



Contaminantes emergentes em cemitérios: avaliação exploratória

HUGO MIGUEL GOMES MONTEIRO

Outubro de 2015



Instituto Superior de Engenharia do Porto

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA GEOTÉCNICA



Contaminantes emergentes em cemitérios: avaliação exploratória

Hugo Miguel Gomes Monteiro



2015

(página propositadamente em branco)



Instituto Superior de Engenharia do Porto

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA GEOTÉCNICA

Contaminantes emergentes em cemitérios: avaliação exploratória

Hugo Miguel Gomes Monteiro

Nº 1120974

*Dissertação apresentada ao Instituto Superior de Engenharia do Porto para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Geotécnica e Geoambiente**, realizada sob a orientação Doutor Antonio Vega y de la Fuente, Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Geotécnica do ISEP e da Doutora Cristina Maria Fernandes Delerue Alvim De Matos, Professora Coordenadora com Agregação do Departamento de Engenharia Química do ISEP.*

(página propositadamente em branco)

Agradecimentos

As minhas primeiras palavras dirigem-se aos meus Pais e Irmã que com muito carinho e apoio permitiram que eu concluísse esta etapa da minha vida. Também gostaria de agradecer a todos amigos e colegas pelo incentivo e bons momentos.

Agradeço ao ISEP – Instituto Superior de Engenharia do Porto, em especial ao Departamento de Engenharia Geotécnica e ao Departamento de Engenharia Química pela oportunidade de trabalho neste tema e pelos apoios laboratoriais prestados na sua concretização.

A nível individual gostaria de agradecer aos meus orientadores científicos, o Professor Doutor Antonio Vega e a Professora Doutora Cristina Delerue Matos, pela paciência e por me guiarem durante este percurso, exigindo sempre o melhor de mim.

Gostaria ainda de deixar uma nota de apreço às equipas do Grupo de Reacção e Análises Químicas (GRAQ) e do Laboratório de Geotecnia e Materiais de Construção (LGMC), em especial ao Engenheiro Rogério Pinheiro, pela grande ajuda que me deram durante as diversas análises realizadas e pela disponibilidade que sempre demonstraram em esclarecer todas as minhas dúvidas.

Por fim, gostaria de transmitir uma palavra de reconhecimento a todos aqueles que foram importantes na minha caminhada e que não mencionei, pois sem eles este trabalho nunca seria concluído.

(página propositadamente em branco)

Palavras-chave

Cemitérios, Contaminação, Impacto Ambiental, Metais, Fármacos, Geoambiente.

Resumo

A constituição dos solos, as condições que reúnem e o seu conteúdo microbiológico permitem que a matéria orgânica enterrada se degrade, sendo estas várias das muitas razões para a utilização dos solos como cemitério. Com o desenvolvimento tecnológico, o crescente número de unidades cemiteriais e o aumento da preocupação ambiental e da saúde pública, realizaram-se estudos com o objetivo de caracterizar e quantificar quais os poluentes existentes e avaliar o seu impacto no meio ambiente. Este trabalho, que vem no seguimento dessa crescente preocupação visa caracterizar e quantificar tanto em amostras de solo como em amostras de águas, quais os elementos poluentes existentes no cemitério de Paranhos. De maneira a identificar estes elementos poluentes realizou-se uma campanha de amostragem no cemitério onde se retiraram tanto amostras de solo como amostras de água, procedendo ao seu tratamento e à sua análise em laboratório, utilizando os métodos de fluorescência de raios X e espectrometria de massa respetivamente. Após o tratamento e a análise concluiu-se que nas amostras de solo, todos os metais detetados estão em maior quantidade no solo do cemitério excetuando o ferro sendo que ainda se aferiu a existência de fármacos nas amostras de água, nomeadamente a sertraline e carbamazepina.

(página propositadamente em branco)

Keywords

Graveyards, Contamination, Environmental Impact, Metals, Pharmaceuticals, Geoenvironment.

Abstract

The soil matrix, their environmental conditions and their microbiological content allow the buried organic matter to be degraded, making this the major reasons why these soils are used as a graveyard. With technological development, the growing number of graveyard units and the increasing environmental and public health concern, studies were carried out in order to characterize and quantify the pollutants and assess their impact on the environment. This thesis, which follows the growing concern, aims to characterize and quantify the pollutant elements, both in soil and water samples, in the cemetery of Paranhos. In order to identify these pollutants elements it was carried out a sampling in the cemetery area where it was collected both soil and water samples, treatment and analyzing them in the laboratory using the fluorescence X-ray methods and spectrometry mass respectively. After the treatment and analysis on the soil samples, we can conclude that all the detected metals are in larger quantity on the soil sample with the exception of iron. Likewise, on the water sample there was detected two pharmaceuticals which were sertraline and carbamazepine.

(página propositadamente em branco)

Índice

1.	Introdução e Objetivos.....	14
2.	Estado da Arte: breve síntese.....	15
2.1.	Historial.....	15
2.2.	Focos de Interesse.....	18
2.2.1.	Revisão legislativa.....	19
2.2.2.	Práticas funerárias.....	21
2.2.3.	Decomposição.....	23
2.2.4.	Fármacos.....	26
2.2.5.	Clima e geologia.....	28
3.	Impacto ambiental de um cemitério.....	32
3.1.	Escolha e validação do processo analítico.....	34
3.2.	Indicadores ambientais de um cemitério.....	37
4.	Metodologia.....	39
4.1.	Materiais utilizados.....	39
4.2.	Caracterização das amostras de águas.....	41
4.3.	Caracterização das amostras de solo.....	51
5.	Resultados.....	56
5.1.	Resultados das amostras de águas.....	56
5.2.	Resultados da análise das amostras de solo.....	65
6.	Conclusões.....	72
7.	Bibliografia.....	74
8.	Anexos.....	78

Índice de figuras

Figura 1 – Ordem cronológica dos estudos da contaminação em águas nas proximidades de cemitérios.	17
Figura 2 – Ordem cronológica dos principais trabalhos efetuados em solos de cemitério.	18
Figura 3- Organograma representativo dos fatores de interesse presentes na dissertação.	18
Figura 4 - Crematório do Porto.	22
Figura 5 – Situações de risco de um cemitério segundo Pacheco 2000.	31
Figura 6 - Plano de amostragem de águas.	41
Figura 7 - Amostra de água de cemitério.	42
Figura 8 - Sistema de filtração utilizado nas amostras de águas de cemitério.	42
Figura 9 - Cromatogramas individuais para cada composto.	46
Figura 10 - Sobreposição dos cromatogramas de todos os compostos em análise.	47
Figura 11 - LC-MS/MS-8030 da Shimadzu corporation, Kyoto, Japão.	48
Figura 12 -Etapas de extração por SPE.	49
Figura 13 - Plano de amostragem em solos.	51
Figura 14 - Estufa utilizada na caracterização das amostras sólidas.	53
Figura 15 – Peneiros de 250 microns e de 125 microns.	53
Figura 16 - Preparação de amostra em cápsula.	54
Figura 17 - Thermo Scientific (Niton Analyzers).	54
Figura 18 - Isolinhas do pH no cemitério de Paranhos.	57
Figura 19 - Isolinhas da sertraline no cemitério de Paranhos.	60

Índice de tabelas

Tabela 1 - Exemplos de várias urnas ecológicas.....	23
Tabela 2 – Etapas de decomposição em um corpo humano.	25
Tabela 3 – Características de alguns fármacos.	27
Tabela 4- Permeabilidade do terreno em função do tipo de solo.	30
Tabela 5- Fatores geológicos que determinam o comportamento das rochas.	31
Tabela 6 – Guião utilizado no Brasil para a avaliação de um cemitério.	33
Tabela 7 – Etapas de um processo de amostragem.....	34
Tabela 8 – Tipos de amostragem existentes.	35
Tabela 9 - Técnicas utilizadas no tratamento de fármacos.....	36
Tabela 10 - Indicadores ambientais para cemitérios.	38
Tabela 11 - Tempos de retenção dos fármacos para dez injeções da solução padrão.	45
Tabela 12 - Ficha de campo para amostras líquidas.	50
Tabela 13 - Parâmetros analisados nas amostras de solo.....	52
Tabela 14 - Ficha de campo para amostras sólidas.....	55
Tabela 15 - Valores de pH para as amostras.	56
Tabela 16 - Concentração de fármacos nas amostras de água.	58
Tabela 17 – Observações respetivas à sertraline e à carbamazepina.....	59
Tabela 18 - Concentração ($g \times 10^{-9}/L$) obtida da sertraline para as 7 amostras analisadas.....	59
Tabela 19 - Ficha de campo da zona Z1.	61
Tabela 20 - Ficha de campo da zona Z2.	62
Tabela 21 - Ficha de campo da zona Z3.	63
Tabela 22 - Ficha de campo da zona Z4.	64
Tabela 23 – Codificação adotada.	65
Tabela 24 - Metais presentes nas amostras de solo.	65
Tabela 25 – Fator de enriquecimento das amostras.....	66
Tabela 26 – Comparação entre as amostras Z2 e Z3.	67
Tabela 27 – Ficha de campo da zona Z0-Ponto Neutro.	68
Tabela 28 – Ficha de campo da zona Z1-Ponto Neutro.	69
Tabela 29 – Ficha de campo da zona Z2-Solo.	70
Tabela 30 - Ficha de campo da zona Z3-Solo.	71

1. Introdução e Objetivos

O hábito de utilizar o interior das igrejas como cemitério é uma prática comum desde o início do Cristianismo. O aumento da demografia e questões higiénicas, num contexto ideológico Iluminista, foram os principais fatores que fizeram com que, a partir do século XVIII, algumas vezes se levantassem contra as inumações no interior das igrejas. Em Portugal, as primeiras tentativas legislativas no sentido de acabar com esta tradição, não deram resultado porque o processo de laicização da sociedade estava bastante retardado em relação a outros países europeus. Assim, foi necessário que muita tinta corresse até que os cemitérios públicos portugueses fossem oficialmente criados, em 1835 (www.cm-porto.pt, consultado em 04 de 2014). Uma das grandes razões para a utilização dos solos como cemitério, deve-se sobretudo à sua capacidade de depuração e à sua utilização como depósito de resíduos desde dos tempos antigos. Em geral a constituição mineralógica do solo, as condições intempéricas e o seu conteúdo microbiológico permite reunir todas as condições para degradar a matéria orgânica enterrada de maneira discreta e fora da visão humana (Fofonka et al., 2011)

Na cidade do Porto, decorria o ano de 1833 quando, a Mesa da Irmandade de Nossa Senhora da Lapa pediu a D. Pedro IV que autorizasse a construção de um cemitério privativo. Com a autorização de D. Pedro IV o cemitério da Lapa foi construído e ainda hoje é considerado o cemitério "moderno" mais antigo do Porto, mesmo não sendo público, até porque foi criado antes do decreto de 1835. Em Dezembro de 1835 foi também inaugurado o primeiro cemitério público do Porto: o Prado do Repouso. Porém, só em 1855 a situação dos cemitérios no Porto alterou-se um pouco, devido a uma segunda grande epidemia de cólera. As autoridades civis conseguiram fechar os cemitérios privativos que não tinham condições e, paralelamente, mandaram construir, de forma apressada, um novo cemitério municipal: Agramonte. Após esta grave epidemia, todos os cemitérios das Irmandades acabaram por ser reabertos, embora fosse já cada vez menos consensual a manutenção daqueles que não tinham condições. Num processo longo e difícil, cada Irmandade foi negociando com a Câmara Municipal do Porto a aquisição de secções privativas nos cemitérios municipais, tendo sido a Irmandade da Misericórdia do Porto a primeira a fazê-lo. Nos dias correntes, a cidade do Porto tem oito cemitérios ou secções privativas em funcionamento tornando-se tornou-se um caso único no país (www.cm-porto.pt, consultado em 04 de 2014).

Desde da altura da sua criação que os cemitérios têm sido negligenciados como uma possível fonte de contaminação. Esta atitude provém sobretudo da dificuldade em ultrapassar os efeitos

psicológicos e valores sociais e culturais associados a esta prática, criando assim uma espécie de *tabu* social. Nos tempos correntes com o desenvolvimento tecnológico, o crescente número de unidades cemiteriais e o aumento da preocupação ambiental e da saúde pública, começou-se a dar mais importância ao estudo dos problemas ambientais causados por estas unidades sendo estes problemas confirmados com a existência de alguns registos históricos de contaminação de águas subterrâneas (Oliveira, 2009).

A presente dissertação tem como objetivo a medição de alguns poluentes existentes no cemitério de Paranhos. A escolha deste cemitério deveu-se à sua localização geográfica. Paranhos é a maior freguesia da cidade do Porto e a terceira maior do país, e a água utilizada nesse cemitério tem origem nas sete nascentes, o que exige um controlo sobre a sua qualidade (www.freguesias.pt, consultado em 04 de 2014).

2. Estado da Arte: breve síntese

2.1. Historial

Na definição mais popular de um cemitério, este é visto como um “aterro” de características próprias que é altamente influenciado tanto pelo tempo como espaço e ainda pelas práticas utilizadas (Dent, 2002). A sua localização, em geral, é escolhida o mais longe possível dos perímetros urbanos. Contudo, com a expansão urbana esta distância tende a diminuir, envolvendo-os e inserindo-os por vezes na malha urbana (Espindula et al., 2004). Estes espaços seguem normas legislativas próprias de maneira a tornar o local o mais seguro e agradável possível. No entanto, a ideia de que o cemitério é um local seguro e isento de qualquer forma de poluição, é uma ideia errada. Com a realização de estudos científicos com grande enfoque nas condições hidrogeológicas e nas interações homem-ambiente, descobre-se uma grande variedade de elementos poluentes.

É necessário ter em atenção que alguns dos poluentes que têm origem nas interações homem-ambiente dependem sobretudo, da influência do estilo de vida dos corpos sepultados, tais como tipo de alimentos ingeridos, tratamentos médicos, etc. (Dent, 2002). Quando os cemitérios são construídos muitas das vezes desvaloriza-se os aspetos técnicos necessários à proteção dos solos e das águas subterrâneas (Espindula et al., 2004).

Os estudos relativos ao impacto dos cemitérios na qualidade das águas subterrâneas, apresentam uma grande variedade de resultados fruto das condições ambientais, temporais e até do próprio país onde foram efectuados. O pioneiro desta investigação foi Van Haaren (Van Haaren, 1951), que

embora sem ter em atenção ao tipo de solo, mediu concentrações elevadas de alguns iões (por exemplo: cloretos com concentrações de 500 mg/l, sulfatos com concentrações de 300 mg/l e bicarbonatos com concentrações de 450 mg/l) e uma condutividade alta (cerca de 2300 μ S/cm). Estas concentrações de iões foram também detectadas e confirmadas, na Alemanha. Schrap (Schrap, 1972) mediu a concentração dos iões em função da sua distância ao local de enterro e da inclinação do solo, baseando o seu estudo na carência química de oxigénio (CQO), nitratos, amoníaco e dióxido de carbono. No mesmo ano, encontrou evidências de bactérias patogénicas. Esta redução do nível de contaminantes em função da distância foi também estudado por Gray, Mather e Harrison (Gray et al., 1974). Os resultados obtidos foram fruto de um programa de pesquisa financiado pelo Departamento do Meio Ambiente do Reino Unido, denominado “O comportamento dos resíduos perigosos em aterros”. Estes investigadores britânicos demonstraram que as concentrações em causa decrescem lentamente até uma distância cerca de 100 metros a 200 metros sendo que, após esta distância, ocorre um decréscimo muito mais acentuado. Bouwer (Bouwer, 1978), relatou alterações no sabor da água e no odor de poços situados nas proximidades de cemitérios em Paris, sendo que só em 1993, Schneider, Watt, O'Connor, Chang e Wade (Schneider et al., 1993) confirmaram que existia uma relação entre o odor e o sabor da água e a sua proximidade a um cemitério. Durante o ano de 1996 Żychowski, Kolber e Górski (Żychowski, 2012) mediram as concentrações de vários iões, aminoácidos e bactérias em águas subterrâneas perto ou sob a área de influência do cemitério. Três anos depois Young, Blackmore, Leavens e Reynolds (Young et al., 1999) detetaram no cemitério de Northwood em Londres, concentrações de formaldeído (8,6 mg/L) e chamaram a atenção para a ocorrência de pesticidas, fertilizantes e herbicidas. Esta chamada de atenção foi enfatizada por Rodrigues e Pacheco (Rodrigues et al., 2003) ao detetarem bactérias e agentes químicos em três cemitérios portugueses. A Figura 1 mostra a ordem cronológica dos relatos acima referidos.

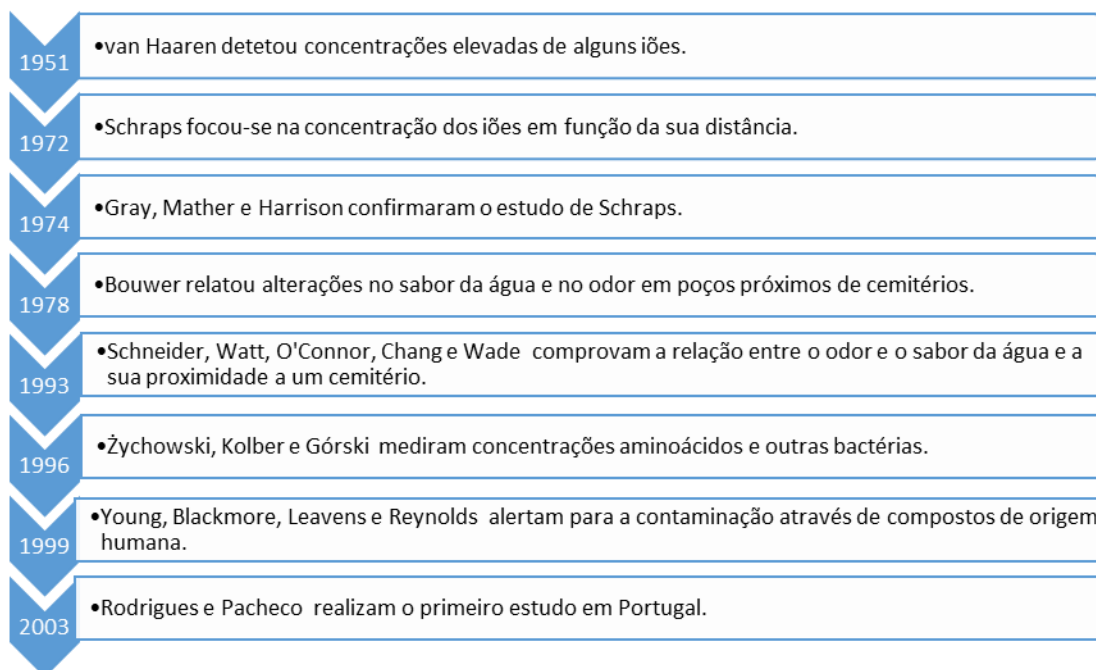


Figura 1 – Ordem cronológica dos estudos da contaminação em águas nas proximidades de cemitérios.

Assim como o impacto do cemitério na qualidade da água foi estudado, também surgiram estudos para averiguar as características do solo. Spongberg e Becks (Spongberg et al., 2000), relataram a presença de metais pesados no solo nas proximidades de 14.610 sepulturas, num cemitério no noroeste de Ohio. Davies, Allison, Uyi (Davies et al., 2006), Smical, Vasile H., Vasile O., Jozsef, Elena (Smical et al., 2008), Vinodhini e Narayanan (Vinodhini et al., 2008) afirmaram que estes metais pesados são conhecidos por serem tóxicos, porque tendem a acumular-se nos organismos vivos (processo de bioacumulação) podendo provocar consequências graves sobre a saúde humana e na qualidade ambiental. Recentemente Amuno (Amuno, 2013) realizou alguns estudos que refletem mudanças na composição química do solo, devido ao efeito da decomposição de cadáveres focando-se no potencial de contaminação dos solos do cemitério, através de valores de concentrações de determinados elementos. Neste trabalho comparam-se amostras fora da influência do cemitério e amostras dentro da influência do cemitério. Como conclusão deste estudo realça-se que as concentrações das amostras presentes no cemitério foram consideravelmente maiores do que as outras. Apesar desta informação ser extremamente valiosa, estes estudos que abordam o problema da contaminação por metais pesados dos solos do cemitério são relativamente escassos à escala global e portanto são inconclusivos. A Figura 2 mostra a ordem cronológica dos trabalhos acima referidos.

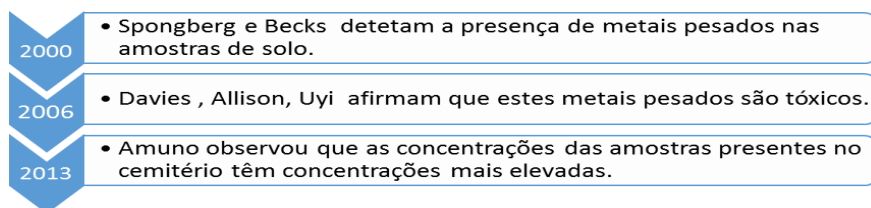


Figura 2 – Ordem cronológica dos principais trabalhos efetuados em solos de cemitério.

2.2. Focos de Interesse

À medida que se foram efetuando estes estudos, procurou-se sobretudo encontrar respostas para as concentrações consideravelmente elevadas. As causas da contaminação do solo e da água de um cemitério podem ter origem num número diferente de fatores, sendo estes de origem social, ambiental, económica e por vezes política (Amuno, 2013). Devido à existência de um grande número de possíveis focos de contaminação, estudá-los todos seria muito moroso e por isso optou-se por seleccionar os que foram mais amplamente estudados (ver Figura 3).

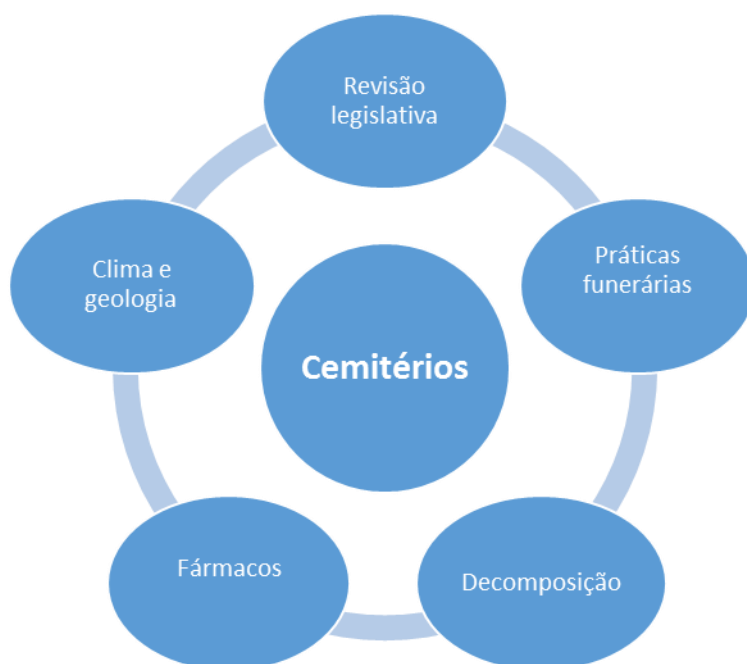


Figura 3- Organograma representativo dos fatores de interesse presentes na dissertação.

2.2.1. Revisão legislativa

A legislação é o fator político atual mais importante uma vez que delimita quais as normas e limites aplicados sobre esta matéria. O «direito mortuário» português, nos seus aspetos essenciais, encontra-se atualmente disperso por vários diplomas legais, em que se destacam o Decreto-Lei n.º 168/2006 de 16 de Agosto que veio retificar o Decreto-Lei n.º 44 220 de 3 de Março de 1962 e o Decreto-Lei n.º 138/2000 de 13 de Julho que retificou o Decreto-Lei n.º 5/2000 de 29 de Janeiro e que por sua vez tinha retificado o Decreto-Lei n.º 411/98 de 30 de Dezembro. Esta dispersão de decretos, a que acrescem a desatualização da terminologia utilizada e a natural evolução dos fenómenos, contribui, de forma determinante, para um desajustamento da disciplina jurídica, face às grandes transformações sofridas pelo País, designadamente na clara insuficiência de resposta aos graves problemas que a saturação dos espaços dos cemitérios tem vindo a colocar às entidades responsáveis pela sua administração (www.dre.pt, consultado em 04 de 2014).

O Decreto-Lei n.º 168/2006 de 16 de Agosto e o Decreto-Lei n.º 44/220 de 3 de Março de 1962 estabelecem que a escolha de terrenos para a instalação de cemitérios ou a ampliação dos existentes, deve ser precedida de uma vistoria efetuada por uma comissão constituída pelo Presidente da Câmara Municipal ou da Junta de Freguesia ou o seu representante, pelo Diretor dos serviços de urbanização do distrito ou Técnico que o substitua e pelo Subdelegado, Delegado ou Inspetor de saúde. A intervenção da administração central na escolha dos terrenos para a instalação ou a ampliação dos cemitérios afigura-se redundante, desde que a localização esteja prevista em plano municipal de ordenamento do território.

