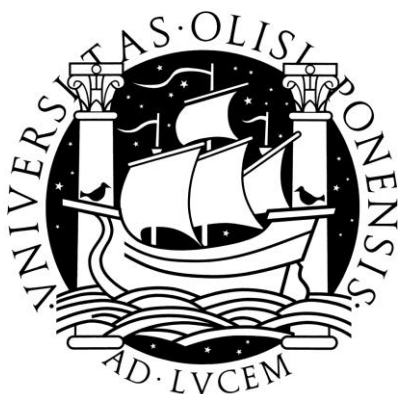


UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



**DESENVOLVIMENTO DE MODELOS METROLÓGICOS DETALHADOS DA DETERMINAÇÃO DE
METAIS PESADOS EM CORRETIVOS ORGÂNICOS**

ANA DE PINA GARCIA CORREIA

DISSERTAÇÃO

MESTRADO EM QUÍMICA

QUÍMICA ANALÍTICA

2012

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



**DESENVOLVIMENTO DE MODELOS METROLÓGICOS DETALHADOS DA DETERMINAÇÃO DE
METAIS PESADOS EM CORRETIVOS ORGÂNICOS**

ANA DE PINA GARCIA CORREIA

DISSERTAÇÃO

MESTRADO EM QUÍMICA

QUÍMICA ANALÍTICA

Orientadores:

Doutor Ricardo Jorge Neves Bettencourt da Silva
e Doutora Maria João Nunes

2012

Resumo

A aplicação dos corretivos orgânicos e lamas de depuração no solo agrícola pode conduzir a problemas de contaminação do meio ambiente com a presença de metais pesados. Torna-se assim, imprescindível a determinação da concentração dos metais pesados nestes resíduos, com objetivo de controlar o limite máximo da concentração permitida na legislação nacional.

Este trabalho apresenta o desenvolvimento de modelos metrológicos detalhados da determinação da concentração de Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni extraíveis em água-régia, de acordo com a Norma EN 13650, em corretivos orgânicos e lamas de depuração por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivo segundo a Norma ISO 22036:2008. A validação do procedimento de medição envolve a validação do modelo de regressão linear usado para a calibração do ICP-AES, a determinação dos limites de deteção e quantificação, a avaliação da precisão intermédia e veracidade da medição, e por fim, a avaliação da incerteza global da medição segundo a abordagem diferencial.

O controlo da qualidade dos ensaios, com vista a verificar o desempenho do procedimento de medição em rotina, envolve as análises dos padrões de controlo dos metais pesados, de ensaios brancos, de amostras em duplicado e materiais de referência (MR). O desempenho da medição é avaliado através do estudo da compatibilidade metrológica entre o teor conhecido e estimado das diversas referências (padrões de controlo e MR) considerando as respetivas incertezas.

Da avaliação da incerteza de medição, segundo a abordagem diferencial, foi possível avaliar a incerteza associada às etapas analíticas complexas. A qualidade do modelo de desempenho desenvolvido foi confirmada através da análise de um material de referência certificado (MRC) independente dos usados na validação da medição. O procedimento de medição provou-se ser adequado ao objetivo, visto que apresenta uma incerteza expandida relativa menor que um valor máximo de 40 %.

Palavras-chaves: Corretivos Orgânicos, Metais Pesados, ICP-AES, Validação do Procedimento de Medição, Incerteza de Medição, Abordagem Diferencial.

Abstract

The application of the organic soil improvers and urban sewage sludges in the agriculture can lead to problems of contamination of the environment with heavy metals. It is therefore essential to determine the concentration of heavy metals in these wastes, in order to control the maximum concentration permitted by national legislation.

This work present the development of detailed models metrological of the determination of aqua regia extractable heavy metals, Cu, Zn, Pb, Cd, Cr and Ni, , following EN 13650 standard, in organic soil improvers and urban sewage sludge, by using the inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, according to the ISO 22036:2008 standard.

The measurement procedure validation involves the study of fitness the linear regression model for calibration of the ICP-AES, the determination of limits of detection and quantification, the assessment of measurement intermediate precision and trueness, and finally, the evaluation of the measurement uncertainty using the differential approach.

The test quality control, to verify the measurement performance, involves analysis of control standards of heavy metals, blanks and duplicate samples and reference materials.

The measurement performance is assessed by checking the metrological compatibility of known and measured concentration of control standards and reference materials considering pertaining uncertainties. Through the evaluation of measurement procedure uncertainty, following the differential approach, it was possible to assess the uncertainty associated with complex analytical steps. The quality of the performance model developed was confirmed by analysis of a certified reference material (CRM) independent to the ones used in the measurement validation. The measurement procedure has proved suitable for the purpose, since it has a relative expanded uncertainty smaller than a maximum value of 40%.

Key words: Organic Soil Improvers, Heavy Metals, ICP-AES, Measurement Procedure Validation, Measurement Uncertainty, Differential Approach.

Agradecimentos

Este trabalho, só foi possível graças a colaboração e incentivo de diversas pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a sua realização. Agradeço aos meus coordenadores, Dr.^a Maria João Nunes e o professor Dr. Ricardo Jorge Bettencourt da Silva pela colaboração e auxílio na realização deste projeto.

Ao Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva pelo acesso às instalações e equipamentos necessários para a realização dos estudos. Agradeço também ao Dr. Filipe Miguel Pedra e à Eng.^a Lúcia Farropas pelas explicações e acesso aos dados do laboratório. À Ana Barros, Adozinda Curto, Ana Pontes, Maria João Bastos, Natália Correia, pela ajuda na realização da parte experimental do trabalho e explicações.

Um agradecimento especial à minha família e aos meus amigos pelos momentos de distração que foram preciso para enfrentar este período cheio de desafios.

Lisboa, 24 de Outubro de 2012

Ana de Pina Garcia Correia

Índice Geral

Resumo	iii
Abstract	iv
Índice de Figuras	ix
Índice de Tabelas	x
Acrónimos e Símbolos	xiv
1. Introdução	1
2. Fundamentos Teóricos	3
2.1. Corretivos Orgânicos e Lamas	3
2.1.1. Corretivos orgânicos e lamas de depuração na agricultura	3
2.1.2. Metais pesados presentes nos corretivos orgânicos	4
• Cobre	4
• Zinco	5
• Chumbo	5
• Cádmio	6
• Crômio	6
• Níquel	7
2.1.3. Regulamentação dos níveis de metais pesados	7
2.2. Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivo (ICP-AES)	9
2.2.1. Introdução histórica	9
2.2.2. Princípio teórico	10
2.2.3. Componentes instrumentais	11
2.2.3.1 Sistemas de injeção da amostra	11
2.2.3.2 Tochas	14
2.2.3.3 Geradores de radiofrequências	16
2.2.3.4 Detetores	17
2.2.4. Interferências	18
2.2.4.1. Interferências espectrais	18
2.2.4.2. Interferências não espectrais	19
2.2.5. Otimização	20
2.2.6. Vantagens em relação a outras técnicas analíticas	20
2.3. Validação do procedimento de medição	20
2.3.1. Limite de detecção e quantificação	21
2.3.2. Linearidade	21

2.3.2.1. Coeficiente de correlação linear	21
2.3.2.2. Gráficos residuais	22
2.3.2.3. Validação do procedimento de calibração segundo Penninckx et al.	23
2.3.3. Precisão Intermédia da medição	24
2.3.4. Veracidade da medição	25
2.4. Avaliação da incerteza da medição	25
2.4.1. Princípios da avaliação da incerteza da medição	25
2.4.1.1. Conceito de incerteza da medição	25
2.4.1.2. