



Implementação e validação do Mercúrio por ICP-MS em matrizes de água para consumo humano

DIANA SOFIA ESTEVES FERREIRA

Outubro de 2021



Implementação e validação do Mercúrio por ICP-MS em matrizes de água para consumo humano

OUTUBRO 2021

AUTOR

Diana Sofia Esteves Ferreira

ORIENTAÇÃO

Ana Castro – Águas do Norte SA

Teresa Oliva Teles – ISEP

Mestrado em Engenharia Química - Qualidade

Estágio curricular

EMPRESA ACOLHEDORA

Agradecimentos

A realização do meu estágio curricular bem como a elaboração deste relatório só foi possível com o apoio e incentivo de algumas pessoas, as quais desde já deixo o meu obrigado.

À Doutora Teresa Oliva Teles, orientadora do ISEP, pela enorme orientação e por todo o apoio que teve para comigo durante a realização do estágio, desde o primeiro dia até ao último. Demonstrou sempre dedicação e interesse na evolução do meu trabalho. Ainda quero agradecer pela compreensão e sugestões propostas que me foi sempre transmitindo.

À minha orientadora da empresa, Ana Castro, pela oportunidade que me deu em realizar este estágio numa área que sempre me cativou, pela orientação e todos os ensinamentos que partilhou comigo.

Ao coordenador de laboratório da empresa, Engenheiro Marco Silva, por me ter solicitado este estágio e pela dedicação e preocupação que sempre demonstrou ao longo do mesmo.

À Engenheira Anabela Guedes pela simpatia e disponibilidade para me esclarecer qualquer dúvida.

A todas as pessoas que trabalharam comigo na empresa, em especial à Patrícia Fernandes, à Carolina Loureiro e à Marília Cardoso, pelo carinho com que me receberam, por todo o apoio dado, pela amizade, simpatia e dedicação, sem dúvida que foram uma grande motivação para a realização deste estágio.

A todos os meus amigos que sempre me incentivaram e ajudar a superar todos os obstáculos ao longo do tempo.

E, por último, mas muito importante, a toda a minha família, em especial à minha Mãe, ao meu Pai e ao meu irmão por estarem sempre do meu lado acompanharem o meu percurso académico de perto e por acreditarem sempre em mim.

A TODOS, MUITO OBRIGADA!!!

Resumo

O presente estágio tem como principal objetivo adquirir conhecimentos e experiência prática em processos de implementação e validação de metodologias analíticas, com aplicação à análise de Mercúrio por Espectrometria de massa acoplada a um Plasma Indutivo (ICP-MS), em matrizes de Água para Consumo Humano e Água Natural Doce, assente nos requisitos da Norma de Acreditação NP EN ISO/IEC 17025:2018.

Este documento foi desenvolvido durante um período de dez meses de estágio curricular, entre Outubro de 2020 e Setembro de 2021, que decorreu no Laboratório da Águas do Norte S.A, no âmbito do Mestrado em Engenharia Química, ramo Qualidade, do Instituto Superior de Engenharia do Porto.

Na metodologia de implementação e validação da análise ao mercúrio, assim como os resultados obtidos desta análise incluiu o estudo de interferências espectrais onde foram preparadas várias amostras com concentrações crescentes de cada interferente, e analisou-se em modo STD e em modo KED. Com as contagens obtidas representou-se graficamente o interferente/isótopo interferido. Após verificação experimental, concluiu-se que o isótopo escolhido foi o 202 Hg. Em relação às interferências não espectrais, usou-se a estratégia do padrão interno onde se realizou um estudo experimental para averiguar qual o padrão interno que é afetado de modo semelhante ao mercúrio. O padrão interno escolhido foi o ródio (Rh). Além do estudo da linearidade também foi feita a determinação da precisão, da exatidão e da incerteza expandida, de acordo com os procedimentos em vigor no laboratório Acreditado da Águas do Norte. O trabalho desenvolvido teve em vista a Acreditação desta análise.

Por fim, o processo de implementação e validação foi concluído com sucesso uma vez que todos os requisitos da matriz de validação foram cumpridos, ou seja, encontram-se dentro dos parâmetros legislados pela Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de agosto alterado pelo Decreto-Lei nº 152/2017 de 7 de dezembro.

Palavras-Chave: Mercúrio, ICP-MS, Água consumo humano e natural doce, implementação e validação de métodos de análise química

Abstract

The present internship has the main goal of acquiring knowledge and practical experience in processes of implementation and validation of analytical methodology, with the application of Mercury analysis via Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), in matrices of Water for Human Consumption and Natural Fresh Water, within the demands of the NP EN ISO/IEC 17025:2018 Accreditation Norm.

This document was developed over a ten-month curricular internship, between October 2020 and September 2021, which was undertaken in the Águas do Norte S.A company, towards the Master of Chemical Engineering, Quality field, in Porto's Higher Institute of Engineering.

In the mercury's analysis implementation and validation methodology, as well as the results obtained from this analysis, the study of spectral interferences was included, where several samples with growing concentrations of each interferant were prepared and analyzed in STD and KED modes. With the counts obtained, the interfered interferent/isotope was graphically represented. Following experimental verification, it was concluded that the chosen isotope was the ^{202}Hg . Regarding the non-spectral interferences, the internal standard strategy was used, where an experimental study to determine which internal standard is affected in a similar way to mercury was conducted. The internal standard chosen was rhodium. Besides the linearity study, the determination of the precision, accuracy and expanded uncertainty were also determined, according to the procedures in force in the Aguas do Norte Accredited laboratory. The work developed aimed for the Accreditation of this analysis.

Finally, the methodology of implementation and validation was successfully concluded seeing that all validation matrices requisites were completed, that is, are within the legislated parameters under the Decree-Law n° 306/2007 of August 27th, altered by the Decree-Law n° 152/2017 of December 7th.

Keywords: Mercury, ICP-MS, Water for Human Consumption and Natural Fresh Water, implementation and validation of analytical methodology.

Índice

1.	INTRODUÇÃO.....	1
1.1.	Enquadramento do trabalho	1
1.2.	A Empresa	1
1.2.1.	O grupo Águas de Portugal	1
1.2.2.	A Águas do Norte, S.A	2
1.2.3.	ETA de Areias de Vilar	4
1.2.4.	Laboratório.....	5
1.3.	Tema e objetivo do Estágio	6
1.4.	Estrutura do relatório	7
2.	FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	9
2.1.	Água para consumo humano e água natural doce.....	9
2.1.1.	Qualidade da Água	9
2.1.2.	Legislação	10
2.1.3.	Colheita, Preservação e Transporte de Amostras	12
2.2.	O Mercúrio.....	15
2.2.1.	Toxicidade	15
2.2.2.	Ciclo de vida	16
2.2.3.	Legislação do mercúrio	17
2.3.	Espectrometria de Massa Acoplado a Plasma Indutivo	18
2.3.1.	Princípio de Funcionamento de um ICP-MS	19
2.4.	Implementação e validação do método de análise.....	22
2.4.1.	Validação e quantificação de um elemento em ICP-MS.....	22
3.	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	29
3.1.	Instrumentação	29
3.2.	Reagentes	32
3.3.	Material e Equipamento.....	32
3.4.	Preparação de soluções.....	33
3.5.	Análise	34
3.5.1.	Testes dos padrões internos.....	34

3.5.2	Testes de interferências.....	35
3.5.3	Gama de trabalho	35
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1	Condições experimentais	37
4.1.1	Validação analítica	38
4.1.2	Curvas de calibração e Controlo de qualidade	43
4.1.3	Estimativa do cálculo da incerteza.....	45
4.1.4	Validação e adequação ao uso do método.....	45
5.	CONCLUSÕES	47
	BIBLIOGRAFIA	49
	ANEXOS.....	53
	Anexo A - Lista detalhada dos resultados obtidos.....	53

Índice das figuras

Figura 1.1 - Empresas nacionais e internacionais integradas no Grupo Águas de Portugal. ^[1]	2
Figura 1.2 - Os 63 Municípios do Sistema Multimunicipal de Abastecimento de Água e de Saneamento controladas pela AdN. ^[3]	3
Figura 1.3 - Os 8 Municípios do Sistema de Águas da Região do Noroeste de Portugal. ^[3]	4
Figura 1.4 - ETA Areias de Vilar, Barcelos. ^[2]	5
Figura 2.1 - Propriedades físico-químicas do mercúrio.	15
Figura 2.2 - Ciclo do mercúrio em um sistema aquático. ^[14]	17
Figura 2.3 - Elementos que podem ser determinados por ICP-MS. ^[16]	18
Figura 2.4 - Diagrama de blocos esquemático de um Espectrómetro de Massa Acoplado a Plasma Indutivo. ^[5]	19
Figura 2.5 - Esquema do analisador de massas de um ICP-MS – quadrupolo. ^[19]	20
Figura 4.1 - Curva de calibração obtida correspondente à data 04/06/2021.	38
Figura 4.2 - Desempenho da sensibilidade ao longo do tempo em modo trabalho STD.	39
Figura 4.3 - Desempenho da sensibilidade ao longo do tempo em modo trabalho KED.	39
Figura 4.4 - Representação gráfica de contagens normalizadas/tempo para o ²⁰² Hg, ⁷³ Ge, ²⁰⁹ Pb e ¹⁰³ Rh utilizando a amostra EE1, analisada em modo KED.	41
Figura 4.5 - Representação gráfica de contagens normalizadas/tempo para o ²⁰² Hg, ⁷³ Ge, ²⁰⁹ Pb e ¹⁰³ Rh utilizando a amostra RAB, analisada em modo KED.....	41
Figura 4.6 - Representação gráfica de contagens normalizadas/tempo para o ²⁰² Hg, ⁷³ Ge, ²⁰⁹ Pb e ¹⁰³ Rh utilizando a amostra EE1, analisada em modo STD.....	42
Figura 4.7 - Representação gráfica de contagens normalizadas/tempo para o ²⁰² Hg, ⁷³ Ge, ²⁰⁹ Pb e ¹⁰³ Rh utilizando a amostra RAB, analisada em modo STD.	42

Índice das tabelas

Tabela 2-1 - Contagens mínimas (cps) para cada elemento.	23
Tabela 2-2 - Contagens mínimas para óxidos e espécies com dupla carga.	23
Tabela 3-1 - Reagentes utilizados na implementação do mercúrio por ICP-MS.	32
Tabela 3-2 - Soluções padrão para a curva de calibração e controlo de qualidade.	35
Tabela 4-1 - Coeficientes de determinação obtidos das curvas de calibração.	37
Tabela 4-2 - Requisitos que cada elemento deve cumprir nos testes de sensibilidade. .	40
Tabela 4-3 - Isótopo utilizado e respetivo modo de trabalho.	40
Tabela 4-4 - Padrão interno utilizado bem como o seu critério de aceitação.	43
Tabela 4-5 - Limites de quantificação obtidos em cada análise.	43
Tabela 4-6 – Limite de quantificação médio e o respetivo coeficiente de variação e erro relativo obtidos.	43
Tabela 4-7 - Precisão intermédia para o mercúrio.	44
Tabela 4-8 - Desempenho na participação do ensaio interlaboratorial.	45
Tabela 4-9 - Incerteza obtida para o mercúrio.	45
Tabela 4-10 - Validação final com todos os requisitos legais.	46
Tabela A-1 - Valores referência para o padrão 0,10 µg/L.	53
Tabela A-2 - Valores de padrão 0,1 µg/mL e limites utilizados para a determinação da precisão intermédia.	53
Tabela A-3 - Precisão intermédia obtida para o padrão 0,10 µg/mL.	53
Tabela A-4 - Valores referência para o padrão 0,5 µg/mL.	54
Tabela A-5 - Valores de padrão 0,50 µg/mL e limites utilizados para a determinação da precisão intermédia.	54
Tabela A-6 - Precisão intermédia obtida para o padrão 0,50 µg/mL.	55
Tabela A-7 - Valores referência para o padrão 1,00 µg/mL.	55
Tabela A-8 - Valores de padrão 1,00 µg/mL e limites utilizados para a determinação da precisão intermédia.	56
Tabela A-9 - Precisão intermédia obtida para o padrão 1,00 µg/mL.	56
Tabela A-10 - Valor referência.	57
Tabela A-11 - Valores dos duplicados e limites utilizados para a determinação da precisão intermédia.	57
Tabela A-12 - Precisão intermédia dos duplicados.	57

Tabela A-13 - Volumes e concentrações das amostras e reforço obtidos e utilizados para a determinação da recuperação. 58

Lista de abreviaturas

AdN – Águas do Norte, S.A

AdP – Águas de Portugal

DISEST – Unidade curricular de Dissertação e Estágio

ERSAR – Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos

ETA – Estação de tratamento de água

ICP-MS – Espectrómetro de massa com plasma indutivamente acoplado

IPAC – Instituto Português de Acreditação

PCQA – Programa de Controlo de Qualidade da Água

PFA - polímero perfluoroalcóxico

PSA – Plano de Segurança da Água

RASARP – Relatório Anual do Setor de Águas e Resíduos em Portugal

VMA – Valor Máximo Admissível

VMR – Valor Máximo Recomendado

VP – Valor paramétrico

1. INTRODUÇÃO

1.1. Enquadramento do trabalho

O presente trabalho enquadrou-se no seguimento de um estágio curricular em ambiente empresarial, realizado na empresa Águas do Norte, S.A (AdN) pertencente ao Grupo Águas de Portugal, na área da Engenharia Química, no âmbito da Unidade Curricular de Dissertação/Estágio (DISEST), no ramo de Qualidade do Mestrado em Engenharia Química no Instituto Superior de Engenharia do Porto. O estágio teve a duração de 10 meses, entre Outubro de 2020 e Setembro de 2021.

A realização deste estágio curricular decorreu na empresa Águas do Norte, mais precisamente no Laboratório da Águas do Norte situado no pólo de Barcelos, na Estação de Tratamento de Água (ETA) de Areias de Vilar, proporcionando o desenvolvimento de competências profissionais, facilitando a integração e a adaptação no mercado de trabalho.

1.2. A Empresa

1.2.1. O grupo Águas de Portugal

A Águas de Portugal (AdP) é uma empresa resultante de uma revolução no abastecimento de água e no saneamento de águas residuais em Portugal, fundada em 1993 e, é constituída por grupo de empresas que prestam serviços a cerca de 80 por cento da população portuguesa, em parceria com os municípios. Nos serviços de abastecimentos de água e saneamento de águas residuais abrange cerca de 234 municípios e serve aproximadamente 1,2 milhões de pessoas em serviço de abastecimento e saneamento (diretamente ao consumidor).^[1] Na figura 1.1 estão representadas todas as empresas integradas no Grupo Águas de Portugal, onde a empresa Águas do Norte (AdN) está incluída.

A AdP foi criada para liderar uma gestão empresarial e ser responsável pelo desenvolvimento de sistemas multimunicipais de abastecimento de água e de saneamento de águas residuais, com os objetivos de melhorar a qualidade da água e os níveis de atendimento das populações, colocando Portugal entre os melhores desempenhos ambientais da Europa comunitária.^[1]

A principal atividade do Grupo AdP é a gestão integrada do ciclo urbano da água, compreendendo todas as suas fases, desde a captação, o tratamento e a distribuição de água para consumo público, a recolha, transporte, tratamento e rejeição de águas residuais urbanas e industriais, incluindo a sua reciclagem e reutilização.^[1] Hoje, o Grupo garante a qualidade e sustentabilidade, não só nos domínios do abastecimento de água e do saneamento de águas residuais, como também na área das energias renováveis, em serviços partilhados e em mercados internacionais.^[1]



Figura 1.1 - Empresas nacionais e internacionais integradas no Grupo Águas de Portugal. ^[1]

1.2.2. A Águas do Norte, S.A

A AdN foi constituída pelo Decreto-Lei n.º 93/2015, de 29 de maio, mediante a agregação das empresas Águas do Douro e Paiva, S.A., Águas do Noroeste, S.A., Águas de Trás-os-Montes e Alto Douro, S.A. e SIMDOURO – Saneamento do Grande Porto, S.A., integradas no Grupo Águas de Portugal.^[2] Em sequência, foi-lhe atribuída, pelo Estado Português, a concessão da exploração e da gestão do Sistema Multimunicipal de Abastecimento de Água e de Saneamento do Norte de Portugal. Em 1 de fevereiro de 2017, o Decreto-lei nº 16/2017, por cisão do sistema multimunicipal de abastecimento de

água e de saneamento do Norte de Portugal e as respetivas entidades gestoras, Águas do Douro e Paiva, S.A. e SIMDOURO - Saneamento do Grande Porto, S.A, cria o sistema multimunicipal de abastecimento de água do sul do Grande Porto e o sistema multimunicipal de saneamento do Grande Porto. Para além disso, enquanto Entidade Gestora da Parceria, a AdN assume também a exploração e gestão do Sistema de Águas da Região do Noroeste, em resultado da celebração de uma Parceria Pública entre o Estado Português e 8 Municípios (Amarante, Arouca, Baião, Celorico de Basto, Cinfães, Fafe, Santo Tirso e Trofa), cobrindo no total uma área de 1.654 km², o correspondente a cerca de 1,9 % do território nacional.^[2] Na figura 1.2 estão representados os 63 Municípios do Sistema Multimunicipal de Abastecimento de Água e de Saneamento do Norte de Portugal, que cobrem uma área de 17.931 km².^[3]



Figura 1.2 - Os 63 Municípios do Sistema Multimunicipal de Abastecimento de Água e de Saneamento controladas pela AdN. ^[3]

Desta forma, através da Águas do Norte, SA, concretiza-se um processo de verticalização que reuniu, numa única entidade gestora, os serviços de abastecimento de água e de saneamento de águas residuais em “alta” (prestados a 63 Municípios através do Sistema Multimunicipal) e em “baixa” (prestados aos Consumidores Finais de 8 Municípios, através da Parceria), de forma regular, contínua e eficiente. Ou seja, a designação “alta” implica a captação, tratamento e venda a outra entidade gestora e, diz respeito aos 63 municípios. Dentro dos 63 municípios existem 8 municípios que dizem respeito à designação “baixa” e implica a venda direta ao consumidor (figura 1.3).^[2]

tendo em conta uma população estimada de 900 000 habitantes prevista para o ano horizonte de 2025.^[2]



Figura 1.4 - ETA Areias de Vilar, Barcelos. ^[2]

A visão da ETA de Areias de Vilar é a de ser uma empresa de referência nacional no setor da água em termos de qualidade do serviço público prestado e um parceiro ativo para o desenvolvimento da região onde se insere. A qualidade do serviço passa por um conjunto de atividades incluindo o controlo de qualidade realizado em laboratório.

1.2.4. Laboratório

Nos últimos anos o número de análises processadas no Laboratório Águas do Norte, localizado em Areias de Vilar, tem vindo a crescer de forma significativa, sendo responsável por todo o controlo analítico que é efetuado em toda a área abrangente da Águas do Norte. Dada a dimensão e a dispersão geográfica deste sistema, o cumprimento dos diversos planos de controlo analítico representam um desafio a superar diariamente.^[2]

O Laboratório Águas do Norte é fruto do conhecimento de excelência acumulado nos 20 anos de existência com uma equipa de profissionais altamente qualificados, sendo as suas competências reconhecidas pelo Instituto Português de Acreditação - IPAC.^[2] O LabAdNorte está acreditado segundo a norma NP EN ISO/IEC 17025:2018 nos seguintes âmbitos:

- Colheita de amostras de água para análise de parâmetros físico-químicos e microbiológicos nas matrizes Água de Consumo Humano e Águas Naturais Doces (superficiais);
- Análises a águas a parâmetros físico-químicos nas matrizes Águas de Consumo Humano, Águas Naturais Doces (superficiais e subterrâneas);
- Análises a águas a parâmetros microbiológicos nas matrizes Águas de Consumo Humano, Águas Naturais Doces (superficiais e subterrâneas) e Águas residuais (Efluentes tratados).

O Laboratório é responsável pela monitorização necessária para validação do cumprimento da legislação que regula a qualidade da água para consumo humano (DL 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo DL 152/2017 de 7 de dezembro), e ainda do Plano de Segurança da Água da empresa Águas do Norte.^[2]

O Laboratório da Águas do Norte em complemento à sua principal atividade, anteriormente referida, presta ainda apoio ao Cliente em outros serviços fora do âmbito de Acreditação, nomeadamente, a verificação interna de equipamentos analíticos, preparação de soluções químicas, formação, consultoria e auditorias a laboratórios.

1.3.Tema e objetivo do Estágio

Este estágio teve como tema a “Implementação e validação do método de análise de Mercúrio por Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) em matrizes de águas para consumo humano e águas natural doce (superficial e subterrânea)”. Os objetivos consistiram em adquirir conhecimentos e experiência prática sobre análises por ICP-MS e os processos de implementação e validação de metodologia analítica, com vista à Acreditação do método.

Como tal, foi imprescindível a pesquisa bibliográfica, incluindo documentos internos do Laboratório e a formação em atividades de apoio ao processo de implementação e validação do mercúrio. Assim como a operacionalização do equipamento analítico e o tratamento estatístico de dados analíticos.

Embora o ICP-MS já estivesse a emitir resultados Acreditados para vários analitos, era expectativa do Laboratório expandir o seu âmbito de Acreditação ao Mercúrio por esta técnica analítica.

Com a realização do estágio na implementação do mercúrio por ICP-MS, criaram-se sinergias acabando por ser benéfico para ambas as partes.

1.4. Estrutura do relatório

O relatório está organizado em 5 capítulos que são sucintamente descritos nos parágrafos seguintes:

- Capítulo 1 – Introdução: é abordado o enquadramento do trabalho e do tema, assim como os objetivos. Também é apresentada uma descrição da empresa onde decorreu o estágio, ETA de Areias de Vilar da empresa Águas do Norte, pertencente ao Grupo Águas de Portugal.
- Capítulo 2 – Fundamentos Teóricos: é abordado o conceito de água para consumo humano e água natural doce, assim como o metal em análise (Mercúrio), o equipamento utilizado (ICP-MS) e os princípios de funcionamento desta técnica e a implementação de métodos de análise.
- Capítulo 3 – Procedimentos Experimentais: refere a amostragem, a identificação e o tratamento das amostras, são indicados os reagentes e os equipamentos utilizados, e descreve a preparação de soluções e a validação dos resultados.
- Capítulo 4 – Resultados e Discussão: são apresentados os resultados obtidos e discussão para a análise ao mercúrio por ICP-MS em matrizes de água para consumo humano e água natural doce.
- Capítulo 5 – Conclusões: no último capítulo são apresentadas as considerações finais, ou seja, as conclusões do trabalho desenvolvido e os desenvolvimentos futuros.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1. Água para consumo humano e água natural doce

A água é um composto químico essencial à vida, sendo indispensável à sobrevivência do Homem e de todas as outras espécies a ele associadas; é um dos recursos naturais mais abundante no planeta, no entanto, sendo um bem essencial, deve ser usada de forma racional e sustentável.

A distribuição da água pelo planeta pode ser dividida em dois grupos, água doce e água salgada. Apenas cerca de 3% de toda a água natural no planeta é água doce. A captação da água pode ser de origem subterrânea ou superficial. A água subterrânea está infiltrada no subsolo e pode ser colhida em: nascentes, galerias drenantes, furos e poços etc. A água de superfície é alcançada nos rios, canais, ribeiras, lagos, bacias de retenção e albufeiras.^[4]

A água normalmente não se encontra na natureza com a qualidade adequada para consumo humano, com exceção de águas minerais naturais e as águas de nascente que frequentemente podem ser consumidas diretamente.^[4] Desta forma, na maioria das águas para consumo é fundamental realizar um tratamento prévio para satisfazer os critérios bacteriológicos e físico-químicos que definem a qualidade da água.^[4]

2.1.1. Qualidade da Água

A água encontra-se na natureza contendo uma diversidade de substâncias, em solução e/ou em suspensão, que condicionam os seus usos. Daí a necessidade de aliar a indicação da qualidade que é definida como sendo aquilo que a caracteriza, ou a sua adaptabilidade para determinados fins, bem especificados.^[5]

A qualidade de água deve ser avaliada em primeira impressão pelas suas qualidades organoléticas. Uma água potável para consumo humano não deve ser turva nem apresentar coloração e também não deve apresentar odor ou sabor desagradáveis, pois indicam a presença de microrganismos e substâncias químicas. Por exemplo, as águas subterrâneas apresentam por vezes turvação e coloração, e têm que ser modificadas por processos específicos de tratamento.^[6] No entanto, uma água límpida, incolor, sem sabor ou odor desagradável pode não ser adequada para consumo, uma vez que pode estar contaminada com substâncias que não alterem as suas propriedades organoléticas, mas podem ser nocivas.

Qualquer entidade gestora dos sistemas de abastecimento público, como acontece na AdN para garantir o controlo da qualidade da água implementa no início de cada ano civil um Programa de Controlo de Qualidade da Água (PCQA). Este cumpre integralmente os requisitos legislados (ver subcapítulo 2.1.3), que é aprovado anualmente pela Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos (ERSAR). A ERSAR é a autoridade competente para garantir o cumprimento da legislação para que a qualidade da água destinada ao consumo humano, incluindo a das torneiras dos consumidores. O PCQA consiste na avaliação da conformidade, através de análises a amostras de água efetuadas em laboratórios acreditados, tal como o Laboratório AdN, de modo a obter-se uma amostragem representativa. Os resultados do controlo da qualidade da água são publicados trimestralmente no site da AdN, enviados à Autoridade de Saúde e divulgados no Relatório Anual do Setor de Águas e Resíduos em Portugal (RASARP).^[2]

A empresa AdN também possui um Plano de Controlo Operacional, um Plano de Vigilância e um Plano de Segurança da Água (PSA) para detetar, atempadamente, eventuais alterações da qualidade de modo a desencadear uma eficaz tomada de ações desde a captação até ao consumidor.^[2]

2.1.2 Legislação

A ERSAR, Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos é a autoridade competente responsável pela coordenação da implementação da qualidade da água para consumo humano; foi concebida em prol de alcançar melhores indicadores da qualidade e garantir a disponibilização de água saudável e limpa com o intuito de proteger a saúde humana dos efeitos prejudiciais resultantes de uma eventual contaminação.^[8]

Em Portugal, a qualidade da água para consumo humano é legislada com base no Decreto-Lei nº 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei nº 152/2017, de 7 de dezembro. Importa referir que a legislação reflete o progresso científico e técnico pelo que a sua revisão periódica é fundamental. Desta forma, ambos os decretos-lei estão em vigor e devem ser aplicados em simultâneo, uma vez que os mesmos se complementam.^[4]

O Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de agosto estabelece o regime da qualidade da água destinada ao consumo humano, procedendo à revisão do Decreto-Lei nº 243/2001, de 5 de Setembro, que transpôs para o ordenamento jurídico interno a Diretiva nº 98/83/CE, do Conselho, de 3 de Novembro, que se baseiam nos atuais conhecimentos científicos e no princípio da ação preventiva, de modo a garantir que a água possa ser

consumida com segurança durante toda a vida do consumidor, concorrendo assim para um elevado nível de proteção da saúde.^[9] O Decreto-Lei nº 152/2017 de 7 de dezembro transpõe para a ordem jurídica interna a Diretiva (UE) nº 2015/1787 da Comissão, de 6 de outubro de 2015, que altera os anexos II e III da Diretiva 98/83/CE, descritos mais adiante.^[10]

A água destinada ao consumo humano deve respeitar os valores paramétricos (VP) constantes das partes I (parâmetros microbiológicos), II (parâmetros químicos) e III (parâmetros indicadores) do anexo I do Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de agosto alterado pelo Decreto-Lei nº 152/2017 de 7 de dezembro.^[10] O VP veio substituir o Valor Máximo Admissível (VMA), que é definido como o valor máximo e, o Valor Máximo Recomendado (VMR) que é definido como o valor mínimo, para cada um dos parâmetros a controlar. Para uma amostra satisfazer os requisitos de qualidade, os valores da análise da amostra de água têm que ser iguais ou inferiores aos valores paramétricos fixados na legislação em vigor; se forem superiores, a entidade gestora comunica às autoridades competentes e estas têm de tomar medidas adequadas para reduzir ou eliminar os riscos de incumprimento.^[4]

No anexo II do Decreto-Lei nº 152/2017 de 7 de dezembro, são definidos os controlos de rotina e de inspeção, bem como as respetivas frequências mínimas de amostragem para a análise da água destinada ao consumo humano. Estes controlos têm como objetivo fornecer regularmente informações sobre a qualidade da água e obter informações necessárias para verificar o cumprimento dos valores paramétricos.^[8]

O anexo III destes Decretos-Lei é referente ao desempenho dos métodos analíticos utilizados e exige que os mesmos sejam capazes de medir concentrações iguais ao valor paramétrico com a exatidão, a precisão e os limites de deteção especificados.^[8]

A Diretiva Europeia, nº 2020/2184, tem como objetivo dar resposta às crescentes preocupações do público quanto aos efeitos dos compostos emergentes (compostos de desregulação endócrina, produtos farmacêuticos e microplásticos). Esta diretiva tem ainda como finalidade garantir que a água destinada ao consumo humano está isenta de quaisquer microrganismos e parasitas que, constituem um perigo potencial para a saúde humana.

Em relação à água natural doce, a legislação aplicável é o Decreto-lei 236/98 de 1 de Agosto. Este Decreto-lei estabelece normas, critérios e objetivos relativamente à qualidade das águas doces superficiais e subterrâneas destinadas à produção de água para consumo humano. Estas são classificadas nas categorias A1, A2 e A3, de acordo com as

normas de qualidade fixadas no anexo I do Decreto-lei 236/98 de 1 de Agosto, a que correspondem esquemas de tratamento tipo distintos, definidos no anexo II, para as tornar aptas para consumo humano.^[11]

A análise de mercúrio é legislada pela Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de agosto alterado pelo Decreto-Lei nº 152/2017 de 7 de dezembro. No presente decreto-lei é feito um controlo a todos os parâmetros conservativos, que são parâmetros em relação aos quais seja possível demonstrar não haver qualquer alteração negativa entre a estação de tratamento e a torneira do consumidor. Dentro dos parâmetros conservativos está inserido o Mercúrio (Hg) que é o elemento em estudo neste projeto.

De referir que na Diretiva nº 2020/2184 os valores paramétricos mantêm-se iguais aos do Decreto-lei nº 152/2017 de 8 de dezembro.

2.1.3 Colheita, Preservação e Transporte de Amostras

Com o intuito de assegurar a qualidade da água para consumo humano, é fundamental que as entidades gestoras cumpram critérios relacionados com a colheita, preservação e transporte das amostras de água, apropriados à análise no laboratório.^[7]

A escolha do método de amostragem mais adequado é fundamental para que a amostra seja representativa da água a controlar, caso contrário, o resultado da análise não corresponderá à qualidade real. O método de amostragem depende não só do objetivo da amostragem, mas também da natureza da amostra. Desta forma, alguns ensaios físico-químicos devem ser realizados no local da colheita, para se obterem resultados mais rigorosos; para a análise da maioria dos parâmetros físico-químicos é conveniente recorrer a procedimentos de conservação da amostra.^[7] A amostragem inicia-se com a recolheita de material (recipientes convenientemente lavados, reagentes e equipamentos).

Para cada amostra, a informação seguinte deve estar disponível na respetiva ficha de amostra:

- Data, tempo e local de amostragem;
- Número de amostra;
- Descrição da amostra;
- Nome do pessoal que está a efetuar a amostragem;
- Detalhes sobre preservação e armazenamento da amostra;
- Qualquer informação relativa à integridade e manipulação da amostra;

- Qualquer outra informação necessária.

Colheita

O procedimento de colheita varia de acordo com o tipo de colheita e o local a ser realizada, assim como o tipo de produto (neste estudo, águas de consumo, águas naturais doces superficiais e subterrâneas). Antes de se proceder à colheita de amostras é fundamental efetuar uma preparação prévia que contém passos importantes que evitam a alteração das características iniciais das mesmas. Esses passos são:^[7]

- Lavagem e preparação dos recipientes de colheita: é de extrema importância lavar e descontaminar o material antes de efetuar a colheita de amostra, caso contrário não serão garantidos resultados confiáveis.
- Material a transportar para locais de colheita: é essencial a execução de uma lista de materiais necessários para efetuar a colheita, tais como termoacumuladores congelados, frascos suplentes, esguichos com água de qualidade apropriada, papel absorvente, luvas descartáveis, malas térmicas, termómetro, sistema portátil para filtração, medidores multiparamétricos para análises no local, portátil de cones de sinalização de estrada, sistema GPS, entre outros. Estes materiais auxiliam a realização da colheita de acordo com o procedimento adequado.
- Preparação das malas e dos recipientes de colheita: é fundamental proceder à identificação das malas térmicas e dos frascos de colheitas utilizando etiquetas que contém o número de amostra, tipo de frasco (que deve evitar ser uma fonte de contaminação), parâmetros a analisar e indicações para a colheita e o armazenamento recomendado. Uma identificação feita corretamente previne o aparecimento de erros durante a análise das amostras. Os frascos que sejam identificados com “Lab” devem ser guardados no laboratório após filtração da amostra. Os frascos identificados com “congelar” devem ser congelados à chegada do laboratório.

Após a preparação prévia do material, segue-se então para a colheita. Este procedimento requer a atenção para certos aspetos que devem ser colocados em prática, como por exemplo, a identificação do local da colheita e agir conforme a situação particular previamente estipulada. Se a colheita for realizada em rios, lagos ou albufeiras é necessário ter atenção à presença de materiais flutuantes e evitar perturbações de sedimentos que podem levar a uma contaminação. Para isso, o técnico responsável pela

colheita deve colocar-se de frente para a corrente de água. Se a colheita for realizada a partir de um barco, esta deve ser feita na parte da frente da embarcação, ou seja, o mais longe possível do motor. Caso a colheita seja realizada a partir de uma ponte é preciso verificar e confirmar se a água tem profundidade suficiente para submergir o recipiente de colheita.^[7] Em cada situação particular é fundamental que o técnico responsável pela colheita tome as devidas precauções para minimizar contaminações e efetuar adequadamente o preenchimento da ficha de identificação das colheitas, durante ou imediatamente após a colheita.

As amostras analisadas no presente trabalho foram recolhidas em frascos de plástico, por técnicos qualificados, de acordo com as normas utilizadas no laboratório. A lavagem do material de colheitas foi feita na máquina, utilizando um programa de temperatura acima dos 55° C. Depois de lavados, os recipientes foram cheios completamente com uma solução de ácido nítrico 65% e permaneceram assim pelo menos 24 horas. Após esse período esvaziou-se os recipientes, enxaguou-se com água Tipo II e foram rolhados.

Preservação

A preservação é utilizada para estabilizar a amostra de forma que as propriedades sob examinação sejam mantidas, desde a colheita até à preparação para a análise. O tempo de preservação é contabilizado imediatamente após a colheita e, por isso existem alguns processos que podem levar à alteração das características da amostra, tais como: volatilização, adsorção, atividade microbiana, precipitação, reatividade química etc. Desta forma, efetuam-se alguns procedimentos para contrariar estes processos, como por exemplo, a refrigeração ou congelamento da amostra, a filtração ou centrifugação, a adição de preservantes, de modo a evitar a destruição das suas características até chegar ao laboratório ou a ser analisada.^[7]

Transporte

O transporte para o laboratório tem que ser realizado com alguns cuidados para evitar a destruição das amostras. Os recipientes com amostras devem ser protegidos e selados durante o transporte, de maneira que as amostras não se deteriorem ou percam o seu conteúdo. Os recipientes de vidro devem ser protegidos de uma potencial quebra durante o transporte. Para além disso, a temperatura deve estar adequada ao parâmetro

analítico a ser analisado, sendo por vezes necessário usar dispositivos de resfriamento capaz de manter a temperatura entre $[5 \pm 3]$ °C.^[7]

O **PRL_0006** é um documento da responsabilidade do laboratório e faz referência ao modo correto de proceder à colheita de amostras. É um documento que tem como objetivo estabelecer o procedimento para a preparação, colheita, preservação, transporte, receção de amostras e controlo de qualidade associado. É aplicável a amostras de águas de consumo, águas naturais doces (superficiais e subterrâneas) e lamas.

2.2 O Mercúrio

A relação entre o homem e o mercúrio é bastante antiga. Este elemento existe atualmente no ambiente e pode resultar da erosão de rochas, da atividade vulcânica ou de processos biológicos. No entanto, a maioria da contaminação por mercúrio, especialmente nas águas e nos alimentos, é proveniente de processos relacionados com a atividade humana nas indústrias.^[12]

Algumas propriedades físico-químicas do mercúrio são apresentadas na figura 2.1; pode ser encontrado em três diferentes estados de oxidação, na forma elementar (Hg^0), na forma iónica de mercúrio I, que é a espécie menos comum no ambiente devido à sua instabilidade e na forma iónica de mercúrio II. Na forma orgânica, o ião mercúrio apresenta-se ligado covalentemente a radicais orgânicos, como por exemplo, o metilmercúrio e etilmercúrio. O Hg elementar desempenha um papel crítico em problemas de saúde, bem como no ciclo global de Hg.

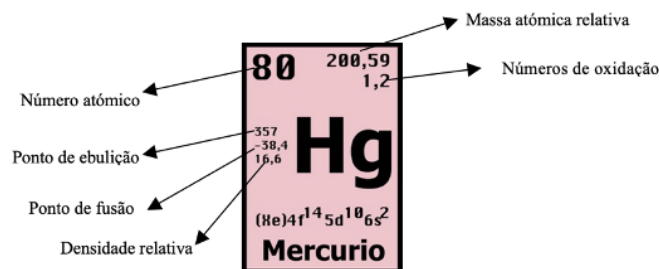


Figura 2.1 - Propriedades físico-químicas do mercúrio.

2.2.1 Toxicidade

A toxicidade do mercúrio é conhecida desde a antiguidade e está em parte relacionada com o estado oxidativo e com a forma química (orgânica e inorgânica), sendo

que os compostos inorgânicos de mercúrio são menos tóxicos que os compostos orgânicos.^[13]

A principal forma de exposição do homem ao mercúrio ocorre através da alimentação, principalmente pela ingestão de peixe, uma vez que estes apresentam elevada capacidade de reter os compostos de mercúrio orgânicos ou inorgânicos, sendo 95% sob a forma de metilmercúrio. O metilmercúrio ingerido através dos alimentos é absorvido praticamente na totalidade e enviado à corrente sanguínea. No entanto, o ar e a água, dependendo do nível de concentração, também podem contribuir para o nível de mercúrio no organismo humano.^[14]

A principal via de absorção do mercúrio metálico no organismo é por inalação. Uma vez absorvido, o mercúrio elementar é distribuído facilmente por todo o corpo sendo capaz de atravessar as barreiras sangue-placenta e sangue-cérebro. A elevada toxicidade do metilmercúrio está associada à sua neurotoxicidade, que consiste no bloqueamento dos locais de ligação das enzimas e, é particularmente prejudicial para o sistema nervoso, contudo pode também afetar o sistema respiratório, cardiovascular, gastrointestinal, hematológico, imunitário e reprodutivo. O mercúrio pode ser capaz de desencadear doenças imunológicas ou promover infeções crónicas, existindo a possibilidade de influenciar o desenvolvimento e progressão do cancro. Os primeiros efeitos da intoxicação são sintomas como mal-estar e visão desfocada. Em doses elevadas, o metilmercúrio afeta o sistema nervoso periférico dando lugar a sintomas de debilidade neuromuscular.^[14]

2.2.2 Ciclo de vida

A preocupação humana em analisar o risco ambiental requer uma especial compreensão em sistemas aquáticos, uma vez que as diferentes formas químicas do mercúrio podem facilmente converter-se umas nas outras, pelo que o ciclo do mercúrio torna-se complexo. As várias espécies químicas do mercúrio que entram no sistema aquático são reguladas por processos físicos, químicos e biológicos, que ocorrem nas interfaces ar/água e água/sedimento.^[12]

O ciclo do mercúrio traduz o fluxo contínuo de mercúrio entre a atmosfera, a terra e a água. Este ciclo, ilustrado na figura 2.2, baseia-se no comportamento do mercúrio nos diferentes meios, nas reações químicas associadas assim como no transporte, transferência e no seu destino final.

Na atmosfera, aproximadamente 95% do mercúrio encontra-se no estado elementar, onde este é lentamente oxidado dando origem ao ião mercúrio que posteriormente retorna à superfície terrestre. Como a reação de oxidação ocorre lentamente, o mercúrio permanece na atmosfera cerca de um ano, havendo tempo suficiente para que seja distribuído por todo o planeta. Parte do Hg^{2+} é reduzido a Hg^0 , que se volatiliza para a atmosfera, a outra parte é convertida à forma tóxica de metilmercúrio, através do processo de bioamplificação realizado por bactérias, sendo incorporado a quase todas as espécies aquáticas por via da cadeia alimentar. Na crosta terrestre ocorrem processos idênticos, verificando-se que uma parte do mercúrio reduzido volta para a atmosfera e o restante permanece nos solos e sedimentos como está ilustrado na figura 2.2.^[13]

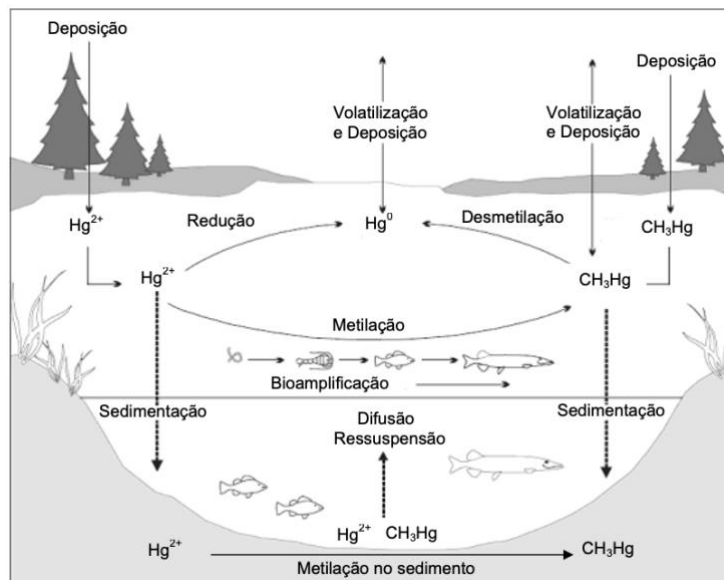


Figura 2.2 - Ciclo do mercúrio em um sistema aquático.^[14]

2.2.3 Legislação do mercúrio

Devido à elevada toxicidade das diferentes formas químicas do mercúrio, tornou-se importante criar leis sobre o controlo das emissões deste metal para o ambiente, assim como o teor de Hg nas diversas matrizes, tais como alimentos e sistemas aquáticos. Relativamente à legislação relacionada com o controlo da qualidade da água para consumo humano, as entidades gestoras regem-se pelo Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de agosto alterado pelo Decreto-Lei nº 152/2017 de 7 de dezembro, que estabelece um VP de $1 \mu g/L$ Hg. Para a água natural doce, a legislação aplicável é o Decreto-lei 236/98 de

1 de Agosto que faz referência ao VMR e VMA de acordo com as classes de água. As classes de água são: Classe A1- tratamento físico e desinfeção; Classe A2 – tratamento físico e químico e desinfeção; Classe A3 – tratamento físico, químico de afinação e desinfeção. As classes são aplicadas dependendo do tipo de tratamento a aplicar em cada instalação. No entanto, para o mercúrio, constata-se que o valor de VMR e VMA é o mesmo independentemente da instalação, sendo que o valor máximo recomendável (VMR) é 0,0005 mg/L Hg e o valor máximo admissível (VMA) é de 0,0010 mg/L Hg.

2.3 Espectrometria de Massa Acoplado a Plasma Indutivo

A Espectrometria de Massa Acoplada a Plasma Indutivo (ICP-MS) foi desenvolvida comercialmente nos anos 80 do século passado. É uma técnica analítica utilizada para quantificação de um número elevado de elementos, indicados na figura 2.3), que podem existir em quantidades vestigiárias (traço) em amostras líquidas ou sólidas.^[15]

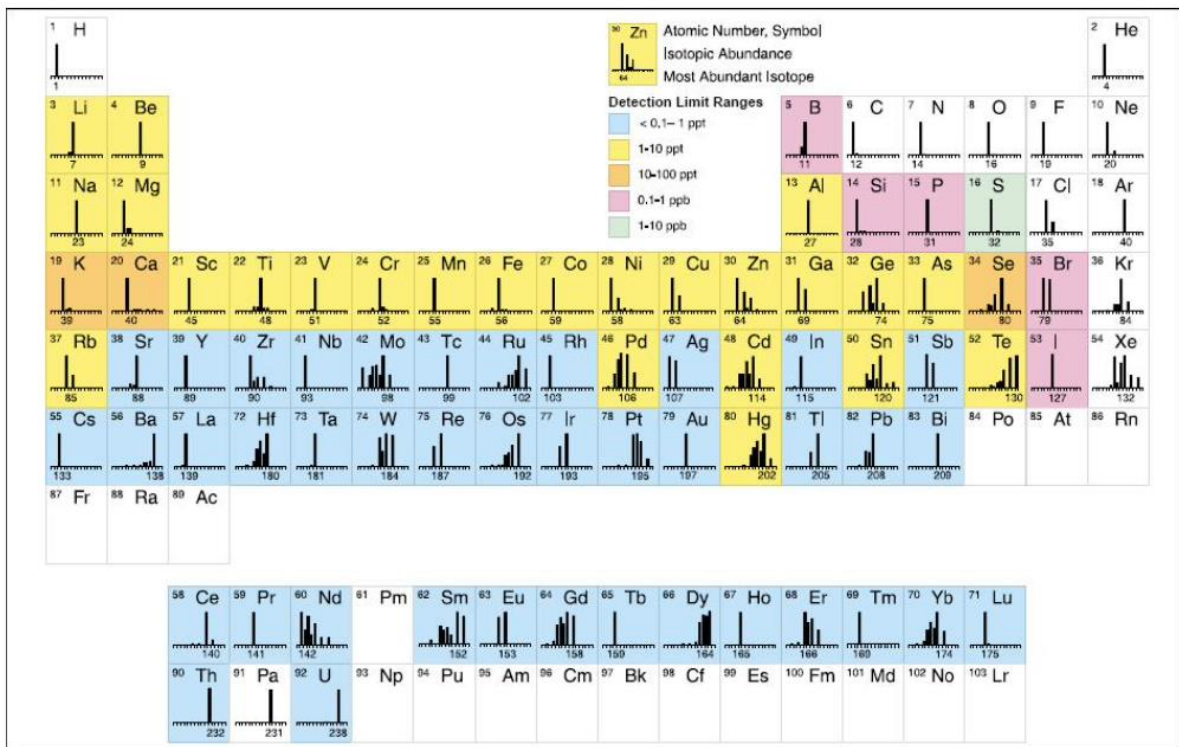


Figura 2.3 - Elementos que podem ser determinados por ICP-MS.^[16]

A análise é multi-elementar, uma vez que é possível analisar em simultâneo cerca de 20 a 30 elementos de uma amostra, de elevada sensibilidade (os limites de deteção

estão na gama das partes por trilhão, ppt, de resposta rápida, de larga gama de trabalho e com bom controlo de interferências. [16]

2.3.1 Princípio de Funcionamento de um ICP-MS

Os principais componentes de um ICP-MS estão representados na figura 2.4.