Resumidamente, segundo a legislação em vigor, na escolha do terreno deve-se ter em atenção os seguintes fatores:

- A sua área terá de ser suficiente para o movimento obituário das populações a servir;
- Terem, de preferência, a forma regular;
- Não ficarem excessivamente afastados das povoações;
- Terem fáceis acessos, existentes ou a construir, por trajectos que evitem as ruas de grande movimento e as estradas nacionais;
- Serem sensivelmente planos ou com declive pouco acentuado;
- Terrenos de natureza calcáreo-siliciosa, calcáreoargilosa e sílico-calcárea e devendo-se rejeitar os de natureza humosa, calcárea ou fortemente argilosa, salvo se forem corrigidos com areia, produtos calcáreos ou outros aconselháveis;
- Terem drenagem natural ou possibilidade de drenagem artificial simples;

- Serem fáceis de escavar, não apresentando rocha, blocos rochosos ou água, até à profundidade de 2 metros.

Quanto ao procedimento de apreciação dos projetos de construção, ampliação ou remodelação dos cemitérios, entende-se que a participação das Comissões de Coordenação e Desenvolvimento Regional é desnecessária na medida em que os interesses de saúde pública e de salubridade são plenamente acautelados com o parecer da Direcção-Geral da Saúde. Deste modo, a alteração ao referido decreto no sentido de eliminar a participação da administração central na localização dos cemitérios, é justificada sempre que estes já se encontrem previstos em plano de urbanização ou plano de pormenor (www.dre.pt, consultado em 04 de 2014).

O Decreto-Lei n.º 138/2000 de 13 de Julho juntamente com o Decreto-Lei n.º 5/2000 de 29 de Janeiro e o Decreto-Lei n.º 411/98 de 30 de Dezembro estabelecem o regime jurídico da remoção, transporte, inumação, exumação, trasladação e cremação de cadáveres. De forma a evitar a eventual ocorrência de conflitos negativos de competência nesta área (sempre com consequências funestas), definem-se os procedimentos a adotar quando, não havendo lugar à realização de autópsia médico-legal, não é possível proceder à entrega imediata do corpo a quem possua legitimidade para requerer a sua inumação ou cremação, prevendo-se a possibilidade de colaboração entre diversas entidades, designadamente as autoridades de polícia e os bombeiros, na resolução de situações com reflexos na saúde pública. Uma das preocupações que estiveram presente na elaboração destes decretos foi a de libertar de entraves burocráticos, uma área tão sensível como esta, cuja razão de ser se mostrava completamente ultrapassada, deixando assim de considerar como atividade administrativa policial (designadamente a trasladação e a autorização para inumação em locais especiais ou reservados a pessoas de determinadas categorias), e, ao mesmo tempo, reforçando a competência das autoridades de saúde, dos ministros responsáveis pela administração do território, da saúde e do ambiente, e intensificando as competências das autarquias locais (municípios e freguesias) na qualidade de possuidoras e administradoras de cemitérios. Nesta medida, e na senda do que ocorre há já algum tempo na maior parte dos ordenamentos jurídicos, estabelece-se a plena equiparação da inumação e da cremação, isto porque as razões que transparecem no texto legislativo ora revogado não têm qualquer justificação legal atual e são, inclusivamente, contrárias às mais recentes preocupações europeias em matéria ambiental e de saúde pública (www.dre.pt, consultado em 04 de 2014).

2.2.2. Práticas funerárias

Os componentes libertados pela decomposição, seja de “artefactos” ou de cadáveres, apresentam uma correlação muito forte com um fator económico e social: as práticas funerárias. Em Portugal, as principais práticas funerárias para os cadáveres são a inumação e a cremação, sendo que para a preservação dos corpos utiliza-se a técnica de tanatopraxia (Oliveira, 2009).

A tanatopraxia é uma técnica, que consiste na prática de higienização e conservação de corpos humanos através da injeção de líquidos (www.funerariainternacional.pai.pt, consultado em 07 de 2014). É também conhecida como a arte de restauração e recomposição cadavérica, mantendo a aparência natural do cadáver, evitando os efeitos naturais da putrefacção servindo para que o cadáver possa ser transportado a grandes distâncias, bem como cumprir com as determinações legais para o traslado. Outro objetivo da tanatopraxia é evitar a propagação de doenças visto que com essa preparação o cadáver recebe um tratamento com substâncias germicidas (Oliveira, 2009).

A inumação consiste na colocação de um cadáver em sepultura, jazigo ou em um local de consumpção aeróbia, ou seja, uma construção constituída por compartimentos especificamente concebidos de forma a permitir a oxigenação (www.cm-lisboa.pt, consultado em 07 de 2014). Em Portugal, a pratica mais corrente é colocar os cadáveres em um caixão de madeira antes de serem sepultados, que usualmente não são uma grande fonte de poluição, a não ser que esta madeira sofra algum tipo de tratamento através de policloreto de polivinila, creosote e insecticidas (Fiedler et al., 2012).




A prática da cremação, até este século, não era habitual na Europa. Atualmente pratica-se em todos os países europeus e em alguns, a cremação já é adotada para cerca de 70% dos cidadãos falecidos. Em Portugal só existia um crematório, situado no Cemitério do Alto de S. João, em Lisboa (www.cm-porto.pt, consultado em 04 de 2014). Em 2013 existiam dezassete fornos crematórios espalhados pelo país: três em Lisboa, um no Porto (ver Figura 4), um em Matosinhos, um na Figueira da Foz, um em São João da Madeira, um em Vila Franca de Xira, um em Loures, um em Sintra, um em Elvas, um em Ferreira do Alentejo, um em Porto Santo, um na ilha de São Miguel, um em Almada, um em Sesimbra e outro em Oeiras, estando ainda em fase de conclusão mais dois crematórios: Viseu e Mangualde. A cremação consiste na incineração de um cadáver até reduzi-lo a cinzas. Este processo é realizado num forno, designado por forno crematório, onde o cadáver é submetido a um calor intenso durante uma ou duas horas até se transformar numa pequena porção de cinza esbranquiçada (www.agencia-funeraria-alves.pt, consultado em 04 de 2014).



Figura 4 - Crematório do Porto. Fonte: <http://www.jn.pt> consultado em 07 de 2014.

Após a cremação a família recebe os restos mortais em uma urna própria para o efeito e «pode fazer deles o que quiser» (www.aflusitana.pt, consultado em 07 de 2014). Com a necessidade de um desenvolvimento sustentável e da protecção do planeta, as urnas ecológicas (ver Tabela 1) têm vindo a ter cada vez mais procura a nível mundial. Existem cada vez mais agentes funerários a disponibilizar este tipo de urnas e a sua procura tem aumentado de forma consistente. Estas urnas são feitas com madeiras naturais de origem sustentável, preferindo-se as que mais facilmente são absorvidas pelo meio ambiente em detrimento das madeiras com maior grau de conservação. Para se biodegradarem naturalmente em conjunto com o cadáver, não deixando resíduos poluentes ou de difícil decomposição, é comum a utilização de tintas e vernizes aquosos e colas não tóxicas e biodegradáveis. Com o mesmo propósito, não são utilizados quaisquer tipos de metais ou conservantes químicos e os tecidos de poliéster são substituídos por fibras naturais (Oliveira, 2009).

Tabela 1 - Exemplos de várias urnas ecológicas. Fonte: <http://www.limboeurope.com>, consultado em 06 de 2014.

Nome	Descrição	Imagem
Geos	Uma urna composta por um substrato orgânico, fibras, areia e ligantes vegetais.	
Arenae	Urnas fabricadas artesanalmente maioritariamente por areia e uma quantidade mínima de sal do mar e vegetais ligantes. De grande dureza, biodegradável e 100% solúvel.	
Nu	Uma urna solúvel em água feita de sal e ingredientes naturais, sendo 100% biodegradável e projetado para espalhar as cinzas no mar.	
Flamma	Urnas feitas de vidro moldado, cortiça e cera virgem.	

2.2.3. Decomposição

Durante o processo de decomposição de um corpo humano é libertado um líquido que é conhecido em português do Brasil como necrochorume e em português de Portugal como miasma, sendo este o grande responsável pela contaminação do solo e aquíferos subterrâneos.

Este líquido está dependente das condições ambientais, assim como o estilo de vida adoptado entre outros fatores. Para solos secos, com teor de argila entre 20% e 40%, a massa volúmica média do miasma é 1,23 g/cm sendo que a relação entre o volume de miasma e o peso do cadáver é de 0,60 l/kg. Na sua composição média tem 60% de água, 30% sais minerais e 10% substâncias orgânicas complexas (ver Gráfico 1). Tem ainda odor forte e desagradável, é polimerizável e tem cor acinzentada (Carneiro, 2008).

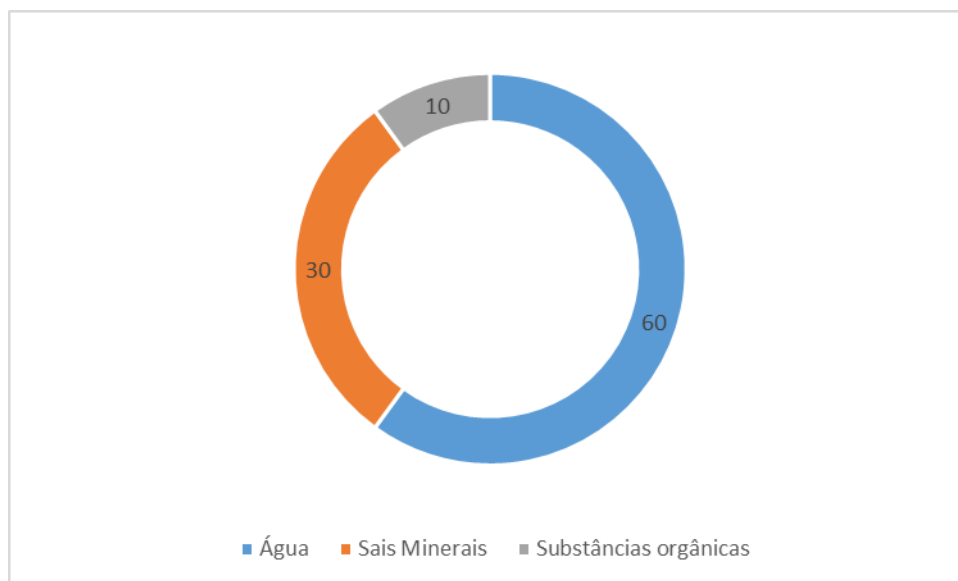


Gráfico 1- Composição média estimada do líquido poluente. Fonte: Carneiro, 2008.

A composição do miasma pode propiciar a sobrevivência e proliferação de microrganismos oriundos da decomposição. Este miasma pode conter bactérias, vírus e substâncias químicas orgânicas e inorgânicas tais como a cadaverina (ou $C_5H_{14}N_2$: 1,5 – pentanodiamina) e a putrescina ($C_4H_{12}N_2$: 1,4 – butanodiamina), tornando-o assim perigoso para a saúde pública (Oliveira, 2009).

O processo de decomposição consiste na divisão da matéria nos seus elementos. Num cemitério o fenómeno de decomposição pode ser visualizado maioritariamente em duas vertentes: nos cadáveres e nos caixões ou urnas. Para além dos corpos, caixões ou urnas qualquer tipo de “artefacto” (roupas, articulações artificiais, “pacemakers”, etc.) sepultado também entra em decomposição, libertando produtos gasosos (CO , CO_2 , CH_4), produtos líquidos, metais, aminas biogênicas (Fiedler et al., 2012), o que leva à alteração das características do solo e da água.

A decomposição assim como qualquer outro processo é regulada por uma série de pressupostos. Estes pressupostos ou fatores intervenientes na decomposição de cadáveres podem ter uma origem intrínseca ou uma origem extrínseca. Entre os primeiros encontram-se a idade, o sexo, a raça, a constituição corporal, a flora intestinal, a causa de morte e a realização ou não de autópsia. Recém-nascidos, obesos ou corpos que sofreram mutilações, infeções ou cancro, têm a sua decomposição acelerada. Entre os fatores extrínsecos estão a temperatura, a humidade, o arejamento, a presença de insetos, larvas e microrganismos e o tipo de solo (constituição mineral, porosidade e permeabilidade, entre outros) (Oliveira, 2009). Analisando a decomposição dos cadáveres, mediante estes fatores apresentados, pode ocorrer um conjunto de transformações:

- Fenómenos abióticos imediatos ou sinais presuntivos de morte: estes fenômenos ocorrem imediatamente após a morte, porém não são por si só diagnósticos definitivos de morte, como por exemplo: inconsciência, paragem cardíaca, etc (Woelfert, 2003)
- Fenómenos abióticos tardios ou sucessivos: ocorrem com o passar do tempo e são característicos de morte, como por exemplo: desidratação, rigidez cadavérica, etc (Woelfert, 2003);
- Fenómenos transformativos: são aqueles que produzem modificações no corpo humano, quer destruindo-o, quer conservando-o e subdividem-se entre destrutivos e conservativos (Woelfert, 2003).

Esta série de transformações que ocorrem no período post mortem, podem ser explicadas pela atração de organismos *detritívoros* (organismos que se alimentam de restos orgânicos mortos) para o corpo humano (Gunn, 2009). Os organismos detritívoros decompõem toda a matéria orgânica existente no corpo segundo um ciclo de cinco etapas: decaimento inicial, putrefação, putrefação negra, fermentação butírica e decadência, sendo que diferentes zonas do corpo podem encontrar-se em diferentes etapas de decomposição (ver Tabela 2) (Bertino, 2011).

Tabela 2 – Etapas de decomposição em um corpo humano. Fonte: Forensic Science: Fundamentals & Investigations.

Etapas	O que acontece
Decaimento inicial	O cadáver parece normal à vista desarmada, mas já apresenta sinais de decomposição.
Putrefação	O cadáver apresenta sinais de inchaço e odor fétido.
Putrefação Negra	Odor fétido intenso. Parte do corpo apresenta uma coloração negra. Começam a escapar os gases e o corpo colapsa.
Fermentação butírica	O cadáver começa a secar e grande parte do corpo já desapareceu.
Decadência	Corpo seco, sendo que a decomposição restante é bastante lenta.

Como foi referido anteriormente, existe um fenómeno transformativo que evita a proliferação de bactérias e microrganismos. Este fenómeno consiste na formação de cera cadavérica ou, também

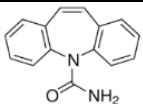
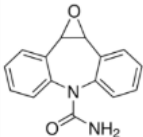
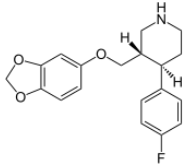
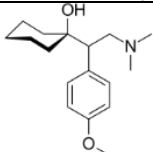
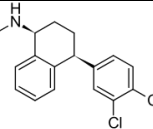
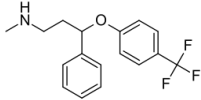
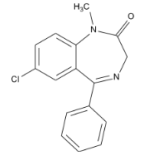
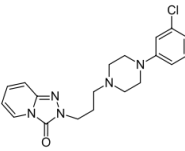
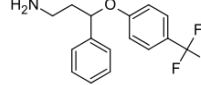
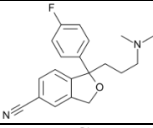
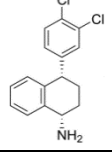
conhecida como adipocera. A adipocera é composta principalmente por ácidos gordos saturados como os ácidos mirístico, palmítico e esteárico tendo ainda outros ácidos como por exemplo o ácido oleico, sais de ácidos gordos (principalmente de cálcio) e hidróxidos de ácidos gordos (por exemplo o 10-hidroxido-estearico) (Silva et al., 2009). O seu processo consiste sobretudo na conversão da gordura corporal numa mistura de lípidos, através da presença de água e de bactérias podendo a sua formação completa pode levar anos, dependendo das condições em que o processo tem lugar (mineralogia do solo, presença de artefactos, etc.). Alguns estudos mostram que a sua formação parcial pode ocorrer em menos de 6 semanas (Forbes et al., 2002)

No que toca à decomposição dos artefatos, caixões ou urnas caso no que respeite ao uso da madeira tradicional, esta não é a mais apropriada para se degradar e os vernizes sintéticos que a cobrem usualmente são poluentes. Estes caixões tradicionais também dificultam a própria decomposição do corpo. Os metais que fazem as pegas dos caixões estão longe de serem inertes e com o tempo os elementos metálicos vão desaparecendo e vão libertando componentes, que uma vez no solo, acabam por contaminar a terra e, posteriormente através da água das chuvas, os lençóis freáticos. Os efeitos dos metais através da contaminação podem trazer consequências a médio e longo prazo para a saúde humana (Ferreira, 2008).

2.2.4. Fármacos

Durante os últimos trinta anos, a investigação sobre os poluentes químicos existentes centraram-se sobretudo nos poluentes mais comuns e considerados prioritários. Estes poluentes químicos são aqueles que provocam efeitos nos organismos vivos, como por exemplo os compostos organoestânicos (utilizados em tintas anti-incrustantes em navios) que afetam negativamente a flora marinha. Contudo, existe um outro grupo de compostos químicos que também apresenta o potencial de causar danos nos organismos vivos, mas que só mais recentemente recebeu atenção. Estes compostos químicos são conhecidos como fármacos (ver Tabela 3) e fazem parte dos designados poluentes emergentes.

Tabela 3 – Características de alguns fármacos. Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> e <http://www.chemicalize.org/>, consultados em 09 de 2014.

Fármacos	Estrutura química	Fórmula química	Peso molecular (g/mole)	Número CAS
Carbamazepina		C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236,27	298-46-4
Carbamazepina-10,11-epoxi		C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₂	252,27	36507-30-9
Paroxetina		C ₁₉ H ₂₀ FNO ₃	329,35	61869-08-7
Venlafaxina		C ₁₇ H ₂₇ NO ₂	277,40	93413-69-5
Sertralina		C ₁₇ H ₁₇ Cl ₂ N	306,23	79617-96-2
Fluoxetina		C ₁₇ H ₁₈ F ₃ NO	309,33	54910-89-3
Diazepam		C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ O	284,73	439-14-5
Trazodona		C ₁₉ H ₂₂ ClN ₅ O	371,86	19794-93-5
Norfluoxetina		C ₁₆ H ₁₆ F ₃ NO	295,30	126924-38-7
Citalopram		C ₂₀ H ₂₁ FN ₂ O	324,39	59729-33-8
Norsertaline		C ₁₆ H ₁₅ Cl ₂ N	292.203	87857-41-8

Em todo o mundo milhares de toneladas de fármacos são utilizados anualmente, mas pouco se sabe sobre o destino final da maioria após a sua utilização. Uma grande porção de uma dose administrada (estima-se que até 90%) pode ser excretada inalterada enquanto os metabolitos podem ser convertidos, dando origem ao composto ativo inicial através de ações ao nível das bactérias. Desta forma, o facto que qualquer fármaco poder ser encontrado no meio ambiente não é de todo surpreendente. A fonte de contaminação ambiental por fármacos não é exclusiva da sua fabricação, mas resulta também do seu uso contínuo e excreção através de urina e fezes e ainda pela disposição inadequada dos seus resíduos (Jones et al., 2003). De entre os fármacos existem várias classes terapêuticas: analgésicos, anti-inflamatórios, anti-depressivos, diuréticos, etc.

De acordo com o relatório do Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED) entre 2000 e 2012 ocorreu um aumento do consumo de psicofármacos. Este aumento do consumo pode dever-se a uma maior acessibilidade aos medicamentos, a uma utilização mais prolongada destes fármacos ou devido à aprovação de novas indicações terapêuticas (Furtado, 2013). A crise que a sociedade atravessa e as pressões laborais e familiares podem contribuir para o aumento de doentes com ansiedade, depressão, entre outros o que leva a um aumento desta classe de fármacos. Esta utilização excessiva contribui para a ocorrência de fármacos em quantidade residual (na faixa de nanogramas e microgramas por litro) no meio ambiente (Fent et al., 2006) e, particularmente, nas águas, incluindo águas residuais, águas subterrâneas e, em menor escala, água potável.

2.2.5. Clima e geologia

Apesar de existir vários fatores ambientais é necessário atender a importância do tipo de geologia e ciclos climáticos a que os cemitérios estão sujeitos (Żychowski, 2012). Os cemitérios podem trazer sérias consequências ambientais, em particular sobre a qualidade das águas subterrâneas adjacentes. A infiltração e percolação das águas pluviais através dos túmulos e solo provocam a migração de uma série de compostos químicos orgânicos e inorgânicos levando à contaminação dos aquíferos (Romanó s.d.).

Quando se trata da geologia do local os principais parâmetros a estudar são: estrutura geológica características de litologia, topografia, textura, granulometria, massa volúmica, porosidade, permeabilidade, estrutura do solo, capacidade de drenagem, infiltração, percolação da água, profundidade radicular efectiva, existência de minerais (argilosos, carbono orgânico e óxidos metálicos), potencial para desenvolvimento mineralógico, capacidade de permuta catiónica e concentração de catiões permutáveis, acidez, potencial redox e o teor de matéria orgânica. (Oliveira, 2009). Apesar da lista anterior ser extensa, esta pode ser resumida a uma regra de ouro simples: a

construção de cemitérios deve ser evitada em solos com uma granulometria fina, com alta permeabilidade (Barros et al., 2008) e ainda num solo assente sobre uma rocha-mãe com fracas características geológicas (como por exemplo uma fracturação elevada).

A granulometria de um solo é a especificação dos diâmetros do material que o compõe. Devido a variação dos diâmetros dos diferentes tipos de materiais existentes, existe um grande conjunto de poros e vazios. Estes poros e espaços vazios são característicos de solos mais profundos, onde normalmente são colocados os caixões (1,5 a 1,8 m), onde o teor e a textura são fatores importantes para definir a capacidade de adsorção, por exemplo de metais pesados (Barros et al., 2008). O termo adsorção é usado para descrever o processo de acumulação em fase sólida. A adsorção é essencialmente um efeito de superfície e deve ser distinguida de absorção, que implica a penetração de um componente no interior de um outro. Existem dois tipos gerais de adsorção: adsorção física, na qual o adsorbato está ligado à superfície por forças fracas de Van der Waals, e a adsorção química (quimiossorção), que envolve forças de valência mais fortes (Florence et al., 2003). Apesar da estrutura do solo ser dependente da camada considerada, qualquer escavação pode misturar os solos mais profundos com os menos profundos, alterando as condições de adsorção (Fiedler et al., 2004).

A permeabilidade do terreno assim como a ocorrência de períodos de maior precipitação pluviométrica, propiciam o transporte dos microrganismos e a elevação do nível freático do aquífero, podendo expor estas águas ao contato direto com as sepulturas ou com camadas contaminadas do solo (Espindula et al., 2004). Idealmente o nível hidrostático deve estar pelo menos a 2,5 metros da superfície, deixando uma zona insaturada (distância do caixão ao nível hidrostático) de pelo menos 0,7 metros (Barros et al., 2008). A permeabilidade de um solo ou o coeficiente de permeabilidade é o parâmetro que mostra qual a velocidade a que a água pode fluir num determinado solo (ver Tabela 4).

A permeabilidade do terreno é influenciada pelas seguintes condições (Vallejo et al., 2002):

- Granulometria do solo (tamanho e sua distribuição);
- Densidade do solo;
- Forma e orientação das partículas.

Tabela 4- Permeabilidade do terreno em função do tipo de solo. Fonte: Vallejo et al., 2002.

Tipo de solo	k (cm/s)
Cascalho mal classificado	≥ 1
Cascalho homogéneo/uniforme	0,2-1
Cascalho bem classificado	0,05 - 0,3
Areia homogénea/uniforme	5×10^{-3} - 0,2
Areia bem graduada	10^{-3} - 0,1
Areia siltosa	10^{-3} - 5×10^{-3}
Areia siltosa (SC)	10^{-4} - 10^{-3}
Silte com baixa plasticidade	5×10^{-5} - 10^{-4}
Argila com baixa plasticidade	10^{-5} - 10^{-8}

As características geológicas da rocha-mãe também devem ser alvo de estudo. Define-se rocha como um agregado natural de partícula interligadas por forças coesivas que forma um sistema contínuo, sendo que a sua classificação geológica é baseada na proporção dos minerais, a sua estrutura granular, textura e origem (Vallejo et al., 2002).

Ao contrário dos solos, a composição, características e propriedades das rochas são extremamente variáveis. Apesar das rochas serem consideradas um sistema contínuo e intacto na linguagem da geotecnia, isto não é totalmente verdade pois, grandes massas rochosas apresentam descontinuidades e zonas de fraqueza e quando se fala numa escala microscópica a mesma rocha apresenta fenómenos de laminação, “micro-cracking” e uma orientação dos minerais, alterando assim o seu comportamento (ver Tabela 5) (Vallejo et al., 2002).

Tabela 5- Fatores geológicos que determinam o comportamento das rochas. Fonte: Vallejo et al., 2002.

Fator geológico	Objetivo
Tipo e propriedade da rocha	Determina as propriedades mecânicas da rocha
Estrutura geológica e descontinuidades	Identifica quais as zonas geológicas e zonas de fraqueza assim como o movimento do fluxo da água na rocha
Estado de tensões do maciço	Verifica qual o comportamento mecânico das rochas assim como as suas deformações
Grau de alteração	Determina as propriedades mecânicas da rocha
Condições hidrogeológicas	Permite entender o funcionamento hidrogeológico do maciço rochoso

Analisando a tabela anterior e analisando a temática em estudo, verificamos que a rocha-mãe deverá possuir capacidade para aguentar a construção do cemitério assim como ser o menos permeável possível. No caso das rochas a permeabilidade depende da porosidade, mais propriamente da ligação entre esses poros e das descontinuidades existentes (Vallejo et al., 2002). Esta permeabilidade subdivide-se em: primária, quando a água flui pelos poros, e permeabilidade secundária, quando a água flui pelas descontinuidades. O estudo da permeabilidade da rocha-mãe é importante uma vez que estas descontinuidades são excelentes canais para a condução da carga poluente, seja através da sua dissolução na água, no ar ou adsorvido nas partículas de solo que podem chegar ao nível freático, caso este exista, aumentando assim a pluma de contaminação (ver Figura 5).



