

IÚRI ALEXANDRE
BACALHAU DE
SOUSA

**TRATAMENTO DE ÁGUAS DE
CONSUMO HUMANO –
IMPLEMENTAÇÃO E VALIDAÇÃO DE
UM MÉTODO DE ANÁLISE DE METAIS
POR ESPETROMETRIA DE EMISSÃO
ÓTICA NO PLASMA INDUZIDO**

Relatório de Estágio do Mestrado em
Engenharia Biológica e Química

ORIENTADORA

Professora Doutora Marta Justino

COORIENTADORA

Professora Doutora Lurdes Gameiro

SUPERVISORA

Mestre Dora Silva

Dezembro de 2022

IÚRI ALEXANDRE
BACALHAU DE
SOUSA

**TRATAMENTO DE ÁGUAS DE
CONSUMO HUMANO –
IMPLEMENTAÇÃO E VALIDAÇÃO DE
UM MÉTODO DE ANÁLISE DE METAIS
POR ESPETROMETRIA DE EMISSÃO
ÓTICA NO PLASMA INDUZIDO**

JÚRI

Presidente: Professora Doutora Ana Cláudia Cavaco de Sousa Coelho, Escola Superior de Tecnologia do Barreiro, Instituto Politécnico de Setúbal

Coorientadora: Professora Doutora Maria de Lurdes de Figueiredo Gameiro, Escola Superior de Tecnologia do Barreiro, Instituto Politécnico de Setúbal

Vogal: Mestre Georgina Maria Sarmiento Felisberto, Núcleo de Análise de Compostos Orgânicos, Laboratório de Análises do Instituto Superior Técnico

Dezembro de 2022

Agradecimentos

O aluno expressa os seus mais sinceros agradecimentos a todas as pessoas que o ajudaram antes, durante e após a realização deste projeto curricular.

Agradece à:

- Escola Superior de Tecnologia do Barreiro, pela oportunidade dada durante o percurso escolar.
- LPQ, Laboratório Pró-Qualidade, local onde trabalhava e que lhe permitiu desenvolver a Tese.
- Orientadora da Tese de Mestrado, Marta Justino, e à Coordenadora de Curso e Coorientadora, Maria de Lurdes Gameiro, por toda a disponibilidade e apoio prestados durante a realização da Tese, bem como durante todo o período do mestrado, ajudando e esclarecendo qualquer dúvida ou dificuldade que existisse.
- Supervisora da entidade de acolhimento, onde a tese foi realizada, e Diretora Técnica do LPQ, Dora Silva, por todo o apoio, dedicação e estima.
- À família e aos amigos pelo apoio prestado, bem como aos colegas de trabalho e à empresa empregadora/acolhedora – LPQ – pela compreensão no decorrer do desenvolvimento da presente Tese.

Resumo

A tese de mestrado foi desenvolvida entre abril e agosto de 2022 e é denominada de “Tratamento de águas de consumo humano – Implementação e validação de um método de análise de metais por espectrometria de emissão ótica no plasma induzido”. Esta foi desenvolvida na entidade LPQ – Laboratório Pró-Qualidade (local onde o discente exercia profissionalmente a função de Responsável da área de Físico-Química).

Desta forma a metodologia foi validada para diferentes metais, seguindo todas as etapas exigidas pelo IPAC (Instituto Português de Acreditação) de forma a poder pedir, posteriormente, acreditação pela NP EN ISO/IEC 17025:2018.

Para tal foram estudadas as seguintes etapas:

- Otimização das condições operatórias;
- Definição das gamas de trabalho e respetiva verificação das linearidades;
- Estimativa da precisão;
- Estimativa da exatidão;
- Estimativa da incerteza combinada expandida;
- Declaração de conformidade do método.

Após determinação e validação de todas as etapas, anteriormente referidas, concluiu-se que o método se encontra implementado e validado, pronto a ser acreditado, uma vez que cumpre todas as exigências e critérios necessários para que seja adequado a dar resposta às necessidades exigidas pelo Decreto-Lei 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei 152/2017, de 7 de dezembro – Decreto-Lei para a análise de Águas de Consumo Humano.

Palavras-Chave: água, metais, implementação, validação, acreditação.

Abstract

This Master's thesis is entitled "Treatment of water for human consumption – Implementation and validation of a metal analysis method by Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry" and the work that gave origin to it took place between April and August of 2022 at the entity LPQ - Laboratório Pró-Qualidade, where the student was professionally Responsible for the Physical-Chemistry area.

The methodology was validated for different metals, following all the stages required by IPAC (from the Portuguese Instituto Português de Acreditação) to subsequently request accreditation by NP EN ISO/IEC 17025:2018.

To accomplish this purpose, these stages were studied:

- Optimization of operating conditions;
- Definition of work ranges and respective verification of linearity;
- Precision estimation;
- Accuracy estimation;
- Expanded combined uncertainty estimation;
- Declaration of conformity of the method.

After determining and validating all the stages mentioned above, it was concluded that the method is implemented and validated, ready to get accreditation, since it complies with all the requirements and criteria demanded by the current Portuguese legislation for the Analysis of Water for Human Consumption, namely the Decree-Law 306/2007, of August 27th, amended by the Decree-Law 152/2017, of December 7th.

Keywords: water, metals, implementation, validation, accreditation.

Lista de abreviaturas

ACH – Águas para Consumo Humano

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

AdP – Águas de Portugal

AMES – Técnica de avaliação da mutagenicidade *in-vitro*

APA – Agência Portuguesa do Ambiente

ARN – Ácido Ribonucleico

BER – Reparo da Excisão da Base

CAC – Calcificação da Artéria Coronária

CID – Dispositivo de Injeção de Carga

CUF – Companhia União Fabril

CV – Coeficiente de Variação

DA – Doença de Alzheimer

DCV – Doenças Cardiovasculares

DL – Decreto-Lei

DNTs – Doenças Não Transmissíveis

DPM – Tratamento de águas, Ar Ambiente e Exploração da ETAR

DPR – Desvio Padrão Relativo

DRC – Doença Renal Crónica

DRC001 – Regulamento Geral de Acreditação

E. Coli - Escherichia coli

EPA – Agência de Proteção Ambiental nos Estados Unidos da América

EPAL, SA – Empresa Portuguesa das Águas Livres

EPI's - Equipamentos de Proteção Individual

ER – Ensaio de Recuperação

ERSAR – Entidade Reguladora dos Serviços das Águas e Resíduos

ETA – Estação de Tratamento de Água

EU – União Europeia

EVCTs – Células Citotrofoblásticas Extravenosas

FES – Espectroscopia de Emissão em Chama

HDR – Reparo por Recombinação Homóloga

IARC – Agência Internacional para a Investigação do Cancro

iAs – Arsénio Inorgânico

IC – Insuficiência Cardíaca

ICP-OES – *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry*

IL - Índice de Langelier

IPAC – Instituto Português de Acreditação

ISO - Organização Internacional para Padronização

LD – Limite de Detecção

LIBS – Espectroscopia de Desintegração por Laser

LPQ – Laboratório Pró-Qualidade

LQ – Limite de Quantificação

MCLs – Máximos dos Níveis Contaminantes

MMR – Reparo de Incompatibilidade

MRC – Material de Referência Certificado

NER – Reparo de Nucleótidos

NHANES – *National Health and Nutrition Examination Survey*

NHEJ – Junção Final Não Homóloga

NPDWRs – *National Primary Drinking Water Regulation*

ONU – Organização das Nações Unidas

PC – Padrão de Controlo

PCQA – Programa de Controlo de Qualidade da Água

PE – Pré-Eclâmpsia

PL – Planeamento e Gestão de Projetos

ROS – Espécies que reagem ao oxigénio

R – Repetibilidade

RF – Radiofrequência

SNC – Sistema Nervoso Central

TF – Transferrina

VT – Valor Teste

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	ii
Abstract	iii
Lista de abreviaturas.....	iv
Índice.....	vii
Índice de Figuras	x
Índice de Equações	xi
Índice de Tabelas	xiii
Enquadramento	1
1. Caracterização da Entidade de Acolhimento	2
1.1. Historial	2
1.2. Segurança no trabalho	4
1.3. Higiene	4
1.4. Preocupações Ambientais	4
1.5. Metodologia de trabalho da entidade.....	5
2. Fundamentos Teóricos	6
2.1. Água.....	6
2.2. Água para Consumo Humano e enquadramento jurídico	6
2.3. Metais	8
2.3.1. Alumínio	11
2.3.2. Antimónio	12
2.3.3. Arsénio	13
2.3.4. Cádmio	13
2.3.5. Cálcio	14
2.3.6. Chumbo.....	15
2.3.7. Cobre.....	16
2.3.8. Crómio.....	17
2.3.9. Ferro.....	18
2.3.10. Magnésio	19
2.3.11. Manganês.....	20
2.3.12. Mercúrio	21
2.3.13. Níquel	22
2.3.14. Selénio	22
2.4. Entidade Reguladora dos Serviços das Águas e Resíduos	23

2.5.	Periodicidade e controlo de análise à água destinada a consumo humano	25
2.6.	Espetrometria de emissão ótica no plasma induzido (ICP-OES)	26
2.6.1.	Enquadramento histórico	26
2.6.2.	ICP-OES.....	28
2.6.3.	Interferências.....	31
2.7.	Validação de métodos	34
2.7.1.	Produtos e matrizes	35
2.7.2.	Seletividade	35
2.7.3.	Otimização das condições operatórias	36
2.7.4.	Definição da gama de trabalho	36
2.7.5.	Verificação da linearidade – Curvas de calibração.....	37
2.7.6.	Precisão	42
2.7.7.	Precisão intermédia	44
2.7.8.	Exatidão	44
2.7.9.	Materiais de Referência Certificados	45
2.7.10.	Participação em Ensaios de Aptidão.....	46
2.7.11.	Ensaios de recuperação	46
2.7.12.	Estimativa da incerteza.....	47
2.7.13.	Validação do <i>software</i> do equipamento	47
2.7.14.	Estudo da fiabilidade das diluições efetuados de modo automático.....	47
2.7.15.	Definição da diluição máxima realizada pelo equipamento	47
2.7.16.	Verificação da fiabilidade da curva de calibração preparada pelo próprio equipamento	48
2.7.17.	Declaração de conformidade do método	48
3.	Metodologia de Análise.....	49
3.1.	Objetivo	49
3.2.	Equipamento, material e reagentes	49
3.3.	Técnica.....	50
3.3.1.	Recolha e conservação de amostras	50
3.3.2.	Preparação das amostras.....	50
3.3.3.	Preparação da curva de calibração	51
3.3.4.	Ensaio em Branco	51
3.3.5.	Ensaio de Recuperação.....	51
3.3.6.	Comprimento de Onda.....	51
3.3.7.	Condições instrumentais relativas ao método ^(34-36; 47)	52

3.3.8.	Otimização do plasma/ alinhamento da tocha ⁽⁴⁷⁾	53
3.3.9.	Atividades de verificação e manutenção prévia à análise ⁽⁴⁷⁾	53
3.3.10.	Análise ⁽⁴⁷⁾	54
3.3.11.	Tratamento dos dados ^(34-36; 44; 48)	55
3.3.12.	Controlo de qualidade ^(34-36; 38-40; 44; 48)	56
4.	Resultados e discussão	58
4.1.	Definição da gama de trabalho	58
4.1.1.	Coeficiente de correlação e declives.....	58
4.1.2.	Testes de resíduos	59
4.1.3.	Intervalos de declives	59
4.1.4.	Teste de Mandel e Homogeneidade de Variâncias.....	60
4.2.	Limiares analíticos.....	61
4.3.	Repetibilidade.....	62
4.4.	Estimativa da incerteza e declaração de conformidade do método	63
4.5.	Ensaio de aptidão.....	65
4.6.	Interferentes	65
5.	Importância do ICP-OES para a determinação de metais em quantidades vestigiais	67
5.1.	Consequências da presença de metais na água de consumo para a saúde dos seres vivos	71
6.	Conclusão.....	82
7.	Referências	84
8.	ANEXOS	90
	Anexo I – Apresentação de resultados obtidos pelo <i>software</i> do ICP-OES.....	91
	Anexo II – Teste de Linearidade	93
	Anexo III – Teste de Resíduos.....	94
	Anexo IV – Intervalo de Declives	95
	Anexo V – Homogeneidade de Variâncias.....	96
	Anexo VI – Limiares Analíticos	97
	Anexo VII – Repetibilidade.....	98
	Anexo VIII – Estimativa da Incerteza Combinada e Apresentação da Declaração de Conformidade do Método	99

Índice de Figuras

Figura 1 – Organograma do LPQ. ⁽²⁾	3
Figura 2 – Esquema de funcionamento de um espectrómetro ICP-OES. ⁽³⁷⁾	30
Figura 3 – Etapas necessárias para análise de amostras aquosas por ICP-OES. ⁽³⁵⁾	31
Figura 4 – Exemplo dos resultados obtidos pelo <i>software</i> do ICP-OES para a curva de calibração do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm).	91
Figura 5 – Exemplo da integração dos resultados obtidos pelo <i>software</i> do ICP-OES para a curva de calibração do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm).	92
Figura 6 – Folha de cálculo utilizada para o teste da linearidade da gama de trabalho do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm).	93
Figura 7 – Folha de cálculo utilizada para o teste de resíduos da gama de trabalho do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm).	94
Figura 8 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo do intervalo de declives da gama de trabalho do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm).	95
Figura 9 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo da homogeneidade de variâncias da gama de trabalho do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm).	96
Figura 10 – Folha de cálculo utilizada para a confirmação dos limiares analíticos da gama de trabalho do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm).	97
Figura 11 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo da repetibilidade da gama alumínio ($\lambda = 394,401$ nm).	98
Figura 12 – Folha de cálculo síntese utilizada para o cálculo da estimativa da incerteza combinada expandida da gama de trabalho do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm) e apresentação da respetiva declaração de conformidade do método.	99
Figura 13 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo da estimativa da incerteza associada à precisão (duplicados) e à exatidão (ensaio de recuperação).	100
Figura 14 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo da estimativa da incerteza associada à precisão (padrões de controlo – Pc 15 $\mu\text{g/L}$).	101
Figura 15 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo da estimativa da incerteza associada à precisão (padrões de controlo – Pc 500 $\mu\text{g/L}$).	102

Índice de Equações

Equação 1 – Fórmula de cálculo do ensaio de recuperação quando a diluição é inferior a 1% ou quando o processo inclui digestão, concentração ou retoma, em que: C_a é a concentração obtida na amostra; C_{ap} é concentração obtida no ensaio com amostra+padrão e C_p é a concentração da solução padrão na solução final. ⁽⁴⁴⁾	36
Equação 2 – Fórmula de cálculo do ensaio de recuperação quando a diluição se encontra entre 1 e 5%, em que C_a é a concentração obtida na amostra; C_{ap} é a concentração obtida no ensaio com amostra+padrão; C_p é a concentração da solução padrão adicionada; V_a é o volume da amostra no ensaio de recuperação e V_p é o volume de padrão adicionado à amostra no ER. ⁽⁴⁴⁾	36
Equação 3 – Fórmula de cálculo da variância. ⁽⁴¹⁾	39
Equação 4 – Cálculo de PG quando $S_b^2 > S_a^2$ em que PG representa o valor observado entre a razão da variância do padrão de concentração mais baixa (S_b) em função da variância relativa ao padrão de concentração mais elevada (S_a) ⁽⁴¹⁾	39
Equação 5 – Cálculo de PG quando $S_a^2 > S_b^2$. ⁽⁴¹⁾	39
Equação 6 – Fórmula de cálculo do LD com base na abordagem a), sendo que X_0 é o valor médio do branco ou do analito de concentração muito baixa. ^(38-39; 44)	41
Equação 7 – Fórmula de cálculo do LQ com base na abordagem a), sendo que X_0 é o valor médio do branco ou do analito de concentração muito baixa. ^(38-39; 44)	41
Equação 8 – Fórmula de cálculo do LD com base na abordagem b). ^(38-39; 44)	41
Equação 9 – Fórmula de cálculo do LQ com base na abordagem b). ^(38-39; 44)	41
Equação 10 – Fórmula de cálculo do $S_{y/x}$. ^(38-39; 44)	41
Equação 11 – Fórmula de cálculo do LD com base na abordagem c). ^(38-39; 44)	41
Equação 12 – Fórmula de cálculo do LQ com base na abordagem c). ^(38-39; 44)	42
Equação 13 – Fórmula de cálculo da repetibilidade, sendo S o desvio padrão dos resultados de n (mínimo 10) medições de uma mesma amostra ou padrão nas condições acima definidas. ⁽³⁸⁾	43
Equação 14 – Fórmula de cálculo da amplitude relativa. ^(38; 44)	43
Equação 15 – Fórmula de cálculo do DPR. ^(38; 44)	43
Equação 16 – Cálculo do desvio padrão da precisão intermédia S_i (), em que o símbolo relativo às condições intermédias de precisão aparecem entre parêntesis, isto é: $S_{i(d,d)}$ - dias diferentes; y_k é o resultado individual obtido e n é o número de ensaios. ⁽³⁸⁾	44
Equação 17 – Cálculo da estimativa da precisão intermédia, em que $\bar{x}$ é o valor médio das medições e s é o desvio padrão das medições. ⁽³⁸⁾	44

Equação 18 – Fórmula de cálculo do Z-score, sendo que X_{lab} é o valor obtido; X_v é o valor aceite como verdadeiro; S é a unidade de desvio, que pode ser a incerteza do MRC ou a outra unidade de desvio inerente ao método. ⁽³⁸⁾	45
Equação 19 – Fórmula de cálculo do erro normalizado, em que U_{ref} é a incerteza associada ao valor verdadeiro; U_{lab} é a incerteza associada ao resultado obtido. ⁽³⁸⁾	45
Equação 20 – Fórmula de cálculo utilizada para a avaliação do Z-score obtido em ensaios de aptidão, em que X_{lab} é o valor obtido pelo laboratório; X_v é o valor de referência (normalmente a média dos participantes) e S é desvio padrão de todos os laboratórios participantes. ⁽³⁸⁾ .	46
Equação 21 – Cálculo do BIAS (%) através de ER, sendo $\overline{x_{ER}}$ a média da percentagem dos ensaios de recuperação. ⁽³⁸⁾	46
Equação 22 – Cálculo da estimativa da incerteza combinada, com base na incerteza associada à precisão e à exatidão.	47

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Valores paramétricos de acordo com o DL 152/2017 ⁽⁴⁾	10
Tabela 2 – Frequência mínima de amostragem e análise da água destinada para consumo humano fornecida por uma rede de distribuição ⁽³¹⁾	26
Tabela 3 – Construção das curvas de calibração por gama de trabalho ⁽⁴⁷⁾	51
Tabela 4 – Tabela síntese com a definição do comprimento de onda por elemento a analisar, modo de leitura e elementos interferentes ^(34-36; 47)	52
Tabela 5 – Condições instrumentais definidas para o método. ⁽⁴⁷⁾	53
Tabela 6 – Controlo de qualidade, frequência com que o mesmo deve ser efetuado e respetivos critérios de aceitação	56
Tabela 7 – Coeficientes de correlação (r) e declives (m) obtidos nas primeiras 5 curvas de calibração para os diferentes metais em estudo	58
Tabela 8 – Intervalos de aceitação de declives para os diferentes metais e gamas de trabalho em estudo	59
Tabela 9 – Tabela-resumo com os resultados obtidos para o teste de Mandel, da primeira curva de calibração realizada para cada metal e gama de trabalho estudada, e para a avaliação da homogeneidade de variâncias	60
Tabela 10 – Tabela síntese com os LQ's calculados por 3 diferentes abordagens para cada um dos metais e respetivas gamas de trabalho	62
Tabela 11 – Limites de repetibilidade para o padrão de controlo, ao nível do LQ para as diferentes gamas de trabalho, bem como os limites de repetibilidade de amostras de águas de consumo	62
Tabela 12 – Incerteza associada à componente da precisão, da exatidão e respetiva incerteza combinada expandida.....	64
Tabela 13 – Resultados obtidos no ensaio de aptidão da distribuição da Relacre, em julho de 2022	65
Tabela 14 – Valores obtidos para as regiões escolhidas do Norte	67
Tabela 15 – Valores obtidos para as regiões escolhidas do Centro	68
Tabela 16 – Valores obtidos para as regiões escolhidas do Sul	70

Enquadramento

A Escola Superior de Tecnologia do Barreiro proporciona aos alunos um estágio curricular ou projeto curricular no final do Mestrado em Engenharia Biológica e Química no ramo de Processos Biotecnológicos com o objetivo de dar aos formandos a possibilidade de aplicar os conhecimentos adquiridos ao longo do curso.

No caso do discente Lúri Sousa, devido ao facto de este estar já a trabalhar, optou-se por finalizar o curso de mestrado por meio de um projeto desenvolvido no seu local de trabalho, LPQ – Laboratório Pró-Qualidade.

O LPQ tinha como principal objetivo a implementação e validação de uma nova metodologia no laboratório, análise de metais por ICP-OES (*Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry*), pois esta permite a análise de multi-elementos (no caso metais) com uma maior sensibilidade. Desta forma seria possível rentabilizar o tempo de operador gasto durante as análises e conseguir-se-ia, por consequência, dar aos clientes um menor tempo de resposta com igual qualidade no que diz respeito aos resultados, permitindo, ainda, ao LPQ, ser mais competitivo no mercado pois conseguirá apresentar orçamentos/cotações com valores mais baixos para análise de metais, uma vez que a análise destes por absorção atómica por câmara de grafite, chama e/ou vapor frio são metodologias mais dispendiosas e demoradas.

O presente documento é constituído por seis partes: caracterização da entidade onde a tese foi desenvolvida; fundamentos teóricos sobre a água, água para consumo humano e enquadramento jurídico, metais, Entidade Reguladora dos Serviços das Águas e Resíduos, periodicidade e controlo de análise, ICP-OES e validação de métodos com o objetivo de obter os conhecimentos teóricos necessários para a realização desta tese; metodologia de análise onde se encontra toda a descrição da técnica; resultados obtidos e sua discussão; importância do ICP-OES para a determinação de metais em quantidades vestigiais, bem como quais as consequências da presença de metais na água para consumo humano; terminando com uma breve conclusão.

1. Caracterização da Entidade de Acolhimento

1.1. Historial

O LPQ, Laboratório de Pró-Qualidade, nasceu há mais de 3 décadas, como Laboratório Central da CUF (Companhia União Fabril), servindo o complexo industrial do Barreiro. ⁽¹⁾

Mais tarde, integrando a Quimigal, veio a ter autonomia jurídica em 1991. ⁽¹⁾

Após passar por um processo de privatização, o LPQ está integrado no Grupo IPG desde 1995. ⁽¹⁾

O Grupo IPG integra três diferentes áreas, nomeadamente Ambiente, Engenharia e Consultoria de Gestão e Imobiliário. ⁽¹⁾

A Área do Ambiente é constituída por três empresas o LPQ, DPM (Tratamento de águas, Ar Ambiente e Exploração da ETAR) e PL (Planeamento e Gestão de Projetos). ⁽¹⁻²⁾

O LPQ é um Laboratório acreditado pela NP EN ISO/IEC 17025 (requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio sendo a referência internacional para laboratórios de ensaio e calibração que desejam demonstrar sua capacidade e competência técnica para fornecer resultados confiáveis e válidos, promovendo, assim, a confiança em seu trabalho, nacional e internacionalmente). ⁽¹⁾

A DPM é uma Empresa certificada pela ISO 9001:2000 (para a gestão da qualidade na realização do produto esta estabelece requisitos de gestão que dependem da liderança da direção, do envolvimento das pessoas, de visão de processos e de outros princípios de gestão). ⁽¹⁾

A PL é uma Empresa certificada pela ISO 9001:2000. ⁽¹⁾

Em 1998, foi constituído o LPQ Porto, de modo a haver uma maior proximidade com os Clientes na região Norte de Portugal, ficando assim com os dois polos laboratoriais, Barreiro e Porto. ⁽¹⁾

A acreditação (a atividade de acreditação consiste na avaliação da competência técnica de entidades para efetuar atividades específicas de avaliação da conformidade como ensaios, calibrações, certificações e inpeções) que adquiriu mais tarde permite conferir aos seus Clientes a garantia de que a análise dos seus produtos é realizada de acordo com os métodos

testados, executados por pessoal qualificado, com equipamento calibrado e que os resultados são reconhecidos nacional e internacionalmente. ⁽¹⁾

O LPQ é responsável pelas análises de mais de 300 Empresas de diferentes setores de atividade, bem como de mais de 60 Municípios em todo o país, tendo como objetivo garantir que os produtos analisados são controlados de acordo com as normas internacionais, garantindo a melhoria da qualidade de vida das pessoas. ⁽²⁾

O LPQ é um laboratório ambiental especializado em Análises de Águas e Efluentes, Controlo de Qualidade do ar no interior dos edifícios, Ensaio em produtos tensoativos, higiene e limpeza e Análise de produtos alimentares e rações. ⁽²⁾

Na figura 1 pode-se observar o organograma do Laboratório Pró-Qualidade, em que a área de interesse da Tese foi a da Absorção Atómica, estando esta incluída na Área Físico-Química. ⁽²⁾

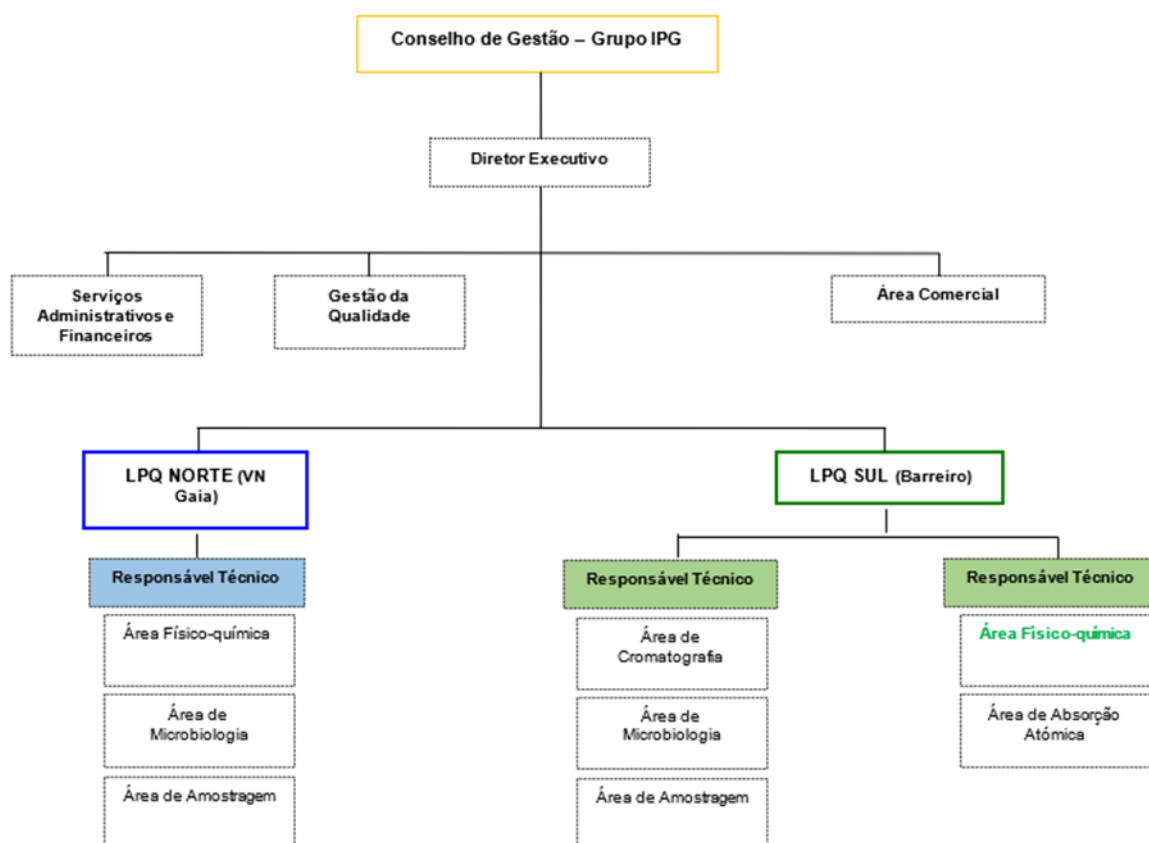


Figura 1 – Organograma do LPQ. ⁽²⁾

1.2. Segurança no trabalho

De forma a garantir e assegurar a segurança dos trabalhadores do laboratório pode-se verificar que na empresa existe os seguintes equipamentos/materiais: ⁽²⁾

- *Hotte* ventilada;
- Separação de ácidos e bases;
- Ficha de segurança dos reagentes;
- Extintor;
- Óculos de proteção;
- Luvas;
- Alarme;
- EPI's (Equipamentos de Proteção Individual);
- Lava-olhos;
- Caixa de primeiros socorros;
- Chuveiro;
- Bata;
- Cabelo apanhado;
- Manta de fogo.

1.3. Higiene

Na empresa LPQ existe uma funcionária responsável pela limpeza geral do laboratório e outra funcionária responsável pela limpeza, lavagem e descontaminação do material corrente de laboratório, sendo da responsabilidade de cada analista fazer a seleção de amostras já realizadas e o respetivo descarte.

É, ainda, da responsabilidade dos analistas limpar as bancadas após utilização.