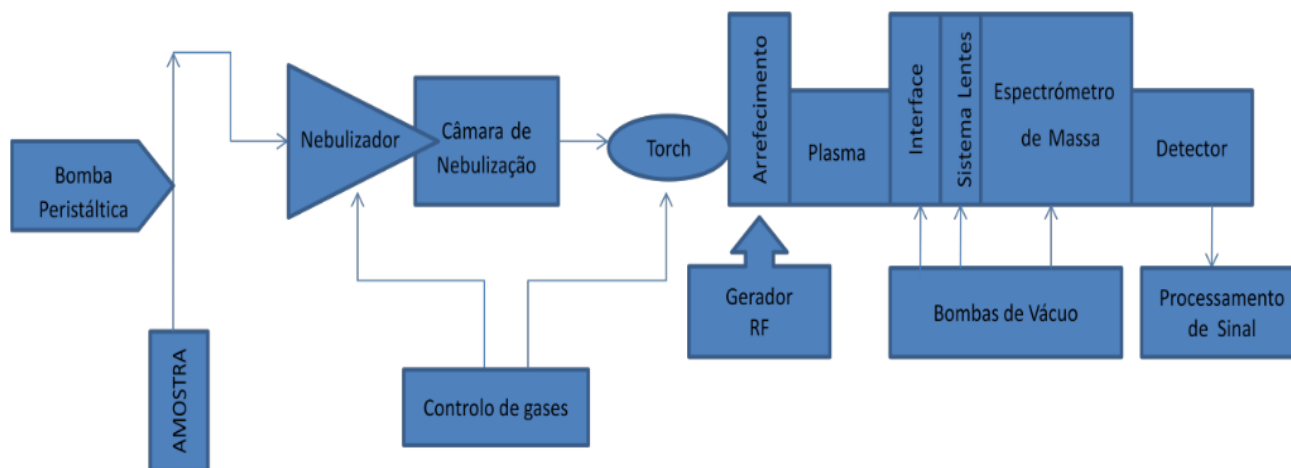


Figura 2.4 - Diagrama de blocos esquemático de um Espectrómetro de Massa Acoplado a Plasma Indutivo.[5]

Em ICP-MS, a fonte de ionização é um plasma de árgon indutivamente acoplado, em que o gás se encontra superaquecido e parcialmente ionizado. A amostra é introduzida sob forma de aerossol produzido pela passagem da amostra sob forma líquida, por um nebulizador pneumático. De uma forma geral, as partículas maiores são removidas da corrente gasosa na camara de nebulização, mantendo-se apenas as partículas menores que são introduzidas na camara central de plasma.

O aerossol resultante é então transferido pelo gás de árgon para a tocha do plasma. No interior da tocha, existe uma bobina de cobre arrefecida onde passa uma corrente elétrica de alta frequência e potência (radio frequência que opera até 1600 W).[17] A corrente elétrica vai criar um campo magnético que vai proporcionar colisão entre os eletrões e os átomos de Ar, produzindo assim eletrões e iões que formam um plasma estável a temperatura de 2500 K. Os iões produzidos são arrastados do gás do plasma e introduzidos, por meio de uma interface, num espectrómetro de massa, onde ocorre a separação dos iões com base na razão massa/carga no analisador e posterior deteção.[18]

Na maioria dos ICP-MS a separação dos iões no analisador de massa é realizada num simples quadrupolo (ilustrado na figura 2.5), que é composto por quatro elétrodos, paralelos dois a dois, onde é aplicada uma diferença de potencial de corrente contínua

(CC) e uma diferença de potencial de corrente alternada de radiofrequências (RF) a cada par de elétrodos (opostos entre si). A combinação destes potenciais determinará as trajetórias dos iões no interior do analisador.^[19]

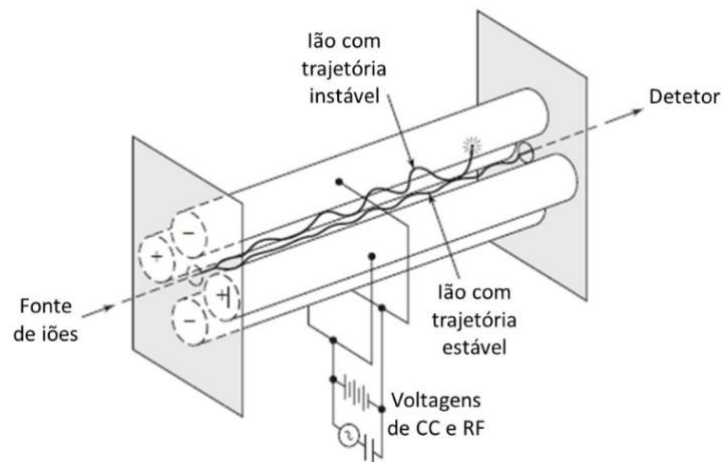


Figura 2.5 - Esquema do analisador de massas de um ICP-MS – quadrupolo.^[19]

Os iões com uma determinada razão massa/carga possuem trajetórias estáveis no interior do quadrupolo e chegam ao detetor. Iões com razão massa/carga superior ou inferior aos que descrevem uma trajetória estável dentro do quadrupolo possuem uma trajetória instável e colidem com os elétrodos, não chegando ao fim deste percurso. Variando as voltagens aplicadas, vai-se fazendo o varrimento dos iões com as diferentes razões massa/carga. Os iões ao atingir o detetor produzem um sinal cuja amplitude estará relacionada com o número de iões.^[19]

O tipo de detetor mais usado em ICP-MS é o multiplicador de iões devido à sua elevada eficiência de conversão iónica em sinais elétricos. O multiplicador de eletrões deve operar em condições de vácuo. O sistema de aquisição de sinais conta e armazena os sinais totais de cada razão massa/carga e constrói um espetro que representa de forma qualitativa e quantitativa a amostra. A amplitude de cada pico no espetro é diretamente proporcional à concentração do referido elemento da amostra. Os resultados quantitativos são obtidos por comparação da intensidade do sinal com as geradas pelos padrões de calibração. Para medições mais precisas das razões isotópicas, o espectrómetro de massa tem de possuir um detetor com resolução adequada para cada isótopo desejado.^[17]

A presença de elementos secundários nas amostras pode causar interferências, condicionam a seletividade do método e podem ser classificadas em dois grupos: interferências espectrais e interferências não-espectrais ou efeito de matriz.^[19]

Interferências espectrais

As interferências espectrais são as mais comuns em ICP-MS, têm influência no sinal do analito e são causadas por iões mono ou poliatômicos que possuem a mesma razão massa/carga que os iões do analito. Estas interferências dividem-se em três grupos: isobáricas; poliatômicas; óxidos, hidróxidos e espécies com dupla carga.^[19]

As interferências isobáricas são causadas por isótopos de igual razão massa/carga, mas de diferentes elementos e que não podem ser separados no analisador devido a uma resolução insuficiente do equipamento. O ácido nítrico inferior a 2 % (v/v) é requerido no ICP-MS de modo a minimizar os danos provocados na interface e minimizar as interferências dos iões moleculares isobáricos com os analitos.^[19] As interferências poliatômicas estão associadas ao plasma e ao gás usado no nebulizador (árgon), aos componentes de matriz presente na amostra e no solvente, assim como a analitos e oxigénio proveniente do ar. De um modo semelhante, muitos iões moleculares podem ser formados e possivelmente interferir devido a combinações com outras espécies. Alguns problemas podem ser corrigidos com o uso de um branco ou de um isótopo diferente do analito.^[19] Outro tipo de interferência espectral é produzido por elementos existentes na amostra e formam iões hidretos, óxidos ou hidróxidos. Esta é a interferência mais séria no ICP-MS já que existe um potencial risco de sobreposição dos picos destas espécies com o pico de um dos iões do analito.^[19]

Interferências não-espectrais

As interferências não-espectrais, ou efeitos de matriz, resultam de variações na composição das soluções amostra e padrões, que alteram o declive da função analítica, e consequentemente na sensibilidade do método. Estas interferências provocam a redução no sinal do analito, embora sob certas condições experimentais o aumento de sinal possa ser observado.^[19] Podem ter origem em diferentes processos ou localizações: no processo de nebulização, no plasma ou na interface entre o ICP e o MS. Neste tipo de interferências as características da amostra que alteram a resposta são: viscosidade, pH, tensão superficial, teor de sólidos dissolvidos etc. ^[20]

Os efeitos de matriz podem ser minimizados utilizando a mesma concentração e tipo de ácido nas soluções de calibração, nas soluções amostra e na solução de lavagem entre medições, ou pelo uso de soluções diluídas. Também podem ser significativamente eliminados através do uso de padrões internos apropriados, isto é, pela introdução nas

soluções amostra e padrão de calibração de um elemento que não tenha a mesma razão massa/carga e potencial de ionização que a do analito.^[19]

2.4 Implementação e validação do método de análise

A implementação e validação do método de análise do mercúrio em ICP-MS foi desenvolvida de acordo com os seguintes documentos:

- **ISO 17294-1: “Water quality – Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) – General guidelines”**

A norma ISO 17294-1:2004 especifica os princípios de funcionamento do equipamento de ICP-MS, fornecendo instruções gerais sobre o uso desta técnica para a determinação de elementos na água.

- **ISO 17294-2: “Water quality – Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) – Determination of 62 elements”**

Esta é a segunda parte da norma ISO 17294-2:2016 e especifica parâmetros e procedimentos do método para a determinação de 62 elementos entre os quais o mercúrio por ICP-MS.

- **ITL_002: “Implementação e validação de metais por ICP-MS”**

Este documento é uma instrução de trabalho sobre a implementação e validação de metais por ICP-MS. É aplicável a todos os metais e descreve o procedimento de validação e quantificação de um elemento em ICP-MS. Relata também o procedimento de escolha do padrão interno. Neste documento está também incluído os limiares analíticos, a precisão e exatidão.

2.4.1 Validação e quantificação de um elemento em ICP-MS

A validação de um método consiste na demonstração, através de evidências, que este é adequado para o fim a que se destina. Este processo de validação é composto por passos distintos.

A **gama de trabalho** deve ser selecionada tendo em conta a legislação em vigor e as gamas de concentração comuns nas amostras de rotina do laboratório. O ICP-MS consegue-se linearidade na ordem dos 10^6 a partir do primeiro padrão e para avaliar a

linearidade, recorre-se à representação gráfica da função juntamente com o cálculo e coeficiente de correlação, sendo necessário avaliar pelo menos 5 curvas de calibração com o coeficiente de determinação próximo de 1.

A **sensibilidade** é a variação mínima que a grandeza a medir (concentração) precisa, para se obter uma variação significativa do resultado da medição (sinal). A sensibilidade é avaliada pelo número mínimo de contagem obtidas na realização do teste de sensibilidade (teste *performance*). Este teste é realizado sempre que o equipamento é utilizado antes de iniciar qualquer sessão de trabalho e é feito com uma solução *Tune* de 1 ppb em que avalia as contagens para os seguintes elementos: Bi, Co, In, Li, U. O laboratório realiza pelo menos 10 testes de sensibilidade. Na tabela 2-1 encontram-se as contagens mínimas (cps) para cada elemento e na tabela 2-2 para os óxidos e espécies com dupla carga.

Tabela 2-1 - Contagens mínimas (cps) para cada elemento.

Elemento	Contagens mínimas (cps)
7Li	55000
59Co	100000
115In	240000
209Bi	165000
238U	330000

Tabela 2-2 - Contagens mínimas para óxidos e espécies com dupla carga.

Óxidos e dupla carga	Contagens mínimas
59Co/35Cl.16O	17
140Ce.16O/140Ce	0,025

A **seletividade** e a **especificidade** relacionam no processo de deteção. Um método que produz resposta para apenas um analito diz-se específico e um método que produz respostas para vários analitos mas consegue distinguir a resposta de um analito dos outros analitos, diz-se seletivo. A demonstração da seletividade de um método é um dos mais importantes passos na validação do mesmo. São as **interferências** (referidas no subcapítulo 2.3.1) que condicionam a seletividade. A maioria dos softwares do ICP-MS

já corrigem todas as interferências isobáricas conhecidas, no entanto não atuam sobre possíveis interferências poliatômicas que possam existir. Desta forma, o laboratório deve identificar as interferências poliatômicas de maior relevância, seus interferentes e isótopos. Para isso são preparadas várias amostras com concentrações crescentes de cada interferente, e analisam-se em modo STD e em modo KED. Com as contagens obtidas representam-se graficamente os interferentes/isótopo interferido. Após verificação experimental, deve-se definir quais os isótopos a utilizar para os elementos pretendidos. No sentido de reduzir as **interferências não espectrais** ou efeito de matriz podem ser usadas várias estratégias referidas no subcapítulo 2.3.1. O uso do **padrão interno** é uma das estratégias utilizadas e o princípio desta técnica assenta no facto de o sinal do padrão interno ser afetado de modo semelhante ao sinal do analito, resultando numa razão mais estável. O padrão interno escolhido não deve estar presente na amostra e ambas as matrizes (padrão interno e amostra) não devem interferir uma com a outra em termos de espectro. Para além disso, o padrão interno escolhido não deve ser considerado contaminante ambiental e deve ter um potencial de primeira ionização semelhante à do mercúrio para se comportarem de modo semelhante no plasma. Desta forma, o laboratório deve realizar um estudo experimental, para então escolher o padrão interno que mais se adequa, que consiste em adicionar a uma amostra analítica uma quantidade conhecida de padrões internos e analitos que vão ser quantificados e os elementos maioritários, em concentrações próximas da realidade das amostras típicas. Adquire-se as contagens dessa amostra e normaliza-se cada contagem ao tempo inicial. De seguida, representa-se graficamente as contagens normalizadas/tempo e pela observação gráfica é possível visualizar qual o padrão interno que melhor se adequa a cada elemento.

Depois de verificadas experimentalmente as possíveis interferências, quer espectrais ou não espectrais, o laboratório deverá avaliar a seletividade/especificidade com pelo menos seis ensaios de recuperação, aceites entre 80 a 120%. Os ensaios de recuperação evidenciam que todas as possíveis interferências estão a ser devidamente corrigidas e/ou eliminadas, por isso as recuperações obtidas devem ser próximas dos 100%. Os ensaios de recuperação são calculados de acordo com a equação 1:

$$R(\%) = \frac{(C_{Amref} \times V_{fin} - C_{Amnat} \times V_{Am})}{(V_{pad} \times C_{pad})} \times 100 \quad (1)$$

Em que:

V_{fin} – volume final

V_{Am} – volume de padrão adicionado

CP_{ad} – concentração do padrão adicionado

O **limite de deteção (LD)** corresponde ao teor mínimo medido, a partir do qual é possível detetar a presença do analito com uma certeza estatística razoável. Em termos quantitativos o limite de deteção foi obtido pela equação 2:

$$LD = 3 \times Sb \quad (2)$$

Em que:

- Sb é o desvio padrão relativo aos brancos

O **limite de quantificação (LQ)** corresponde à menor concentração medida, a partir da qual é possível a quantificação do analito, com uma determinada precisão. Na prática, corresponde normalmente ao padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco). Depois de definir qual o LQ, este deve ser avaliado em condições de precisão intermédia, de uma série de pelo menos 10 padrões de concentração igual ao limite de quantificação. O coeficiente de variação (CV) e o erro relativo (ER), expressos em percentagem (%), são dados pelas equações 3 e 4:

$$CV = \frac{DP}{\bar{x}} \times 100 \quad (3)$$

Em que:

DP - desvio padrão

\bar{x} - média dos valores considerados

$$ER (\%) = \frac{(X_{lab} - X_v)}{X_v} \times 100 \quad (4)$$

Em que:

X_{lab} - valor obtido experimentalmente (ou a média aritmética de valores obtidos);

X_v - valor aceite como verdadeiro

Segundo as recomendações da IUPAC, o coeficiente de variação (CV) e o erro relativo (ER), para estes padrões, não devem exceder 10%.

