

DETERMINAÇÃO DE TRAÇOS DE MERCÚRIO EM TOMATES E PRODUTOS INDUSTRIALIZADOS DE TOMATES*

CÉLIA M. SILVA e FAUSTO W. LIMA

Divisão de Radioquímica, Instituto de Energia Atômica
Caixa Postal 11049 (Pinheiros), São Paulo 9, SP — Brasil

ABSTRACT

DETERMINATION OF TRACES OF MERCURY IN TOMATOES AND INDUSTRIALIZED PRODUCTS FROM TOMATOES. By Célia M. Silva and Fausto W. Lima.

A study is made of the various factors that may interfere with the determination of mercury, by activation analysis, in tomatoes and commercial products obtained from tomatoes. The method can also be applied for the analysis of that element in pesticides as well as in parts of the tomato tree. Chemical separation of mercury ions is carried out by isotopic exchange with metallic mercury.

Sensitivity of the method is of the order of 0,01 micrograms and concentration of the order of parts per billion.

Precision and accuracy of the method are discussed.

INTRODUÇÃO: O uso, em agricultura, de parasiticidas a base de mercúrio, tem trazido, como consequência, a necessidade de sério controle de vários produtos alimentícios vegetais que, em qualquer época de cultura ou industrialização, foram tratados, ou acidentalmente contaminados, com aquele elemento.

As organizações internacionais qualificadas para recomendarem tais tipos de controle, tais sejam a Organização Mundial de Saúde (WHO) e Organização Para Alimentos e Agricultura (FAO) propuseram, em caráter provisório, a quantidade de 50 nanogramas de mercúrio por grama de alimento como sendo a quantidade máxima permissível (1). Tal concentração de 50 ng/g traria, de imediato, o problema de desenvolvimento de métodos analíticos suficientemente sensíveis que possam determinar massas de mercúrio correspondentes a cerca de 0,005 microgramas ou menos, sem a necessidade de uso de grandes quantidades de produto alimentício.

A determinação de tais quantidades de qualquer elemento químico, especialmente se se tratar de métodos destinados a aplicação frequente ou mesmo

rotineira, enfrenta problemas de difícil solução. Um dos principais problemas desta natureza é o criado pela necessidade de uso de drogas de altíssima pureza, pois frequentemente drogas químicas, destinadas a uso analítico, têm determinados elementos presentes em proporções superiores às aquelas em que o elemento se apresenta no material a ser analisado. A possibilidade de contaminação com o próprio elemento que se procura analisar, quando as quantidades são da ordem mencionada acima, constitui problema sério em tal tipo de trabalho, exigindo ambientes ou salas de trabalho com atmosfera controlada, filtração de ar e trabalhos em caixas estanques ("gloves boxes").

Dentre as técnicas de trabalho que permitem a determinação de elementos em baixas concentrações, a espectrografia ótica é de uso tradicional e generalizado, possibilitando determinações semi-quantitativas de maneira relativamente rápida. Entretanto, em geral, essa técnica exige a incineração do material a ser analisado e isto impede a sua aplicação para elementos de fácil volatilização como é o caso do mercúrio, bem como do arsênio e antimônio.

*De dissertação apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, por C.M. Silva, como parte dos requisitos necessários para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

O problema de perda do elemento a ser analisado, por volatilização, em particular o caso do mercúrio, foi estudado por Gorsuch (2, 3) que recomenda a série de precauções para análise daquele elemento, em vários produtos alimentícios cujas amostras contenham menos que 0,5 microgramas de mercúrio.

Ruzicka e Lamm (4) aplicam o método de diluição isotópica, usando equipamento mais ou menos complexo que torna o método inteiramente automático e permitindo a análise de um grande número de amostras por dia. O método, entretanto, tem o inconveniente de exigir preparação de traçador de mercúrio com altíssima atividade específica correspondente a 1 000 milicuries por grama para que sejam possíveis determinações de mercúrio em quantidades de ordem de 0,005 a 0,5 microgramas. O trabalho foi feito utilizando o isótopo ^{203}Hg , de 46,9 dias de meia-vida. A obtenção deste isótopo de mercúrio, na atividade específica mencionada acima, é extremamente difícil nas condições de operação do reator do IEA, pois que exigiria a irradiação em alto fluxo de nêutrons térmicos, durante vários dias de operação contínua do reator.

Brune (5) determinou mercúrio em amostras de sangue e de soluções aquosas, sendo que, para evitar a volatilização do mercúrio durante a irradiação, as amostras eram acondicionadas em frascos de polietileno e mantidas a 40°C abaixo de zero durante as treze horas em que durava a irradiação. A manutenção das amostras naquela temperatura, durante a irradiação, exige a construção de complicados dispositivos junto aos reatores, o que torna o processo dispendioso além de ocupar espaço muito grande no reator, prejudicando o andamento de outros trabalhos.

Kosta e Byrne (6) desenvolveram método que permite a análise de mercúrio ao nível de nanogramas, método esse baseado na combustão da amostra irradiada, volatilização do mercúrio e absorção em papel impregnado de selênio elementar. O método tem o inconveniente de necessitar aparelho relativamente complexo para combustão da amostra e volatilização

do mercúrio, o que impede o processamento de várias amostras ao mesmo tempo.

Das, Raaphorst, Hoede e Zonderhuis (7) adotaram método em que o mercúrio era separado, após adição de carregador, na forma de sulfeto, dentro de pequeno tubo de vidro, o qual, em seguida, era cuidadosamente aquecido; o mercúrio era volatilizado condensando-se, na forma de espelho, nas paredes superiores do tubo de vidro. Essa parte do tubo era então cortada e o tubo era levado aos contadores para determinação da atividade do mercúrio. A condensação do mercúrio nas paredes do tubo, entretanto, não é uniforme, o que cria dificuldades práticas para a contagem quando a condensação se dá ao longo de comprimento muito grande.

Em trabalho bastante recente, Nadkarni, Flieder e Ehmann (8) determinaram mercúrio em vários materiais, usando contadores de estado sólido. No trabalho em pauta, entretanto, os tempos de irradiação eram excessivamente longos, com um mínimo de sete dias, e um tempo de espera, após a irradiação e início da contagem, da ordem de três dias. Embora o trabalho contorne, em alguns casos, a necessidade da separação química, podendo o método ser instrumental se levado a cabo durante o número de dias mencionados, há casos em que a separação química não pode ser dispensada. No caso de fôlhas de tabaco, por exemplo, forma-se o isótopo selênio-75 que emite radiações de energias muito próximas às emitidas pelo radioisótopo de mercúrio utilizado para a análise e mesmo os contadores de estado sólido não têm resolução suficiente para permitir a determinação do mercúrio, quando em presença do selênio-75.

De todos os métodos ou processamentos químicos fundamentais que permitem uma separação do mercúrio, a saber, os baseados em volatilização, eletrodeposição, formação de precipitado após adição de carregador, deposição do mercúrio irradiado sobre mercúrio metálico, este último parecia ser o mais promissor para as nossas condições de trabalho.

Tal tipo de separação já fôra aplicado por Kim

e Silverman(9) para o caso da análise de mercúrio em folhas de tabaco e em trigo sendo que a reação de troca isotópica, que permite a deposição do mercúrio irradiado sobre mercúrio metálico, foi estudada, exaustivamente, nos seus aspectos físico-químicos, por Okashita(10) e Monnier e Loepfe(11).

Um método analítico para mercúrio, presente em vegetais, na proporção de traços*, deve ter alta sensibilidade, ser quantitativo, deve ser seletivo, não deve estar sujeito à contaminação pelo próprio elemento que está sendo analisado, contaminação esta introduzida pelos reagentes ou por qualquer outro meio, e, finalmente, deve ser razoavelmente rápido e conveniente para trabalho de caráter rotineiro. Obviamente, a precisão e a exatidão do método, como em todo método analítico, deverão ser convenientemente satisfatórias; êstes dois pontos serão retomados em Discussão e Conclusões.

No presente trabalho, é apresentado um método de análise, por ativação, de mercúrio, presente em tomates e em alguns produtos industrializados daquele vegetal. O mesmo método poderá, com algumas adaptações, dependendo de cada caso específico, ser aplicado a outros vegetais. O método tem características de simplicidade, rapidez, alta sensibilidade, é específico, e sua aplicação não requer que seja feito em laboratórios situados ao lado de reatores nucleares. As amostras podem ser enviadas para irradiação nos reatores e devolvidas aos laboratórios de origem para processamento químico e os quais, supostamente, dispõem de equipamento para contagem e determinação de radioatividade.

MATERIAIS E MÉTODO

Desenvolvimento do Método — A fim de estudar com facilidade tôdas as fases do processamento químico, amostras artificiais foram preparadas, sendo o mercúrio dessas amostras acrescentado na forma de seus isótopos radioativos. As contagens foram feitas em analisador de raios gama, multicanal, acoplado a cristal de cintilação de NaI(Tl), tipo "poço", de di-

mensões correspondentes a 5 cm de altura e 4,4 cm de diâmetro.

Durante o desenvolvimento do método, as contagens foram feitas utilizando-se os raios gama de 280 keV e 77 keV, correspondentes aos isótopos Hg-203 e Hg-197, respectivamente. Após desenvolvido o método, as análises passaram a ser feitas medindo-se apenas os raios gama do isótopo Hg-197. A percentagem isotópica do isótopo Hg-196, 0,146%, que dá origem ao isótopo Hg-197 após irradiação com nêutrons térmicos, é relativamente baixa; entretanto, a seção de choque para a reação da formação do Hg-197 é extremamente alta (3 092 barns), sendo a meia-vida do radioisótopo formado relativamente curta, o que permite a obtenção de altas atividades específicas de Hg-197.

As seguintes fases foram examinadas: a) Preparação da amostra para irradiação, envolvendo homogeneização, secagem e encapsulação em ampolas de quartzo. b) Irradiação e abertura das ampolas contendo o material irradiado. c) Ataque da amostra irradiada, após adição de carregador, com mistura sulfonítrica e em aquecimento com refluxo. d) Destruição dos óxidos de nitrogênio formados. e) Reação de troca isotópica mercúrio radioativo-mercúrio metálico e estudo da influência dos outros íons. f) Dissolução do mercúrio metálico, com o mercúrio radioativo incorporado, e transferência para os tubos de contagem. g) Contagem e cálculos.

a) Preparação da amostra — As amostras, quando constituídas pelos frutos de tomate, são lavadas com água desionizada, os frutos são cortados, as sementes são removidas para eventual análise em separado, a polpa é homogeneizada, juntamente com a casca, em um liquidificador do tipo de uso doméstico. A amostra, assim homogeneizada, é transferida para uma placa de Petri e pesada. Em seguida, a placa de Petri, com a amostra, é levada para estufa mantida a 45°C-47°C e deixada durante cerca de 48 horas.

Pesagens periódicas do material mostraram que

*A expressão "concentração ou proporção de traços" é, em geral, adotada como aquela correspondente a partes por milhão ou menos.

não era necessário mais que 48 horas de aquecimento para a eliminação da água, quando as amostras eram homogeneizadas conforme descrito. Êste detalhe traz uma vantagem apreciável sobre o método de Kim e Silverman(9) que necessitam secar o material durante duas semanas. Por outro lado, Westermarck e Sjöstrand(12) mostraram que, na temperatura de 45°C-47°C, não há perda de mercúrio por aquecimento prolongado de seus compostos orgânicos. Como durante a irradiação, no reator, pode haver eventuais aumentos de temperatura no local em que as amostras estão colocadas, acima de 45°C, as amostras passaram a ser irradiadas dentro de ampolas de quartzo, com dimensões de cerca de 3 cm de comprimento por 0,8 cm de diâmetro. As ampolas devem ser de quartzo, visto que êste material é praticamente transparente aos nêutrons térmicos.

No caso de massas de tomate e sucos, é também conveniente a homogeneização do material no liquidificador, antes da secagem, para se obter amostra realmente significativa.

b) Irradiação e abertura das ampolas de quartzo —

Uma vez colocado o material e os padrões de mercúrio nas ampolas de quartzo, as ampolas são colocadas, lado a lado, em tubos de alumínio, de diâmetro correspondente a 2,5 cm, os tubos são fechados e enviados para a irradiação, a qual leva cerca de oito horas. A irradiação, em geral, termina às 18 horas de cada dia e as ampolas só são removidas do reator no dia seguinte às 8 horas. Dessa maneira os isótopos de meias-vidas curtas sofrem um decaimento apreciável e o material pode ser manuseado sem necessidade de controle remoto, a não ser para a abertura dos tubos de alumínio que contêm as ampolas de quartzo.