1.4. Preocupações Ambientais

Abaixo encontram-se enumeradas algumas das preocupações ambientais da empresa, pois estas boas práticas ambientais são cada vez mais importantes e necessárias para garantir o bem-estar do planeta: ⁽²⁾

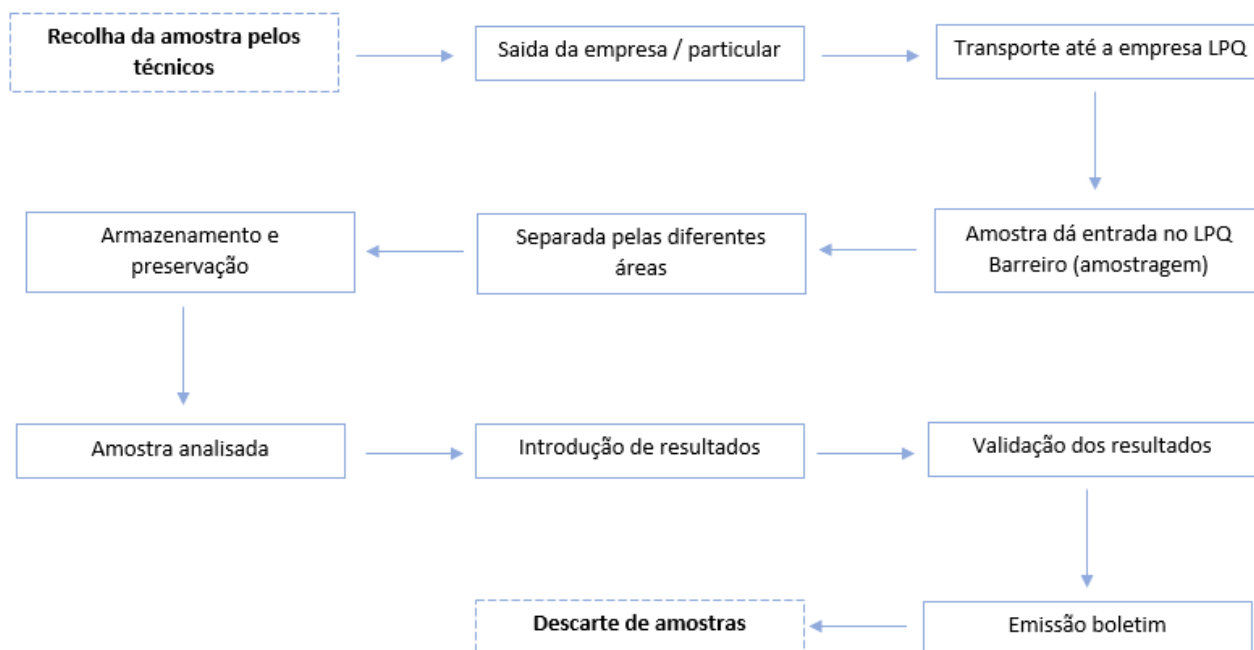
- Reciclagem;
- Destruição dos reagentes fora de prazo pelas entidades reguladoras específicas;

- Separação de reagentes com metais pesados;
- Separação dos organoclorados e organo-não-clorados;
- Separação de resíduos de piridina;
- Separação de resíduos de mercúrio.

Os reagentes que contenham metais pesados, resíduos de organoclorados e organo-não-clorados, de piridina e de mercúrico são depois enviados para entidades reguladoras específicas que irão tratar da destruição/tratamento dos mesmos.

1.5. Metodologia de trabalho da entidade

No fluxograma 1, de seguida apresentado, pode-se observar qual a metodologia de trabalho que o LPQ adota no seu dia a dia de trabalho, desde a recolha da amostra até ao descarte da mesma.



Fluxograma 1 – Metodologia de trabalho do LPQ no seu dia a dia de trabalho.

2. Fundamentos Teóricos

Neste capítulo são apresentados todos os conceitos e bases teóricas consideradas necessárias para uma melhor perceção do desenvolvimento do tema da presente Tese.

2.1. Água

O bem mais precioso que a terra fornece à humanidade é a água, sendo esta a base fundamental para a vida tal como a conhecemos. Esta é essencial para a sobrevivência do ser humano sendo esta a molécula maioritária do seu corpo. ⁽³⁾

Além de a água estar presente em cerca de 75 a 80% da massa do corpo humano, desempenhando assim o seu papel estrutural, esta é essencial também para o bom funcionamento geral do organismo, intervindo em diversos metabolismos como a depuração renal, desenvolvimento celular, digestão, entre outros. ⁽³⁾

2.2. Água para Consumo Humano e enquadramento jurídico

O acesso à água potável encontra-se consagrado pela ONU (Organização das Nações Unidas) como um direito fundamental e a presença de contaminantes em águas para consumo é considerado uma ameaça séria para a saúde pública. ⁽³⁾

O setor de abastecimento de águas de consumo humano (ACH) em Portugal é regulado pela ERSAR (Entidade Reguladora dos Serviços das Águas e Resíduos), autoridade que zela pelo controlo adequado da qualidade de água para consumo, sendo obrigatório disponibilizar publicamente dados sobre a mesma. ⁽³⁾

De acordo com a ERSAR, água destinada ao consumo humano consiste em “toda a água no seu estado original, ou após tratamento, destinada a ser bebida, a cozinhar, à preparação de alimentos, à higiene pessoal ou a outros fins domésticos, independentemente da sua origem e de ser fornecida a partir de uma rede de distribuição, de um camião ou navio-cisterna, em garrafas ou outros recipientes, com ou sem fins comerciais” e “toda a água utilizada numa empresa da indústria alimentar para fabrico, transformação, conservação ou comercialização de produtos, ou substâncias, destinados ao consumo humano, assim como a utilizada na limpeza de superfícies, objetos e materiais que podem estar em contacto com os alimentos, exceto quando a utilização dessa água não afeta a salubridade do género alimentício na sua forma acabada”. ⁽⁴⁾

Em Portugal, cerca de 80% da população é abastecida pelo grupo AdP (Águas de Portugal), empresa com capital detido pelo estado português, onde se insere a EPAL, S.A. (Empresa Portuguesa das Águas Livres).⁽³⁾

A água, tal como já referido, é um bem essencial que não pode faltar. No entanto, apenas uma percentagem muito pequena está diretamente disponível para os seres humanos e restantes organismos e devido à negligência e desperdício por parte do ser humano, esta tem vindo a ficar mais escassa e a sua qualidade tem sido posta em causa, sendo por este motivo essencial a análise contínua da mesma.⁽³⁾

De maneira geral os constituintes mais presentes na água são os iões sulfato, cloreto, cálcio, potássio, magnésio e bicarbonato.⁽³⁾

São então estabelecidos determinados valores, valores paramétricos, onde são fixados os valores máximos e/ou mínimos para cada um dos parâmetros a controlar, tendo em atenção o Decreto-Lei 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei 152/2017, de 7 de dezembro.⁽³⁾

Os parâmetros a controlar são nomeados como parâmetros indicadores, ou seja, parâmetros cujo valor deve ser considerado como valor guia, ou seja, parâmetros cujo DL (Decreto-Lei) não define valor paramétrico (valor máximo admissível), mas que no entanto devem ser controlados e avaliados ao longo do tempo.⁽⁵⁾

Um laboratório com a responsabilidade de assegurar a correta análise de águas para o consumo da comunidade, requer técnicas analíticas aplicáveis em regime de rotina para análise de amostras de águas de consumo humano, capazes de cumprir os requisitos legais, de forma a fornecer um serviço essencial para a comunidade onde se insere, assegurando a qualidade de água consumida. Deste modo, todo o laboratório ao qual seja dada a responsabilidade de assegurar essas análises tem de ser acreditado pelo IPAC (Instituto Português de Acreditação), exigência do DL 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo DL 152/2017, de 7 de dezembro, no âmbito da norma NP EN ISO/IEC 17025:2018 que é a norma de requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração. Este controlo incide sobre contaminantes biológicos, orgânicos e inorgânicos (onde se inserem os metais), sendo comum, para este último grupo o recurso a técnicas espectroscópicas de massa, de emissão atômica, fluorescência e absorção para análises multi-elementares de matrizes aquosas.^(3;5)

2.3. Metais

O termo metal refere-se a uma das quatro classificações propostas para os elementos químicos da Tabela Periódica (sendo as outras: ametais, gases nobres e hidrogénio). São metais 94 dos 118 elementos existentes na Tabela. ⁽⁶⁾

Dos 94 metais existentes, 68 são denominados de metais de transição por pertencerem às famílias B. Desses 68, 40 são metais de transição externa (por apresentarem o subnível d como mais energético, como a Prata) e 28 são de transição interna (por apresentarem o subnível f como mais energético, como o Európio). ⁽⁶⁾

Os metais são oligoelementos que ocorrem naturalmente em diferentes meios ambientais. Alguns metais podem ser libertados na água potável a partir dos tubos/canos dos sistemas de distribuição de água. Alguns desses elementos, são nutrientes essenciais necessários em pequenas quantidades para manter o metabolismo do corpo humano. A ingestão inadequada desses micronutrientes pode levar a uma variedade de síndromes de deficiência. ⁽⁶⁾

Dependendo da sua dose e forma química todas as formas de vida são afetadas pelos metais, muitos destes são essenciais para o crescimento de organismos, desde bactérias até ao ser humano, mas sempre em pequenas concentrações pois caso contrário podem danificar os sistemas biológicos. ⁽⁷⁾

Segundo Ávila-Campos (2007), os metais podem ser classificados em: ⁽⁸⁾

- Elementos essenciais – sódio, potássio, cálcio, ferro, zinco, cobre, níquel e magnésio;
- Micro-contaminantes ambientais – arsénio, chumbo, cádmio, mercúrio, alumínio, titânio, estanho e tungsténio;
- Elementos essenciais e micro-contaminantes – crómio, zinco, ferro, cobalto, manganês e níquel.

O termo metais pesados refere-se aos agentes tóxicos mais conhecidos pelo homem. ⁽⁸⁾ Metais pesados são definidos quimicamente como um grupo de elementos situados entre o cobre e o chumbo na tabela periódica, sendo estes, de acordo com a APA (Agência Portuguesa do Ambiente) o As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb e Zn. ⁽⁷⁾

Segundo o professor Doutor *Sérgio Colacioppo (2001)*, esta designação vem do facto de apresentarem um elevado número atómico e não propriamente devido à sua densidade. ⁽⁹⁾

Estes metais são muito reativos e bio acumulativos, ou seja, não é possível eliminá-los de forma rápida e eficaz. ⁽⁹⁾

No corpo humano existe grande quantidade deste tipo de compostos para os quais os metais pesados apresentam afinidade o que torna tão importante a avaliação da presença destes no organismo do ser humano. ⁽⁹⁾

A manifestação dos efeitos provocados pelos metais está principalmente associada à sua dose, podendo estes posteriormente distribuir-se por todo o organismo, afetando vários órgãos, alterando os processos bioquímicos, organelos e membranas celulares. ⁽⁷⁾

Toxicidade é a capacidade que um agente químico tem de produzir danos nos organismos vivos. ⁽⁷⁾

Intoxicação corresponde ao efeito da ação de um agente tóxico relativamente aos sistemas orgânicos, resultando da perturbação ou abolição da vida dos elementos anatómicos, por modificação do meio líquido que os contém (plasma intersticial ou sangue). ⁽⁷⁾

Esta pode ser uma intoxicação exógena, se for provocada por substâncias formadas no exterior do organismo ou uma intoxicação endógena, se for provocada por substâncias formadas e acumuladas no interior do organismo. ⁽⁷⁾

Quando se trata de uma substância extremamente tóxica, esta irá causar um dano no organismo mesmo se for administrada em quantidades muito pequenas, por outro lado quando se trata de uma substância com baixa toxicidade só irá causar efeitos se a quantidade administrada da mesma for muito grande. ⁽⁷⁾

A substância pode entrar no organismo por meio digestivo, respiratório e cutâneo, onde cada uma destas possui os seus próprios mecanismos de autodefesa, tentando assim eliminar o efeito tóxico existente. ⁽⁷⁾

Quando a substância tem a capacidade de atingir diversos órgãos, diversos mecanismos de defesa serão automaticamente ativados de forma a realizar a sua eliminação, da maneira mais rápida possível, através de secreções como a urina, o suor ou a saliva. ⁽⁷⁾

Os principais efeitos tóxicos, ou seja, os que ditam o prognóstico, são os que se sentem a nível do sistema nervoso (principalmente o sistema nervoso central) de um modo mais imediato, podendo também potenciar a carcinogénese (processo pelo qual uma célula normal se transforma numa célula de cancro). ⁽⁷⁾

Esta pode ser determinada através de diversos testes nomeadamente a determinação LD_{50}^5 , parâmetro que permite estimar quantitativamente a toxicidade aguda por comparação com outras substâncias, ou o teste AMES (técnica de avaliação da mutagenicidade *in-vitro*), que avalia a capacidade mutagénica de uma substância, ou seja, a capacidade da mesma de provocar danos no ADN (ácido desoxirribonucleico) e permitir que estes danos sejam passados após divisão genética, entre muitos outros. ⁽⁷⁾

No entanto nem todo o metal é prejudicial para o organismo, pois existem determinadas porções de determinados metais que são essenciais para o bom funcionamento dos sistemas biológicos, daí existir uma grande discrepância de ordem de grandeza entre os valores paramétricos definidos por lei, oscilando entre $\mu\text{g/L}$ e mg/L . Como estas doses são tão pequenas são conhecidas como micronutrientes. ⁽⁷⁾

Os metais fazem então parte dos ciclos biológicos e geológicos.

A erosão provoca a dissolução dos vários componentes da natureza onde, por meio da ação física (ar ou água), acabam por fazer chegar esses sedimentos de metal aos solos, ar e água, havendo assim a hipótese de que através da sua interação com o ecossistema onde estão envolvidos, acabem por ser incorporados na cadeia alimentar. ⁽⁷⁾

Normalmente, os metais pesados, apresentam-se em concentrações pequenas, associados a outros elementos químicos. E quando em contacto com o ambiente, estes poderão ser absorvidos pelos tecidos animais e vegetais, acabando assim por contaminar os ecossistemas terrestres e aquáticos, entrando assim na cadeia alimentar. ⁽⁷⁾

Na tabela 1, pode-se observar os valores paramétricos máximos permitidos para os metais existentes nas águas de consumo, de acordo com o DL 152/2017. ⁽⁴⁾

Tabela 1 – Valores paramétricos de acordo com o DL 152/2017⁽⁴⁾

Parâmetro	Elemento	Valor paramétrico	Observações
Alumínio	Al	200 $\mu\text{g Al/L}$	
Antimónio	Sb	5,0 $\mu\text{g Sb/L}$	

Arsénio	As	10 µg As/L	
Boro	B	1,0 mg B/L	
Cádmio	Cd	5,0 µg Cd/L	
Cálcio	Ca	----- mg Ca/L	*Nota 1) e 2)
Chumbo	Pb	10 µg Pb/L	*Nota 3) e 4)
Cobre	Cu	2,0 mg Cu/L	*Nota 3) e 4)
Crómio	Cr	50 µg Cr/L	
Ferro	Fe	200 µg Fe/L	
Magnésio	Mg	----- mg Mg/L	*Nota 1) e 3)
Manganês	Mn	50 µg Mn/L	
Mercurio	Hg	1,0 µg Hg/L	
Níquel	Ni	20 µg Ni/L	*Nota 3) e 4)
Selénio	Se	10 µg Se/L	
Sódio	Na	200 mg Na/L	

Notas:

*1) A água não deve ser fator de deterioração dos materiais com os quais está em contacto, ou seja, deve ser desejavelmente equilibrada. Para verificar esta propriedade podem ser utilizados diversos métodos, nomeadamente o Índice de Langelier (IL), que, se possível, deve estar compreendido entre $-1 < IL < +1$.

*2) Não é recomendável que a concentração de cálcio seja superior a 100 mg Ca/L.

*3) Não é recomendável que a concentração de magnésio seja superior a 50 mg Mg/L.

*4) É recomendável que a dureza total em carbonato de cálcio esteja compreendida entre 150 e 500 mg CaCO₃/L.

2.3.1. Alumínio

O alumínio e os seus compostos compreendem cerca de 8% da superfície da Terra, estando este metal presente naturalmente em silicatos, criolite (mineral muito raro utilizado historicamente como minério de Al) e rocha bauxite (rocha residual, rica em óxido de alumínio, formada de rochas ígneas, sedimentares e metamórficas). Os processos naturais são responsáveis pela maior parte da redistribuição do alumínio no meio ambiente. A precipitação ácida extrai o alumínio de fontes naturais, e as libertações antropogénicas (fontes emissoras dos poluentes atmosféricos que resultam das atividades humanas, como a atividade industrial ou o tráfego automóvel) diretas de compostos de alumínio com processos industriais ocorrem principalmente no ar. Certos usos levam à presença de alumínio na água potável e nos alimentos. ⁽¹⁰⁾

Este é absorvido pelas vias orais e respiratórias, e cerca de 0,1% do alumínio consumido é absorvido pelo intestino. ⁽¹¹⁾

Em experiências realizadas com ratos, conseguiu-se observar que o alumínio causou diversos e severos danos no Sistema Nervoso Central (SNC), nomeadamente perda de sinapses (região localizada entre neurónios onde agem os neurotransmissores, transmitindo o impulso nervoso de um neurónio para o outro), atrofia dendrítica, dificuldade no transporte intracelular, redução da síntese do ADN e da atividade da ARN polimerase (enzima responsável pela síntese de ARN – ácido ribonucleico – e consequentemente da expressão genética e produção das proteínas) e por fim alteração do metabolismo do cálcio no sangue. ⁽¹¹⁾

Associa-se também, em diversos estudos, o alumínio à Doença de Alzheimer (DA), pois encontra-se em diversos cérebros de pacientes que morreram com DA, altas concentrações de alumínio, mas ainda não se concluiu se este aumento é a causa da DA ou se este aparece como consequência da mesma. ⁽¹¹⁾

2.3.2. Antimónio

O antimónio é um metal branco prateado com número atómico 51 e é encontrado na crosta terrestre. As suas principais aplicações são a nível industrial. ⁽¹²⁾

Os compostos de antimónio têm sido usados como medicamentos desde a sua introdução pelo alquimista João de Rupescissa no século XIV, principalmente no tratamento de duas doenças parasitárias, a leishmaniose (doença infecciosa causada por parasitas do género *Leishmania* transmitidos pela picada de insetos) e a esquistossomose (infecção causada por trematódeos sanguíneos do género *Schistosoma*, adquiridos ao nadar ou entrar em contato com águas contaminadas). ⁽¹²⁾

O antimónio e a maioria dos seus compostos encontram-se naturalmente presentes na crosta terrestre e são libertados para o ambiente por descargas naturais, como poeira levada pelo vento, erupções vulcânicas, maresia, incêndios florestais e fontes biogénicas. ⁽¹²⁾

A concentração de antimónio dissolvido em rios e lagos é geralmente inferior a 5 partes de antimónio em 1 bilhão de partes de água e encontra-se ligado a partículas de sujidade. ⁽¹²⁾

A ingestão de compostos que contêm antimónio podem causar diversos efeitos tóxicos no intestino, estômago, coração, pele, fígado e sistema nervoso tanto no ser humano como em animais, resultante da sua ligação com os grupos sulfidrilo, inibindo assim o metabolismo de proteínas e carboidratos. ⁽¹¹⁾

A carcinogénese (processo pelo qual uma célula normal se transforma numa célula de cancro) associada ao antimónio ainda é bastante incerta, pois alguns estudos demonstram que a

exposição ao metal aumenta o risco de cancro, mas não se sabe se este aumento está diretamente relacionado com este metal ou com a exposição também dos pacientes ao arsénio. ⁽¹¹⁾

2.3.3. Arsénio

Dos metais pesados, o arsénio é um dos poluentes ambientais globais mais importantes e é um agente carcinogénico bio acumulativo persistente. É um metaloide tóxico que existe em duas formas inorgânicas principais: arseniato (AsO_4^{3-}) e arsenito (AsO_2). ⁽¹³⁾

Vários microrganismos interagem com este metal e têm demonstrado resistência quando expostos ao mesmo, e parecem possuir o operão *ars* (responsável pela desintoxicação de arseniato, arsenita e antimonite, transportando estes para fora da célula) que os faz criar resistência ao arsénio, alguns microrganismos até o usam para a respiração. ⁽¹³⁾

O arsénio pode ser absorvido por todas as vias, sendo a principal a via oral.

Este é distribuído pelos organismos ligando-se às proteínas plasmáticas, acumulando-se no fígado e rins em exposições agudas e quando em exposições crónicas nos pelos, unhas e cabelos. ⁽¹¹⁾

A principal via de excreção do mesmo é a urinária.

Os sintomas da exposição aguda ao arsénio são os mesmos para derivados orgânicos ou inorgânicos, nomeadamente gastroenterite grave 30 minutos após a exposição.

Este é reconhecido pela IARC (Agência Internacional para a Investigação do Cancro) como substância carcinogénica. ⁽¹¹⁾

2.3.4. Cádmio

Em regiões com atividade agrícola intensa, é comum ocorrerem aumentos nas concentrações de metais pesados em ambientes aquáticos. Entre os metais associados às atividades agrícolas, o cobre e o cádmio afetam diretamente as estruturas tróficas aquáticas devido à facilidade de incorporação por produtores primários e organismos consumidores. ⁽¹⁰⁾

A principal via de absorção do cádmio é a respiratória. ⁽¹¹⁾

Este é distribuído por todo o organismo, encontrando-se normalmente ligado à albumina, acumulando-se no fígado e nos rins e em menor quantidade no pâncreas, pulmões, testículos e tireoide. ⁽¹¹⁾

Quando a principal absorção é a respiratória a via de excreção é a urinária, quando a absorção é oral, a via de excreção é pelas fezes. ⁽¹¹⁾

A meia vida do cádmio no organismo é entre 17 a 38 anos e como resultado desta meia vida biológica longa, a exposição crónica pode levar a lesões ósseas, enfisema pulmonar (patologia na qual os alvéolos durante a respiração vão sendo gradualmente destruídos, reduzindo assim a superfície disponível para as trocas gasosas, diminuindo a quantidade de oxigénio que é transportado para o sangue, dificultando a respiração), nefrite (inflamação nos rins), proteinúria (presença de proteínas na urina, numa quantidade superior ao normal) e elevado potencial de cardiotoxicidade. ⁽¹¹⁾

Este é reconhecido pela IARC como substância carcinogénica para o ser humano. ⁽¹¹⁾

2.3.5. Cálcio

O cálcio é o elemento mineral mais abundante no corpo humano, representando cerca de 2% do peso corporal. ⁽¹⁵⁾

As funções do cálcio são as funções esqueléticas e as funções reguladoras. ⁽¹⁵⁾

Cálcio é essencial tanto para a estrutura física como para a função fisiológica normal do osso.

O corpo de um adulto contém normalmente cerca de 1200 g de cálcio, sendo que 99% se encontra nos ossos e dentes e apenas o restante 1% no resto do corpo. ⁽¹¹⁾

A diminuição deste metal no corpo humano leva conseqüentemente à perda de minerais nos ossos com redução da densidade óssea, suscetibilidade a fraturas, convulsões, tetania (distúrbio caracterizado por contrações musculares intermitentes, acompanhadas de tremores, paralisia e dor muscular) e aumento da pressão sanguínea, principalmente em gestantes. ⁽¹¹⁾

O cálcio não é um metal tóxico, no entanto efeitos adversos podem ocorrer com ingestão diária acima de 2 g. A absorção intestinal deste reduz com o aumento da ingestão do mesmo, no entanto, uma ingestão em grandes quantidades pode aumentar a concentração corporal

como também interferir na absorção de outros metais, tais como o magnésio, zinco e ferro, além de poder causar falência renal e calcificação dos tecidos moles. ⁽¹¹⁾

2.3.6. Chumbo

O chumbo é um dos elementos mais comuns no meio ambiente, devido às inúmeras atividades industriais que favorecem a sua distribuição. No entanto, esse metal também pode ser encontrado em minérios de zinco, prata e cobre, cujas concentrações locais estão distribuídas mundialmente. ⁽¹⁶⁾

A concentração natural de Pb nas águas subterrâneas varia de acordo com a composição do solo e do leito rochoso, enquanto os níveis de Pb no solo são influenciados por atividades antrópicas (ações decorrentes da ação humana) e transferência de Pb no ar, que depende das condições atmosféricas e do tamanho das partículas. ⁽¹⁶⁾

Outras fontes naturais de Pb atmosférico incluem o carvão, petróleo, madeira, entre outros. ⁽¹⁶⁾

A principal via de absorção do chumbo é a respiratória. Nos pulmões, este é absorvido sob a forma de fumos ou partículas finas sendo estas posteriormente fagocitadas (processo onde a célula usa a membrana plasmática para englobar partículas grandes, originando um fagossoma).

A sua absorção por via oral depende da sua solubilidade e do tamanho das partículas.

Acumula-se nos ossos (substituindo o cálcio ósseo), dentes, fígado, pulmões, rins, cérebro e baço. ⁽¹¹⁾

A excreção deste metal é realizada pela urina e fezes. ⁽¹¹⁾

A sua vida média no sangue varia entre 25 a 36 dias, nos ossos é cerca de 27 anos e nos tecidos moles dura uma média de 40 dias. ⁽¹¹⁾

Os sintomas por intoxicação do chumbo são insuficiência renal, sintomas gastrointestinais e hemólise. Nas crianças os sintomas não são tão específicos podendo estes ser dores de cabeça, anorexia, constipação, anemia progressiva, nefrite crónica e radiografias aos ossos com grandes depósitos. ⁽¹¹⁾

O Pb também afeta a reprodução e o desenvolvimento e pode ter efeitos cardiovasculares e possíveis efeitos mutagénicos e carcinogénicos. ⁽¹⁷⁾

A IARC classifica o chumbo inorgânico e os seus compostos como carcinogénicos, porém classifica os compostos do chumbo orgânico como não carcinogénicos para o homem. ⁽¹¹⁾

2.3.7. Cobre

Com a aceleração da industrialização e da agricultura, a poluição do solo por metais pesados tornou-se cada vez mais grave. O cobre, embora seja um oligoelemento essencial para o crescimento e desenvolvimento dos organismos vivos, é um dos principais poluentes de metais pesados. O excesso de cobre no solo é tóxico para as plantas e ameaça a saúde humana através da cadeia alimentar. ⁽¹⁸⁾

O cobre é utilizado em sistemas domésticos de distribuição de água potável devido às suas propriedades físicas e químicas que o tornam resistente à corrosão. No entanto, há evidências de que, sob certas condições, pode corroer e libertar concentrações perigosas de cobre na água. ⁽¹⁹⁾

No ser humano o Cu é essencial para o desenvolvimento do tecido conjuntivo, formação dos nervos e dos ossos. ⁽¹¹⁾

Este metal pode ser um grupo prostético de enzimas, e através das suas propriedades redox, é essencial para a atividade das enzimas redutoras do oxigénio molecular durante a respiração celular. ⁽¹¹⁾

Um adulto contém cerca de 80 mg de Cu, encontrando-se este em maiores quantidades no fígado e no cérebro e a ingestão média de Cu varia entre 0,9 a 2,2 mg/dia em adultos. ⁽¹¹⁾

A deficiência de cobre no ser humano é muito rara, mas quando ocorre provoca anemia normocítica (doentes com o índice do volume globular médio entre 80 e 100 fL, desenvolvendo-se em contexto de perdas sanguíneas, estados de hemólise aguda ou crónica) e hipocrómica (hemácias que possuem menos quantidade de hemoglobina que o normal), leucopenia (redução no número de leucócitos, por volume de sangue circulante), neutropenia (redução da contagem de neutrófilos no sangue, sendo estes os principais defensores do corpo contra as infeções bacterianas e fúngicas) e osteoporose (diminuição da massa óssea e deterioração da arquitetura do osso, conduzindo ao aumento do risco de fratura) em crianças. ⁽¹¹⁾

Excesso de zinco pode levar a um défice de cobre. A toxicidade crónica do Cu é bastante rara, mas quando ocorre, está na maioria das vezes associada a danos no fígado. ⁽¹¹⁾

Intoxicação aguda por cobre pode levar a efeitos gastrointestinais. A existência, no organismo, de altos teores deste metal leva, consequentemente, a uma redução da vitamina A no sangue e a problemas renais que podem por si só levar à doença de *Wilson* (doença genética rara, provocada pela incapacidade do corpo em metabolizar o cobre, fazendo com que haja acumulação deste no cérebro, rins, fígado e nos olhos, causando um quadro de intoxicação nas pessoas). ⁽¹¹⁾

2.3.8. Crómio

Os principais problemas resultantes da exposição do ser humano ao crómio são nomeadamente problemas respiratórios, especialmente associados a irritações das mucosas. Esta exposição pode também dar origem a pancreatites e hemorragias nos intestinos, podendo assim causar a morte do ser humano. Estas situações, apesar de raras, ocorrem por vezes devido à ingestão de águas de consumo contaminadas com crómio. ⁽²⁰⁾

Este metal tem duas valências principais, a +3 e a +6. ⁽¹¹⁾

O crómio trivalente é a forma mais abundante deste elemento no ambiente. ⁽¹¹⁾

Não existem evidências que demonstrem que o crómio III passa a crómio IV no organismo, no entanto no meio intracelular o oposto acontece com muita rapidez. ⁽¹¹⁾

O crómio III tem um papel importante na tolerância à glicose, como co-fator de insulina.