Uma vez avaliados estes parâmetros o laboratório procede à avaliação da precisão. A **precisão** avalia a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos sobre uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões. A dispersão de resultados pode ser avaliada com duas medidas: a Repetibilidade e a Reprodutibilidade. A primeira exprime a precisão de um método efetuado em condições idênticas e a reprodutibilidade refere-se à precisão de um método efetuado em condições de ensaio diferentes, utilizando o mesmo método de ensaio. Entre estas duas medidas existe uma situação intermédia que se designa por precisão intermédia que é a precisão avaliada sobre a mesma amostra, amostra idênticas ou padrões, definindo exatamente as condições a variar, que pode ser uma ou mais, tais como realizar análises sobre a mesma amostra por diferentes analistas. Os valores de precisão deverão de estar de acordo com os valores definidos na legislação em vigor, consoante as matrizes.

A **precisão intermédia** é reconhecida como o parâmetro mais representativo da variabilidade dos resultados num laboratório. Efetuam-se n medições em replicados, duplicados ou ensaio único sobre a amostra, utilizando o mesmo método, mesmo laboratório ou diferentes, mas definindo exatamente as condições a variar, uma ou mais, tais como diferentes analistas. A precisão intermédia é baseada na dispersão entre ensaios e é calculada através da expressão de cálculo 5, quando o número de ensaios efetuados por amostra (n) é igual a dois:

$$S_i = \sqrt{\frac{1}{2 \times t} \times \sum_{j=1}^t (y_{j1} - y_{j2})^2} \quad (5)$$

Em que:

Y_{j1} – primeiro resultado obtido para a amostra j ;

Y_{j2} - segundo resultado obtido para a amostra j ;

t – nº de amostras ensaiadas;

O laboratório efetua pelo menos dez medições em replicado, duplicado ou em ensaio único, sobre a mesma amostra ou padrões. Os valores de precisão deverão de estar de acordo com os valores definidos na legislação em vigor.

A **exatidão** é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceite como convencionalmente verdadeiro. O termo exatidão implica uma combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos. Consoante os objetivos, existem vários tipos de ensaios Interlaboratoriais de aptidão. O laboratório participa em ensaios Interlaboratoriais de aptidão, com o objetivo de avaliar o desempenho dos métodos implementados. Esta forma de avaliar a exatidão do laboratório é uma ferramenta importante na validação de novos métodos analíticos. Pelo menos um ensaio Interlaboratorial tem de ter desempenho satisfatório, sendo que a avaliação é feita pela entidade promotora do ensaio. O desempenho é calculado pela equação 6:

$$Z'core = \frac{(X_{lab} - X_v)}{s} \quad (6)$$

Em que:

X_{lab} – valor obtido pelo laboratório

X_v – valor aceite como verdadeiro, isto é, o estabelecido no ensaio interlaboratorial

S – unidade de desvio, que pode ser o desvio padrão da média dos laboratórios no ensaio interlaboratorial, a incerteza de X_v ou outro desvio que assente em critérios de exigência da entidade promotora do ensaio.

A **incerteza** é um parâmetro associado aos resultados obtidos nos ensaios, que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser razoavelmente atribuídos à medição. Desta forma, a avaliação da incerteza é uma boa prática profissional que pode prover confiança nos resultados obtidos. Quanto menor a incerteza, maior a certeza no valor obtido, maior a confiança no resultado. A estimativa da incerteza do método é baseada nos resultados do controlo da qualidade e dados de validação os quais representam a precisão intermédia (reprodutibilidade intralaboratorial) e a veracidade do método e/ou laboratório (quantificada pelo “Bias”). Posteriormente é multiplicada pelo facto de expansão de 2 (aproximadamente 95% de nível de confiança). A **Estimativa do cálculo da incerteza** na amostra é calculado de acordo com a ISO 11352:2012. A expressão do resultado é feita de acordo com a equação 7:

$$C_{am} = R_{ob} \pm U_{exp} \quad (7)$$

Em que:

C_{am} – Concentração da amostra na unidade definida

U_{exp} – Incerteza associada ao método

R_{ob} – Resultado observado

Sendo que:

$$U_{exp} = 2 \times \sqrt{u_{RW}^2 + b_{rms}^2} \quad (8)$$

$$u_{RW} = u_{r,range}(P0,10) + u_{r,range}(duplicados) \quad (9)$$

$$u_{r,range}(P0,10) = \frac{CV(\%) }{d_2} \quad (10)$$

$$u_{r,range}(duplicados) = \frac{\bar{R}}{d_2} \quad (11)$$

$$b_{rms} = \sqrt{\frac{\sum(b_i)^2}{n_r}} \quad (12)$$

Em que:

d_2 – fator dependente do nº de valores utilizados=1,128

\bar{R} – amplitude média

b_i – diferença entre o valor médio medido e o valor de referencia
aceite

n_r – número de ensaios

3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Este capítulo descreve os procedimentos experimentais para a concretização dos objetivos deste projeto, sendo iniciado com os reagentes e os equipamentos utilizados para efetuar as análises, o modo de preparação de soluções amostra e padrões e, por fim, a descrição do método de calibração e a validação dos resultados.

3.1 Instrumentação

No instrumento utilizado, ICP-MS, existem diferentes componentes que são fundamentais para se obter a qualidade pretendida nos resultados. A amostra passa por vários pontos distintos e cada um deles afeta a amostra de maneira diferente. As análises para a implementação do método de quantificação de mercúrio foram realizadas num TermoScientific ICAP RQ ICP-MS. Neste equipamento é possível fazer análises em dois modos: modo *standard* (STD) e em modo colisão de célula (KED). No primeiro modo não se usa a célula de colisão e o modo KED já diz respeito à parte do MS. O modo STD considera que não há sobreposição isobárica, nem formação de duplas cargas. Apenas usa a correção do padrão interno ou correção matemática. Em relação ao modo KED (célula de colisão com gás hélio) tem função de minimizar formação de interferentes a partir de colisão ou reação. Para além disso, tem capacidade para destruir possíveis formações de interferências poliatómicas, deixando o analito livre.

Os vários componentes do sistema de introdução da amostra são discutidos a seguir.

a) Bomba

O uso da bomba peristáltica ajuda a levar a solução até ao nebulizador. É aconselhável utilizar uma bomba com o maior número possível de cilindros e uma velocidade tão alta quanto possível para evitar elevadas sobretensões no fornecimento da solução. A quantidade de solução bombeada é, principalmente, entre 0,1 mL e 1,5 mL por minuto.

b) Nebulizador

Existem vários tipos de nebulizador, no entanto no equipamento ICP-MS utilizado, utiliza-se um nebulizador concêntrico. Este tipo de nebulizador consiste em dois tubos concêntricos, sendo o exterior estreito no final. A amostra segue através do

tubo central e do gás nebulizador, criando uma região de menor pressão o que vai provocar a formação de pequenas gotas (aerossol).

c) Câmara de pulverização

Na câmara de pulverização as gotas maiores são drenadas na forma líquida. O líquido deve ser removido uniformemente para evitar variações de pressão na câmara, o que pode resultar em variações no sinal. Ao arrefecer a câmara de pulverização para 2 °C a 5 °C, o vapor de água formado no processo de nebulização condensa-se, reduzindo assim a carga de água do plasma. Isto resulta numa redução da formação de iões poliatômicos de interferência (óxidos).

d) Tocha e plasma

A tocha consiste em três tubos concêntricos e, normalmente o material usado é o quartzo. O aerossol produzido no sistema de introdução da amostra flui através do tubo de introdução transportado por um fluxo de gás argon com uma média aproximadamente 0,5 a 1,5 L/min. O gás de plasma flui entre os tubos médio e externo com uma média de 12 L/min até 20 L/min. A função do gás do plasma é manter o plasma e arrefecer o tubo externo da tocha. Ao redor da parte superior da tocha há uma bobina refrigerada com água ou com argon com dois a cinco enrolamentos. Uma corrente de alta frequência flui através da bobina e excita o plasma. A tocha é, geralmente, colocada num compartimento metálico separado que protege os usuários e o instrumento (eletrónico) contra a radiação de alta frequência, que é libertada da bobina e contra a radiação ultravioleta emitida pelo plasma. Existe janela especial que permite a observação visual do plasma, uma vez que está coberta com um vidro escurecido para proteger os olhos do observador da intensa radiação de emissão de plasma.

e) Gás

O argon é usado como gás nebulizador (gás de introdução da amostra), gás auxiliar e gás de plasma. Na célula de colisão o gás utilizado é o hélio. É preferível o gás de argon com uma pureza superior a 99,995 %. A taxa do fluxo de gás deve ser estável e controlada para se obter melhores resultados. Podem ser adicionadas quantidades exatas de oxigénio ao gás nebulizador para evitar a acumulação de carbono no cone da amostragem. No entanto, a adição do oxigénio em excesso resulta na queima do cone da amostragem. As misturas de argon e hidrogénio ou nitrogénio podem melhorar a sensibilidade de certos elementos e/ou reduzir a formação de iões poliatômicos interferentes.

f) Gerador

O gerador fornece uma corrente alternada com uma frequência entre 27 MHz e 56 MHz e uma potência entre 0,6 kW e 2 kW que sustenta o plasma.

g) Transferência dos iões

É através da interface que os iões são transferidos do plasma para o espectrómetro de massa. A interface consiste em dois cones refrigerados com água, uma amostragem e um cone de *skimmer*, com um sistema de vácuo, e a câmara de expansão entre eles. Durante a medição, a pressão na câmara de expansão é mantida a 102 Pa até 103 Pa. No centro dos cones encontra-se um orifício com um diâmetro de (0,3 a 1) mm, sendo o orifício do cone de *skimmer*, geralmente, menor do que a do cone de amostragem. Os cones são geralmente feitos de níquel. O centro dos cones pode ter formas diferentes. O gás que contém os iões é recolhido da parte central ou do canal do plasma através do orifício do cone de amostragem da câmara de expansão. Apenas 1 % do gás extraído do plasma é transmitido para o sistema de lentes. Devido ao curto tempo de residência na câmara de expansão (alguns microsegundos), a composição do gás dificilmente muda.

h) Analisador

No espectrómetro de massa de ICP, a separação dos iões é obtida usando um espectrómetro de massa de quadrupólo localizado num compartimento continuamente evacuado ($<2 \times 10^{-3}$ Pa). Uma característica importante da qualidade de um espectrómetro de massa de quadrupólo é a sensibilidade da abundância. Portanto, a sensibilidade da abundância indica a capacidade de medir um pequeno pico ao lado de um pico importante. Valores de sensibilidade da abundância de 10^6 para as massas inferiores e 10^8 para as massas superiores podem ser obtidos.

i) Detetor

O sistema de deteção consiste num elétrodo (o dínodo de conversão), um multiplicador de eletrões com dínodos discretos e um pré-amplificador. Sob a influência de uma alta tensão negativa, os iões que saem do analisador atingem o dínodo de conversão resultando na libertação de eletrões. Esses eletrões atingem o primeiro dínodo do multiplicador de eletrões, e como consequência, o dobro da quantidade de eletrões é libertado. Posteriormente, esses eletrões atingem o segundo dínodo. Em última análise, um ião resulta numa contagem de aproximadamente 10^8 eletrões. A gama de contagem máxima deste sistema é de 2×10^6 a 4×10^6 cps (contagens por segundo) e é determinada por dois fatores. Primeiro, o fluxo da corrente que o detetor pode sustentar é limitado. O segundo fator limitante é o tempo de resposta, ou "tempo morto", do detetor e eletrónicos, isto é, o tempo após o registo de um sinal durante o qual, o detetor não é capaz de registar

uma nova contagem. Se o intervalo de tempo entre as chegadas no detetor dos dois iões é menor do que o “tempo morto”, o segundo ião não é detetado.

3.2 Reagentes

Na tabela 3-1 encontram-se os reagentes utilizados no processo de implementação e validação do mercúrio.

Tabela 3-1 - Reagentes utilizados na implementação do mercúrio por ICP-MS.

Reagentes	Fornecedores
Solução Padrão de Mercúrio, 1000 mg/L, Centipur	Merck
Solução Padrão Interno Germânio 10 µg/mL, Certiprep	SPEX
Ácido nítrico concentrado (65%)	Merck
Solução Padrão Interno Ródio 10 µg/mL, Certiprep	SPEX
Solução Padrão Interno Mistura 10 µg/mL (Bi, In, 6L, Sc, Y), Certiprep	SPEX

3.3 Material e Equipamento

Os equipamentos de medição influenciam muito a qualidade dos resultados obtidos. Foram utilizados os seguintes materiais: Balões volumétricos PFA de 50, 100 e 500 mL; Falcons de 50 mL; gobelés de 100 mL; Micropipeta automática de volume fixo da marca *Eppendorf* de 100 µL; Micropipetas automáticas da marca *Eppendorf*, de volume variável entre [100-1000] µL e [1-10] mL.

Os balões volumétricos PFA foram lavados na máquina de lavar, num programa adequado às características do material. Após a lavagem foi feita uma descontaminação do material com solução de ácido nítrico 10% (v/v), durante pelo menos 24 horas. Após este período, esvaziaram-se os balões volumétricos e passou-se por água ultrapura. De seguida encheu-se os balões com água ultrapura e permaneceram assim até à sua utilização.

Sistema de purificação de água

A água utilizada neste trabalho foi a água ultrapura do Tipo I. Esta água é utilizada em análises que requerem água com elevado grau de pureza, uma vez que se trata de uma água essencialmente isenta de iões dissolvidos e de matéria orgânica. Esta água foi obtida num sistema de purificação de água ultrapura Milli-Q IQ 7000 da Merck, à saída

apresentava, à temperatura de 25 °C, uma condutividade de 0,055 $\mu\text{s}/\text{cm}$ e valores de carbono orgânico total (TOC) inferiores a 2,4 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

3.4 Preparação de soluções

⇒ Solução de HNO₃ (destilado)

O ácido nítrico é destilado a partir do ácido nítrico comercial 65% P.A. O ácido nítrico é destilado para se obter uma qualidade superior.

⇒ Solução de Cloreto de Ouro

A solução de ouro foi preparada a partir do sal de 250 mg para 500 mg.

⇒ Solução de Lavagem

Adicionou-se 10 mL de ácido nítrico destilado e 2 mL de cloreto de ouro em balão de 500 mL e diluiu-se com água ultrapura.

⇒ Branco de trabalho

Adicionou-se 1 mL de cloreto de ouro e 5 mL de ácido nítrico destilado em balão de 500 mL e diluiu-se com água ultrapura.

⇒ Solução padrão interno Ródio

Adicionou-se 5 mL de ácido nítrico destilado e 250 μL da solução padrão interno Ródio 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em balão de 500 mL e diluiu-se com água ultrapura.

⇒ Solução padrão Intermédia de 500 $\mu\text{g}/\text{L}$

Adicionou-se 5 mL de ácido nítrico destilado e 250 μL da solução mãe comercial de mercúrio 1000 mg/L em balão de 500 mL e diluiu-se com água ultrapura.

⇒ Solução padrão Intermédia de 50 $\mu\text{g}/\text{L}$

Adicionou-se 0,5 mL de ácido nítrico destilado e 5 mL da solução padrão intermédia de 500 $\mu\text{g}/\text{L}$ em balão de 50 mL e diluiu-se com água ultrapura.

⇒ Solução padrão 1000 $\mu\text{g}/\text{L}$ Curva de calibração (CC)

Adicionou-se 1 mL de ácido nítrico destilado e 100 μL da solução mãe comercial de Mercúrio 1000 mg/L em balão de 100 mL e diluiu-se com água ultrapura.

⇒ Solução padrão 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ CC

Adicionou-se 1 mL de ácido nítrico destilado e 1 mL da solução padrão 1000 $\mu\text{g}/\text{L}$ CC em balão de 100 mL e diluiu-se com água ultrapura.

⇒ Solução padrão 1000 $\mu\text{g}/\text{L}$ Controlo de qualidade (CQ)

Adicionou-se 1 mL de ácido nítrico destilado e 100 μL da solução mãe comercial de Mercúrio 1000 mg/L em balão de 100 mL e diluiu-se com água ultrapura.

⇒ Solução padrão 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ CQ

Adicionou-se 1 mL de ácido nítrico destilado e 1 mL da solução padrão 1000 µg/L CQ em balão de 100 mL e diluiu-se com água ultrapura.

⇒ **Solução padrão interno 100 µg/L**

Adicionou-se 0,5 mL de ácido nítrico destilado e 5 mL da solução mãe comercial de Mercúrio 1000 mg/L em balão de 50 mL e diluiu-se em água ultrapura.

⇒ **Solução padrão interno 0,1 µg/L**

Adicionou-se 5 mL de ácido nítrico destilado e 0,5 mL da solução padrão mercúrio 100 µg/L em balão de 500 mL e diluiu-se com água ultrapura.

○ **Preparação da solução com a amostra EE1**

Adicionou-se 5 mL de ácido nítrico destilado, 250 µL de cada padrão interno (Germânio, Ródio e Mistura) e 0,5 mL da solução padrão interno 0,1 µg/L em balão de 500 mL. No final perpez-se o balão com a amostra EE1.

○ **Preparação da solução com a amostra RAB**

Adicionou-se 5 mL de ácido nítrico destilado, 250 µL de cada padrão interno (Germânio, Ródio e Mistura) e 0,5 mL da solução padrão interno 0,1 µg/L em balão de 500 mL. No final perpez-se o balão com a amostra RAB.

3.5 Análise

3.5.1 Testes dos padrões internos

Para a execução do teste do padrão interno foi necessário a preparação de duas amostras fortificadas, uma amostra ACH e uma AND. Estas amostras fortificadas foram preparadas em tubos de 10 mL e foram utilizadas duas soluções, uma com uma amostra da Estação Elevatória 1 (EE1) e outra do Reservatório de água bruta (RAB) descritas no subcapítulo 3.4. Os padrões internos testados foram o Li, Ge, Y, Rh, In, Sn, Tb, Ho e Bi. Entre todos, os padrões internos que têm uma energia de ionização próxima da do mercúrio (1007,1 kJ/mol), são o Ge, Rh e Bi.

Depois da análise, com os resultados obtidos traçou-se um gráfico contagens normalizadas/tempo e pela visualização do gráfico foi possível proceder à escolha do padrão interno que melhor se adequa ao mercúrio.

3.5.2 Testes de interferências

O laboratório para avaliar se a sua metodologia é seletiva realiza alguns estudos de interferências (espetrais e não espetrais).

As interferências espetrais são identificadas no software do equipamento. De acordo com os resultados obtidos de interferentes o laboratório define os modos de operação (STD ou KED). Foi avaliado a interferência do tungsténio sobre o mercúrio nos dois modos STD e KED. Para além disso, existem alguns isótopos do mercúrio tais como: 199 Hg, 200 Hg, 201 Hg, 202 Hg.

As interferências não espetrais são avaliadas pelo método de padrão interno. Depois de verificadas experimentalmente as possíveis interferências, quer espetrais quer não espetrais, foi possível avaliar as recuperações obtidas para cada matriz.

3.5.3 Gama de trabalho

Definiu-se então a gama de trabalho para o mercúrio tendo em conta as concentrações em que habitualmente se encontram nas amostras analisadas em rotina no laboratório e o limite de quantificação. Na tabela 3-2 descreve-se a preparação das soluções padrão necessárias para o traçado da curva de calibração (CC) e para o controlo de qualidade (CQ), em modo *standard* (STD) e em modo colisão de célula (KED).

Tabela 3-2 - Soluções padrão para a curva de calibração e controlo de qualidade.

	Padrões*	Concentração padrão (µg/L)	Capacidade de Balão volumétrico (mL)	Volume Cloreto de ouro (µL)	Volume de solução padrão 10 µg/L de CC ou CQ (mL)
Curva de calibração (CC)	P1	0,10	100	250	1,00
	P2	0,20	100	250	2,00
	P3	0,40	100	250	4,00
	P4	0,80	50	125	4,00
	P5	1,00	50	125	5,00
Controlo de qualidade (CQ)	QC1	0,10	50	125	0,5
	QC2	0,50	50	125	2,50
	QC3	1,00	50	125	5,00

* a todas as soluções foi adicionado ácido nítrico ultrapuro: 0,5 mL nos balões volumétricos de 50 mL e 1 mL nos de 100 mL.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Condições experimentais

Em todas as análises de mercúrio em amostras de água para consumo humano e água natural doce, as soluções foram preparadas com 1% de ácido nítrico para conservar as amostras e recorreu-se também ao uso de adição cloreto de ouro (Au). A maior dificuldade da determinação do mercúrio é o efeito de memória. O mercúrio agarra-se muito aos materiais por onde passa e o cloreto de ouro tem essa função de limpar o sistema de forma que não haja contaminações cruzadas.

Em primeiro lugar foram realizados todos os testes/calibrações de forma a garantir a operacionalidade do equipamento. De forma a testar as condições experimentais definidas no software QTEGRA, foram realizadas curvas de calibração, avaliando a resposta do equipamento. Na tabela 4-1 encontram-se os coeficientes de determinação obtidos e na figura 4.1 encontra-se um exemplo de uma curva de calibração que corresponde à data de 04/06/2021.

Tabela 4-1 - Coeficientes de determinação obtidos das curvas de calibração.

Data	Coefficiente de determinação
04/06/2021	0,9983
07/06/2021	0,9997
22/06/2021	0,9999
23/06/2021	0,9997
15/07/2021	0,9998
16/07/2021	0,9997
22/07/2021	0,9996
27/07/2021	0,9997
23/09/2021	0,999
23/09/2021	0,9997

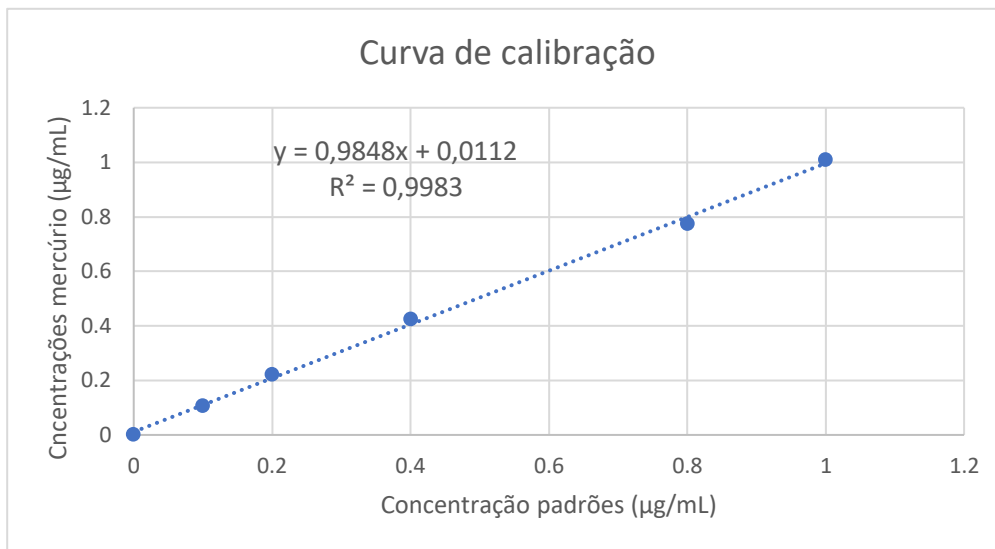


Figura 4.1 - Curva de calibração obtida correspondente à data 04/06/2021.

4.1.1 Validação analítica

▪ Gama de trabalho e sua linearidade

A gama de trabalho foi definida tendo em conta a legislação em vigor. Para o mercúrio a gama de trabalho selecionada foi 0,1 a 1,00 µg/L. O laboratório avalia a linearidade pelo coeficiente de determinação.

▪ Sensibilidade

A sensibilidade da metodologia é avaliada pelo número mínimo de contagens obtidas na realização do teste de sensibilidade. O teste de sensibilidade é realizado com uma solução Tune 1 ppb de Bi;Co;In;Li;U. Antes de iniciar qualquer sessão de trabalho é feito este Teste *Performance* aonde se avalia o comportamento dos elementos.

Os gráficos apresentados na figura 4.2 e 4.3 demonstram o desempenho obtido do equipamento durante o processo de validação.

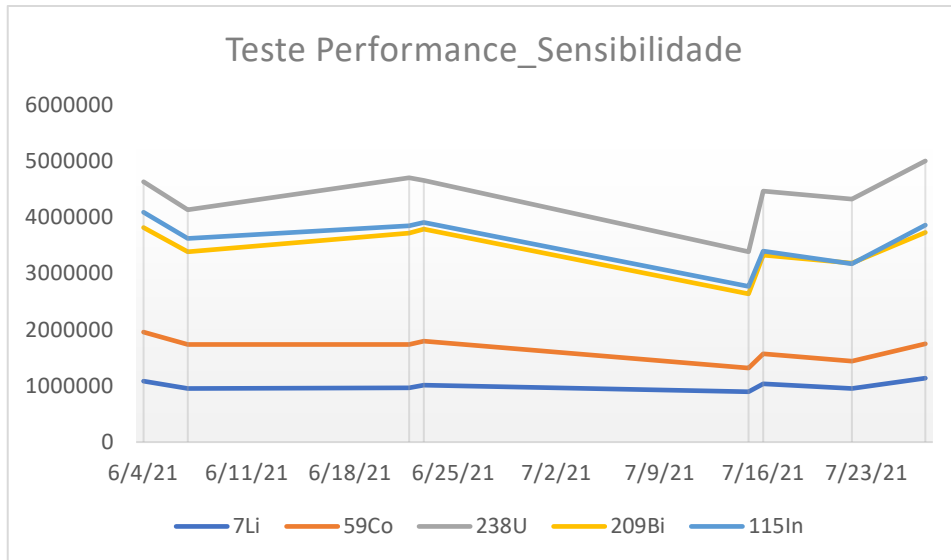


Figura 4.2 - Desempenho da sensibilidade ao longo do tempo em modo trabalho STD.

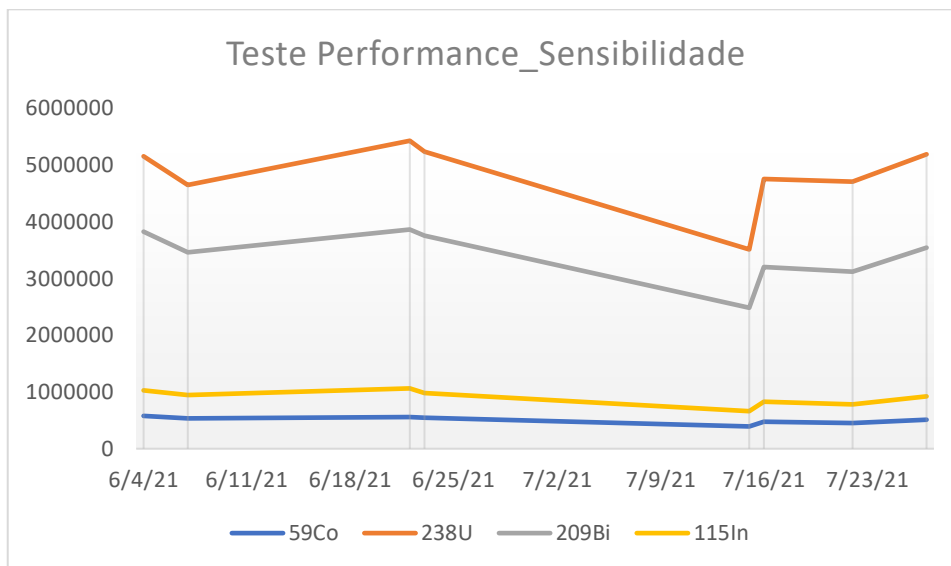


Figura 4.3 - Desempenho da sensibilidade ao longo do tempo em modo trabalho KED.

Pela observação dos gráficos é possível concluir que em ambos os testes, tanto em modo STD como em modo KED, os requisitos foram cumpridos, uma vez que todos os elementos apresentam contagens superiores às contagens mínimas descritas na tabela 2-1, ou na tabela 4-2.

Tabela 4-2 - Requisitos que cada elemento deve cumprir nos testes de sensibilidade.

7Li >55000
59Co >100000
238U >330000
209Bi >165000
115In >240000

▪ **Seletividade e especificidade**

O isótopo escolhido foi o 202 Hg uma vez que é o que tem maior massa atómica, está em maior abundância. No caso do Mercúrio, o modo KED foi o escolhido uma vez que a célula de colisão vai destruir possíveis interferências.

De acordo com os resultados obtidos nos estudos de interferentes, definiu-se o modo de análise para o mercúrio. Assim, foi definido o seguinte modo de trabalho:

Tabela 4-3 - Isótopo utilizado e respetivo modo de trabalho.

Elemento	Isótopo	Modo
Hg	202	KED

Os resultados das contagens obtidos permitiram a construção de um gráfico contagens normalizadas/tempo e pela visualização do gráfico qual o padrão interno apresentava um comportamento semelhante ao do mercúrio. Os padrões internos testados foram o Li, Ge, Y, Rh, In, Sn, Tb, Ho e Bi. Entre todos, os padrões internos que têm uma energia de ionização próxima da do mercúrio (1007,1 kJ/mol), são o Ge, Rh e Bi. Desta forma, excluíram-se os restantes elementos e fez-se só a comparação com o mercúrio em termos gráficos para o Ge, Rh e o Bi.

A figura 4.4, figura 4.5 figura 4.6 e figura 4.7 são as representações gráficas de contagens normalizadas/tempo dos padrões internos Ge, Rh e Bi e o Hg para a amostra RAB e EE1, em modo KED e STD.

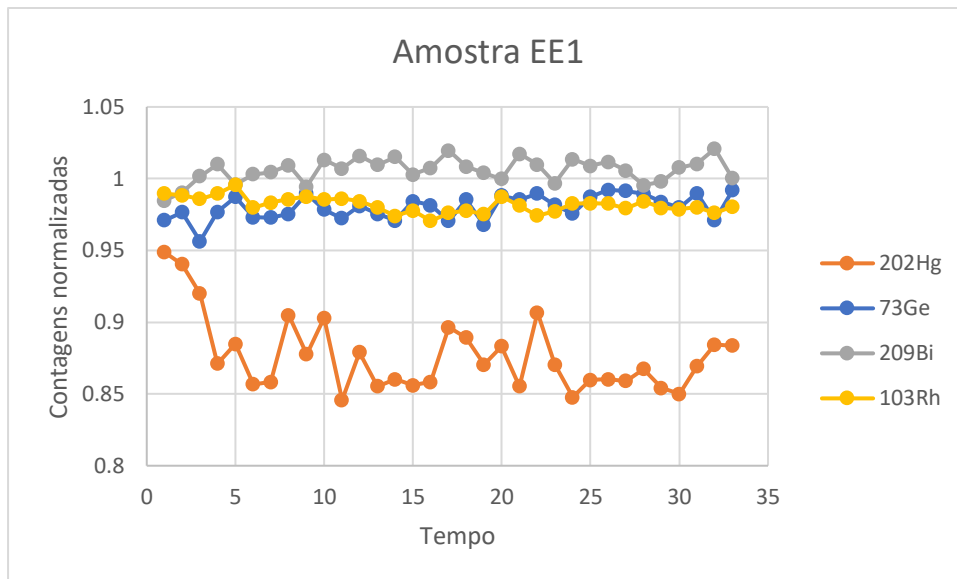


Figura 4.4 - Representação gráfica de contagens normalizadas/tempo para o 202Hg, 73Ge, 209Bi e 103Rh utilizando a amostra EE1, analisada em modo KED.

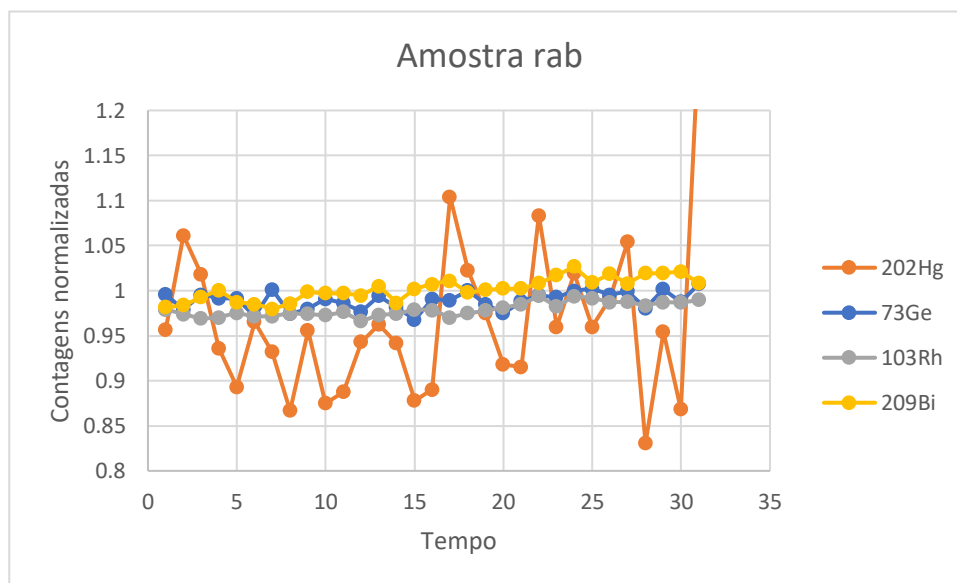


Figura 4.5 - Representação gráfica de contagens normalizadas/tempo para o 202Hg, 73Ge, 209Bi e 103Rh utilizando a amostra RAB, analisada em modo KED.

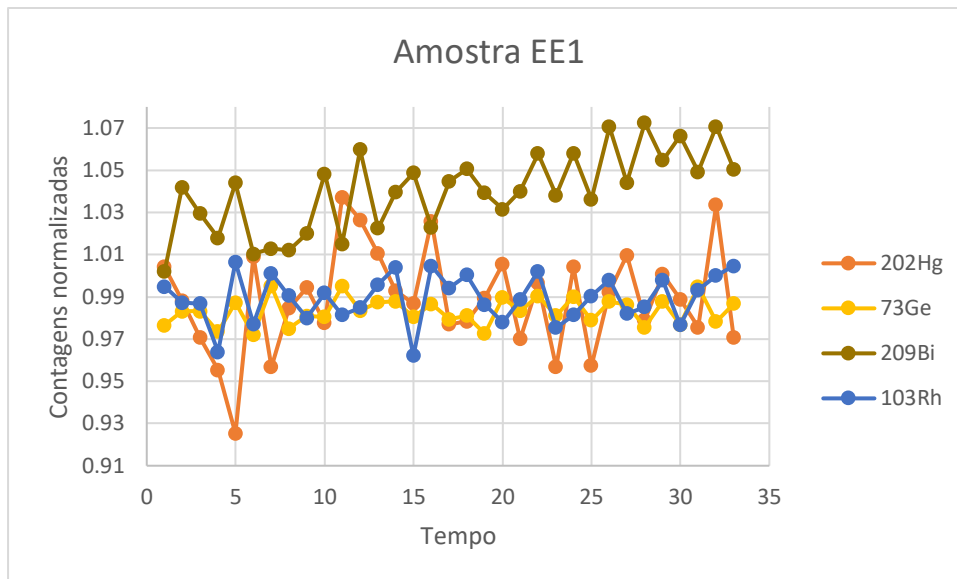


Figura 4.6 - Representação gráfica de contagens normalizadas/tempo para o 202Hg, 73Ge, 209Bi e 103Rh utilizando a amostra EE1, analisada em modo STD.

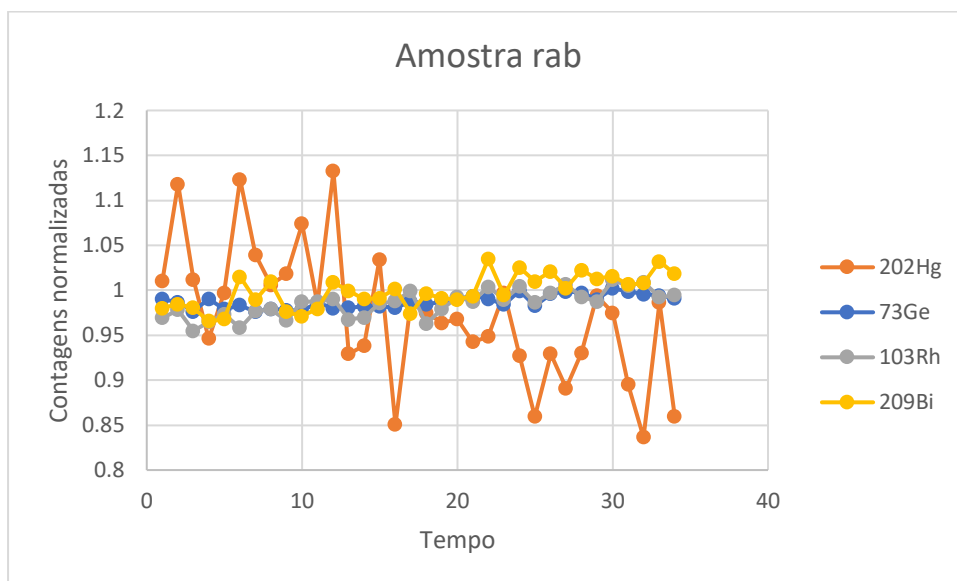


Figura 4.7 - Representação gráfica de contagens normalizadas/tempo para o 202Hg, 73Ge, 209Bi e 103Rh utilizando a amostra RAB, analisada em modo STD.

O Ródio foi o padrão interno escolhido uma vez que era padrão que mais se aproximava da linha do mercúrio. Em relação aos outros padrões internos, todos eles se encontravam muito distanciados da linha do mercúrio, ou seja, não apresentavam comportamento semelhante. Daí o motivo para terem sido excluídos.

Desta forma, na tabela 4-4 encontra-se então um quadro resumo do resultado do teste do padrão interno.

Tabela 4-4 - Padrão interno utilizado bem como o seu critério de aceitação.

Elemento	Isótopo	Padrão Interno	Critério de aceitação
Hg	²⁰² Hg	¹⁰³ Rh	80 a 120%

Depois de verificadas experimentalmente as possíveis interferências, quer espectrais quer não espectrais, avaliou-se as recuperações obtidas. A recuperação média obtida no mercúrio foi de 95,13%. Nos anexos é possível observar no tópico seletividade e especificidade, na tabela A-13, a recuperação obtida em cada análise.

4.1.2 Curvas de calibração e Controlo de qualidade

Definida a gama de trabalho (tabela 3-2) iniciou-se a análise ao mercúrio em amostras de água para consumo humano (ACH) e água natural doce (AND) no ICP-MS.

▪ Limiares analíticos – limite de quantificação

Os limites de quantificação foram avaliados de acordo com o procedimento ITL_002 Implementação e validação de metais por ICP-MS. Na tabela 4-5 encontram-se os limites de quantificação obtidos em cada análise e na tabela 4-6 o coeficiente de variação e erro relativo.

Tabela 4-5 - Limites de quantificação obtidos em cada análise.

Data	Resultado (µg/L)
04/06/2021	0,1046
07/06/2021	0,1025
22/06/2021	0,1041
23/06/2021	0,1072
15/07/2021	0,09939
16/07/2021	0,1080
22/07/2021	0,1201
27/07/2021	0,09216
23/09/2021	0,1025
23/09/2021	0,1130

Tabela 4-6 – Limite de quantificação médio e o respetivo coeficiente de variação e erro relativo obtidos.

LQ exp (µg/L)	0,100
ER (%)	5,35
CV (%)	7,16

Como é possível observar pelos resultados obtidos na tabela 4-6 o coeficiente de variação e o erro relativo são inferiores a 10%, como é exigido pela legislação em vigor. Desta forma o desempenho do método é considerado validado.

▪ **Precisão (Precisão intermédia)**

A precisão tem como fim avaliar a dispersão de resultados em ensaios independentes. A precisão intermédia é avaliada sobre a mesma amostra/padrões mantendo a metodologia, mas em condições diferentes.

A precisão intermédia foi avaliada para os padrões 0,10 µg/L, 0,50 µg/L e 1,00 µg/L e duplicados de amostra, nas datas referidas na tabela 4-5. Os duplicados dizem respeito, em grande maioria, a ensaios interlaboratoriais e a precisão foi calculada pela diferença de resultados obtidos em que as concentrações variam entre 0,10 µg/L, 0,50 µg/L e 1,00 µg/L.

Na tabela 4-7 apresentam-se os valores de precisão intermédia obtidos.

Tabela 4-7 - Precisão intermédia para o mercúrio.

	Padrão 0,10 µg/L	Padrão 0,50 µg/L	Padrão 1,00 µg/L	Duplicados
ER (%)	5,59	3,39	3,46	-
CV (%)	7,09	4,55	3,97	-
Precisão (%)	6,29	4,04	3,52	3,7

A precisão intermédia do método é 6,29 % que corresponde à precisão do LQ que é o caso mais crítico, ou seja, aonde há maiores desvios. O valor obtido encontra-se de acordo com o valor legislado pelo Decreto-lei nº152/2017. O valor máximo estabelecido é 10%. Desta forma, o desempenho do método é validado.

▪ **Exatidão**

A avaliação da exatidão foi efetuada pelo desempenho na participação de Ensaios Interlaboratoriais. Na tabela 4-8 é possível observar o desempenho obtido na participação do ensaio interlaboratorial.

Tabela 4-8 - Desempenho na participação do ensaio interlaboratorial.

Elemento	Valor referência µg/L	Valor laboratório µg/L	Z-score
Mercúrio	0,27 µg/L	0,27 µg/L	0,000

O desempenho foi satisfatório uma vez que o valor Z-core deu 0,000 o que significa que o valor referência está de acordo com o valor do laboratório.

4.1.3 Estimativa do cálculo da incerteza

A incerteza associada a este método é calculada de acordo com a instrução ITL_0002, que está apresentada no subcapítulo 2.4 na parte da validação dos resultados. A estimativa do cálculo da incerteza está relacionada com a componente da incerteza padrão associada ao método e ao bias do laboratório (U_b). Por inferência, estão os valores individuais de bias referentes aos ensaios de recuperação (b_{rms}). Na tabela 4-9 está apresenta a incerteza obtida para o mercúrio.

Tabela 4-9 - Incerteza obtida para o mercúrio.

Elemento	Incerteza (%)
Mercúrio	23,8

O valor de incerteza obtido é inferior ao valor legislado no Decreto-lei nº152/2017, valor esse correspondente a 30% e, por isso demonstra mais uma vez que o desempenho do método é validado.

4.1.4 Validação e adequação ao uso do método

O laboratório no final da validação verifica se são cumpridos todos os requisitos legais, como se pode observar na tabela 4-10.

Tabela 4-10 - Validação final com todos os requisitos legais.

Desempenho do método	LabAdN	DL n° 236/1998	Avaliação	DL n° 152/2017	Avaliação
Precisão intermédia	6,29 %	-	-	10%	Ok
Exatidão	8,1 %	-	-	20%	Ok
LD	0,0049 µg/L	-	-	0,2 µg/L	Ok
LQ	0,10 µg/L	-	-	-	-
Incerteza expandida	23,8 %	-	-	30%	Ok

Como já foi referido o DL n° 236/1998 diz respeito a água natural doce e o DL n° 152/2017 a água consumo humano. No DL n° 236/1998 não há valores de referência para o mercúrio utilizando o ICP-MS.

Como se pode verificar todos os valores obtidos se encontram de acordo com o DL n° 152/2017 e, por isso é possível concluir que todos os requisitos legais foram cumpridos.

Concluindo, o mercúrio foi implementado e validado e o método foi bem desempenhado.

5. CONCLUSÕES

O objetivo do trabalho desenvolvido foi a implementação e validação do mercúrio por ICP-MS em matrizes de água para consumo humano e água natural doce (superficial e subterrânea). O ICP-MS é um equipamento moderno que permite fazer análises multi-elementar de uma amostra, de elevada sensibilidade, de resposta rápida com larga gama de trabalho e com bom controlo de interferências.

Ao longo do estágio, foi necessário conhecer todo o processo de tratamento de águas, equipamento e materiais, assim como todo o sistema de funcionamento da empresa.

Em suma, a determinação de metais por ICP-MS é uma solução vantajosa em análises a águas para consumo humano, especialmente por ser multi-elementar e possuir limites de deteção muito inferiores aos limites de deteção conseguidos por outras técnicas. Os resultados quantitativos são obtidos por comparação da intensidade do sinal com as geradas pelos padrões de calibração.

Por fim, o método é considerado validado quando completar os requisitos da matriz de validação, cujo registo formalizado num relatório de validação e controlo de qualidade para cada parâmetro.

Pela observação dos resultados obtidos (tabela 4-9) é possível verificar que todos os requisitos legais foram cumpridos e, por isso, conclui-se que o mercúrio foi implementado e validado e o método foi bem desempenhado.

Para finalizar, este estágio foi uma mais-valia e foram adquiridos bastantes conhecimentos no tratamento de águas para consumo humano, que é um tema importante, visto que, a água é um bem essencial à vida. Para além disso, a experiência no manuseamento em ICP-MS foi sem dúvida uma oportunidade enriquecedora e única pois este equipamento é moderno e ainda não é utilizado por muitas empresas em Portugal.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Grupo AdP - Águas de Portugal. (2015). Águas de Portugal. Obtido 10 de Março de 2021, de <https://www.adp.pt/pt/>
- [2] Águas do Norte, S.A (2015). Águas do Norte. Obtido 10 de Março de 2021, de <http://www.adnorte.pt/>
- [3] Águas do Norte, S.A (2017). As Intervenções Para Fecho De Sistemas De Saneamento. Obtido 9 de Março de 2021, de <https://poseur.portugal2020.pt/media/39942/31apresentação-manuel-moras.pdf>
- [4] Perdigão, A. (2011). *Controlo de Qualidade e Análise de Águas de Consumo Humano*, Tese de Mestrado em Química Analítica e Qualidade, Universidade de Aveiro. 77pp.
- [5] Rocha, A. (2009). *Espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo-ICP-MS: implementação e validação de um método para determinação de metais em águas para consumo humano*, Tese de Mestrado em Química Industrial, Universidade da Beira Interior. 169pp.
- [6] Silva, L. (2010). *Controlo da qualidade da água de consumo humano no concelho da Povoação (São Miguel): diagnóstico e implicações para a saúde pública*, Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ambiente, Saúde e Segurança, Universidade dos Açores. 192pp. Obtido de <https://core.ac.uk/download/pdf/61436415.pdf>
- [7] Documento interno do laboratório da empresa - PRL_0006.
- [8] Decreto-Lei nº 306/2007. (2007). Decreto-Lei nº 306/2007 do Ministério Do Ambiente, Do Ordenamento Do Território E Do Desenvolvimento Regional de 27 de Agosto sobre a regulação da qualidade da água utilizada para consumo humano.
- [9] CUE (Conselho da União Europeia). (1998). Directiva 98/83/CE Concerning the quality of water intended for human consumption. Obtido 11 de Março de 2021, de

Official Journal of the European Communities website:
http://www.iasaude.pt/attachments/article/658/Diretiva_98-83-CE.pdf

- [10] República, D. da. (2017). *Decreto-lei nº 152/2017 7 de dezembro*. Ministério do Ambiente.
- [11] República, D. da. (1998). *Decreto-Lei nº 236/98 de 1 de Agosto* (pp. 3676–3722). pp. 3676–3722. Ministério do Ambiente.
- [12] Ferreira, J. (2009). *Distribuição do mercúrio nas águas termais e engarrafadas do Norte de Portugal*, Tese de Mestrado em Engenharia Geotécnica e Geoambiente, Instituto Superior de Engenharia do Porto. 124pp.
- [13] Maia, L. (2019). *Avaliação Toxicológica e Remoção de Mercúrio (II) em Águas contaminadas e Resíduos de Mineração da Bacia do Rio Doce usando Nanoabsorventes de FeOOH modificado quimicamente*. Tese (doutorado) Pós-Graduação em Química, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. 149pp.
- [14] Santos, H. (2008). *Acumulação de mercúrio em diferentes tecidos do Caçõ*, Tese de Mestrado em Química Analítica e Controlo de Qualidade, Universidade de Aveiro. 69pp.
- [15] Ribeiro, C. (2005). *Estabelecimento de uma rotina laboratorial para análise química de sedimentos e sua aplicação a sedimentos continentais do Minho (NW Portugal): contribuição para a reconstituição paleoambiental da região (Capítulo 5)*, Tese de Mestrado em Ciências do Ambiente (Ramo de especialização em Qualidade Ambiental), Universidade do Minho. [67-110] pp.
- [16] Brito, P. (2016). *Introdução ao ICP-MS*, Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P. (IPMA). 117pp.
- [17] Documento interno do laboratório da empresa - PRL_0007.
- [18] Skoog, D.A, Holler, F.J, & Nieman, T.a (1998). *Princípios de Análise Instrumental - Capítulo 10* (5ª Edição; Bookman, Ed.). Porto Alegre.