A abertura das ampolas de quartzo é feita conforme indicado na Fig. 1. As ampolas, após serem lavadas previamente com água desionizada, são colocadas dentro de um tubo de polietileno, de paredes grossas, com diâmetro aproximado de 4 cm, selado a quente na parte inferior. No interior do tubo, colo-

cam-se cerca de 2 ml de ácido nítrico concentrado e 500 µg de carregador de mercúrio (0,2 ml de solução aquosa de nitrato de mercúrio contendo 2,5 mg Hg/ml). A outra extremidade do tubo é fechada com uma pinça de Hoffmann e em seguida quebra-se a ampola de quartzo cuja parte estrangulada deve estar mergulhada no ácido nítrico. Dessa maneira a amostra e gases que se formaram como consequência da irradiação dissolvem-se no ácido nítrico.

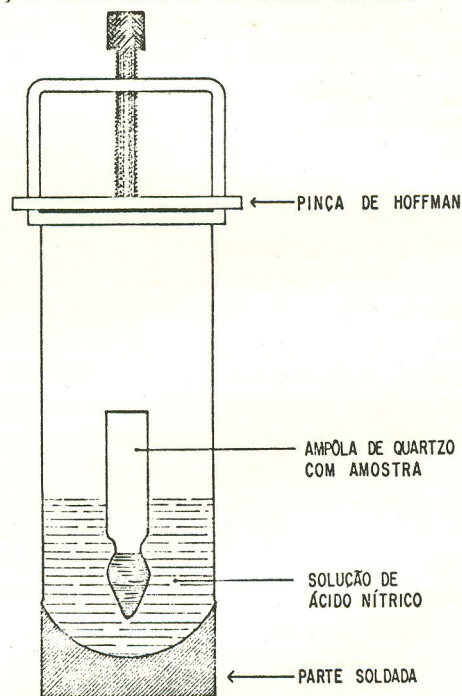


Fig. 1 — Tubo de polietileno usado para a abertura das ampolas de quartzo.

A irradiação em ampolas fechadas (de quartzo) tem a grande vantagem de dispensar precauções adicionais e mais ou menos complicadas junto ao reator, como é o caso do trabalho de Kim e Silverman(9) que exige dispositivo especial para manter as amostras, durante a irradiação, em temperatura correspondente a 30°C. Brune(13) coloca as amostras em contato com

gêlo seco mantendo a temperatura, dessa maneira, ao redor de 40°C abaixo de zero centesimais. Quaisquer um desses dispositivos são volumosos, ocupam grande espaço no reator e complicam sobremaneira o problema de irradiação.

c) **Ataque da amostra irradiada** — Após a quebra da ampola de quartzo com a amostra, conforme descrito, a ampola quebrada e a solução nítrica, contendo o material irradiado e o carregador de mercúrio, são transferidos para o balão do aparelho de aquecimento

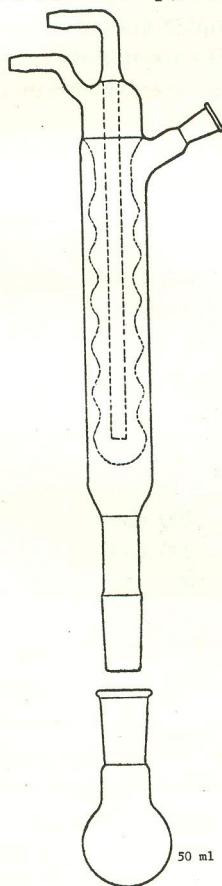


Fig. 2 — Aparelho para aquecimento a refluxo.

(Fig. 2). A solução é aquecida durante cinco minutos, adiciona-se 1,5 ml de ácido sulfúrico concentrado, pela entrada lateral do condensador, continua-se o aquecimento por mais quarenta minutos, a manta de aquecimento é removida, o balão é imerso em água com gêlo durante cinco minutos, desconectando-se, então, o condensador.

d) **Destruição dos óxidos de nitrogênio** — Após o ataque da amostra, com a mistura sulfo-nítrica, encontram-se, no balão de digestão, óxidos de nitrogênio livres, em forma de gás, bem como dissolvidos na solução. Êstes compostos devem ser eliminados completamente para não interferirem na reação de troca isotópica a ser efetuada posteriormente. Kim e Silverman(9) fazem esta eliminação por aquecimento, em banho de água a 80°C , operação esta que leva cerca de uma hora. Os presentes autores tentaram a eliminação dos óxidos de nitrogênio por esta mesma técnica de aquecimento, mas os resultados não eram reprodutíveis e freqüentemente os óxidos de nitrogênio, não completamente eliminados, reagiam com o brometo de amônio, usado como catalizador para a troca isotópica, dando desprendimento de bromo. Isto provocava uma oxidação parcial do mercúrio metálico, formando uma película de cor cinza chumbo que recobria a gota de mercúrio e impedia o contato com a solução. Dessa forma a troca isotópica nunca se dava quantitativamente.

Tentou-se, então, a eliminação daqueles óxidos com íons de estanho bivalente. Entretanto, quando a quantidade de íons estanho, necessária para eliminação dos óxidos de nitrogênio, era superior a 200 mg, havia uma recuperação insuficiente do mercúrio a ser analisado, o que foi verificado com a técnica dos traçadores, isto é, colocando-se uma quantidade conhecida de mercúrio irradiado na solução a ser tratada pelos íons estanho e medindo-se a atividade do mercúrio radioativo que se incorporava ao mercúrio metálico. Enquanto as quantidades de íon estanho bivalente eram inferiores a 200 mg, a recuperação de

mercúrio era da ordem de 95 a 99%; entretanto, com mais de 200 mg de íons estanho, o que às vezes era necessário face à quantidade de óxidos de nitrogênio formada, as recuperações eram inferiores a 95% e não reproduzíveis.