O crómio VI é o mais importante do ponto de vista de toxicidade. ⁽¹¹⁾

Este, ao contrário do III, é rapidamente absorvido por todos os tecidos, entrando através dos canais aniónicos das proteínas. ⁽¹¹⁾

Tem uma dose letal de 50 a 70 mg por kg de peso corporal e os principais sintomas de intoxicação por crómio VI são danos no trato gastrointestinal como sangramento e choque cardiovascular. ⁽¹¹⁾

O crómio hexavalente é conhecido por ser um elemento carcinogénico, sendo que este atua de maneira direta na modificação e alteração do ADN. Este, quando entra na célula,

rapidamente se reduz a crómio III, libertando radicais livres e reativos, e estes radicais irão então provocar os danos no ADN, levando assim à carcinogenicidade. ⁽¹¹⁾

A IARC classifica então o crómio III como não carcinogénico, no entanto classifica o crómio VI como carcinogénico humano. ⁽¹¹⁾

2.3.9. Ferro

O ferro é um mineral essencial e um dos mais abundantes nos solos, apresentando-se no meio ambiente na forma de iões ferrosos (Fe^{2+}) e férricos (Fe^{3+}). ⁽²¹⁾

A determinação do ferro ferroso recebeu grande atenção dos químicos do solo devido ao seu importante papel na agricultura, nos processos como redutor e como aceitador de eletrões na catálise da matéria orgânica. ⁽²¹⁾

Ferro é um elemento essencial e as principais preocupações em relação à sua presença na água potável são o sabor, odor e cor que podem atribuir à mesma. ⁽²²⁾

Ferro é um nutriente essencial, necessário em pequenas quantidades para manter o bom funcionamento do metabolismo do corpo humano. ⁽²²⁾

Este é encontrado em quatro classes de proteínas, nomeadamente a ferro-hemoproteínas (por exemplo, hemoglobina, mioglobina e catalase), a enzimas com grupos Ferro-enxofre (por exemplo, aconitase e fumarato redutase), proteínas de transporte e armazenamento do ferro (transferrina, lactoferrina, ferritina, hemossiderina) e outras enzimas que possuem também ferro na sua constituição (por exemplo, NADH desidrogenase, succinato desidrogenase, álcool desidrogenase). ⁽¹¹⁾

O intervalo de ingestão diária deste metal varia entre 14,4 a 20,2 mg/dia. ⁽¹¹⁾

Em adultos do sexo masculino, o total de ferro no corpo é de 4 g, já em adultos do sexo feminino decresce para 3 g. ⁽¹¹⁾

A principal consequência provocada pelo défice de ferro no sangue é a anemia, pela redução da ferro-hemoglobina e aumento da apo-hemoglobina (forma da hemoglobina sem o hemo com ferro). ⁽¹¹⁾

A intoxicação aguda por ferro é uma das mais prejudiciais para o organismo humano, por outro lado, a intoxicação crónica ocorre frequentemente associada a doenças genéticas e

metabólicas, devido a repetidas transfusões de sangue ou pela ingestão excessiva do metal em causa. ⁽¹¹⁾

2.3.10. Magnésio

O Mg é o segundo catião mais abundante no líquido intracelular. É um cofator para mais de 350 enzimas, regulando o metabolismo energético, proteico e síntese ácida, tensão muscular e sensibilidade à insulina. ⁽²³⁾

A absorção é feita através da ingestão de alimentos e água potável. ⁽²³⁾

A homeostase (capacidade do organismo manter o meio interno em equilíbrio apesar das alterações do meio) do magnésio pode ser perturbada por uma ingestão insuficiente ou por um aumento da excreção urinária de Mg. Esta é induzida por uma carga ácida aumentada, após exercício ou o consumo de grandes quantidades de proteínas. Um aumento da carga ácida aumentará a acidez da urina que diminui a reabsorção de Mg nos túbulos renais. ⁽²³⁾

Este é essencial para a formação dos ácidos nucleicos, tornando-se assim essencial para todas as células. ⁽¹¹⁾

O magnésio é de fundamental importância para a saúde humana e o seu défice pode dar origem a diversas doenças. Quando em excesso este é facilmente filtrado pelos rins, contudo, se o indivíduo em causa tiver uma função renal que não funciona bem pode ocorrer hipermagnesemia (excesso de magnésio no sangue). ⁽¹¹⁾

As ações deste no Sistema Nervoso podem dar origem ao bloqueio pré-sináptico (possui vesículas transmissoras que contêm substâncias transmissoras que serão liberadas na fenda sináptica) e pós-sináptico (possui um grande número de proteínas recetoras, cujas moléculas podem possuir componentes de ligação onde o neurotransmissor, que está na fenda sináptica, se liga a um componente ionóforo) das junções neuromusculares. ⁽¹¹⁾ O componente ionóforo atravessa toda a membrana pós-sináptica até alcançar o interior do neurónio pós-sináptico, permitindo a passagem de certos iões específicos.

Por outro lado, quando a ingestão do mesmo é baixa esta pode causar espasmos musculares, estando associado a doenças cardiovasculares, diabetes, aumento da pressão arterial, ansiedade, osteoporose e acidente vascular cerebral. ⁽¹¹⁾

2.3.11. Manganês

O manganês é um elemento abundante nos ecossistemas terrestres e costeiros. É um micronutriente que faz parte dos processos metabólicos de plantas e animais. Geralmente não é considerado um elemento potencialmente tóxico devido ao seu baixo teor tanto no solo como na água. ⁽²⁴⁾

Apesar de ser um elemento bastante abundante, geralmente encontra-se em quantidades vestigiais na maioria dos organismos. ⁽²⁴⁾

É encontrado em rochas, associado a diferentes minerais do solo e dissolvido em águas naturais, mostrando uma dinâmica reativa de oxidação-redução única como Mn II, III e IV, sendo esta última a forma mais fácil de se encontrar em minerais. ⁽²⁴⁾

O manganês é um metal essencial sendo necessário para manter uma função imunológica adequada, regulação de açúcar no sangue e produção de energia celular, reprodução, digestão, crescimento ósseo, coagulação sanguínea e hemostasia (resposta fisiológica normal do corpo para a prevenção e interrupção de sangramento e hemorragias). ⁽²⁵⁾

O benefício deste metal provém da sua incorporação como grupo prostético ou cofactor de diversas metaloproteínas. As funções desempenhadas pelas metaloproteínas de manganês todas as classes de enzimas, nomeadamente oxidoredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases. ⁽²⁵⁾

A quantidade de Mn dos tecidos dos mamíferos está na faixa de 0,3 a 2,9 mg Mn/g peso de tecido húmido, tornando assim o manganês um dos metais mais comuns nos tecidos.

O intervalo de ingestão diária para o manganês é de 9 a 11 mg por dia para adultos e cerca de 2 a 6 mg por dia para as crianças, variando com a idade. ⁽²⁵⁾

De forma global a toxicidade do manganês deve-se a exposições ambientais, incluindo exposição aérea e na água potável. ⁽²⁵⁾

O défice deste metal no organismo está relacionado com distúrbios no crescimento devido a problemas na formação dos ossos e no sistema nervoso. ⁽¹¹⁾ Em condições de deficiência aguda pode levar ao aparecimento de osteoporose, acromegalia (incapacidade da produção da hormona do crescimento) e esclerose múltipla. ⁽¹¹⁾

Em contrapartida o seu excesso reduz a capacidade de absorção de ferro provocando assim anemia, além de afetar o SNC, reprodutivo e respiratório. ⁽¹¹⁾

Em caso de intoxicação crónica pode levar ao desenvolvimento de psicoses maníaco-depressivas, redução da resistência a infeções pulmonares e maior incidência de abortos espontâneos. ⁽¹¹⁾

2.3.12. Mercúrio

O mercúrio encontra-se distribuído em baixas concentrações por toda a crosta terrestre, sendo utilizado em maior escala na mineração do ouro devido à sua capacidade de amalgamação (consiste em ligar o mercúrio a outro metal ou separar o ouro e a prata, por meio do mercúrio). ⁽²⁶⁾

A transferência aérea de Hg é rápida quando comparada a outros reservatórios ambientais, permitindo a dispersão e troca de Hg no ambiente global. Devido a isso, diversas áreas são expostas ao Hg através dos vapores metálicos dispersos no ar ou metil-Hg encontrados na água e peixes contaminados. ⁽²⁶⁾

A principal via de absorção do mercúrio metálico e inorgânico é a inalação do seu vapor. ⁽²⁷⁾

O mercúrio metálico pode oxidar em Hg inorgânico, que por sua vez pode ser convertido em metil-Hg por microrganismos. O Hg orgânico é mais tóxico, pois é solúvel em gordura. Assim, pode ser distribuído em todos os tecidos do corpo e atravessa facilmente a barreira hematoencefálica (membrana permeável seletiva que regula a passagem de grandes e pequenas moléculas para o microambiente dos neurónios) e placentária (barreira seletiva e via de transporte para o feto), causando défices no desenvolvimento neurológico em recém-nascidos e crianças. O sistema nervoso central e os rins são os principais alvos da toxicidade do Hg e seus compostos. ⁽²⁷⁾

Quando ocorre uma exposição a vapores de mercúrio metálico e organomercuriais a acumulação do mesmo ocorre no cérebro, já quando ocorre uma exposição a sais inorgânicos a acumulação dá-se nos rins. ⁽²⁷⁾

Na exposição a Hg metálico, a sua excreção é urinária, podendo também ocorrer eliminação pulmonar de vapores de mercúrio, tendo este uma meia vida biológica de 60 dias. A excreção do mercúrio inorgânico ocorre pela via urinária, tendo este uma meia vida de 30 a 60 dias. Os compostos orgânicos são eliminados, maioritariamente pelas fezes, como meia vida de 70 dias. ⁽²⁷⁾

2.3.13. Níquel

O níquel é um metal de transição branco-prateado duro, dúctil. É o 28º elemento na tabela periódica. Pode existir em vários estados oxidativos, sendo, no entanto, o estado de oxidação +2 o mais difundido no meio ambiente e sistemas biológicos. ⁽²⁸⁾

O níquel pertence aos elementos ferromagnéticos, e está naturalmente presente na crosta terrestre geralmente em combinação com oxigénio e enxofre como óxidos e sulfuretos. Em combinação com outros elementos, o níquel pode estar presente no solo, meteoritos emitidos por vulcões, encontrando-se também cerca de oito bilhões de toneladas de níquel no mar. ⁽²⁸⁾

O níquel é um elemento de transição amplamente distribuído no meio ambiente, ar, água e solo. Pode derivar de fontes naturais e atividade antrópica. Embora o níquel seja onipresente no meio ambiente, o seu papel funcional como oligoelemento para animais e seres humanos não foi ainda reconhecido. ⁽²⁸⁾

A poluição ambiental do níquel pode ser decorrente da indústria, do uso de líquidos e combustíveis sólidos, bem como resíduos municipais e industriais. ⁽²⁸⁾

O contacto com níquel pode causar uma variedade de efeitos na saúde humana, como alergia, doenças cardiovasculares e renais, fibrose pulmonar e cancro nasal. Embora os mecanismos moleculares da toxicidade induzida pelo níquel ainda não estejam claros, acredita-se que as disfunções mitocondriais e o stresse oxidativo tenham um papel primário e crucial na toxicidade deste metal. ⁽²⁸⁾

O excesso de Ni pode causar alergias e inflamações a nível cutâneo, contudo, após o consumo de água contaminada com sulfato de níquel, conseguiu-se observar que certos sintomas surgiram, nomeadamente náuseas, vertigem, cansaço, cefaleias, tosse, falta de ar e esporadicamente sintomas de dermatite cutânea. ⁽²⁰⁾

2.3.14. Selénio

O selénio é um dos elementos mais amplamente distribuídos da crosta terrestre. Grande parte do selénio na crosta terrestre encontra-se associado a minerais de sulfureto. A presença ou ausência de selénio em qualquer solo depende da composição do material de origem e também depende da lixiviação ou processos subsequentes à formação do solo, que podem ter adicionado selénio. O selénio pode ser facilmente oxidado. ⁽²⁹⁾

O selénio é geralmente recuperado como subproduto dos minérios de sulfureto e de outros metais, como o cobre. As maiores quantidades de selénio são usadas para o fabrico da célula fotoelétrica. ⁽²⁹⁾

A ação antioxidante deste metal indica que pode desempenhar um papel importante na prevenção de cancro, devido ao papel que desempenha no fígado, local onde substâncias carcinogénicas são metabolizadas através de um conjunto de oxidases. ⁽¹¹⁾

Quando se encontra em défice além de ter a capacidade de aumentar a probabilidade do desenvolvimento de certos cancros está também associado à doença de *Keshan* (cardiomiopatia em crianças e mulheres jovens que atinge cerca de 10 milhões de pessoas).

O Selénio também tem influência na toxicidade do mercúrio, conseguindo proteger o organismo contra efeitos nocivos deste metal, devido à sua ação antioxidante. ⁽¹¹⁾

Já quando se encontra em elevadas concentrações no organismo, este torna-se um elemento bastante tóxico. ⁽¹¹⁾

Em casos de intoxicação aguda verificam-se distúrbios relacionados com o SNC, além de afetar também o fígado, retarda o crescimento e leva à ocorrência de infertilidade. ⁽¹¹⁾

2.4. Entidade Reguladora dos Serviços das Águas e Resíduos

A ERSAR tem como missão principal regular e supervisionar os setores de abastecimento público de água às populações, saneamento de águas residuais urbanas e gestão de resíduos sólidos urbanos. ⁽³⁰⁾

Pretende assegurar uma proteção correta dos utilizadores dos serviços de águas e resíduos, evitando assim potenciais abusos e incoerências, garantindo a qualidade da água nos serviços públicos, processando as contraindicações e aplicando as respetivas coimas e sanções quando ocorrem infrações das leis ou incumprimentos das suas próprias determinações, nos termos previstos na lei. ⁽³⁰⁾

Para que a água chegue com qualidade a casa de cada indivíduo, a atividade de abastecimento público de água compreende diversas etapas, nomeadamente a captação, o tratamento, a elevação, o transporte, o armazenamento, a distribuição e por fim a utilização da água. ⁽³⁰⁾

Captação é o início de todo o processo, sendo esta constituída por um conjunto de estruturas e equipamentos responsáveis pela extração de água bruta do meio hídrico, podendo ser de vários tipos, torre, jangada, drenos, furo ou poço. ⁽³⁰⁾

Tratamento é a etapa onde a água é transportada para uma ETA (Estação de Tratamento de Água) e é submetida a um conjunto de operações e processos de correção das características físicas, químicas e microbiológicas, tornando-a assim apta para consumo humano. ⁽³⁰⁾

Elevação é a etapa onde a água captada é transportada para uma ETA, onde é, tal como descrito para o tratamento, submetida a um conjunto de operações e processos unitários de correção tornando-a assim apta para consumo humano. ⁽³⁰⁾

Transporte é onde a água é transportada através de condutas adutoras até aos reservatórios de armazenamento, para posterior distribuição e utilização. ⁽³⁰⁾

Armazenamento é onde a água tratada é armazenada em reservatórios com o objetivo de assegurar a continuidade do serviço de abastecimento, compensando as flutuações de consumo. ⁽³⁰⁾

Distribuição acontece quando a água tratada é distribuída aos utilizadores finais, utilizando uma rede constituída por ramais de ligação. ⁽³⁰⁾

Utilização ocorre quando o sistema de armazenamento de água tem como objetivo assegurar que os utilizadores deste serviço dispõem, nos locais de consumo e de forma contínua, de água com a qualidade e pressão adequadas. ⁽³⁰⁾

A ERSAR procede todos os anos à aprovação de programas de qualidade de águas que cada entidade gestora está obrigada a elaborar, controlando a fiabilidade dos resultados laboratoriais em coordenação com o IPAC, fiscalizando as entidades gestoras dos sistemas públicos de abastecimento para verificar se todos os requisitos da legislação são cumpridos.

O IPAC é o organismo nacional de acreditação requerido pelo regulamento (CE) n.º 765/2008, conforme detalhado na secção acreditação, estando estes serviços de acreditação descritos no Regulamento Geral de Acreditação (DRC001). ⁽³⁰⁾

A atividade da Acreditação consiste na avaliação e reconhecimento de competência técnica de entidades para efetuar atividades específicas de avaliação da conformidade, estando esta sujeita à legislação comunitária que obriga a um funcionamento harmonizado, verificado através de um sistema de avaliação pelos pares. ⁽³⁰⁾

A Acreditação permite essencialmente ganhar e transmitir confiança na execução de determinadas atividades técnicas, confirmando a existência de um certo nível de competência técnica, reconhecido internacionalmente. ⁽³⁰⁾

2.5. Periodicidade e controlo de análise à água destinada a consumo humano

O controlo de rotina tem como objetivo fornecer regularmente informações sobre a qualidade organolética e microbiológica da água destinada ao consumo humano, bem como sobre a eficácia dos tratamentos existentes, especialmente a desinfecção, tendo em vista determinar a conformidade da água com os valores paramétricos estabelecidos no DL 306/2007. ⁽³¹⁾

Parâmetros do controlo de rotina 1:

- Bactérias coliformes;
- *E. coli*;
- Desinfetante residual.

Parâmetros do controlo de rotina 2:

- Alumínio;
- Amónio ou azoto amoniacal (NH_4^+);
- Cheiro;
- Cor;
- Condutividade;
- *Clostridium perfringens*, incluindo esporos;
- pH;
- Ferro;
- Manganês;
- Nitratos;
- Nitritos;
- Número de colónias a 22 °C;
- Número de colónias a 37 °C;
- Oxidabilidade;
- *Pseudomona aeruginosa*;
- Sabor;
- Turvação.

O controlo de inspeção tem como objetivo obter as informações necessárias para verificar o cumprimento dos valores paramétricos do presente DL. Todos os parâmetros fixados de acordo com o artigo 6.º devem ser sujeitos ao controlo de inspeção, realizado de acordo com a tabela 2, com exceção dos casos em que a Direção-Geral da Saúde autorizar a sua não determinação, por um período por ela fixado, por entender que é improvável a presença desse parâmetro em concentrações que impliquem o incumprimento dos valores paramétricos. ⁽³¹⁾

Tabela 2 – Frequência mínima de amostragem e análise da água destinada para consumo humano fornecida por uma rede de distribuição ⁽³¹⁾

Tipo de controlo	Parâmetro	Volume de água fornecida na zona de abastecimento (metros cúbicos por dia)	Número de amostras por ano
Controlo de rotina 2	Al	<100	2
	Fe	> 1000	4 + 3 por cada 1000 m ³ /dia + 3 por fração remanescente do volume total.
	Mn		
Controlo de inspeção	Sb	≤ 1000	1
	As		
	B	> 1000 e ≤ 10000	1 + 1 por cada 3300 m ³ /dia + 1 por fração remanescente do volume total.
	Cd		
	Ca		
	Pb		
	Cu	> 10000 e ≤ 100000	3 + 1 por cada 10000 m ³ /dia + 1 por fração remanescente do volume total.
	Cr		
	Mg	> 100000	10 + 1 por cada 25000 m ³ /dia e fração remanescente do volume total.
	Hg		
	Ni		
	Se		
	Na		

2.6. Espectrometria de emissão ótica no plasma induzido (ICP-OES)

2.6.1. Enquadramento histórico

O termo espectrometria provém do latim *spectrum* (imagem) e do grego *skopéō* (observar), sendo este definido como a observação das interações entre a matéria e a radiação eletromagnética. ⁽³⁾

A espectrometria de emissão refere-se a fenómenos onde a matéria emite radiação eletromagnética. ⁽³⁾

Todo o conhecimento sobre emissão atómica tem já muitos e longos anos de história, ligada ao desenvolvimento do conhecimento científico sobre a natureza do átomo. ⁽³⁰⁾

Na antiguidade eram queimados sais que produziam alterações na coloração da chama, inexplicáveis na altura, mas para um dia ser possível compreender esse fenómeno era necessário aprofundar primeiro o próprio conhecimento da cor enquanto fenómeno característico da radiação (*Newton*, *Scheele* e *Herschel* contribuíram cientificamente e de maneira crucial neste campo). ⁽³⁾

Em 1776, Alessandro Volta realizou descargas elétricas em diversos gases, acabando por verificar assim que estas apresentam também diversas cores, tal como ocorreu nos sais queimados. ⁽³⁾

Mais tarde, *Fraunhofer* conseguiu esclarecer um pouco este fenómeno que continuava a iludir a comunidade, observando que o espectro de emissão solar, aparentemente contínuo, possuía faixas correspondentes a certos comprimentos de onda, onde não havia emissão de radiação. Devido a este acontecimento colocou-se então a hipótese de a emissão de radiação com determinado comprimento de onda ser uma característica dos átomos envolvidos. ⁽³⁾

Esta hipótese veio a ser confirmada por *Kirchhoff* e *Bunsen* e veio a ser utilizada também na identificação de quatro novos elementos, nomeadamente Cs, Rb, Ti e In. ⁽³⁾

O desenvolvimento dos modelos atómicos (*Rutherford* e *Bohr*) e a descoberta da natureza quantizada das orbitais eletrónicas (*Planck* e *Einstein*) levaram assim à determinação dos números quânticos e dos níveis de energia permitidos ao eletrão (equação de *Schrödinger* para o eletrão do átomo 1_H) e à obtenção do espectro de emissão atómica do hidrogénio. ⁽³⁾

Walsh, *Alkemade* e *Milatz* elaboraram em 1955, um método de análise elementar quantitativo com base na absorção de radiação por átomos ionizados numa chama, que viria a dar origem à técnica de análise espectroscópica por absorção atómica. ⁽³⁾

Em 1964, *Stanley Greenfield* usou um plasma induzido para a análise de radiação emitida por elementos contidos nesse plasma, originando assim a técnica de análise elementar ICP-OES, apresentando como principal vantagem, face à absorção atómica, a redução dos fenómenos de interferência espectrais e de matriz e a capacidade de ionização de elementos com elevadas energias de ionização. ⁽³⁾

As técnicas de emissão ótica baseiam-se na transição dos eletrões dos átomos para níveis de energia excitados e subsequentemente na libertação da energia sob a forma de radiação com o decaimento dos eletrões para níveis mais baixos de energia. Estas transições variam em cada elemento, pois cada um apresenta comprimentos de onda característicos e específicos e sinais dependentes do número de eletrões ionizados e das diferentes orbitais eletrónicas envolvidas, conferindo assim a elevada reprodutibilidade desta técnica. ⁽³⁾

Como consequência, todas estas técnicas FES (espectroscopia de emissão em chama), ICP e LIBS (Espectroscopia de desintegração por laser), necessitam de fontes de energia capazes de ionizar os átomos dos elementos quantificados, sendo esse o motivo da sua subdivisão consoante a sua fonte de energia. ⁽³⁾

2.6.2. ICP-OES

A SDWA – *Safe Drinking Water Act* – (última alteração em 1996) deu à EPA (Agência de Proteção Ambiental nos EUA – Estados Unidos da América) o poder de estabelecer e regular normas para a qualidade da água potável fornecida. ⁽³³⁾

O departamento de Água Subterrânea e Água Potável da EPA assegura esse controlo seguindo o Regulamento Federal 40 CFR parte 141. Este regulamento afirma que todas as águas de abastecimento devem cumprir os MCLs (máximos dos níveis contaminantes) para os contaminantes especificados nos NPDWRs (*National Primary Drinking Water Regulations*). Para outros contaminantes os valores máximos alvo correspondem aos valores presentes nos NSDWRs. ⁽³³⁾

O método ICP aprovado para a determinação de metais contaminantes para medições de conformidade é o Método 200.7, da EPA, *Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry*. ⁽³³⁾

O ICP Ótico é frequentemente utilizado para diversas medições, embora o limite de deteção exigido para algumas amostras seja problemático com esta técnica, nomeadamente para o antimónio, arsénio, chumbo, mercúrio e tálio. A maior parte destas amostras problemáticas tem sido frequentemente analisada em câmara de grafite, chama e/ou gerador de hidretos. O mercúrio é frequentemente determinado por espectrofotometria de absorção atómica usando a técnica do vapor a frio. Esta técnica produz um limite de deteção mais baixo do que o ICP, mas tem a desvantagem de permitir a determinação de apenas um único metal, enquanto o ICP determina vários metais ao mesmo tempo, e de ter também uma análise mais lenta por amostra. ⁽³³⁾

O ICP-OES é uma técnica analítica multielementar para a quantificação de oligoelementos (maioria metais) em amostras líquidas. A quantificação de metais por ICP-OES consiste na medição da radiação emitida pelos átomos dos elementos presentes na amostra, após estes serem excitados no plasma, por espectroscopia de emissão atômica no plasma. ⁽³⁴⁻³⁵⁾

Na câmara de nebulização, a amostra é nebulizada sob a forma de um aerossol e com o auxílio da bomba peristáltica e de um fluxo contínuo de gás inerte, é transportada para a tocha do equipamento onde se encontra o plasma. As partículas de maior dimensão são drenadas para o esgoto. O plasma forma-se quando se dá uma descarga elétrica de alta voltagem sobre um gás inerte (nesta tese utilizou-se o argon como gás inerte) através de um campo magnético alternado por radiofrequência e por uma descarga de energia exterior. A fonte de excitação, o plasma, ioniza o argon criando um equilíbrio entre os iões e eletrões, a uma temperatura de aproximadamente 9700 °C. Os iões de argon são capazes de absorver energia suficiente para manter a temperatura a um nível no qual as ionizações adicionais sustentam o plasma indefinidamente. ⁽³⁴⁻³⁵⁾

No plasma, os analitos de interesse são convertidos em átomos em fase gasosa em estado excitado ou iões. À medida que os átomos ou iões no estado excitado retornam ao seu estado fundamental, emitem energia em forma de luz, em comprimentos de onda que são característicos de cada elemento específico. A intensidade da energia emitida no comprimento de onda selecionado é proporcional à quantidade (concentração) desse elemento na amostra analisada. Assim, ao determinar quais os comprimentos de onda que são emitidos por uma amostra e suas respetivas intensidades, pode ser quantificada a composição elementar da amostra em relação a um padrão de referência. Para resultados precisos, a análise direta de ICP-OES deve ser conduzida apenas em matrizes aquosas relativamente limpas (por exemplo, águas subterrâneas pré-filtradas e águas de consumo humano). Outras amostras aquosas e/ou sólidas mais complexas necessitam de ser submetidas a um processo prévio de digestão ácida. ⁽³⁴⁻³⁵⁾

Os plasmas classificam-se de condutivos ou induzidos consoante o tipo de energia externa que lhes é fornecida. No caso do plasma induzido é utilizado um gerador de radiofrequência que cria campos eletromagnéticos oscilantes de elevada intensidade nos quais o argon flui. O feixe de radiação proveniente da tocha é do tipo heterocromático, pelo que é necessário decompô-lo nos seus vários constituintes, usando para tal, um sistema ótico complexo, assumindo uma maior relevância o monocromador ou rede de difração. A radiação proveniente do monocromador é então encaminhada para o detetor e convertida em sinais elétricos mensuráveis e controlados pelo *software* do equipamento. ⁽³⁴⁻³⁵⁾

O sistema ótico é composto por uma lente, uma fenda de entrada, um espelho, uma rede de alta resolução, um prisma e um detetor CID (dispositivo de injeção de carga).⁽³⁵⁾

Nas figuras 2 e 3 encontram-se um esquema de funcionamento de um espectrómetro ICP-OES e outro esquema com todos os passos envolvidos na análise de amostras aquosas por ICP-OES, respetivamente.

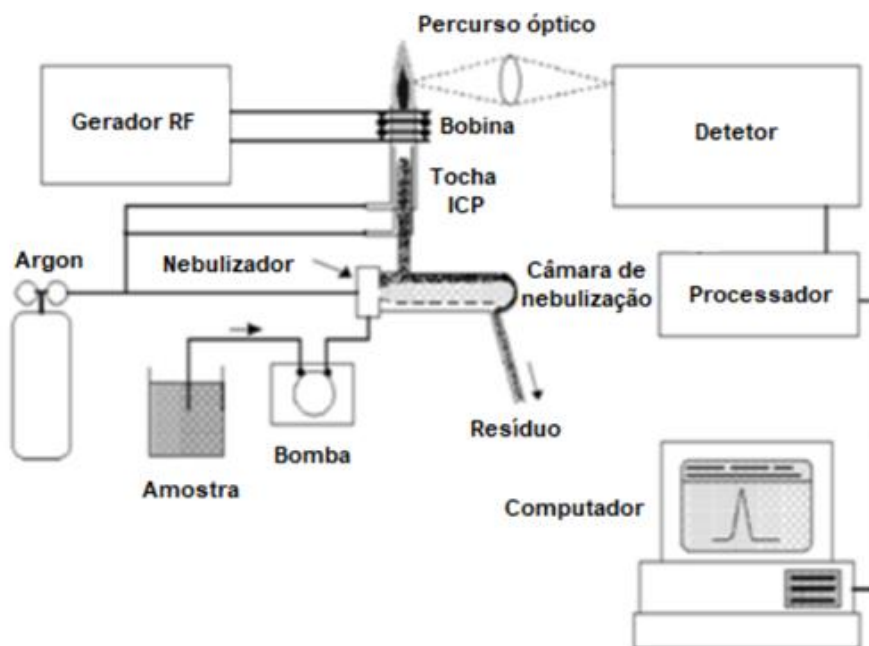


Figura 2 – Esquema de funcionamento de um espectrómetro ICP-OES.⁽³⁷⁾

1. Preparação da amostra - Algumas amostras requerem uma preparação especial, nomeadamente tratamento com ácido, aquecimento ou digestão.

2. Nebulização - A amostra é convertida em aerossol.

3. Volatiza  o - A  gua é removida e as porções sólidas e/ou líquidas restantes, são convertidas em gases.

4. Atomização - As ligações da fase gasosa são quebradas e apenas os átomos estão presentes. A temperatura do plasma e o ambiente químico são importantes nesta fase.

5. Excitação/ Emissão - Os átomos ganham energia das colisões e emitem comprimentos de onda específicos.

6. Separação/ Detecção - A luz dos comprimentos de onda é dispersa e por fim medida quantitativamente.

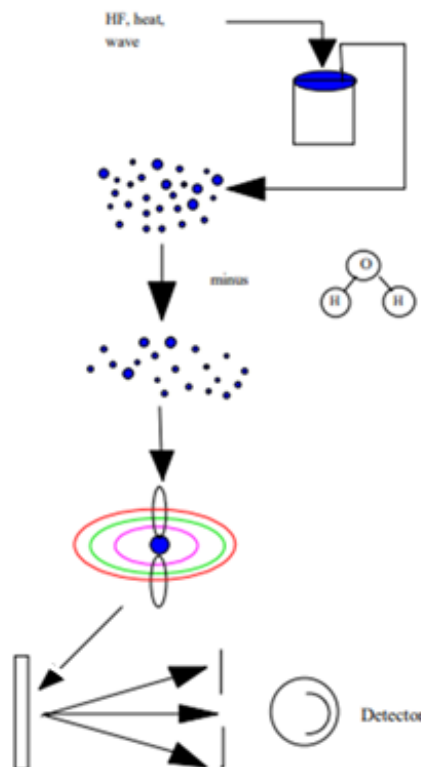


Figura 3 – Etapas necessárias para análise de amostras aquosas por ICP-OES.⁽³⁵⁾

2.6.3. Interferências

Vários tipos de interferências podem contribuir para a obtenção de resultados incorretos. Algumas dessas interferências são enumeradas de seguida, as quais devem ser prevenidas ou minimizadas.⁽³⁴⁻³⁶⁾

2.6.3.1. Interferências espectrais

Interferências causadas por outros elementos presentes na matriz:

- Sobreposição de duas linhas espectrais de elementos diferentes (o objetivo é evitar a sobreposição de linhas pela escolha de uma linha alternativa imperturbável);
- Sobreposição de bandas moleculares (o objetivo é escolher uma linha alternativa imperturbável);
- Ruído de fundo devido a fen menos de recombinação e a fen menos de dispersão provenientes da presença de elementos em elevadas concentrações (os efeitos de ruído de fundo conseguem ser normalmente compensados pela correção de *background*).

Pode-se evitar este tipo de interferências, através da correção da linha de base (*background*) recorrendo às correções disponíveis no *software*, e ainda através da leitura de mais do que um comprimento de onda para o mesmo elemento, comparando os resultados obtidos para a mesma amostra. ⁽³⁴⁻³⁵⁾

Estas interferências podem ser detetadas pela comparação de espectros das amostras com espectros das soluções monoelementares, de brancos e padrões de controlo.

Aquando do início do estudo de um novo elemento, devem ser seleccionados em primeira instância os comprimentos de onda recomendados nas normas de referência (ISO 11885:2007, EPA 200.7, EPA – Method 6010D no caso das águas). Poderão também ser seleccionados outros comprimentos de onda sugeridos pelo *software* do equipamento. Considera-se prioritário usar, sempre que possível, mais do que um comprimento de onda para cada gama de trabalho. Isso permitirá verificar a existência de interferências nas amostras quando as linhas espectrais não quantificarem com resultados semelhantes entre si. ⁽³⁴⁻³⁵⁾

A viabilidade de uma linha espectral para quantificar um determinado elemento está dependente (para além da teoria espectral e das condições analíticas) de uma verificação visual dos espectros produzidos para os padrões de calibração e para as matrizes/tipos de produtos reais (não devem possuir uma forma irregular, não devem existir picos sobrepostos, não devem estar situados na terminação nem no início de picos secundários). ⁽³⁴⁾

Deverá ser seleccionada a linha que tenha um melhor compromisso entre exatidão, sensibilidade e especificidade. ⁽³⁴⁻³⁶⁾

Devem ser seleccionadas as linhas em que:

- não existam picos de elementos interferentes;
- existam outros interferentes, mas que estes tenham reduzida probabilidade de ocorrência nas matrizes em causa. ⁽³⁵⁾

A existirem interferentes com probabilidade de ocorrência nas matrizes em causa, as intensidades relativas de emissão em relação à intensidade do elemento em causa, para a mesma concentração, seja inferior a 1%. ⁽³⁶⁾

2.6.3.2. Interferências físicas

Este tipo de interferências está geralmente associado ao processo de nebulização e transporte da amostra. ⁽³⁴⁻³⁶⁾

Características tais como a viscosidade da amostra e a tensão superficial têm importância na exatidão dos resultados. Para diminuir este tipo de interferência é aconselhável usar uma bomba peristáltica, proceder à diluição da amostra ou recorrer à técnica de adição de padrão. ⁽³⁴⁻³⁶⁾

A deposição de sais no capilar do nebulizador e no corpo da tocha, é outro problema a controlar. Para tal é conveniente diluir as amostras de elevado teor salino ou com elevada concentração de sólidos dissolvidos. ⁽³⁴⁻³⁶⁾

2.6.3.3. Interferências químicas

As interferências químicas são devidas à formação de compostos, efeitos de ionização e vaporização do soluto. Não são, todavia, interferências muito significativas em ICP e, se observadas, podem ser minimizadas através da seleção das condições analíticas (potência do gerador e fluxos de argon aplicados), tamponização da amostra e técnica de adição de padrão. ⁽³⁵⁾

As interferências não espectrais podem ser detetadas através de ensaios de recuperação. ⁽³⁴⁻³⁶⁾

Como exemplos, a Prata tem fraca recuperação quando em presença de cloretos e o Bário fica pouco tempo em solução quando na presença de sulfatos. Os elementos alcalinos (Li, Na, K, Rb, Cs, Fr) podem fazer supressão iónica, conduzindo a erros por défice. ⁽³⁵⁾

2.6.3.4. Interferências de memória

As interferências de memória ocorrem quando os analitos da amostra anterior contribuem para os sinais medidos na amostra seguinte. Os efeitos de memória podem resultar da deposição da amostra no circuito de introdução de amostra para o nebulizador, câmara de nebulização e plasma. Os efeitos podem ser minimizados fazendo um *flushing* (lavagem) de duração apropriada com branco de reagentes entre amostras. A duração do *flushing* pode ser determinada através da análise de um padrão com vários elementos de concentração aproximadamente de 10 vezes a encontrada nas amostras. O tempo de aspiração deve ser o mesmo do determinado para as amostras. Um tempo de lavagem de 60 segundos é, normalmente, suficiente. ⁽³⁵⁻³⁶⁾

2.6.3.5. Interferências de excitação

Dependendo da relação da temperatura da sala com a temperatura do plasma, a alteração da temperatura do plasma devido à introdução da amostra pode provocar um aumento ou diminuição do sinal. Em adição, elementos que facilmente libertam eletrões podem alterar a densidade dos eletrões no plasma, que podem influenciar a distribuição entre transições atómicas e iónicas. Metais alcalinos (Li, K, Na) são altamente suscetíveis a interferências de excitação, particularmente na visualização axial. ⁽³⁵⁾

As interferências não espectrais podem ser detetadas por diluição ou adição de padrão.

2.7. Validação de métodos

O estudo de validação tem como objetivo garantir que o método possui as características de desempenho necessárias à satisfação dos requisitos previamente definidos para essa determinação. Assim, após determinação experimental das características do método, deve ser feita a verificação do cumprimento desses requisitos com vista à emissão da declaração de validade. ⁽³⁸⁾

A validação dos métodos deve ser adaptada a cada caso perante o tipo de metodologia em questão, conhecimento do método, da sua origem (método normalizado, método desenvolvido pelo laboratório) e das alterações eventualmente efetuadas em relação ao método de referência. ⁽³⁸⁾

Genericamente, a validação envolve as seguintes avaliações:

- Definição dos produtos/matrizes a incluir no âmbito do método analítico;
- Interferências e fontes de erro de modo a delinear a sua aplicabilidade (seletividade);
- Otimização de condições operatórias/robustez para permitir a sua otimização;
- Gama de trabalho/linearidade e limites analíticos (Limite de Detecção e Limite de Quantificação);
- Critérios de desempenho: exatidão/justeza, repetibilidade, precisão intermédia, sensibilidade e incerteza;
- Validação do *software* do equipamento, quando aplicável;
- Estudo de fiabilidade das diluições efetuadas de modo automático – definição da diluição máxima, quando aplicável. ⁽³⁸⁻³⁹⁾

Com base nas avaliações é, ainda, possível estimar-se a incerteza da medição associada ao ensaio em estudo e respetiva declaração de conformidade do método.

2.7.1. Produtos e matrizes

Consoante a aplicabilidade do método, devem ser efetuados estudos de validação diferenciados para os seguintes produtos/matrizes: Águas de consumo humano; Águas naturais; Águas de processo; Águas residuais; Lixiviados e Eluatos. ⁽⁴⁰⁾

Alguns pontos do processo de validação, poderão ser comuns aos diversos tipos de matrizes (gama de trabalho, precisão intermédia), no entanto, a determinação do critério de aceitação de duplicados e exatidão (ensaio de recuperação e ensaios interlaboratoriais) devem ser alvo de estudos diferenciados. ⁽³⁸⁻⁴⁰⁾

Existem produtos/matrizes que pelas suas características serem semelhantes, os diversos estudos poderão ser os mesmos, no entanto, as condições de aplicabilidade (limites analíticos, precisão, exatidão, incerteza) podem ser diferentes, dependendo da legislação aplicável. ⁽³⁸⁻⁴⁰⁾

2.7.2. Seletividade

A seletividade indica a capacidade do método de distinguir um analito em particular numa mistura complexa sem interferência dos outros componentes. O estudo desta característica torna-se particularmente importante quando se trabalha com matrizes complexas como no caso das águas residuais. ⁽³⁸⁻⁴⁰⁾

Deve ser feita uma avaliação da aplicabilidade do método em causa, tendo em conta as características físico-químicas dos produtos/matrizes, de modo a tentar minimizar ao máximo a influência de interferentes com expressão significativa dos resultados obtidos. Esta avaliação deve ser feita considerando os interferentes conhecidos na técnica analítica em questão e a avaliação da probabilidade de ocorrência desses interferentes em determinado produto/matriz e o impacto no caso de estarem presentes. ⁽³⁸⁻⁴⁰⁾

Para a avaliação da seletividade recorre-se a ensaios de recuperação (ER), que consistem na adição de uma determinada quantidade de padrão e verificação da percentagem de recuperação do padrão adicionado. Idealmente, a adição do padrão deve corresponder a uma diluição da amostra inferior a 1%, podendo ir até uma diluição de 5%. ^(38-40; 44)

Devem ser efetuados, no mínimo, 8 ensaios de recuperação em cada matriz, em várias gamas de concentração do analito. ^(38-39; 43)

De seguida apresenta-se a fórmula de cálculo (Equação 1) do ensaio de recuperação, quando a diluição é inferior a 1% ou quando o processo inclui digestão, concentração ou retoma. ^(38-39;44)

$$\% \text{Recuperação} = \frac{C_{ap} - C_a}{C_p} \times 100$$

Equação 1 – Fórmula de cálculo do ensaio de recuperação quando a diluição é inferior a 1% ou quando o processo inclui digestão, concentração ou retoma, em que: C_a é a concentração obtida na amostra; C_{ap} é concentração obtida no ensaio com amostra+padrão e C_p é a concentração da solução padrão na solução final. ⁽⁴⁴⁾

De seguida é apresentada a fórmula de cálculo (Equação 2) do ensaio de recuperação, quando a diluição se encontra entre 1 e 5%. ^(38-39; 44)

$$\% \text{Recuperação} = \frac{C_{ap} \times (V_p + V_a) - C_a \times V_a}{C_p \times V_p} \times 100$$

Equação 2 – Fórmula de cálculo do ensaio de recuperação quando a diluição se encontra entre 1 e 5%, em que C_a é a concentração obtida na amostra; C_{ap} é a concentração obtida no ensaio com amostra+padrão; C_p é a concentração da solução padrão adicionada; V_a é o volume da amostra no ensaio de recuperação e V_p é o volume de padrão adicionado à amostra no ER. ⁽⁴⁴⁾

2.7.3. Otimização das condições operatórias

No caso de análise instrumental, devem ser seguidas as indicações dos manuais de operação dos equipamentos com vista à otimização das condições operatórias, com um compromisso entre o aumento da sensibilidade e a diminuição de interferentes. ⁽³⁸⁻³⁹⁾

2.7.4. Definição da gama de trabalho

O estudo da gama de trabalho consiste na determinação da gama de concentrações do analito em que a resposta do método tem um desempenho analítico semelhante. ⁽³⁸⁻³⁹⁾

A gama de trabalho pode ser previamente estabelecida com base nos resultados esperados para o analito na matriz em causa e considerando a legislação aplicável.

Para o caso de métodos que recorrem a retas de calibração (curvas de 1º grau – sinal instrumental/concentração), o estudo da gama de trabalho consiste na análise da linearidade, teste de homogeneidade de variâncias e determinação do Limite de Quantificação. ⁽³⁸⁻⁴⁰⁾

2.7.5. Verificação da linearidade – Curvas de calibração

A verificação da linearidade consiste na realização de 5 curvas de calibração em datas distintas, determinando para cada uma, o coeficiente de correlação e avaliando a linearidade por observação do gráfico. ⁽³⁸⁾

Cada curva de calibração deve ser construída com 5 pontos de calibração (podendo incluir o branco), representando-se os valores da concentração em abcissas e os valores de absorvância em ordenadas. Os padrões de calibração devem distribuir-se equitativamente pela gama de trabalho. O primeiro ponto corresponde normalmente ao branco e o segundo ao limite de quantificação. ⁽³⁸⁾

O coeficiente de correlação, não sendo, por si só, indicativo da linearidade de uma curva, quando utilizado em conjunto com o traçado gráfico, permite concluir relativamente à linearidade. O coeficiente de correlação deve ter valores muito próximos de 1 (lei de Lambert-Beer), iguais ou superiores a 0,999. ^(38; 41-43)

Adicionalmente, pode estudar-se a linearidade através do Teste de Mandel, análise dos residuais e homogeneidade de variâncias. ⁽⁴¹⁻⁴³⁾

2.7.5.1. Estabilidade das curvas de calibração

A sensibilidade avalia a capacidade do método para distinguir pequenas diferenças de concentração do analito sendo definida como a derivada de 1ª ordem da curva de calibração nessa zona de concentração. ⁽⁴⁴⁾

Com vista a determinar se a resposta do método é estável ao longo do tempo, nomeadamente ao nível da sensibilidade, é necessário garantir que o declive da curva de calibração se mantém. ⁽⁴⁴⁾

Com os resultados obtidos nas últimas $n=5$ (mínimo) curvas de calibração, calcular o valor médio e o desvio padrão (s) do declive. ⁽⁴⁴⁾

Critério de aceitação dos declives (o critério poderá ser outro, no entanto o mais comum é o apresentado seguidamente):

Limite superior: declive médio + 2s

Limite inferior: declive médio - 2s

A curva de calibração é válida durante o período em que os declives obtidos cumprem o critério de aceitação anteriormente definido e o CV (coeficiente de variação) não ultrapassa 5%.⁽³⁸⁾

2.7.5.2. Teste de Mandel ou Teste de Fisher/Snedecor

A linearidade pode ser avaliada através de um modo estatístico, de acordo com a norma ISO 8466-1, pelo teste de *Fisher/Snedecor* ou teste de *Mandel*.⁽⁴¹⁾

A partir do conjunto de resultados (pares ordenados) obtidos (sinal instrumental vs. concentração), calcular a função de calibração linear (ISO 8466-1) e a função de calibração não-linear (ISO 8466-2), bem como os respetivos desvios padrão residuais, S_y / x e S_y^2 .⁽⁴¹⁻⁴³⁾

Calcular a diferença de variâncias (DS^2) e obter o valor teste, VT .⁽⁴¹⁻⁴²⁾

O valor teste (VT) é comparado com o valor tabelado da distribuição F de *Fisher/Snedecor*, para um grau de confiança de 95%.⁽⁴¹⁻⁴³⁾

Critérios de decisão:

- a) Se $VT \leq F$: a função de calibração polinomial não conduz a um ajustamento significativamente melhor e, por isso, a função de calibração é linear.⁽⁴¹⁻⁴³⁾
- b) Se $VT > F$: a função de calibração é não linear e por isso a gama de trabalho deve ser reduzida tanto quanto possível de forma a cumprir a alternativa a). Caso não seja possível, deverá ser utilizada uma função de calibração não linear.⁽⁴¹⁻⁴³⁾

2.7.5.3. Teste de Homogeneidade de Variâncias

Para verificar a existência de desvios significativos nos limites da gama de trabalho, é aplicado o teste da homogeneidade de variâncias:

- Efetuar dez repetições da leitura do padrão de concentração mais baixa (x_b);

- Efetuar dez repetições da leitura do padrão de concentração mais elevada (x_a);
- Obtêm-se, para cada série de medidas, 10 valores de absorvância (y_i);
- Calcular a variância para cada uma das concentrações através da equação 3:

$$S^2 = \frac{\sum (y_{\text{médio}} - y)^2}{n}$$

Equação 3 – Fórmula de cálculo da variância. ⁽⁴¹⁾

- Aplicar o teste de F às variâncias, determinando o valor de PG a partir das equações 4 e 5:

$$PG = \frac{S_b^2}{S_a^2}$$

Equação 4 – Cálculo de PG quando $S_b^2 > S_a^2$ em que PG representa o valor observado entre a razão da variância do padrão de concentração mais baixa (S_b) em função da variância relativa ao padrão de concentração mais elevada (S_a) ⁽⁴¹⁾

$$PG = \frac{S_a^2}{S_b^2}$$

Equação 5 – Cálculo de PG quando $S_a^2 > S_b^2$. ⁽⁴¹⁾

- Comparar o valor PG com o valor tabelado da distribuição F de *Snedecor/Fisher* para n-1 graus de liberdade para 99% de confiança ($\alpha = 0,01$ ou 1%).

Obtendo-se o valor de PG é possível concluir-se que:

- Se $PG < F_{\text{tabelado}}$: diferenças de variâncias não significativas – gama de trabalho bem ajustada;
- Se $PG > F_{\text{tabelado}}$: diferenças de variâncias significativas – reduzir gama de trabalho até que $PG < F_{\text{tabelado}}$. ⁽⁴¹⁻⁴³⁾

2.7.5.4. Teste de resíduos

Para se determinar o teste de resíduos é necessário proceder-se às seguintes etapas:

- Calcular os valores das concentrações a partir da equação da reta obtida pelo método dos mínimos quadrados;

- Calcular o quociente das concentrações a partir da equação da reta obtida pelo método dos mínimos quadrados pela concentração verdadeira. Traçar o gráfico e analisá-lo. Se os pontos se distribuírem aleatoriamente e com um desvio inferior a 95% em relação ao valor 1, a gama de trabalho tem um comportamento linear. ⁽⁴¹⁻⁴²⁾

O estudo de resíduos também pode ser feito a partir do quociente entre o sinal experimental e o sinal estimado a partir da equação da reta. Os critérios de avaliação são os mesmos. ⁽⁴¹⁻⁴²⁾

2.7.5.5. Limiares Analíticos

Os limiares analíticos em estudo são o Limite de Detecção (LD) e o Limite de Quantificação (LQ).

O LD corresponde ao início da gama de concentração em que é possível distinguir, com uma dada confiança, o sinal do branco do sinal da amostra, indicando se o analito em questão está presente ou ausente. Assume-se que LD é igual a um terço do LQ. ^(38-39; 42-44)

O LQ é a mais pequena concentração do analito que produz um sinal suficientemente acima do ensaio em branco, a partir da qual é possível a sua quantificação em análises de rotina. Corresponde ao início da gama de concentração em que o coeficiente de variação (incerteza relativa) do sinal se reduziu a valores razoáveis (normalmente 10%) para se poder efetuar uma análise quantitativa. Na prática, o LQ determina o valor a partir do qual se podem reportar valores numéricos. ^(38-39; 42-44)

Este limite tem como valor dez vezes o desvio padrão de um ensaio em branco ou de uma amostra com concentração muito pequena. ^(38-39; 42-44)

2.7.5.6. Cálculo dos limites de deteção e quantificação

Para se calcular os LD e LQ seguem-se três abordagens distintas, apresentadas de seguida. ^(38-39; 44)

- a) Analisar pelo menos dez vezes, em condições de precisão intermédia e de acordo com o método em causa, um ensaio em branco ou um analito de concentração baixa. ^(38-39; 44)

Calcular o desvio padrão, S_0 , associado aos resultados. Desta forma obtêm-se as equações 6 e 7 que nos permitem calcular o LD e LQ, respetivamente. ^(38-39; 44)

$$LD = X_0 + 3,3 S_0$$

Equação 6 – Fórmula de cálculo do LD com base na abordagem a), sendo que X_0 é o valor médio do branco ou do analito de concentração muito baixa. (38-39; 44)

$$LQ = X_0 + 10 S_0$$

Equação 7 – Fórmula de cálculo do LQ com base na abordagem a), sendo que X_0 é o valor médio do branco ou do analito de concentração muito baixa. (38-39; 44)

- b) Analisar pelo menos dez vezes, em condições de precisão intermédia e de acordo com o método em causa, um padrão de controlo na gama de trabalho. (38-39; 44)

Calcular o desvio padrão, S_0 , associado aos resultados, tornando possível calcularem-se o LD e LQ, respetivamente, através das equações 8 e 9. (38-39; 44)

$$LD = 5 \times S_0$$

Equação 8 – Fórmula de cálculo do LD com base na abordagem b). (38-39; 44)

$$LQ = 3 \times LD$$

Equação 9 – Fórmula de cálculo do LQ com base na abordagem b). (38-39; 44)

- c) Nos casos em que se utiliza uma calibração linear, o limite de quantificação também pode ser estimado a partir da estatística dos mínimos quadráticos, admitindo-se que o desvio padrão da estimativa ($S_{y/x}$ – equação 10) representa o desvio padrão do branco e interpolando o correspondente valor, em concentração obtêm-se as equações 11 e 12 para o cálculo do LD e LQ, respetivamente. (38-39; 44)

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_{teórico} - y_{exp})^2}{n-2}}$$

Equação 10 – Fórmula de cálculo do $S_{y/x}$. (38-39; 44)

$$LD = (3,3 \times S_{y/x}) / \text{declive}$$

Equação 11 – Fórmula de cálculo do LD com base na abordagem c). (38-39; 44)

$$LQ = (10 \times S_{y/x}) / \text{declive}$$

Equação 12 – Fórmula de cálculo do LQ com base na abordagem c). ^(38-39; 44)

Para este método poder ser aplicado terá de haver homogeneidade de variâncias na gama de trabalho e linearidade até à origem. ^(38-39; 44)

No caso de existir legislação específica para cálculo dos limites de deteção ou quantificação, deverão ser usados os métodos aí mencionados. ⁽³⁹⁾

O valor determinado para o LQ deverá ser periodicamente confirmado experimentalmente, pela análise de materiais de referência com valores próximos do LQ. ⁽³⁹⁾

2.7.5.7. Ensaios em branco

Um ensaio em branco é um ensaio onde a amostra é substituída por água destilada (ou ultra-pura, consoante o definido no procedimento de ensaio), isenta do analito em questão. Permite detetar contaminações no material ou reagentes. ^(38; 45)

Quando as amostras são filtradas, deverá ser ainda realizado um branco de filtração, analisando a água destilada/ultra-pura filtrada do mesmo modo que as amostras. ^(38; 45)

O ensaio em branco deve ser realizado no mesmo local e nas mesmas condições de preparação das amostras e padrões. Caso a análise envolva um processo de digestão, o branco deverá também passar por esse processo. ^(38; 45)

Os critérios de aceitação encontram-se definidos nos procedimentos de ensaio respetivos. Em análises instrumentais o branco deverá ter um sinal 30% abaixo do sinal do limite de quantificação. ^(38; 45)

2.7.6. Precisão

A precisão pode ser definida como sendo o grau de variação de resultados de uma medição. Esta pode ser avaliada através da repetibilidade, do estudo de duplicados e da precisão intermédia. ⁽³⁸⁻⁴⁰⁾

Para se efetuar o cálculo da estimativa da incerteza com base no controlo de qualidade interno (abordagem aplicada neste documento) considera-se a incerteza associada à componente da precisão ($U_{\text{precisão}}$) igual à raiz quadrada da soma dos quadrados dos resultados obtidos pelas equações 15 e 17, apresentadas nos pontos 2.7.6.2. e 2.7.7. do presente documento.

2.7.6.1. Repetibilidade e cálculo do limite de repetibilidade

A repetibilidade (R) exprime a precisão de um método de ensaio efetuado em condições idênticas: mesmo laboratório, mesmo analista, mesmo equipamento, mesmo tipo de reagentes, mesma data. Para um nível de 95% de confiança, o limite de repetibilidade é calculado através da equação 13. ⁽³⁸⁾

$$R = 2,8 \times S$$

Equação 13 – Fórmula de cálculo da repetibilidade, sendo S o desvio padrão dos resultados de n (mínimo 10) medições de uma mesma amostra ou padrão nas condições acima definidas. ⁽³⁸⁾

A repetibilidade geralmente consiste em analisar 10 vezes o Padrão de Controlo (PC) ao nível do LQ, 10 vezes um PC que represente as amostras tipo ou até mesmo na análise de 10 vezes a mesma amostra contendo analito em quantidade quantificável. ^(38; 44)

2.7.6.2. Estudo de duplicados

Para cada um dos produtos/matrizes, compilar um mínimo de 8 resultados em duplicado. Caso as amostras sejam, recorrentemente, não quantificáveis, efetuar os duplicados por recurso a amostras fortificadas. ^(38; 44)

Deve-se tentar que os ensaios de duplicados cubram a gama de trabalho definida.

Para se avaliar a amplitude (diferença) relativa (A_r) entre cada par de resultados utiliza-se a equação 14. ^(38;44)

$$A_r = [(x_1 - x_2) / \text{média}(x_1, x_2)] \times 100$$

Equação 14 – Fórmula de cálculo da amplitude relativa. ^(38; 44)

De seguida calcula-se a amplitude relativa média ($A_{r(\text{médio})}$) dos duplicados efetuados, calcula-se o desvio padrão e aplica-se a equação 15 para se determinar o desvio padrão relativo (DPR) que é equivalente ao coeficiente de variação. ^(38;44)

$$\text{DPR} = \text{CV}(\%) = A_{r(\text{médio})} / 1,128$$

Equação 15 – Fórmula de cálculo do DPR. ^(38; 44)

2.7.7. Precisão intermédia

A precisão intermédia refere-se à precisão avaliada sobre uma mesma amostra, padrão ou amostras semelhantes, utilizando o mesmo método, no mesmo laboratório, mas definindo quais as condições a variar (diferentes datas, diferentes analistas, diferentes equipamentos).

(38;44)

Efetuar n (idealmente 15, mas mínimo de 8) medições sobre a amostra em datas diferentes (ou variando uma das outras condições). Eliminar os valores aberrantes e calcular o desvio padrão da precisão intermédia (equivalente à percentagem do coeficiente de variação – CV) e a estimativa da precisão intermédia de acordo com as equações 16 e 17. ⁽³⁸⁾

$$S_i () = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^n (y_k - \bar{y})^2}{n-1}}$$

Equação 16 – Cálculo do desvio padrão da precisão intermédia $S_i ()$, em que o símbolo relativo às condições intermédias de precisão aparecem entre parêntesis, isto é: $S_i (d,d)$ - dias diferentes; y_k é o resultado individual obtido e n é o número de ensaios. ⁽³⁸⁾

$$S_{\text{prec}} (\text{DPR}) = \text{CV}(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$

Equação 17 – Cálculo da estimativa da precisão intermédia, em que $\bar{x}$ é o valor médio das medições e s é o desvio padrão das medições. ⁽³⁸⁾

Desta forma calcula-se a Precisão (%), sendo esta duas vezes o CV (%). ^(38-40; 44)

2.7.8. Exatidão

A exatidão é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor aceite como verdadeiro. A exatidão é afetada por erros sistemáticos. Os erros sistemáticos influenciam o valor da média. ⁽³⁸⁾

O erro sistemático corresponde a um erro que assume sempre a mesma direção (positivo ou negativo) e, portanto, provoca um desvio da média em relação ao valor convencionalmente exato da grandeza que está a ser medida. ⁽³⁸⁾

Alguns exemplos das principais fontes de erro sistemático são, por exemplo, a concentração atribuída aos materiais de referência, deterioração de reagentes, reagentes mal preparados, erros sistemáticos de pipetagem, modificação da temperatura de incubadoras ou blocos de reação e mudança de analista. ^(38;44)

Pode-se avaliar a exatidão de um método, utilizando um ou vários dos seguintes processos:

- Análise de Materiais de Referência Certificados (MRC);
- Participação em ensaios interlaboratoriais;
- Testes comparativos. ⁽³⁸⁾

2.7.9. Materiais de Referência Certificados

Analisando materiais de referência e comparando o valor obtido com o valor certificado, calculando o z-score (equação 18) é possível avaliar o desempenho.

$$Z\text{-score} = \frac{(X_{lab} - X_v)}{S}$$

Equação 18 – Fórmula de cálculo do Z-score, sendo que X_{lab} é o valor obtido; X_v é o valor aceite como verdadeiro; S é a unidade de desvio, que pode ser a incerteza do MRC ou a outra unidade de desvio inerente ao método. ⁽³⁸⁾

Com base no valor obtido da equação 18 pode-se avaliar o desempenho como satisfatório se $-2 \leq Z \leq 2$, como questionável se $2 < |Z| \leq 3$ e como não satisfatório se $|Z| > 3$.

Para determinar o erro normalizado (En), caso tenha sido calculada previamente a incerteza do resultado obtido, utiliza-se a equação 19.

$$En = \frac{(X_{lab} - X_v)}{\sqrt{U_{lab}^2 + U_{ref}^2}}$$

Equação 19 – Fórmula de cálculo do erro normalizado, em que U_{ref} é a incerteza associada ao valor verdadeiro; U_{lab} é a incerteza associada ao resultado obtido. ⁽³⁸⁾

Este cálculo tem como objetivo perceber se a incerteza calculada pelo laboratório está ou não bem estimada. Considera-se que a incerteza do laboratório está bem estimada quando $|En| \leq 1$. ⁽³⁸⁾

É importante ter em conta que é conveniente analisar os MRC em 6 datas diferentes. ⁽³⁸⁾

Os MRC podem ser adquiridos em entidades acreditadas pela ISO 17034, alguns exemplos são:

- IRMM – *Institute for Reference Materials and Measurements*;
- NIST – *National Institute of Standard and Technology* dos E.U.A.;
- *US Geological Survey* dos E.U.A.;
- *US Environmental Protection Agency* dos E.U.A.;
- *National Research Council* do Canadá. ⁽⁴⁰⁾

2.7.10. Participação em Ensaios de Aptidão

A avaliação do desempenho é feita pela entidade organizadora, mas em geral é aplicada a fórmula apresentada na equação 20.

$$Z\text{-score} = \frac{(X_{lab} - X_v)}{S}$$

Equação 20 – Fórmula de cálculo utilizada para a avaliação do Z-score obtido em ensaios de aptidão, em que X_{lab} é o valor obtido pelo laboratório; X_v é o valor de referência (normalmente a média dos participantes) e S é desvio padrão de todos os laboratórios participantes. ⁽³⁸⁾

À semelhança do que acontece com a avaliação do Z-score obtido para a análise de MRC, com base no valor obtido da equação 18, pode-se avaliar o desempenho como satisfatório se $-2 \leq Z \leq 2$, como questionável se $2 < |Z| \leq 3$ e como não satisfatório se $|Z| > 3$. ^(38;44)

Para conhecimento da disponibilidade de ensaios interlaboratoriais, respetivos parâmetros, entidades organizadoras e tipo de matrizes, consultar, na internet, a base de dados EPTIS. ⁽³²⁾

2.7.11. Ensaios de recuperação

A exatidão também pode ser quantificada através dos resultados de ensaios de recuperação através do BIAS (%) – equação 21. ⁽³⁸⁾

$$\text{BIAS (\%)} = \frac{\overline{x_{ER}} - 100}{100} \times 100$$

Equação 21 – Cálculo do BIAS (%) através de ER, sendo $\overline{x_{ER}}$ a média da percentagem dos ensaios de recuperação. ⁽³⁸⁾

Para se efetuar o cálculo da estimativa da incerteza com base no controlo de qualidade interno (abordagem aplicada neste documento) considera-se a incerteza associada à componente da exatidão ($U_{\text{exatidão}}$) igual ao valor de BIAS (%) calculado pela equação 21.