Figura 5 – Situações de risco de um cemitério (segundo Pacheco, 2000).

3. Impacto ambiental de um cemitério

Impacto segundo o dicionário é uma impressão ou efeito muito forte deixado por certa acção ou acontecimento. Nesta temática a palavra impacto refere-se às alterações químicas, físicas e biológicas que o cemitério provoca na sua área de influência. Estas alterações levam à necessidade de proceder a uma avaliação ambiental de maneira a conhecer o real perigo de um cemitério.

Para determinar qual o impacto de um cemitério na sua área de influência é indispensável seguir uma ordem de ideias simples, de fácil compreensão e lógica que permita estudar e avaliar o cemitério. Esta ordem de ideias tem ainda que possuir a capacidade de ser o mais abrangente e flexível possível, contemplando todos os parâmetros possíveis de maneira a que este possa ser replicado em qualquer cemitério existente para uma possível comparação entre eles. No Brasil foi criado uma espécie de guião sobre as etapas que se devem seguir para averiguar qual o impacto do cemitério (ver Tabela 6).

Tabela 6 – Guião utilizado no Brasil para a avaliação de um cemitério. Fonte: Leli et al., 2012.

Fases da investigação	Descrição das atividades
Avaliação preliminar	Análise das condições gerais no interior do cemitério: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Inventário das espécies arbóreas; ▪ Análise visual dos arredores do cemitério; ▪ Inquéritos aos residentes mais próximos.
Investigação de confirmação	Verifica-se as concentrações dos compostos e elementos poluentes através da: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Análise de água em pontos do interior, arredores e jusante; ▪ Análise da água para a deteção de bactérias aeróbicas, anaeróbicas e vírus; ▪ Análise do gás libertado pela decomposição para a deteção de compostos tóxicos; ▪ Análise de solo, do interior, arredores e jusante.
Investigação detalhada	Estabelecimento do tamanho da pluma de contaminação existente na área e sua área de influência.
Avaliação de Risco	Determinar os níveis de riscos da contaminação para a população e estabelecer os níveis das concentrações máximas aceitáveis para cada contaminante.
Projeto de remediação	Estabelecer o tipo de remediação mais adequada para o tipo e nível de contaminação existente na área, como por exemplo: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Interdição das áreas críticas do ponto de vista ambiental; ▪ Monitoramento contínuo mensal dos solos e da água subterrânea.
Remediação	Acompanhamento da evolução do processo de descontaminação da área para que os compostos e elementos fiquem abaixo da concentração máxima aceitável.
Monitorização	Acompanhamento da evolução da área após sua descontaminação .

Segundo o guião anterior, na investigação de confirmação é necessário referir que a análise da água, gás e solo depende do processo de amostragem e da escolha dos indicadores ambientais. Devido à sua importância estes dois tópicos irão ser abordados a seguir.

3.1. Escolha e validação do processo analítico

O processo de amostragem, é um processo de recolha de uma porção do material, para ser posteriormente transportado e manuseado convenientemente no laboratório, de modo a que seja verdadeiramente representativo de toda a área em estudo (Quevauviller, 1995). Este processo para ser fiável e representativo, segue uma série de etapas consideradas chave (ver Tabela 7). Estas etapas têm em consideração o tipo de amostras que se recolhe, assim como os meios disponíveis para as recolher e as analisar.

Tabela 7 – Etapas de um processo de amostragem. Fonte: Pawliszyn, 2002

Etapas	Descrição
Recolha das amostras	<ul style="list-style-type: none">• Definição dos objetivos e parâmetros a analisar;• Escolha dos locais a ser amostrados;• Escolha dos métodos de amostragem.
Preparação das amostras	<ul style="list-style-type: none">• Enriquecimento ou limpeza da amostra para a deteção dos componentes numa matriz
Separação dos componentes	<ul style="list-style-type: none">• Separar os componentes da matriz
Quantificação dos componentes	<ul style="list-style-type: none">• Medição da concentração de cada componente isolado.
Análise estatística	<ul style="list-style-type: none">• Estimar e validação dos dados recolhidos.
Tomada de decisão	<ul style="list-style-type: none">• Com os dados obtidos proceder a escolha do caminho a tomar em função dos objetivos propostos.

Actualmente existem três tipos amostras distintas:

- Amostras gasosas;
- Amostras líquidas;
- Amostras sólidas.

A recolha de amostras gasosas é feita em equipamento apropriado, mas o seu manuseamento exige alguns cuidados como o controlo preciso do caudal (White, 1994). Apesar de toda a importância das

amostras gasosas, devido à falta de recursos e ainda em detrimentos das outras amostras (líquidas e sólidas) decidiu-se não efectuar recolha e medições deste tipo de amostras.

As amostras líquidas, como águas superficiais, águas subterrâneas, água potável, água de escoamento, águas industriais, fluidos fisiológicos e fluidos comerciais podem ser colhidas de diferentes maneiras de acordo com o tipo de amostra, o objetivo da amostragem e os níveis dos constituintes a analisar, a variabilidade de composição e fluxo e a precisão necessária (ver Tabela 8) (Wardencki et al., 2002).

Tabela 8 – Tipos de amostragem existentes. Fonte: (Wardencki et al., 2002).

Tipo de amostragem	Explicação
Discreta	Amostras recolhidas separadamente num recipiente individual. Os dados obtidos correspondem à água no momento da colheita da amostra e é adequado, se as condições do local forem essencialmente constantes.
Composta simples	Amostra resultante da mistura de uma série de amostras de volume idêntico recolhidas em intervalos de tempo constantes.
Composta por fluxos	A amostra é recolhida de acordo com o fluxo de água durante a amostragem. Esta amostragem representa as condições médias do local. Normalmente altera-se o volume de cada amostra, em função do fluxo de água.
Sequencial	É formada a partir de uma série de amostras individuais (tipicamente de duas a oito) colocado em um recipiente; cada recipiente representa um intervalo determinado. Esta forma de amostragem é útil quando o fluxo de água ou de águas não é constante.

No presente estudo optou-se pela amostragem discreta e quanto à caracterização/determinação de fármacos, geralmente esta requer um pré-tratamento da amostra, que inclui o isolamento (ver Tabela 9) e a pré-determinação dos analitos (Bruzzoniti et al., 2000). Para determinação de fármacos em amostras de água, o passo de pré-tratamento inclui métodos que podem variar entre a extracção

líquido-líquido (LLE, Liquid-Liquid Extraction) e a extração em fase sólida (SPE, Solid Phase Extraction) tendo ainda processos tais como a microextração em fase sólida (SPME, Solid Phase Microextraction), a extração sortiva em barra magnética (SBSE- Stir Bar Sportive Extraction) e a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME- Dispersive Liquid-Liquid Microextraction). A metodologia adoptada foi a extração em fase sólida (SPE), devido à sua adequabilidade, eficácia e ao seu baixo custo.

Tabela 9 - Técnicas utilizadas no tratamento de fármacos. Fonte: Ettre, 2003, Degani et al., 1998 e Skoog et al., 1999.

Técnica	Descrição
Cromatografia	É uma técnica de separação baseada na distribuição dos componentes de uma mistura entre um fluido (fase móvel ou eluente) e um adsorvente (fase estacionária).
Cromatografia Líquida	É uma técnica que deriva da cromatografia e que é adequada para a separação dos componentes (espécies iónicas, macromoléculas, constituintes termolábeis, ...) de soluções líquidas, sendo utilizada tanto para fins analíticos como para fins preparativos. Um dos exemplos é purificação de produtos farmacêuticos (proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos, vitaminas e esteroides).
Espectrometria de massa	É uma técnica analítica utilizada para identificar compostos desconhecidos e quantificar compostos conhecidos.

Relativamente às amostras sólidas, estas são caracterizadas por apresentarem uma maior variabilidade do que as amostras líquidas. Os materiais sólidos, mais usuais, amostrados para análise são: matérias-primas para a indústria/manufatura, solos, sedimentos, neve e gelo, resíduos (industriais, urbanos, perigosos, etc.), material vegetal biológico, poeiras, pós provenientes de electrofiltro, pós provenientes de rodovias, tecidos e órgãos de animais, etc. Devido a esta grande variabilidade, quando se prepara um plano de amostragem deve-se ter em consideração as seguintes questões:

- Qual o tipo de amostras necessário?
- Quando, onde e como devem/podem ser colhidas as amostras?
- Quais os recipientes que devem ser usados para colher essas amostras?
- É necessário preservar as amostras? Se sim como?
- Quais os preparativos necessários para a análise da amostra?
- Que precisão da amostragem é necessária?

Estes problemas devem ser discutidos individualmente para cada tarefa de amostragem. Após a resposta às perguntas anteriores, elabora-se um protocolo. Cada protocolo de amostragem deve especificar o número e tamanho das amostras. Este número e tamanho depende de muitos fatores, incluindo o tamanho do lote, granulação material, método analítico utilizado, a variabilidade entre as partículas, concentração dos componentes de interesse, entre outros (Zygmunt et al., 2002).

Após o processo de amostragem e durante o desenvolvimento de um método analítico ou na adaptação ou implementação de método conhecido, é necessário um processo de avaliação que estime a eficiência do método utilizado. Este processo costuma ser denominado de validação. Várias definições encontram-se descritas na literatura para definir validação, mas o seu grande objectivo, consiste em demonstrar que o método analítico é adequado para o seu propósito (Brito et al., 2003). Vários trabalhos mencionam a validação de métodos analíticos e ainda definem os critérios que devem ser seguidos durante o seu desenvolvimento. Esses trabalhos ressaltam os critérios de validação de acordo com a sua área específica, abordando a exactidão, a precisão, gama de trabalho, a linearidade e os limites de detecção e quantificação.

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados directamente proporcionais à concentração do analito em amostras, dentro de uma determinada faixa de concentração. O limite de detecção (LOD) representa a menor concentração de analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. O limite de quantificação (LOQ) é a menor quantidade do analito numa amostra que pode ser determinada com precisão e exactidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas, sendo que a precisão é uma medida da reprodutibilidade de um resultado e a exactidão se refere ao quão próximo um valor de uma medida está do “valor real” (European Medicines Agency : Science, Medicine, Health, 1995).

3.2. Indicadores ambientais de um cemitério

Um indicador de impacto ambiental diz respeito aos elementos ou parâmetros que avaliam a medida da magnitude de um impacto ambiental. Os indicadores ambientais (ver Tabela 10) devem ser de fácil interpretação, capazes de demonstrar tendências, relevantes em termos de questões e de valores ambientais, facilitar o entendimento dos Sistemas de Gestão Ambiental implementados, ter uma base científica, considerar as dificuldades de monitoramento (tempo, tecnologia e custos) e proporcionar bases sólidas para comparação e tomadas de decisão (Leli et al., 2012).

Tabela 10 - Indicadores ambientais para cemitérios. Fonte: Leli et al., 2012.

Dimensão	Aspeto	Indicador
Física e química	Dinâmica da água superficial	Quantidade de processos erosivos e sedimentos depositados a jusante.
	Caraterísticas da água subterrânea	Cor, turbidez, pH, temperatura, nitritos, nitratos, amoníaco, cálcio e coliformes.
	Caraterísticas do ar	Emissão de gases como o CO ₂ , H ₂ S, metano, amoníaco, hidrogénio.
Bióticos	Caraterísticas da fauna	Quantidade de vetores (número de ratos, formigas, mosquitos, etc.)
Sócio-económica	Infraestrutura urbana	Quantidade de veículos em circulação, eficiência do transporte público, quantidade de estabelecimentos comerciais, valores dos imóveis da área circundante.
	Qualidade de vida	Satisfação da população.

Este conjunto dos indicadores ambientais fornece uma síntese das condições ambientais, das pressões sobre o meio e facilita a procura de respostas com vista à sua mitigação. Estes indicadores podem ser quantitativos (representados em escala numérica) ou qualitativos (classificado em categorias ou níveis) (Leli et al., 2012). Visto todo o historial de estudos realizados assim como os diferentes fatores de influência, as únicas falhas deste conjunto proposto é a não inclusão das caraterísticas do solo na dimensão física e a saúde dos funcionários que trabalham diretamente ou indiretamente com os cadáveres e resíduos dos cemitérios na dimensão sócio-económica.

No âmbito desta dissertação como se considerou pertinente o estudo das caraterísticas do solo, era necessário procurar uma base teórica que tivesse o objectivo de quantificar os poluentes em solo. Para averiguar a presença de elementos químicos no solo, e inclui-lo como parte das caraterísticas do solo, pode-se utilizar uma equação conhecida como enrichment factor (ver Equação 1). Esta equação é utilizada com o objetivo de diferenciar os metais antropogénicos de elementos que ocorrem naturalmente nas amostras de solo (Amuno, 2013).

$$EF = \frac{\left(\frac{M}{C}\right)_{Amostra}}{\left(\frac{M}{C}\right)_{Ponto\ zero}} \quad \text{Equação 1 -Fator de enriquecimento do solo. Fonte: Amuno, 2013.}$$

Na equação a parcela $\left(\frac{M}{C}\right)_{Amostra}$, corresponde ao rácio de metal em estudo presente na amostra retirada do cemitério e a parcela $\left(\frac{M}{C}\right)_{Ponto\ zero}$, corresponde ao rácio do mesmo metal em estudo presente numa amostra denominada ponto zero, que é uma amostra de um solo que não foi alvo da perturbação do cemitério.

Como mencionado anteriormente a saúde de quem trabalha nestas áreas deve ser um fator a ter em conta quando se analisa o impacto de um cemitério. O corpo humano tem a capacidade de alojar vários organismos mas apenas alguns são patogénicos. Quando o ser humano morre, o ambiente em que os patogénicos vivem já não os pode sustentar. No entanto, isto não acontece imediatamente e a transmissão de agentes infecciosos do cadáver para uma pessoa viva pode ocorrer. Devido aos agentes biológicos, as doenças profissionais podem atingir os seguintes grupos profissionais: praticantes de medicina (particularmente patologistas), enfermeiros, funcionários de funerárias e de unidades cemitérios, cientistas forenses, preparadores de cadáveres, membros de equipas de emergência médica, técnicos de anatomia de cadáveres, arqueólogos e trabalhadores da construção civil. (Oliveira, 2009). Alguns dos elementos patogénicos mais conhecidos para esta situação são a cadaverina e a putrescina que são responsáveis pela transmissão de doenças infecto-contagiosas como a hepatite e a febre tifóide (Carneiro, 2008).

4. Metodologia

4.1. Materiais utilizados

Na presente dissertação caracterizou-se e quantificaram-se os fármacos nas amostras líquidas de águas e os metais nas amostras sólidas de solos. Neste ponto irá apresentar-se uma lista dos materiais utilizados para a caracterização e quantificação, sendo que uma explicação mais detalhada (o método utilizado) poderá ser encontrada nos pontos seguintes.

Materiais:

- Garrafas com 1,5 litros de capacidade;
- Funil;
- Kitasato;

- Filtros GF/C (Whatman, Inglaterra);
- Filtro de membrana de nylon de 0,22 µm da Supelco (Ø 47 mm, Bellefonte, PA, USA);
- Acetonitrilo (pureza ≥98.0%) da Merck (Darmstadt, Alemanha);
- Metanol (pureza ≥98.0%) da Merck (Darmstadt, Alemanha);
- Ácido fórmico (pureza ≥98.0%) da Merck (Darmstadt, Alemanha);
- Ácido clorídrico a 37% da Carlos Erba (Rodano, Itália);
- Filtro de seringa OlimPeak, PTFE, 0.20 µm da Teknokroma (Ø 13 mm, Barcelona, Espanha);
- Diazepam da TLC PharmaChem (Toronto Research Chemicals Inc) com pureza ≥ 98,0%;
- Citalopram da TLC PharmaChem (Toronto Research Chemicals Inc) com pureza ≥ 98,0%;
- Norsertaline da TLC PharmaChem (Toronto Research Chemicals Inc) com pureza ≥ 98,0%;
- Norfluoxetine da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) com pureza ≥ 98,0%;
- Carbamazepine da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) com pureza ≥ 98,0%;
- Fluoxetine da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) com pureza ≥ 98,0%;
- Sertraline da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) com pureza ≥ 98,0%;
- Venlafaxine da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) com pureza ≥ 98,0%;
- Paroxetine da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) com pureza ≥ 98,0%;
- Trazodone da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) com pureza ≥ 98,0%;
- Peneiros de 250 microns e 125 microns;
- Cápsulas para análise das amostras sólidas.

Equipamentos:

- Aparelho da Thermo Scientific – Niton Analyzers;
- Bomba de vácuo Dinko D-95 de bomba (Barcelona, Espanha);
- Estufa;
- Eléctrodo de pH;
- Colunas SPE (Strata-X, 200 mg, 3 ml da Phenomenex);
- Manifold para colunas SPE (Phenomenex);
- Cromatógrafo LC-MS/MS-8030;
- Coluna Cortecs™ UPLC® C18 (2,1 x 100 mm; 1,6 µm de tamanho de partícula) (Waters, USA);
- Vórtex da marca Nahita 681/5 (Navarra, Espanha);
- Aparelho de Elix (Millipore, Molsheim, França);
- Máquina da Raypa® trade (Terrassa, Espanha).

Software:

- *Microsoft Office 365*
- *Software LabSolutions (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão);*
- *Surfer 9.*

4.2. Caracterização das amostras de águas

Para a caracterização das amostras de água foram recolhidas oito amostras com 1,5 litros em quatro pontos de amostragem no cemitério de Paranhos, na cidade do Porto (ver Figura 6). Os pontos escolhidos são representativos da área do cemitério e entre eles existe uma distância mínima de 100 metros sendo que um dos pontos encontra-se situado o mais central possível. O plano inicial era recolher duas amostras em cada ponto e num recipiente único. Devido à seca de uma das torneiras no ponto Z3 apenas foi efetuada uma amostragem, sendo que pela mesma razão a parte mais antiga do cemitério apenas será representada pela amostra Z1.

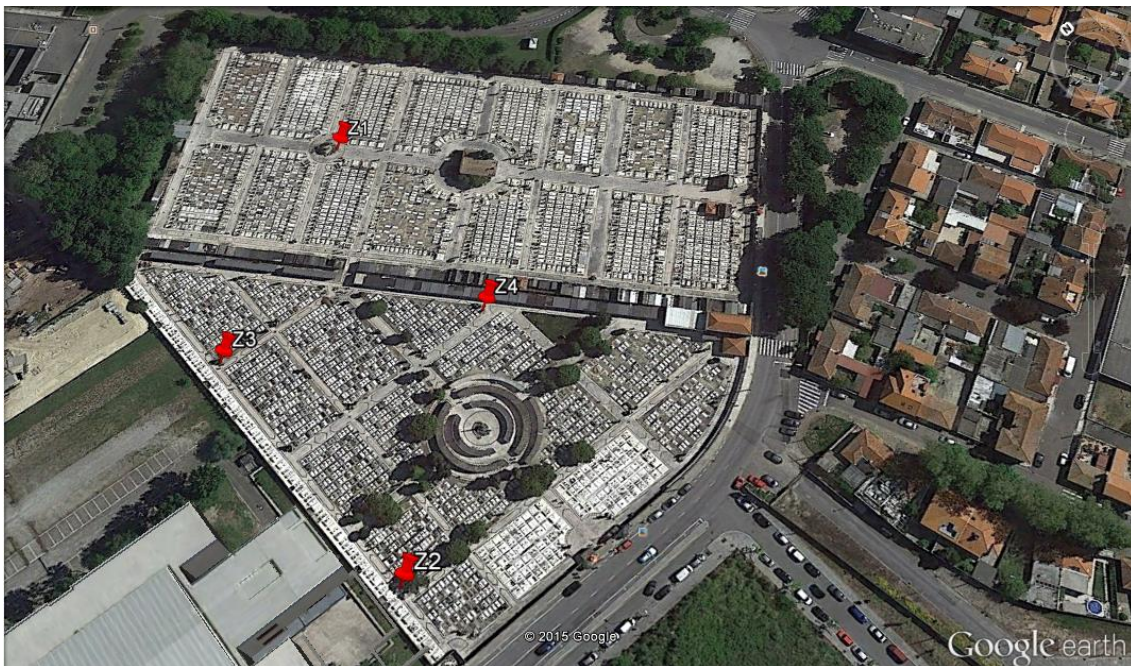


Figura 6 - Plano de amostragem de águas.

Após a recepção das amostras no laboratório (ver Figura 7), em primeira instância foi medido o pH. Em seguida, as amostras foram imediatamente filtradas através de filtros GF/C (Whatman, Inglaterra), seguida de filtro de membrana de nylon de 0,22 μm da Supelco (\varnothing 47 mm, Bellefonte, PA, USA) e armazenadas a -20°C até à sua extração. O sistema de filtração (ver Figura 8) era constituído por um kitasato e um funil de vidro.



Figura 7 - Amostra de água de cemitério.

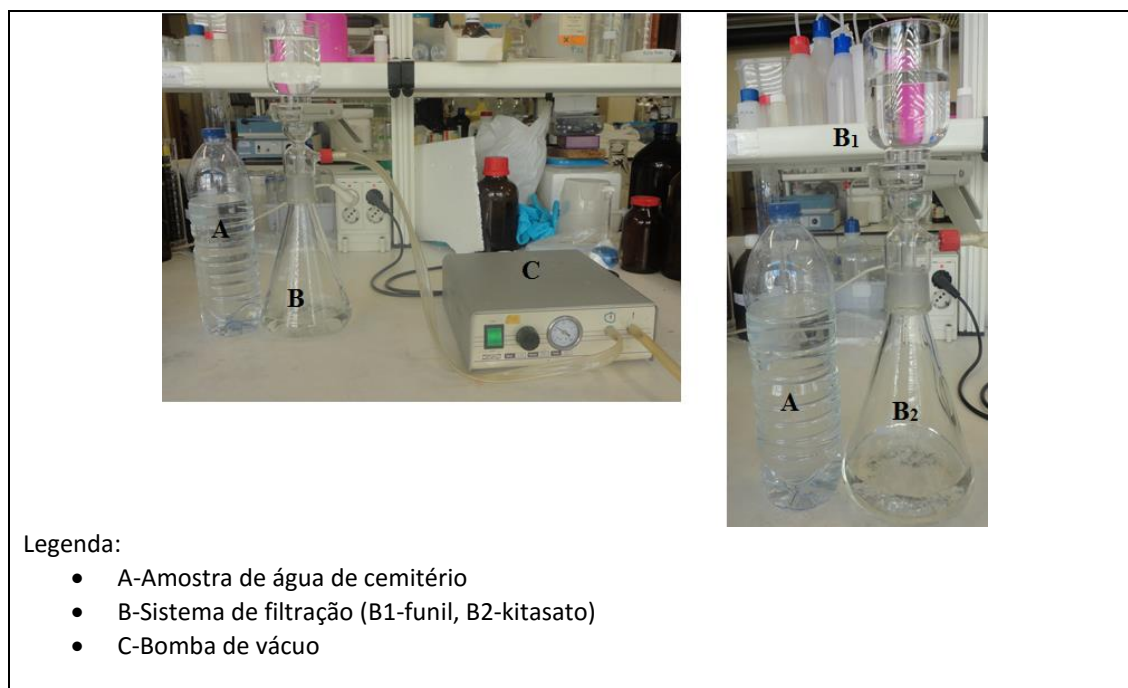


Figura 8 - Sistema de filtração utilizado nas amostras de águas de cemitério.

A água desionizada utilizada ao longo do trabalho foi produzida usando um aparelho de Elix (Millipore, Molsheim, França) e foi purificada (18,2 M Ω cm) utilizando um sistema Simplicity 185 system (Millipore, Molsheim, França), utilizou-se ainda acetonitrilo, metanol, ácido fórmico (pureza $\geq 98.0\%$) que foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha) e ácido clorídrico a 37%, obtido a partir de Carlos Erba (Rodano, Itália).

Todos os solventes usados em cromatografia (acetonitrilo e água ultra-pura), foram filtrados através de um filtro de nylon da Supelco 0.22 μm (\varnothing 47 mm, Bellefonte, PA, EUA), no sistema de filtração previamente descrito (Figura 8) com o auxílio de uma bomba de vácuo Dinko D-95 (Barcelona, Espanha). Posteriormente os solventes foram desgaseificados durante 15 minutos num banho de ultra-sons da marca Raypa® trade (Terrassa, Espanha).

Todos os padrões e os extratos das amostras foram filtrados ainda através de um filtro de seringa OlimPeak, PTFE, 0.20 μm da Teknokroma (\varnothing 13 mm, Barcelona, Espanha) antes de injetados no cromatógrafo. Para a correta homogeneização foi utilizado um vórtex da marca Nahita 681/5 (Navarra, Espanha).

