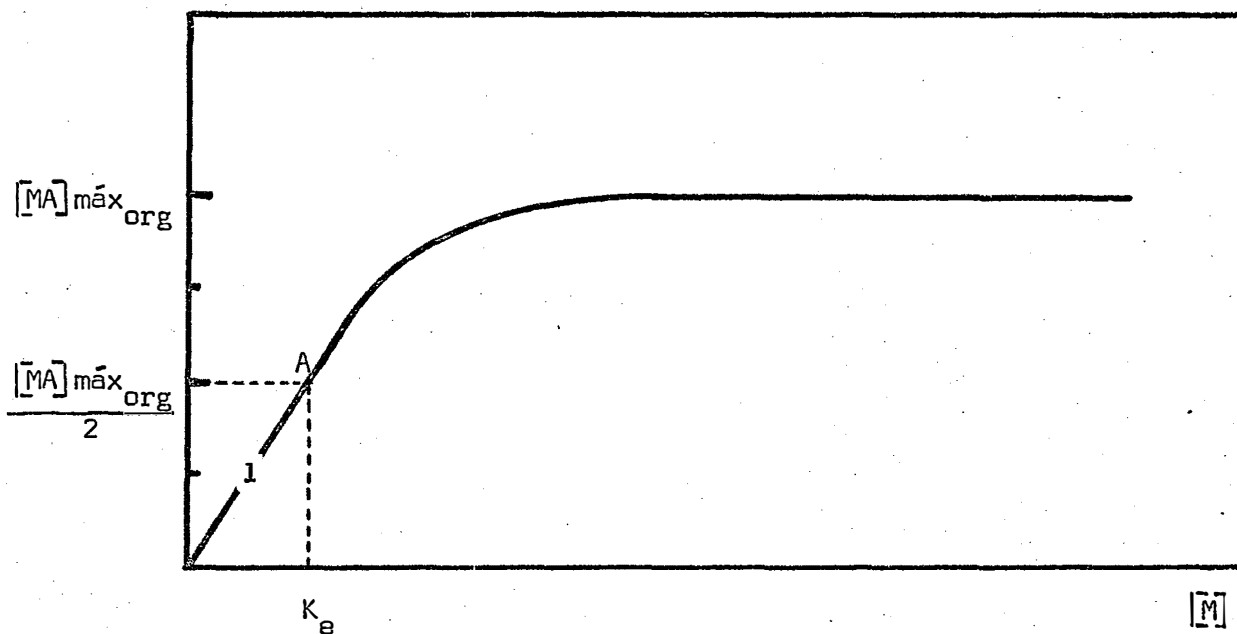


Figura 9 - Agente complexante formado, $[MA]_{\text{org}}$, em função da concentração do metal, $[M]$, extraído subestequiométricamente. $[MA]_{\text{org}}$ vem expresso em contagens por minuto e $[M]$ em ng do metal considerado.

A determinação gráfica de $[MA]_{\text{org}}^{\text{máx}}$ e de K_e é ilustrada pela Figura 10, pois o gráfico da Figura 9, pode ser transformado num gráfico "LINEWAVER e BURK", segundo o tratamento matemática da equação 26. Os valores de $1/[M]$ aparecem no eixo das abcissas e de $1/[MA]_{\text{org}}$, no eixo das ordenadas:

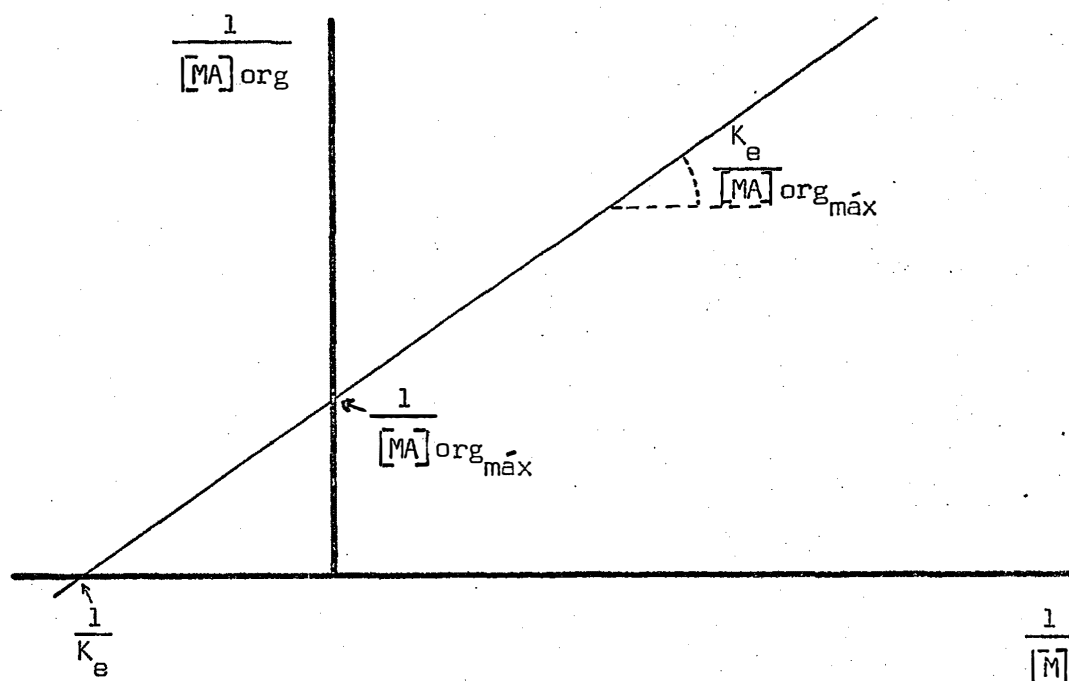


Figura 10- Gráfico "LINEWAVER e BURK" para curvas de extração subestequiométrica, onde $[M]$ é a concentração do metal (eixo das abcissas) adicionada à fase aquosa, e $[MA]_{\text{org}}$ é o complexo formado pelo agente quelante $(HA)_{\text{org}}$ (eixo das ordenadas)..

5.6. Estudo sobre descontaminação de ^{203}Hg de soluções aquosas

Segundo LAMM (1972) a máxima concentração permissível de ^{203}Hg na água a ser descartada como efluente é igual a $5 - 50 \times 10^{-5}$ $\mu\text{Ci/ml}$. A fim de evitar que as soluções contendo ^{203}Hg fossem despejadas diretamente no esgoto com esta concentração, tornou-se necessária a descontaminação das soluções utilizadas em cada experimento. Um segundo motivo, também importante, era a descontaminação dos funis de separação que seriam utilizadas em experimentos subsequentes, devido a possível adsorção do mercúrio na superfície interna dos frascos. Desta forma, convencionou-se que descontaminando as soluções a serem descartadas, os funis também seriam descontaminados.

O processo de descontaminação baseou-se em extrações sucessivas com ditizona (H_2Dz) 10^{-5}M em CCl_4 .

O método consistiu em se adicionar 410 μg de ^{203}Hg , com atividade igual a 80 μCi aproximadamente, a 50 ml de HCl 0,1 M e 3 ml de NH_2OH . HCl 5% em funil de separação de 125 ml. Inicialmente, fez-se uma extração subestequiométrica com 6 ml de $\text{Zn}(\text{HDz})_2$ 10^{-7}M . Descartada a fase orgânica para tubos de ensaio, coletou-se uma alíquota da fase aquosa, 2 ml, com posterior contagem. Em seguida fez-se a 1a. extração com 5 ml de H_2Dz 10^{-5}M durante 1 minuto. A fase orgânica foi coletada, contada e 2 ml da fase aquosa foram tomados como alíquota com posterior contagem. Após, fez-se a 2a. extração com 5 ml de H_2Dz 10^{-5}M e o mesmo procedimento anterior foi realizado.

O ponto final das extrações com ditizona foi estabelecido em torno das contagens obtidas nos extratos orgânicos e nas alíquotas da fase aquosa. Após descartar a fase aquosa, lavaram-se as paredes do funil com HCl 0,01 M duas vezes. As alíquotas foram tomadas e também analisadas no espectrômetro gama.

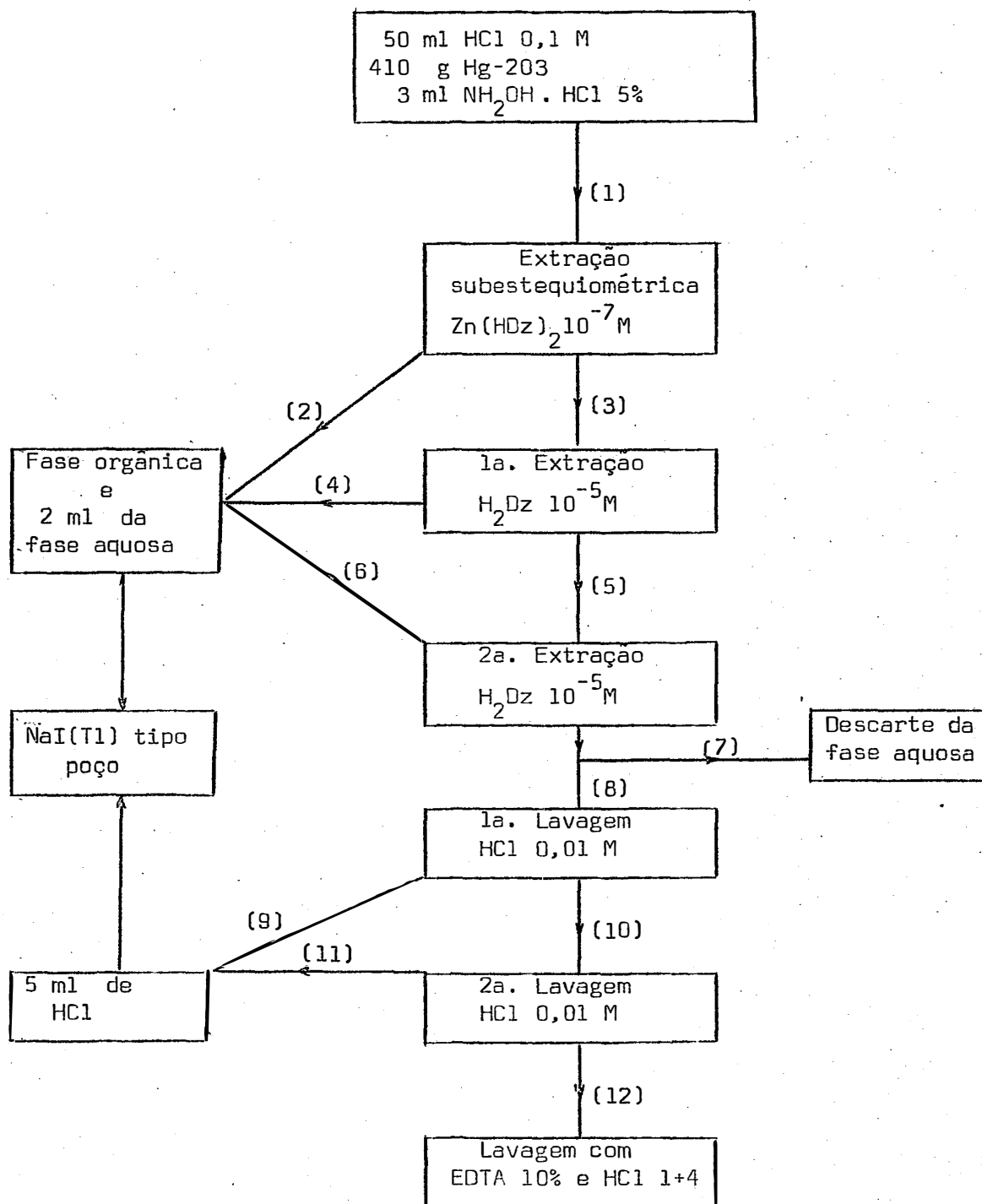


Figura 11 - Esquema do procedimento analítico de descontaminação de ^{203}Hg . Os números representam a ordem dos passos realizados.

Este experimento foi feito com 10 repetições, e a partir do resultado obtido, após cada procedimento analítico envolvendo extração de ^{203}Hg subestequiométricamente, a descontaminação esteve sempre presente.

Após a descontaminação os funis foram sempre lavados conforme o método descrito no item 5.1.

O esquema da Figura 11, resume o procedimento analítico utilizado no estudo de descontaminação de ^{203}Hg .

5.7. Decomposição de amostras de tomate em frasco de combustão

A queima de materiais orgânicos em uma atmosfera de oxigênio tem várias vantagens. Ela é rápida, simples e independe até um certo ponto da concentração do elemento que se quer analisar. O oxigênio pode ser encontrado com alto grau de pureza, isento de mercúrio, sem maiores problemas de purificação que os ácidos minerais utilizados na decomposição das amostras por via úmida. (Estes aspectos já foram revisados no Capítulo 3, item 3.2.).

Para que a combustão do material seja possível, é necessário que o mesmo não contenha mais que 30% de umidade. Em se tratando de amostras vegetais tal problema é contornado através da liofilização do material.

5.7.1. Método

5.7.1.1. Liofilização de frutos de tomate

Este estudo se concentrou na cultura de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) visto que suas sementes eram tratadas com um fungicida organomercurial denominado Neantina antes do plantio, para evi-

tar possíveis doenças. Em consequência deste fato, montou-se um experimento para testar um possível efeito residual do mercúrio nos frutos. Este experimento não foi analisado, mas a metodologia de decomposição das amostras foi desenvolvida.

Assim, o material foi liofilizado conforme o seguinte procedimento:

- a. Pesaram-se 1,5 kg de frutos maduros, previamente lavados com água corrente e água bidistilada, sendo em seguida - cortados em fatias.
- b. Os pedaços dos frutos foram colocados em liquidificador onde se obteve massa de tomate que foi transferida para uma bandeja apropriada do biofilizador (marca VIRTIS).
- c. A bandeja foi levada para para um pré-congelamento entre -20 e -30^oC em geladeira e posteriormente transferida para o liofilizador.
- d. No liofilizador esperaram-se 2 horas para a temperatura chegar a -45^oC. Nesta temperatura do material, ligou-se o vácuo durante 1 hora para depois ligar o aquecimento. Processa-se a liofilização até a temperatura alcançar +45^oC. A liofilização foi completa após 12 horas de aquecimento.
- e. Coletou-se o material, armazenando-o em frascos de vidro âmbar previamente esterilizados. Os frascos foram hermêticamente fechados.

Este material liofilizado foi utilizado para se preparar os briquetes a serem queimadas no frasco de combustão.

5.7.1.2. Fabricação de briquetes de tomate liofilizado com ^{203}Hg

Pesou-se uma quantidade de amostra equivalente a ± 1 grama, preparando-se cada briquete na peça exposta na Figura 12, feita em aço inox.

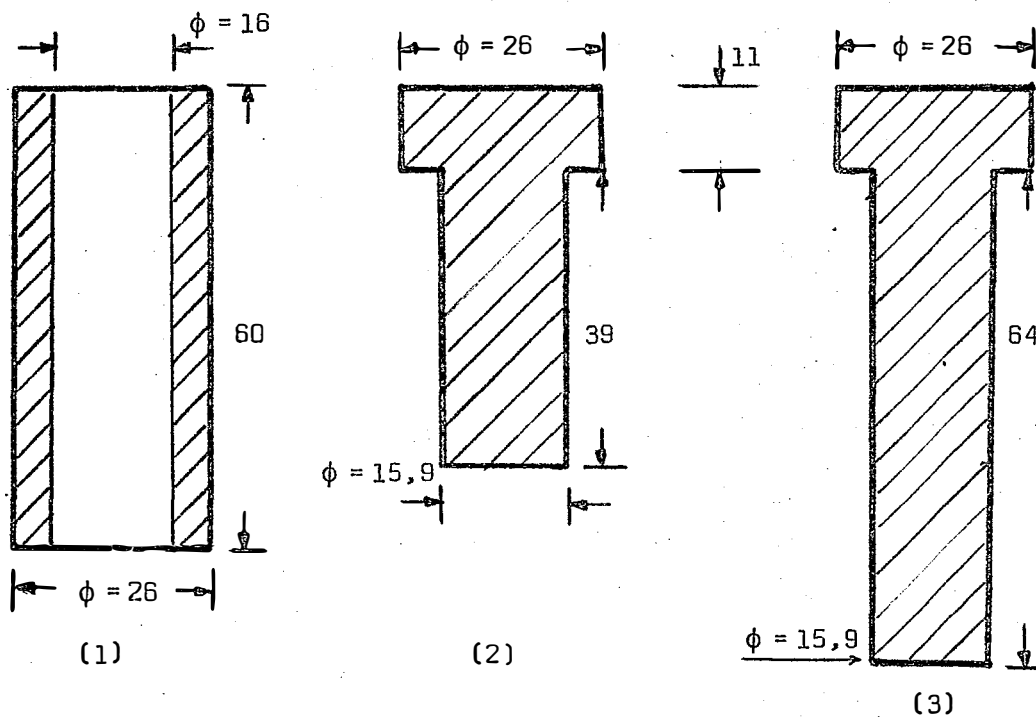


Figura 12 - Esquema da peça utilizada para fazer os briquetes de material liofilizado. Dimensões em mm, escala 1:1.

Na Figura 12, a peça (2) é encaixada na peça (1). O material é colocado sobre a extremidade mais estreita da peça (2) e prensado com auxílio da peça (3).

O mercúrio-203 é adicionado às amostras com micropipeta de 10, 20 ou 50 μl , de acordo com a concentração desejada, de forma intermitente: amostra-prensa-mercúrio-amostra-prensa-mercúrio, e assim por diante.

5.7.1.3. Queima das amostras no frasco de combustão

Uma vez que *LAMM e RUZICKA (1969)* estudaram a decomposição de amostra, com exceção de tomates, em frascos de combustão, recuperando o mercúrio em meio de 70 ml de HCl 0,2 M e 4 ml de KMnO_4 0,02 M, modificou-se o procedimento, utilizando-se 50 ml de HCl 0,1M em ausência de KMnO_4 , em frasco de combustão de 2000 ml conforme mostra a Figura 13. Este estudo, teve por objetivo principal verificar se a recuperação de mercúrio a níveis abaixo de 50 ppb é possível ou não. Este estudo baseou-se no método de *LAMM e RUZICKA (1969)*.

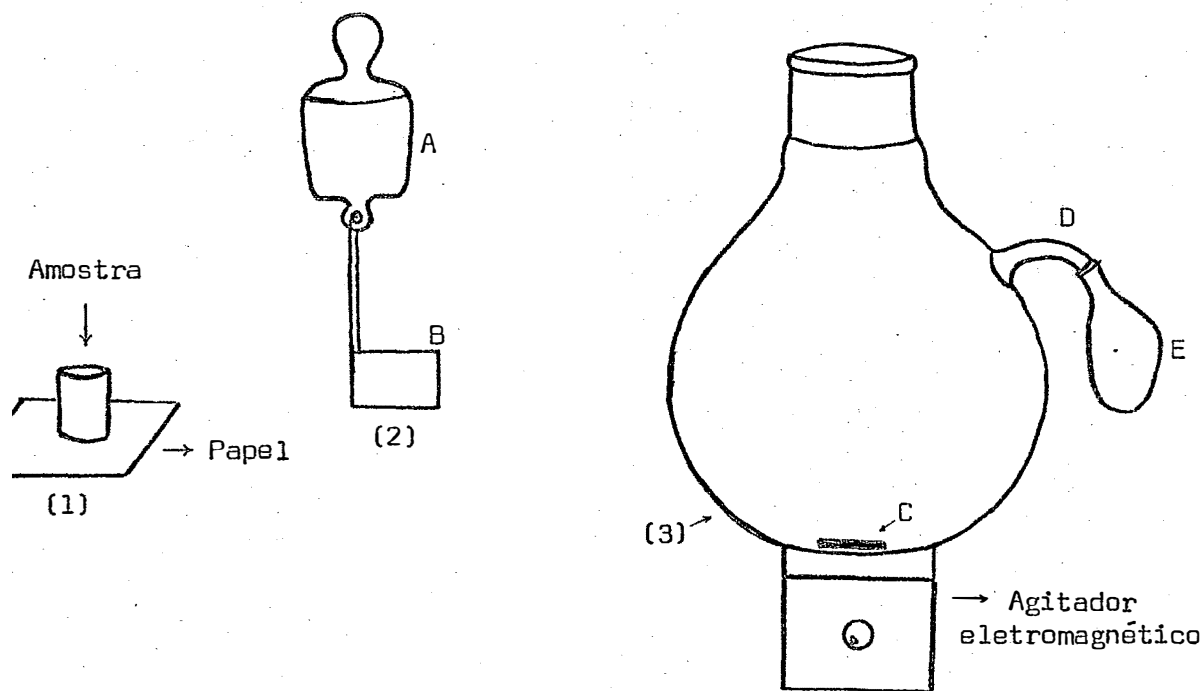


Figura 13- Frasco de combustão de oxigênio, mostrando em (1) a amostra a ser envolta pelo papel; (2) macho (A) com o suporte da amostra (cesta B); (3) frasco de combustão com barra agitadora de Teflon (C) e saída lateral (D) onde está preso um balão de borracha (E).

O método consiste nos seguintes passos (vide Figura 13):-

1. Colocar no frasco uma barra recoberta de teflon, C, para proceder a agitação magnética, e um balão de borracha na saída lateral D.
2. Adicionar 50 ml de HCl 0,1 M purificado.
3. Colocar a amostra (briquete) envolta em papel (pré-analisado em termos de Hg^{2+}) na cesta B.
4. Injetar oxigênio no balão de tal forma que sua atmosfera propicie a combustão.
5. Acender a amostra e fechar o balão com a peça A.
6. Prender a peça A firmemente até que a combustão se completa (\pm 8 minutos). Deve-se observar que durante a combustão há expansão do gás e o balão de borracha é inflado.

O processo termina quando o balão volta à sua forma original. Para as amostras de 1 a 2 gramas o tempo total de recuperação de mercúrio é da ordem de 15 minutos.

Material:

1. Balão de fundo chato marca DURAN, de 2000 ml, com fêmea de 55 x 50 e saída lateral conforme mostra a Figura
2. Macho de vidro esmerilhado de 55 x 50 com adaptação para o suporte das amostras.
3. Cestas de malha de aço inox de 3 x 3 x 3 cm.
4. Balões de borracha (tipo aniversário).

5. Barra recoberta de Teflon para agitação magnética de 4 a 5 cm.
6. Agitador eletromagnético.
7. Balão de oxigênio.

6. MÉTODO DA ANÁLISE POR DILUIÇÃO ISOTÓPICA SUBESTEQUIOMÉTRICA

Neste capítulo são tecidas considerações teóricas necessárias à compreensão da metodologia empregada, incluindo-se os cuidados para se obter uma boa sensibilidade na determinação de mercúrio a níveis de partes por bilhão (ppb).

O material utilizado segue a descrição feita no item 5.1. Optou-se pelo uso do ditizonato de zinco como agente quelante, uma vez que a forma de suas curvas de extração permite um menor erro na reprodutibilidade das análises (*RUZICKA e STARY, 1968*). (A discussão das curvas para os agentes quelantes utilizados é feita com detalhes no capítulo seguinte).

Como já foi frizado, este método é uma modificação daqueles já descritos na revisão bibliográfica, realizados por *RUZICKA e STARY (1961)*; *BRISCOE et alii (1968)*; *RUZICKA e LAMM (1968; 1969)*. O método descrito em 1961 foi somente uma aplicação da diluição isotópica subestequiométrica, e os subsequentes foram todos baseados na automação das análises com pré-concentração do mercúrio por ditizona em CCl_4 .

Estes métodos apresentam ótima sensibilidade porque há uma fase pré-concentração do mercúrio com 5 ml de solução de ditizona 10^{-5}M . Após este passo, a fase orgânica é transferida para um funil de separação de 25 ml, ao qual são adicionados 5ml de HCl 0,1 M e 1 ml de NaNO_2 0,5% para extrair o mercúrio na fase aquosa ("back-extraction"). Nesta fase aquosa, adiciona-se o ditizonato de zinco para extrair o mercúrio subestequiometricamente, após a adição de sulfato de hidrazina 10% para reduzir o nitrito, evitando-se assim a destruição do agente quelante. Como este processo é muito lento e trabalhoso, quando não automatizado, além de exigir um maior número de reagentes, formulou-se a hipótese de que seria possível determinar mercúrio com sensibilidade melhor que 50 ppb, eliminando-se a fase de pré-concentração com H_2Oz 10^{-5}M .

Desta forma, segundo os melhores resultados obtidos nos preliminares, foram realizados diversos experimentos a fim de se avaliar a sensibilidade e a reprodutibilidade do método propriamente dito. Segundo *RUZICKA e LAMM (1969)* a condição que permite a melhor resposta à diluição isotópica subestequiométrica (DIS) é a de adicionar-se uma quantidade Y de mercúrio-203 que seja igual à quantidade X de mercúrio estável a ser determinado.

Assim, por exemplo, suponha-se que em dois funis de separação que contém HCl 0,1 M são adicionadas quantidades Y de Hg -203 igual a 100 ng. Se num dos funis for adicionada uma quantidade X

de mercúrio estável também igual a 100 ng, após a extração subestequiométrica as mesmas massas de mercúrio serão isoladas. Se $m_o = m_x = 80$ ng, do funil que contém só *Hg (Hg-203) são isoladas 80 ng *Hg e do funil que contém a mistura dos dois isótopos são isoladas 40 ng $^*Hg + 40$ ng Hg. Como o detector de radiações só enxerga *Hg , a relação entre as taxas de contagem líquida do padrão e da mistura diluída isotopicamente, C_{L_o} / C_{L_x} (vide item 3.2), deve ser exatamente igual a 2. Lembrando a equação (3),

$$X = Y \left(\frac{C_{L_o}}{C_{L_x}} - 1 \right), \text{ ter-se-á}$$

para $\frac{C_{L_o}}{C_{L_x}} = 2$ e $Y = 100$, a quantidade X procurada, que no caso será igual a 100 ng Hg estável, como foi formulado por hipótese.

Portanto, observa-se que a resposta da diluição isotópica na determinação de mercúrio depende das quantidades X e Y consideradas. Se $X = 1$ ng Hg e $Y = 100$ ng *Hg , torna-se difícil a visualização da diluição isotópica pois C_{L_o} será praticamente igual a C_{L_x} e o erro da medida tornar-se-á significativo. Da mesma forma, se $X = 10.000$ ng Hg e $Y = 100$ ng Hg a diluição será tão grande que C_{L_o} será muito maior que C_{L_x} . Conclui-se que a razão entre X e Y ou vice-versa não deve ser maior que 10.

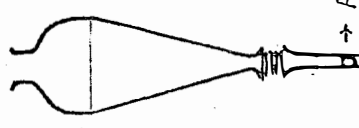
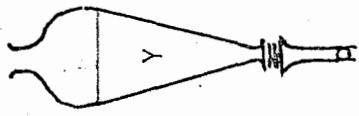
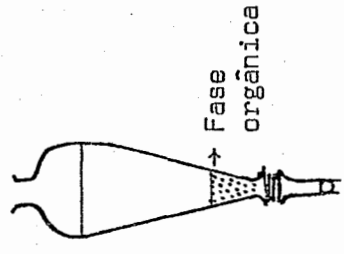
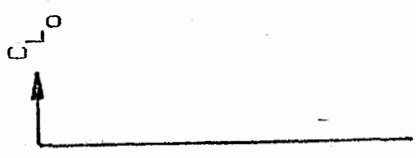
Para tanto, foram delineados diversos experimentos com soluções puras de mercúrio estável, para testar a sensibilidade do método, segundo diferentes quantidades de Y utilizadas para uma mesma concentração do agente quelante escolhido.

O procedimento analítico baseou-se na fase de pré-concentração com ditizona (RUZICKA e LAMM, 1969):

- a) Foram adicionados 50 ml de HCl 0,1 M em funis de separação de 125 ml com posterior adição de mercúrio-203 e agitação por 15 segundos (as quantidades utilizadas de mercúrio-203 foram baseadas nas curvas de extração subestequiométrica para solução de ditizonato de zinco 5×10^{-8} M em tetracloreto de carbono).
- b) Em seguida, adicionaram-se quantidades diferentes de mercúrio estável, excetuando-se nos padrões, com agitação por 1 minuto das misturas.
- c) Após, foram adicionados 3 ml de $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ 5% como agente redutor, para evitar uma possível destruição do ditizonato por agentes oxidantes, com agitação por 15 segundos.
- d) Fez-se a extração subestequiométrica dos íons de Hg^{2+} com 6 ml de solução de ditizonato de zinco 10^{-7} e 5×10^{-8} M, com agitação por 5 minutos.
- e) As fases orgânicas foram coletadas em tubos de ensaio de 10 ml para posterior contagem. As médias das taxas de contagem líquida da solução padrão, e das soluções diluídas isotopicamente correspondem aos valores C_{L_0} e C_{L_x} , respectivamente, que aplicados na equação (3) permitiram o cálculo do teor de mercúrio estável.

Pelos resultados obtidos, observou-se a resposta de cada análise para soluções puras de mercúrio estável e compararam-se os resultados observados com os esperados.

O procedimento analítico do método de determinação de mercúrio por diluição isotópica subestequiométrica utilizado neste trabalho, pode ser visualizado através do esquema da Figura 14.



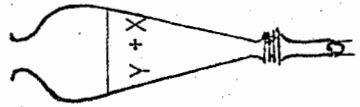
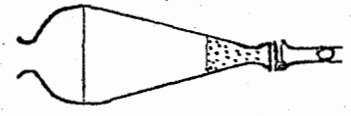
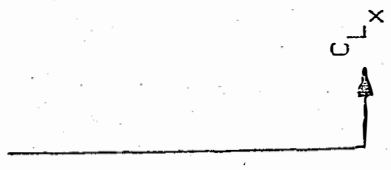
(a)

Funil de separação
(125 ml)
50 ml HCl 0,1 M

Adicionar Y ng Hg-203 aos
funis (a) e (b), e X ng Hg
ao funil (b).

Adicionar 3 ml de
 NH_4OH , HCl 5% e,
após agitação, 6 ml
de $Zn(HDz)_2$ $5 \times 10^{-8} M$

Transferir fase orgânica
para tubo de ensaio e con-
tar em detector de NaI(Tl),
tipo poço.



(b)

Figura 14 - Esquema do procedimento analítico da determinação de mercúrio por diluição isotópica subestequiométrica.

Um aspecto muito importante sobre a sensibilidade do método, e que mereceu considerações teóricas, foi o da atividade específica da solução de mercúrio-203 empregada durante o transcorrer das análises. *RUZICKA e STARY (1968)* e *RUZICKA e LAMM (1969)* tecem considerações sobre este fato. Para vários níveis de concentração de mercúrio estável que se deseja analisar, os autores sugerem as seguintes atividades específicas:

Mercúrio a ser determinado (μg)	Atividade específica de mercúrio-203 (Ci/g)
0,005 - 0,5	1,0
0,05 - 5	0,1
0,5 - 50	0,01

Mesmo assim, calculou-se a sensibilidade em função da máxima e mínima atividades utilizadas (entre 1,0 e 0,1 nCi/ng Hg), e do detector de NaI(Tl), tipo poço de 3" x 3", empregado nas análises, segundo a eficiência do mesmo.

7. RESULTADOS OBTIDOS E DISCUSSÃO

7.1. Experimentos preliminares

7.1.1. Detecção de mercúrio-203 com cristal de NaI (Tl), 3" x 3", tipo poço, por espectrometro gama mono-canal

7.1.1.1. Influência da relação sinal/ruído na precisão das contagens

Através do procedimento descrito no ítem 5.2.3., foram feitas as contagens dos respectivos padrões e das respectivas taxas de radiação de fundo nas regiões A - C e B - C do espectro do ^{203}Hg . Com os dados obtidos foram calculados a partir da taxa de contagem bru-

ta (C_B), da taxa de radiação de fundo (C_F) e dos respectivos tempos de contagem T_B e T_F , os parâmetros: taxa de contagem líquida (C_L) segundo a equação (9), o desvio padrão da taxa de contagem líquida (σ_L) pela equação (13) e o coeficiente de variação da taxa de contagem líquida (cv_L) conforme a equação (17), descritos no item 5.2.2.

Para a obtenção de um maior número de dados, foram simulados outros padrões, segundo as taxas de contagem líquida observadas, com atividades entre 50 e 0,05 nCi ^{203}Hg .

Parte dos resultados obtidos neste estudo está resumida no Quadro 7. A Figura 15 mostra os diversos coeficientes de variação em função da posição dos discriminadores e dos tempos de contagem T_B e T_F , para amostras com atividades entre 0,06 e 1,25 nCi.

Para amostras com atividades maiores que 1,25 nCi, obtiveram-se coeficientes de variação muito baixos, menores que 1%, e por isso não foi feita uma discussão em torno desses valores.

Observa-se pela Figura 15 que não existe uma diferença muito significativa entre os coeficientes de variação observados para amostras com atividade de até 0,25 nCi, quando os tempos T_B e T_F são iguais a 1 minuto. Para amostras com 0,12 e 0,06 nCi, o erro das medidas será menor quando a contagem for feita no fotopico (B - C), mas a máxima diferença observada entre os coeficientes de variação foi de 5%, para a amostra mais fraca.

Por outro lado, se os tempos T_B e T_F forem aumentados, haverá uma minimização nos erros devidos às contagens. Isto já era esperado (observe a equação 13, ou a 17) e quando T_B e T_F são iguais a 10 minutos, não se nota diferença significativa entre os coeficientes de variação para amostras com atividade de até 0,06 nCi. Se os tempos T_B e T_F forem devidamente balanceados, segundo um tempo T total disponível não será observada nenhuma diferença significativa

entre os erros das medidas.

Observou-se que, para quaisquer tempos de contagem T_B e T_F , a precisão das contagens é exatamente a mesma na região integral ou no fotopico, quanto a atividade da amostra é igual a 0,5 nCi. É interessante notar que, para atividades maiores que esta, o erro das contagens é menor na região integral que no fotopico, ocorrendo o inverso quando as atividades são menores.

Estes fatos são explicados porque a radiação de fundo apresenta uma influência muito grande quando as amostras são de baixa atividade, não ocorrendo o mesmo para amostras com atividade maior que 0,5 nCi.

Isto permite dizer que é indiferente fazer-se a contagem integral, ou no fotopico, segundo as condições empregadas. A vantagem de se contar integral reside no fato de que muitas vezes há flutuação do espectro, e uma pequena variação na posição do fotopico influirá significativamente nos resultados a serem analisados.

Calculou-se, por outro lado, a relação sinal/ruído pelas equações $\frac{S}{B} = \frac{C_L}{C_F}$ e $\frac{S^2}{B} = \frac{C_L^2}{C_F}$ conforme ROSS e HARRIS. Este procedimento não mostrou resultados coerentes com a afirmativa de que quanto maior a relação sinal/ruído, menor o coeficiente de variação. A relação S^2/B mostrou esta concordância para amostras em atividades menores que 1,25 nCi. A não concordância pode ser explicada pelo fato das equações acima se aplicarem somente em estudos no fotopico para amostras com taxas de contagem líquida próximas às taxas de contagem de radiação de fundo.

Quadro 7 - Posições dos discriminadores para análise de ^{203}Hg e respectivas taxas de contagem líquida (C_L), desvio padrão da taxa de contagem líquida (σ_L) e coeficiente de variação (cv_L) para atividades entre 50 e 0,5 nCi ^{203}Hg .

Padrão (nCi)	Posição dos discriminadores	C_L (cpm)	$t_B = 1 \text{ min e } t_F = 1 \text{ min}$		$t_B = 10 \text{ min e } t_F = 10 \text{ min}$	
			σ_L (cpm)	cv_L (%)	σ_L (cpm)	cv_L (%)
50,00	A - C	55340	236,3	0,43	-	-
	B - C	40260	201,1	0,50	-	-
25,00	A - C	27670	167,9	0,61	-	-
	B - C	20130	142,5	0,71	-	-
12,50	A - C	13800	119,7	0,87	-	-
	B - C	10080	101,2	1,00	-	-
5,00	A - C	5560	78,0	1,40	-	-
	B - C	4040	64,9	1,61	-	-
2,50	A - C	2780	57,4	2,07	-	-
	B - C	2020	46,8	2,30	-	-
1,25	A - C	1400	43,8	3,13	13,9	0,99
	B - C	1007	34,3	3,40	10,8	1,07
0,50	A - C	560	32,9	5,87	10,4	1,86
	B - C	410	24,0	5,85	7,6	1,85
0,25	A - C	280	28,3	10,10	8,9	3,19
	B - C	207	19,3	9,33	6,1	2,95
0,12	A - C	128	25,5	19,89	8,1	6,28
	B - C	87	15,9	18,28	5,0	5,78
0,06	A - C	65	24,2	37,21	7,7	11,18
	B - C	44	14,5	32,94	4,6	10,41
C_F	A - C	260				
	B - C	83				

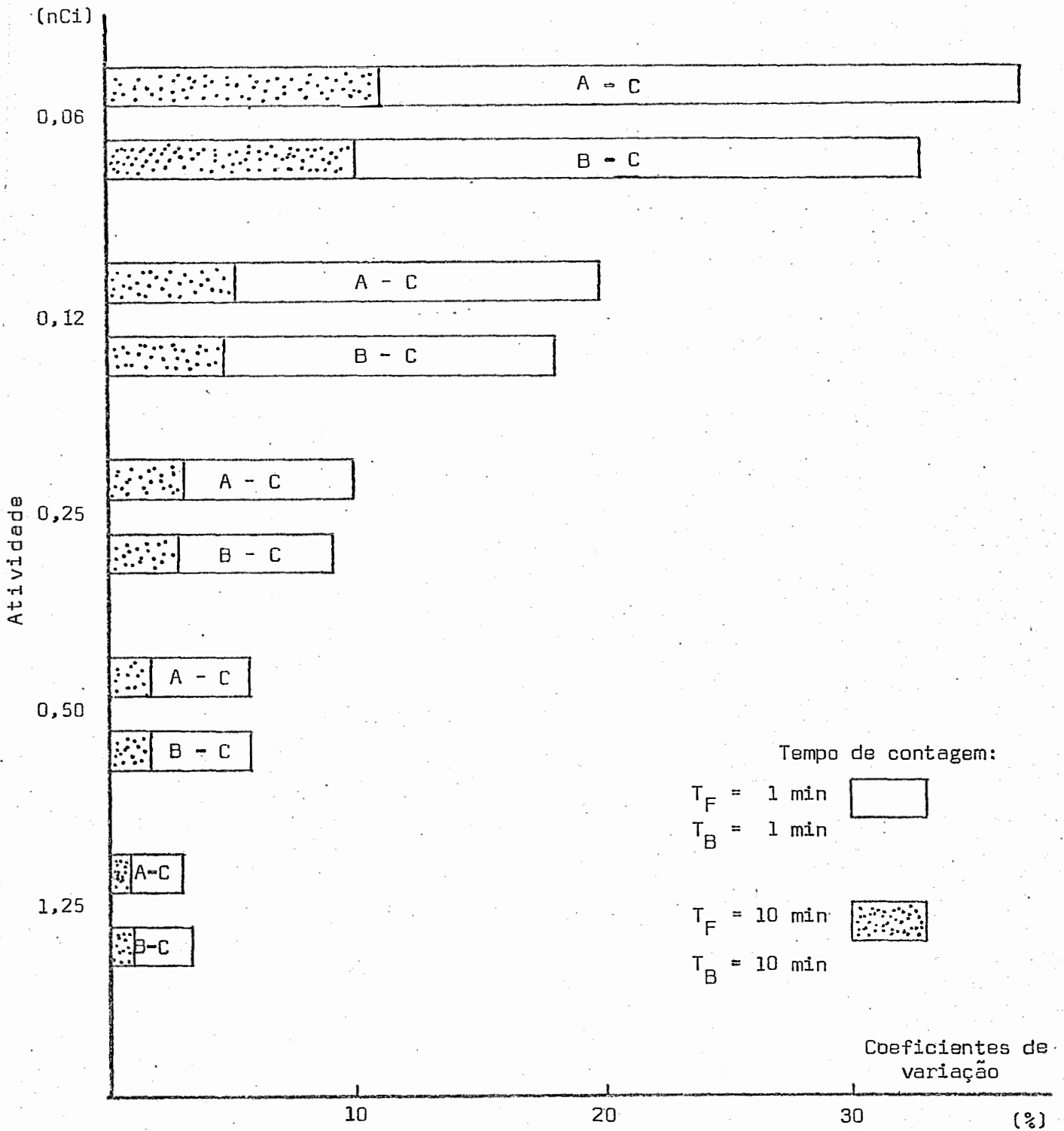


Figura 15 - Coeficiente de variação (%) de amostras contendo ^{203}Hg com diferentes atividades (nCi), detectados em canais diferentes:- A - C (região integral) e B - C (região do fotopico).

7.1.1.2. Efeito da geometria das amostras na detecção de ^{203}Hg

As taxas de contagem líquida obtidas para os diferentes tratamentos explicados no ítem 5.2.4., foram transformadas em percentagem relativa à máxima taxa de contagem observada. O gráfico da Figura 16 ilustra o fator geometria, mostrando que a correção das contagens se faz sempre necessária quando se correlacionaram atividades de mercúrio-203 em volumes diferentes.

A hipótese formulada no ítem 5.1.4. mostra concordância com as explicações de *CHASE e RABINOWITZ (1968)* e *VERHEIJKE (1962)* para fenômenos desta natureza.

7.1.2. Extração com solventes

7.1.2.1. Cinética

Com as contagens obtidas no ítem 5.3., calcularam-se as taxas de contagem líquida e o aumento percentual da extração do mercúrio para os correspondentes tempos de agitação. O aumento percentual da extração em função do tempo de agitação, para os respectivos tratamentos do Quadro 2, do ítem 5.3. está representado nos gráficos das Figuras 17, 18 e 19.

Nas discussões que se seguem foi usado o valor de 90% para a máxima extração, isto é, a fração máxima de mercúrio extraída.

Analisando-se isoladamente a cinética de extração para cada agente quelante, nota-se na Figura 17 que para soluções de ditizona (H_2Dz) 10^{-5} e 10^{-6}M o tempo necessário para alcançar a máxima extração gira em torno de 60 segundos. Estes dados estão em concordância com os tempos de agitação utilizados no método espectrofotométrico

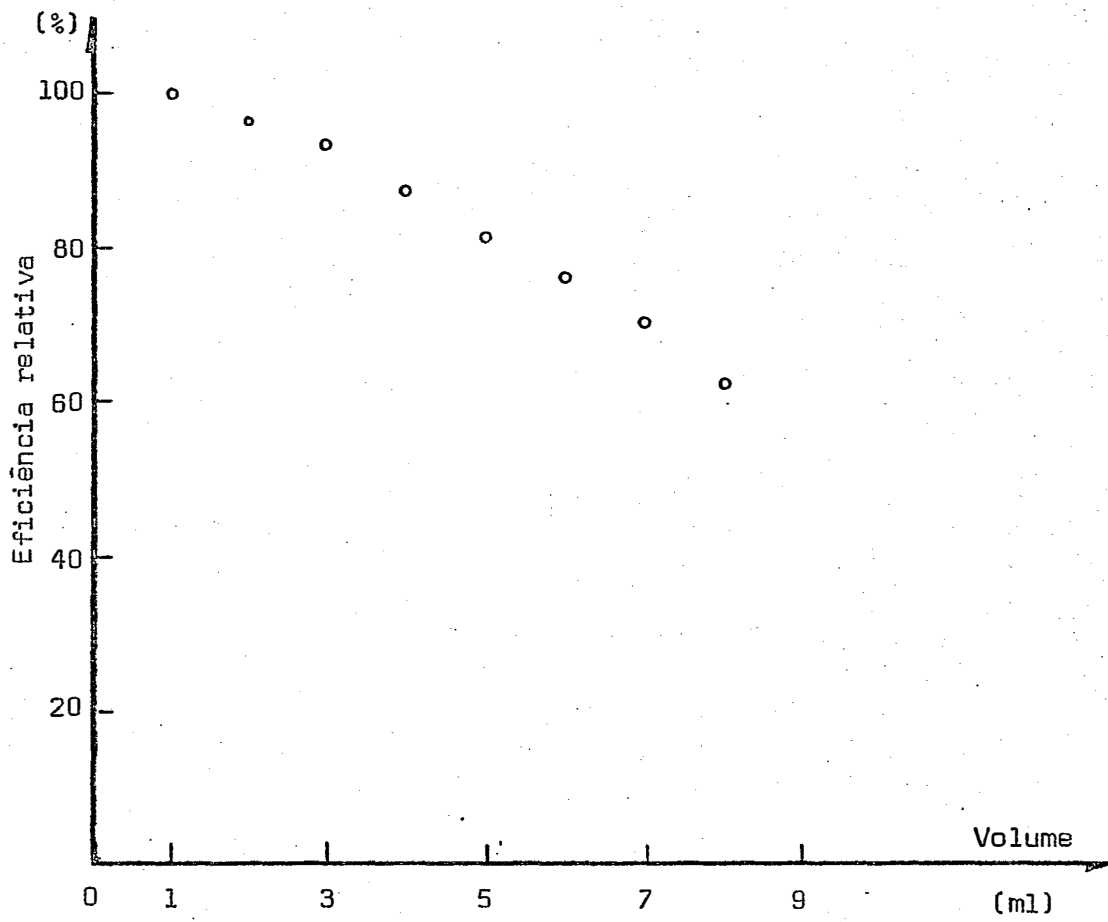


Figura 16 - Efeito da geometria das amostras nas contagens.

co do ditizonato de mercúrio (*ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, 1965*). Convém frizar que para estas concentrações, o fenômeno não foi subestequiométrico, sendo que estes tempos serviram de base para o estudo de descontaminação de mercúrio-203 (item 5.6.). Para soluções mais diluídas, 10^{-7} e 5×10^{-8} M, e para estudar a cinética de extração subestequiométrica, observa-se pelas Figuras 17 e 18, respectivamente, que o tempo de agitação aumenta quanto menor a concentração da ditizona. As diferenças não são muito significativas, mas pode-se avaliar que com 70 segundos de agitação para a solução 10^{-7} M ocorre a máxima extração, enquanto que para solução 5×10^{-8} M este tempo equivale a 90 segundos. A forma das curvas encontradas não pode ser discutida, porque cada ponto corresponde a uma repetição.

Para os tratamentos com solução de dietilamoneo dietilditio carbamato (DDC) 2×10^{-7} M e 5×10^{-8} M, observa-se visualmente nos gráficos da Figura 18, uma diferença significativa entre os tempos de agitação, que correspondem a 90 e 180 segundos respectivamente, denotando também que quanto menor a concentração do agente quelante, maior o tempo de agitação para ocorrer a máxima extração.

Isto também é observado para os gráficos da Figura 19, para soluções de ditizonato de zinco $[\text{Zn}(\text{HDz})_2]$, com tempos iguais a 10, 60 e 240 segundos de agitação, respectivamente.

Comparando-se agora os agentes quelantes entre si com concentração igual a 5×10^{-8} M, observa-se que a formação do complexo metálico na fase orgânica é mais rápida para H_2Dz que para DDC e $\text{Zn}(\text{HDz})_2$. O motivo de um tempo de agitação mais longo para o $\text{Zn}(\text{HDz})_2$ é explicável, visto que é mais fácil deslocar o íon H^+ do grupo sulfidrila da ditizona ou do dietilditio carbamato, que deslocar o Zn^{2+} do ditizonato de zinco durante a reação.

Os tempos de agitação obtidos nestes experimentos foram usa

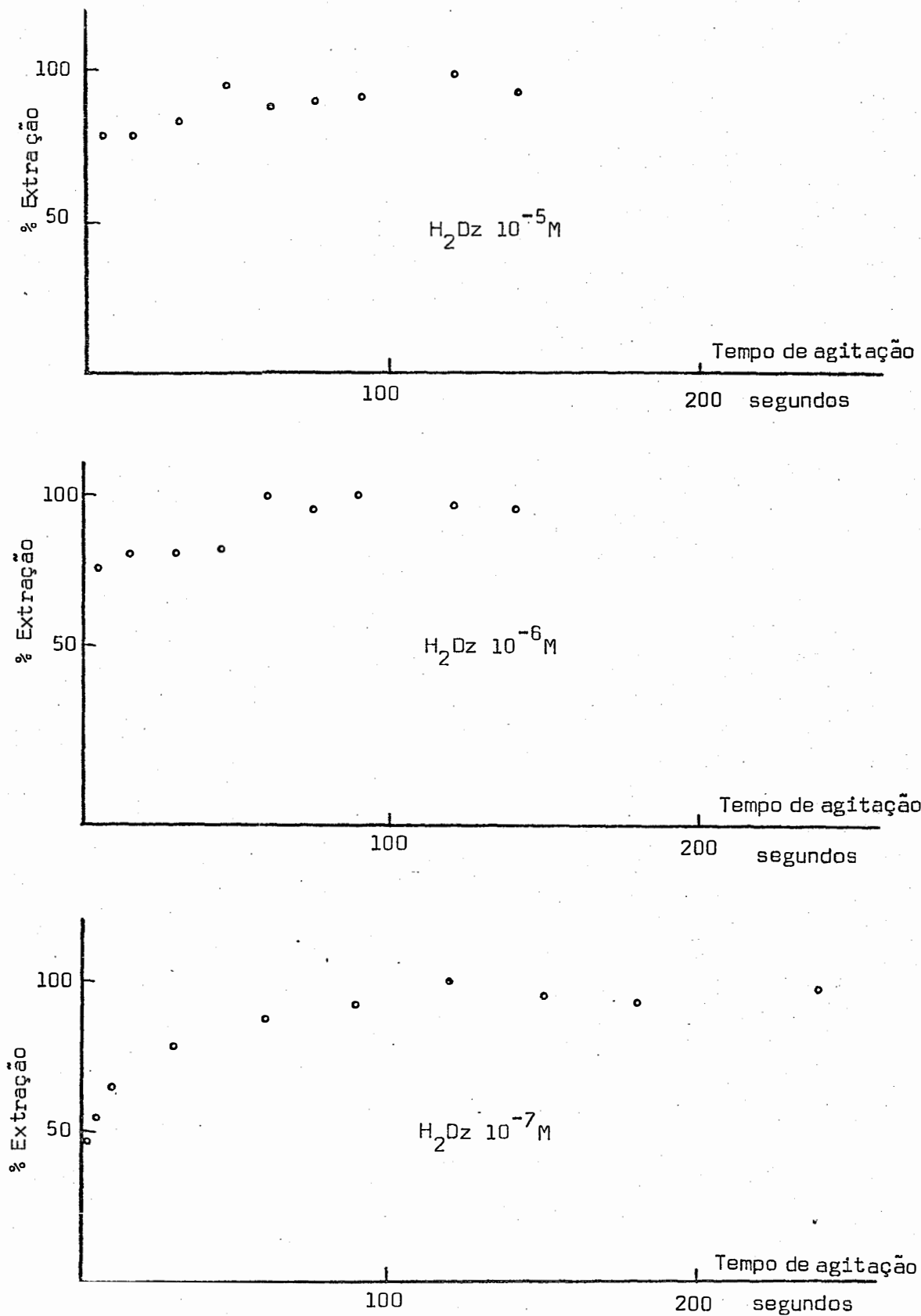


Figura 17 - Percentagem de mercúrio extraído em função do tempo de agitação.

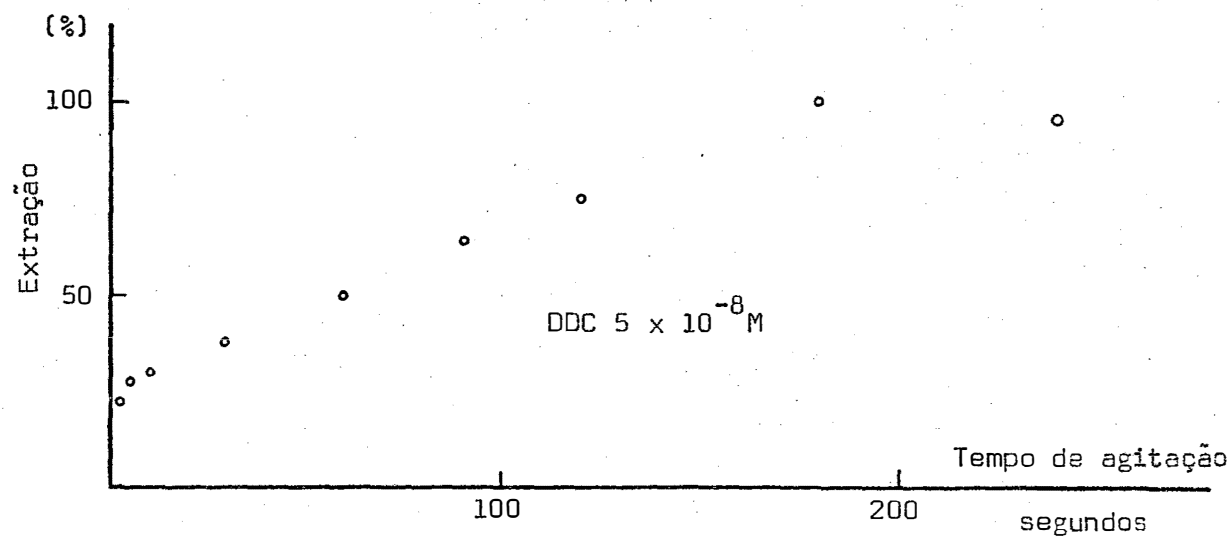
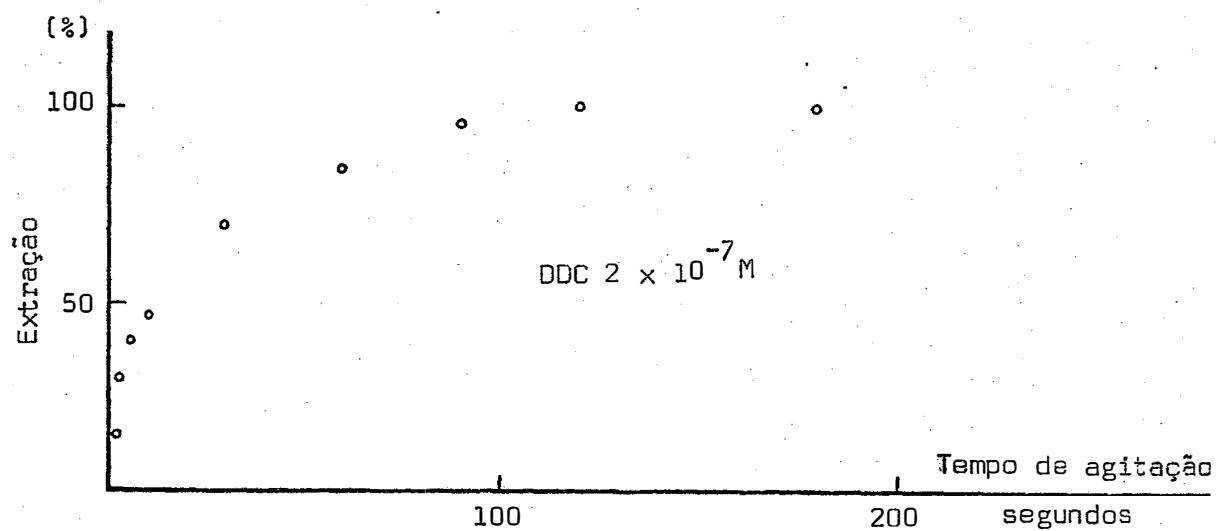
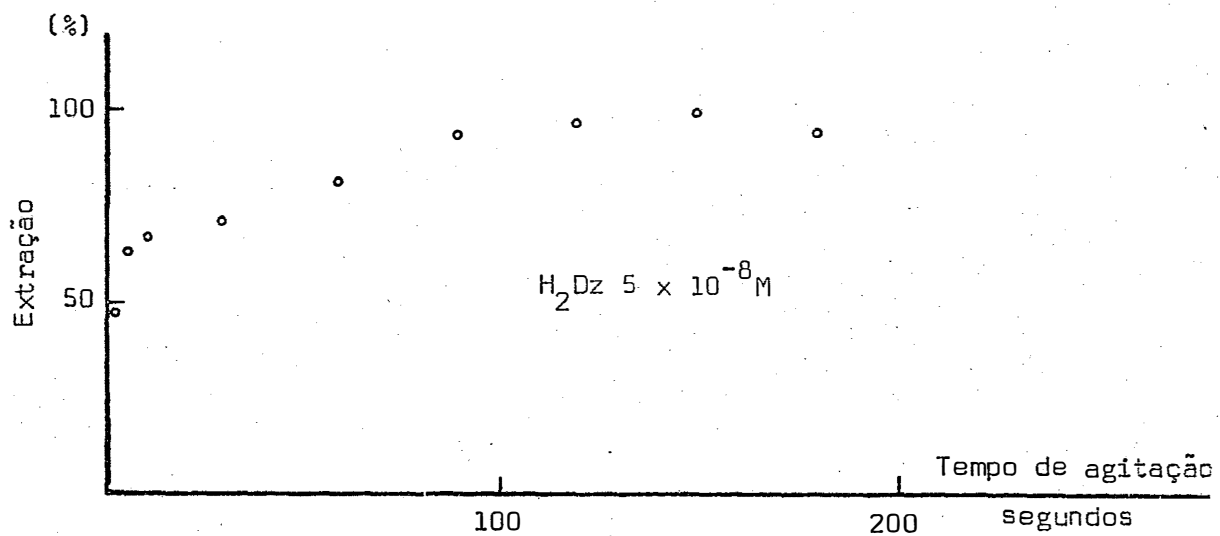


Figura 18 - Percentagem de mercúrio extraído em função do tempo de agitação.