2.7.12. Estimativa da incerteza

A quantificação da incerteza da medição expandida (U_c) é realizada através de uma das seguintes abordagens:

- abordagem “passo a passo”;
- abordagem baseada em ensaios interlaboratoriais, no que se refere à componente da exatidão/justeza;
- abordagem baseada em dados do controlo da qualidade interno do método analítico (equação 22). ⁽⁴⁴⁾

$$U_c = 2 \times (\sqrt{U_{\text{precisão}}^2 + U_{\text{exatidão}}^2})$$

Equação 22 – Cálculo da estimativa da incerteza combinada, com base na incerteza associada à precisão e à exatidão.

2.7.13. Validação do *software* do equipamento

O *software* deverá ter sido validado pelo fornecedor do equipamento, atestado através de um certificado. Paralelamente, deverão ser verificados os cálculos para realização da curva de calibração (r^2 , declive e ordenada na origem) e se as interpolações realizadas são equivalentes aos valores obtidos no Microsoft Excel. Considera-se como valores equivalentes, os valores que não apresentem desvios entre si, que afetem as casas decimais com que são expressos. ⁽³⁹⁾

2.7.14. Estudo da fiabilidade das diluições efetuados de modo automático

Sempre que o equipamento tenha a capacidade para efetuar curvas de calibração, deve ser testada a diluição máxima que o equipamento poderá realizar, tendo em conta os erros associados. Para além disso, deve ser verificada a fiabilidade da curva realizada pelo próprio equipamento. ^(40; 45)

2.7.15. Definição da diluição máxima realizada pelo equipamento

Deve efetuar-se a leitura de um padrão (mínimo 3 leituras) com teores superiores ao extremo da curva de calibração de modo a que o equipamento efetue uma diluição automática. Comparar com a leitura do mesmo padrão diluído manualmente com recurso a material volumétrico ou micropipetas calibradas. ^(40; 45)

Considera-se como valores equivalentes, os valores que não apresentem desvios entre si, superiores aos critérios de aceitação de duplicados. ⁽⁴⁰⁾

2.7.16. Verificação da fiabilidade da curva de calibração preparada pelo próprio equipamento

Comparar a curva de calibração obtida com os vários níveis de calibração preparados pelo próprio equipamento com a curva de calibração obtida pela análise dos vários níveis de calibração preparados pelo analista, com recurso a material volumétrico ou micropipetas calibradas. ^(40;45)

Verificar a equivalência dos parâmetros da reta (coeficiente de correlação, declive e ordenada na origem) da curva preparada pelo equipamento e da curva obtida a partir dos vários níveis de calibração preparados pelo analista. Considera-se como equivalentes, cujas interpolações não apresentem desvios entre si, que afetem as casas decimais com que são expressos os resultados. ^(40;45)

2.7.17. Declaração de conformidade do método

É necessário fazer uma análise comparativa da precisão, exatidão, limites analíticos e incerteza, observados para o método em estudo, relativamente aos critérios definidos na legislação aplicável aos diversos produtos/matrizes em estudo. ⁽³⁹⁾

3. Metodologia de Análise

Antes da análise, as amostras aquosas e sólidas são solubilizadas ou digeridas usando os métodos apropriados de preparação de amostras. Amostras que não são digeridas requerem o uso de um padrão interno ou devem ser matricialmente compatíveis com os padrões. Caso se utilize a primeira opção, o instrumento de *software* deve ser programado para corrigir as diferenças de intensidade do padrão interno entre amostras e padrões. No caso do LPQ recorre-se à segunda opção.

De seguida será apresentado o procedimento experimental que foi construído para que se iniciasse a implementação e validação de toda a técnica.

3.1. Objetivo

O procedimento destina-se a descrever o método de determinação do teor de vários elementos metálicos por ICP-OES em amostras de água de consumo humano. Este é aplicável à determinação dos seguintes metais: Al, Ba, Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mg, Mn, Ni, K, Na e Zn. As gamas de trabalho variam em função de cada elemento, conforme indicado no ponto 3.3.3..

Para concentrações superiores, procede-se a diluição adequada das amostras.

3.2. Equipamento, material e reagentes

1. Espectrómetro de emissão atômica por plasma ICP-OES iCAP Pro *Thermo Scientific*.
Este estava equipado com:

- Pro Dual Radial/Axial;
- Gerador de radiofrequência (RF);
- Controlador de fluxo de massa na entrada do árgon para o nebulizador;
- Com correção de *background*;
- Nebulizador: concêntrico, vidro;
- Câmara de nebulização: ciclónico, vidro;
- Detetor CID (deteção por contagens);
- Amostrador automático CETAC ASX560;
- Bomba peristáltica de velocidade variável para distribuição dos padrões e das amostras.

2. Rede de árgon (pureza > 99,95%).
3. *Software Q-Tegra*, computador e impressora.
4. Sistema de exaustão (caudal mínimo de 5,5 L/min).
5. Recirculador/refrigerador (*Chiller*).
6. Equipamento para filtração com material de vidro ou polietileno e membranas de filtração de 0,45 µm.
7. Material corrente de laboratório.
8. Ácido nítrico 65% (v/v).
9. Solução de ácido nítrico 20% (v/v).
10. Solução de ácido nítrico 1:1.
11. Água ultra-pura.
12. Soluções padrão mãe (soluções comerciais monoelementares de 1000 mg/L e multielementares de 1000 mg/L).
13. Ensaio em branco – ácido nítrico 1% (v/v).

3.3. Técnica

3.3.1. Recolha e conservação de amostras

Para colheita de água para consumo e sempre que se vai proceder à análise de Cobre, Níquel e Chumbo, dever-se-á recolher sem escoamento prévio o primeiro litro de água estagnada no frasco de metais especificamente para a análise destes metais. As amostras devem ser recolhidas em frasco de polietileno ou polipropileno e preservadas com ácido nítrico até pH<2 e mantidas a 5±3 °C. A análise deve ser realizada num prazo máximo de 1 mês. ⁽⁴⁶⁾

3.3.2. Preparação das amostras

3.3.2.1. Amostras com Turvação < 1,5 NTU – Análise direta

Medir 10 mL da amostra preservada para tubo de análise. Adicionar 0,1 mL de solução de HNO₃ (1:1). ⁽³⁴⁻³⁶⁾

3.3.2.2. Amostras com Turvação > 1,5 NTU – Processo de digestão

Transferir 100 mL (±1 mL) de amostra preservada para copo de precipitação de 250 mL de forma alta com o objetivo de evitar salpicos e possíveis contaminações, uma vez que estes são mais estreitos e mais altos. Podem ser usadas tomas inferiores, se necessário. Adicionar 2 mL HNO₃ (1:1) e 1 mL HCl (1:1). Tapar com vidro de relógio e aquecer em placa de aquecimento ou banho-maria dentro de uma *hotte*, a uma temperatura aproximada, mas não

superior a 85 °C. Reduzir o volume a 20 mL, sem entrar em ebulição. Deixar arrefecer e transferir quantitativamente a amostra reduzida para balão volumétrico de 50 mL. Completar ao traço, tapar e homogeneizar. ^(34-36; 44)

Deixar decantar qualquer material não dissolvido durante a noite ou centrifugar. Filtrar antes da análise. ⁽³⁴⁻³⁶⁾

Nota: neste passo fez-se uma concentração de 2 vezes.

3.3.3. Preparação da curva de calibração

Construir as curvas de calibração, de acordo com as gamas indicadas na tabela 3.

Tabela 3 – Construção das curvas de calibração por gama de trabalho ⁽⁴⁷⁾

Gama	Elementos
1,5 -15 µg/L	Cd
5-50 µg/L	Pb, Ni
15-250 µg/L	Co, Cr
15-500 µg/L	Al, Cu, Mn
50-500 µg/L	Ba, Fe, Zn
1-10 mg/L	K, Ca, Mg
10-200 mg/L	Na, K, Ca, Mg

3.3.4. Ensaio em Branco

Substituir a amostra por solução HNO₃ 1% v/v. Caso se estejam a analisar amostras que tenham sofrido digestão ácida, deve também ser digerido um ensaio em branco de forma a controlarem-se possíveis contaminações que possam ocorrer durante o processo da digestão.

^(34-35; 44; 48)

3.3.5. Ensaio de Recuperação

Realizar o ensaio de recuperação de acordo com o que está descrito no ponto 2.7.11 do presente documento.

3.3.6. Comprimento de Onda

A seleção dos comprimentos de onda mais adequados, estará sempre dependente das interferências que cada tipo de matriz possa apresentar. As linhas espectrais devem ser

selecionadas de acordo com as indicações das normas de referência. O *software* do equipamento também apresenta uma lista de sugestões para comprimentos de onda recomendados para cada elemento bem como os respetivos interferentes associados. Deverá ter-se também em atenção o definido no ponto Interferências espectrais 2.6.3.1 relativamente às interferências espectrais.

Na tabela 4 encontram-se os comprimentos de onda validados para cada elemento, o modo de leitura e os elementos interferentes.

Tabela 4 – Tabela síntese com a definição do comprimento de onda por elemento a analisar, modo de leitura e elementos interferentes ^(34-36; 47)

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Modo de leitura	Elementos interferentes
Al	394,401	Axial	Ce
	396,152	Axial	Mo, Cu, Fe, Zr
Ba	493,409	Axial	Er, Gd, Sc
Ca	318,128	Radial	Nb, Cr, Ho, Sc, Th
Cd	214,438	Axial	Pt, Ir, As, Cr, Fe, Sc, Sb
Co	228,616	Axial	Ti
Cr	267,716	Axial	Lu, Mn, Pv, P, V
	266,602	Axial	Os, Hf
Cu	324,754	Axial	Fe, Cr, Ti, Mo, Eu, Th, Hf, U, Sc, Nb, Tm
Fe	259,837	Axial	W, Ru, S, Ta, Co
K	769,896	Radial	Ba, Yb, Sc
Mg	383,826	Radial	Zr, Tm, V, Ru, N, W
Mn	259,373	Axial	Fe, Mo, Ru, Ta, Ti, Rb, Nb, Na
Na	818,326	Radial	Se, Sc
Ni	231,604	Axial	Co, Sb, Ti, O,
Pb	220,353	Axial	Al, Co, Fe, Ti, N, Nb,
Zn	202,548	Axial	Cr, Ni, Cu, Co, Hf, Nb

3.3.7. Condições instrumentais relativas ao método ^(34-36; 47)

Na tabela 5 encontram-se descritas as condições instrumentais definidas.

Tabela 5 – Condições instrumentais definidas para o método. ⁽⁴⁷⁾

Modo	Aquoso
Potência de radiofrequência (<i>Forward power</i>)	1150 Watt
<i>Viewing height</i> (só no radial)	10,0 mm
Fluxo de árgon no nebulizador	0,5 L/min
Fluxo de árgon no plasma (<i>coolant flow</i>)	12,5 L/min
Fluxo de árgon auxiliar	0,5 L/min
Velocidade da bomba de introdução de amostra	Rotação 45 rpm
Tempo de aspiração de amostra (<i>uptake</i>)	60 segundos (30 segundos a chegar e 30 segundos a lavar)
Tempo de leitura	15 segundos
Tempo de lavagem (adicional)	30 segundos
Número de réplicas	3 (DPR <10%)

3.3.8. Otimização do plasma/ alinhamento da tocha ⁽⁴⁷⁾

Este procedimento é necessário apenas no início da utilização do equipamento e no caso de alteração das condições de operação (substituição da tocha, injetor ou nebulizador). ⁽⁴⁷⁾

Efetuar a otimização do plasma de acordo com as indicações do fabricante.

3.3.9. Atividades de verificação e manutenção prévia à análise ⁽⁴⁷⁾

1. Ligar o ICP-OES, de acordo com o descrito no manual do equipamento;
2. Verificar se existe quantidade de HNO₃ 2% suficiente no garrafão de lavagem;
3. Esvaziar o garrafão de despejos;
4. Ligar o *Chiller*;
5. Conetar e encaixar nas posições corretas, todas as tubagens destinadas à bomba peristáltica. Cada tubo tem uma cor específica nas extremidades. Sempre que se proceda à substituição, é necessário respeitar essas cores uma vez que a área de secção de cada tubo difere e consequentemente o seu caudal também difere (Tubo Laranja – amostra; Tubo Branco – esgoto);
6. Ligar a bomba peristáltica e verificar se a água entra de uma forma fluida e se o esgoto está a sair;

7. Ligar o Árgon;
8. No menu *Dashboard* do equipamento, clicar no botão *Get Ready*. O detetor vai arrefecer até aos -45 °C. Após estabilização aparece a mensagem *Success* e o plasma liga-se. Indicar onde a sonda vai ficar depois da corrida;
9. Verificar o aspeto da tocha e do cone de refrigeração. Ambos os dispositivos adquirem naturalmente alguma sujidade e incrustações que dependerá sempre do uso do equipamento e do tipo de amostras. A tocha pode ser lavada com *solução HNO₃ ≥10%* durante um período não superior a uma noite, enxaguada com água ultra-pura e seca antes de se reinstalar. O cone de refrigeração deve ser limpo com papel embebido em líquido “limpa metais”, enxaguado com água ultra-pura e seco antes de se reinstalar.
10. Deixar aquecer durante 10-15 minutos;
11. Neste momento a componente física do equipamento está preparada para realizar uma análise;
12. Escolher o *Labbook* do método respetivo (onde estão definidos os elementos e os comprimentos de onda, o modo de leitura axial ou radial, os padrões e as condições operacionais, de acordo com o ponto 3.3.6.);
13. Preencher a lista de amostras com as amostras e o controlo da qualidade (de preferência partir de uma já feita), procedendo à programação da sequência completa das amostras nomeando-as em cada posição do amostrador automático. Colocar as amostras nas posições adequadas.

3.3.10. Análise⁽⁴⁷⁾

Iniciar a análise, de acordo com as indicações do Manual de utilização do equipamento.

Ter em consideração o seguinte:

- Recipiente do branco de lavagem com HNO₃ 2%;
- Iniciar a análise com uma lavagem de branco de reagente (água ultra-pura tipo 1 acidificada 1% HNO₃) ao sistema.

A análise de amostras pode ser realizada partindo de um método novo ou de um método já construído e devidamente parametrizado. De seguida, será feita referência aos métodos já parametrizados, suas características fundamentais e aplicabilidade. Em qualquer momento, poderá ser construído um novo método desde que tal se justifique.

Criar um *Labbook* a partir do previamente configurado, indicando a sequência de amostras, o controlo da qualidade e as respetivas posições.

3.3.11. Tratamento dos dados ^(34-36; 44; 48)

No final da análise, quando a sequência das amostras termina, o plasma desliga-se automaticamente.

Nesta altura, os dados podem ser tratados:

- Observar cada uma das curvas de calibração - verificar intensidades e concentrações.
- Observar os picos e efetuar a centragem do comprimento de onda, se necessário. A barra verde deve enquadrar os 2 pontos com leituras mais elevadas (e deve ter aproximadamente 3 pixéis). Quando a linha de base num dos lados do pico não parecer adequada (a subir ou a descer ou com picos diversos), usar apenas a barra azul do lado oposto como referência (normalmente o lado mais baixo e o mais plano).
- Pode ser retirada uma réplica numa das 3 efetuadas num determinado padrão (ou amostras se réplicas ≥ 3) ou retirar algum nível de calibração que tenha apresentado um maior desvio à curva definida, desde que cumpra com os critérios mínimos de uma curva de calibração e que não seja o primeiro ponto da curva.

No final da corrida, reduzir a pressão do Árgon para 2 bar, aliviar os tubos da bomba peristáltica, desligar o *chiller*, desligar o *software* e o computador.

Nota: as contagens deverão situar-se entre 5 e 250000.

3.3.11.1. Cálculos ^(34-36; 44; 48)

Os valores das intensidades dos padrões são utilizados na construção das curvas de calibração pelo método dos mínimos quadrados (contagens em ordenadas; concentração em abcissas). As concentrações das amostras e padrões de controlo são calculadas por interpolação na curva de calibração pelo *software* do próprio equipamento.

Caso a análise tenha sido efetuada em 2 comprimentos de onda validados, o resultado será a média dos dois valores (o desvio entre os dois valores não poderá ser superior a 10%). Caso o desvio seja superior, deve ser avaliada a ocorrência de interferentes em cada comprimento de onda. Deve ser assumido o resultado do comprimento de onda sem interferentes.

Em caso de suspeita de interferentes, deve comparar-se o resultado com os resultados obtidos noutra(s) comprimento(s) de onda indicados na ISO 11885:2009, em anexo. Se o desvio do resultado do comprimento de onda validado em relação ao comprimento de onda de verificação, for inferior a 10%, pode emitir-se o resultado obtido no comprimento de onda validado. Caso contrário, terá de ser usada outra técnica analítica.

Caso ocorram interferências numa linha espectral, o resultado obtido nessa linha não deve ser considerado no cálculo do resultado final.

No caso de amostras analisadas em duplicado, o resultado emitido corresponde à média aritmética dos dois valores, desde que cumpram o critério de aceitação de duplicados (caso contrário, a causa deverá ser analisada e repetida a análise do lote de amostras em causa).

No caso de amostras previamente diluídas, o resultado é multiplicado pelo fator de diluição respetivo.

O resultado final é apresentado em mg/L ou µg/L consoante as especificações de cada metal em cada matriz, com um máximo de 2 algarismos significativos, de acordo com a incerteza do método.

Para resultados inferiores ao limite de quantificação, o resultado é apresentado como < LQ.

3.3.12. Controlo de qualidade ^(34-36; 38-40; 44; 48)

Na tabela 6 encontra-se todo o controlo de qualidade que deve ser realizado quando se efetua o método.

Tabela 6 – Controlo de qualidade, frequência com que o mesmo deve ser efetuado e respetivos critérios de aceitação

Atividade	Frequência	Critério de aceitação
Curva de calibração	Diária	Linear: observação visual e $r \geq 0,999$ Declive deve estar situado entre a média declives $\pm 2 \times DP$ (das últimas 5 curvas)
Ensaio em branco Os ensaios em branco devem ser tratados	Após a leitura da curva de calibração e entre cada lote de 10 amostras	Contagem $\leq 1/3$ do LQ (desde que o restante controlo da qualidade

Atividade	Frequência	Critério de aceitação
como as amostras (sem tratamento, filtrados ou digeridos)		cumpra os critérios, poderá aceitar-se o branco quando $\leq \frac{1}{2}$ LQ)
RSD entre réplicas	Cada amostra	Máximo de 10%, excepto valores $\leq$ LQ
Duplicados	1 por lote de 20 amostras	Variação máxima de 10%
Padrões de controlo (PC) PC ao nível LQ PC extremo superior reta	No início e no final da corrida e entre cada lote de 10 amostras (PC LQ intercalado com o PC extremo superior)	PC Nível do LQ: Máximo de 15% de desvio relativamente ao valor teórico Restantes PC: Máximo de 10% de desvio relativamente ao valor teórico
Ensaio de recuperação	1 por lote de 20 amostras (abranger todas as matrizes analisadas na corrida) Notas: Os ER devem ser feitos em duplicado sempre que se suspeite que as amostras se encontram abaixo do LQ. No caso da presença de elevados teores de metais alcalinos, os ensaios de recuperação devem ser realizados em todas as amostras.	Recuperação entre 80 e 120% No caso de duplicados, a concentração não deve variar mais de 10%.

4. Resultados e discussão

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos durante a implementação e validação do método em estudo, para os diferentes metais.

No anexo I é apresentada a forma como o *software* expõe os resultados obtidos (curvas de calibração e parâmetros de linearidade, como o coeficiente de correlação, amostras e respetivo controlo de qualidade). Nos anexos II a VIII apresentam-se as folhas de cálculo do Microsoft Excel, baseadas nos fundamentos teóricos descritos no capítulo 2 e nas fórmulas de cálculo apresentadas no capítulo 3, que foram utilizadas para o cálculo das diferentes componentes estudadas durante a validação. Nos anexos apenas são apresentadas as folhas de cálculo e os resultados cedidos pelo *software* para o metal alumínio, como exemplo, de forma a não tornar o documento excessivamente longo. Procedeu-se de forma igual para os restantes metais.

4.1. Definição da gama de trabalho

No ponto 3.3.3, na Tabela 3, foram apresentadas as gamas de trabalho estudadas durante a validação do método.

Nas figuras 4 a 10, dos anexos I, II, III, IV, V e VII respetivamente, podem-se observar os resultados obtidos na primeira curva de calibração obtida para o alumínio e respetivo tratamento de resultados.

4.1.1. Coeficiente de correlação e declives

Na tabela 7 são apresentados os resultados, para os diferentes metais em estudo (valores calculados de acordo com o anexo II), de coeficiente de correlação e declives das primeiras 5 curvas de calibração efetuadas em dias diferentes.

Tabela 7 – Coeficientes de correlação (r) e declives (m) obtidos nas primeiras 5 curvas de calibração para os diferentes metais em estudo

Elemento	r_1	r_2	r_3	r_4	r_5	m_1	m_2	m_3	m_4	m_5
Al $\lambda=394,401$ nm	0,9999	0,9995	1,0000	0,9999	0,9995	3,567	3,293	3,238	4,253	4,512
Al $\lambda=396,152$ nm	0,9996	0,9999	0,9998	0,9995	0,9997	6,343	6,657	7,740	5,932	8,026
Ba	0,9995	0,9996	1,0000	0,9996	0,9998	125,449	132,194	127,705	176,661	184,874
Ca	0,9997	0,9998	0,9997	0,9999	0,9997	49,518	48,191	46,052	50,136	47,754

Elemento	r_1	r_2	r_3	r_4	r_5	m_1	m_2	m_3	m_4	m_5
Cd	0,9998	0,9997	0,9999	0,9997	0,9998	14,702	12,653	13,921	13,462	14,617
Co	0,9996	0,9996	0,9998	0,9999	0,9995	3,268	3,282	3,688	3,680	3,739
Cr $\lambda=267,716$ nm	0,9997	0,9998	0,9997	0,9997	0,9996	3,496	3,458	3,990	3,205	3,212
Cr $\lambda=266,602$ nm	0,9999	0,9997	0,9996	1,0000	0,9996	1,547	1,537	1,719	1,700	1,751
Cu	0,9996	0,9997	0,9998	0,9998	0,9999	8,392	8,230	7,991	7,886	9,383
Fe	0,9995	0,9999	0,9997	0,9999	0,9996	1,743	1,739	1,952	1,990	2,012
K	0,9999	0,9996	0,9999	0,9996	0,9997	82,130	79,301	86,441	83,515	86,844
Mg	0,9996	0,9998	0,9999	0,9997	0,9996	111,031	107,031	120,317	115,658	118,961
Mn	0,9997	0,9997	0,9996	0,9999	0,9998	18,738	15,792	17,782	19,951	20,382
Na	0,9995	0,9995	0,9998	0,9998	0,9999	12,235	11,507	12,067	13,254	12,571
Ni	0,9998	0,9998	0,9997	0,9996	0,9995	2,153	2,035	2,226	2,170	2,484
Pb	0,9997	0,9996	0,9999	0,9997	0,9998	0,832	0,925	0,739	0,783	0,803
Zn	0,9996	0,9997	0,9996	0,9996	0,9997	14,058	14,601	14,984	14,342	13,861

Com base na Tabela 7 pode-se concluir que os valores de coeficiente de correlação obtidos são muito próximos de 1, e superiores a 0,995, pelo que se pode concluir que as curvas de calibração são lineares com base na lei de Lambert-Beer.

4.1.2. Testes de resíduos

Com base na folha de cálculo apresentada no anexo III determinaram-se os testes de resíduos para todos os metais. Tendo-se obtido resíduos <5% para todos os padrões utilizados na construção das curvas de calibração, à exceção do ensaio em branco que não tem critério de aceitação obrigatório, pode-se concluir que não existem tendências/desvios significativos associados à construção das mesmas.

4.1.3. Intervalos de declives

Com base nos declives apresentados na Tabela 7 e folha de cálculo apresentada no anexo IV, para as diferentes gamas de trabalho em estudo, foram calculados os intervalos de aceitação de declives para as próximas curvas de calibração a serem efetuadas. Na Tabela 8 podem-se observar esses intervalos para cada um dos metais e respetivas gamas de trabalho.

Tabela 8 – Intervalos de aceitação de declives para os diferentes metais e gamas de trabalho em estudo

Elemento	Intervalo de Declive	
	Valor mínimo	Valor máximo
Al $\lambda=394,401$ nm	2,7060	5,0760
Al $\lambda=396,152$ nm	5,0808	8,8519
Ba	91,5672	207,1861
Ca	46,4436	56,2261
Cd	12,6007	15,6950
Co	3,1196	3,9731
Cr $\lambda=267,716$ nm	2,8338	4,1106
Cr $\lambda=266,602$ nm	1,4488	1,8527
Cu	7,0105	9,3597
Fe	1,5962	2,1314
K	77,3826	89,9099
Mg	103,7212	125,6392
Mn	14,8488	22,2096
Na	12,0920	14,7951
Ni	1,9596	2,5674
Pb	0,7183	1,0009
Zn	13,4818	15,2566

4.1.4. Teste de Mandel e Homogeneidade de Variâncias

Com base nos anexos II e V, foi possível construir-se a Tabela 9 onde são apresentados os resultados obtidos para o teste de Mandel e para a homogeneidade de variâncias, respetivamente.

Tabela 9 – Tabela-resumo com os resultados obtidos para o teste de Mandel, da primeira curva de calibração realizada para cada metal e gama de trabalho estudada, e para a avaliação da homogeneidade de variâncias

Elemento	Teste de Mandel		Homogeneidade de Variâncias	
	VT	F	PG	F _{tabelado}
Al $\lambda=394,401$ nm	1,52	10,13	4,43	5,35
Al $\lambda=396,152$ nm	6,41	10,13	2,71	5,35
Ba	3,74	10,13	4,66	5,35
Ca	8,16	10,13	5,12	5,35
Cd	0,96	10,13	2,96	5,35
Co	1,73	10,13	4,70	5,35

Elemento	Teste de Mandel		Homogeneidade de Variâncias	
	VT	F	PG	F _{tabelado}
Cr $\lambda=267,716$ nm	3,98	10,13	3,95	5,35
Cr $\lambda=266,602$ nm	4,80	10,13	4,06	5,35
Cu	5,71	10,13	5,09	5,35
Fe	1,44	10,13	3,69	5,35
K	0,76	10,13	3,56	5,35
Mg	1,98	10,13	4,00	5,35
Mn	5,71	10,13	2,85	5,35
Na	8,99	10,13	4,14	5,35
Ni	5,08	10,13	3,90	5,35
Pb	10,06	10,13	5,30	5,35
Zn	9,66	10,13	4,66	5,35

Com base na Tabela 9 pode-se concluir que para o teste de Mandel $F > VT$, o que significa que as funções de calibração são lineares para todos os elementos e respetivas gamas de trabalho.

Através dos resultados de PG e F_{tabelado} , pode-se concluir que existe homogeneidade de variâncias em todos os elementos e respetivas gamas de trabalho, pois $F_{\text{tabelado}} > PG$, logo as diferenças de variâncias não são significativas e, portanto, as gamas de trabalho estão bem ajustadas.

4.2. Limiares analíticos

Os limiares analíticos foram confirmados de três formas diferentes (folha de cálculo apresentada no anexo VI): através do limite de quantificação calculado estatisticamente pelo métodos dos mínimos quadrados ($LQ_{\text{estatístico}}$); através da precisão intermédia de um analito de concentração reduzida – $LQ_{\text{precisão intermédia}}$ – (no caso foi analisado o LQ) e pela verificação experimental do LQ (precisão intermédia avaliada através de um padrão de controlo que se encontre dentro da gama de trabalho – neste caso também foi analisado o $LQ_{\text{experimental}}$ pois é normalmente o ponto da curva com maior incerteza/erro associado).

Na Tabela 10, encontram-se os valores dos LQ's obtidos para estas três abordagens para cada um dos metais e respetivas gamas de trabalho.

Tabela 10 – Tabela síntese com os LQ's calculados por 3 diferentes abordagens para cada um dos metais e respetivas gamas de trabalho

Elemento	LQ _{definido}	LQ _{estatístico}	LQ _{precisão intermédia}	% CV LQ _{experimental}
Al $\lambda=394,401$ nm	15 µg/L	14,23 µg/L	9,71 µg/L	3,95
Al $\lambda=396,152$ nm	15 µg/L	13,70 µg/L	10,34 µg/L	4,93
Ba	50 µg/L	41,14 µg/L	34,71 µg/L	2,71
Ca	1,0 mg/L	1,02 mg/L	0,93 mg/L	4,93
Cd	1,5 µg/L	1,40 µg/L	1,24 µg/L	1,74
Co	15 µg/L	12,14 µg/L	13,54 µg/L	4,03
Cr $\lambda=267,716$ nm	15 µg/L	10,10 µg/L	9,75 µg/L	3,71
Cr $\lambda=266,602$ nm	15 µg/L	9,66 µg/L	10,02 µg/L	4,30
Cu	15 µg/L	12,71 µg/L	13,08 µg/L	4,33
Fe	50 µg/L	36,71 µg/L	33,15 µg/L	2,75
K	1,0 mg/L	0,88 mg/L	0,73 mg/L	0,96
Mg	1,0 mg/L	0,94 mg/L	0,98 mg/L	1,96
Mn	15 µg/L	15,21 µg/L	14,09 µg/L	2,88
Na	10 mg/L	6,14 mg/L	7,36 mg/L	4,31
Ni	5 µg/L	4,76 µg/L	4,30 µg/L	4,32
Pb	5 µg/L	4,89 µg/L	5,01 µg/L	5,01
Zn	50 µg/L	45,51 µg/L	38,72 µg/L	5,03

Com base nos resultados apresentados na Tabela 10 é possível concluir-se que os LQ's das gamas de trabalho em estudo são adequados pois conseguiu-se confirmar através das 3 abordagens apresentadas que os LQ's são adequados e apresentam estabilidade e precisão.