Todos os fármacos utilizados no estudo foram comprados à Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha), com exceção dos fármacos diazepam, citalopram e nortriptiline que foram adquiridos à TLC PharmaChem (Toronto Research Chemicals Inc). Todos estes fármacos possuem purezas $\geq 98,0\%$ e não foram sujeitos a qualquer purificação.

A solução padrão concentrada foi preparada para cada fármaco por dissolução de uma quantidade de pó (mg) em 1 mL de metanol e posteriormente foram armazenadas a -20°C . As concentrações das soluções concentradas obtidas foram: 1,37 mg/mL (1370 mg/L) para a carbamazepina, 0,984 mg/mL (984 mg/L) para a fluoxetina, 1,18 mg/mL (1180 mg/L) para a sertralina, 1,42 mg/mL (1420 mg/L) para o citalopram, 0,62 mg/mL (620 mg/L) para a venlafaxina, 1,29 mg/mL (1290 mg/L) para a trazodona, 1,38 mg/mL (1380 mg/L) para o diazepam, 0,48 mg/mL (480 mg/L) para a carbamazepina-10,11-epóxido, 2,22 mg/mL (2220 mg/L) para a nortriptiline e 1,00 mg/mL (1000 mg/L) para a norfluoxetina. As soluções padrão de trabalho ($\mu\text{g/L}$) foram preparadas por diluição adequada da solução concentrada com 70% água ultra-pura com 0,1% ácido fórmico e 30% de acetonitrilo, e eram preparadas diariamente e armazenadas a 4°C no frigorífico antes da sua análise. As soluções padrão concentradas são preparadas de 6 em 6 meses. Os cartuchos utilizados para a extração em fase sólida (strata-X, 200 mg, 3 ml) foram adquiridos à Phenomenex (EUA).

Utilizou-se um cromatógrafo LC-MS/MS-8030 (ver Figura 11) que opera no modo de ionização por electrospray (ESI), sendo que o método analítico desenvolvido foi otimizado para as amostras em questão.

A otimização consistiu no desenvolvimento do programa de separação cromatográfica incluindo a escolha do eluente. Uma mistura de água ultrapura com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrilo (B) foram os eluentes utilizados na separação dos fármacos em estudo. Foi utilizado um programa em gradiente com condições iniciais de 95-5% A-B. No tempo inicial o programa efetua o gradiente de 5 a 100% B em 3 minutos e mantém as condições durante 30 segundos. Posteriormente, volta às

condições iniciais durante 30 segundos e mantem as condições (95-5% A-B) durante 4 minutos para estabilizar a coluna e preparar o sistema para a nova injeção. O volume de injeção foi de 5 µL e o forno da coluna foi fixado em 30°C. O amostrador automático é operado a 4°C e a agulha da seringa automática é lavada antes e após a aspiração da amostra, utilizando acetonitrilo como o solvente de lavagem. O fluxo utilizado foi de 0,3 mL/min.

Na **Erro! A origem da referência não foi encontrada.** apresentam-se os tempos de retenção dos fármacos para dez injeções seguidas, onde: tr significa tempo de retenção, sd significa desvio padrão e rsd significa desvio padrão relativo. Os deuterados que foram utilizados servem para padronização interna sendo que estes compostos são de produção sintética e de características semelhantes aos compostos de interesse. Os tempos de retenção variam entre 3,507 minutos (venlafaxina) e 5,020 minutos (diazepam). Analisando os resultados verifica-se que o desvio padrão relativo é inferior a 0,15%.

Nas figuras Figura 9 e Figura 10**Erro! A origem da referência não foi encontrada.** apresentam-se os cromatogramas da solução padrão no programa otimizado para concentrações de $g \times 10^{-9}$. Na Figura 9 está representado um cromatograma individual para cada composto e na Figura 10 apresenta-se a sobreposição de todos os cromatogramas de todos os compostos.

Tabela 11 - Tempos de retenção dos fármacos para dez injeções da solução padrão.

Compostos		Concentração (g × 10 ⁻⁹ /L)	Tempo de retenção (n=10) (minutos)										tr média (min)	SD (min)	RSD (%)	
			tr1	tr2	tr3	tr4	tr5	tr6	tr7	tr8	tr9	tr10				
Fármacos	Venlafaxina	100	3,510	3,511	3,510	3,501	3,500	3,510	3,511	3,510	3,500	3,511	3,507	0,0049	0,140	
	Trazodona	100	3,588	3,589	3,588	3,580	3,579	3,589	3,591	3,589	3,579	3,589	3,586	0,0047	0,132	
	Carbamazepina 10,11-epoxide	100	3,808	3,809	3,808	3,801	3,800	3,809	3,809	3,809	3,809	3,800	3,809	3,806	0,0041	0,107
	Citalopram	100	3,872	3,873	3,871	3,866	3,864	3,872	3,872	3,872	3,864	3,873	3,870	0,0037	0,095	
	Paroxetina	100	4,017	4,017	4,017	4,011	4,009	4,016	4,016	4,017	4,009	4,017	4,015	0,0035	0,086	
	Norfluoxetina	100	4,169	4,170	4,168	4,165	4,163	4,168	4,168	4,168	4,168	4,163	4,170	4,167	0,0026	0,063
	Carbamazepina	100	4,232	4,233	4,232	4,228	4,226	4,232	4,232	4,232	4,232	4,226	4,233	4,231	0,0028	0,066
	Norsertalina	100	4,240	4,240	4,236	4,233	4,231	4,237	4,237	4,238	4,231	4,240	4,236	0,0035	0,083	
	Fluoxetina	100	4,253	4,253	4,252	4,250	4,247	4,253	4,251	4,253	4,247	4,253	4,251	0,0024	0,057	
	Sertralina	100	4,324	4,324	4,323	4,321	4,318	4,324	4,322	4,324	4,318	4,324	4,322	0,0024	0,056	
Diazepam	100	5,022	5,021	5,020	5,018	5,016	5,021	5,020	5,022	5,016	5,021	5,020	0,0023	0,045		
Deuterados	Carbamazepine-d10	10	4,207	4,207	4,206	4,202	4,200	4,207	4,206	4,207	4,200	4,207	4,205	0,0030	0,071	
	Fluoxetine-d5	10	4,246	4,246	4,246	4,242	4,240	4,245	4,243	4,244	4,240	4,246	4,244	0,0024	0,058	

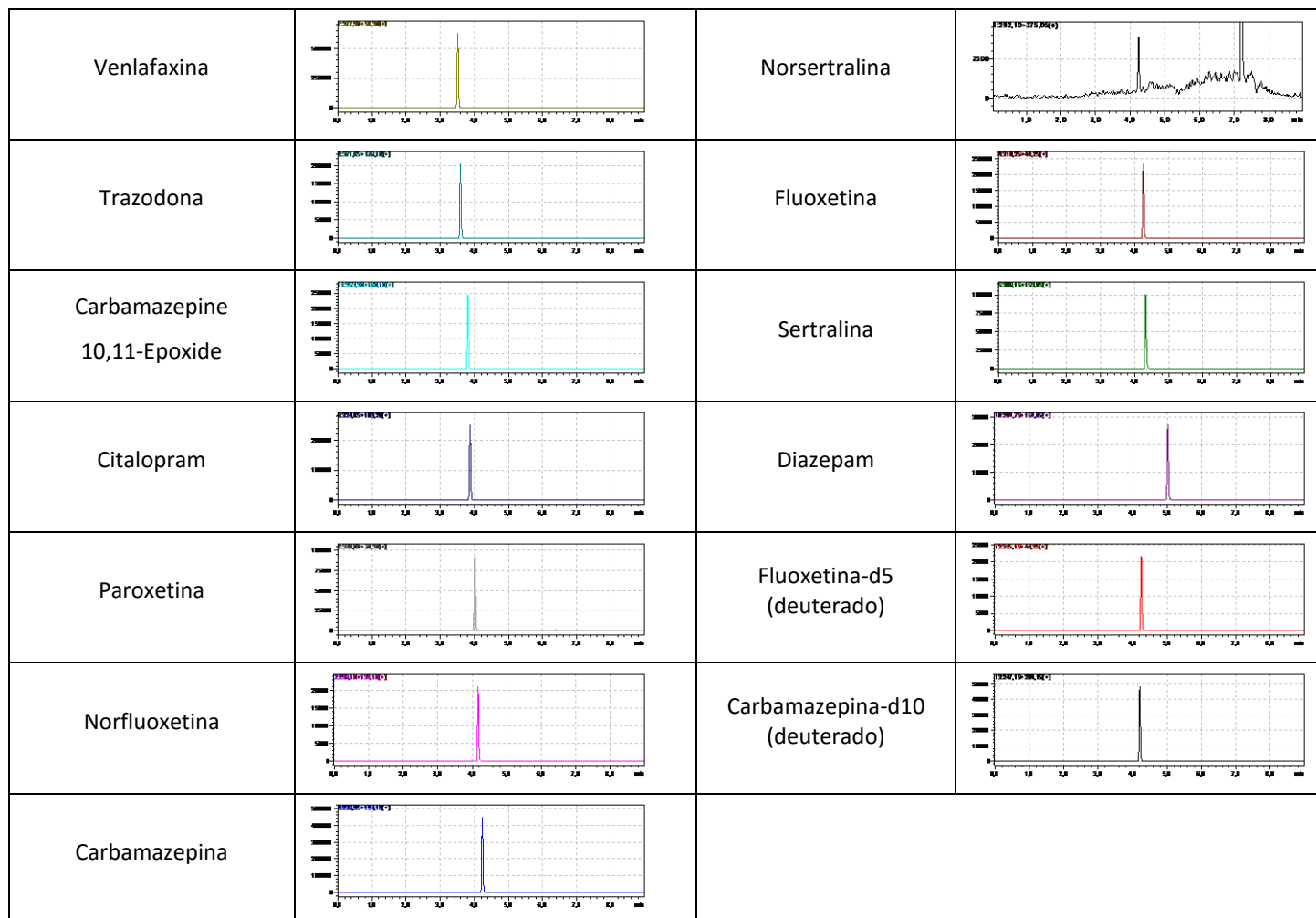


Figura 9 - Cromatogramas individuais para cada composto.

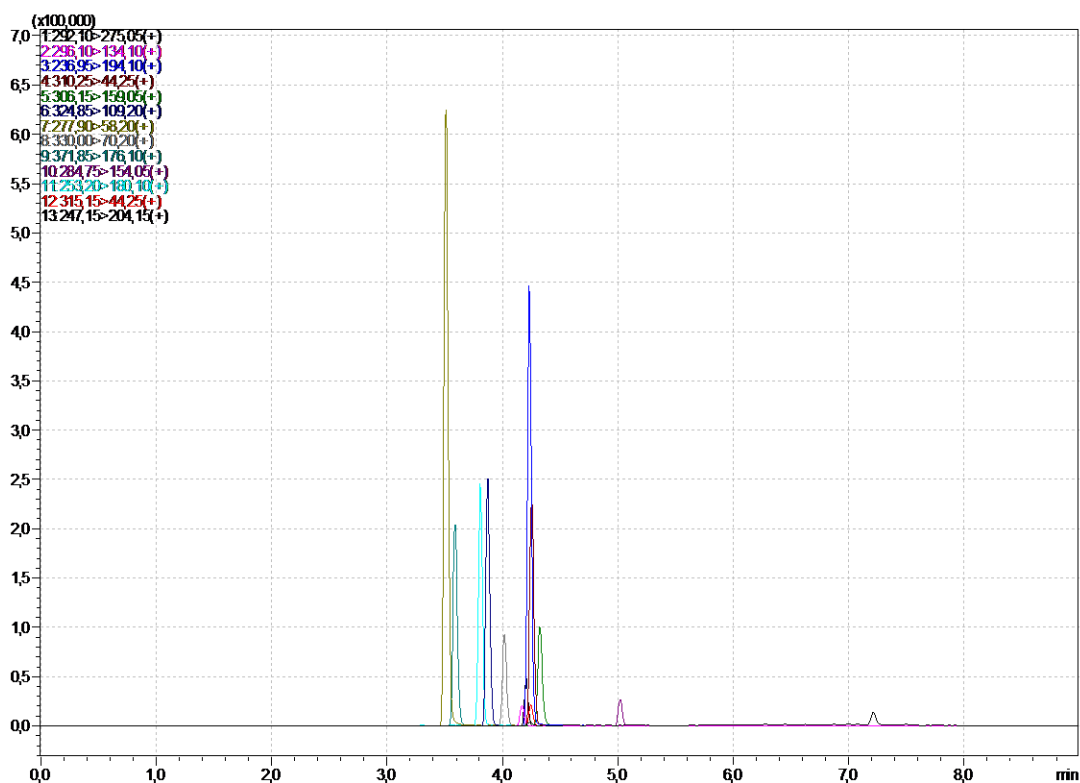


Figura 10 - Sobreposição dos cromatogramas de todos os compostos em análise.

Estes cromatogramas foram obtidos com detecção por espectrometria de massa. A espectrometria de massa, na sua primeira fase tem por objetivo a obtenção do íon precursor, resultante da ionização do analito, e a obtenção dos íons produto. Para isso procede-se à análise de soluções padrão individuais dos compostos alvo. As condições de MS foram otimizadas através de injeção direta de cada composto com a concentração de 10 mg/L. Os fármacos foram analisados no modo positivo (ESI positivo). A espectrometria de massa é realizada em modo de monitorização de reação múltipla (MRM, multiple reaction monitoring mode) e foram obtidas duas transições para cada composto, sendo o mais intenso utilizado como quantificador e a segundo mais intenso utilizado como o identificador. A nortetralina tem só uma transição uma vez que tem uma pobre fragmentação. No caso dos deuterados é só preciso registar a primeira transição, uma vez que os deuterados são utilizados como padrão interno. As condições de ionização foram otimizadas com o compromisso de obter a sensibilidade máxima para todos os compostos. Desta forma utilizou-se um caudal 2,6 mL/min para o gás nebulizador (azoto), um caudal de 15 L/min para o gás de secagem (azoto), a tensão de interface foi ajustada a 5 kV, a temperatura da linha de dessolvatação de 300°C e a temperatura do bloco de aquecimento de 425°C, respetivamente. O árgon foi utilizado como gás de colisão (CID, induced dissociation gas) a uma pressão de 230 kPa.

O equipamento é constituído por dois módulos LC-30 AD contendo uma bomba para cada eluente, um módulo CTO-20 AC contendo um forno para a coluna e um módulo SIL-30 AC com o amostrador automático. O sistema foi controlado por um controlador de sistema CBM-20A. Para o controlo e o processamento dos dados é utilizado o programa de software LabSolutions (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). A separação cromatográfica foi efectuada em uma coluna Cortecs™ UPLC® C18 (2,1 x 100 mm; 1,6 µm de tamanho de partícula) (Waters, USA).

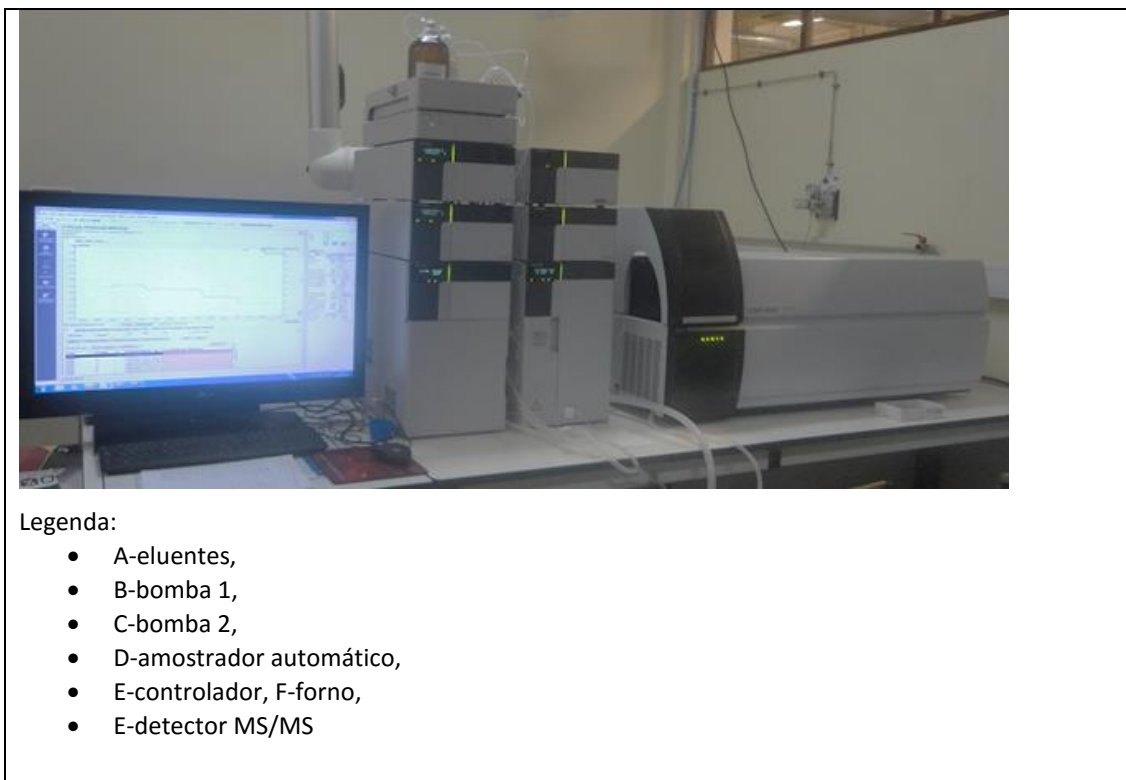


Figura 11 - LC-MS/MS-8030 da Shimadzu corporation, Kyoto, Japão.

No tratamento prévio das amostras de água por extração em fase sólida (SPE), o condicionamento e o equilíbrio dos cartuchos foram realizados com 5 mL de metanol, 5 mL de água ultra-pura e 5 mL de água ultra-pura com ajuste a pH 2,00 com ácido clorídrico (2 M). Após o condicionamento, 250 mL de amostra foram passados pela coluna de SPE. Posteriormente lavou-se a coluna com 5 mL de água ultra-pura para a eliminação dos interferentes e deixou-se secar os cartuchos de SPE durante 1 hora. A eluição foi efectuada com 10 mL de metanol. De seguida, o extrato foi evaporado até à secura numa corrente de azoto e reconstituído com 500 µL de 70% água ultra-pura com 0,1% ácido fórmico e 30% de acetonitrilo, utilizando o vórtex para a redissolução, o vial contendo o extracto é colocado no LC-MS/MS para sua análise. Na etapa de extração utilizou-se um manifold (Phenomenex), e desta forma conseguiu-se efectuar 12 extracções de SPE em simultâneo (ver Figura 12).

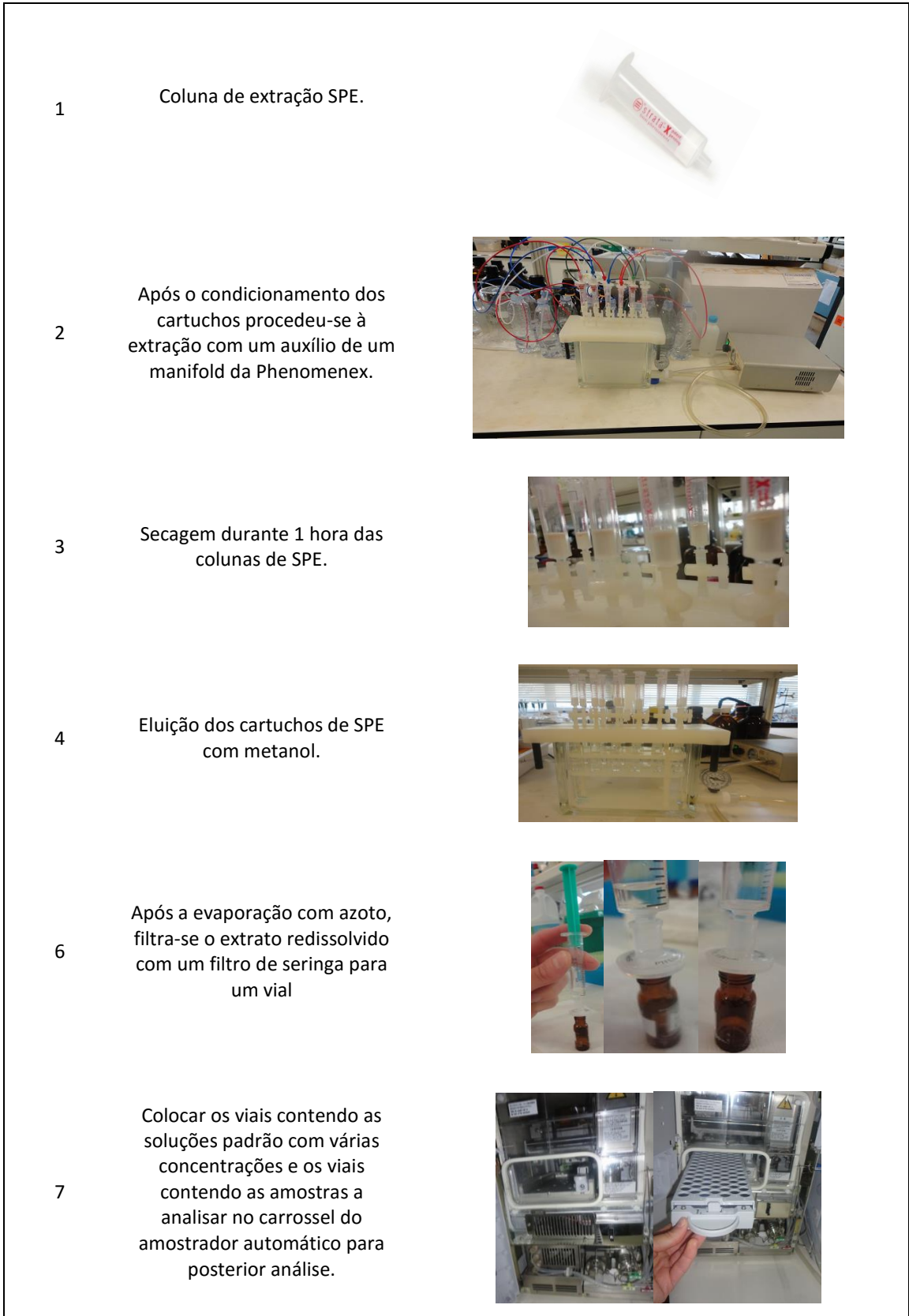


Figura 12 -Etapas de extração por SPE.

Todo este processo foi validado segundo o Anexo I, e as amostras de águas provenientes do cemitério foram extraídas, sendo que duas réplicas foram efetuadas para cada amostra. As amostras tinham a seguinte identificação: Z1A1, Z1A2, Z2A1, Z2A2, Z3A1, Z4A1 e Z4A2.

Após a injeção, é necessário ter em atenção alguns critérios na identificação e quantificação das dos analitos nas amostras reais. Se aparecer um pico no cromatograma teremos de ver se coincide com o tempo de retenção na solução padrão. Caso o pico apareça na primeira e na segunda transição e se respeitar o rácio dos iões ($\pm 20\%$), então o pico corresponde ao analito em causa e a área obtida é substituída na equação da reta para determinação do valor da concentração do composto na amostra. No final da análise de cada amostra registou-se os resultados numa ficha de campo (ver Tabela 12).

Tabela 12 - Ficha de campo para amostras líquidas.

Água

Ficha de Coleta		
Foto	Zona da amostra	
	Código da amostra	
	Localização	
	Latitude	
	Longitude	
	Hora (h/min)	
	Data (d/m/a)	
	Identificação	
	Cor	
	Cheiro	
	Turbidez	
	Temperatura (°C)	
	Condições	
	Tempo	
Chuva		
Ficha de Caracterização		
Foto	Parâmetro	
	pH	
	Norsertaline	
	Norfluoxetine	
	Carbamazepine	
	Fluoxetine	
	Sertraline	
	Citalopram	
	Venlafaxine	
	Paroxetine	
	Trazodone	
	Diazepam	

4.3. Caracterização das amostras de solo

A escolha de pontos para analisar, foi selecionada devido à facilidade e disponibilidade por parte da direcção do cemitério de Paranhos. Devido ao grande constrangimento que este tema provoca, optou-se pela recolha de solo em sepulturas (ver Figura 13) já abertas sendo que ainda se procedeu à recolha de duas amostra de solo em pontos que se encontram fora da influência do cemitério para posterior comparação. Os dois pontos neutros foram necessários pois o local do primeiro ponto neutro (Z1) tinha vários materiais ferrosos (latas, sucata, etc.) no chão, sendo que o segundo ponto serviria para comprovar ou não se esse ponto podia ser utilizado como referência.



Figura 13 - Plano de amostragem em solos.

Cada amostra foi recolhida num recipiente único e não se verificou a necessidade da sua conservação, sendo que cada parâmetro (ver Tabela 13) foi analisado através da análise por fluorescência de raios X.

Tabela 13 - Parâmetros analisados nas amostras de solo.

Sigla	Parâmetro
Zr	Zircônio
Sr	Estrôncio
Rb	Rubídio
Pb	Chumbo
Se	Selênio
As	Arsênio
Au	Ouro
Zn	Zinco
W	Tungstênio
Cu	Cobre
Ni	Níquel
Co	Cobalto
Fe	Ferro
Mn	Manganês
Cr	Crômio
V	Vanádio
Ti	Titânio
Ca	Cálcio
K	Potássio
S	Enxofre
Ba	Bário
Sb	Antimônio
Sn	Estanho
Cd	Cádmio
Ag	Prata
Pd	Paládio

Após a recepção das amostras no laboratório, colocou-se a amostra numa bandeja e esta foi levada à estufa (ver Figura 14), com a temperatura de 74°C durante aproximadamente 24 horas, de maneira a retirar a humidade presente no solo.