Não tendo sido possível conseguir-se resultados satisfatórios, quer com o aquecimento a 80°C, quer com o estanho bivalente, tentou-se em seguida, a adição de uréia a qual decompõe aqueles óxidos. A Tabela I dá a recuperação do traçador Hg-197 em função da massa de uréia utilizada. Conforme se verifica, quando se usa menos de 80 mg de uréia a recuperação do mercúrio é insuficiente; acima de 500 mg o excesso passa a ser, também, prejudicial. O

Uréia mg	Recuperação de Hg-197 — %
10	72,4
20	62,8
40	52,6
80	95,2
100	98,0
200	95,6
300	102,0
400	97,0
500	94,7
500	96,9
500	95,7
500	96,6
800	91,2
1200	91,6

Média dos nove resultados
entre 80 e 500 mg de uréia:
96,9% $\pm$ 2,2*.

*Desvio padrão.

Tabela I — Variação da recuperação de Hg-197 em função da massa de uréia (material analisado: batatas às quais se juntou o Hg-197).

* A ação catalítica do brometo de amônio não foi estudada em detalhes nos seus aspectos físico-químicos. Foram estudados somente os rendimentos que se obtinham quando o brometo de amônio estava presente ou não, durante o mesmo tempo de meia-hora em que se processava a reação de troca isotópica. Em ausência de brometo de amônio, a recuperação do mercúrio adicionado era de ordem de 13%, ao passo que, com o brometo de amônio, os rendimentos eram da ordem de 97%.

tratamento com uréia, permitindo boa recuperação do mercúrio, é simples e extremamente rápido, contrariamente à eliminação, por aquecimento a 80°C, adotado na técnica de Kim e Silverman(9), que, além de nem sempre eliminar perfeitamente os óxidos de nitrogênio, leva cerca de uma hora para se completar.

e) Reação de troca isotópica mercúrio radioativo-mercúrio metálico — Foi feito, também, o estudo da influência de outros cátions comumente presentes e que poderiam depositar-se sobre o mercúrio metálico, por qualquer mecanismo e apesar dos potenciais de oxidação e redução não serem a isso favoráveis (caso dos elementos metálicos menos nobres que o mercúrio). Para tanto foi preparada uma solução, contendo os íons cuja interferência se desejava verificar, o íon Hg-197 a 50 μ l de mercúrio metálico. A fim de acelerar a reação de troca isotópica adicionava-se 500 mg de brometo de amônio* à solução e deixava-se todo o conjunto em agitação durante meia hora. O recipiente

Íon que Impurifica	Relação Massa impureza: Massa mercúrio*	Recuperação do Hg-197 %
Cu ²⁺	16:1000	94,8
Cu ²⁺	16:1000	97,0
Cr ³⁺	200:1000	98,6
Cr ³⁺	200:1000	93,8
Co ³⁺	1000:1000	99,0
Co ³⁺	1000:1000	97,2
As ³⁺	2000:1000	96,3
As ³⁺	2000:1000	95,6
Na ⁺	200:1000	96,8
Na ⁺	200:1000	92,6

Média: 96,4 $\pm$ 1,6

*A massa de mercúrio, aqui representada, é a massa do carregador adicionado, visto que a massa existente é desprezível, em geral, comparativamente com a do carregador.

Tabela II — Recuperação de Hg-197, por troca isotópica, na presença de outros elementos.

que continha a mistura mencionada era constituído por tubo de centrífuga, de vidro, com capacidade para 50 ml e provido de estrangulamento, próximo à boca, o que permite a separação fácil do mercúrio metálico e solução, bem como uma fácil lavagem do mercúrio. Isótopos radioativos de cobre, sódio, arsênio, cobalto e cromo foram adicionados à solução contida no tubo de centrífuga, nas proporções indicadas na Tabela II.

Conforme se verifica da Tabela II a recuperação média do Hg-197 adicionado é igual a 96,4%, com um desvio padrão correspondente a 1,6. O espectro de raios gama, do material incorporado à gota de mercúrio, indica a ausência de quaisquer daqueles íons adicionados, o que confirma a previsão teórica de que não se depositariam os elementos menos nobres que o mercúrio, isto é, aqueles elementos para os quais os potenciais padrões de redução fossem menores que o do mercúrio. Em verdade, foi examinado um número limitado de elementos, tendo sido usados, para isso, os seus respectivos radioisótopos. Com isso, pôde ser verificado se aqueles elementos se depositam ou não sobre o mercúrio e, em qualquer caso, se interferem com a deposição do Hg-197. Este último fato pode, entretanto, ser verificado sem o exame exaustivo do comportamento de elemento por elemento, bastando verificar se em casos reais, onde estão presentes todos os elementos eventualmente interferentes, a recuperação do mercúrio-197 é satisfatória ou se em alguns casos tal não se dá. Para iso, basta adicionar-se Hg-197 a amostras reais (tomates em frutos, suco, massa) e verificar-se a percentagem de recuperação do Hg-197 após o processamento químico completo. Nos casos em que se adicionou o Hg-197 a tomates, massas, suco, amido, batata, ou seja nos casos reais, os elementos eventualmente interferentes estão presentes no próprio material e, apesar disso, a recuperação do mercúrio foi sempre da ordem de 97%, conforme se verifica na Tabela I.

Quanto à separação da gota de mercúrio da solução, após a troca isotópica, Kim e Silverman(9)

adotam a técnica de filtração em placa de vidro sintetizado. Entretanto, esta técnica não é conveniente, pois ao término da reação de troca, que se processa com agitação mecânica do tubo de centrífuga que contém a solução e o mercúrio metálico, o mercúrio se apresenta dividido em finas gotículas que não se agregam, o que torna impraticável a filtração conforme mencionado. Foi tentado, então, centrifugação, com excelentes resultados. Não só as gotículas de mercúrio se agrupam formando uma gota única, como a separação desta gota da solução e lavagem posterior da gota se tornam extremamente fáceis.

f) Dissolução da gota de mercúrio e contagem — A contagem direta da gota de mercúrio metálico não pode ser feita face à baixa energia do raio gama escolhido, isto é, 0,077 MeV. Ocorrem, neste caso, problemas de auto-absorção da radiação, no mercúrio metálico, de tal forma que a atividade não é mais proporcional à massa de Hg-197. Por essa razão, a gota de mercúrio metálico é transferida para um balão volumétrico de 5 ou 10 ml e dissolve-se o mercúrio metálico com 1,5 ml de ácido nítrico concentrado, completando-se em seguida o volume. Do volume total, toma-se uma alíquota de um mililitro, transfere-se para o tubo de contagem e determina-se a atividade da amostra usando o espectrômetro de raios gama mencionado.

A solução aquosa de nitrato de mercúrio, no volume de um mililitro, no tubo de contagem, não apresenta problemas de auto-absorção das radiações correspondentes a 0,077 MeV, sendo, então, a atividade proporcional à massa de mercúrio-197 e o qual se formara quando da irradiação da amostra.

g) Contagem e cálculos — A contagem da amostra e do padrão é feita, conforme dito, em espectrômetro de raios gama, multicanal, acoplado a cristal de cintilação de NaI(Tl) tipo "poço". Para os cálculos usa-se o pico correspondente à energia de 0,077 MeV que engloba a energia dos raios gama (0,077 MeV) e mais

ainda um pico de raios-X a 0,068 MeV. A Fig. 3 mostra um desses espectros para um padrão de mercúrio, de massa conhecida, e que fôra irradiado juntamente com a amostra e cujo espectro também consta da mesma Fig. 3. O cálculo da massa da amostra é

feito relacionando-se as áreas respectivas, correspondentes à amostra e ao padrão, áreas estas que são registradas diretamente pelo equipamento de contagem, e multiplicando aquela relação pela massa do padrão, conforme o usual.

Método — Uma vez examinadas, em detalhes, tôdas as fases, desde Preparação da Amostra até a fase de Contagem e Cálculos, o seguinte Método de Análise foi estabelecido.

No caso do tomate propriamente dito, como fruto, tendo de 10 a 50 partes por bilhão de mercúrio, tomam-se de dois a três frutos, totalizando cerca de 200 gramas (massa proporcionalmente maior ou menor para teores de mercúrio menores ou maiores, respectivamente). Os frutos são lavados com água desionizada e homogeneizados em liquidificador. A suspensão é transferida para uma placa de Petri, a massa é determinada e em seguida seca-se em estufa a 45-47°C durante 48 horas. Após seco o material é colocado em dessecador até esfriar e a massa seca é determinada. Cerca de 250 mg de material seco são colocados em ampolas de quartzo de aproximadamente 7 mm de diâmetro e 3 cm de altura. O padrão de mercúrio na forma de nitrato e com massa correspondente a 50 µg de mercúrio é também acondicionado em ampolas análogas*. As ampolas, contendo as amostras padrões, são irradiadas, lado a lado, em fluxo de nêutrons térmicos da ordem de 10^{12} nêutrons/seg.cm² durante cerca de 8 horas. Após a irradiação, as ampolas são lavadas, antes de abrir, em solução de ácido nítrico diluído, água desionizada e abertas, quebrando-se a parte estrangulada das ampolas, dentro dos tubos de polietileno contendo 2 ml de ácido nítrico concentrado a 500 µg de carregador de mercúrio (0,2 ml de solução aquosa de nitrato mercurioso cuja concentração é 2,5 mg Hg/ml), conforme mostrado na Fig. 1. Após dissolução das amostras no ácido nítrico, a solução resultante, bem como a ampola, são transferidas para o balão de destilação, cuja capacidade é de 50 ml e o tubo de polietileno é lavado

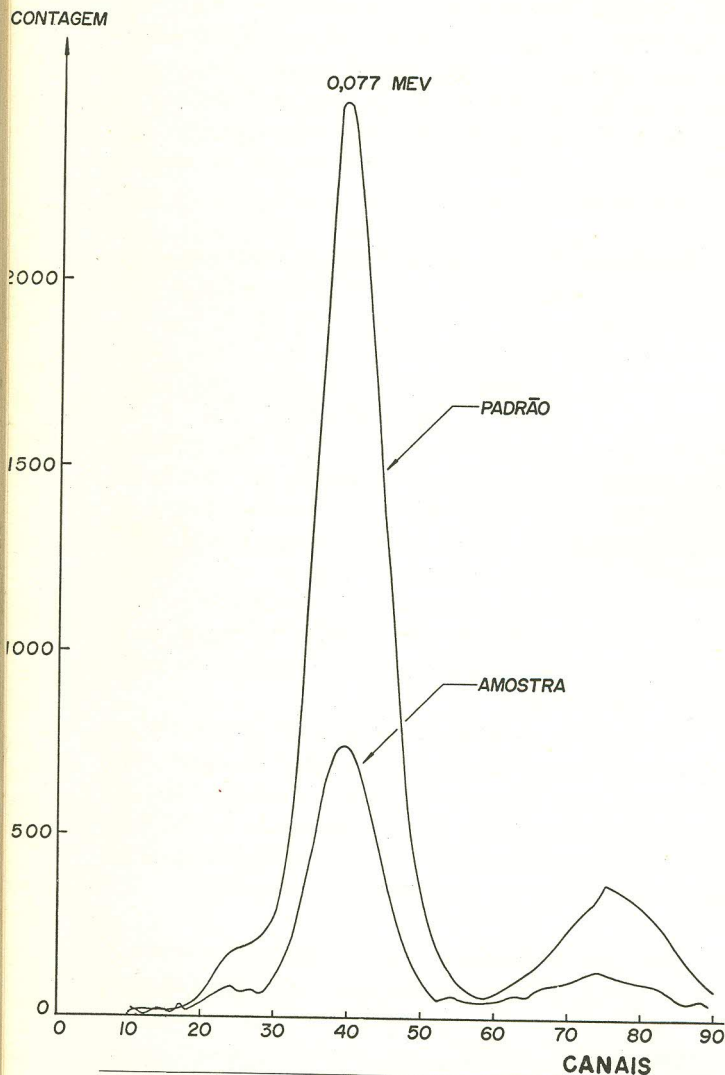


Fig. 3 — Espectro de raios gama do ^{197}Hg na região de 0,77 MeV.