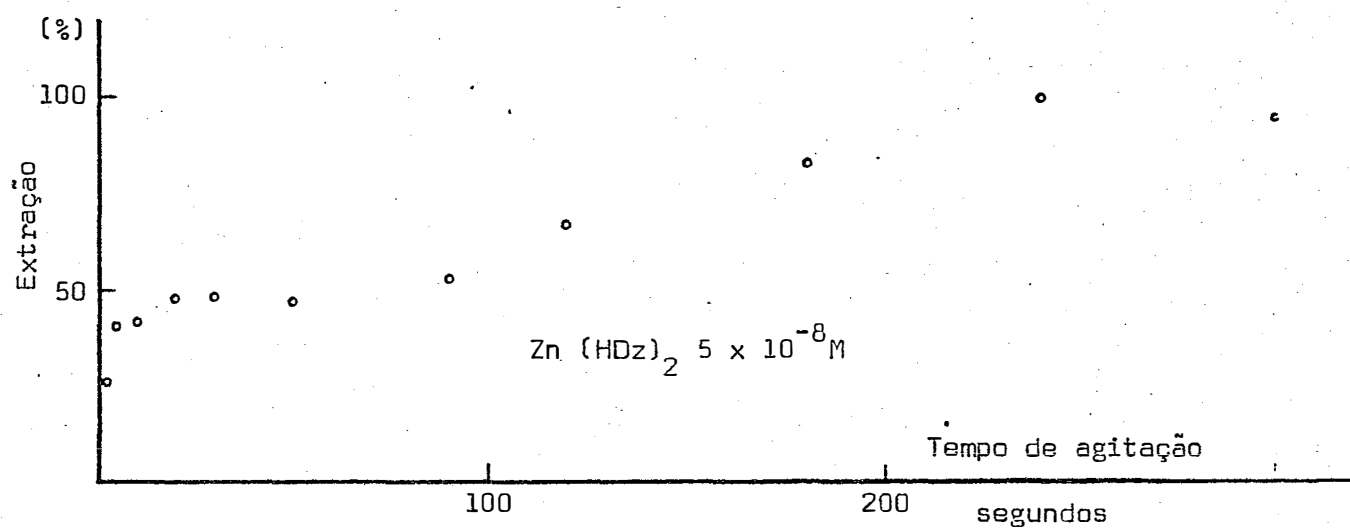
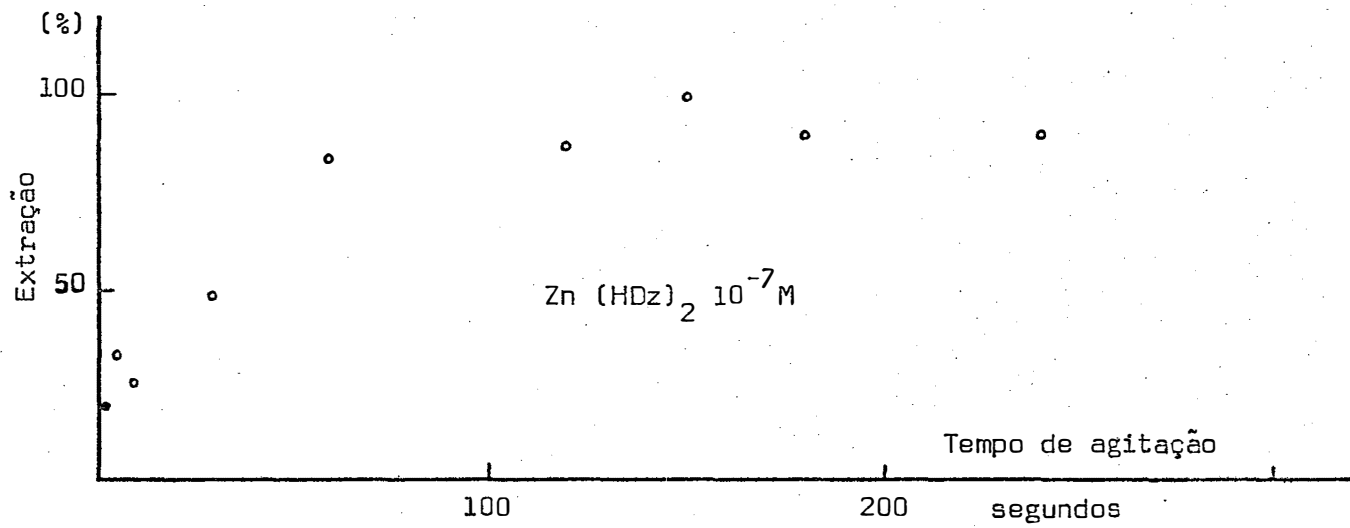
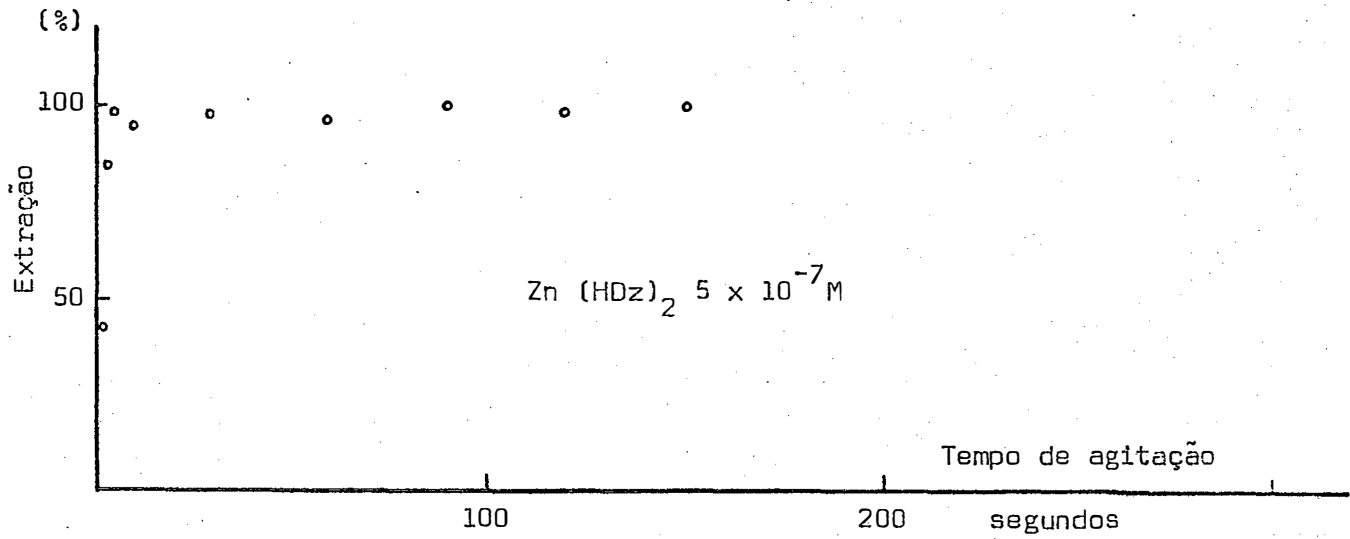


Figura 19 - Percentagem de Hg extraído em função do tempo de agitação.

dos nos subsequentes, com uma margem de segurança de 60 segundos. Desta forma, para soluções $5 \times 10^{-8} M$, o tempo de agitação foi de:-

3 minutos para H_2Dz

4 minutos para DOC

5 minutos para $Zn (HDz)_2$

7.1.2.2. Estudos sobre a relação fase aquosa: fase orgânica

Os resultados deste estudo estão resumidos nos gráficos das Figuras 20, 21 e 22.

A razão de distribuição D foi calculada pela equação (18) explicada no item 5.4. A concentração de mercúrio nas fases aquosa e orgânica foi medida através das taxas de contagem líquida obtidas para cada relação F_{aq}/F_{org} . A percentagem de extração $\%E$ foi calculada pela equação (19) em função dos valores de D obtidos e da relação V_{aq}/V_{org} para cada caso, e a percentagem de extração subestequiométrica $\%E_s$ foi calculada pela equação (20), descritas no mesmo item.

O gráfico da Figura 20 mostra a variação da percentagem de mercúrio extraída subestequiometricamente em função das relações fase aquosa/fase orgânica utilizadas. Os dados desta função são apresentados no Quadro 8. Para valores de F_{aq}/F_{org} compreendidos entre 5 e 15 foram realizados dois experimentos com 5 tratamentos e 2 repetições cada um a fim de se obter um número mais significativo de dados. Observa-se pela Figura 20 que quanto maior a relação F_{aq}/F_{org} , menor a percentagem de mercúrio extraída subestequiometricamente. Este fato pode ser explicado observando-se que, apesar do teor total de mercúrio utilizado em todos os tratamentos ser

igual, a concentração de mercúrio diminui conforme aumenta o volume da fase aquosa.

Por este motivo, a razão de distribuição D e a porcentagem de extração de mercúrio foram calculadas conforme recomendam *MORRISON e FREISER (1966)* sem se preocupar com a aplicação destes fenômenos para relações estequiométricas.

O gráfico da Figura 21 mostra que há uma correlação ao nível de 99% entre a razão de distribuição e a porcentagem de mercúrio extraída subestequiometricamente. As taxas de contagem líquida das fases aquosa e orgânica foram corrigidas, segundo a geometria de cada caso, por uma regra de três conforme os dados obtidos no item 5.2.4. e discutidos no item 7.1.1.2.

Correlacionaram-se também a porcentagem de mercúrio extraído subestequiometricamente com a porcentagem de extração calculada conforme *MORRISON e FREISER (1966)*. Nota-se pelo exame da Figura 22, que há uma correlação positiva entre os parâmetros confrontados. Isto permite dizer que a equação (20) pode ser utilizada quando se deseja uma relação fase aquosa/fase orgânica que otimize a extração de mercúrio por agentes quelantes.

Optou-se pela relação F_{aq}/F_{org} igual a 8,33, ou seja, 50 ml de HCl 0,1 M para 6 ml de $[Zn(HDz)]_{CCl_4}$, visto que este volume poderia permitir uma boa recuperação de mercúrio em frasco de combustão de oxigênio quando comparado com aquele usado por *LAMM e RUZICKA (1969)* que era igual a 70 ml. Esta relação foi utilizada na maioria dos experimentos realizados neste trabalho com funis de separação de 125 ou 250 ml. Foram feitos estudos desta natureza em funis de separação de 25 ml, fixando-se o volume da fase orgânica em 3 ml e variando-se o volume da fase aquosa, de 3 a 12 ml com HCl 0,1 M. Não houve diferenças muito significativas entre as relações F_{aq}/F_{org}

Quadro 8 - Dados obtidos de percentagem de Hg extraído subestequiométricamente ($\% E_s$), percentagem de extração ($\% E$) e razão de distribuição (D) em função da relação fase aquosa/fase orgânica (F_{aq}/F_{org}).

F_{aq}/F_{org}	$\% E_s$	D	$\% E$
8,33	80,00	0,43	4,86
11,67	70,05	0,36	3,01
15,00	61,16	0,30	1,95
18,33	52,06	0,25	1,34
21,66	47,34	0,22	1,00
25,00	33,32	0,13	0,54
28,33	13,75	0,05	0,17
5,00	100,00		
6,67	88,38		
8,33	80,06		
10,00	60,86		
11,67	59,47		
5,00	100,00		
8,33	73,93		
11,67	65,70		
15,00	59,00		
18,33	51,08		

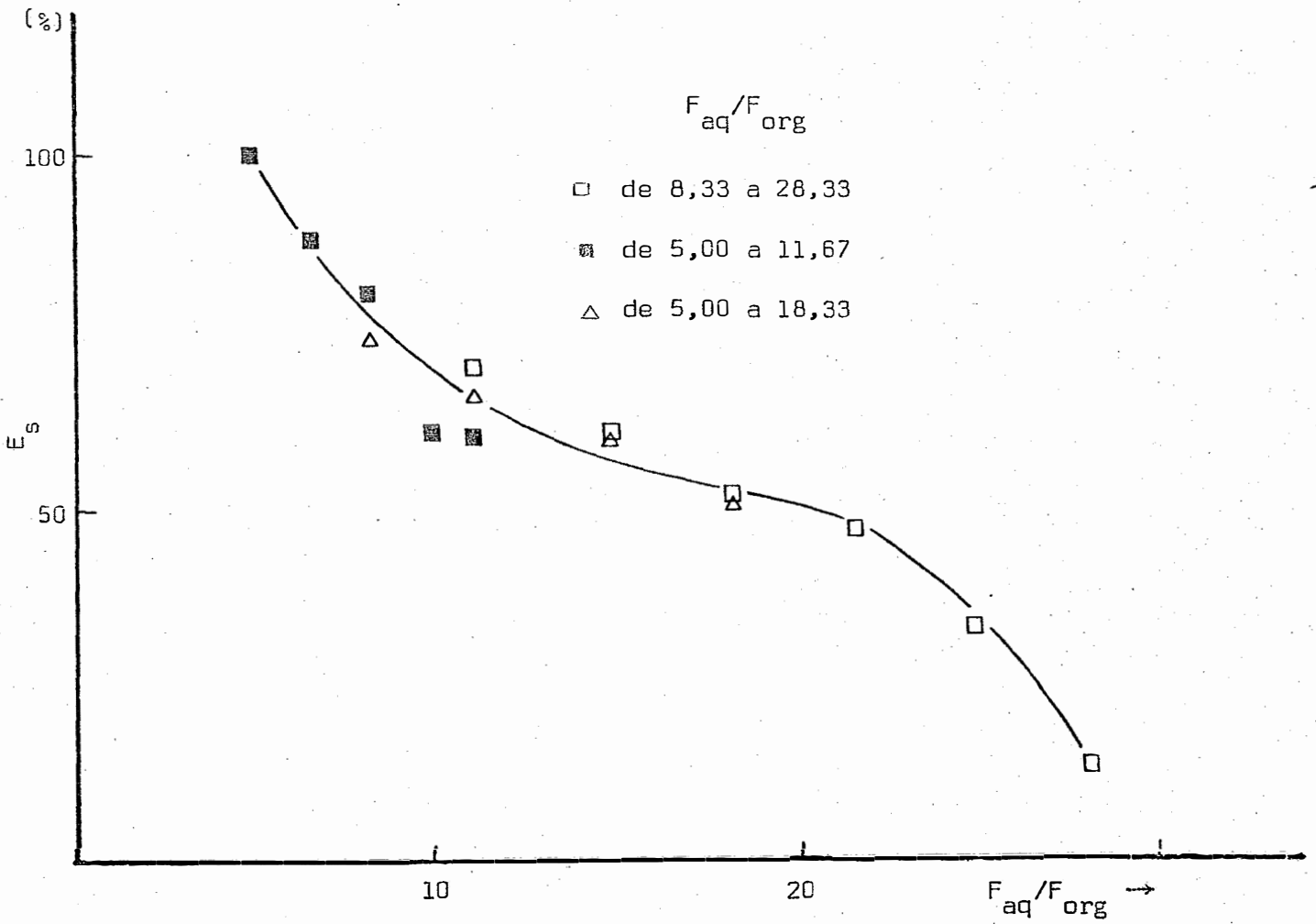


Figura 20 - Percentagem de mercúrio extraído subestequiometricamente ($\% E_s$) em função da relação fase aquosa/fase orgânica (F_{aq}/F_{org}).

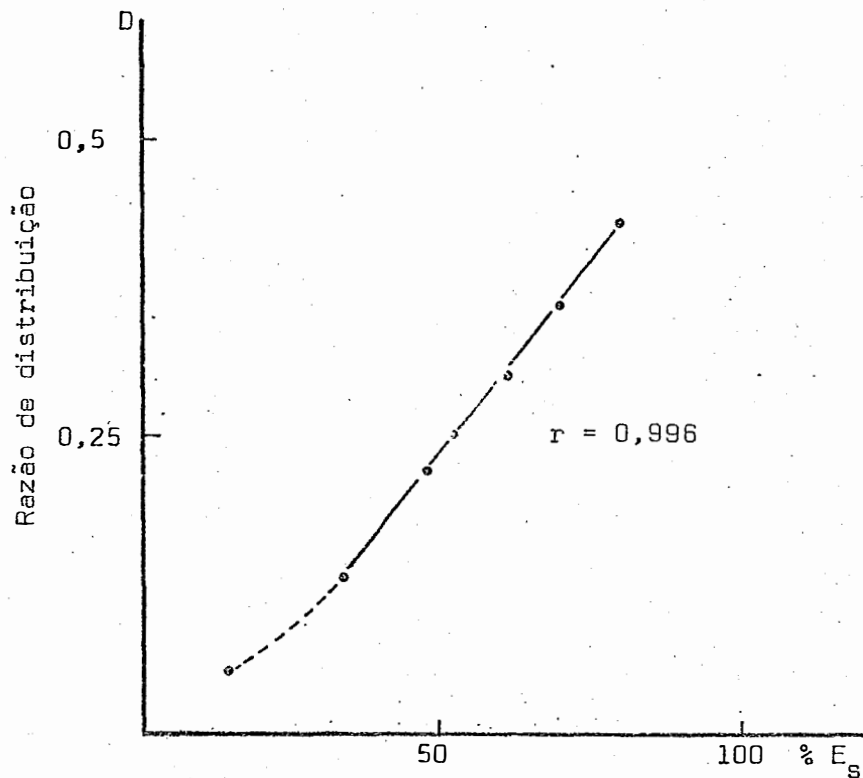


Figura 21 - Correlação entre percentagem de mercúrio extraído subestequiometricamente (% E_s) e razão de distribuição D.