Figura 14 - Estufa utilizada na caracterização das amostras sólidas.

Assim que o processo de secagem da amostra foi concluído procedeu-se a uma peneiração do solo (ver Figura 15). Esta peneiração separou o solo em três granulometrias diferentes: acima dos 250 microns, entre os 250 microns e os 125 microns e abaixo dos 125 microns.



Figura 15 – Peneiros de 250 microns e de 125 microns.

A amostra peneirada abaixo dos 125 microns foi colocada em cápsulas (ver Figura 16) para a sua posterior análise.



Figura 16 - Preparação de amostra em cápsula.

Com as cápsulas prontas, estas foram colocadas no equipamento Thermo Scientific – Niton Analyzers (ver Figura 17) e no software seleccionou-se quais os parâmetros a analisar. Os passos efectuados no software fora os seguintes: modo, análises em pó, minérios de Cu/Zn. A operação para cada amostra demorava cerca de 180 segundos (3 minutos).



Figura 17 - Thermo Scientific (Niton Analyzers).

No final da análise o *software* emite um certificado de comprovação (ver anexo II) e tal como na amostragem das águas no final da análise registou-se os dados obtidos numa ficha de campo. Esta ficha tem a função de registar as características de cada local e assim manter um registo que torne possível a caracterização global (ver Tabela 14). Nesta ficha de campo apenas se incluíram os 13 metais com concentrações mais elevadas.

Tabela 14 - Ficha de campo para amostras sólidas.

Solos

Ficha de Coleta		
Foto	Zona da amostra	
	Código da amostra	
	Localização	
	Latitude	
	Longitude	
	Hora (h/min)	
	Data (d/m/a)	
	Identificação	
	Cor	
	Peso (g)	
	Profundidade (m)	
	Condições	
	Tempo	
	Chuva	
Ficha de Caracterização		
Foto	Parâmetro	
	Código da amostra	
	Zircônio (%)	
	Estrôncio (%)	
	Rubídio (%)	
	Chumbo (%)	
	Zinco (%)	
	Cobre (%)	
	Ferro (%)	
	Manganês (%)	
	Crômio (%)	
	Titânio (%)	
	Cálcio (%)	
	Potássio (%)	
	Enxofre (%)	

5. Resultados

5.1. Resultados das amostras de águas

Relativamente aos resultados obtidos nas amostras de águas a Tabela 15 mostra os valores de pH.

Tabela 15 - Valores de pH para as amostras.

Identificação	pH	Média	Temperatura (°C)
Z1A1	6,93	6,8	13
Z1A2	6,67		
Z2A1	6,58	6,64	13
Z2A2	6,69		
Z3A1	6,49	6,49	13
Z4A1	6,59	6,56	13
Z4A2	6,53		

Com base na análise anterior verifica-se que os valores variam entre o mínimo de 6,49 (Z3A1) e o máximo de 6,93 (Z1A1). Pode-se também verificar que a parte mais antiga do cemitério (Z1) tem um pH, em média, ligeiramente mais alto do que a parte mais recente do cemitério (Z2, Z3 e Z4). Este valor mais alto de pH com diferenças na ordem das 0,16, 0,31 e 0,24 décimas para as zonas Z2, Z3 e Z4 respectivamente, não é muito significativa visto que, no geral, todas as amostras encontram-se perto da faixa do pH neutro. Esta diferença não é explicada pela temperatura, pois em todas as amostras a temperatura revelou-se constante. A Figura 18 mostra as isolinhas do pH das amostras de água do cemitério.

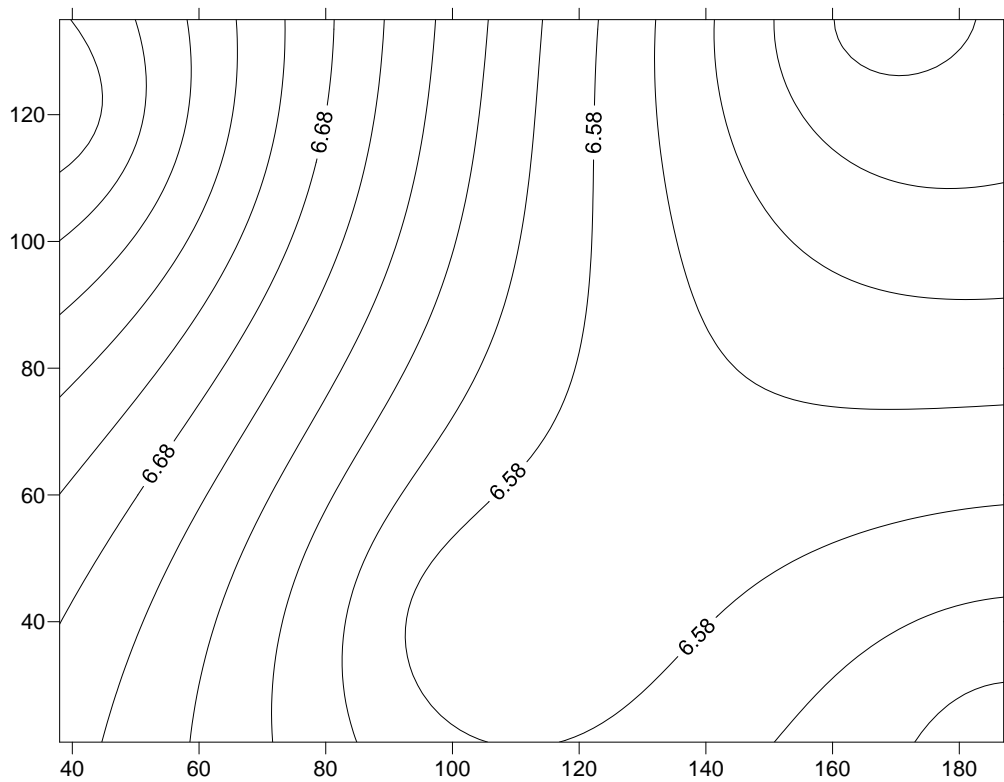


Figura 18 - Isolinhas do pH no cemitério de Paranhos.

A Tabela 16 mostra a concentração dos fármacos nas amostras do cemitério.

Tabela 16 - Concentração de fármacos nas amostras de água.

	Concentração (g × 10 ⁻⁹ /L)														
	Z1A1		Z1A2		Z2A1		Z2A2		Z3A1		Z4A1		Z4A2		
	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	
Norsertaline	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Norfluoxetine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Carbamazepine	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Fluoxetine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Sertraline	4,874	4,601	5,734	5,416	5,036	4,919	6,028	5,412	4,769	4,406	5,220	5,097	5,537	5,395	
Citalopram	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Venlafaxine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Paroxetine	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Trazodone	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Diazepam	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Na Tabela 17 destacam-se os resultados relativos aos fármacos encontrados nas amostras: sertraline e carbamazepina, que embora em quantidades vestigiais (abaixo do LOD para a carbamazepina) verificaram os critérios de validação e por isso confirmaram tratar-se dos compostos referidos. Estes valores têm por base um fator de concentração de 500 vezes.

Tabela 17 – Observações respetivas à sertraline e à carbamazepina.

Fármaco	Solução padrão		
	-20%	Rácio dos iões	+20%
Sertraline	0,854	1,067	1,280
Carbamazepina	3,931	4,914	5,896

Assim, verifica-se que nas 7 amostras de água de cemitério analisadas aparecem os fármacos carbamazepina e sertraline. Os restantes fármacos não foram detetados e isso apresenta duas possibilidades: não existem nas amostras analisadas ou o método escolhido não tem a precisão necessária para os detectar. A carbamazepina tem um valor de concentração abaixo do limite de detecção do método, ou seja, através do método escolhido não se pode quantificar mas é fiável dizer que este fármaco existe nas amostras. Relativamente à sertralina as concentrações variam entre 4,406 ($g \times 10^{-9}/L$) e 5,734 ($g \times 10^{-9}/L$). Devido ao método adotado apresenta-se na Tabela 17 um intervalo de concentrações que varia desde -20% até +20%. No cálculo anterior utilizou-se a média de todos os valores existentes. O valor médio da concentração das duas réplicas, desvio-padrão e desvio-padrão relativo apresentam-se na Tabela 18.

Tabela 18 - Concentração ($g \times 10^{-9}/L$) obtida da sertraline para as 7 amostras analisadas.

Amostras	Concentração sertralina ($g \times 10^{-9}/L$)			Desvio-padrão ($g \times 10^{-9}/L$)	Desvio-padrão relativo (%)
	1º Ensaio	2º Ensaio	Média		
Z1A1	4,874	4,601	4,738	0,193	4,07
Z1A2	5,734	5,416	5,575	0,225	4,03
Z2A1	5,036	4,919	4,978	0,0827	1,66
Z2A2	6,028	5,412	5,720	0,436	7,61
Z3A1	4,769	4,406	4,588	0,257	5,60
Z4A1	5,220	5,097	5,159	0,0870	1,69
Z4A2	5,537	5,395	5,466	0,100	1,84

Devido aos teores encontrados foi impossível fazer as isolinhas representativas para cada fármaco, para o cemitério tal como se fez para o pH, fazendo-se apenas para a sertraline (ver Figura 19).

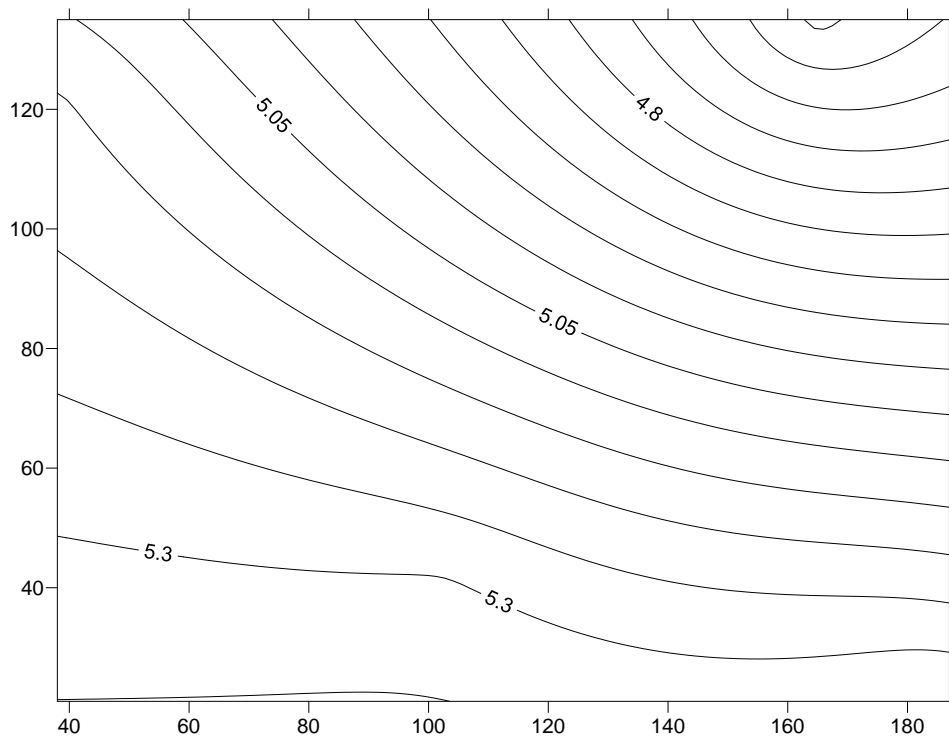


Figura 19 - Isolinhas da sertraline no cemitério de Paranhos.

As fichas de campo preenchidas relativamente às amostras de água, podem ser vistas na Tabela 19, Tabela 20, Tabela 21 e Tabela 22.

Tabela 19 - Ficha de campo da zona Z1.



Ficha de Coleta					
	Zona da amostra	Z1			
	Código da amostra	Z1A1	Z1A2		
	Localização				
	Latitude	41°10'30.61"N			
	Longitude	8°36'4.95"W			
	Hora (h/min)	11:40:00			
	Data (d/m/a)	12/05/2014			
	Identificação				
	Cor	Transparente	Transparente		
	Cheiro	Sem odor	Sem odor		
Turbidez	Sem turbidez	Sem turbidez			
Temperatura (°C)	13	13			
Condições					
Tempo	Sol	Sol			
Chuva	Sem chuva	Sem chuva			
Ficha de Caracterização					
	Parâmetro	1ª	2ª	1ª	2ª
	pH	6,93		6,67	
	Norsertaline (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Norfluoxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Carbamazepine (ng/L)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	Fluoxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Sertraline (ng/L)	4,874	4,601	5,734	5,416
	Citalopram (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Venlafaxine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Paroxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Trazodone (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Diazepam (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Tabela 20 - Ficha de campo da zona Z2.


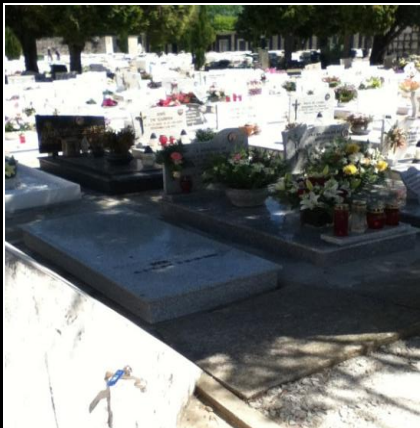
Ficha de Coleta					
	Zona da amostra	Z2			
	Código da amostra	Z2A1	Z2A2		
	Localização				
	Latitude	41°10'26.54"N			
	Longitude	8°36'7.56"W			
	Hora (h/min)	11:49:00			
	Data (d/m/a)	12/05/2014			
	Identificação				
	Cor	Transparente	Transparente		
	Cheiro	Sem odor	Sem odor		
Turbidez	Sem turbidez	Sem turbidez			
Temperatura (°C)	13	13			
Condições					
Tempo	Sol	Sol			
Chuva	Sem chuva	Sem chuva			
Ficha de Caracterização					
	Parâmetro	1ª	2ª	1ª	2ª
	pH	6,58		6,69	
	Norsertaline (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Norfluoxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Carbamazepine (ng/L)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	Fluoxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Sertraline (ng/L)	5,036	4,919	6,028	5,412
	Citalopram (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Venlafaxine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Paroxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Trazodone (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Diazepam (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Tabela 21 - Ficha de campo da zona Z3.


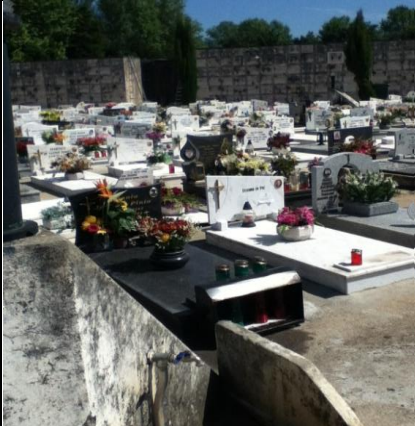
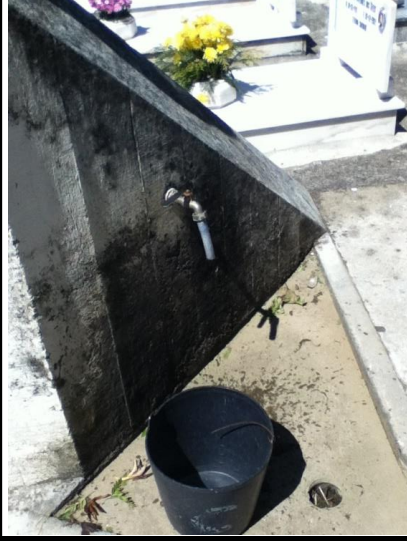

Ficha de Coleta					
	Zona da amostra	Z3			
	Código da amostra	Z3A1	-		
	Localização				
	Latitude	41°10'29.22"N			
	Longitude	8°36'7.71"W			
	Hora (h/min)	11:31:00			
	Data (d/m/a)	12/05/2014			
	Identificação				
	Cor	Transparente	-		
	Cheiro	Sem odor	-		
Turbidez	Sem turbidez	-			
Temperatura (°C)	13	-			
Condições					
Tempo	Sol	-			
Chuva	Sem chuva	-			
Ficha de Caracterização					
	Parâmetro	1ª	2ª	1ª	2ª
	pH	6,49		-	
	Norsertaline (ng/L)	n.d.	n.d.	-	-
	Norfluoxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	-	-
	Carbamazepine (ng/	<LOD	<LOD	-	-
	Fluoxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	-	-
	Sertraline (ng/L)	4,769	4,406	-	-
	Citalopram (ng/L)	n.d.	n.d.	-	-
	Venlafaxine (ng/L)	n.d.	n.d.	-	-
	Paroxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	-	-
	Trazodone (ng/L)	n.d.	n.d.	-	-
	Diazepam (ng/L)	n.d.	n.d.	-	-

Tabela 22 - Ficha de campo da zona Z4.

Ficha de Coleta					
	Zona da amostra	Z4			
	Código da amostra	Z4A1	Z4A2		
	Localização				
	Latitude	41°10'28.22"N			
	Longitude	8°36'4.93"W			
	Hora (h/min)	11:52:00			
	Data (d/m/a)	12/05/2014			
	Identificação				
	Cor	Transparente	Transparente		
	Cheiro	Sem odor	Sem odor		
Turbidez	Pouco turva	Pouco turva			
Temperatura (°C)	13	13			
Condições					
Tempo	Sol	Sol			
Chuva	Sem chuva	Sem chuva			
Ficha de Caracterização					
	Parâmetro	1ª	2ª	1ª	2ª
	pH	6,59		6,53	
	Norsertaline (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Norfluoxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Carbamazepine (ng/	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	Fluoxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Sertraline (ng/L)	5,22	5,097	5,537	5,395
	Citalopram (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Venlafaxine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Paroxetine (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Trazodone (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Diazepam (ng/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

5.2. Resultados da análise das amostras de solo

Para a elaboração das tabelas seguintes utilizaram-se os certificados emitidos pelo equipamento que podem ser vistos no anexo II. Visto que a codificação do equipamento é diferente da codificação adotada a Tabela 23 mostra como foi feita essa transformação.

Tabela 23 – Codificação adotada.

Codificação utilizada pelo equipamento	Codificação adotada
Leitura nº 73 e 74	Z0 - Solo Neutro
Leitura nº 9,10 e 11	Z1 - Solo Neutro
Leitura nº 4,5 e 6	Z2 - Solo
Leitura nº 1,2 e 3	Z3 - Solo

Relativamente aos resultados obtidos nas amostras de solos a Tabela 24 mostra a concentração de metais presentes, mas de apenas os metais detetados pelo método utilizado, sendo que a Tabela 25 mostra o respectivo fator de enriquecimento. Para o fator de enriquecimento os pontos Z2 e Z3 foram comparados com os pontos neutros, Z0 e Z1. Estes valores são médias de todas as leituras efectuadas.

Tabela 24 - Metais presentes nas amostras de solo.

Metal (%)	Z0 - Solo Neutro	Z1 - Solo Neutro	Z2 - Solo	Z3 - Solo
Zr (%)	0,0250	0,0260	0,0350	0,0370
Sr (%)	0,0050	0,0100	0,0090	0,0100
Rb (%)	0,0120	0,0140	0,0230	0,0240
Pb (%)	0,0170	0,0205	0,0180	0,0270
As(%)	0,0025	0,0030	0,0030	0,0070
Zn (%)	0,0200	0,0460	0,0240	0,0260
Cu (%)	0,0050	0,0090	0,0100	0,0110
Fe (%)	2,9080	2,8790	1,6020	1,6810
Mn (%)	0,0270	0,0505	0,0170	0,0200
Cr (%)	0,0190	0,0125	0,0040	0,0030
V(%)	0,0220	0,0230	0,0040	0,0050
Ti (%)	0,3570	0,3165	0,3230	0,3810
Ca (%)	0,3560	2,3125	0,3070	0,4030
K (%)	2,2430	2,5880	2,7210	2,9340
S (%)	0,0335	0,1590	0,0360	0,0430

Tabela 25 – Fator de enriquecimento das amostras.

Metal (%)	Z2 - Solo (ERZ0)	Z3 - Solo (ERZ0)	Z2 - Solo (ERZ1)	Z3 - Solo (ERZ1)
Zr (%)	1,40	1,48	1,35	1,42
Sr (%)	1,80	2,00	0,90	1,00
Rb (%)	1,92	2,00	1,64	1,71
Pb (%)	1,06	1,59	0,88	1,32
As(%)	1,20	2,80	1,00	2,33
Zn (%)	1,20	1,30	0,52	0,57
Cu (%)	2,00	2,20	1,11	1,22
Fe (%)	0,55	0,58	0,56	0,58
Mn (%)	0,63	0,74	0,34	0,40
Cr (%)	0,21	0,16	0,32	0,24
V(%)	0,18	0,23	0,17	0,22
Ti (%)	0,90	1,07	1,02	1,20
Ca (%)	0,86	1,13	0,13	0,17
K (%)	1,21	1,31	1,05	1,13
S (%)	1,07	1,28	0,23	0,27

Analisando as tabelas anteriores verificamos que o metal com maior concentração em todas as amostras é o ferro seguido do potássio.

Comparando a amostra Z2 com a amostra de solo Z0 podemos concluir que o factor de enriquecimento é bastante elevado no cobre, rubídio e estroncio. Segundo a bibliografia consultada, este valor é um valor expectável. Ao invés do cobre que consegue ser o dobro já o ferro, outro metal que seria de esperar que tivesse concentrações elevadas, aparece em menor quantidade. Assim como o ferro também o crómio e o vanádio são valores mais característicos do ponto Z0 do que propriamente do ponto Z2.

Repetindo a analogia de comparar a amostra Z2 mas desta vez com a amostra de solo Z1 as conclusões são levemente diferentes. Como referido anteriormente este local apresentava metais ferrosos na vizinhança e isso reflectiu-se na hora da comparação. Podemos verificar que o cobre, que no solo Z0 era duas vezes menor do que na amostra Z2, na amostra Z1 passam a ter valores equivalentes e o próprio zircónio e rubídio têm valores ligeiramente mais baixos. A concentração de ferro continua elevada, mas devido à sua localização deixa de ser uma surpresa como foi na amostra Z0.

Relativamente à amostra Z3 com a amostra de solo Z0 obtemos conclusões diferentes. Esta amostra é muito mais rica em arsénio, rubídio e estrôncio e de igual forma à amostra Z2 os valores de cobre são extremamente altos. Apesar de a amostra Z3 ter concentrações de metais mais elevadas do que a amostra Z2 verifica-se que apresenta a mesma anomalia quando se fala a nível do ferro.

Assim como há diferenças entre a amostra Z3 e Z0, também existe essa mesma diferença entre a amostra Z3 e Z1. Como foi referenciado anteriormente esta amostra Z3 tem teores de metais

elevados e por isso denota-se que em relação à amostra Z1 o seu fator de enriquecimento não é tão elevado.

Após a comparação das amostras Z2 e Z3 com os respectivos pontos neutros também se pode fazer uma comparação entre elas. Apesar de serem amostras de solo do mesmo cemitério existem algumas diferenças nas suas concentrações (ver Tabela 26). A amostra Z3 é mais rica em termos de metais do que a amostra Z2, mas algumas das diferenças são de pouca importância. Casos do zircônio, do rubídio, do estrôncio entre outros essa diferença passa por valores na ordem das milésimas sendo esses os valores de pouca importância. Claro que nem todas são de pouca importância, como o caso do chumbo e do cálcio que têm diferenças mais acentuadas.

Tabela 26 – Comparação entre as amostras Z2 e Z3.

Metal (%)	Z2 - Solo	Z3 - Solo
Zr (%)	0,0350	0,0370
Sr (%)	0,0090	0,0100
Rb (%)	0,0230	0,0240
Pb (%)	0,0180	0,0270
As (%)	0,0030	0,0070
Zn (%)	0,0240	0,0260
Cu (%)	0,0100	0,0110
Fe (%)	1,6020	1,6810
Mn (%)	0,0170	0,0200
Cr (%)	0,0040	0,0030
V (%)	0,0040	0,0050
Ti (%)	0,3230	0,3810
Ca (%)	0,3070	0,4030
K (%)	2,7210	2,9340
S (%)	0,0360	0,0430

Em suma, a tabela anterior, revela que as amostras de cemitérios são ricas em rubídio, estrôncio e cobre e pobres em cromo e ferro quando comparadas com as amostras dos pontos neutros.

As fichas de campo preenchidas, referente às amostras de solo podem ser vistas na Tabela 27, Tabela 28, Tabela 29 e Tabela 30.

Tabela 27 – Ficha de campo da zona Z0-Ponto Neutro.