* O padrão de mercúrio é colocado nas ampolas na forma de solução de nitrato mercurioso contendo 2,5 mg Hg/ml. No caso não ocorre o problema de termalização adicional dos nêutrons, por estar o padrão na forma de solução, em razão do pequeno volume da solução. A altura da solução na ampola deve, entretanto, ser a mesma que a altura da amostra.

com um mililitro de ácido nítrico concentrado e duas vezes com um mililitro de ácido nítrico diluído 1:1. O balão é, então, adaptado ao condensador a refluxo (Fig. 2) e aquecido durante cinco minutos. Pela entrada lateral do condensador adiciona-se 1,5 ml de ácido sulfúrico concentrado, aquece-se durante quarenta minutos, retira-se a manta de aquecimento e imerge-se o balão em água com gelo por cinco minutos quando então se desconecta o condensador. Adiciona-se um mililitro de solução aquosa de uréia (500 mg/ml) e agita-se, acrescentando-se em seguida 5 ml de hidróxido de amônio concentrado e resfria-se a solução em banho de água gelada. A solução é transferida para o tubo de centrifuga de 50 ml de capacidade; lava-se o balão com pequenas quantidades de água de tal modo que o volume da solução dentro do tubo de centrifuga não ultrapasse 25 ml, aproximadamente. Adiciona-se 500 mg de brometo de amônio, agita-se a solução para dissolver o sal e acrescenta-se 50 μ l de mercúrio metálico. O tubo é tampado e o conjunto pôsto a agitar em agitador mecânico, durante cerca de trinta minutos. Centrifuga-se a solução, retira-se o sobrenadante, lava-se cinco vezes a gôta de mercúrio com porções de água desionizada, transfere-se o mercúrio para balão volumétrico de 5 ou de 10 ml, adiciona-se 1,5 ml de ácido nítrico concentrado, dissolve-se o mercúrio, completa-se o volume com água, toma-se uma alíquota de um mililitro, transfere-se para o tubo de contagem e determina-se a atividade no analisador de raios gama.

A ampola que conteve o padrão de mercúrio é aberta do mesmo modo que, no caso da amostra, a solução é transferida para o balão volumétrico de 50 ml, o tubo de polietileno onde foi aberta a ampola, bem como a própria ampola, são lavados várias vezes com porções de 2 ml de ácido nítrico diluído 1:1, as águas de lavagem são acrescentadas ao balão de 50 ml, o volume é completado com água, toma-se um mililitro desta solução e dilui-se a 10 ml. Desta última solução toma-se um mililitro e transfere-se para o tubo de contagem, determinando-se a sua atividade, como no caso da amostra, estabelecendo-se, em seguida, a

relação das contagens amostra e padrão e multiplicando-se pela massa de mercúrio no padrão, conforme indicado.

RESULTADOS

Diversos materiais foram examinados, quanto à possibilidade de aplicação do método apresentado no presente trabalho. A alguns desses materiais foi adicionado traçador de mercúrio e estudou-se a recuperação do traçador para o processo global ou em cada fase, conforme visto.

A fim de formar uma amostra artificial que pudesse representar um número grande de materiais usou-se amido, em várias quantidades, e ao qual se adicionou o traçador de mercúrio. As recuperações, obtidas por aplicação de todo o processamento químico, estão apresentadas na Tabela III. Os resultados, apresentados nas diversas Tabelas, serão discutidos em Discussão e Conclusões.

Atividade* da Amostra			
Amido Adicionado mg	Antes do Processamento ipm**	Depois do Processamento ipm	Recuperação do Hg-197 %
200	2747	2640	96,1
200	2830	2739	96,8
200	2830	2742	96,9
400	2778	2720	97,9
600	2778	2600	93,6
800	2778	2695	97,0
1000	2612	2536	97,1
1000	2612	2552	97,7

Média: $96,6 \pm 1,3$

*Área sob o pico da região de 77 keV.

**Impulsos por minuto.

Tabela III — Recuperação de Hg-197, em função de massa de amido.

Para os experimentos em que se estudou a destruição dos óxidos de nitrogênio por meio de uréia, o traçador foi adicionado a batatas. Os resultados,

que já foram apresentados na Tabela II, são os resultados relativos ao processo global.

A Tabela IV apresenta os resultados de análises feitas em seis partidas de tomates adquiridas, em feiras, em dias diferentes. Os desvios padrões estão calculados, somente para os casos em que o número de amostras de u'a mesma partida é maior que três. Apresentam-se os resultados relativos às amostras secas e às amostras ao natural, visto que é possível

Número da Amostra	Mercúrio ppb	
	Amostra Sêca	Amostra ao Natural
1	138	8,1
	127	7,5
	146	8,6
	128	7,6
Média	135 ± 9	8 ± 0,5
2	419	24,7
	475	28,0
	460	27,1
	381	22,5
Média	434 ± 42	23,6 ± 2,4
3	84	4,8
	77	4,4
Média	81	4,6
4	100	5,2
	64	3,4
Média	82	4,3
5	193	12,4
	208	13,4
	143	9,3
Média	181	11,7
6	260	15,5
	232	13,4
	234	13,4
Média	239	14,1

Tabela IV — Análises de amostras de tomate secadas a 45-47°C.

a determinação da quantidade de água, por serem pesadas antes e após a secagem, de cada amostra.

Além das análises levadas a cabo usando os frutos de tomate, foram analisados, também, vários outros materiais, tais como produtos industrializados de tomates (suco, massa, "ketchup"), partes de vegetal e parasitícidias comerciais, sendo que, no caso de parasitícidias, o mercúrio encontra-se ao nível de percento e não partes por bilhão. O processo aplica-se perfeitamente bem a todos os materiais examinados, sem maiores dificuldades. Os resultados das várias análises constam da Tabela V.

Massa de Tomate (ppb)	Ketchup (ppb)	Suco de Tomate (ppb)	Fôlhas de Tomateiro (ppb)	Parasitícidia Comercial A (%)	Parasitícidia Comercial B (%)
3,6	13	36	45	1,67	3,92
3,9	14	33	43	1,64	4,01
2,7	12	38	41	1,68	4,54
Média:					
3,4	13	36	43	1,66	4,16

Tabela V — Determinação de mercúrio em vários materiais oriundos de tomates, em parasitícidias comerciais e partes do vegetal.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A exatidão e precisão* do método proposto serão discutidas em seguida. Quando do estudo do Desenvolvimento do Método, várias vezes foram preparadas amostras artificiais, em geral por mistura de amido com várias quantidades de mercúrio. O amido, de grau de pureza correspondente a droga analítica, foi examinado quanto ao seu conteúdo de mercúrio, dando teores desprezíveis, comparativamente com o mercúrio que seria propositalmente adicionado, para constituir a amostra artificial. Para o estudo da exatidão do método preferiu-se essas amostras artificialmente preparadas e com conteúdo conhecido de mercúrio, do que comparar os resultados obtidos pelo

*As noções de *exatidão* e *precisão*, adotadas no presente trabalho, estão de acordo com o recomendado em Anal. Chem. **40**, 2271 (1968), "Guide for Measures of Precision and Accuracy".

método proposto com os de outros métodos de exatidão conhecida. Tal modo de examinar a exatidão tem a vantagem de ser muito mais simples do que através da comparação de métodos, visto que tais comparações exigiriam o mesmo domínio das técnicas correspondentes aos dois métodos, pelo analista que executasse o trabalho.

As Tabelas I, II e III indicam conjuntos de resultados de recuperação de mercúrio, com um valor médio da ordem de 97%, superior ao valor de 90% obtido por Kim e Silverman(9), que também usou o método de troca isotópica para separação de mercúrio, quando da análise de trigo e de fôlhas de tabaco. A recuperação de 97% foi sempre o valor médio encontrado quando se juntou quantidade conhecida de mercúrio a vários materiais (amido, batata, suco); uma vez que se conheça a correção final, correspondente à adição de 3% ao resultado encontrado, os resultados satisfarão o requisito de boa exatidão. Se a recuperação variasse entre largos limites tal correção, evidentemente, não poderia ser aplicada. Avaliando-se a exatidão do método conforme Lacroix(14), vê-se que o método apresenta um desvio sistemático, mas reprodutível, obtendo-se valores correspondentes a 3,1% abaixo dos verdadeiros, podendo assim os resultados das análises feitas sofrerem a devida correção. Deve-se notar que no caso de análise de "traços", a recuperação do elemento que está sendo analisado é quase sempre inferior a 100%. Nos trabalhos examinados na Introdução, as recuperações mencionadas são as seguintes:

Método	Recuperação	Referência
D. Brune	96 %	(5)
P.O. Wester "et al"	96 %	(15)
C.K. Kim e J. Silverman	90 %	(9)
L. Kosta e A.R. Byrne	99,9 %	(6)
J. Ruzicka e C.G. Lamm	97 %	(4)
H.A. Das "et al."	calculada em cada caso	(7)

Tabela VI — Recuperação de mercúrio ao nível de traços.

Com exceção do trabalho de Kosta e Byrne(6), cuja recuperação de mercúrio é, praticamente, total, os demais trabalhos dão recuperação inferior a 100%, sendo que no trabalho de Das e colaboradores(7) a recuperação não é reprodutível, sendo necessária a sua determinação em cada caso, o que complica bastante o processo de análise.

O importante, no que diz respeito à exatidão de um método, quando as recuperações ou rendimentos não forem 100%, o que é o caso comum quando da análise de traços, é que tais recuperações sejam reprodutíveis de modo a se poder introduzir a devida correção.

A precisão dos resultados, dentro do conceito adotado por "Analytical Chemistry"(16), isto é, o maior ou menor espalhamento dos resultados analíticos de u'a mesma amostra, pode ser examinada através do desvio padrão das várias análises. Os dados apresentados nas Tabelas I, II e III, relativos às amostras artificialmente preparadas, dão os desvios padrões relativos (desvios padrões individuais divididos pela média dos valores encontrados) da ordem de 1 a 2%. Quanto às análises, propriamente ditas, de tomates, os desvios padrões relativos são da ordem de 6 a 10% (Tabela IV). Quando se trata de materiais contendo baixas quantidades de elemento a ser analisado, isto é, partes por bilhão, tais variações de até 10% são perfeitamente admissíveis.

No que diz respeito à sensibilidade do método, esta é, como era de esperar, muito boa. Quantidades de mercúrio correspondentes a cerca de 0,01 μg puderam ser facilmente analisadas no presente trabalho. Pode-se chegar a sensibilidades correspondentes a 0,005 μg de mercúrio, ou menos, bastando, para isso, irradiações mais longas que 8 horas ou fluxos maiores que 10^{12} nêutrons/seg.cm².

O método em si é simples e pode ser levado a cabo em laboratórios não situados nos centros, que disponham dos reatores nucleares para as devidas irradiações. O equipamento para processamento químico é o usual de todo laboratório e pode-se replicar

o número de análises contemporâneas correspondentemente ao número de aparelhos de ataque à amostra irradiada.

O processamento químico de uma amostra já irradiada leva cerca de duas horas. Dispondo de vários aparelhos de ataque da amostra é possível conduzir-se réplicas de análises de um mesmo material, em número de dez ou mais, em um dia de trabalho, ou então análises em duplicata de várias amostras. A contagem, para amostras contendo da ordem de $0,05 \mu\text{g}$ de mercúrio, leva de cinco a dez minutos por amostra, para as condições de irradiações descritas neste trabalho.

Em realidade o tempo gasto em várias análises dependerá, principalmente, do número de aparelhos de ataque da amostra, cuja operação é a mais longa delas, excluindo a irradiação, que é sempre feita no dia anterior ao do processamento químico, fase esta em que o analista estará conduzindo outras análises.

Ficou evidenciado que o método não é sujeito aos riscos de contaminação com o próprio elemento que está sendo analisado, o que é muito comum em outros métodos de análise de traços que não o de ativação. O uso de drogas químicas especiais, no que diz respeito a grau de pureza relativamente a mercúrio, é, portanto, dispensável, pois a amostra só começa a sofrer tratamento químico, e adição de drogas, quando já foi irradiada. Nesta fase do trabalho o elemento a ser analisado já se encontra radioativo podendo ser contaminado com seus isótopos, não radioativos, introduzidos pelos reagentes ou qualquer outro meio. Conforme dito, o método de análise por ativação é o único que pode se dar ao luxo de contaminação, no correr do processo, com o próprio elemento que está sendo analisado.