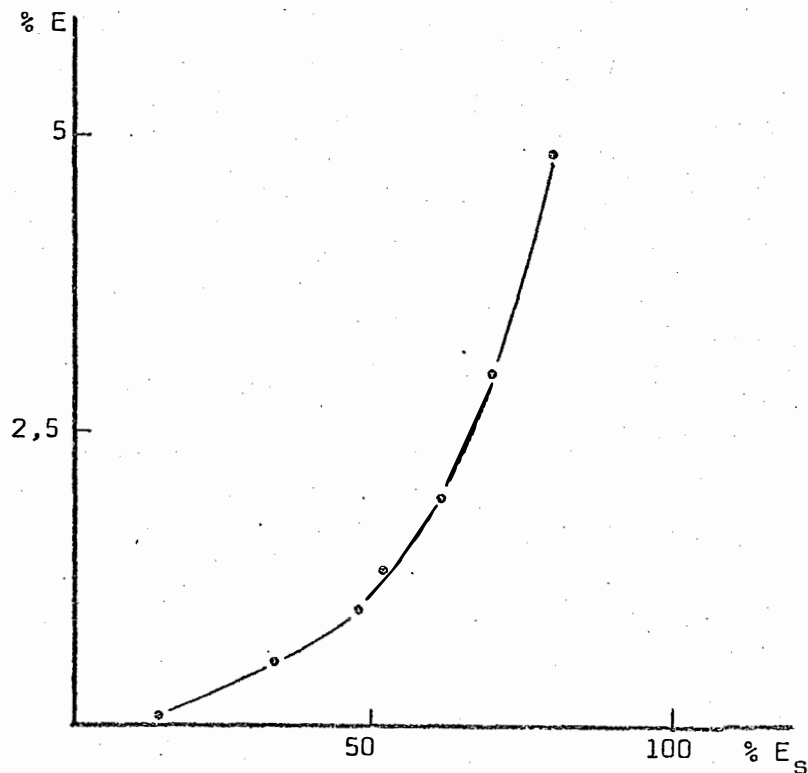


Figura 22 - Correlação entre percentagem de mercúrio extraído subestequiometricamente (% E_s) e percentagem de extração (% E).

estudadas. No entanto, estes dados não serão discutidos pelo fato de o volume da fase aquosa ser muito reduzida para utilização nos frascos de combustão de oxigênio de 2000 ml utilizados na decomposição de amostras vegetais.

7.1.2.3. Curvas de extração subestequiométrica

As curvas de extração subestequiométrica foram construídas com as taxas de contagem obtidas com os tratamentos no Quadro 4. Conforme foi descrito no ítem 5.5., Quadro 6, diferentes quantidades de mercúrio-203 foram utilizadas.

A fim de padronizar estas curvas, as taxas de contagem líquida estão representadas em percentagem, relativa à máxima taxa observada em cada tratamento. Os dados observados em cada tratamento estão representados nos gráficos das Figuras 23, 25 e 26, onde se nota que várias curvas estão presentes, conforme aquelas já apresentadas no ítem 4.4.

Para os tratamentos com solução de ditizona (H_2Dz) 2×10^{-7} e $10^{-7} M$, Figura 23, observa-se que é relativamente difícil determinar o ponto de início do patamar subestequiométrico, o mesmo acontecendo com solução de dietilamoneo dietilditiocarbamato (DDC) 10^{-7} e $5 \times 10^{-8} M$. Por esta razão tentou-se deduzir uma equação (ítem 5.5) que permitisse determinar, com um certo grau de certeza, o valor Y da equação (3) (ítem 4.2.). Essa dedução é baseada no cálculo teórico do ponto de início do patamar (Quadro 5, ítem 5.5.) e possibilita o isolamento das massas m_o e m_x de forma idêntica ($m_o = m_x$). Para tanto, construíram-se gráficos do tipo *LINEWAVER* e *BURK* com os mesmos dados, colocando-se no eixo das abcissas $1/C_M$ ($1/ng$ *Hg) e no eixo das ordenadas $1/[MA]_{org}$ ($1/\%$ extração de *Hg , calculado em função das taxas de contagem líquida observadas). Para a obtenção das retas esperadas, foram considerados os pontos que fazem parte

do cotovelo das curvas mostradas nos gráficos da Figura 23, onde o fenômeno não é linear:

- entre 40 e 240 ng *Hg para H_2Dz $2 \times 10^{-7} M$
- 40 e 160 ng *Hg para H_2Dz $10 \times 10^{-7} M$
- 80 e 400 ng *Hg para DDC $10^{-7} M$
- 40 e 240 ng *Hg para DDC $5 \times 10^{-8} M$

Os gráficos do tipo *LINEWAVER* e *BURK* para H_2Dz e DDC acima descritos estão representados na Figura 24. O Quadro 9 mostra o valor K_e que é igual à concentração de mercúrio que produz 50% da máxima concentração do complexo formado, os valores esperado e observado do início do patamar subestequiométrico (Y), e o coeficiente de regressão r para cada reta considerada.

Quadro 9 - Ponto de início do patamar subestequiométrico calculado segundo a equação (26), item 5.5., para ditizona (H_2Dz) e dietilamoneo dietilditiocarbamato (DDC) em tetracloreto de carbono.

Agente quelante	Coeficiente de regressão (r)	K_e	Y (ng *Hg)	
			Esperado	Observado
H_2Dz $2 \times 10^{-7} M$	0,9987	55,77	120	110,5
H_2Dz $10^{-7} M$	0,9968	25,62	60	51,2
DDC $10^{-7} M$	0,9941	67,03	120	134,1
DDC $5 \times 10^{-8} M$	0,9754	31,93	60	63,9

Os dados do Quadro 9 mostram uma boa concordância entre os valores de Y esperados e observados, com um desvio em torno de 10% entre os mesmos: negativo para H_2Dz e positivo para DDC, provando que a hipótese formulada no tratamento das curvas de extração subestequiométrica pelos gráficos do tipo *LINEWAVER* e *BURK* é válida, segundo o critério original aqui representado, cuja equação está demonstrada no item 5.5.

Para o ditizonato de zinco, $[Zn (HDz)_2]_{CCl_4}$, as curvas se aproximam mais daquela mostrada na Figura , item 4.4. Isto pode ser observado pelos gráficos da Figura 25. O ponto de início do patamar subestequiométrico pode ser observado visualmente, e os valores de Y assim determinados estão resumidos no Quadro 10.

Quadro 10 - Valores esperados e observados de Y para ditizonato de zinco em diferentes concentrações.

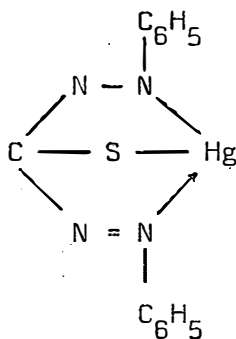
Zn (HDz)	Tratamento	Y (ng *Hg)	
		Esperado	Observado
5×10^{-7}	5	300	300
2×10^{-7}	6	120	120
10^{-7}	7	60	50
10^{-7}	8	120	120
5×10^{-8}	9	60	80

Nota-se pelo Quadro 8 que para os tratamentos 6 e 8 os valores de Y observados concordam com os esperados. O tratamento 5 mostra uma perfeita linearidade entre os pontos 8 e 200 ng Hg referenciados no eixo das abcissas com coeficiente de regressão igual a 0,9985. Isto pode ser visualizado no gráfico da Figura 26. Neste intervalo a resposta é sempre estequiométrica. O valor de Y esperado

situa-se entre 200 e 400 ng Hg, sendo perfeitamente visualizado pela intersecção da reta que une os pontos determinados experimentalmente com uma reta paralela ao eixo das abcissas passando pelo ponto % E = 100, fornecendo um valor de Y igual a 300 ng Hg que também concorda com o esperado.

Para os tratamentos 7 e 9 existe uma discrepância entre os valores esperados e observados, segundo o critério de visualização nas curvas, mas que pode ser considerada razoável porque em todos os casos o valor de Y utilizado dificilmente é exatamente igual ao ponto de início do patamar subestequiométrico. Isto é viável, visto que é um ponto limite. Desta forma, para todos os casos uma margem de segurança em torno de 20% esteve sempre presente. Assim, se o valor de Y for igual a 60 ng Hg, devem ser adicionados ± 80 ng *Hg para se proceder à diluição isotópica.

Segundo *RUZICKA e LAMM (1969)* os seguintes compostos podem ser formados quando o mercúrio (II) reage com ditizona: $\text{Hg}(\text{HDz})_2$, HgDz e HgClHDz . Embora se esperasse, de início, que $\text{Hg}(\text{HDz})_2$ se formasse quando o mercúrio reage subestequiometricamente com ditizona, observou-se pelos valores de Y encontrados que a razão molar entre mercúrio : ditizona é igual a 1 : 1, concordando com *RUZICKA e LAMM (1968)*. Isto é explicável, porque em soluções de ácidos diluídos e principalmente quando há deficiência do reagente, o mercúrio é complexado pela ditizona na forma enólica.



Forma enólica do ditizonato de mercúrio (*MAY e SCHUBERT, 1960; MORRISON e FREISER, 1966*).

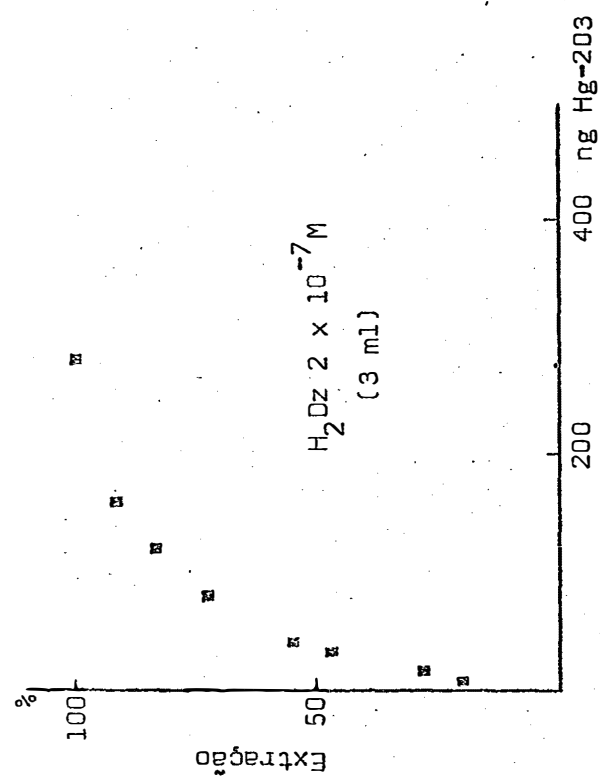
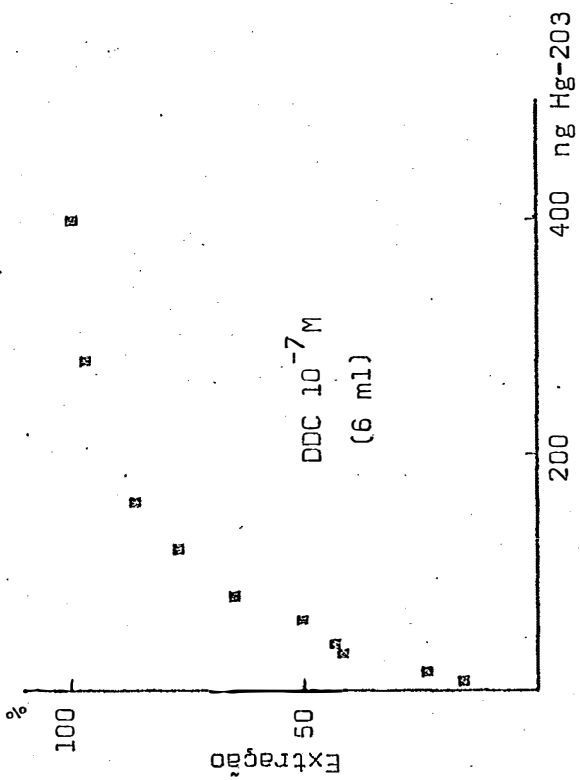
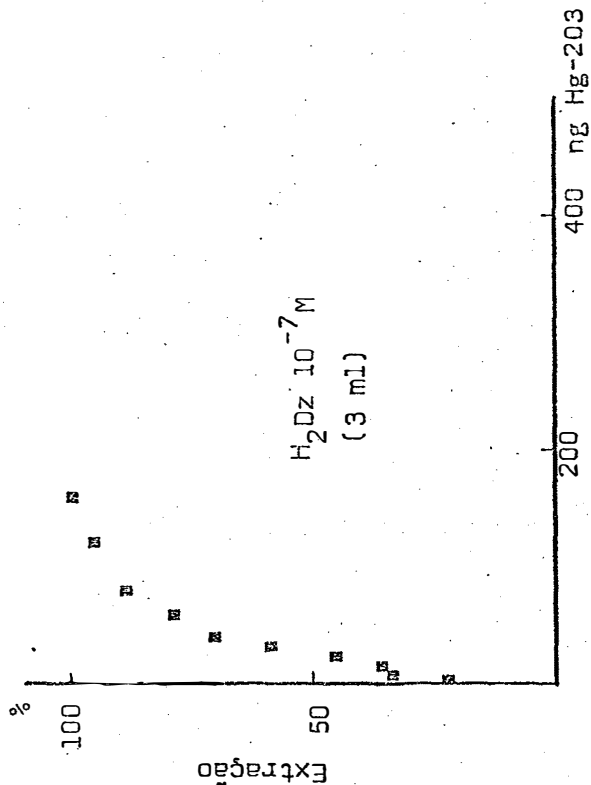
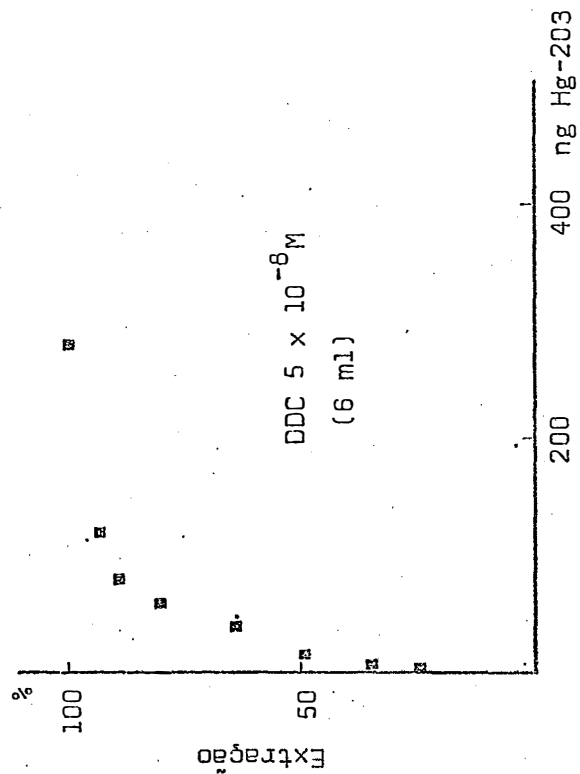


Figura 23 - Curvas de extração subestequiométrica de mercúrio obtidas com ditizona (H_2Dz) e dietilamoneo dietilditiocarbamato (DDC) em diferentes concentrações.

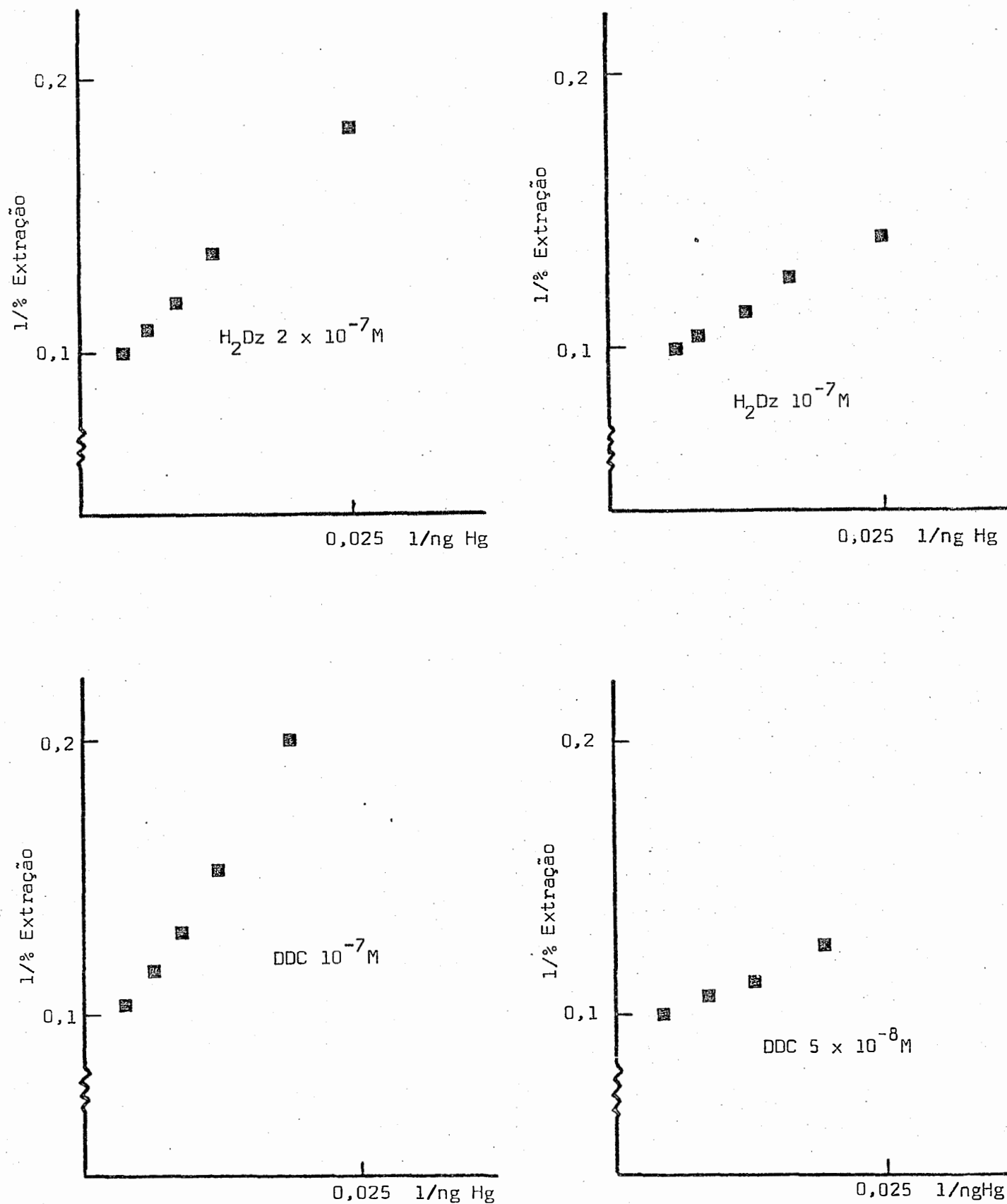


Figura 24 - Retas do tipo "LINEWAVER e BURK" para obtenção da quantidade Y de Hg, com ditizona (H₂Dz) e dietilamoneo dietilditiocarbamato (DDC) em diferentes concentrações.

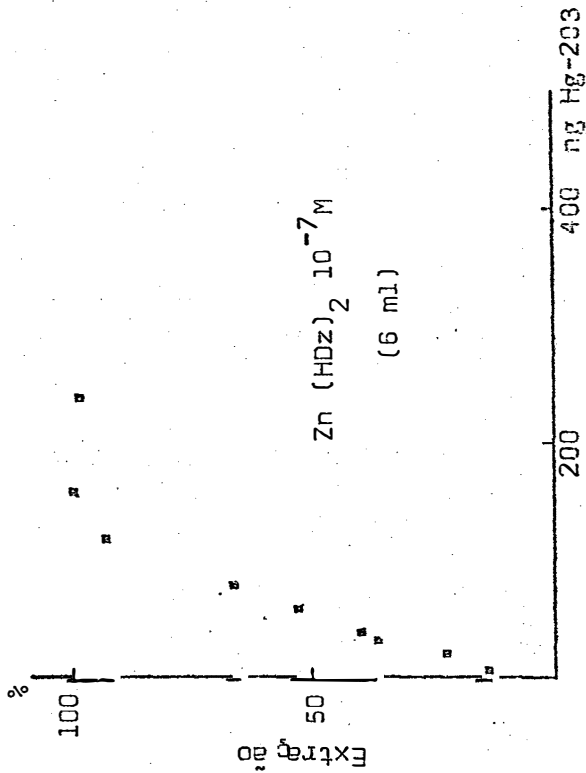
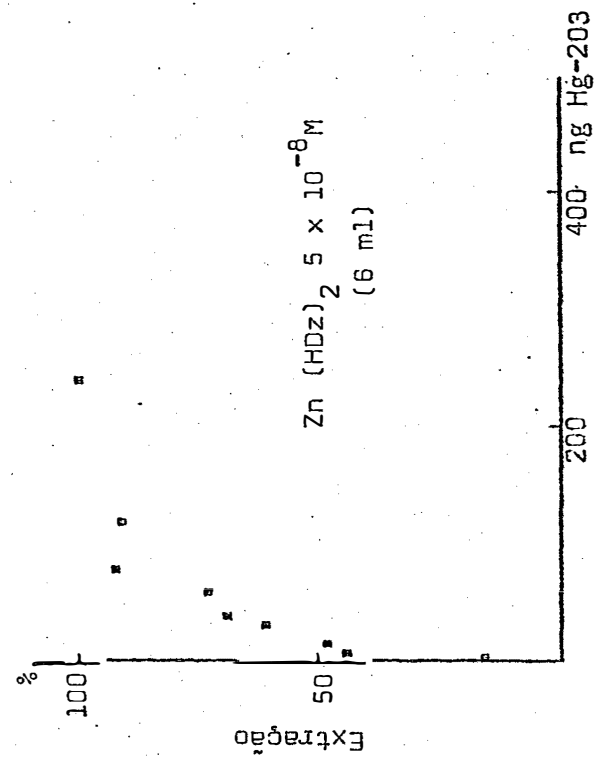
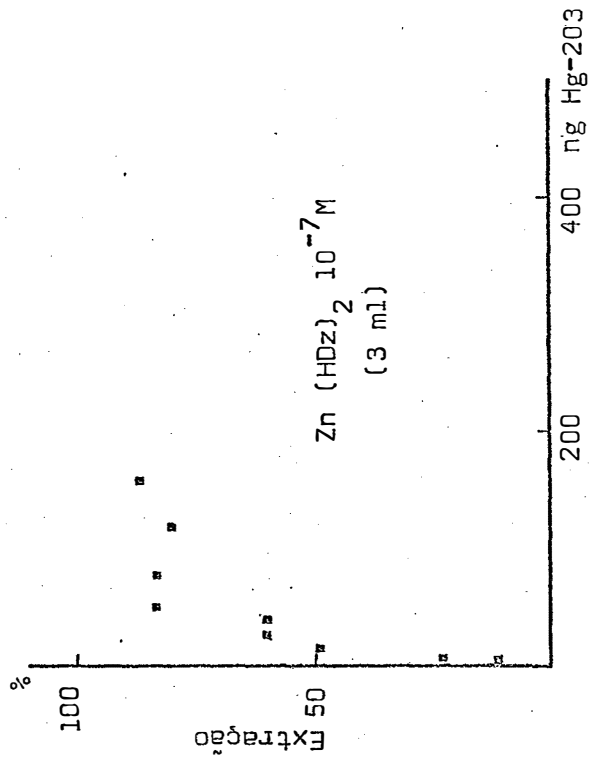
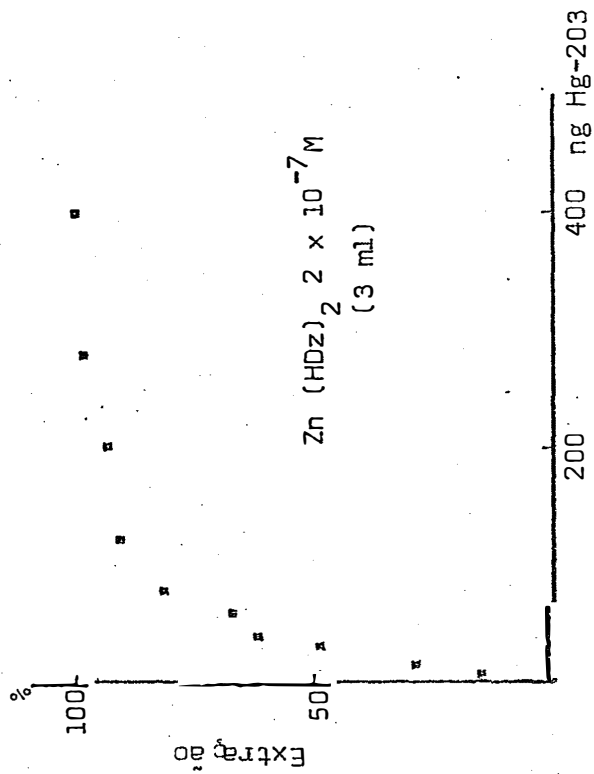


Figura 25 - Curvas de extração substequiométrica de mercúrio obtidas com ditizonato de zinco [Zn(HDz)₂] em diferentes concentrações.

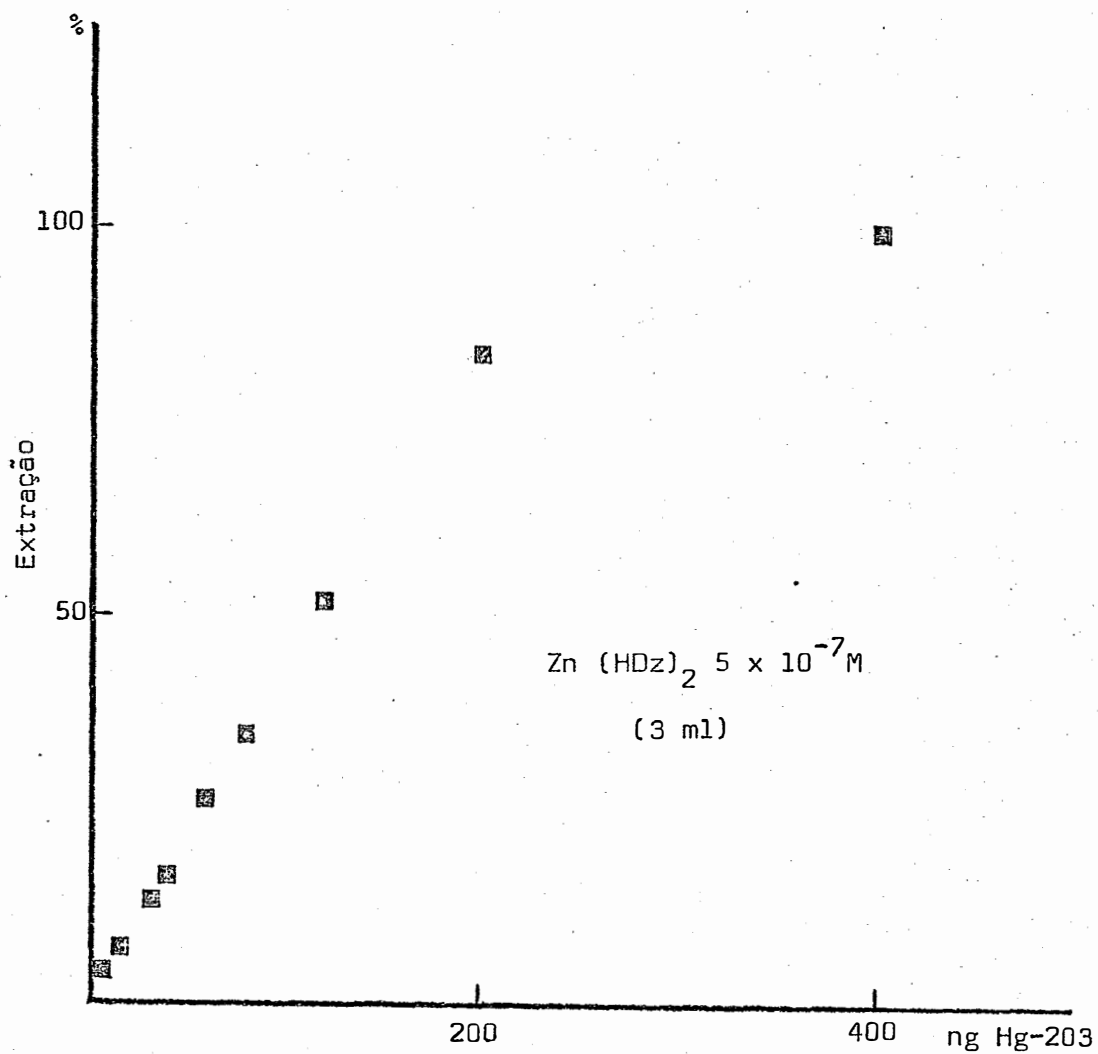
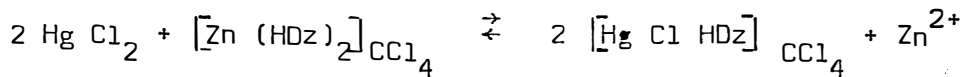
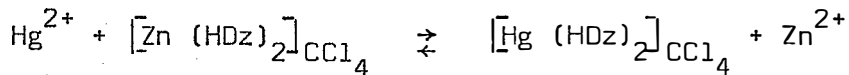


Figura 26 - Curva de extração subestequiométrica de mercúrio obtida com ditizonato de zinco [Zn (HDz)₂] 5 x 10⁻⁸ M.

Para o ditizonato de zinco, *RUZICKA e LAMM (1969)* afirmam que a reação mais provável com mercúrio (II) é a seguinte:



No entanto, baseado nos valores de Y encontrados, a reação



parece mais provável.

Por outro lado, este composto oferece uma vantagem contra a ditizona, que é sua maior estabilidade (*RUZICKA e STARY, 1969*). Também, a forma das curvas de extração, oferece uma maior reprodutibilidade na resposta das análises, não sendo necessária correção das taxas de contagem conforme recomendam *RUZICKA e STARY (1968)*.

WITTENBACH e BAJO (1975) após discutir a possibilidade de uso do dietilditiocarbamato (DDC) para a extração subestequiométrica do mercúrio, concluem por não recomendar o seu uso. Afirmam que quando a extração é feita em HCl, quanto maior for a concentração de cloro mais as curvas se aproximam da forma encontrada na Figura 23. Este comportamento é explicado pela extração simultânea de Hg (DDC)Cl e Hg (DDC)_2 .

A condição necessária para determinações quantitativas por extração subestequiométrica, segundo *RUZICKA e STARY (1968)*, é a extração de quantidades iguais do metal por quantidades iguais do reagente. Esta condição, segundo *WITTENBACH e BAJO (1975)* não pode ser alcançada com metais que formam complexos do tipo Cl-DDC. Pelas curvas obtidas neste trabalho, é bem possível que a razão molar $\text{DDC} = \text{Hg}^{2+}$ seja igual a 1:1 nas condições em que foram realizados os experimentos, e que a única reação presente seja:

$\text{Hg}^{2+} + \text{DDC}^- \rightleftharpoons \text{Hg}(\text{DDC})\text{Cl}$, quando se faz a extração de mercúrio (II) de solução de ácido clorídrico.

Este agente quelante foi testado porque não havia nenhuma menção na literatura sobre sua utilização em análises de mercúrio por diluição isotópica subestequiométrica. O fato de *WITTENBACH e BAJO (1975)* não o recomendarem para determinação de mercúrio é discutível em face dos resultados obtidos neste trabalho. Deve-se lembrar que os autores acima trabalharam com solução $5 \times 10^{-3}\text{M}$, concentração extremamente alta quando comparada com DDC 10^{-7} e $5 \times 10^{-8}\text{M}$, o que também pode explicar a formação de complexos somente do tipo $\text{Hg}(\text{DDC})\text{Cl}$.

Para finalizar, pode-se comparar DDC com H_2Dz , pois os mesmos apresentam um comportamento muito semelhante nas curvas obtidas. Assim, é bem provável que a reação entre ditizona e mercúrio(II) obedea à seguinte equação:

$\text{Hg}^{2+} + (\text{H}_2\text{Dz})_{\text{CCl}_4} \rightleftharpoons (\text{Hg Cl HDz})_{\text{CCl}_4} + \text{H}^+$, quando se faz a extração de mercúrio de solução de ácido clorídrico.

Estes fatos serão motivo de um novo trabalho, substituindo-se o ácido clorídrico por ácido sulfúrico. A participação de íons Cl^- na formação de complexos poderá ser testada com cloro-36.

7.1.3. Frasco de combustão de oxigênio

As taxas de contagem líquida obtidas, segundo procedimento descrito no ítem 5.7.1.3., encontram-se no Quadro 12. Estudou-se a recuperação de 40 e 200 ng Hg em amostras cujos pesos variaram entre 0,99 e 1,64 g. A atividade adicionada a cada amostra, referente às quantidades 40 e 200 ng Hg, foi determinada através destas mesmas quantidades adicionadas a um volume de 50 ml de HCl 0,1 M em

balão volumétrico. Pela correlação entre a atividade de ^{203}Hg na solução de HCl 0,1 M do frasco de combustão e a atividade adicionada em cada caso, calculou-se a percentagem de recuperação de mercúrio. Para uma boa estatística de contagens foram acumuladas em todos os casos 5000 impulsos.

No Quadro 11, as taxas de contagem líquida observadas são médias de 5 repetições para cada amostra considerada. Uma ótima recuperação de mercúrio é observada em torno de 90% para as 4 primeiras amostras, cujo tempo de combustão foi de 8 minutos e o tempo total de recuperação igual a 15 minutos concordando com *LAMM e RUZICKA (1969)*. Para a amostra 5, cujo tempo de recuperação foi de 2 minutos, 74% é considerado também um ótimo resultado visto que na diluição isotópica subestequiométrica a extração de mercúrio não é quantitativa. Por outro lado, um pequeno resíduo de mercúrio foi encontrado nas cinzas das amostras (com média de 2,1%), resultado este não esperado em confronto com os obtidos por *LAMM e RUZICKA (1969)* na análise das cinzas para outros materiais vegetais e animais. Estes autores afirmam que nenhum resíduo de mercúrio foi observado. Isto pode ser explicado quando o tempo de contagem das amostras é balanceado racionalmente.

A seguir, é apresentada uma sugestão original, que versa sobre o aumento da sensibilidade na determinação de mercúrio, baseado na utilização do frasco de combustão:

- É possível fazer-se uma pré-concentração de mercúrio utilizando-se um frasco de combustão de oxigênio, no qual, ao invés de queimar-se somente uma amostra de 1 a 2 g, são queimadas várias amostras de um mesmo material. Nos processos utilizados para pré-concentração (*AMC, 1965*) um consumo significativo de reagentes não proporciona, através do uso da técnica do "back-extraction", um aumento significativo na sensibilidade do método.

Quadro 11 - Recuperação de mercúrio em frasco de combustão.

Amostra	Peso seco (gramas)	ng Hg. adi- cionadas	Atividade adicionada (cpm)	Atividade após queima (cpm)		Recuperação %	Hg nas cinzas %
				Solução	Cinzas		
1	0,99	40	664	610	-	92	-
2	1,24	40	664	598	-	90	-
3	1,55	200	2917	2536	40	87	1,4
4	1,64	200	2917	2567	86	88	3,0
5*	1,44	200	2917	2140	30	74	1,0

* Recuperação em 2 minutos.

Assim, pode-se recuperar o mercúrio de tantas amostras quantas forem decompostas no mesmo frasco e a sensibilidade do método aumentará em tantas vezes segundo o peso total das amostras que forem combinadas. Portanto, pode-se queimar 5 amostras de 2 gramas cada uma no mesmo frasco, ao invés de 1 amostra apenas, e a sensibilidade aumentará de 5 vezes.

O uso de permanganato de potássio ou peróxido de hidrogênio 0,02 M na solução de HCl 0,1 M é recomendado por *RUZICKA e LAMM (1969)*, segundo um artigo de *TORIBARA (1969)*, a fim de que nenhuma perda de Hg^{2+} ocorra por disproporção.

7.1.4. Descontaminação de mercúrio-203

As médias das contagens com os respectivos desvios padrões referentes ao experimento delineado no item 5.6. estão resumidos no Quadro 12.

Quadro 12 - Médias de 10 repetições em contagens por minuto para os respectivos tratamentos relativos à descontaminação de ^{203}Hg .