4.3. Repetibilidade

Com base no anexo VII construiu-se a Tabela 11 onde são apresentados os limites de repetibilidade para o padrão de controlo, ao nível do LQ para as diferentes gamas de trabalho, bem como os limites de repetibilidade de amostras de águas de consumo.

Tabela 11 – Limites de repetibilidade para o padrão de controlo, ao nível do LQ para as diferentes gamas de trabalho, bem como os limites de repetibilidade de amostras de águas de consumo

Elemento	R (PC _{LQ}) (%)	R (Amostras ACH) (%)
Al $\lambda=394,401$ nm	10,9	3,5
Al $\lambda=396,152$ nm	8,0	4,9

Elemento	R (PC _{LQ}) (%)	R (Amostras ACH) (%)
Ba	8,6	8,3
Ca	7,3	4,7
Cd	5,4	2,9
Co	9,6	7,2
Cr $\lambda=267,716$ nm	8,4	5,0
Cr $\lambda=266,602$ nm	6,5	4,6
Cu	8,2	9,3
Fe	3,9	5,4
K	6,4	2,7
Mg	6,9	4,8
Mn	4,0	1,9
Na	6,2	5,1
Ni	5,7	4,0
Pb	9,7	3,9
Zn	11,2	4,6

Através dos resultados obtidos para os limites de repetibilidade, tanto para o padrão de controlo ao nível do LQ como para a amostra de água de consumo, pode-se concluir que o método apresenta boa repetibilidade (utilizada para a avaliação da precisão associada aos duplicados), pois obtiveram-se valores <15% para todos os PC_{LQ} e <10% para todas as amostras estudados.

4.4. Estimativa da incerteza e declaração de conformidade do método

De seguida será apresentada uma tabela resumo (Tabela 12) onde se encontram as incertezas combinadas estimadas, com base no anexo VIII, para cada uma das gamas de trabalho estudadas. Encontram-se também apresentadas a incerteza associada à componente da precisão (duplicados e padrões de controlo) e da exatidão (ensaio de recuperação). Até à data de 31 de agosto ainda não se tinha realizado qualquer ensaio de aptidão (razão pela qual a incerteza associada à exatidão foi estimada com base nos ensaios de recuperação).

Tabela 12 – Incerteza associada à componente da precisão, da exatidão e respetiva incerteza combinada expandida

Elemento	$U_{\text{precisão}}$ (%)	$U_{\text{exatidão}}$ (%)	U_c (%)
Al $\lambda=394,401$ nm	6,22	7,36	19,26
Al $\lambda=396,152$ nm	5,98	8,55	20,87
Ba	3,98	6,57	15,36
Ca	5,50	9,22	21,47
Cd	3,67	5,68	13,52
Co	6,81	9,02	22,60
Cr $\lambda=267,716$ nm	5,00	7,58	18,16
Cr $\lambda=266,602$ nm	4,71	6,98	16,84
Cu	5,68	8,14	19,85
Fe	3,25	6,77	15,02
K	7,25	9,54	23,96
Mg	4,35	6,36	15,41
Mn	2,54	6,99	14,87
Na	4,65	8,99	20,24
Ni	5,08	8,75	20,24
Pb	5,11	6,38	16,35
Zn	5,87	7,30	18,73

Com base nos resultados obtidos na Tabela 12 é possível efetuar-se a declaração de conformidade do método. Esta tem em conta o DL 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei 152/2017, de 7 de dezembro, onde se pode consultar quais os valores máximos de incerteza associada à exatidão, à precisão e à incerteza combinada e expandida. De acordo com os resultados obtidos conclui-se que todos métodos estudados cumprem o Decreto-Lei, logo são adequados ao uso, dentro do âmbito da acreditação pela NP EN ISO/IEC 17025:2018.

4.5. Ensaio de aptidão

Os ensaios de aptidão são muito importantes no âmbito do pedido de acreditação de um método. Estes são exigidos por matriz de forma a verificar a eficácia do laboratório na determinação do parâmetro em causa.

Durante a realização da tese foi efetuado um ensaio de aptidão para água de consumo, distribuído pela Relacre em julho de 2022, para 8 dos 15 metais em estudo. Na tabela 13 encontram-se os resultados obtidos.

Tabela 13 – Resultados obtidos no ensaio de aptidão da distribuição da Relacre, em julho de 2022

Elemento	Valor obtido	Valor de referência	Z-score
Al	<15 µg/L	<9,3 µg/L	2,0
Ba	83 µg/L	86 µg/L	-0,5
Cr	<15 µg/L	6,9 µg/L	2,0
Cu	18 µg/L	24 µg/L	-2,0
Fe	<50 µg/L	45 µg/L	2,0
Mn	<15 µg/L	12 µg/L	2,0
Pb	<5 µg/L	2,7 µg/L	2,0
Zn	<50 µg/L	19 µg/L	2,0

Com base na tabela 13 pode-se concluir que todos os resultados obtidos são satisfatórios, pois $-2 \leq Z \leq 2$.

4.6. Interferentes

Embora, por falta de tempo disponível e recursos, não tenha sido possível efetuarem-se estudos no que diz respeito a interferentes, sabe-se que deve ser efetuado um estudo dos comprimentos de onda a selecionar para cada elemento, de modo a minimizar a ação de possíveis interferentes e ter a sensibilidade adequada às matrizes a estudar. Os comprimentos de onda devem ser selecionados considerando as suas abundâncias relativas na natureza e pela ausência de interferentes. Assim, devem ser selecionados os comprimentos de onda sem interferentes na zona do pico ou cuja probabilidade de ocorrência nas matrizes em estudo seja muito baixa. Caso não seja possível, deve dar-se preferência

aos comprimentos de onda em que os interferentes apresentem uma intensidade relativa de emissão em relação à intensidade do analito $<1\%$.

Para avaliação dos interferentes deve efetuar-se um estudo utilizando soluções padrão do elemento em causa e analisar os resultados em função do valor teórico. Deverão efetuar-se no mínimo, 10 leituras em várias concentrações. Deverão ser excluídas as linhas que apresentem desvios superiores a 10% em relação ao valor teórico (estudo com padrões) e desvios superiores a 5% do valor médio de todas as linhas (estudo com amostras reais fortificadas).

As interferências espectrais podem ser detetadas se a forma do pico da solução mudar em comparação com a forma do pico gerada pela solução apenas com o elemento em causa. As alterações de fundo são mais facilmente identificadas por sobreposição de espectros de padrões e amostras. Além disso, a comparação de resultados para um determinado elemento medido em diferentes linhas indicará também a existência de interferências espectrais.

Para os elementos e comprimentos de onda selecionados, deve efetuar-se o estudo de interferentes analisando padrões de concentrações crescentes dos elementos interferentes e avaliando a variação provocada no elemento em estudo. Caso não se verifique um aumento das concentrações do analito, significa que a interferência não é significativa. Caso contrário, deverá alterar-se o comprimento de onda ou corrigir a interferência caso a relação seja linear.

Poderá também comparar-se o valor do analito presente numa amostra com a mesma amostra fortificada com os interferentes numa concentração muito elevada (recorrer ao histórico do laboratório para definir as concentrações máximas dos interferentes nas diversas matrizes analisadas).

As diferenças entre as concentrações encontradas no analito não deverão ser superiores a 10%.

5. Importância do ICP-OES para a determinação de metais em quantidades vestigiais

Sendo a água, como já referido anteriormente, um dos constituintes da Terra mais importantes para a sobrevivência do ser vivo é essencial garantir a qualidade da mesma.

Como resposta a esta tentativa de assegurar a qualidade das águas analisadas no laboratório, este optou por validar e implementar o ICP-OES que permite a existência de LQs inferiores aos existentes nos aparelhos utilizados anteriormente para realização das mesmas análises.

Foram então escolhidas cinco regiões diferentes de cada uma das três zonas do país, Norte, Centro e Sul para serem analisadas as concentrações dos metais das águas das respetivas câmaras municipais das zonas selecionadas.

Após a realização das análises relacionou-se a importância da utilização do ICP-OES (que permite LQs mais baixos, ou seja, maior sensibilidade) para a determinação das mesmas com as consequências que quantidades vestigiais desses analitos podem ter para os seres vivos.

A Tabela 14 relaciona os valores dos metais de interesse de cinco regiões diferentes do Norte nomeadamente Sabrosa, Valpaços, Vila Pouca de Aguiar, Vila Nova de Famalicão e Santo Tirso.

É de referir que os valores apresentados nas tabelas 14 a 16 são valores obtidos por outras metodologias que não o ICP-OES (câmara de grafite, chama, gerador de hidretos e fluorescência), pois à data o LPQ ainda não tinha o método acreditado e desta forma não podia emitir resultados dentro do âmbito da acreditação para o ICP-OES.

Tabela 14 – Valores obtidos para as regiões escolhidas do Norte

		Sabrosa		Santo Tirso		Valpaços		Vila Nova de Famalicão		Vila Pouca de Aguiar	
		Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo
Al	µg/L	44	72	<15	73	<15	<15	<15	66	67	67
Sb	µg/L	<1,5	5,0	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
As	µg/L	<3,0	10	<3,0	<3,0	3,3	3,3	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
B	mg/L	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15
Cd	µg/L	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5

Ca	mg/L	9,0	9,0	18	18	11	11	8,7	8,7	<1,0	<1,0
Pb	µg/L	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
Cu	mg/L	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
Cr	µg/L	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
Fe	µg/L	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50
Mg	mg/L	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
Mn	µg/L	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
Hg	µg/L	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2
Ni	µg/L	<5,0	24	24	24	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Se	µg/L	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
Na	mg/L	<10	<10	<10	<10	14,5	14,5	<10	<10	<10	<10

Pode-se observar rapidamente que as águas da região Norte do país têm tendência para ter valores quantificáveis/vestigiais de alumínio, cálcio e sódio.

Valpaços é a única região do Norte que não tem alumínio nas suas águas, por outro lado, Santo Tirso é a região com concentrações superiores deste metal, atingindo valores de 73 µg Al/L (valor abaixo do valor paramétrico).

Relativamente ao cálcio, pode-se observar uma tendência geral da sua presença nas águas do Norte, variando entre 8,7 mg Ca/L e 18 mg Ca/L, exceto em Vila Pouca de Aguiar, onde a sua presença é <1,0 mg Ca/L.

Por fim, observa-se que Sabrosa, Santo Tirso, Vila Nova de Famalicão e Vila Pouca de Aguiar possuem concentrações de sódio muito semelhantes entre elas, sendo o seu valor <10,0 mg Na/L. Pode-se também verificar concentrações mais elevadas deste metal em Valpaços, sendo assim a zona com mais quantidade de sódio na água, nomeadamente de 14,5 mg Na/L.

Verifica-se que em relação aos restantes metais, existem todos em quantidades vestigiais, sem nenhum destes ultrapassar os valores máximos permitidos ou influenciar de forma negativa a saúde humana em caso de ingestão dos mesmos.

A Tabela 15 relaciona os valores dos metais de interesse de cinco regiões diferentes do Centro do país, nomeadamente Montijo, Mafra, Viseu, Caldas da Rainha e Évora.

Tabela 15 – Valores obtidos para as regiões escolhidas do Centro

		Montijo		Caldas da Rainha		Mafra		Évora		Viseu	
		Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo
Al	µg/L	<15	<15	<15	<15	<15	42	<15	73	<15	41
Sb	µg/L	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
As	µg/L	4,0	4,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
B	mg/L	0,3	0,3	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15
Cd	µg/L	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
Ca	mg/L	55	55	14,1	14,1	18,9	38	32,9	38,1	12	12
Pb	µg/L	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	3,0	3,0
Cu	mg/L	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
Cr	µg/L	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
Fe	µg/L	<50	526	<50	165	<50	<50	<50	<50	<50	<50
Mg	mg/L	7,0	7,0	10	10	1,8	5,6	11	12	<1,0	<1,0
Mn	µg/L	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
Hg	µg/L	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,3	<0,3
Ni	µg/L	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Se	µg/L	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
Na	mg/L	40	40	36	36	12,6	22,5	23,8	23,8	<10	<10

Pode-se observar que em média as águas da região do centro do país têm tendência para ter valores altos de sódio, variando entre 12,6 mg Na/L e 40 mg Na/L, mas nunca ultrapassando o valor paramétrico de 200 mg Na/L.

Relativamente ao alumínio, as águas das regiões de Mafra, Évora e Viseu, têm tendência para ter valores altos, atingindo os 73 µg Al/L de concentração, mas sem nunca exceder o valor máximo admissível de 200 µg Al/L.

O Montijo tem muita tendência para ter valores extremamente elevados de ferro, conseguindo este atingir os 526 µg Fe/L, o que é preocupante pois o valor paramétrico máximo permitido para se poder considerar uma água segura para consumo humano é de 200 µg Fe/L. As Caldas da Rainha também conseguem atingir um valor de ferro mais elevado, de 165 µg Fe/L, apesar de não ser tão alarmante ou preocupante, pois ainda se encontra abaixo do valor de 200 µg Fe/L.

A zona centro também tem tendência para ter uma pequena concentração de cálcio nas águas.

Observa-se que em relação aos restantes metais, existem todos em quantidades vestigiais, sem nenhum destes ultrapassar os valores máximos permitidos ou influenciar de forma negativa a saúde humana em caso de ingestão dos mesmos.

A tabela 16 relaciona os valores dos metais de interesse de cinco regiões diferentes do Sul do país, nomeadamente Albufeira, Castro Marim, Lagos, Loulé e Vidigueira.

Tabela 16 – Valores obtidos para as regiões escolhidas do Sul

		Albufeira		Castro Marim		Lagos		Loulé		Vidigueira	
		Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Máximo
Al	µg/L	21	70	<15	<15	17	140	<15	21	110	130
Sb	µg/L	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
As	µg/L	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
B	mg/L	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15
Cd	µg/L	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5
Ca	mg/L	18	18	25,3	25,3	17	17	25	25	39	39
Pb	µg/L	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
Cu	µg/L	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
Cr	µg/L	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
Fe	µg/L	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50
Mg	mg/L	15	15	7,92	7,92	14	14	8,0	8,0	20	20
Mn	µg/L	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	23	<15	<15
Hg	µg/L	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2
Ni	µg/L	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Se	µg/L	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
Na	mg/L	29	29	15,9	15,9	26	26	16	16	34	34

Pode-se observar que as águas do Sul do país possuem alumínio, cálcio e sódio em quantidades superiores.

As cinco regiões possuem quantidades de alumínio altas, que apesar de inferiores ao valor paramétrico estabelecido de 200 µg Al/L, é necessário tomar cuidado pois já se consegue observar valores superiores a 100 µg Al/L nomeadamente em Lagos de 140 µg Al/L e na Vidigueira de 130 µg Al/L.

É na Vidigueira que se encontram os valores mais altos de cálcio, nomeadamente 39 mg Ca/L respetivamente.

Na Vidigueira é onde se observa uma quantidade superior de sódio, de 34 mg Na/L, mas este metal está presente de forma muito constante por toda a água da região sul.

Pode-se concluir que a água na região da Vidigueira é de momento a que possui maiores concentrações de metais, em comparação com as restantes quatro regiões.

Observa-se que, em relação aos restantes metais, existem todos em quantidades vestigiais, sem nenhum destes ultrapassar os valores máximos permitidos ou influenciar de forma negativa a saúde humana em caso de ingestão dos mesmos.

5.1. Consequências da presença de metais na água de consumo para a saúde dos seres vivos

Como se pôde observar o alumínio é um dos metais mais presentes (mesmo que em quantidades vestigiais) em todas as zonas do país, ou seja, todos os habitantes portugueses quando ingerem água da torneira acabam por estar, mesmo que em pequenas quantidades, a ingerir este composto químico.

Tal ocorrência pode parecer inofensiva, porém existem estudos que demonstram o quão prejudicial pode ser para a saúde ingerir este metal, mesmo que cumprindo os valores máximos estabelecidos pelo Decreto-Lei em vigor.

Num estudo realizado em 2021 sobre os “Efeitos Tóxicos e Genotóxicos Agudos de Alumínio e Manganês Usando Modelos *In Vitro*” concluiu-se que mesmo quando em contacto com concentrações de alumínio cujo limite máximo permitido por lei é respeitado, este tinha efeitos citotóxicos e genotóxicos nas linhagens celulares nos ovários de *hamsters*. Foram então identificados os efeitos citotóxicos do Al, evidenciados no ensaio dos respetivos cromossomas. Os autores deste estudo concluíram então que este demonstra como deveria haver uma revisão nos valores máximos permitidos por lei para aceitação do Al, pois estes, como se observou, podem trazer consequências graves para a saúde do ser vivo. ⁽⁴⁹⁾

Noutro estudo diferente, realizado em 2017, sobre “Poluição ambiental do alumínio: o assassino silencioso” conclui que o Al tem sido associado à neurotoxicidade. Recentemente níveis elevados de Al foram detetados no tecido cerebral de pacientes com DA e outras doenças neurodegenerativas. Em segundo lugar, estudos mostraram que as fórmulas lácteas contêm uma quantidade intolerável de Al, portanto, as crianças estão a ser muito expostas a esse metal tóxico. Embora alguns desses estudos sejam antigos, estudos recentes que medem o teor de Al indicam que nenhuma ação foi tomada para diminuir o nível do mesmo.

Terceiro, estudos recentes levantaram a preocupação de que a vacinação de bebés contenha também muito Al. Como os seres humanos são expostos diariamente ao Al a partir de inúmeras fontes, principalmente antropogénicas, deveria por isso existir uma grande preocupação de que essa exposição seja prejudicial à saúde humana. ⁽⁵⁰⁾

Por fim, noutro estudo realizado em 2021 também, sobre “Intoxicação óssea por alumínio na doença renal crónica”, sabe-se que a acumulação de Al leva a distúrbios de hematopoiese (processo de formação, desenvolvimento e maturação dos constituintes do sangue a partir de um precursor celular comum e indiferenciado conhecido como célula hematopoiética pluripotente) e mineralização óssea. Por exemplo, *Rao et al.* observaram uma menor resposta ao tratamento com eritropoietina (hormona de glicoproteína que controla a produção de células vermelhas do sangue) em 18 pacientes em hemodiálise com alta deposição de Al na frente de mineralização. O Al também se pode acumular nas glândulas paratireoides (glândulas que pertencem ao sistema endócrino) e interferir assim na atividade dos recetores de cálcio e na síntese e liberação do paratormónio (composto químico formado na glândula paratireoide, junto da tiroide e segregado na circulação sanguínea), com consequências no tecido ósseo. Devido a tudo isto, sugere-se que a acumulação de Al no tecido ósseo de pacientes com DRC em diálise seja investigado ativamente a cada 6 meses. No entanto, o papel dos exames aplicados rotineiramente (teste de desferrioxamina, biópsia de tecido ósseo e dosagem isolada de Al sérico) permanece incerto, por exemplo, naqueles pacientes com pequenas elevações nos níveis séricos de Al. ⁽⁵¹⁾

Relativamente ao cálcio, observa-se que este também é um metal comum, em todas as regiões do país, ou seja, habitantes de Norte a Sul que ingiram água diretamente das torneiras vão ter sempre contacto com este metal e, como se pode verificar nos artigos descritos abaixo, este, mesmo inferior aos valores paramétricos definidos pode trazer consequências graves para a saúde humana.

Dados publicados em 2017 num artigo sobre “Suplementos de cálcio e risco cardiovascular” sugerem um aumento significativo no CAC (Calcificação da Artéria Coronária) incidente com a suplementação de cálcio, ou seja, juntamente com dados anteriores que associam a suplementação de cálcio com mortalidade cardiovascular e mortalidade por todas as causas. Esta nova evidência vem enfatizar ainda mais a necessidade de uma nova abordagem baseada em evidências para a suplementação de cálcio. Além disso, é urgente também educar os profissionais de saúde sobre o possível risco de suplementação excessiva e desnecessária de cálcio. ⁽⁵²⁾

Num outro estudo realizado em 2010 denominado de “O excesso de cálcio é prejudicial à saúde?” correlacionou o excesso de cálcio com diversas doenças que podem estar associadas a este.

Por exemplo a calcificação vascular é um marcador de doença aterosclerótica subclínica (estreitamento ou obstrução do fluxo sanguíneo nas artérias carótidas por placas de ateroma que são formadas por algumas substâncias como gordura e cálcio) e um preditor independente de morbidade e mortalidade vascular subsequente em homens e mulheres, incluindo Doenças Cardiovasculares (DCV) e mortalidade. Em pacientes com doença renal, existem evidências de ensaios clínicos que demonstram que o excesso de cálcio está associado ao aumento da calcificação vascular.⁽⁵³⁾

Pedras nos rins têm sido também associadas a uma alta ingestão de cálcio, mas isso parece depender da fonte de cálcio. Este tema ainda é uma incógnita, mas é ao mesmo tempo um assunto que merece atenção porque ainda não existem certezas, pois diversos estudos relataram que uma dieta rica em cálcio está associada a um risco reduzido de cálculos renais, possivelmente pela redução da absorção intestinal de oxalato, que é um dos principais componentes dos cálculos renais. Em contraste, o uso de suplementos de cálcio tem sido associado a um risco aumentado de existência de pedra no rim, sendo por este motivo ainda inconclusivo.⁽⁵⁴⁾

Neste estudo também se observaram algumas evidências de que uma alta ingestão de cálcio está associada a lesões cerebrais. *Payne et al.* examinaram a relação entre a ingestão dietética de cálcio e vitamina D e lesões cerebrais, medidas por ressonância magnética, em 232 homens e mulheres idosos. Os autores descobriram que tanto o cálcio quanto a vitamina D estavam positivamente associados a um maior volume total de lesões cerebrais, mesmo após o controlo de possíveis fatores que poderiam influenciar este estudo, como a idade, hipertensão, diabetes, doença cardíaca, quilocalorias e carga de lesão. Em trabalhos anteriormente realizados, descobriram também que os indivíduos que consumiam produtos lácteos com alto teor de gordura (1,8 porções por dia) tinham 1,5 vezes mais volume de lesão cerebral do que aqueles que consumiam 0,3 porções por dia. Embora a causa e efeito não possa ser estabelecida a partir desses estudos transversais, a aparente ligação entre cálcio e lesões cerebrais justifica mais pesquisas, uma vez que as lesões cerebrais também têm sido associadas a um risco aumentado de comprometimento cognitivo, demência e depressão.⁽⁵³⁾

Uma análise recente de dados *post-hoc* (potência estatística de um teste de hipóteses binário) do estudo *Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation* do tratamento com raloxifeno (derivado de benzotiefeno que age como um modulador seletivo do recetor de estrógeno) em 7259

mulheres na pós-menopausa com osteoporose examinou as associações entre níveis basais mais elevados de cálcio e fósforo e eventos cardiovasculares incidentes ao longo de 4 anos.

(53)

O sódio é um dos metais que se pode encontrar na água em qualquer zona do país, estando por esse motivo toda a população de Portugal em contacto com este elemento químico.

Num estudo realizado em 2020, relacionaram-se dados de forma a tentar perceber se um dos fatores que provoca insuficiência cardíaca poderia ou não ser a ingestão de sódio. Apesar de se conseguir observar que parecia existir uma tendência na redução dos sintomas de insuficiência cardíaca (IC) nos pacientes com uma dieta que restringia a ingestão de sódio, ou seja, os pacientes que não incluíam este metal na sua dieta apresentavam menos sintomas, não foi possível observar qualquer efeito ou risco maior de mortalidade em relação à ingestão de sódio. Conclui-se então que um ensaio clínico aleatório é, portanto, necessário e importante para abordar esta questão clínica, pois há suspeitas de que a ingestão de sódio é um fator que provoca insuficiência cardíaca. ⁽⁵⁴⁾

Noutro artigo de 2020, sobre “Ingestão dietética de sódio e risco de doença cardiovascular: uma revisão sistemática” os estudos realizados forneceram evidências de que a alta ingestão de sódio é um importante fator de risco de DCV. O risco de DCV com alta ingestão de sódio em comparação com baixa ingestão de sódio aumentou significativamente em 19%. Na meta-análise, foi encontrada uma associação linear significativa entre a ingestão de sódio e o risco de DCV. Cada 1 g de ingestão de sódio na dieta aumenta o risco de DCV em 6% e a hipertensão do paciente. ⁽⁵⁵⁾

As Doenças Não Transmissíveis (DNTs) em estudo, correspondentes à hipertensão e a doenças cardiovasculares, são a principal causa de mortalidade e morbilidade em todo o mundo. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, as DNTs são responsáveis por aproximadamente 41 milhões de mortes a cada ano e representam 71% do total global de mortes anuais. Um total de 17,9 milhões de mortes são atribuíveis às DCV anualmente, e as DCV são responsáveis por 44% das mortes por DNTs. ⁽⁵⁵⁾

No que diz respeito ao ferro, observa-se através da análise de dados obtidos que este não é um metal que se encontre em grande abundância nas águas portuguesas, pois encontra-se

quase sempre abaixo dos valores que poderiam ser considerados perigosos. Mas, como é possível observar, existem duas exceções a esta situação, Caldas da Rainha e Montijo, que apresentam valores elevados de ferro. No Montijo, estes valores ultrapassam, em grande escala, os valores estabelecidos por lei para se poder considerar a respetiva água adequada para consumo do ser vivo. Assim, as pessoas destas duas regiões que consumam esta água vão estar sempre em contacto com concentrações muito elevadas de ferro o que pode ser prejudicial para a saúde das mesmas.

Um estudo realizado em 2018 sobre “Ferro e o cancro” conta com biomarcadores para avaliar os níveis de ferro corporal, nomeadamente proteínas circulantes de ligação de ferro (transferrina e ferritina) e saturação de transferrina – TF – (ou seja, a extensão em que os locais de ligação de ferro de TF são ocupados por ferro). Uma discussão completa destas proteínas é fornecida e através desta e do uso desses marcadores, diversos estudos epidemiológicos apoiam coletivamente uma associação positiva entre o aumento dos níveis de ferro corporal e o cancro. ⁽⁵⁶⁾

Um dos estudos que demonstrou inicialmente uma associação entre os níveis de ferro corporal e cancro foi realizado por Stevens et al. Uma das maiores descobertas deste estudo foi que os participantes com níveis mais altos de saturação de TF estavam em maior risco de ter cancro do que os participantes com níveis mais baixos de saturação de TF. ⁽⁵⁶⁾

Um suporte adicional para a associação entre o aumento dos níveis de ferro corporal e o aumento da incidência de cancro vem de estudos de doenças metabólicas do ferro. A hemocromatose hereditária, a doença prototípica da sobrecarga excessiva de ferro, pode surgir de mutações em uma variedade de genes envolvidos na regulação da captação sistémica de ferro, incluindo o próprio gene da hemocromatose, hepcidina, hemojuvelina, ferroportina e recetor de transferrina II. Estas mutações têm como consequência um grande aumento das concentrações de ferro no paciente. ⁽⁵⁶⁾

A compreensão do papel do ferro no cancro avançou consideravelmente nos últimos anos. Tornou-se evidente que o ferro contribui não apenas para a carcinogénese, mas também para a progressão tumoral e metástase. Através de interfaces com oncogenes e supressores de tumor, o metabolismo do ferro está intimamente ligado ao tecido biológico do cancro. ⁽⁵⁶⁾

O fenótipo de busca de ferro que caracteriza a maioria dos tumores pode ser explorado de duas maneiras: uma é restringir a disponibilidade de ferro, privando essas células de um nutriente crítico do qual elas apresentam maior dependência, e a segunda é usar as propriedades redox do excesso de ferro para promover preferencialmente a oxidação

citotóxica em células cancerígenas. Ambas as estratégias são exploradas ativamente. Além disso, existe um desenvolvimento das estratégias projetadas para usar vias de absorção de ferro para entregar preferencialmente drogas anticancerígenas nas células. ⁽⁵⁶⁾

Num segundo estudo realizado em 2019 sobre “O Impacto da Sobrecarga de Ferro e Ferroptose em Distúrbios Reprodutivos em Humanos: Implicações para Pré-eclâmpsia” demonstrou-se que a ingestão excessiva de ferro e/ou níveis elevados de ferro podem ser prejudiciais à gravidez e estão associados ao desenvolvimento de vários distúrbios reprodutivos. Isto deve-se a uma ferroptopatia subjacente caracterizada pelo excesso de ferro intracelular levando à ferroptose, um processo de morte celular programada mediada pela peroxidação lipídica das membranas celulares dependente de ferro. A ferroptose demonstrou desempenhar um papel importante em condições inflamatórias estéreis, como lesão por hipóxia/reperfusão. Algumas gestações geram uma resposta exagerada ao aumento agudo de oxigénio e ferro causado pelo evento de hipóxia/reperfusão fisiológica que ocorre em todas as gestações de 8 a 10 semanas. Essa onda de oxigénio e ferro resulta em peroxidação lipídica excessiva da membrana e ferroptose na interface materno-fetal, principalmente nas células trofoblásticas (conjunto de células que envolvem o embrião), levando à invasão endovascular rasa de EVCTs (Células Citotrofoblásticas Extravenosas) e remodelação subótima das artérias espirais maternas, as características patológicas da PE (Pré-Eclâmpsia). ⁽⁵⁷⁾

A PE (hipertensão gestacional com lesão de órgãos-alvo maternos) complica cerca de 5 % a 7% de todas as gestações. É uma das principais causas de morbidade e mortalidade materna, perdendo apenas para a doença tromboembólica (um coágulo que se forma na circulação sanguínea, prejudicando o fluxo de sangue nas veias do organismo) venosa em países desenvolvidos. A cada 8 minutos morre uma mulher por complicações da PE. Além disso, as mulheres que sobrevivem a uma gravidez com PE estão em risco significativamente aumentado de doença cardiovascular, acidente vascular cerebral e morte precoce remota ao parto. ⁽⁵⁷⁾

Relativamente ao arsénio observa-se, através da análise dos dados observados acima, que não é um metal abundante nas águas portuguesas, mas existem duas regiões de Portugal continental que possuem valores consideráveis deste elemento químico, nomeadamente a região de Sabrosa no Norte e o Montijo no centro do país.