- [19] Skoog, D.A, Holler, F.J, & Nieman, T.a (1998). *Princípios de Análise Instrumental - Capítulo 11* (5ª Edição; Bookman, Ed.). Porto Alegre.
- [20] Standard 11266, I. (2004). International Standard ISO 17294-1:2004. *61010-1 Iec:2001*, Vol. 2004, p. 13.

ANEXOS

Anexo A - Lista detalhada dos resultados obtidos

⇒ Precisão intermédia dos padrões

- Padrão 0,10 µg/L

Tabela A-1 - Valores referência para o padrão 0,10 µg/L.

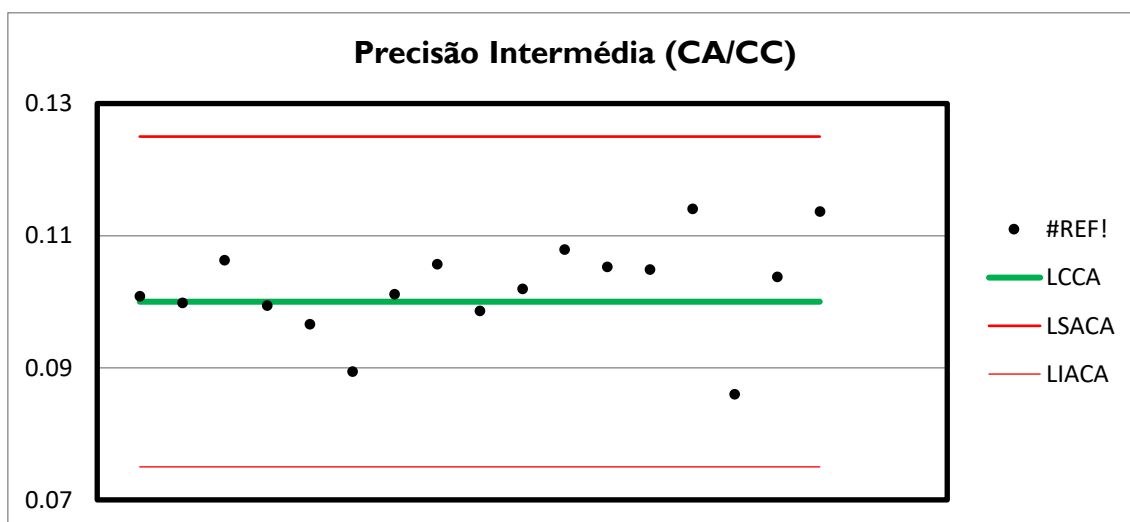
Padrão	0,10
CA(%)	25,0%

Tabela A-2 - Valores de padrão 0,1 µg/mL e limites utilizados para a determinação da precisão intermédia.

Data	Res. (x)	$(x - x_{med})^2$	E.R (%)	LC _{CA}	LSA _{CA}	LIA _{CA}	LC _{CC}	LSC _{CC}	LSA _{CC}	LIA _{CC}	LIC _{CC}
04/06/2021	0,1007	0,000	0,7	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
04/06/2021	0,0998	0,000	0,2	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
07/06/2021	0,1062	0,000	6,2	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
07/06/2021	0,0994	0,000	0,6	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
22/06/2021	0,0965	0,000	3,5	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
22/06/2021	0,0893	0,000	10,7	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
23/06/2021	0,1011	0,000	1,1	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
23/06/2021	0,1056	0,000	5,6	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
15/07/2021	0,0986	0,000	1,4	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
15/07/2021	0,1019	0,000	1,9	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
16/07/2021	0,1078	0,000	7,8	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
16/07/2021	0,1053	0,000	5,3	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
22/07/2021	0,1048	0,000	4,8	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
22/07/2021	0,1140	0,000	14,0	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
27/07/2021	0,0859	0,000	14,1	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
23/09/2021	0,1037	0,000	3,7	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08
23/09/2021	0,1136	0,000	13,6	0,1	0,13	0,08	0,10	0,12	0,12	0,09	0,08

Tabela A-3 - Precisão intermédia obtida para o padrão 0,10 µg/mL.

ER(%)	5,59
CV(%)	7,09
Média(x_{med})	0,10
DP	0,01
Precisão (%)	6,29
n	17



- Padrão 0,5 µg/mL

Tabela A-4 - Valores referência para o padrão 0,5 µg/mL.

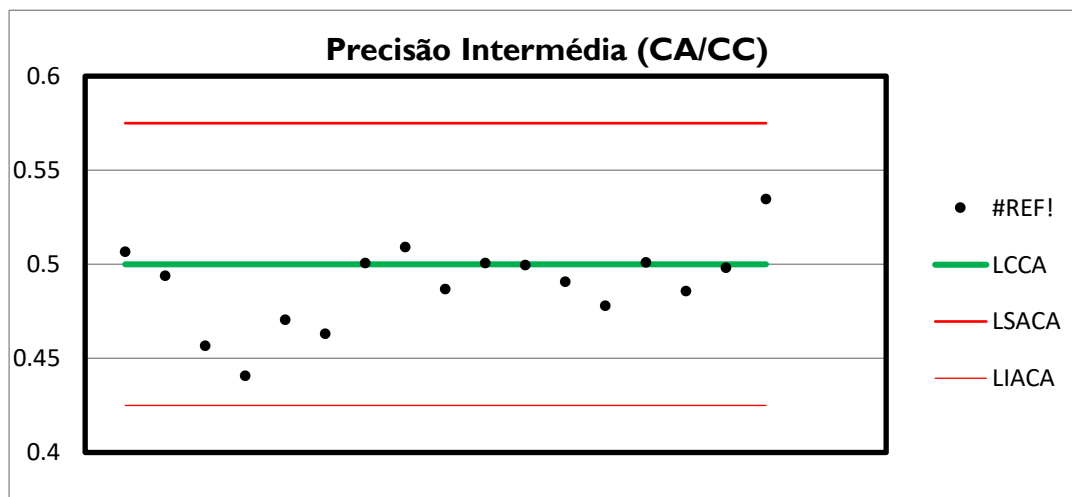
Padrão	0,50
CA(%)	15,0%

Tabela A-5 - Valores de padrão 0,50 µg/mL e limites utilizados para a determinação da precisão intermédia.

Data	Res. (x)	$(x - x_{med})^2$	E.R (%)	LC_{CA}	LSA_{CA}	LIA_{CA}	LC_{CC}	LSC_{CC}	LSA_{CC}	LIA_{CC}	LIC_{CC}
04/06/2021	0,5066	0,000	1,3	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
04/06/2021	0,4940	0,000	1,2	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
07/06/2021	0,4570	0,001	8,6	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
07/06/2021	0,4410	0,002	11,8	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
22/06/2021	0,4706	0,000	5,9	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
22/06/2021	0,4631	0,000	7,4	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
23/06/2021	0,5007	0,000	0,1	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
23/06/2021	0,5091	0,001	1,8	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
15/07/2021	0,4870	0,000	2,6	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
15/07/2021	0,5008	0,000	0,2	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
16/07/2021	0,4996	0,000	0,1	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
16/07/2021	0,4908	0,000	1,8	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
22/07/2021	0,4781	0,000	4,4	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
22/07/2021	0,5011	0,000	0,2	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
27/07/2021	0,4858	0,000	2,8	0,5	0,58	0,43	0,49	0,55	0,53	0,45	0,43
23/09/2021	0,4981	0,000	0,4	0,5	0,58	0,43	0,49	0,56	0,53	0,44	0,42
23/09/2021	0,5349	0,002	7,0	0,5	0,58	0,43	0,49	0,56	0,53	0,44	0,42

Tabela A-6 - Precisão intermédia obtida para o padrão 0,50 µg/mL.

ER(%)	3,39
CV(%)	4,55
Média(x_{med})	0,49
DP	0,02
Precisão (%)	4,09
n	17



- Padrão 1,0 µg/mL

Tabela A-7 - Valores referência para o padrão 1,00 µg/mL.

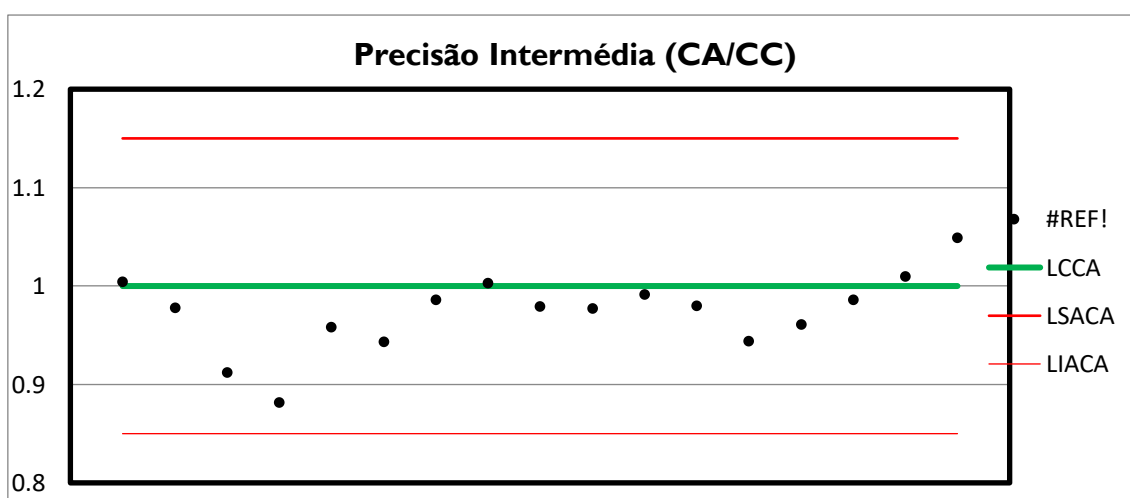
Padrão	1,00
CA(%)	15,0%

Tabela A-8 - Valores de padrão 1,00 µg/mL e limites utilizados para a determinação da precisão intermédia

Data	Res. (x)	$(x - x_{med})^2$	E.R (%)	LC_{CA}	LSA_{CA}	LIA_{CA}	LC_{CC}	LSC_{CC}	LSA_{CC}	LIA_{CC}	LIC_{CC}
04/06/2021	1,0041	0,001	0,4	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
04/06/2021	0,9778	0,000	2,2	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
07/06/2021	0,9123	0,003	8,8	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
07/06/2021	0,8815	0,007	11,9	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
22/06/2021	0,9584	0,000	4,2	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
22/06/2021	0,9432	0,001	5,7	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
23/06/2021	0,9861	0,000	1,4	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
23/06/2021	1,0026	0,001	0,3	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
15/07/2021	0,9795	0,000	2,1	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
15/07/2021	0,9770	0,001	2,3	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
16/07/2021	0,9912	0,000	0,9	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
16/07/2021	0,9797	0,000	2,0	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
22/07/2021	0,9437	0,000	5,6	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
22/07/2021	0,9609	0,000	3,9	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
27/07/2021	0,9857	0,000	1,4	1,0	1,15	0,85	0,97	1,07	1,03	0,90	0,86
23/09/2021	1,0097	0,001	1,0	1,0	1,15	0,85	0,97	1,09	1,05	0,90	0,86
23/09/2021	1,0488	0,006	4,9	1,0	1,15	0,85	0,97	1,09	1,05	0,90	0,86

Tabela A-9 - Precisão intermédia obtida para o padrão 1,00 µg/mL.

ER(%)	3,46
CV(%)	3,97
Média(x_{med})	0,97
DP	0,04
Precisão (%)	3,52
n	17



⇒ **Precisão intermédia duplicados**

Tabela A-10 - Valor referência.

CA(%)	10,0%
--------------	-------

Tabela A-11 - Valores dos duplicados e limites utilizados para a determinação da precisão intermédia.

Data	Matriz	1º res.	2º res.	$(1^\circ res - 2^\circ res)^2$	Amp.Rel (%)	LA	LC_{CC}	LAv_{CC}	Lcont_{CC}
04/06/2021	EIL	1,02	1,00	0,000	2,08	10,0	33,09	192,40	272,06
04/06/2021	EIL	0,10	0,10	0,000	2,17	10,0	33,09	192,40	272,06
07/06/2021	EIL	0,44	0,46	0,000	3,42	10,0	33,09	192,40	272,06
22/06/2021	ACH	0,45	0,45	0,000	0,58	10,0	33,09	192,40	272,06
22/06/2021	AND	0,45	0,46	0,000	1,32	10,0	33,09	192,40	272,06
22/06/2021	ACH	0,45	0,45	0,000	1,22	10,0	33,09	192,40	272,06
23/06/2021	ACH	0,45	0,44	0,000	2,63	10,0	33,09	192,40	272,06
16/07/2021	ACH	0,10	0,10	0,000	1,49	10,0	33,09	192,40	272,06
27/07/2021	AND	0,44	0,45	0,000	1,70	10,0	33,09	192,40	272,06
23/09/2021	EIL	0,13	0,14	0,000	1,28	10,0	30,24	182,90	259,23
23/09/2021	EIL	0,29	0,29	0,000	2,29	10,0	30,24	182,90	259,23

Tabela A-12 - Precisão intermédia dos duplicados.

Média AR (%)	1,83
DP(%)	0,79
n	11
S_{precisão}	0,007
S'_{precisão}(%)	0,556
S'_{precisão}(%)	1,626
$\sum(y_1-y_2)^2$	0,001
u_{r,range} (%)	1,63
Precisão (%)	1,83

⇒ **Seletividade e especificidade**

Tabela A-13 - Volumes e concentrações das amostras e reforço obtidos e utilizados para a determinação da recuperação.

Data	Matriz	[amostra]	[am.+Ref.]	V.am.+V.ref	Vol.am.	Vol.Ref.	[Reforço]	Recuperação(%)
04/06/2021	EIL	1,01	1,40	10	9,5	0,5	10	88,490
07/06/2021	EIL	0,45	0,95	10	9,5	0,5	10	103,497
22/06/2021	ACH	0,00	0,45	10	9,5	0,5	10	90,316
22/06/2021	AND	-0,01	0,45	10	9,5	0,5	10	92,197
22/06/2021	AND	-0,01	0,45	10	9,5	0,5	10	91,029
22/06/2021	ACH	-0,01	0,45	10	9,5	0,5	10	91,559
23/06/2021	ACH	0,44	0,86	10	9,5	0,5	10	87,881
23/06/2021	ACH	0,07	0,61	10	9,5	0,5	10	107,684
16/07/2021	ACH	0,00	0,00	10	9,5	0,5	10	88,75
27/07/2021	AND	-0,02	0,44	10	9,5	0,5	10	91,423
27/07/2021	ACH	0,00	0,49	10	9,5	0,5	10	97,253
23/09/2021	EIL	0,13	0,64	10	9,5	0,5	10	102,306
23/09/2021	EIL	0,29	0,80	10	9,5	0,5	10	104,254

Média recuperação = 95,13%