O aspecto de manuseio de pequenas massas de elemento é extremamente importante, pois nos métodos analíticos, químicos e físico-químicos usuais, nos quais não se faz a ativação do elemento em estudo, não é possível adicionar isótopos daquele elemento, para evitar perdas durante o processamento químico. Essas perdas, obviamente, têm que ser evitadas, o que

nem sempre é possível nos métodos que não o de ativação.

Foi verificado, também, que não ocorrem interferências de outros elementos presentes no vegetal por se depositarem, eventualmente, na gota de mercúrio, quando da fase de separação do mercúrio irradiado. Quer os dados da Tabela 2, em que se examinou especificamente a deposição de alguns elementos no mercúrio metálico, como aqueles em que se adicionou quantidade conhecida de mercúrio a batatas (Tabela I), quando estão presentes os vários elementos comumente encontrados nos vegetais, indicam recuperação de 97% do mercúrio adicionado. Essa recuperação está dentro daquele valor que, conforme a determinação de exatidão de acordo com Lacroix (14), permite a análise e o cálculo para os materiais discutidos.

Os dados constantes da Tabela V foram obtidos para constatar a aplicabilidade do método proposto a vários materiais oriundos de tomates e não apenas naqueles constituídos pelos tomates como frutos. O material original, seja ele frutos de tomateiros, folhas do vegetal, sucos, massas ou concentrados e parasitizadas comerciais, pode ser tratado da mesma maneira. No caso de sucos, quando o material já se apresenta na forma de suspensão líquida, ainda é conveniente a fase de homogeneização em liquidificador, seguida de secagem. Réplicas de análises levadas a cabo com aquele material, isto é, suco, mostraram que o material é pouco homogêneo; amostras tomadas de um mesmo suco e irradiadas como suspensão líquida dão resultados com desvios padrões extremamente elevados, indicando a falta de homogeneidade daquelas amostras. Uma vez que uma amostra representativa de suco, quanto à quantidade tomada, seja homogeneizada e secada, alíquotas daquela amostra dão resultados reprodutíveis com pequeno valor para o desvio padrão.

No caso de amostras constituídas pelos parasitizadas, a fase de homogeneização, evidentemente, não é feita no liquidificador, podendo esta operação, quando necessário, ser feita por outro meio mecânico usual. Estas amostras, contendo mercúrio ao nível de

percentagem e não de partes por bilhão, não apresentaram nenhuma peculiaridade quanto à aplicação do método para a determinação do mercúrio.

A única diferença que se observou, quanto ao comportamento dos vários tipos de materiais analisados, diz respeito a u'a maior atividade total nas amostras constituídas por produtos industrializados. Esta diferença de atividade total, comparativamente com os frutos, deve-se aos aditivos adicionados aos produtos industrializados, tais como sal (caso dos concentrados ou massas), vinagre, açúcar e aromatizantes (caso dos "ketchups", além de sal, também usado neste produto). Tais aditivos contêm vários elementos, principalmente cloreto de sódio, não presentes nos tomates (pelo menos em grande quantidade) e que se tornam bastante radioativos após a irradiação. Tal atividade um pouco mais alta, entretanto, não cria dificuldade maior para a análise bastando os cuidados usuais de trabalho com materiais irradiados.

Deve-se notar que os aditivos usados naqueles produtos, podem ter, eventualmente, maior concentração de mercúrio que o próprio fruto ou partes do vegetal. Os resultados, relativamente altos, conquanto dentro dos máximos admitidos como permissíveis(1), de "ketchups" e sucos, comparativamente com massas ou concentrados (Tabela V), podem ser devidos a tais aditivos. Naturalmente, as proporções de mercúrio nos produtos industrializados dependerão das partidas de frutos das quais foram preparados aqueles produtos.

Não se examinou um número exaustivo de amostras constituídas por frutos e produtos industrializados de tomates, limitando-se ao relacionado nas Tabelas IV e V, visto que o presente trabalho visa o desen-

volvimento de método analítico e não o estudo da distribuição de mercúrio em partidas de frutos ou de produtos industrializados de várias naturezas ou procedências.

REFERÊNCIAS

- (1) Codex Alimentaires Commission, Report of the 1st Session, Rome, June 25 — July 3, 1963.
- (2) Gorsuch, T.T., Analyst, Lond., **84**, 135 (1959).
- (3) Analytical Methods Committee, Analyst, Lond., **90**, 315 (1965).
- (4) Ruzicka, J. and C.G. Lamm, Talanta **16**, 157 (1969).
- (5) Brune, D., AE-213, Sweden, 1966.
- (6) Kosta, L. and A.R. Byrne, Talanta **16**, 1297 (1969).
- (7) Das, H.A., J. G. Raaphorst, D. van Hoede and J. Zonderhuis, Int. J. appl. Radiat. Isotopes **17**, 252 (1966).
- (8) Nadkarni, R.A., D.E. Flieger, W.D. Ehmann, Radiochim. Acta, **11**, 97 (1969).
- (9) Kim, C.K. and J. Silverman, Anal. Chem. **37**, 1616 (1965).
- (10) Okashita, H., Radiochim. Acta, **7**, 81 (1967).
- (11) Monnier, D. et E. Loepfe, Anal. Chim. Acta, **37**, 339 (1967).
- (12) Westermarck, T. and B. Sjöstrand, Int. J. appl. Radiat. Isotopes, **9**, 1 (1960).
- (13) Brune, D., Anal. Chim. Acta, **44**, 15 (1969).
- (14) Lacroix, Y., Analyse Chimique — Interpretation des Resultats par le Calcul Statistique. Masson et Cie., Editeurs, Paris, 1962, Page 27.
- (15) Wester, P.O., D. Brune and K. Samsahl, Int. J. appl. Radiat. Isotopes, **15**, 59 (1964).
- (16) Guide for Measures of Precision and Accuracy, Anal. Chem. **40**, 2271 (1968).

Manuscrito recebido em 18/9/70. Aprovado em 21/9/70 pelo Dr. Pérsio de Souza Santos.