Sendo este nomeado como um metal pesado pela Agência Portuguesa do Ambiente é necessário ter muita atenção às quantidades ingeridas deste nas águas e posteriores consequências do mesmo na saúde humana.

Analisando um artigo publicado em 2004, sobre “Intoxicação por arsénio” pode-se observar que diagnosticar envenenamento por arsénio apresenta uma série de desafios, pois os processos basais nas células são afetados e produzem sintomas de vários sistemas orgânicos. Os sintomas são frequentemente pouco específicos e podem ser confundidos com outros estados patológicos. Uma história completa e exame clínico são importantes. O equipamento de amostragem correto é necessário para evitar concentrações falsamente elevadas ou muito baixas. Certos métodos de análise podem separar o arsénio inorgânico do orgânico. É essencial também saber quais os compostos de arsénio que são incluídos nos resultados da análise para uma melhor interpretação. ⁽⁵⁸⁾

Os sintomas podem ser pouco específicos, e o diagnóstico deve ser confirmado pela deteção de arsénio no sangue, urina e cabelo. ⁽⁵⁸⁾

O arsénio pode ser encontrado em inúmeros compostos químicos com propriedades diferentes. Compostos inorgânicos de arsénio, como o trióxido de arsénio, são reativos e podem causar danos ao corpo. A ingestão de arsénio inorgânico (iAs) afeta a produção de energia celular e pode conduzir a envenenamentos letais. As características clínicas comuns após intoxicação aguda com arsénio são disfagia (dificuldade de deglutição), náusea, vômito, dor abdominal, diarreia, sede intensa e câibras musculares. As características clínicas da intoxicação crónica são hiperqueratose (espessamento da parte mais exterior da epiderme) nas palmas das mãos e solas dos pés, pigmentação e conjuntivite. ⁽⁵⁸⁾

Num segundo artigo publicado em 2021 sobre o “Arsénio urinário e mortalidade por doenças cardíacas no NHANES 2003-2014” conseguiu-se observar que apesar de um pequeno número de eventos, tempo de acompanhamento relativamente curto e altos limites analíticos de deteção para espécies urinárias de arsénio, a exposição a iAs em níveis baixos a moderados é consistente com o aumento da mortalidade por doença cardíaca no NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*) 2003-2014. ⁽⁵⁹⁾

Na análise realizada aos participantes do NHANES 2003-2014 com arsenobetaína (composto químico que é uma grande fonte de arsénio) urinária baixa/indetetável, foi possível observar que as concentrações urinárias de arsénio total, refletindo a exposição a iAs, foram positivamente e significativamente associadas à mortalidade por doença cardíaca em modelos de *spline* quadrático restritos ajustados em níveis mais baixos de exposição a iAs.

⁽⁵⁷⁾ *Spline* é um tipo de função polinomial por partes frequentemente utilizadas para interpolação. As curvas *spline* também são usadas em computação gráfica e *design* auxiliado por computador para aproximar formas complexas. ⁽⁶⁰⁾ *Spline* quadrático é uma técnica de modelagem de curva imperativa que foi estabelecida com vista às suas aplicações em várias disciplinas da ciência, engenharia e *design*. É um novo método *spline* que utiliza funções trigonométricas quadráticas por partes. ⁽⁶¹⁾

Apesar dos desafios e limitações significativos na estimativa da exposição a iAs dos participantes do NHANES, este estudo contribui com evidências importantes do impacto adverso da exposição crónica a iAs em níveis baixos a moderados relevantes para a população geral dos EUA. A meta-análise agrupada atualizada que avalia o risco relativo combinado da doença cardíaca coronária por duplicação de arsénio na água deve ser uma consideração importante para a avaliação de risco de iAs a ter em conta pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA. Embora a exposição ao arsénio na água potável tenha diminuído em algumas áreas dos EUA ao longo do tempo, de acordo com a EPA que reduz o nível máximo de contaminantes em sistemas públicos de água, muitas comunidades nos EUA permanecem expostas a concentrações de arsénio superiores a 5 e 10 µg/L. ⁽⁵⁹⁾

É ainda possível, através deste artigo, estabelecer uma associação entre exposição baixa a moderada a iAs e doenças cardiovasculares na população geral dos EUA. ⁽⁵⁹⁾

Pode-se observar que, apesar do níquel não ser um metal muito presente nas nossas águas, na região do Norte nomeadamente, em Sabrosa e em Santo Tirso podem-se encontrar concentrações altas deste metal, sendo este também denominado como um metal pesado. Podem-se verificar então as consequências da ingestão do mesmo nos artigos mencionados abaixo.

Num artigo publicado em 2020 sobre “Níquel: Saúde Humana e Toxicologia Ambiental” conseguiu-se observar que o níquel é um metal de ampla distribuição no meio ambiente. O contato com compostos de níquel solúveis e insolúveis pode causar uma variedade de efeitos colaterais na saúde humana. A exposição humana ao Ni pode ocorrer através de alimentos, água ou ar. Os trabalhadores das indústrias de produção e processamento de Ni são expostos por inalação e, em menor grau, por contato dérmico. O sistema nervoso é um dos principais órgãos-alvo da toxicidade do Ni; na verdade, pode ser acumulado no cérebro. A alergia ao níquel e aos metais é causada pelos materiais utilizados no nosso dia-a-dia, portanto, a hipótese de desencadear o aparecimento de reações alérgicas é alta. Este metal pode causar

uma alergia que se manifesta como dermatite de contato, dores de cabeça, manifestações gastrointestinais e respiratórias. Os mecanismos moleculares da neurotoxicidade induzida pelo Ni ainda não são claros, mas os investigadores pensam que o *stress* oxidativo e as disfunções mitocondriais têm um papel primário e importante. O dano mitocondrial induzido pelo Ni pode ocorrer primeiro como dano potencial da membrana mitocondrial, depois como redução da concentração de ATP mitocondrial e finalmente como destruição do ADN mitocondrial. Os danos às funções mitocondriais interferem na cadeia de transporte mitocondrial, amplificam os ROS (espécies que reagem ao oxigénio) e exacerbam o *stress* oxidativo. ⁽⁶²⁾

Num artigo publicado em 2019 sobre o “Mecanismo de Carcinogénese do Níquel: Dano ao DNA” definiu o níquel como um dos principais metais pesados cancerígenos. A exposição ocupacional e ambiental ao Ni tem sido implicada em diversos cancros de pulmão e nasais humanos. ⁽⁶³⁾

Existem muitos estudos sobre o mecanismo molecular de danos no ADN induzidos por compostos de Ni associados à carcinogénese. No entanto, os mecanismos exatos de danos causados no ADN por compostos de Ni ainda não são claros. Estudos anteriores demonstraram que este metal pode induzir danos ao ADN, e que este dano ocorre principalmente através da geração de ROS. Enquanto isso, o Ni também pode reprimir os sistemas de reparo do ADN, incluindo as vias de reparo de reversão direta nomeadamente NER (reparo dos nucleótidos), BER (reparo da excisão da base), HDR (reparo por recombinação homóloga), MMR (reparo de incompatibilidade) e NHEJ (junção final não homóloga), o que aumenta a acumulação de bases de ADN danificadas. A repressão do reparo destas ocorre a vários níveis, desde a inibição direta da enzima até à modulação da expressão da molécula de reparo. A exposição ao Ni pode, portanto, induzir diretamente o cancro através de danos no ADN e inibição do reparo de danos no mesmo. Por outro lado, essa inibição induzida pelo Ni também pode aumentar o risco de outros agentes (luz ultravioleta, radiação ionizante, produtos químicos, entre outros) promoverem o cancro. A supressão da via de reparo induzida por Ni resulta então na acumulação de ADN danificado nas células. Se a célula de ADN danificada conseguir sobreviver, este é então transmitida através do local de dano para as células filhas, o que contribui para a potencial carcinogénese. ⁽⁶³⁾

Um número crescente de estudos confirma que a geração de ROS é um mecanismo básico da toxicidade do Ni. No entanto, não há estudos sobre a geração de ROS na inibição do reparo de danos ao ADN induzidos por Ni. ⁽⁶³⁾

Como podemos observar através dos artigos seleccionados, todos os metais detetados, nas águas de consumo das câmaras municipais escolhidas pelo país têm consequências severas na saúde humana quando ingeridos em excesso.

Foram analisados e comparados com estudos já existentes alguns dos metais específicos que se encontram, apesar de a maioria abaixo dos valores paramétricos máximos, em quantidades ligeiramente significativas.

Por vezes podemos cair no erro de pensar que as concentrações destes metais encontrados nas águas podem ser inofensivas, mas esquecemo-nos que no nosso quotidiano (não só pela ingestão de água, mas também através da ingestão de comida, pelo ambiente em que trabalhamos, pelo próprio trabalho que fazemos, por medicação ou suplementos que tomamos) esta concentração de metais não é única, mas sim mais uma percentagem destes que somamos ao total com que o nosso corpo já teve contato, mesmo sem nos apercebermos.

Com o passar do tempo, se todos os dias fizer parte da rotina do ser humano ingerir estas águas, estes metais inevitavelmente vão-se acumulando no nosso sistema e a única maneira de se poder ter noção das quantidades certas que ingerimos é através do desenvolvimento de equipamentos de análise de águas que tenham a capacidade de detetar cada vez mais, valores menores destes metais, com exatidão e precisão.

Através da implementação e validação do ICP-OES no Laboratório Pró-Qualidade, a segurança procurada ficou mais próxima de ser realidade, pois em comparação com os equipamentos utilizados anteriormente a este, os valores de deteção foram reduzidos, existindo atualmente um LD inferior quando comparado com o LD anteriormente em vigor.

O alumínio, o cálcio e o sódio são elementos químicos que, considerando as regiões escolhidas para um breve estudo de Portugal Continental, estão presentes em águas de Norte a Sul, ou seja, todos os habitantes do país estão de alguma maneira em contacto com estes, muitos sem saberem que a sua ingestão, quando feita de uma forma prolongada e repetitiva pode trazer consequências graves para a saúde.

Estes três metais, que se encontram em quase todas as águas das regiões seleccionadas, conseguem em conjunto e de acordo com a análise dos artigos estudados ter efeitos tóxicos nos ovários dos *hamsters*, DA, doenças neurodegenerativas, Doença Renal Crónica, CAC,

calcificação vascular em pacientes com doença renal, pedras nos rins, lesões cerebrais, insuficiência cardíaca e DVC. ⁽⁴⁹⁻⁵⁵⁾

Além destes, há ainda outros três metais que também se apresentam em quantidades significativas nomeadamente, ferro, arsénio e níquel, mas estes apenas em certas regiões do país, como Montijo, Caldas da Rainha, Sabrosa e Santo Tirso, que além de todos os efeitos enumerados acima, têm efeitos próprios e característicos como cancro, PE nas mulheres grávidas, envenenamento, mortalidade por doença cardíaca, toxicidade a nível do sistema nervoso e carcinogénese. ^(55-59; 62+63)

6. Conclusão

O objetivo desta tese de mestrado foi alcançado, pois foi possível terminar toda a implementação e validação para a determinação de metais por ICP-OES.

Através dos estudos realizados concluiu-se que o método é adequado ao uso, isto é, cumpre todos os requisitos necessários para ser submetido ao processo de acreditação pela NP EN ISO/IEC 17025:2018, pois, após definição de todo o procedimento experimental e condições ótimas para análise, foram determinadas e validadas as gamas de trabalho (linearidades, testes de resíduos, intervalos de declives das curvas de calibração, teste de Mandel, homogeneidade de variâncias, confirmação dos limiares analíticos e repetibilidades, tendo cumprido todos os critérios mínimos exigidos, apresentados no capítulo 4 do presente documento), e estimadas a precisão e exatidão de cada gama de trabalho para posterior cálculo da estimativa da incerteza combinada expandida.

A componente da precisão foi estimada com base nos duplicados de amostras e padrões de controlo (precisão intermédia) e a componente da exatidão foi estimada com base nos ensaios de recuperação efetuados ao longo de cada gama de trabalho. Esta última podia, também, ter sido calculada com base em resultados de ensaios de aptidão, no entanto esta abordagem não foi realizada durante o desenvolvimento de todo o estudo, pois ainda não se tinham resultados suficientes para que esta fosse efetuada.

Desta forma, pode-se concluir que o objetivo do trabalho foi atingido, pois conseguiram-se efetuar todas as etapas importantes da validação e implementação do ICP-OES para a determinação de metais em águas para consumo humano, tendo os resultados obtidos (à exceção dos resultados obtidos para o chumbo) cumprido todas as exigências solicitadas quer pelo IPAC quer pelo Decreto-Lei 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei 152/2017, de 7 de dezembro – Decreto-Lei para a análise de Águas para Consumo Humano. É de realçar que a Diretiva da União Europeia 2020/2184 de 16 de dezembro de 2020 relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano vai ser transporta para o direito nacional e até 2026 todos os parâmetros terão que estar devidamente implementados e validados. Desta forma o Decreto-Lei 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei 152/2017, de 7 de dezembro ficará obsoleto.

O chumbo não cumpre os requisitos do Decreto-Lei 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei 152/2017, uma vez que o LQ estudado foi de 5 µg/L e o valor paramétrico é de 10 µg/L o que significa que o LQ máximo permitido é de 3 µg/L tendo em conta que o DL exige

que o LQ máximo permitido para um dado parâmetro seja, no máximo, igual a um terço do valor paramétrico estabelecido. Isto acontece uma vez que o LPQ tem o parâmetro chumbo acreditado por outra metodologia que permite um LQ de 3 µg/L. Desta forma uma amostra analisada por ICP-OES que tenha valores de chumbo inferiores a 5 µg/L terá que ser repetida nessa outra metodologia acreditada (absorção atômica por câmara de grafite) com LQ de 3 µg/L.

Por último, foi, ainda, apresentado um levantamento dos valores das diversas zonas em estudo, em Portugal Continental, sendo possível relacionar os valores obtidos com os artigos selecionados e analisados, conseguindo-se demonstrar, o quão importante é para a sociedade, ter-se noção das concentrações que se ingerem de cada metal, pois apesar de parecerem teores inofensivos, estes podem causar de igual forma danos na saúde pública.

Desta forma é possível concluir-se que os metais podem afetar o ser humano, conduzindo a inúmeras patologias.

Não estando ainda perfeitamente definidos todos os processos que decorrem no organismo humano desde a sua exposição, é apenas certo que para determinados níveis de concentração e exposição, rapidamente se pode verificar um quadro com diversos sintomas inerentes a diversas patologias, que se vão refletir a nível da Saúde Pública.

Sendo este tema uma problemática que preocupa todas as entidades de saúde, já foi definida legislação de forma a controlar alguns níveis de exposição. No entanto, nos mais diversos campos há ainda muito a fazer/pesquisar, desde as recomendações até às medidas reativas e proativas.

Pode-se ainda concluir que também será necessária uma revisão sobre os valores paramétricos máximos estipulados por lei, pois os processos bioquímicos a que os metais estão sujeitos no organismo ainda não estão totalmente definidos, concluindo-se, por isso, que os intervalos de ingestão permitidos nas águas de consumo humano deveriam ser menores.

Por fim pode-se verificar que existe uma necessidade de continuar a realizar estudos de forma a reduzir os danos que os metais pesados provocam na saúde pública e que a realização e verificação constante de análises às águas de consumo são essenciais, pois diversos fatores incontrolláveis pelo ser humano, podem criar uma toxicidade elevada nas mesmas.

7. Referências

- [1] – Grupo IPG disponível <https://grupoipg.pt/> - acedido em setembro 2022.
- [2] – Manual de Gestão e Qualidade do Laboratório Pró-Qualidade, versão 12, Dora Silva, Clara Santos, Barreiro, 2021.
- [3] – Reis. Edgar. *Implementação e validação de um método de ensaio em ICP-OES para a determinação de metais totais em amostras de água*, Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências de Lisboa, 2018.
- [4] – Decreto-Lei n.º 152/2017, de 7 de dezembro, Artigo 2º, disponível “<https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/152-2017-114315242>” - acedido em outubro de 2022.
- [5] – Maria João Rosa, Paula Vieira, José Menaia. ERSAR. Guia 13: “*Tratamento de água para consumo humano face à qualidade da água de origem*”.
- [6] – Schwartz H, Marushka L, Chan HM, Batal M, Sadik T, Ing A, Fediuk K, Tikhonov C. *Metals in the drinking water of First Nations across Canada. Can J Public Health*. 2021 Jun;112(Suppl 1):113-132. doi: 10.17269/s41997-021-00497-5. Epub 2021 Jun 28.
- [7] – Rocha. Adriano Ferreira. Cádmio, Chumbo, Mercúrio – A problemática destes metais pesados na Saúde Pública?, Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação do Porto, 2009.
- [8] – Avila-Campos, Mário Júlio; Metais Pesados: um perigo eminente; Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas. 2008.
- [9] – Colacioppo, Sérgio; Higiene e Toxicologia Ocupacional – Metais Pesados; Universidade de São Paulo; Brasil; 2001.
- [10] – Krewski D, Yokel RA, Nieboer E, Borchelt D, Cohen J, Harry J, Kacew S, Lindsay J, Mahfouz AM, Rondeau V. *Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide*. J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2007;10 Suppl 1(Suppl 1):1-269. doi: 10.1080/10937400701597766. Erratum in: J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2008 Feb;11(2):147.

- [11] – Batista. Bruno Lemo. *Avaliação do uso da cela de reação dinâmica em espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (DRC-ICP-MS) para determinação de elementos químicos em sangue*, Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo, 2009.
- [12] – Sundar S, Chakravarty J. *Antimony toxicity*. *Int J Environ Res Public Health*. 2010 Dec;7(12):4267-77. doi: 10.3390/ijerph7124267. Epub 2010 Dec 20.
- [13] – Kaur S, Kamli MR, Ali A. *Role of arsenic and its resistance in nature*. *Can J Microbiol*. 2011 Oct;57(10):769-74. doi: 10.1139/w11-062. Epub 2011 Sep 21.
- [14] – Loureiro RC, Calisto JFF, Magro JD, Restello RM, Hepp LU. *The influence of the environment in the incorporation of copper and cadmium in scraper insects*. *Environ Monit Assess*. 2021 Mar 24;193(4):215. doi: 10.1007/s10661-021-08997-0.
- [15] – Martínez de Victoria E. *El calcio, esencial para la salud [Calcium, essential for health]*. *Nutr Hosp*. 2016 Jul 12;33(Suppl 4):341. Spanish. doi: 10.20960/nh.341.
- [16] – *Lead and mercury levels in an environmentally exposed population in the Central Brazil*. *CadSaude Publica*. 2018 Mar 1;34(2):e00034417. Portuguese, English. doi: 10.1590/0102-311X00034417.
- [17] – Jesus LDF, Moreira MFR, Azevedo SV, Borges RM, Gomes RAA, Bergamini FPB, Teixeira LR. *Níveis de chumbo e mercúrio em uma população ambientalmente exposta no Brasil Central*. *Cad Saude Publica*. 1º de março de 2018;34(2):e00034417. português, inglês. doi: 10.1590/0102-311X00034417.
- [18] – Xu J, Wang W, Wang H, Zhang H. *[Progress in bioremediation of copper-contaminated soils]*. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*. 2020 Mar 25;36(3):471480. Chinese. doi:10.13345/j.cjb.190381.
- [19] – Pizarro GE, Vargas IT, Pastén PA, Calle GR. *Modeling MIC copper release from drinking water pipes*. *Bioelectrochemistry*. 2014 Jun; 97:23-33. doi:10.1016/j.bioelechem.2013.12.004. Epub 2013 Dec 24.
- [20] – Afonso. Hugo André Pires. *Avaliação da presença de metais pesados em produtos alimentares em embalagens metálicas*, Tese de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia de Lisboa, 2018.

- [21] – De Mello Gabriel GV, Pitombo LM, Rosa LMT, Navarrete AA, Botero WG, do Carmo JB, de Oliveira LC. *The environmental importance of iron speciation in soils: evaluation of classic methodologies*. Environ Monit Assess. 2021 Jan 15;193(2):63. doi: 10.1007/s10661-021-08874-w.
- [22] – Schwartz H, Marushka L, Chan HM, Batal M, Sadik T, Ing A, Fediuk K, Tikhonov C. *Metals in the drinking water of First Nations across Canada*. Can J Public Health. 2021 Jun;112(Suppl 1):113-132. doi: 10.17269/s41997-021-00497-5. Epub 2021 Jun 28.
- [23] – Rylander R. *Magnesium in drinking water - a case for prevention?* J Water Health. 2014 Mar;12(1):34-40. doi: 10.2166/wh.2013.110.
- [24] – Queiroz HM, Ying SC, Abernathy M, Barcellos D, Gabriel FA, Otero XL, Nóbrega GN, Bernardino AF, Ferreira TO. *Manganese: The overlooked contaminant in the world largest mine tailings dam collapse*. Environ Int. 2021 Jan;146:106284. doi: 10.1016/j.envint.2020.106284. Epub 2020 Nov 29.
- [25] – Aschner M, Erikson K. *Manganese*. Adv Nutr. 2017 May 15;8(3):520-521. doi: 10.3945/an.117.015305.
- [26] – *Lead and mercury levels in an environmentally exposed population in the Central Brazil*. Cad Saude Publica. 2018 Mar 1;34(2):e00034417. Portuguese, English. doi: 10.1590/0102-311X00034417.
- [27] – Jesus LDF, Moreira MFR, Azevedo SV, Borges RM, Gomes RAA, Bergamini FPB, Teixeira LR. *Lead and mercury levels in an environmentally exposed population in the Central Brazil*. Cad Saúde Pública. 2018 Mar 1;34(2):e00034417. Portuguese, English. doi: 10.1590/0102-311X00034417.
- [28] – Genchi G, Carocci A, Lauria G, Sinicropi MS, Catalano A. *Nickel: Human Health and Environmental Toxicology*. Int J Environ Res Public Health. 2020 Jan 21;17(3):679. doi: 10.3390/ijerph17030679.
- [29] – Shamberger RJ. *Selenium in the environment*. Sci Total Environ. 1981 Jan;17(1):59-74. doi: 10.1016/0048-9697(81)90108-x.
- [30] – ERSAR – Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos, disponível <https://www.ersar.pt/pt> - acedido em outubro de 2022.

- [31] – Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de Agosto, disponível <https://files.dre.pt/1s/2007/08/16400/0574705765.pdf> - acedido em outubro de 2022.
- [32] – <http://www.eptis.bam.de/en/index.htm> - acedido em outubro de 2022.
- [33] – https://alfresco-staticfiles.s3.amazonaws.com/alfresco_images/pharma/2014/08/21/9a44c8ef-e7e6-428e-a783-01b8430e2bb5/article-628931.pdf - acedido em outubro de 2022.
- [34] – Method 6010D *Inductively Coupled Plasma—Optical Emission Spectrometry* disponível “<https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-12/documents/6010d.pdf>” – acedido em outubro de 2022.
- [35] – Method 200.7: *Determination of metals and trace elements in water and wastes by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry* por T.D. Martin, C.A. Brockhoff, J.T. Creed, and EMMC Methods Work Group disponível <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-06/documents/epa-200.7.pdf> - acedido em outubro de 2022.
- [36] – ISO 11885:2007 – *Water quality – Determination of selected elements by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES)*.
- [37] – Kiran. Siva Sai. E S. Raja. *A Review on Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (Icp-Oes) with a Special Emphasis on its Applications*. Scholars Research Library. Der Pharmacia Lettre, 2017, 9 [10]:44-54.
- [38] – Guia Relacre 13 – *Validação de métodos internos de ensaio em análise química*, Fevereiro 2000.
- [39] – NP EN ISO/IEC 17025:2018 – *Requisitos gerais de competência para laboratórios*.
- [40] – OGC 007 – *Guia para a Quantificação de Incerteza em Ensaio Químicos*, Janeiro 2007.
- [41] – ISO 8466-1:2021 – *Water quality – Calibration and evaluation of analytical methods – Linear calibration function*.
- [42] – ISO 8466-2:2001 – *Water quality – Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics – Calibration strategy for non-linear second-order calibration functions*.

- [43] – Miller J. C. ; Miller, J. N. *Statistics for Analytical Chemistry* 2nd ed. Ellis Horwood Limited, 1988.
- [44] – R.B. Baird, A.D. Eaton, E.W. Rice. 2018. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 23rd Edition. Edited by APHA, AWWA, WEF; Washington.
- [45] – ISO 9658:1990 – Determination of aluminium content – Flame atomic absorption spectrometric method.
- [46] – EN ISO 5667-3:2018 – *Water quality sampling – preservation and handling of water samples*.
- [47] – Manual do equipamento ICP-OES iCAP Pro *Thermo Scientific*. Revision D. November 2021.
- [48] – *L'Analyse De L'Eau* - 10 Ed. - *Eaux Naturelles, Eaux Residuares, Eau De Mer*. Rodier J., Legube..
- [49] – Francisco LFV, Baldivia DDS, Crispim BDA, Klafke SMFF, Castilho PF, Viana LF, Santos ELD, Oliveira KMP, Barufatti A. *Acute Toxic and Genotoxic Effects of Aluminum and Manganese Using In Vitro Models*. *Toxics*. 2021 Jun 30; 9(7):153. doi: 10.3390/toxics9070153.
- [50] – Alasfar RH, Isaifan RJ. *Aluminum environmental pollution: the silent killer*. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021 Sep;28(33):44587-44597. doi: 10.1007/s11356-021-14700-0. Epub 2021 Jul 1.
- [51] – Oliveira RB, Barreto FC, Nunes LA, Custódio MR. *Aluminum Intoxication in Chronic Kidney Disease*. *J Bras Nefrol*. 2021 Dec 3;43(4 Suppl 1):660-664. doi: 10.1590/2175-8239-JBN-2021-S110.
- [52] – Tankeu AT, Ndip Agbor V, Noubiap JJ. *Calcium supplementation and cardiovascular risk: A rising concern*. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2017 Jun;19(6):640-646. doi: 10.1111/jch.13010. Epub 2017 May 2.
- [53] – Daly RM, Ebeling PR. *Is excess calcium harmful to health?* *Nutrients*. 2010 May; 2(5):505-22. doi: 10.3390/nu2050505. Epub 2010 May 17.
- [54] – Patel Y, Joseph J. *Sodium Intake and Heart Failure*. *Int J Mol Sci*. 2020 Dec 13; 21(24):9474. doi: 10.3390/ijms21249474.

- [55] – Wang YJ, Yeh TL, Shih MC, Tu YK, Chien KL. *Dietary Sodium Intake and Risk of Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis*. *Nutrients*. 2020 Sep 25; 12(10):2934. doi: 10.3390/nu12102934.
- [56] – Torti SV, Manz DH, Paul BT, Blanchette-Farra N, Torti FM. *Iron and Cancer*. *Annu Rev Nutr*. 2018 Aug 21; 38:97-125. doi: 10.1146/annurev-nutr-082117-051732.
- [57] – Ng SW, Norwitz SG, Norwitz ER. *The Impact of Iron Overload and Ferroptosis on Reproductive Disorders in Humans: Implications for Preeclampsia*. *Int J Mol Sci*. 2019 Jul 4;20(13):3283. doi: 10.3390/ijms20133283.
- [58] – Olsen V, Mørland J. *Forgiftning med arsen [Arsenic poisoning]*. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2004 Nov 4;124(21):2750-3. Norwegian.
- [59] – Nigra AE, Moon KA, Jones MR, Sanchez TR, Navas-Acien A. *Urinary arsenic and heart disease mortality in NHANES 2003-2014*. *Environ Res*. 2021 Sep;200:111387. doi: 10.1016/j.envres.2021.111387. Epub 2021 Jun 6.
- [60] – Netinbag.com – O que é um Spline? Disponível <https://www.netinbag.com/pt/science/what-is-a-spline.html> – acedido em Setembro de 2022.
- [61] – Samreen S, Sarfraz M, Hussain MZ. *A quadratic trigonometric spline for curve modeling*. *PLoS One*. 2019 Jan 10;14(1):e0208015. doi: 10.1371/journal.pone.0208015.
- [62] – Genchi G, Carocci A, Lauria G, Sinicropi MS, Catalano A. *Nickel: Human Health and Environmental Toxicology*. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Jan 21;17(3):679. doi: 10.3390/ijerph17030679.
- [63] – Guo H, Liu H, Wu H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L. *Nickel Carcinogenesis Mechanism: DNA Damage*. *Int J Mol Sci*. 2019 Sep 21;20(19):4690. doi: 10.3390/ijms20194690.