Ficha de Coleta			
	Zona da amostra	Z0	
	Código da amostra	Z0S1	
	Localização		
	Latitude	41°10'39.06"N	
	Longitude	8°35'30.37"W	
	Hora (h/min)	12:45:00	
	Data (d/m/a)	16/04/2015	
	Identificação		
	Cor	Castanho escuro	
	Peso (g)	562	
	Profundidade (m)	0,2	
	Condições		
	Tempo	Enevoado	
	Chuva	Sem chuva	
Ficha de Caracterização			
	Parâmetro		
	Código da amostra	73	74
	Zircônio (%)	0,027	0,025
	Estrôncio (%)	0,01	0,01
	Rubídio (%)	0,014	0,014
	Chumbo (%)	0,021	0,02
	Arsênio (%)	0,003	0,003
	Zinco (%)	0,047	0,045
	Cobre (%)	0,009	0,009
	Ferro (%)	2,889	2,869
	Manganês (%)	0,053	0,048
	Crômio (%)	0,013	0,012
	Vanádio (%)	0,023	0,023
	Titânio (%)	0,33	0,303
	Cálcio (%)	2,298	2,327
	Potássio (%)	2,592	2,592
	Enxofre (%)	0,147	0,171

Tabela 28 – Ficha de campo da zona Z1-Ponto Neutro.



Ficha de Coleta				
	Zona da amostra	Z1		
	Código da amostra	Z1S1		
	Localização			
	Latitude	41°10'32.99"N		
	Longitude	8°36'28.13"W		
	Hora (h/min)	13:10:00		
	Data (d/m/a)	17/06/2014		
	Identificação			
	Cor	Castanho escuro		
	Peso (g)	440		
	Profundidade (m)	0,3		
	Condições			
	Tempo	Sol		
	Chuva	Sem chuva		
Ficha de Caracterização				
	Parâmetro			
	Código da amostra	9	10	11
	Zircônio (%)	0,025	0,024	0,027
	Estrôncio (%)	0,005	0,005	0,005
	Rubídio (%)	0,001	0,001	0,001
	Chumbo (%)	0,017	0,016	0,017
	Arsênio (%)	0,003	0,002	< LOD
	Zinco (%)	0,022	0,02	0,02
	Cobre (%)	0,006	0,005	0,006
	Ferro (%)	3,058	2,908	2,858
	Manganês (%)	0,028	0,027	0,024
	Crômio (%)	0,024	0,018	0,019
	Vanádio (%)	0,024	0,021	0,022
	Titânio (%)	0,366	0,338	0,357
	Cálcio (%)	0,386	0,356	0,353
	Potássio (%)	2,318	2,219	2,243
	Enxofre (%)	0	0,033	0,034

Tabela 29 – Ficha de campo da zona Z2-Solo.





Ficha de Coleta				
	Zona da amostra	Z2		
	Código da amostra	Z2S1		
	Localização			
	Latitude	41°10'26.93"N		
	Longitude	8°36'6.74"W		
	Hora (h/min)	12:10:00		
	Data (d/m/a)	17/06/2014		
	Identificação			
	Cor	Castanho		
	Peso (g)	195		
Profundidade (m)	0,2			
Condições				
Tempo	Sol			
Chuva	Sem chuva			
Ficha de Caracterização				
	Parâmetro			
	Código da amostra	4	5	6
	Zircônio (%)	0,033	0,035	0,035
	Estrôncio (%)	0,009	0,009	0,009
	Rubídio (%)	0,023	0,023	0,024
	Chumbo (%)	0,018	0,018	0,018
	Arsênio (%)	0,003	0,003	0,003
	Zinco (%)	0,024	0,023	0,024
	Cobre (%)	0,011	0,010	0,010
	Ferro (%)	1,602	1,581	1,707
	Manganês (%)	0,017	0,015	0,018
	Crômio (%)	0,004	0,003	0,004
	Vanádio (%)	0,004	< LOD	< LOD
	Titânio (%)	0,323	0,316	0,334
	Cálcio (%)	0,317	0,307	0,305
	Potássio (%)	2,721	2,711	2,807
Enxofre (%)	0,036	0,037	0,033	

Tabela 30 - Ficha de campo da zona Z3-Solo.

Ficha de Coleta				
	Zona da amostra	Z3		
	Código da amostra	Z3S1		
	Localização			
	Latitude	41°10'29.10"N		
	Longitude	8°36'6.60"W		
	Hora (h/min)	12:15:00		
	Data (d/m/a)	17/06/2014		
	Identificação			
	Cor	Castanho-escuro		
	Peso (g)	210		
	Profundidade (m)	0,6		
	Condições			
Tempo	Sol			
Chuva	Sem chuva			
Ficha de Caracterização				
	Parâmetro			
	Código da amostra	1	2	3
	Zircônio (%)	0,037	0,036	0,038
	Estrôncio (%)	0,010	0,009	0,010
	Rubídio (%)	0,024	0,023	0,024
	Chumbo (%)	0,027	0,026	0,027
	Arsênio (%)	0,007	0,007	0,005
	Zinco (%)	0,027	0,024	0,026
	Cobre (%)	0,011	0,012	0,011
	Ferro (%)	1,746	1,669	1,681
	Manganês (%)	0,021	0,019	0,020
	Crômio (%)	0,003	0,000	0,003
	Vanádio (%)	0,005	0,004	0,005
	Titânio (%)	0,385	0,375	0,381
	Cálcio (%)	0,388	0,403	0,405
	Potássio (%)	2,875	2,954	2,934
Enxofre (%)	0,043	0,054	0,041	

6. Conclusões

Nesta dissertação, tal como em outros estudos, também se conseguiu detetar e quantificar a presença de metais no solo e ainda detetar a presença dos fármacos: sertralina e carbamazepina.

Analisando as amostras na sua totalidade, o metal com maior concentração em todas as amostras é o ferro seguido do potássio. Estes valores variam entre 1,6020 (Z2) e 2,9080 (Z0) para o ferro e entre 2,2430 (Z0) e 2,9340 (Z3) para o potássio. De uma maneira geral os metais tais como o rubídio, estrôncio e o cobre aparecem em maior concentração nas amostras recolhidas do cemitério do que as amostras dos pontos neutros. Estes valores de cobre eram expectáveis pois este metal é característico dos adornos funerários. Em contrapartida alguns dos metais mencionados na bibliografia, em que era expectável concentrações mais elevadas, tal como o ferro aparecem em menor concentração nas amostras provenientes do cemitério.

As amostras de água apresentam valores de pH que variam entre 6,49 (Z3A1) e 6,93 (Z1A1). Esta gama de valores encontra-se muito próximo do valor 7 na escala de pH que significa que é uma solução de carácter neutra. Estas mesmas 7 amostras de água de cemitério contêm os fármacos carbamazepina e sertralina. A carbamazepina tem um valor de concentração abaixo do limite de detecção, que é de 0,0800 ng/L e a sertralina encontra-se abaixo do limite de quantificação do método (MQL), que é de 127 ng/L, sendo que as suas concentrações variam entre 4,588 (A3Z1) a 5,720 ng/L (A2Z2) com um desvio padrão relativo de 1,66% (A2Z1) e 7,61% (A2Z2).

Apesar dos valores obtidos este estudo por si só não é conclusivo. Numa perspectiva futura seria de todo interessante realizar mais estudos, em outros cemitérios da zona do Porto para se perceber se estes resultados são normais ou existe alguma anomalia no cemitério de Paranhos. Também se poderia realizar trabalhos de maneira a averiguar a existência de algum tipo de correlação entre os fármacos e os metais detetados e qual o seu comportamento ao longo do tempo.

Relativamente às altas concentrações de ferro detetadas, nas amostras fora do cemitério, o mais indicado será efetuar estudos complementares com amostras de vários pontos, de maneira a verificar se a anomalia apenas existe na zona de Paranhos ou se é representativa do distrito do Porto. Outro ponto que se poderia fazer era a comparação entre com os adornos funerários utilizados e as concentrações de ferro detetadas e verificar se existe alguma relação. Ainda no campo dos metais, poderia-se fazer análises à água para investigar se nessas amostras também existe a presença destes e proceder a uma comparação entre amostras.

Analogamente à presença de fármacos, aqui também se poderia aprofundar esta temática. Em primeiro lugar seria de todo interessante utilizar outro método analítico e analisar os resultados obtidos. Na mesma linha de pensamento utilizado nas amostras de solo, poderia-se retirar amostras de água de pontos fora da influência do cemitério e analisar e quantificar os fármacos presentes e proceder a uma comparação com as amostras do cemitério.

7. Bibliografia

- Amuno, S. A., 2013. Potential Ecological Risk of Heavy Metal Distribution in Cemetery Soils. *Water Air Soil Pollut*, 224:1435
- Barros, Y. J., Melo, V. F., Zanello, S., Romanó, E. L., & Luciano, P. R., 2008. Teores de metais pesados e caracterização mineralógica de solos do cemitério Municipal de Santa Cândida, Curitiba (Pr). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, pp. 1763-1773.
- Bertino, A. J., 2011. *Forensic Science: Fundamentals & Investigations*. Estados Unidos da América: Cengage Learning.
- Bouwer, H., 1978. *Groundwater Hydrology*. New York: McGraw-Hill, Inc.
- Brito, N. M., Junior, O. A., Polese, L., & Ribeiro, M. L., 2003. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. *Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente*, pp. 129-146.
- Bruzzoniti, M. C., Sarzanini, C., & Mentasti, E., 2000. Preconcentration of contaminants in water analysis. *Journal of Chromatography A*, pp. 289-309.
- Lisboa Câmara Municipal. Obtido em 07 de 04 de 2014, de <http://www.cm-lisboa.pt/servicos/por-temas/cemiterios/movimentos-mortuarios/inumacao-de-cadaver>
- Carneiro, V. S., 2008. Impactos causados por necrochorume de cemitérios: meio ambiente e saúde pública. XV Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas. São Paulo: Fenágua: Feira Nacional da Água.
- chemicalize.org. Obtido em 07 de 09 de 2014, de <http://www.chemicalize.org/>
- Christopherson, R. W., 2012. *Geossistemas: Uma introdução à geografia física*. Porto Alegre: Bookman Companhia Editora Ltda.
- Porto: Câmara Municipal. Obtido em 2014 de 04 de 18, de <http://www.cm-porto.pt/gen.pl?p=stories&op=view&fokey=cmp.stories/2374>
- Davies, O. A., Allison, M. E., & Uyi, H. S., 2006. Bioaccumulation of heavy metals in water, sediment and periwinkle (*Tympanotonus fuscatusvarradula*) from the Elechi Creek, Niger Delta. *African Journal of Biotechnology*, pp. 968–973.
- Degani, A. L., Cass, Q. B., & Vieira, P. C., 1998. *Cromatografia um breve ensaio*. Química Nova Escola.
- Dent, B. B., 2002. *The hydrogeological context of cemetery operations and planning in australia*. Sydney: The University of Technology.
- Espindula, J. C., & Santos, A. C., 2004. Características hidrogéolgicas e vulnerabilidade do aquífero freático na área do cemitério da Várzea - Recife/PE. XIII Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas. São Paulo: ABAS.
- Ettre, L. S., 2003. M.S. Tswett and the Invention of Chromatography. *Milestones in Chromatography*, pp. 458-467.
- European Medicines Agency : Science, Medicine, Health., 1995. *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*. Londres.

- Fent, K., Weston, A. A., & Caminada, D., 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, pp. 122–159.
- Ferreira, N., 2008. Já temos caixões que não matam o ambiente. Público.
- Fiedler, S., Breuer, J., Pusch, C. M., Holley, S., Wahl, J., Ingwersen, J., & Graw, M., 2012. Graveyards — Special landfills. *Science of the Total Environment*, pp. 90-97.
- Fiedler, S., Schneckenberger, K., & Graw, M., 2004. Characterization of Soils Containing Adipocere. *Archives of environmental contamination and toxicology*, pp. 561-568.
- Florence, A. T., & Attwood, D., 2003. *Princípios Físicos-Químicos em Farmácia*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo.
- Fofonka, L., & Kunt, P. C., 2011. Cemitérios: Potenciais fontes geradoras de impactos ambientais. Obtido em 08 de 11 de 2014, de Educação Ambiental em Acção: <http://www.revistaea.org/artigo.php?idartigo=976&classe=02>
- Forbes, S. L., Stuart, B. H., & Dent, B. B., 2002. The identification of adipocere in grave soils. *Forensic Science International*, pp. 225–230.
- Freguesias.pt. Obtido em 22 de 04 de 2015, de <http://www.freguesias.pt/freguesia.php?cod=131210>
- Funerária Alves - Agência Funerária, Lda. Obtido em 07 de 04 de 2014, de <http://www.agencia-funeraria-alves.pt>
- Furtado, C., 2013. *Psicofármacos: Evolução do consumo em Portugal Continental (2000 – 2012)*. INFARMED.
- Gray, D. A., Mather, J. D., & Harrison, I. B., 1974. Review of groundwater pollution for waste sites in England and Wales with provisional guidelines for future site selection. *Quarterly Journal of Engineering Geology*, pp. 181–196.
- Gunn, A., 2009. *Essential Forensic Biology*. West Sussex: Wiley-Blackwell.
- Houaiss, A., & Villar, M. S., 2003. *Dicionário Houaiss da Língua Portuguesa*. Lisboa: Círculo de Leitores.
- Diário da República Eletrónico. Obtido em 26 de 04 de 2014, de www.dre.pt
- Jones, O. A., Voulvoulis, N., & Lester, J. N., 2003. Potential impact of pharmaceuticals on environmental health. *Bulletin of the World Health Organization*, pp. 768-769.
- Jonker, C., & Olivier, J., 2012. Mineral Contamination from Cemetery Soils: Case Study of Zandfontein Cemetery, South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, pp. 511-520.
- Leli, I. T., Zaparoli, F. C., Santos, V. C., Oliveira, M., & Reis, F. A., 2012. Estudos ambientais para cemitérios: indicadores, áreas de influência e impactos ambientais. *Boletim de Geografia*, pp. 45-54.
- Igreja proíbe fieis de lançarem cinzas dos mortos. *Diário de Notícias: Portugal*. Obtido em 27 de 07 de 2014, de tvi24.
- agência funerária: a lusitana. Obtido em 24 de 07 de 2014, de <http://www.aflusitana.pt/>
- Portal Laboratórios Virtuais de Processos Químicos. Obtido em 06 de 10 de 2015, de http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?Itemid=451&id=103&option=com_content&task=view
- Oliveira, B. R., 2009. *Cemitérios: Impacte nas Águas Subterrâneas*. Aveiro: Universidade de Aveiro: Departamento de Ambiente e Ordenamento.

- Agência Funerária Internacional. Obtido em 09 de 07 de 2014, de <http://funerariainternacional.pai.pt/>
- Pawliszyn, J., 2002. Unified theory of extraction. Em J. Pawliszyn, Sampling and sample preparation for field and laboratory (p. 253). Amsterdam: Elsevier science B.V.
- PubChem. Obtido em 07 de 09 de 2014, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Quevauviller, P. P., 1995. Quality Assurance in Environmental Monitoring: Sampling and Sample Pretreatment. Wiley-VCH.
- Rodrigues, L., & Pacheco, A., 2003. Groundwater contamination from cemeteries cases of study. International Symposium Environment 2010 Situation and Perspectives for the European Union. Porto (Portugal).
- Romanó, E. N., s.d.. Cemitérios: Passivo ambiental medidas preventivas e mitigadoras. Obtido em 03 de 02 de 2015, de <file:///C:/Users/HugoMonteiro333/Downloads/CEMIT%C3%89RIOS+-+PASSIVO+AMBIENTAL+-+ATIVIDADES+PREVENTIVAS+E+MITIGADORAS.pdf>
- Schneider, J., Watt, H. M., O'Connor, J. V., Chang, F. M., & Wade, C. W., 1993. Ground water resource assessment study for the district of Columbia. Washington, DC.: D.C. Water Resources Research Center University of the District of Columbia.
- Schraps, W. G., 1972. Die Bedeutung der Filtereigenschaften des Bodens für die Anlage. Gesellschaft nº16, pp. 225-229.
- Shimadzu Excellence in Science. Obtido em 2015 de 01 de 15, de http://www.shimadzu.com.br/analitica/produtos/elemental/raios_x/eds/funcionamento.shtml
- Silva, J. C., Durães, N., Cortez, D., Bobos, I., Algarra, M., & Rodríguez-Borges, J. E., 2009. Factores ambientais para a formação de adipocera em cadáveres. *GEÓlogos*, pp. 25-31.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R., 1999. Analytical Chemistry: An Introduction. Seventh Edition.
- Smical, A., Vasile, H., Vasile, O., Jozsef, J., & Elena, P., 2008. Studies on transfer and bioaccumulation of heavy metals from soil into lettuce. *Environmental Engineering and Management Journal*, pp. 609-615.
- Soltan, M. E., 2002. Environmental chemical study on the marsh of Fatimid cemetery at Aswan City, Egypt. *Journal of Environmental Sciences*, pp. 464-473.
- Sponberg, A. L., & Becks, P. M., 2000. Inorganic soil contamination from cemetery Leachate. *Water, Air and Soil Pollution*, 117, pp. 313-327.
- Limbo: Environmentally friendly urns and funeral products. Obtido em 01 de 06 de 2014, de <http://www.limboeurope.com/en/>
- Vallejo, L. I., & Ferrer, M., 2002. Ingeniería geológica. Pearson Educación.
- Van Haaren, F. W., 1951. Cemeteries as sources of groundwater contamination. *Water* nº45, pp. 167-172.
- Vinodhini, R., & Narayanan, M., 2008. Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (common carp). *Int J Environ Sci Tech*, pp. 179-182.
- Wardencki, W., & Namiesnik, J., 2002. Sample water and aqueous solutions. Em J. Pawliszyn, Sampling and sample preparation for field and laboratory (pp. 33-34). Amsterdam: Elsevier science B.V.

- White, G. D., 1994. Fundamentals of Air Sampling. Florida: Lewis Publishers.
- Woelfert, A. J., 2003. Introdução à Medicina Legal. Brasil: ULBRA.
- Young, C. P., Blackmore, K. M., Leavens, A., & Reynold, P. J., 1999. Pollution potential of cemeteries. Draft Guidance. . United Kingdom: Environment Agency R&D Dissemination Centre.
- Żychowski, J., 2012. Impact of cemeteries on groundwater chemistry: A review. *Catena* Vol.93, pp. 29-37.
- Zygmunt, B., & Namiesnik, J., 2002. Sampling selected solid materials. Em J. Pawliszyn, Sampling and sample preparation for field and laboratory (pp. 61-62). Amsterdam: Elsevier science B.V.

8. Anexos

A validação consiste numa série de procedimentos que visam assegurar credibilidades aos resultados obtidas. Uma grande preocupação para os analistas, exige que todas as características de um método analítico devem ser avaliadas. Nomeadamente, linearidade, limite de quantificação, limite de deteção, recuperação, sensibilidade e precisão. A curva de calibração é a função que descreve a resposta de um detetor sobre uma gama de concentrações com concentração conhecida e usada para determinar a concentração de uma amostra desconhecida. A curva de calibração também pode ser definida como uma representação gráfica de uma resposta instrumental (sinal analítico) que muda de acordo com a concentração do analito (a substância a ser medida). O operador prepara uma série de padrões através de uma gama de concentrações próximas da concentração esperada de analito no desconhecido. As concentrações dos padrões devem estar dentro da faixa de trabalho da técnica (instrumentação) que está a ser utilizada.

A adição do padrão interno é a adição de uma quantidade conhecida de um elemento de referência nos padrões e nas amostras. O padrão interno tem a função de monitorar possíveis erros de operação ou procedimentos durante a análise. O padrão interno deve ter preferencialmente as seguintes características:

- nunca ser encontrado na amostra;
- ser disponível em elevado grau de pureza;
- ser estruturalmente semelhante ao analito, ou possuir os mesmos grupos químicos do analito.

Utilizando o padrão interno a curva de calibração é obtida pela razão entre o sinal do analito e o sinal do padrão interno na ordenada e a concentração do analito e do padrão interno na abcissa. Através da curva de calibração podemos obter o LOD e o LOD instrumental e do método, como se pode verificar na figura seguinte (ver Figura 1).

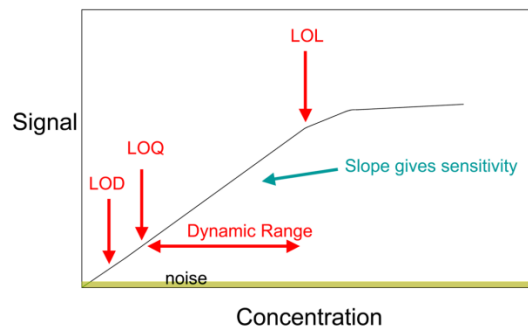


Figura 1 -Curva de calibração, limite de detecção e quantificação.

A matriz utilizada na análise poderá conter co-extrativos que deverão ser avaliados na validação, pois afetam o desempenho das medições do equipamento, causando o incremento ou a diminuição da resposta e, conseqüente, erro na quantificação. A este erro proporcional, dá-se o nome de efeito matriz. O efeito de matriz

pode levar a um aumento ou uma diminuição significativa na resposta de um analito numa amostra em comparação com uma solução padrão, sendo atribuídos a interferentes, que co-eluem juntamente com o analito

$$\text{de interesse. Na } Efeito\ de\ matriz\ (\%) = \frac{Declive_{curva\ em\ matriz}}{Declive_{curva\ em\ solvente}} \times 100 \quad \text{Equação}$$

1 apresenta-se o cálculo do efeito de matriz, dividindo o declive da curva de calibração preparada na matriz e o declive da curva de calibração preparada em solvente. Para um valor de 100% indica que não há nenhum efeito de matriz, enquanto que para valores maiores do que 100% indica um aumento de sinal e para valores mais baixos (<100%) indica uma supressão do sinal analítico.

$$Efeito\ de\ matriz\ (\%) = \frac{Declive_{curva\ em\ matriz}}{Declive_{curva\ em\ solvente}} \times 100 \quad \text{Equação 1- Efeito Matriz}$$

No presente trabalho foi traçada a curva de calibração em solvente e a curva de calibração em matriz. Os padrões utilizadas na curva de calibração em solvente são obtidos pela diluição da solução padrão concentrada com solvente. Na curva de calibração em matriz, inicialmente efetuam-se várias extrações da amostra e recolhe-se os extratos individualmente. Posteriormente em cada vial é colocada um volume de solução padrão concentrada. O volume a adicionar em cada vial é diferente de acordo com a concentração que se pretende obter no final. Posteriormente o padrão presente em cada vial é evaporado até à secura e o resíduo é redissolvido com o extrato da matriz (ver Figura 2 e Figura 3).

Nas tabelas seguintes (ver Tabela 1 e Tabela 2) apresentam-se as curvas de calibração para todos os fármacos.

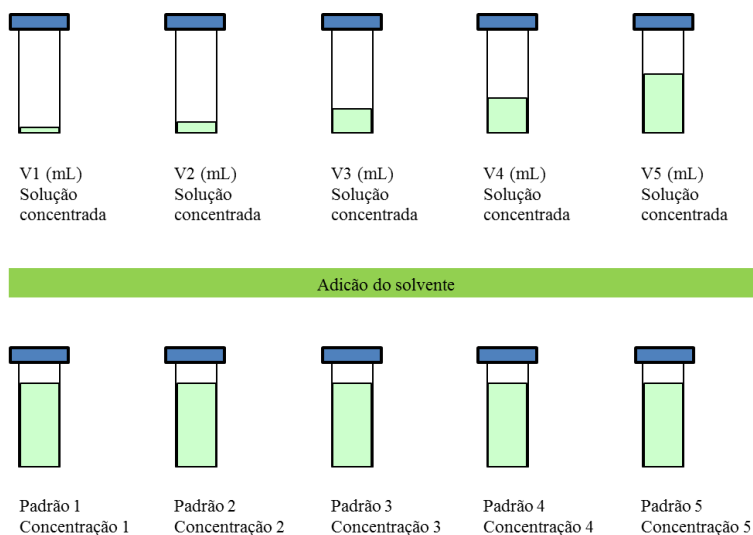


Figura 2 - Procedimento utilizado na determinação da curva de calibração em solvente.