	$\bar{m} \pm 2 \sigma$
Atividade de Hg adicionada	69081 \pm 1998
Reprodução (extração subestequiométrica)	23875 \pm 682
2 ml fase aquosa (corrigido p/50 ml)	44822 \pm 1480
1a. descontaminação (1a. extração)	35582 \pm 6502
2 ml fase aquosa (corrigido p/48 ml)	8834 \pm 1121
2a. descontaminação (2a. extração)	8705 \pm 1326
2 ml fase aquosa (corrigido p/46 ml)	54 \pm 23
1a. lavagem	60 \pm 32
2a. lavagem	37 \pm 19

Observa-se pelos dados do Quadro 12 que o erro experimental, na extração subestequiométrica, é bem baixo, com coeficiente de variação menor que 3%, ao nível de 95,5% de probabilidade.

As descontaminações com ditizona 10^{-5} permitiram uma ótima extração do mercúrio não isolado subestequiometricamente. Após a 2a. extração, a atividade total em 50 ml correspondeu a 2×10^{-3} μCi $^{203}\text{Hg}/\text{l}$, permitindo o descarte do material. As fases orgânicas provenientes da 1a. e 2a. descontaminação devem ser transferidas para frascos de plástico, que armazenados durante um certo período de tempo, em função do decaimento do mercúrio, possam ser descartadas com atividade menor que 0,05 nCi. Este método permite concentrar o mercúrio em volume cinco vezes mais reduzido.

As lavagens com HCl 0,01 M mostram uma possível adsorção nas paredes dos funis, que pode ser considerada desprezível com relação à atividade total adicionada.

O procedimento realizado desta forma pode ser recomendado, quando se trabalha com mercúrio estável. A base para a realização do mesmo foi a fase de pré-concentração de Hg realizado comumente no método colorimétrico do ditizanato de zinco (*ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, 1965*) e no método de diluição isotópica subestequiométrica automatizado (*RUZICKA e LAMM, 1969*), mostrando muita concordância conforme os resultados obtidos.

O mercúrio-203 na concentração 2×10^{-3} $\mu\text{Ci}/\text{l}$ pode ser descartado na pia do laboratório sem perigos para o operador e o método de descontaminação segue as normas estabelecidas por *LAMM(1972)*.

7.2. Diluição isotópica subestequiométrica

Segundo o procedimento analítico descrito no Capítulo 6, fi

zeram-se vários experimentos para testar a metodologia empregada, e determinar a sensibilidade deste método de análise, baseada na quantidade Y de mercúrio-203 adicionada a soluções contendo uma quantidade X de mercúrio estável conhecida.

Os Quadros 13, 14, 15 e 16 mostram os resultados obtidos para os diferentes tratamentos utilizados, segundo a ordem de realização dos experimentos, ou seja, a partir de soluções com maior concentração de mercúrio para as de menor concentração. Em todos os casos a extração subestequiométrica foi feita com solução $Zn(HDz)_2$ $5 \times 10^{-8}M$. A primeira coluna indica a quantidade X de mercúrio adicionada, em seguida as taxas de contagem líquida com as médias de 3 repetições, a relação C_{L_o} / C_{L_x} , e a quantidade X calculada segundo a equação fundamental da diluição isotópica,

$$X = Y \left(\frac{C_{L_o}}{C_{L_x}} - 1 \right)$$

onde a quantidade Y de Hg-203 aparece no cabeçalho das colunas

Com os valores de X esperados e observados, segundo os resultados dos Quadros 13, 14, 15 e 16, aplicou-se o teste qui-quadrado (χ^2) obtendo-se o valor 15,315 para 16 graus de liberdade com grau de significância igual a 50% (foi excluído 1 par de valores discrepantes). Isto permite concluir que as diferenças encontradas são totalmente devidas ao acaso para este tipo de tratamento estatístico.

Por outro lado, a regressão linear entre estes dados mostrou a seguinte equação:

$$X_{\text{esp}} = 0,95 X_{\text{obs}} + 4,13, \quad \text{com } r = 0,997.$$

Esta equação permite dizer que não existe uma diferença significativa entre os dados esperados e observados. O coeficiente linear excede em 4,13 ng Hg o valor esperado, e o coeficiente angular é muito próximo de 1.

Segundo *RUZICKA e STARY (1968)* a sensibilidade da determinação de mercúrio depende dos seguintes fatores:

- a. Atividade específica do radioisótopo.
- b. Eficiência de contagem e radiação de fundo do contador.
- c. Reprodutibilidade da quantidade que é isolada subestequiometricamente.
- d. Correção devido a impurezas dos reagentes.

Com relação aos dois primeiros fatores, calculou-se a sensibilidade do método teoricamente em função da máxima e da mínima atividades específicas usadas neste trabalho, entre 1,0 e 0,1Ci/g. Assim, com atividade específica de 1,0 Ci/g pode-se afirmar que 1ng*Hg possibilita 2200 dpm. Considerando-se uma eficiência de 25% (cálculo aproximado com solução padrão de ^{203}Hg segundo a contagem integral, em concordância com *VERHEIJKE (1962)*), com o detector utilizado (ítem 5.1.) são esperados 500 cpm/nCi ^{203}Hg . Se a quantidade Y for igual a 50 ng *Hg com extração subestequiométrica de 30 ng, se não houver diluição com mercúrio estável, a taxa de contagem líquida será igual a 15000 cpm. Com atividade específica igual a 0,1Ci/g esta taxa cai para 1500 cpm. Quando se deseja maior sensibilidade, a quantidade Y deverá ser bem menor que 50 ng *Hg. Considere-se que esta quantidade é igual a 10 ng e que após a extração 5 ng *Hg são isolados. Com atividade específica alta (entre 0,5 e 1,0 Ci/g) uma boa estatística de contagens é observada, se não houver diluição isotópica, porque em caso positivo a taxa de contagem líquida será

muito próxima à taxa de radiação de fundo implicando num maior tempo de contagem para minimizar o erro. Com atividade específica menor que 0,1 Ci/g este último caso ($Y = 10 \text{ ng } ^* \text{Hg}$) traz muitos inconvenientes. Para o primeiro caso ($Y = 50 \text{ ng } ^* \text{Hg}$) é possível boa sensibilidade com 0,1 nCi $^* \text{Hg}/\text{ng Hg}$.

Com relação aos fatores c e d , o primeiro caso foi resolvido pelo uso do ditizonato de zinco, e o segundo através da purificação dos reagentes.

A sensibilidade também pode ser considerada função da amostragem considerada, especialmente quando se usa o frasco de combustão de oxigênio. Durante a secagem do material já há uma pré-concentração do mercúrio em torno de 5 vezes, considerando que tais amostras tenham 80% de umidade, antes da liofilização. Em outras amostras, cereais por exemplo, isto não ocorre. Assim, em certas amostras, 10 gramas de matéria seca correspondem 50 gramas de matéria fresca e em outras esta relação é quase igual a 1. Por esse motivo, de acordo com a decomposição e tipo da amostra, a sensibilidade pode aumentar significativamente. Na maioria dos trabalhos, costuma-se omitir esta observação, e a sensibilidade de um método de análise é discutida isoladamente, principalmente em se tratando de mercúrio.

Nesta discussão, a sensibilidade é apresentada segundo os fatores apresentados, e desta forma, pode-se afirmar que com atividade específica entre 0,5 e 1,0 Ci/g a sensibilidade pode variar entre 0,1 e 1,0 ppb Hg em alimentos, e igual a 0,1 ppb em águas; entre 0,1 e 0,5 Ci/g a sensibilidade está entre 0,5 e 5 ppb Hg em alimentos e 0,5 ppb em águas.

Com relação à precisão do método, ela não é apresentada com detalhes devido à complexidade dos cálculos envolvidos. Sabe-se porém, que esta precisão está diretamente implicada no erro estatístico

co de contagem do material radioativo.

Na diluição isotópica, *KIRS e VRANA (1972)*, *KIRS et alii (1972)* e *KIRS e KANDIYOTTI (1973)* apresentam todo tratamento necessário para determinação deste erro, e em especial na diluição isotópica subestequiométrica. *COULTER (1969)* salienta também esta sua importância, e afirma que dentre os erros cometidos na análise, a diluição é o fator mais crítico.

A utilização do método de análise por diluição isotópica para determinação de mercúrio em materiais vegetais e animais está baseada na solução absorvedora do frasco de combustão. Esta solução substitui o HCl 0,1 M e o mercúrio estável no procedimento analítico descrito no início do Capítulo 6, transferindo-se a solução do frasco de combustão para o funil de separação. O mercúrio-203 pode ser colocado no próprio frasco de combustão ou no funil de separação para se proceder à diluição isotópica.

Para efeito de análises de rotina em controle de resíduos de mercúrio em alimentos, sugere-se uma nova técnica utilizando-se também o frasco de combustão de oxigênio para tecidos animais e vegetais. Este método permite dizer se uma amostra contém ou não mercúrio com sensibilidade melhor que 30 ppb. O fundamento do mesmo baseia-se no princípio da diluição isotópica subestequiométrica, e na possibilidade de se queimar uma mesma amostra com pesos diferentes em dois frascos de combustão. De fato, tomando-se duas amostras com pesos iguais a 1 e 5 gramas e queimando-se cada uma delas em um frasco de combustão, o teor relativo de mercúrio será o mesmo nos dois casos, só que quando se queima 1 g de material dar-se-á 5 vezes menos mercúrio que quando se queimam 5 gramas.

Tomando-se as soluções dos frascos e fazendo-se uma diluição isotópica com ^{203}Hg e posterior extração subestequiométrica com ditizonato de zinco, pode-se afirmar que, se as atividades das fa-

ses orgânicas coletadas são as mesmas, não há mercúrio no material analisado, e se houver em grande quantidade, a diferença entre as atividades encontradas é significativa. A vantagem deste método é que não há necessidade de alta atividade específica para se fazer a medida. Os detalhes desta nova metodologia serão abordados em um novo trabalho, que já está sendo desenvolvido.

Quadro 13 - Resposta do método de análise de mercúrio por diluição isotópica subestequiométrica com soluções puras com $Y = 410$ e 205 ng *Hg ; extração com $[Zn(HDz)_2]_{CCl_4}$ $5 \times 10^{-8}M$.

Y = 410 ng *Hg

X adicionado (ng Hg)	C_L (cpm)	Média (cpm)	$\frac{C_{L0}}{C_{Lx}}$	X observado (ng Hg)
0	4827	4860		
0	5133			
0	4979			
400	2463	2463	2,0221	419,05
400	2528			
400	2397			
200	3367	3357	1,4834	198,18
200	3329			
200	3375			

Y = 205 ng *Hg

0	3317	3351		
0	3372			
0	3363			
200	1759	1700	1,9710	199,05
200	1638			
200	1703			
100	2122	2114	1,5850	119,92
100	2075			
100	2145			

Quadro 14 - Resposta do método de análise de mercúrio por diluição isotópica subestequiométrica em solução puras com $Y = 102,5 \text{ ng } ^*Hg$; extração com $[Zn(HOz)_2]_{CCl_4} \cdot 5 \times 10^{-8} M$.

$Y = 102,5 \text{ ng } ^*Hg$

X adicionado (ng Hg)	C_L (cpm)	Média (cpm)	$\frac{C_{L0}}{C_{Lx}}$	X observado (ng Hg)
0	3295	3136		
0	2995			
0	3117			
100	1678	1607	1,9513	97,5
100	1557			
100	1586			
50	2293	2154	1,4557	46,7
50	2044			
50	2125			
0	4950	4873		
0	4873			
0	4797			
50	3507	3606	1,3513	36,0
50	3690			
50	3622			
25	4216	4303	1,1325	13,6
25	4381			
25	4312			

Quadro 15 - Resposta do método de análise de mercúrio por diluição isotópica subestequiométrica em soluções puras com $Y = 60 \text{ ng } ^* \text{Hg}$; extração com $[\text{Zn}(\text{HDz})_2] \text{CCl}_4$ $5 \times 10^{-6} \text{ M}$.

$Y = 60 \text{ ng } ^* \text{Hg}$

X adicionado (ng Hg)	C_L (cpm)	Média (cpm)	$\frac{C_{L_0}}{C_{L_x}}$	X observado (ng Hg)
0	3182	3213		
0	3243			
0	3215			
25	2441	2460	1,3062	16,4
25	2437			
25	2502			
50	1660	1614	1,9901	59,4
50	1601			
50	1583			
0	3670	3706		
0	3742			
10	2986	3015	1,2290	13,7
10	3045			
25	2681	2597	1,4270	25,6
25	2513			
50	1976	1989	1,8628	51,8
50	2003			
100	1378	1418	2,6126	96,8
100	1449			

Quadro 16 - Resposta do método de análise de mercúrio por diluição isotópica subestequiométrica em soluções puras com $Y = 82 \text{ ng } ^*Hg$; extração com $[Zn(HDz)_2]_2CCl_4$ $5 \times 10^{-8} M$.

$$Y = 82 \text{ ng } ^*Hg$$

X adicionado (ng Hg)	C_L (cpm)	Média (cpm)	$\frac{C_{L_0}}{C_{L_x}}$	X observado (ng Hg)
0	2765	2735		
0	2702			
0	2738			
80	1425	1405	1,9471	77,7
80	1402			
80	1387			
40	1809	1823	1,5000	41,0
40	1841			
40	1820			
0	2722	2740		
0	2803			
0	2697			
40	1987	1927	1,4223	34,6
40	1905			
40	1889			
20	2246	2223	1,2170	17,8
20	2207			
20	2216			

8. CONCLUSÕES

Do presente trabalho pode-se concluir que:

1. O método de análise de mercúrio por diluição isotópica subestequiométrica é eficiente com sensibilidade de 0,1 ppb em amostras de alimentos e em águas naturais.
2. Não há necessidade de pré-concentração de mercúrio com solução de ditizona em tetracloreto de carbono para aumentar a sensibilidade do método.
3. A maior fonte de erro deste método está na contaminação dos funis de separação, e pode ser evitada através de extrações sucessivas com ditizona 10^{-5} M, após cada análise.

4. O método de decomposição de amostras vegetais e animais em frasco de combustão, permite um aumento na sensibilidade do método entre 5 e 10 vezes, através da queima sucessiva das amostras num mesmo frasco.
5. O método de decomposição de amostras vegetais e animais em frasco de combustão, permite estimar a concentração de mercúrio com nível em torno de 30 ppb sem o uso de padrão, utilizando-se mercúrio-203 com atividade específica menor que 0,1 Ci/g.
6. Dentre os agentes quelantes estudados, ditizona, dietilamônio dietilditiocarbamato e ditizonato de zinco, este último mostrou-se mais adequado em concentrações diluídas (10^{-7} e 5×10^{-8} M) para extração subestequiométrica de íons Hg^{+2} de ácido clorídrico diluído.
7. Os complexos metálicos mais prováveis, da reação entre mercúrio (II) e os agentes quelantes utilizados são: $[\text{Hg}(\text{HDz})_2]_{\text{CCl}_4}$ com $[\text{Zn}(\text{HDz})_2]_{\text{CCl}_4}$; $[\text{HgClHDz}]_{\text{CCl}_4}$ com $[\text{H}_2\text{Dz}]_{\text{CCl}_4}$, e $[\text{Hg}(\text{DDC})\text{Cl}]_{\text{CCl}_4}$ com $[\text{DDC}]_{\text{CCl}_4}$.
8. O estudo da cinética de extração, mostrou que quanto menor a concentração do agente quelante, maior deve ser o tempo de agitação para que ocorra a máxima extração de mercúrio.
9. O tratamento matemático sugerido para análise das curvas de extração subestequiométrica, (segundo as retas do tipo *LINEWAVER* e *BURK*), mostrou-se adequado para certos tipos particulares de curvas.
10. Na detecção do ^{203}Hg com cristal de $\text{NaI}(\text{Tl})$ e espectrômetro gama monocanal, é indiferente realizar a contagem na região do fotopico ou a contagem no espectro integral, desde que sejam acumuladas 2000 contagens.

9. RESUMO

Um método de análise por diluição isotópica subestequiométrica é apresentado, para determinação do teor total de mercúrio em alimentos e outros substratos. Inicialmente, são feitas considerações sobre o radioisótopo ^{203}Hg e sua detecção em espectrômetro gama monocanal, no tocante à precisão de contagens e à geometria das amostras. Na metodologia são estudados três agentes quelantes: ditizona, ditizonato de zinco e dietilamônio dietilditiocarbamato, todos em tetracloreto de carbono, implicados na extração de Hg^{2+} em fase aquosa de ácido clorídrico. Os aspectos abordados foram cinética de extração, curvas de extração subestequiométrica e relação fase aquosa : fase orgânica. Um tratamento matemático para solução de curvas de extração subestequiométrica é sugerido, com bases na

teoria de extração por solventes. São feitas considerações sobre o frasco de combustão de oxigênio utilizado na decomposição de amostras vegetais. Melhoramentos no uso desta técnica permitiu aumentar a sensibilidade do método entre 5 e 10 vezes. Com as melhores condições de análise, baseados nos aspectos acima, é possível determinar mercúrio com alta seletividade e sensibilidade ao nível de 0,1 ppb em tecidos vegetais e animais e em águas naturais. Um teste rápido e simples é sugerido para avaliar a concentração de resíduos de mercúrio em alimentos apresentando a vantagem de não necessitar ^{203}Hg com alta atividade específica para sua realização.

10. SUMMARY

An analytical method for determination of mercury by substoichiometric radioisotope dilution in food and other substrates is presented. First, attention was given to the methodology of measurement of ^{203}Hg with a single channel spectrometer coupled to a 3" x 3", well type scintillation detector (NaI (Tl)). The solvent extraction of mercury by means of three chelating was studied from the aqueous solution of hydrochloric acid: dithizone, zinc dithizonate and diethylammonium diethyldithiocarbamate in carbon tetrachloride. Extraction kinetics, substoichiometric extraction break curves and the relationship between aqueous phase and organic phase are the main

topics studied in detail. A mathematical treatment for evaluation of the break curves is suggested. Tracer studies of recoveries in combustion oxygen flask of a large volume led to allowed further increase of sensitivity of detection by factor of 10. Optimum conditions of analysis were found, which allow selective and extremely sensitive determination of mercury (down to 0,1 ppb Hg) in vegetables, animal tissues and natural waters. A fast, simple test is suggested for sensitive screening of residues in food which can be performed even with ^{203}Hg of a low specific activity.

11. BIBLIOGRAFIA

ALBERTS, J.J.; SCHINDLER, J.E.; MILLER, R.W. Mercury determinations in natural waters by persulfate oxidation. *Anal. Chem.*, 46(3): 434-437, 1974.

ANALYTICAL METHODS COMMITTEE* The determination of small amounts of mercury in organic matter. *Analyst*, 90: 515-530, 1965.

BACHE, C.A.; McKONE, C.; LISK, D. *do* Rapid determination of mercury in fish. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 54(3):741-743, 1971.