8. ANEXOS

Anexo I – Apresentação de resultados obtidos pelo software do ICP-OES

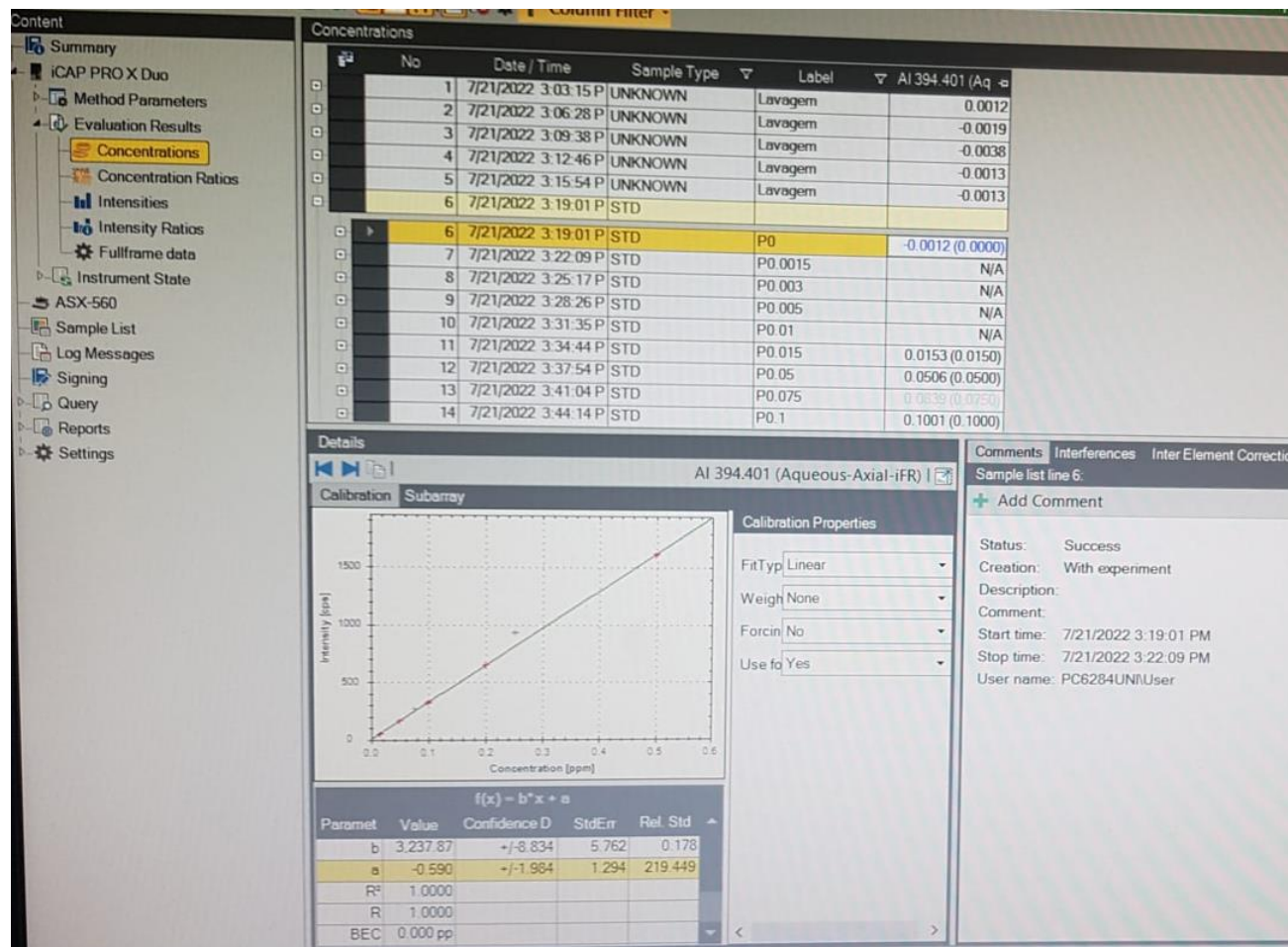


Figura 4 – Exemplo dos resultados obtidos pelo software do ICP-OES para a curva de calibração do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm).

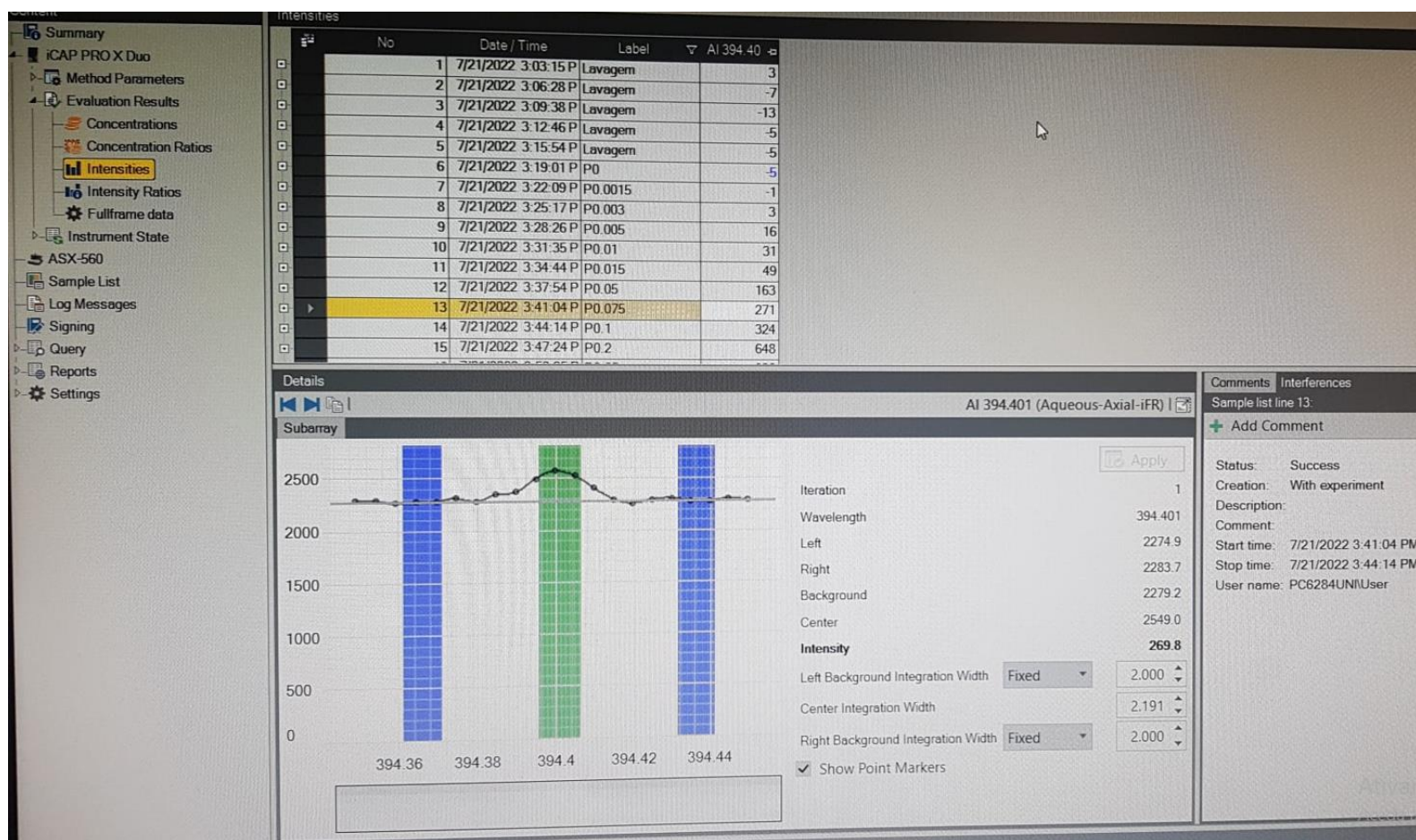


Figura 5 – Exemplo da integração dos resultados obtidos pelo software do ICP-OES para a curva de calibração do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm).

Anexo II – Teste de Linearidade

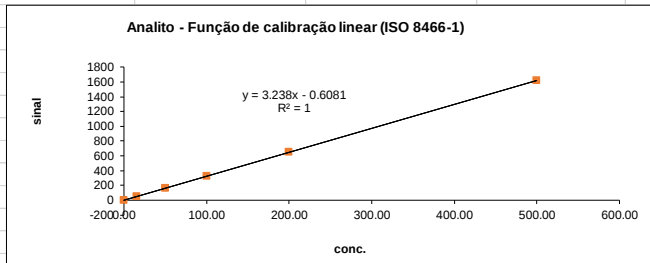
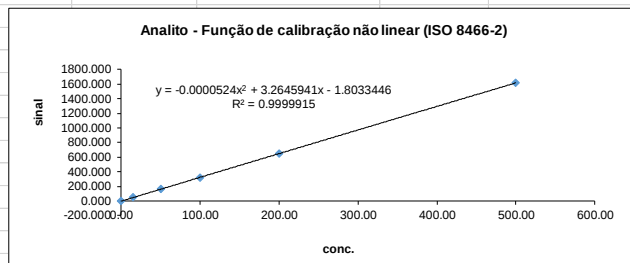
Verificação da linearidade - Visualização gráfica, r, Teste de Mandel											
VERIFICAÇÃO DA LINEARIDADE DA CURVA DE CALIBRAÇÃO											
Método:	Alumínio-ICP 15-500 µg/L (394,401 nm)				Data:	2022.07.21	Elaborada por:		Iúri Sousa		
Dados da calibração						Método mínimos quadrados					
i	Concentração (x) _i	Sinal (y _{i,1})	Sinal (y _{i,2})	Sinal (y _{i,3})	Sinal (média)	(X _i - X _{médio})	(Y _i - Y _{médio})	(X _i - X _{médio}). (Y _i - Y _{médio})	(X _i - X _{médio}) ²	(Y _i - Y _{médio}) ²	
0	0.00	-4.6			-4.600	-144.17	-471	67874	20784	221653	
1	15.00	49			49.000	-129.17	-417	53888	16684	174056	
2	50.00	163.3			163.300	-94.17	-303	28523	8867	91748	
3	100.00	323.6			323.600	-44.17	-143	6298	1951	20335	
4	200.00	648.400			648.400	55.83	182	10173	3117	33197	
5	500.00	1617.500			1617.500	355.83	1151	409671	126617	1325492	
6											
7											
Parâmetros da Retra (y=mx+b)											
x - médio	144.17										
y - médio	466.20										
Declive (m)	3.23797										
Ord. Origem (b)	-0.6081										
r	1.0000										
N	6										
N-2	4										
N-3	3										
a	-0.0000524										
b	3.2645941										
c	-1.8033446										
											
Parte 1						Parte 2					
(b + m x _i)	y _i - (b + m x _i)	[y _i - (b + m x _i)] ²	S _{y/x}	S _{y/x} ²	(N-2).S _{y/x} ²	(ax _i ² +bx _i +c)	y _i - (ax _i ² +bx _i +c)	[y _i - (ax _i ² +bx _i +c)] ²	S _{y2}	S _{y2} ²	(N-3).S _{y2} ²
-0.6081	-3.9919	15.935616	2.448978	5.997493	23.989972	-1.803345	-2.796655	7.821281	2.30409	5.30885	15.92654
47.9616	1.0384	1.078341				47.153777	1.846223	3.408540			
161.2907	2.0093	4.037320				161.295360	2.004640	4.018580			
323.1894	0.4106	0.168560				324.132065	-0.532065	0.283094			
646.9869	1.4131	1.996753				649.019475	-0.619475	0.383750			
1618.3794	-0.8794	0.773383				1617.393705	0.106295	0.011299			
-0.6081	0.6081	0.369732				-1.803345	1.803345	3.252052			
-0.6081	0.6081	0.369732				-1.803345	1.803345	3.252052			
Teste Mandel		Coef. Var. (%)	0.52 <th colspan="2">Coeficiente de Correlação (r)</th> <td colspan="5"></td>	Coeficiente de Correlação (r)							
DS ² (Dif. Variâncias)	8	LQ (10xS _{y/x} /m)	7.56	Valor obtido	1.0000						
VT (DS ²)/(N-3).S _{y2} ²)	1.52				Critério aceitação	0.9950					
F(95%, 1, n-3)	10.13				Conclusão	OK					
Conclusão	A função de calibração é linear		Se VT<=F a função de calibração é linear								
Responsável	Iúri Sousa		Se VT>F a função de calibração é não linear			Coef. Variação (%)	0.52				

Figura 6 – Folha de cálculo utilizada para o teste da linearidade da gama de trabalho do alumínio (λ = 394,401 nm).

Anexo III – Teste de Resíduos

Verificação da linearidade - teste de resíduos					
CURVA DE CALIBRAÇÃO - TESTE DE RESÍDUOS					
Método:	Alumínio-ICP 15-500ug/L 394,401 nm) (1150W)		Data:	2022.07.21	Elaborada por: lúri sousa
Dados da calibração		sinal estimado	Log (conc.)	sinal exp / Sinal es	Resíduos
Conc.	Sinal	-0.608	-	7.565	756.51
0.00	-4.6	47.962	1.18	1.022	102.17
15.00	49	161.291	1.70	1.012	101.25
50.00	163.3	323.189	2.00	1.001	100.13
100.00	323.6	646.987	2.30	1.002	100.22
200.00	648.4	1618.379	2.70	0.999	99.95
500.00	1617.500				
Declive (m)	3.23797				
Ord. Origem (b)	-0.6081				
r	1.0000				
Conclusão	Resíduos <5%, à exceção do branco. OK.				
Responsável	lúri Sousa				

Teste de Resíduos

Log (conc.)	Resíduos
-0.608	756.51
1.18	102.17
1.70	101.25
2.00	100.13
2.30	100.22
2.70	99.95

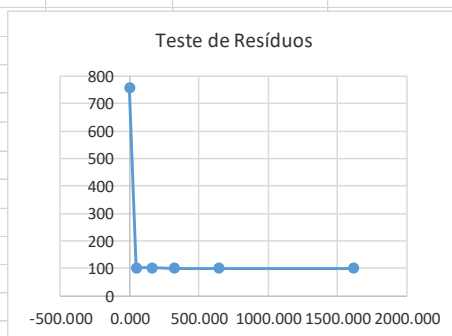


Figura 7 – Folha de cálculo utilizada para o teste de resíduos da gama de trabalho do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm).

Anexo IV – Intervalo de Declives

RETA DE CALIBRAÇÃO - ESTABILIDADE DE DECLIVES				
Método:	ICP-OES - Al ($\lambda=394.401$; 15-500 $\mu\text{g/L}$)			
	Data curva	Declive	Ordenada na origem	Data última manutenção
1	2022.07.19	3.56699		
2	20/07/022	3.29343		
3	2022.07.21	3.23797		
4	2022.07.25	4.25252		
5	2022.07.26	4.51200		
6	2022.07.27	4.48300		
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				
	Média	3.89098		
	DP	0.59251		
	CV	15.2		
	Critério de aceitação de declives			
	Máx. (Média+2DP)	5.0760		
	Mín. (Média-2DP)	2.7060		
	Data	Declive	Aceitável?	Resp.

Figura 8 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo do intervalo de declives da gama de trabalho do alumínio ($\lambda = 394,401 \text{ nm}$).

Anexo V – Homogeneidade de Variâncias

Verificação da Linearidade - Homogeneidade de variâncias														
CURVA DE CALIBRAÇÃO - HOMOGENEIDADE DE VARIÂNCIAS														
Método:	ICP-OES - Al (λ=394.401; 15-500 µg/L)					Data:	2022.07.21	Elaborado por:		Iúri Sousa				
Gama:														
Dados da calibração													Desv. Padrão	Variância
i	Conc. (xi)	Abs yi,1	Abs yi,2	Abs yi,3	Abs yi,4	Abs yi,5	Abs yi,6	Abs yi,7	Abs yi,8	Abs yi,9	Abs yi,10	Abs média	s	s2
Extremo inf.	15.00	52.7000	54.9000	50.2000	48.0000	53.0000	50.1000	50.8000	54.7000	52.0000	54.8000	52.120	2.34E+00	5.46E+00
Extremo sup.	500.00	1629.5000	1615.0000	1618.5000	1624.0000	1620.8000	1624.5000	1623.2000	1632.1000	1625.0000	1623.5000	1623.610	4.92E+00	2.42E+01
Teste F		Avaliação:												
s ² (Extremo inferior)	5.46E+00	Se PG<F, as diferenças de variâncias não são significativas e a gama está bem ajustada.												
s ² (extremo superior)	2.42E+01	Se PG>F, as diferenças de variâncias são significativas e a gama de trabalho terá de ser reduzida.												
PG (S ² maior/S ² menor)	4.43													
F(99%; n-1; n-1)	5.35													
Conclusão	Gama de trabalho bem ajustada													
Responsável	Iúri Sousa													

Figura 9 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo da homogeneidade de variâncias da gama de trabalho do alumínio ($\lambda = 394,401 \text{ nm}$).

Anexo VI – Limiares Analíticos

DETERMINAÇÃO DOS LIMIARES ANALÍTICOS									
Método: ICP-OES - Al (λ=394.401; 15-500 µg/L)				Data: 2022.07.21		Resp. Iúri Sousa			
Amostra com baixa concentração do analito								Estatística mín. quadrados	
n	Sinal	Concentração	Data	n	Sinal	Concentração	Data	Data	LQ (10xSy/x/m)
1				1		15.0	2022.07.19	2022.07.19	15.77
2				2		15.2	2022.07.20	20/07/022	7.56
3				3		16.3	2000.07.21	2022.07.21	9.24
4				4		15.3	2022.07.25	2022.07.25	18.14
5				5		15.7	2022.07.25	2022.07.26	18.23
6				6		17.0	2022.07.25	2022.07.27	16.44
7				7		17.2	2022.07.25		
8				8		16.8	2022.07.25		
9				9		15.9	2022.07.26		
10				10		16.1	2022.07.26		
11				11		15.8	2022.07.26		
12				12		15.9	2022.07.26		
13				13		16.1	2022.07.27		
14				14		15.9	2022.07.27		
15				15		15.7	2022.07.27		
16				16					
17				17					
18				18					
19				19					
20				20					
21				21					
22				22					
23				23					
24				24					
25				25					
26				26					
27				27					
28				28					
29				29					
30				30					
Média				Média		15.99		Média	14.23
DP				DP		0.63101367			
LD (Média+3,3xDP)				LD (5xDP)		3.16			
LQ (Média+10xDP)				LQ (3xLD)		9.47			
					Assumido LQ= 15 µg/L				
Verificação experim. do LQ		Valor teórico							
n	Concentração	Desvio Rel%	Data						
1	15.0	0.00	2022.07.19						
2	15.2	1.33	2022.07.20						
3	16.3	8.67	2000.07.21						
4	15.3	2.00	2022.07.25						
5	15.7	4.67	2022.07.25						
6	17.0	13.33	2022.07.25						
7	17.2	14.67	2022.07.25						
8	16.8	12.00	2022.07.25						
9	15.9	5.74	2022.07.26						
10	16.1	7.09	2022.07.26						
11	15.8	5.09	2022.07.26						
12	15.9	5.68	2022.07.26						
13	16.1	7.34	27/0/2022						
14	15.9	6.28	27/0/2022						
15	15.7	4.87	27/0/2022						
Valor médio		15.99		Conclusão					
ER médio (%)		6.58		ER e CV <15% - LQ 15 µg/L confirmado experimentalmente					
CV (%)		3.95							

Figura 10 – Folha de cálculo utilizada para a confirmação dos limiares analíticos da gama de trabalho do alumínio ($\lambda = 394,401 \text{ nm}$).

Anexo VII – Repetibilidade

Limite de Repetibilidade							
Método:	ICP-OES - Al (λ =394.401; 15-500 $\mu\text{g/L}$)					Resp.	Iúri Sousa
Tipo de amostra:		Padrão Controlo		Tipo de amostra:		Amostra	
Data:		2022.07.21		Data:		2022.07.27	
Amostra/padrão:		PC15 ug/L		Amostra/padrão:		2242154	
	n	conc.			n	conc.	
	1	16.4			1	208.2	
	2	17.1			2	206.5	
	3	15.7			3	209.6	
	4	15.0			4	210.0	
	5	16.6			5	208.3	
	6	16.3			6	205.6	
	7	15.9			7	203.2	
	8	17.1			8	208.6	
	9	16.2			9	206.0	
	10	16.4			10	212.5	
	Média	16.270			Média	207.850	
	DP	0.6325			DP	2.6273	
	DPR (%)	3.9			DPR	1.3	
	Rep. (2,8xDPR)	10.9			Rep. (2,8xDPR)	3.5	
Tipo de amostra:				Tipo de amostra:			
Data:				Data:			
	n	conc.			n	conc.	
	1				1		
	2				2		
	3				3		
	4				4		
	5				5		
	6				6		
	7				7		
	8				8		
	9				9		
	10				10		
	Média				Média		
	DP				DP		
	DPR				DPR		
	Rep. (2,8xDPR)				Rep. (2,8xDPR)		

Figura 11 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo da repetibilidade da gama alumínio ($\lambda = 394,401 \text{ nm}$).

Anexo VIII – Estimativa da Incerteza Combinada e Apresentação da Declaração de Conformidade do Método

Estimativa de Incerteza - Quadro Síntese																			
Ensaio: ICP-OES - Al (λ=394.401; 15-500 µg/L)		Componente da Precisão							Componente da Justeza (Veracidade)								Incerteza		
Ensaio - Método	Matriz	Duplicados			Padrões			Incert.	MRC			EIL		RR		Incert.	Incerteza		
		Nº	Usar Dupl?	CV (%)	Nº	Conc.	CV (%)		u _{precisão} (%)	Nº	Conc.	u _{justeza} (%)	Nº	u _{justeza} (%)	Nº		u _{justeza} (%)	Seleç.	u _c (%)
ICP-OES - Al (λ=394.401)	ACH	15	Sim	4.97	17	15	3.73	6.22						15	7.36	RR	7.36	9.63	19.26
ICP-OES - Al (λ=394.401)	ACH	15	Sim	4.97	17	500	1.89	5.32						15	7.36	RR	7.36	9.08	18.16
Declaração de Conformidade do método:									Expressão resultados										
O método está conforme pois cumpre a incerteza máxima do DL em vigor (incerteza máxima de 25% para as águas de consumo). A avaliação do valor paramétrico foi efetuada uma vez que este se encontra dentro da gama de trabalho estudada.									Dois algarismos significativos, de acordo com a incerteza.									Data: 2022.07.27 Responsável: Iúri Sousa	

Figura 12 – Folha de cálculo síntese utilizada para o cálculo da estimativa da incerteza combinada expandida da gama de trabalho do alumínio ($\lambda = 394,401$ nm) e apresentação da respetiva declaração de conformidade do método.

		Estimativa de Incerteza				Componente Precisão - Duplicados				Estimativa de Incerteza				Componente Justeza - Recuperações		
Ensaio :		ICP - AI 394,401 15-500 ug/L		Matriz:	ACH	Amplitude (µg/L)	Ampl. Relat. (%)	Ensaio :		Número de ensaios = 15		Incerteza padrão da Justeza = 7.36				
		Média: 5.61 Desvio Padrão duplicados: 4.970 Incerteza Padrão dos Duplicados: 4.97				5.61	5.86	ICP - AI 394,401 15-500 ug/L	Recuperação Média (%) = 100.3		t Calculado = 0.043 t crítico = 2.145 Avaliação = Sem correção					
	Unidades					5.19	5.19		Σ (D _i ²) = 796.9							
	µg/L					4.97	5.19		b _{rms} = 7.3							
		nº de Ensaios:				15		Matriz: ACH	Estimativa Incert. adição = 1.0							
	Analista	Data	Resul.1 (µg/L)	Resul. 2 (µg/L)	Média (µg/L)	Amplitude (µg/L)	Ampl. Relat. (%)		Analista	Data	Am. Fort. (µg/L)	Amostra (µg/L)	Adição (µg/L)	%Recup.	Bias (%) Di (%)	Bias ² (%) Di ² (%)
1	Íluri Sousa	2022.07.19	22.2	20.1	21.150	2.10	9.93	1	Íluri Sousa	2022.07.19	38.3	21.2	15.0	114.3	14.3	205.44
2	Íluri Sousa	2022.07.20	16.7	16.9	16.800	0.20	1.19	2	Íluri Sousa	2022.07.20	31.1	16.8	15.0	95.3	-4.7	21.78
3	Íluri Sousa	2000.07.21	154.2	166.3	160.250	12.10	7.55	3	Íluri Sousa	2000.07.21	354.5	160.3	200.0	97.1	-2.9	8.27
4	Íluri Sousa	2022.07.25	206.1	208.4	207.250	2.30	1.11	4	Íluri Sousa	2022.07.25	412.9	207.3	200.0	102.8	2.8	7.98
5	Íluri Sousa	2022.07.25	36.5	34.2	35.350	2.30	6.51	5	Íluri Sousa	2022.07.25	81.6	35.4	50.0	92.5	-7.5	56.25
6	Íluri Sousa	2022.07.25	56.6	59.1	57.850	2.50	4.32	6	Íluri Sousa	2022.07.25	105.3	57.9	50.0	94.9	-5.1	26.01
7	Íluri Sousa	2022.07.25	124.2	133.3	128.750	9.10	7.07	7	Íluri Sousa	2022.07.25	342.5	128.8	200.0	106.9	6.9	47.27
8	Íluri Sousa	2022.07.25	42.6	46.1	44.350	3.50	7.89	8	Íluri Sousa	2022.07.25	60.0	44.4	15.0	104.3	4.3	18.78
9	Íluri Sousa	2022.07.26	98.2	105.3	101.750	7.10	6.98	9	Íluri Sousa	2022.07.26	147.6	101.8	50.0	91.7	-8.3	68.89
10	Íluri Sousa	2022.07.26	305.5	298.3	301.900	7.20	2.38	10	Íluri Sousa	2022.07.26	406.5	301.9	100.0	104.6	4.6	21.16
11	Íluri Sousa	2022.07.26	18.6	20.0	19.300	1.40	7.25	11	Íluri Sousa	2022.07.26	49.9	19.3	30.0	102.0	2.0	4.00
12	Íluri Sousa	2022.07.26	187.4	204.3	195.850	16.90	8.63	12	Íluri Sousa	2022.07.26	410.0	195.9	200.0	107.1	7.1	50.06
13	Íluri Sousa	2022.07.27	39.9	39.2	39.550	0.70	1.77	13	Íluri Sousa	2022.07.27	52.3	39.6	15.0	85.0	-15.0	225.00
14	Íluri Sousa	2022.07.27	215.5	200.0	207.750	15.50	7.46	14	Íluri Sousa	2022.07.27	257.8	207.8	50.0	100.1	0.1	0.01
15	Íluri Sousa	2022.07.27	14.8	16.0	15.400	1.20	7.79	15	Íluri Sousa	2022.07.27	31.3	15.4	15.0	106.0	6.0	36.00

Figura 13 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo da estimativa da incerteza associada à precisão (duplicados) e à exatidão (ensaios de recuperação).

		Estimativa de Incerteza						Componente Precisão - Padrões de Controlo		
Ensaio :		ICP-OES - Al (λ =394.401; 15-500 $\mu\text{g/L}$)		Matriz:			nº Ensaios		17	
Padrão de Controlo:		15		Média dos resultados 15.992 Desvio Padrão 0.597 CV (%)=RSD % 3.73 Incerteza Padrão do Padrão de Controlo 3.73						
Unidades										
$\mu\text{g/L}$										
	Analista	Data	Conc. Obs. ($\mu\text{g/L}$)	Avaliação	Média	+15%	-15%			
1	lúri Sousa	2022.07.19	15.000	0.0%	15.99	17.25	12.75			
2	lúri Sousa	2022.07.20	15.200	1.3%	15.99	17.25	12.75			
3	lúri Sousa	2000.07.21	16.300	8.7%	15.99	17.25	12.75			
4	lúri Sousa	2022.07.25	15.300	2.0%	15.99	17.25	12.75			
5	lúri Sousa	2022.07.25	15.700	4.7%	15.99	17.25	12.75			
6	lúri Sousa	2022.07.25	17.000	13.3%	15.99	17.25	12.75			
7	lúri Sousa	2022.07.25	17.200	14.7%	15.99	17.25	12.75			
8	lúri Sousa	2022.07.25	16.800	12.0%	15.99	17.25	12.75			
9	lúri Sousa	2022.07.26	15.862	5.7%	15.99	17.25	12.75			
10	lúri Sousa	2022.07.26	16.063	7.1%	15.99	17.25	12.75			
11	lúri Sousa	2022.07.26	15.764	5.1%	15.99	17.25	12.75			
12	lúri Sousa	2022.07.26	15.852	5.7%	15.99	17.25	12.75			
13	lúri Sousa	2022.07.27	16.100	7.3%	15.99	17.25	12.75			
14	lúri Sousa	2022.07.27	15.942	6.3%	15.99	17.25	12.75			
15	lúri Sousa	2022.07.27	15.731	4.9%	15.99	17.25	12.75			
16	lúri Sousa	2022.07.27	16.274	8.5%	15.99	17.25	12.75			
17	lúri Sousa	2022.07.27	15.774	5.2%	15.99	17.25	12.75			

Figura 14 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo da estimativa da incerteza associada à precisão (padrões de controlo – Pc 15 $\mu\text{g/L}$).

		Estimativa de Incerteza						Componente Precisão - Padrões de Controlo			
Ensaio :		ICP-OES - Al (λ =394.401; 15-500 $\mu\text{g/L}$)		Matriz:			nº Ensaios		17		
Padrão de Controlo:		500		Média dos resultados Desvio Padrão CV (%)=RSD % Incerteza Padrão do Padrão de Controlo						502.082	
Unidades										9.511	
										1.89	
$\mu\text{g/L}$										1.89	
	Analista	Data	Conc. Obs. ($\mu\text{g/L}$)	Avaliação	Média	+10%	-10%				
1	lúri Sousa	2022.07.19	494.800	-1.0%	502.08	550.00	450.00				
2	lúri Sousa	2022.07.20	499.400	-0.1%	502.08	550.00	450.00				
3	lúri Sousa	2000.07.21	500.700	0.1%	502.08	550.00	450.00				
4	lúri Sousa	2022.07.25	505.200	1.0%	502.08	550.00	450.00				
5	lúri Sousa	2022.07.25	504.200	0.8%	502.08	550.00	450.00				
6	lúri Sousa	2022.07.25	521.000	4.2%	502.08	550.00	450.00				
7	lúri Sousa	2022.07.25	521.400	4.3%	502.08	550.00	450.00				
8	lúri Sousa	2022.07.25	518.100	3.6%	502.08	550.00	450.00				
9	lúri Sousa	2022.07.26	494.049	-1.2%	502.08	550.00	450.00				
10	lúri Sousa	2022.07.26	492.514	-1.5%	502.08	550.00	450.00				
11	lúri Sousa	2022.07.26	492.280	-1.5%	502.08	550.00	450.00				
12	lúri Sousa	2022.07.26	493.662	-1.3%	502.08	550.00	450.00				
13	lúri Sousa	2022.07.27	502.669	0.5%	502.08	550.00	450.00				
14	lúri Sousa	2022.07.27	501.941	0.4%	502.08	550.00	450.00				
15	lúri Sousa	2022.07.27	497.635	-0.5%	502.08	550.00	450.00				
16	lúri Sousa	2022.07.27	496.265	-0.7%	502.08	550.00	450.00				
17	lúri Sousa	2022.07.27	499.579	-0.1%	502.08	550.00	450.00				

Figura 15 – Folha de cálculo utilizada para o cálculo da estimativa da incerteza associada à precisão (padrões de controlo – Pc 500 $\mu\text{g/L}$).