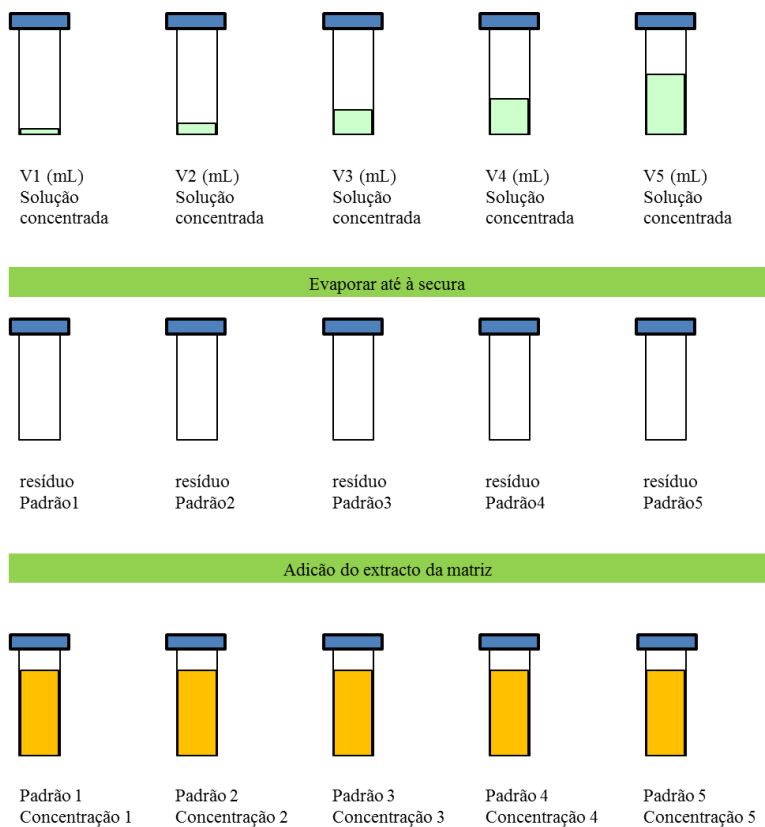
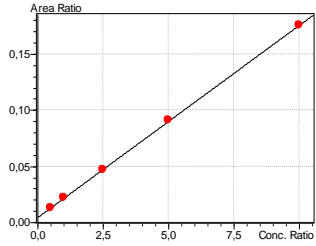
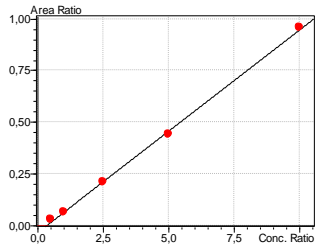
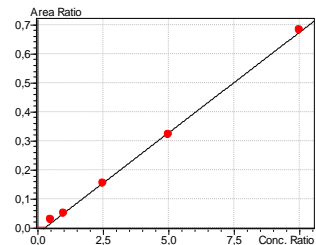
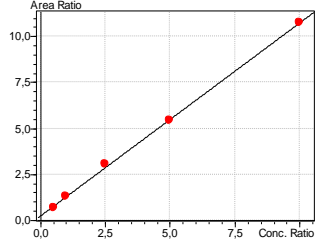
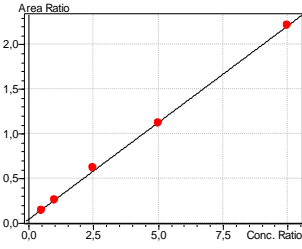
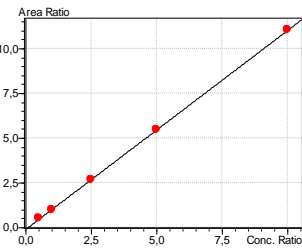
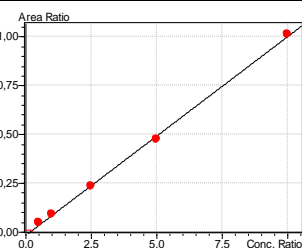
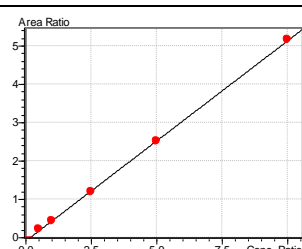
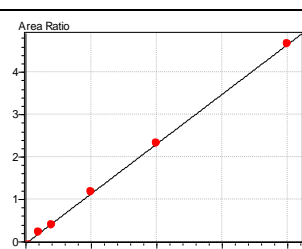
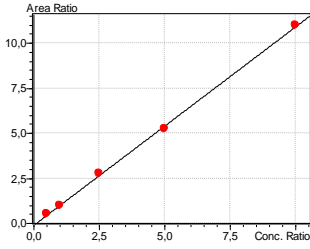
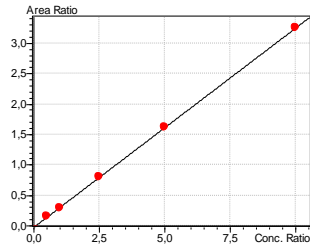
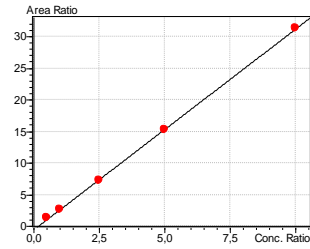
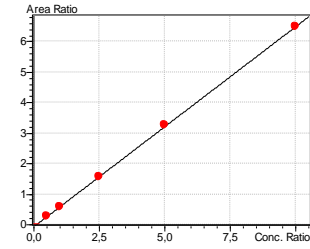
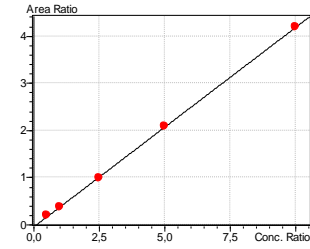


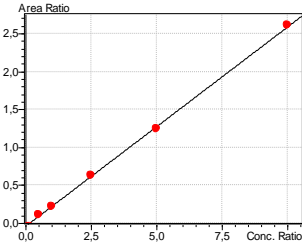
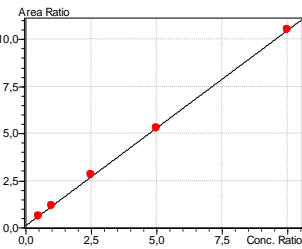
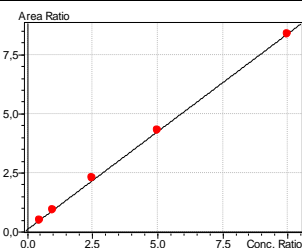
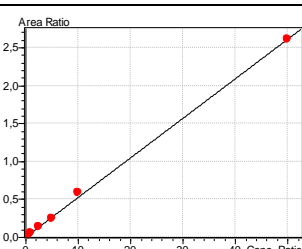
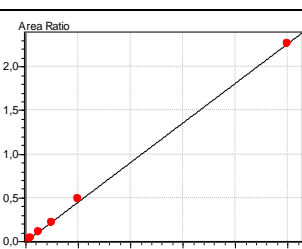
Figura 3 - Procedimento utilizado na determinação da curva de calibração em matriz.

Tabela 1 - Curva de calibração em solvente

Fármacos	Gama de concentração (ppb)	Curva de calibração e equação da recta	R ²	R
Norsertalina ião quantificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 <p>Y = 0,0171437X + 0,00456570</p>	0,9998743	0,9999371
Norfluoxetina ião quantificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 <p>Y = 0,0980574X - 0,0315438</p>	0,9990967	0,9995483
Norfluoxetina ião identificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 <p>Y = 0,0692245X - 0,0169028</p>	0,9991634	0,9995816
Carbamazepina ião quantificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 <p>Y=1,05078x+0,250585</p>	0,9993851	0,9996925

Carbamazepina	5-100	 <p>$Y = 0,216919X + 0,0465594$</p>	0,9996567	0,9998283
Fluoxetina	5-100	 <p>$Y = 1,11218X - 0,085196$</p>	0,9999387	0,9999693
Fluoxetina	5-100	 <p>$Y = 0,101879X - 0,0156060$</p>	0,9990927	0,9995462
Sertralina	5-100	 <p>$Y = 0,522418X - 0,0818860$</p>	0,9998330	0,9999165
Sertralina	5-100	 <p>$Y = 0,470026X - 0,0356138$</p>	0,9998554	0,9999277

Citalopram ção quantificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 $Y = 1,10244X - 0,0988238$	0,9993942	0,9996970
Citalopram ção identificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 $Y = 0,327657X - 0,0228495$	0,9999452	0,9999726
Venlafaxina ção quantificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 $Y = 3,17992X - 0,549451$	0,9998480	0,9999240
Venlafaxina ção identificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 $Y = 0,656752X - 0,0650103$	0,9999408	0,9999704
Paroxetina ção quantificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 $Y = 0,423332X - 0,0415831$	0,9999020	0,9999510

Paroxetina	5-100	 <p>Y=0,263022X-0,0355912</p>	0,9995897	0,9997948
Paroxetina	(5, 10, 25, 50 e 100 ppb)			
Trazodona	5-100	 <p>Y=1,03919X+0,120410</p>	0,9998688	0,9999344
Trazodona	(5, 10, 25, 50 e 100 ppb)			
Trazodona	5-100	 <p>Y=0,828874X+0,108676</p>	0,9996262	0,9998131
Trazodona	(5, 10, 25, 50 e 100 ppb)			
Diazepam	5-100	 <p>Y=0,0521895X+0,00727948</p>	0,9992974	0,9996487
Diazepam	(5, 10, 25, 50 e 100 ppb)			
Diazepam	5-100	 <p>Y=0,0453731X-0,000612559</p>	0,9996503	0,99998252
Diazepam	(5, 10, 25, 50 e 100 ppb)			

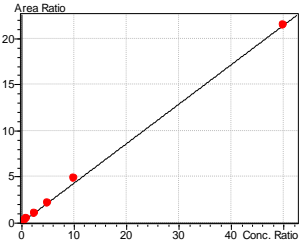
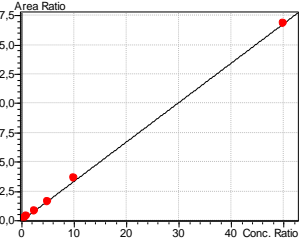
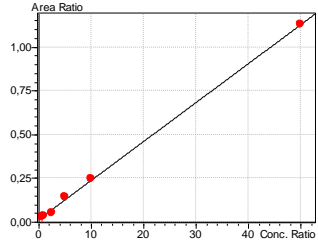
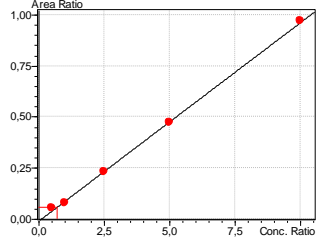
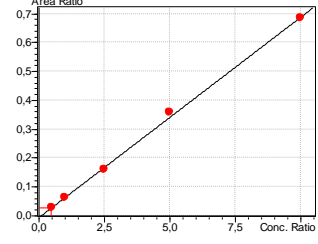
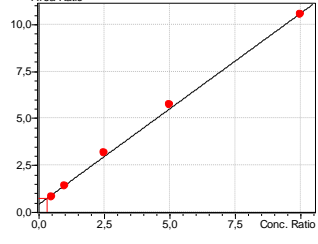
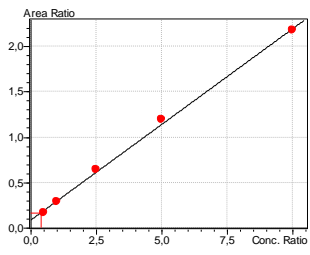
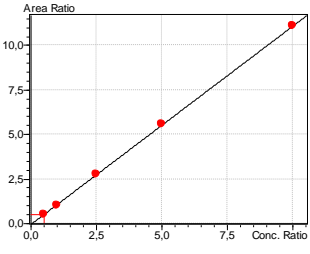
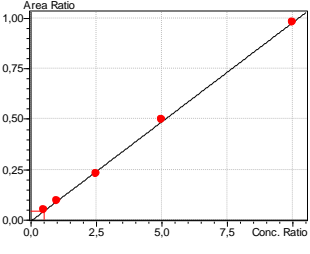
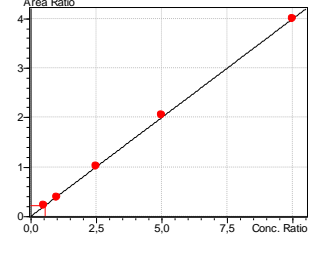
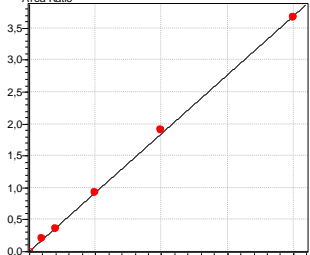
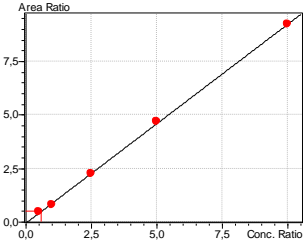
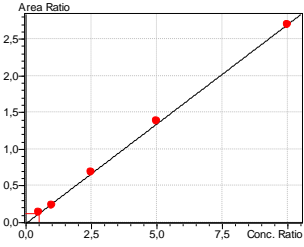
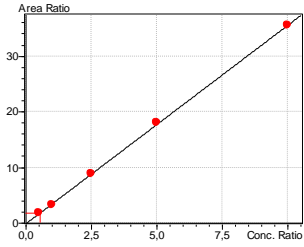
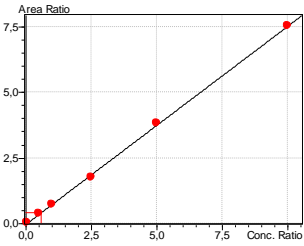
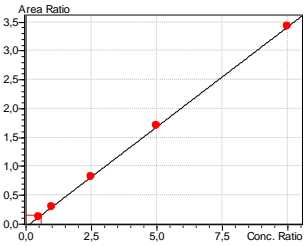
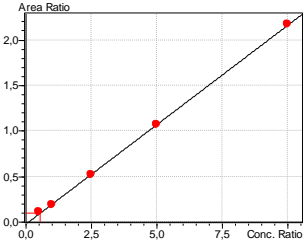
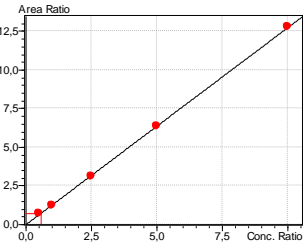
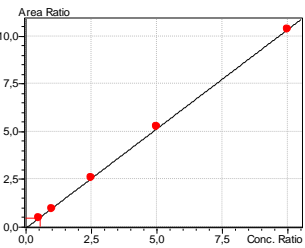
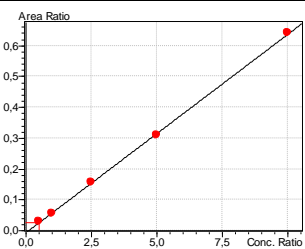
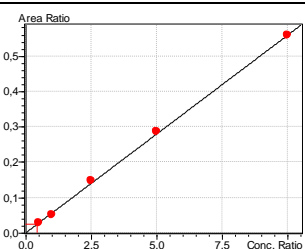
<p>Carbamazepina10,11-epoxide</p> <p>ião quantificação</p>	<p>5-500</p> <p>(5, 10, 25, 50, 100 e 500 ppb)</p>	 <p>$Y=0,428537X+0,0756441$</p>	<p>0,9993109</p>	<p>0,9996554</p>
<p>Carbamazepina10,11-epoxide</p> <p>ião identificação</p>	<p>5-500</p> <p>(5, 10, 25, 50, 100 e 500 ppb)</p>	 <p>$Y = (0,336784)X + (0,0156236)$</p>	<p>0,9995505</p>	<p>0,9997752</p>

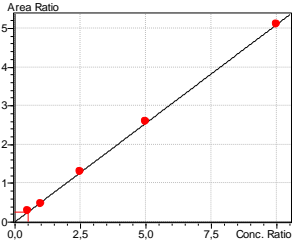
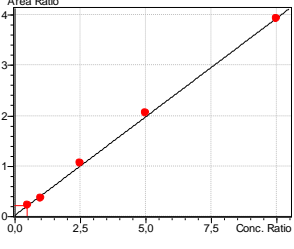
Tabela 2 - Curva de calibração em matriz (água do cemitério).

Fármacos	Gama de concentração (ppb)	Curva de calibração e equação da recta	R ²	R
Norsertalina ião quantificação	5-500 (5, 10, 25, 50, 100 e 500 ppb)	 <p>Y=0,0222560X+0,0172834</p>	0,9991946	0,9995972
Norfluoxetina ião quantificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 <p>Y=0,0972110X-0,00833044</p>	0,9992072	0,9996035
Norfluoxetina ião identificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 <p>Y=0,0695228X-0,00562207</p>	0,9986920	0,9993458
Carbamazepina ião quantificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 <p>Y=1,01901X+0,441512</p>	0,9984824	0,9992409

Carbamazepina	5-100	 <p>Y=0,210888X+0,0910150</p>	0,9982994	0,9991493
Fluoxetina	5-100	 <p>Y=1,11353X-0,0386485</p>	0,9999288	0,9999644
Fluoxetina	5-100	 <p>Y=0,0984998X-0,00412302</p>	0,9995794	0,9997897
Sertralina	5-100	 <p>Y=0,399384X+0,0124065</p>	0,9995936	0,9997968
Sertralina	5-100	 <p>Y=0,368724X+0,00707275</p>	0,9995191	0,9997595

<p>Citalopram</p> <p>ção quantificação</p>	<p>5-100</p> <p>(5, 10, 25, 50 e 100 ppb)</p>	 <p>$Y=0,929758X-0,0470398$</p>	<p>0,9995617</p>	<p>0,9997808</p>
<p>Citalopram</p> <p>ção identificação</p>	<p>5-100</p> <p>(5, 10, 25, 50 e 100 ppb)</p>	 <p>$Y=0,271436X-0,0111305$</p>	<p>0,9994660</p>	<p>0,9997330</p>
<p>Venlafaxina</p> <p>ção quantificação</p>	<p>5-100</p> <p>(5, 10, 25, 50 e 100 ppb)</p>	 <p>$Y=3,56963X-0,0972598$</p>	<p>0,9997485</p>	<p>0,9998742</p>
<p>Venlafaxina</p> <p>ção identificação</p>	<p>5-100</p> <p>(5, 10, 25, 50 e 100 ppb)</p>	 <p>$Y=0,755246X-0,0227525$</p>	<p>0,9995356</p>	<p>0,9997678</p>
<p>Paroxetina</p> <p>ção quantificação</p>	<p>5-100</p> <p>(5, 10, 25, 50 e 100 ppb)</p>	 <p>$Y=0,346930X-0,0449994$</p>	<p>0,9999784</p>	<p>0,9999892</p>

Paroxetina ião identificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 $Y=0,218555X-0,0203592$	0,9997935	0,9998968
Trazodona ião quantificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 $Y=1,27574X+0,000418126$	0,9999230	0,9999615
Trazodona ião identificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 $Y=1,04247X-0,0499775$	0,9998725	0,9999362
Diazepam ião quantificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 $Y=0,0644361X-0,00655729$	0,9997270	0,9998635
Diazepam ião identificação	5-100 (5, 10, 25, 50 e 100 ppb)	 $Y=0,0558790X+0,00180626$	0,9995139	0,9997569

<p>Carbamazepina10,11-epoxide</p> <p>ião quantificação</p>	<p>5-500</p> <p>(5, 10, 25, 50, 100 e 500 ppb)</p>	 <p>$Y=0,510150X+0,00791497$</p>	<p>0,9997931</p>	<p>0,9998965</p>
<p>Carbamazepina10,11-epoxide</p> <p>ião identificação</p>	<p>5-500</p> <p>(5, 10, 25, 50, 100 e 500 ppb)</p>	 <p>$Y=0,391575X+0,0295651$</p>	<p>0,9991008</p>	<p>0,9995503</p>

Como se pode verificar nas curvas de calibração em solvente e em matriz para o ião de quantificação e o ião de identificação, existe uma boa linearidade com um coeficiente de correlação superior a 0,999. Os resultados dos efeitos de matriz são apresentados na Tabela 3, onde y é o sinal e x é a concentração ($\mu\text{g/L}$), no qual é indicado os declives das curvas de calibração em solvente e em matriz da água de cemitério.

Tabela 3 - Retas de calibração em solvente, retas de calibração em matriz de água de cemitério e efeito de matriz (%).

Fármacos		Equação da reta na matriz	Equação da reta em solvente	Efeito matriz (%)	
Norsertalina	lão quantificação	$Y=0,0222560X+0,0172834$	$Y=0,0171437X +0,00456570$	129,8	Enriquecimento de sinal
	lão identificação	$Y=0,0972110X-0,00833044$	$Y=0,0980574X-0,0315438$	99,14	Sem efeito de matriz
Norfluoxetina	lão identificação	$Y=0,0695228X-0,00562207$	$Y=0,0692245X-0,0169028$	100,4	Sem efeito de matriz
	lão quantificação	$Y=1,01901X+0,441512$	$Y=1,05078x+0,250585$	96,98	Sem efeito de matriz
Carbamazepina	lão identificação	$Y=0,210888X+0,0910150$	$Y=0,216919X+0,0465594$	97,22	Sem efeito de matriz
	lão quantificação	$Y=1,11353X-0,0386485$	$Y=1,11218X-0,085196$	100,1	Sem efeito de matriz
Fluoxetina	lão identificação	$Y=0,0984998X-0,00412302$	$Y=0,101879X-0,0156060$	96,68	Sem efeito de matriz
	lão quantificação	$Y=0,399384X+0,0124065$	$Y=0,522418X-0,0818860$	76,45	Diminuição do sinal
Sertralina	lão identificação	$Y=0,368724X+0,00707275$	$Y=0,470026X-0,0356138$	78,45	Diminuição do sinal
	lão quantificação	$Y=0,929758X-0,0470398$	$Y=1,10244X-0,0988238$	84,34	Diminuição do sinal
Citalopram	lão identificação	$Y=0,271436X-0,0111305$	$Y=0,327657X-0,0228495$	82,84	Diminuição do sinal
	lão quantificação	$Y=3,56963X-0,0972598$	$Y=3,17992X-0,549451$	112,3	Enriquecimento de sinal
Venlafaxina	lão identificação	$Y=0,755246X-0,0227525$	$Y=0,656752X-0,0650103$	115,0	Enriquecimento de sinal
	lão quantificação	$Y=0,346930X-0,0449994$	$Y =0,423332X-0,0415831$	81,95	Diminuição do sinal
Paroxetina	lão identificação	$Y=0,218555X-0,0203592$	$Y=0,263022X-0,0355912$	83,09	Diminuição do sinal
	lão quantificação	$Y=1,27574X+0,000418126$	$Y=1,03919X+0,120410$	122,8	Enriquecimento de sinal
Trazodona	lão identificação	$Y=1,04247X-0,0499775$	$Y=0,828874X+0,108676$	125,8	Enriquecimento de sinal
	lão quantificação	$Y=0,0644361X-0,00655729$	$Y=0,0521895X+0,00727948$	123,5	Enriquecimento de sinal
Diazepam	lão identificação	$Y=0,0558790X+0,00180626$	$Y=0,0453731X-0,000612559$	123,2	Enriquecimento de sinal
	lão quantificação	$Y=0,510150X+0,00791497$	$Y=0,428537X+0,0756441$	119,0	Enriquecimento de sinal
Carbamazepina10,11-epoxide	lão identificação	$Y=0,391575X+0,0295651$	$Y=0,336784X+0,0156236$	116,3	Enriquecimento de sinal
	lão quantificação				

Para efeitos de validação da extração por SPE foram realizados ensaios de recuperação na matriz de água de cemitério. Foi analisado um volume de amostra de 250 mL e fortificado com 0,5 mL de uma solução padrão. Foram realizados três níveis de fortificação e para cada nível foi efetuada duas réplicas. O cálculo da recuperação foi realizado de acordo como se ilustra na figura seguinte (ver Figura 4).

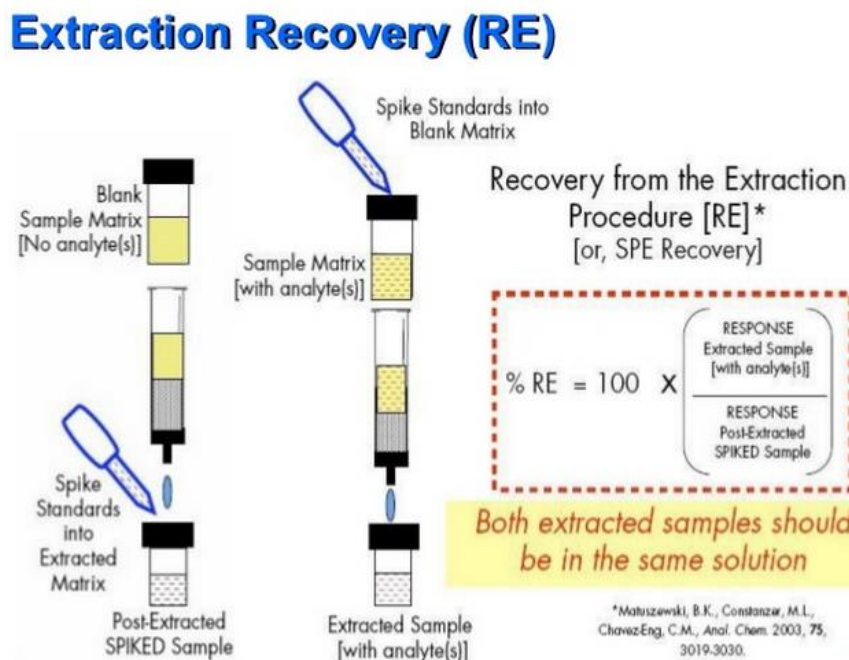


Figura 4 - Procedimento e cálculo do ensaio de recuperação

Na Tabela 4 apresenta-se os resultados obtidos nas três fortificações na amostra de água de cemitério. Utilizou-se a *Fortificação* ($\mu\text{g/L}$) = $\left(\frac{\text{Concentração contaminação } (\mu\text{g/L}) \times \text{Volume de contaminação (L)}}{\text{Volume de amostra (L)}} \right)$ Equação 2 para o cálculo da fortificação.

$$\text{Fortificação } (\mu\text{g/L}) = \left(\frac{\text{Concentração contaminação } (\mu\text{g/L}) \times \text{Volume de contaminação (L)}}{\text{Volume de amostra (L)}} \right) \quad \text{Equação 2 -Fortificação}$$

Verifica-se que nas três fortificações efetuadas, os ensaios de recuperação são reprodutíveis. No caso da nortetralina não foi considerada o nível de fortificação 1 porque é uma concentração baixa e desta forma não foi possível detetar o composto. A média das fortificações foi efetuada com a fortificação 2 e a fortificação 3. Para os restantes fármacos a média das recuperações foi efetuada com os três níveis de fortificação.