BERK, B. apud SMART, N.A. Use and residues of mercury compounds in agriculture. *Residue Reviews*, 23:1-33, 1968.

* AMC.

- BERLIN, M. Present levels of mercury in man under conditions of occupational exposure. In: International Atomic Energy Agency. *Mercury Contamination in Man and his Environment*. Vienna, 1972. cap. 13, p.169-177.
- BRETTHAVER, E.W.; MOGHISSI, A.A.; SNYDER, S.S.; MATHEWS, N.W. Determination of submicrogram amounts of mercury by the oxygen bomb combustion method. *Anal. Chem.* 3(46):445-446, 1974.
- BRISCOE, G.B.; COOKSEY, B.; RUZICKA, J.; WILLIAMS, M. apud RUZICKA, J. & STARY, J. *Substoichiometry in Radiochemical Analysis*. Glasgow, Pergamon Press, 1968. cap. 6, p. 121-124.
- BROWNER, R.F.; DAGNALL, R.M. & WEST, T.S. Studies in atomic fluorescence spectroscopy-VIII. *Talanta*, 16:75-81, 1969.
- CHASE, G.D. & RABINOWITZ, J.L. *Principles of radioisotope methodology*, Minneapolis, Burgess, 1968. 633p.
- CROUTHAMEL, C.E., ed. *Applied gamma-ray spectrometry*. New York, Pergamon Press, 1960. 443p.
- COULTER, B.S. Calculation of precision in isotope dilution experiments. *Inter. J. Appl. Rad. Isotopes*, 20:271-274, 1969.
- DESREUX, J.F. Effect of agitation on extraction measurements. *Radiochem. Radioanal. Lett.*, 7(1):45-49, 1971.
- ELLIOTT, E.D. & BANKS, C.V. Tri-n-Octylphosphine Sulfide: A selective organic extractant. *Anal. Chim. Acta*, 33:237-244, 1965.
- FELDMAN, C. Preservation of dilute mercury solutions. *Anal. Chem.* 46(1):99-105, 1974.

- FILBY, R.H.; DAVIS, A.I.; SHAH, K.R.; HALLER, W.A. Determination of mercury in biological materials by instrumental activation analysis. *Mikrochim. Acta*, 6:1130-1136, 1970.
- FUJITA, M.; TAKEDA, Y.; TERAQ, T.; HOSHINO, O; URITA, T. Microdetermination of mercury by the oxygen bomb combustion. *Anal. Chem.*, 40(3):2042-2043, 1968.
- GOLDWATER, L.J. Mercury in the environment. *Sci. Amer.* 224(5): 3-10, 1971.
- GOVERNEUR, P. & HOEDEMAN, W. The determination of mercury in organic compounds. *Anal. Chim. Acta*, 30:519-523, 1963.
- GRACEY, H.I. *Studies of mercury in the soil-plant*. Saskatchewan, 1973. 79p. [Master - UNS].
- GUTENMANN, W.H. & LISK, D.J. Rapid determination of mercury in apples by modified Schöniger combustion. *J. Agric. Food. Chem.*, 8(4):306-308, 1960.
- HAMM, J.W. & STEWART, J.W.B. A simplified procedure for the determination of total mercury in soils. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 4(3):233-240, 1973.
- HATCH, W.R. & OTT, W.L. Determination of sub-microgram quantities of mercury by atomic absorption spectrophotometry. *Anal. Chem.*, 40(14):2085-2087, 1968.
- HEAD, P.C. & NICHOLSON, R.A. A cold vapour technique for the determination of mercury in geological materials involving its reduction with Tin (II) Chlorid and collection on gold wire. *Analyst*, 98:53-56, 1973.

HEITZMANN, M.W. & SIMPSON, R.E. Neutron activation analysis of mercury in fish, flour, and standard reference orchard leaves by electrodeposition radiochemistry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 55(5):960-965, 1972.

HEVESY, G. & HOBBIE, R. Über die Ermittlung des Bleigehaltes von Gesteinen. *Z. Anal. Chem.*, 88(1):1-6, 1932.

HOLAK, W.; KRINITZ, B.; WILLIAMS, J.C. Simple rapid digestion technique for determination of mercury in fish by flameless atomic absorption. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 55(4):741-742, 1972.

HOLDEN, A.V. Present levels of mercury in man and his environment. In: International Atomic Energy Agency. *Mercury Contamination in Man and his Environment*. Vienna, 1972. cap.12, p.143-168.

_____. Mercury and organochlorine residue analysis of fish and aquatic mammals. *Pestic. Sci.*, 4:399-408, 1973.

HOOVER, W.L.; MELTON, J.R. & HOWARD, P.A. Determination of trace amounts of mercury in foods by flameless atomic absorption. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 54(4):860-865, 1971.

IRVING, H. & WILLIAMS, R.J.P. Liquid-liquid extraction. In: Kolthoff, I.M. & Elving, P.J. ed. *Treatise on Analytical Chemistry*. New York, Interscience Encyclopedia, 1961. v.3, pt.1, p.1309-1365.

ISSAQ, H.J. & ZIELINSKI Jr.; W.L. Hot atomic absorption spectrometry method for the determination of mercury at the nanogram and subnanogram level. *Anal. Chem.* 11(46):1436-1438, 1974.

JEFFUS, M.T. & ELKINS, J.S. Determination of mercury in biological materials. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 53(6):1172-1175, 1970.

JOENSUU, O.I. Fossil fuels as a source of mercury pollution. *Science*, 172:1027-1028, 1971.

JONES, L. & SCHWARTZMAN, G. Determination of mercury in pink wheat. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 46(5):879-881, 1963.

JOSHI, S.R.; SRIVASTAVA, P.K.; TANDON, S.N. Separation of zinc (II), cadmium (II) and mercury (II) by solvent extraction using thiocarbonylhydrazide and the complexing agent. *J. Radioanal. Chem.*, 13:343-347, 1973.

KIWAN, A.M. & FOU DA, M.F. Determination of mixtures of mercury (II) and organomercury (II) ions by dithizone. *Anal. Chim. Acta*, 40: 517-520, 1968.

KIRS, M. & VRANA, T. The influence of statistical error in radioactivity counting on the precision of isotope dilution analysis, I. *J. Radioanal. Chem.*, 10:105-116, 1972.

_____ ; KANDIYOTI, R. & VRANA, T. The influence of statistical error in radioactivity counting on the precision of isotope dilution analysis, II. *J. Radioanal. Chem.*, 12:505-512, 1972.

_____ & _____. The influence of statistical error in radioactivity counting on the precision of isotope dilution analysis, III. *J. Radioanal. Chem.*, 13:181-182, 1973.

KOSTA, L. & BYRNE, A.R. Activation analysis for mercury in biological samples at nanogram level. *Talanta*, 16:1297-1303, 1969.

- KRINITZ, B. & HOLAK, W. Simple, rapid digestion technique for the determination of mercury in sea food by flameless atomic absorption spectroscopy. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 57(3): 569-569, 1974.
- KUKULA, F. & SIMKOVA, M. Application of the group substoichiometric separation of gold, mercuric, and cupric diethyldithiocarbamates to determining them by means of activation analysis. *J. Radioanal. Chem.*, 4:271-279, 1970.
- LAGERWERFF, J.V. Lead, mercury, and cadmium as environmental contaminants. In: Mortzedt, J.J. & Giordano, P.M. ed. *Micronutrients in Agriculture*. Wisconsin, Soil Sci. Soc. Am. Co., 1973. cap.23. p.607-618.
- LAMM, C.G. Proteção radiológica e segurança em trabalhos com radiações ionizantes. Piracicaba, CENA, 1972. p.45 (Boletim Didático, nº 9).
- _____ & RUZICKA, J. The determination of traces of mercury by spectrophotometry, atomic absorption, radioisotope dilution and other methods. In: International Atomic Energy Agency. *Mercury Contamination in Man and his Environment*. Vienna, 1972. cap.9, p.111-130.
- LIDUNS, V. & ULFVARSON, U. Mercury analysis in biological material by direct combustion in oxygen and photometric determination of the mercury vapour. *Acta Chem. Scandinavica*, 22(7):2150-2156, 1968.
- LINDSTEDT, G. Microdetermination of mercury in biological samples. Part I - A rapid method for determination of mercury in urine. *Analyst*, 95:264-271, 1970.
- LEDERER, C.M.; HOLLANDER, J.M.; PERLMAN, I. *Table of Isotopes*, 6a. ed., New York, John Wiley, 1967, p.391.

- LINDSTEDT, G. & SKARE, I. Microdetermination of mercury in biological samples. Part II - An apparatus for rapid automatic determination of mercury in digested samples. *Analyst*, 96: 223-229, 1971.
- LING, C. Portable atomic absorption photometer for determining nanogram quantities of mercury in the presence of interfering substances. *Anal. Chem.*, 40(12):1876-1878, 1968.
- LISK, D.J. Pesticide residue analysis by oxygen flask combustion. *Residue Reviews*, 1:152-158, 1962.
- LU, F.C.; BERTEAU, P.E.; CLEGG, D.J. The toxicity of mercury in man and animals. In: International Atomic Energy Agency. *Mercury Contamination in Man and his Environment*. Vienna, 1972. cap.6, p.67-85.
- MACDONALD, A.M.G. The oxygen-flask method. *Advances Analytical Chem. Instrumentation*, 5:75-116, 1964.
- MAGOS, L. Selective atomic-absorption determination of inorganic mercury and methylmercury in undigested biological samples. *Analyst*, 96:847-853, 1971.
- MAGOS, L. Atomic absorption determination of total inorganic, and organic mercury in blood. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 55(5): 966-971, 1972.
- MALAIYANDI, M. & BARRETE, J.P. Wet oxidation method for the determination of submicrogram quantities of mercury in cereal grains. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 55(5):951-959, 1972.
- MARTELL, A.E. & CALVIN, M. *Chemistry of the Metal Chelate Compounds*, New York, Prentice-Hall, 1953. cap. 5, p.203.

- MAY, I. & SCHUBERT, L. In: Koltoff, I.M. & Elving, P.J. *Treatise on Analytical Chemistry*. New York, Interscience Encyclopedia, 1961. v.2, pt. I. p.811-1308.
- MELTON, J.R.; HOOVER, W.L. & HOWARD, P.A. The determination of mercury in soils by flameless atomic absorption. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 35:850-852, 1971.
- MORRISON, G.H. & FREISER, H. *Solvent Extraction in Analytical Chemistry*. New York, John Wiley, 1966. 269p.
- MOURA, J.B. Técnica de pesquisa bibliográfica. Piracicaba, CENA, 1974, 19 p. [Postila].
- MUNS, R.K. & HOLLAND, D.C. Determination of mercury in fish by flameless atomic absorption: A collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 54(1):202-205, 1971.
- NABRZYNSKY, M. Improvements in the wet oxidation for determining low mercury levels in the food. *Anal. Chem.*, 45(14):2438-2439, 1973.
- NADKARNI, R.A. & HALDAR, B.C. Substoichiometric determination of mercury by neutron activation analysis. *J. Radioanal. Chem.*, 10:181-186, 1972.
- OKUNO, I.; WILSON, R.A. & WHITE, R.E. Determination of mercury in biological samples by flameless atomic absorption after combustion and mercury silver amalgamation. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 55(1):96-100, 1972.
- OVERMAN, R.T. & CLARK, H.M. *Radioisotope Techniques*. New York, McGraw-Hill, 1960. 476p.

- PAPPAS, E.G. & ROSENBERG, L.A. Determination of submicrogram quantities of mercury by cold vapour atomic absorption photometry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 49(4):782-792, 1966.
- PIGATTI, P.; PIGATTI, A.; GIANOTTI, O. Método de combustão em sistema aberto para determinação de resíduos de mercúrio em tomate. *Arq. Inst. Biol.*, 34(3):193-198, 1967.
- PUTMAN, J.J. Quick silver and slow death. *National Geographic*, 507-527, October, 1972.
- RAJAMA, J.; HILTUNEN, S.; HILPI, A. apud SMART, N.A. Use and residues of mercury compounds in agriculture. *Residue Reviews*, 23:1-33, 1968.
- RIEDEL, A. Systematic study of the extraction of metals using n-benzoyl n-phenylhydroxylamine. *J. Radioanal. Chem.*, 13:125-134, 1973.
- RISSANEN, K. & MIETTINEN, J.K. Use of mercury compounds in agriculture and its implications. In: International Atomic Energy Agency. *Mercury Contamination in Man and his Environment*. Vienna, 1972. cap.2, p.5-34.
- ROCHA, S.C. *Referências bibliográficas*. Piracicaba, ESALQ, 1974. 37p. [postila].
- ROOK, H.L.; GILLS, T.E.; LAFLEUR, P.D. Method for determination of mercury in biological materials by neutron activation analysis. *Anal. Chem.*, 44(7):1114-1117, 1972.
- ROSS, D.A. & HARRIS, C.C. The measurement of clinical radioactivity. s.l. s.d.

- RUZICKA, J. & STARY, J.* Isotopic dilution analysis by solvent extraction-III. Highly selective determination of trace amounts of mercury. *Talanta*, 8:535-538, 1961.
- _____. Metal chelate exchange in the organic phase-I. *Talanta*, 14:909-919, 1967.
- _____. *Substoichiometry in Radiochemical Analysis*. Oxford, Pergamon Press, 1968. 151p.
- _____ & *LAMM, C.G.* A new concept of automated radiochemical analysis based on substoichiometric separation. *Talanta*, 15:689-697, 1968.
- _____. Automated determination of traces of mercury in biological materials by substoichiometric radioisotope dilution. *Talanta*, 16:157-168, 1969.
- _____ & *TJELL, J.C.* The liquid-state ion-selective electrode theory and experiments with metal dithizonates. *Anal. Chim. Acta*, 51:1-19, 1970.
- SAITO, N.* Use of mercury and its compounds in industry and medicine. In: International Atomic Energy Agency. *Mercury Contamination in Man and his Environment*. Vienna, 1972. cap.3, p.35-42.
- SCHÖNIGER, W.* Eine mikroanalytische schnellbestimmung von halogen in organischen substanzen. *Mikrochim. Acta*, 1:124-133, 1955.
- SILVA, C.M.* Determinação de traços de mercúrio em vegetais por meio de análise por ativação. São Paulo, 1970, 60p. [Mestrado - E.P.]
- _____ & *LIMA, F.M.* Determinação de traços de mercúrio em tomates e produtos industrializados de tomates. *Rev. Bras. de Tecnol.*, 1:67-79, 1970.

- SKARE, I. Microdetermination of mercury in biological samples.
Part III. Automated determination of mercury in urine, fish and
blood samples. *Analyst*, 97:146-155, 1972.
- SMART, N.A. Use and residues of mercury compounds in agriculture.
Residue Reviews, 23:1-36, 1968.
- SOĐEK, L. Cinética de Enzimas. Piracicaba, CENA, 1975. 24p.
(postila).
- SOUTHWORTH, B.C.; HODECKER, J.H.; FLEISCHER, K.D. Determination
of mercury in organic compounds. *Anal. Chem.*, 30(6):1152-1153,
1958.
- STARY, J. *The Solvent Extraction of Metal Chelates*. New York,
Pergamon Press, 1964.
- _____ Liquid-liquid distribution (solvent extraction). In:
West, T.S., ed. *Analytical Chemistry*. London, Butterworths,
1973. Cap.7, pt. 1, p.279-307.
- _____ & KRATZER, K. Determination of extraction constants of
metal diethyldithiocarbamates. *Anal. Chim. Acta*, 40:93-100,
1968.
- _____ & RUZICKA, J. Metal chelate exchange in the organic
phase-II. *Talanta*, 15:505-514, 1968.
- _____ & BURCL, R. Heterogeneous exchange constants of metal
dithizonates and diethyldithiocarbamates. *Radiochem. Radioanal.
Letters*, 7(4):235-244, 1971.

- TALL, E.T. Mercury in commercial canned sea food. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 57(5):1068-1073, 1974.
- TANDON, S.N.; SRIVASTAVA, P.K.; JOSHI, S.R. 2- Aminobenzothiazole as a selective reagent for the extraction of mercury (II). *J. Radioanal. Chem.*, 8:123-126, 1971.
- THOMPSON, K.C. & REYNOLDS, G.D. The atomic-fluorescence determination of mercury by the cold vapour technique. *Analyst*, 96:771-775, november, 1971.
- THORPE, V.A. Determination of mercury in food products and biological fluids by aeration and flameless atomic absorption spectrophotometry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 54(1):206-210, 1971.
- TORIBARA, T.Y.; SHIELDS, C.P.; KOVAL, L. Behavior of dilute solutions of mercury. *Talanta*, 17:1025-1028, 1970.
- ULFVARSON, U. Organic mercuries. In: Torgeson, D.C., ed. *Fungicides*. New York, Academic Press, 1970. v.2, cap. 6, p.303-329.
- UTHE, J.F.; ARMSTRONG, F.A.J.; TAM, K.C. Determination of trace amounts of mercury in fish tissues: results of a north american check sample study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 54(4):866-869, 1971.
- _____ ; SOLOMON, J.; GRIFF, B. Rapid semimicro method for the determination of methyl mercury in fish tissue. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 55(3):583-589, 1972.
- VERHEIJKE, M.L. Calculated efficiencies of a 3 x 3 in. NaI(Tl) well type scintillation crystal. *Inter. J. Appl. Rad. Isotopes*, 13: 583-585, 1962.

- VEVERIS, O.E.; BANKOVSKII, Y.A.; PELEKIS, L.L. AYNBINDER, N.G.; SHEKHTMEYSTER, L.A. Application of 8-mercaptoquinoline (tioxine) for the separation of microamounts of elements. *J. Radioanal. Chem.*, 9:47-53, 1971.
- VICKERS, T.J. & MERRICK, S.P. Determination of parts per milliard concentrations of mercury by atomic fluorescence flame spectrometry. *Talanta*, 15:873-876, 1968.
- VIETS JR., F.G. & BOAWN, L.C. In: Black, C.A., ed., *Methods of Soil Analysis*. 2a. ed. Madison, American Society of Agronomy, 1969. pt.2, cap.78, p.1093.
- VOYCE, D. & ZEITLIN, H. The separation of mercury from sea by adsorption colloid flotation and analysis by flameless atomic absorption. *Anal. Chim. Acta.*, 69:27-34, 1974.
- WYTTENBACH, A. & BAJO, S. Investigation of the substoichiometric extraction of 14 metals from sulfuric, hydrochloric, and perchloric acids with zinc-diethyldithiocarbamate by radiometric extractive titration. *Anal. Chem.*, 47(1):2-7, 1975.
- ZARNEGAR, P. & MUSHAK, P. Quantitative measurements of inorganic mercury and organomercurials in water and biological media by gas liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta.*, 69:389-407, 1974.