Analisando as recuperações obtidas para todos os compostos, verifica-se que os valores variam entre 50,54% (norsertalina) e 113,4 % (Diazepam) com RSD na ordem de 1,83 (carbamazepina) e 16,89% (norsertalina).

Tabela 4 - Resultados de recuperação da extracção por SPE de 10 fármacos da família dos antidepressivos com três níveis de fortificação.

Name	Fortificação 1 (n=2)			Fortificação 2 (n=2)			Fortificação 3 (n=2)			Recuperação média (três níveis de Fortificação) (%)	SD (%)	RSD (%)	n
	Recp média	SD(%)	RSD (%)	Recp média	SD (%)	RSD (%)	Recp média	SD (%)	RSD (%)				
Norsertralina	N.D.			44,50	0,590	1,32	56,57	2,51	4,44	50,54	8,535	16,89	2
Norfluoxetina	59,78	6,05	10,1	65,97	3,51	5,32	59,78	2,10	3,51	61,84	3,575	5,78	3
Carbamazepina	100,75	5,39	5,35	98,22	0,390	0,400	97,25	1,30	1,34	98,74	1,807	1,83	3
Fluoxetina	72,49	2,62	3,62	70,97	3,68	5,18	74,04	2,86	3,87	72,50	1,533	2,11	3
Sertralina	93,99	4,72	5,02	92,00	2,00	2,17	90,71	3,37	3,71	92,23	1,651	1,79	3
Citalopram	90,77	0,600	0,660	99,37	0,0800	0,0800	97,22	3,32	3,42	95,79	4,476	4,67	3
Venlafaxina	97,36	2,93	3,01	95,39	2,20	2,30	91,96	3,10	3,37	94,90	2,733	2,88	3
Paroxetina	58,46	0,280	0,470	70,95	0,780	1,10	69,85	3,45	4,93	66,42	6,916	10,41	3
Trazodona	83,16	3,73	4,49	90,57	1,19	1,32	92,75	6,93	7,47	88,83	5,027	5,66	3
Diazepam	113,3	1,71	1,51	116,79	5,95	5,09	110,07	3,09	2,81	113,4	3,363	2,97	3
10,11-EpoxiCarbamazepine	79,63	0,91	1,15	68,80	5,42	7,88	65,87	1,58	2,40	71,43	7,250	10,15	3

Volume de contaminação (µL)	500	500	500
Concentração contaminação (µg/L)	10	50	100
Volume de amostra da água de cemitério (mL)	250	250	250
Fortificação (µg/L)	0,02	0,10	0,20

N.D.- não detectado, Recp-recuperação, SD-Desvio padrão, RSD-Desvio padrão relativo

De seguida, foi determinado o LOD e o LOQ para cada fármaco. O LOD é a menor concentração de uma substância que pode ser detetada, mas não necessariamente quantificada, pelo método utilizado. O LOQ é a menor concentração de uma substância que pode ser determinada quantitativamente com precisão e exatidão, pelo método utilizado. O MDL e o MQL são definidos como o limite de deteção do método e o limite de quantificação do método tendo em conta o fator de concentração utilizado na extração por SPE, ou seja 250mL de amostra passa no cartucho de SPE para a extração e no fim o resíduo é redissolvido com 500 µL do eluente. Desta forma existe um fator de concentração da amostra de 500 vezes. Por isso o MDL é calculado pela razão entre o LOD e o fator de concentração. No cálculo do MQL será a razão entre o LOQ e o fator de concentração. Na Tabela 5 apresentam-se os resultados obtidos do LOD, LOQ, MDL e MQL

Tabela 5 - Limites de deteção e de quantificação para os 10 fármacos em estudo.

Fármacos	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)	MDL (µg/L)	MQL (µg/L)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)
			$MDL = \frac{LOD}{fc}$	$MQL = \frac{LOQ}{fc}$		
Norsertalina	19,1	63,5	0,0381	0,1270	38,1	127
Norfluoxetina	0,0800	0,260	0,0002	0,0005	0,160	0,520
Carbamazepina	0,0400	0,120	0,0001	0,0002	0,0800	0,240
Fluoxetina	0,0200	0,0500	0,0000	0,0001	0,0400	0,100
Sertralina	0,480	1,61	0,0010	0,0032	0,960	3,22
Citalopram	0,170	0,560	0,0003	0,0011	0,340	1,12
Venlafaxina	0,0600	0,180	0,0001	0,0004	0,120	0,360
Paroxetina	0,580	1,95	0,0012	0,0039	1,16	3,90
Trazodona	0,0100	0,0400	0,0000	0,0001	0,0200	0,0800
Diazepam	0,170	0,580	0,0003	0,0012	0,340	1,16
Carbamazepina 10, 11-Epoxide	0,130	0,430	0,0003	0,0009	0,260	0,860

fc-factor de concentração

O MDL varia entre 0,02000 (trazodona) e 38,1 ng/L (norsertalina) e o MQL varia entre 0,0800 (trazodona) e 127 ng/L (norsertalina), respetivamente. Realizou-se injeções seguidas no mesmo dia e em dia diferentes da solução padrão para avaliar a precisão do método. A repetibilidade (precisão intra-dia) define a precisão do método em repetir, em um curto intervalo de tempo, os resultados obtidos nas mesmas condições de análise, ou seja, com o mesmo analista, com o mesmo equipamento, no mesmo laboratório e fazendo uso dos mesmos reagentes. A repetibilidade inter-dia define a repetição em dias diferentes. Foi realizada 10 injeções seguidas da solução padrão 100 µg/L no mesmo dia (ver Tabela 6) e a repetição da solução padrão 100 µg/L em 4 dias diferentes (ver Tabela 7).

Tabela 6 - Repetição da solução padrão em 10 injeções sucessivas no mesmo dia (intra-dia).

Fármacos	Áreas										Área média	SD	RSD (%)
	Área1	Área2	Área3	Área4	Área5	Área6	Área7	Área8	Área9	Área10			
Norsertaline	11305	11973	10107	11390	11861	11452	12003	11901	11861	11136	11499	580	5,04
Norfluoxetine	54063	53179	50746	51880	52382	53925	53647	54282	52382	53179	52967	1116	2,11
Carbamazepine	1030874	1090841	1069572	1104638	1036476	1096344	1084946	1056882	1036476	1095250	1070230	28165	2,63
Fluoxetine	580448	600256	586813	584671	608311	586096	603426	603115	608311	601834	596328	10607	1,78
Sertraline	263771	285202	276254	287736	276459	278031	273537	277969	276459	286830	278225	7105	2,55
Citalopram	591844	627537	600786	596486	604796	597313	626089	597277	604796	627625	607455	14089	2,32
Venlafaxine	1591952	1626232	1588943	1569906	1642389	1639436	1672631	1663645	1642389	1626239	1626376	33312	2,05
Paroxetine	226523	235124	237103	235485	226746	231319	239646	234599	226746	235824	232912	4774	2,05
Trazodone	500885	553998	539235	551057	559649	575665	553813	539858	559649	552398	548621	19704	3,59
Diazepam	62419	68169	65788	64470	68434	65960	67984	62319	68434	68969	66295	2521	3,80
10,11-EpoxiCarbamazepine	598610	603621	611855	623637	619464	612899	620100	612385	619464	603641	612568	8364	1,37

Legenda: SD-Desvio padrão, RSD-Desvio padrão relativo

Tabela 7 - Repetição da solução padrão em 4 dias diferentes (inter-dia).

Fármacos	Áreas				Área média	SD	RSD (%)
	Área1	Área2	Área3	Área4			
Norsertaline	11499	10820	11321	9215	10713	1040	9,71
Norfluoxetine	52967	57600	54879	53858	54826	2008	3,66
Carbamazepine	1070230	1130283	1210231	1033808	41517	1469	3,54
Fluoxetine	222758	237955	246269	216751	1111138	77113	6,94
Sertraline	596328	715708	648433	586691	230933	13570	5,88
Citalopram	55225	64311	62817	55264	636790	59191	9,30
Venlafaxine	278225	270184	252584	216352	59404	4842	8,15
Paroxetine	257461	246060	233440	197974	254336	27494	10,81
Trazodone	607455	659190	678480	521996	233734	25779	11,03
Diazepam	177345	189388	193469	143709	616780	69944	11,34
10,11-EpoxiCarbamazepine	1626376	1899638	1841779	1684284	175978	22575	12,83

Legenda: SD-Desvio padrão, RSD-Desvio padrão relativo

Na determinação da precisão intra-dia e inter-dia, o RSD apresentou valores $< 5,1\%$ e $< 13\%$ para injeções no mesmo dia e em dias diferentes.



Thermo Fisher Scientific
900 Middlesex Turnpike
Billerica, MA 01821

Certificate of Verification

XL3t-46115

Reading No 73
Mode MINING
Time 2015-04-17 10:11
Duration 180.00
Sequence Final
Flags 8mm
SAMPLE
LOCATION
INSPECTOR
MISC
NOTE



	%	±	Error
Sn	0.002	±	0.001
Cd	< LOD	:	0.002
Pd	< LOD	:	0.002
Ag	< LOD	:	0.002
Ba	66.705	±	1.502
Mo	< LOD	:	0.002
Nb	0.002	±	0.001
Zr	0.027	±	0.001
Sr	0.010	±	0.001
Rb	0.014	±	0.001
Bi	< LOD	:	0.002
As	0.003	±	0.001
Se	< LOD	:	0.002
Au	< LOD	:	0.002
Pb	0.021	±	0.001
W	< LOD	:	0.005
Zn	0.047	±	0.001
Cu	0.009	±	0.001
Ni	< LOD	:	0.003
Sb	< LOD	:	0.002
Co	< LOD	:	0.009
Fe	2.889	±	0.025
Mn	0.053	±	0.004
Cr	0.013	±	0.002
V	0.023	±	0.002
Ti	0.330	±	0.004
Ca	2.298	±	0.024
K	2.592	±	0.030
Al	4.675	±	0.295
P	0.205	±	0.033
Si	19.848	±	0.200
Cl	0.079	±	0.009
S	0.147	±	0.018
Mg	< LOD	:	2.519
Ba	< LOD	:	0.006

Supervised By: _____



Thermo Fisher Scientific
900 Middlesex Turnpike
Billerica, MA 01821

Certificate of Verification

XL3t-46115

Reading No 74
Mode MINING
Time 2015-04-17 10:18
Duration 180.00
Sequence Final
Flags 8mm
SAMPLE
LOCATION
INSPECTOR
MISC
NOTE



	%	±	Error
Sn	< LOD	:	0.002
Cd	< LOD	:	0.002
Pd	< LOD	:	0.002
Ag	< LOD	:	0.002
BaI	66.483	±	1.445
Mo	< LOD	:	0.002
Nb	0.002	±	0.001
Zr	0.025	±	0.001
Sr	0.010	±	0.001
Rb	0.014	±	0.001
Bi	< LOD	:	0.002
As	0.003	±	0.001
Se	< LOD	:	0.002
Au	< LOD	:	0.002
Pb	0.020	±	0.001
W	< LOD	:	0.005
Zn	0.045	±	0.001
Cu	0.009	±	0.001
Ni	< LOD	:	0.003
Sb	< LOD	:	0.002
Co	< LOD	:	0.009
Fe	2.869	±	0.025
Mn	0.048	±	0.004
Cr	0.012	±	0.002
V	0.023	±	0.002
Ti	0.303	±	0.004
Ca	2.327	±	0.024
K	2.584	±	0.029
Al	5.150	±	0.303
P	0.187	±	0.032
Si	19.623	±	0.197
Cl	0.082	±	0.009
S	0.171	±	0.018
Mg	< LOD	:	2.387
Ba	< LOD	:	0.006

Supervised By: _____



Thermo Fisher Scientific
900 Middlesex Turnpike
Billerica, MA 01821

Certificate of Verification

XL3t-46115

Reading No 9
Mode MINING
Time 2017-08-13 12:35
Duration 180.00
Sequence Final
Flags 8mm
SAMPLE
LOCATION
INSPECTOR
MISC
NOTE



	%	±	Error
Sn	< LOD	:	0.002
Cd	< LOD	:	0.002
Pd	< LOD	:	0.002
Ag	< LOD	:	0.002
Ba	64.759	±	1.391
Mo	< LOD	:	0.002
Nb	< LOD	:	0.002
Zr	0.025	±	0.001
Sr	0.005	±	0.001
Rb	0.013	±	0.001
Bi	< LOD	:	0.002
As	0.003	±	0.001
Se	< LOD	:	0.002
Au	< LOD	:	0.002
Pb	0.017	±	0.001
W	< LOD	:	0.005
Zn	0.022	±	0.001
Cu	0.006	±	0.001
Ni	< LOD	:	0.003
Sb	< LOD	:	0.002
Co	< LOD	:	0.010
Fe	3.058	±	0.025
Mn	0.028	±	0.003
Cr	0.024	±	0.002
V	0.024	±	0.002
Ti	0.366	±	0.005
Ca	0.386	±	0.011
K	2.318	±	0.028
Al	7.227	±	0.358
P	< LOD	:	0.059
Si	21.550	±	0.204
Cl	0.090	±	0.009
S	< LOD	:	0.029
Mg	< LOD	:	2.152
Ba	< LOD	:	0.005

Supervised By: _____



Thermo Fisher Scientific
900 Middlesex Turnpike
Billerica, MA 01821

Certificate of Verification

XL3t-46115

Reading No 10
Mode MINING
Time 2017-08-13 12:39
Duration 180.00
Sequence Final
Flags 8mm
SAMPLE
LOCATION
INSPECTOR
MISC
NOTE



	%	±	Error
Sn	< LOD	:	0.002
Cd	< LOD	:	0.002
Pd	< LOD	:	0.002
Ag	< LOD	:	0.002
Ba	66.158	±	1.359
Mo	< LOD	:	0.002
Nb	< LOD	:	0.002
Zr	0.024	±	0.001
Sr	0.005	±	0.001
Rb	0.012	±	0.001
Bi	< LOD	:	0.002
As	0.002	±	0.001
Se	< LOD	:	0.002
Au	< LOD	:	0.002
Pb	0.016	±	0.001
W	< LOD	:	0.004
Zn	0.020	±	0.001
Cu	0.005	±	0.001
Ni	< LOD	:	0.003
Sb	< LOD	:	0.002
Co	< LOD	:	0.009
Fe	2.908	±	0.024
Mn	0.027	±	0.003
Cr	0.018	±	0.002
V	0.021	±	0.002
Ti	0.338	±	0.004
Ca	0.356	±	0.009
K	2.219	±	0.024
Al	6.783	±	0.336
P	< LOD	:	0.056
Si	20.936	±	0.197
Cl	0.080	±	0.008
S	0.033	±	0.014
Mg	< LOD	:	2.130
Ba	< LOD	:	0.005

Supervised By: _____



Thermo Fisher Scientific
900 Middlesex Turnpike
Billerica, MA 01821

Certificate of Verification

XL3t-46115

Reading No 11
Mode MINING
Time 2017-08-13 12:43
Duration 180.00
Sequence Final
Flags 8mm
SAMPLE
LOCATION
INSPECTOR
MISC
NOTE



	%	±	Error
Sn	< LOD	:	0.002
Cd	< LOD	:	0.002
Pd	< LOD	:	0.002
Ag	< LOD	:	0.002
BaI	65.676	±	1.414
Mo	< LOD	:	0.002
Nb	< LOD	:	0.002
Zr	0.027	±	0.001
Sr	0.005	±	0.001
Rb	0.012	±	0.001
Bi	< LOD	:	0.002
As	< LOD	:	0.002
Se	< LOD	:	0.002
Au	< LOD	:	0.002
Pb	0.017	±	0.001
W	< LOD	:	0.004
Zn	0.020	±	0.001
Cu	0.005	±	0.001
Ni	< LOD	:	0.003
Sb	< LOD	:	0.002
Co	< LOD	:	0.009
Fe	2.858	±	0.024
Mn	0.024	±	0.003
Cr	0.019	±	0.002
V	0.022	±	0.002
Ti	0.357	±	0.004
Ca	0.353	±	0.011
K	2.243	±	0.027
Al	6.444	±	0.333
P	< LOD	:	0.057
Si	21.780	±	0.201
Cl	0.074	±	0.008
S	0.034	±	0.014
Mg	< LOD	:	2.240
Ba	< LOD	:	0.005

Supervised By: _____



Thermo Fisher Scientific
900 Middlesex Turnpike
Billerica, MA 01821

Certificate of Verification

XL3t-46115

Reading No 1
Mode SOIL
Time 2017-07-16 17:28
Duration 180.00
Sequence Final
Flags 8mm
SAMPLE
LOCATION
INSPECTOR
COR 1
COR 2
MISC
NOTE



	%	±	Error
Mo	0.000	±	0.000
Zr	0.037	±	0.000
Sr	0.010	±	0.000
U	< LOD	:	0.001
Rb	0.024	±	0.000
Th	0.003	±	0.000
Pb	0.027	±	0.001
Se	< LOD	:	0.000
As	0.007	±	0.001
Hg	< LOD	:	0.000
Au	< LOD	:	0.000
Zn	0.027	±	0.001
W	< LOD	:	0.002
Cu	0.011	±	0.001
Ni	< LOD	:	0.002
Co	< LOD	:	0.006
Fe	1.746	±	0.011
Mn	0.021	±	0.002
Cr	0.003	±	0.002
V	0.005	±	0.003
Ti	0.385	±	0.006
Sc	< LOD	:	0.002
Ca	0.388	±	0.009
K	2.875	±	0.024
S	0.043	±	0.011
Ba	< LOD	:	0.003
Cs	< LOD	:	0.001
Te	< LOD	:	0.002
Sb	< LOD	:	0.001
Sn	< LOD	:	0.001
Cd	< LOD	:	0.001
Ag	< LOD	:	0.001
Pd	< LOD	:	0.001

Supervised By: _____



Thermo Fisher Scientific
900 Middlesex Turnpike
Billerica, MA 01821

Certificate of Verification

XL3t-46115

Reading No 2
Mode SOIL
Time 2017-07-16 17:31
Duration 180.00
Sequence Final
Flags 8mm
SAMPLE
LOCATION
INSPECTOR
COR 1
COR 2
MISC
NOTE



	%	±	Error
Mo	0.000	±	0.000
Zr	0.036	±	0.000
Sr	0.009	±	0.000
U	< LOD	:	0.001
Rb	0.023	±	0.000
Th	0.004	±	0.000
Pb	0.026	±	0.001
Se	< LOD	:	0.000
As	0.007	±	0.001
Hg	< LOD	:	0.000
Au	< LOD	:	0.000
Zn	0.024	±	0.001
W	< LOD	:	0.002
Cu	0.012	±	0.001
Ni	< LOD	:	0.002
Co	< LOD	:	0.005
Fe	1.669	±	0.011
Mn	0.019	±	0.002
Cr	< LOD	:	0.003
V	0.004	±	0.003
Ti	0.375	±	0.006
Sc	< LOD	:	0.003
Ca	0.403	±	0.009
K	2.954	±	0.024
S	0.054	±	0.011
Ba	< LOD	:	0.003
Cs	< LOD	:	0.001
Te	< LOD	:	0.002
Sb	< LOD	:	0.001
Sn	< LOD	:	0.001
Cd	< LOD	:	0.001
Ag	< LOD	:	0.001
Pd	< LOD	:	0.001

Supervised By: _____



Thermo Fisher Scientific
900 Middlesex Turnpike
Billerica, MA 01821

Certificate of Verification

XL3t-46115

Reading No 3
Mode SOIL
Time 2017-07-16 17:35
Duration 180.00
Sequence Final
Flags 8mm
SAMPLE
LOCATION
INSPECTOR
COR 1
COR 2
MISC
NOTE



	%	±	Error
Mo	0.000	±	0.000
Zr	0.038	±	0.000
Sr	0.010	±	0.000
U	< LOD	:	0.001
Rb	0.024	±	0.000
Th	0.003	±	0.000
Pb	0.027	±	0.001
Se	< LOD	:	0.000
As	0.005	±	0.001
Hg	< LOD	:	0.000
Au	< LOD	:	0.000
Zn	0.026	±	0.001
W	0.002	±	0.001
Cu	0.011	±	0.001
Ni	< LOD	:	0.002
Co	0.007	±	0.004
Fe	1.681	±	0.011
Mn	0.020	±	0.002
Cr	0.003	±	0.002
V	0.005	±	0.003
Ti	0.381	±	0.006
Sc	0.003	±	0.002
Ca	0.405	±	0.009
K	2.934	±	0.024
S	0.041	±	0.011
Ba	< LOD	:	0.003
Cs	< LOD	:	0.001
Te	< LOD	:	0.002
Sb	< LOD	:	0.001
Sn	< LOD	:	0.001
Cd	< LOD	:	0.001
Ag	< LOD	:	0.001
Pd	< LOD	:	0.001

Supervised By: _____



Thermo Fisher Scientific
900 Middlesex Turnpike
Billerica, MA 01821

Certificate of Verification

XL3t-46115

Reading No 4
Mode SOIL
Time 2017-07-16 17:39
Duration 180.00
Sequence Final
Flags 8mm
SAMPLE
LOCATION
INSPECTOR
COR 1
COR 2
MISC
NOTE



	%	±	Error
Mo	0.001	±	0.000
Zr	0.033	±	0.000
Sr	0.009	±	0.000
U	0.001	±	0.000
Rb	0.023	±	0.000
Th	0.003	±	0.000
Pb	0.018	±	0.001
Se	< LOD	:	0.000
As	0.003	±	0.000
Hg	< LOD	:	0.000
Au	< LOD	:	0.000
Zn	0.024	±	0.001
W	< LOD	:	0.002
Cu	0.011	±	0.001
Ni	< LOD	:	0.002
Co	0.008	±	0.004
Fe	1.602	±	0.011
Mn	0.017	±	0.002
Cr	0.004	±	0.002
V	0.004	±	0.003
Ti	0.323	±	0.005
Sc	< LOD	:	0.002
Ca	0.317	±	0.008
K	2.721	±	0.023
S	0.036	±	0.010
Ba	< LOD	:	0.003
Cs	< LOD	:	0.001
Te	< LOD	:	0.002
Sb	< LOD	:	0.001
Sn	< LOD	:	0.001
Cd	< LOD	:	0.001
Ag	< LOD	:	0.001
Pd	< LOD	:	0.001

Supervised By: _____



Thermo Fisher Scientific
900 Middlesex Turnpike
Billerica, MA 01821

Certificate of Verification

XL3t-46115

Reading No 5
Mode SOIL
Time 2017-07-16 17:42
Duration 180.00
Sequence Final
Flags 8mm
SAMPLE
LOCATION
INSPECTOR
COR 1
COR 2
MISC
NOTE



	%	±	Error
Mo	0.001	±	0.000
Zr	0.035	±	0.000
Sr	0.009	±	0.000
U	0.001	±	0.000
Rb	0.023	±	0.000
Th	0.003	±	0.000
Pb	0.018	±	0.001
Se	< LOD	:	0.000
As	0.003	±	0.000
Hg	< LOD	:	0.000
Au	< LOD	:	0.000
Zn	0.023	±	0.001
W	< LOD	:	0.002
Cu	0.010	±	0.001
Ni	< LOD	:	0.002
Co	< LOD	:	0.005
Fe	1.581	±	0.011
Mn	0.015	±	0.002
Cr	0.003	±	0.002
V	< LOD	:	0.004
Ti	0.316	±	0.005
Sc	< LOD	:	0.002
Ca	0.307	±	0.008
K	2.711	±	0.023
S	0.037	±	0.010
Ba	< LOD	:	0.003
Cs	< LOD	:	0.001
Te	< LOD	:	0.002
Sb	< LOD	:	0.001
Sn	< LOD	:	0.001
Cd	< LOD	:	0.001
Ag	< LOD	:	0.001
Pd	< LOD	:	0.001

Supervised By: _____



Thermo Fisher Scientific
900 Middlesex Turnpike
Billerica, MA 01821

Certificate of Verification

XL3t-46115

Reading No 6
Mode SOIL
Time 2017-07-16 17:46
Duration 180.00
Sequence Final
Flags 8mm
SAMPLE
LOCATION
INSPECTOR
COR 1
COR 2
MISC
NOTE



	%	±	Error
Mo	0.001	±	0.000
Zr	0.035	±	0.000
Sr	0.009	±	0.000
U	0.001	±	0.000
Rb	0.024	±	0.000
Th	0.004	±	0.000
Pb	0.018	±	0.001
Se	< LOD	:	0.000
As	0.003	±	0.000
Hg	< LOD	:	0.000
Au	< LOD	:	0.000
Zn	0.024	±	0.001
W	< LOD	:	0.002
Cu	0.010	±	0.001
Ni	< LOD	:	0.002
Co	< LOD	:	0.005
Fe	1.707	±	0.011
Mn	0.018	±	0.002
Cr	0.004	±	0.002
V	< LOD	:	0.004
Ti	0.334	±	0.005
Sc	< LOD	:	0.002
Ca	0.305	±	0.008
K	2.807	±	0.024
S	0.033	±	0.010
Ba	< LOD	:	0.003
Cs	< LOD	:	0.001
Te	< LOD	:	0.002
Sb	< LOD	:	0.001
Sn	< LOD	:	0.001
Cd	< LOD	:	0.001
Ag	< LOD	:	0.001
Pd	< LOD	:	0.001

Supervised By: _____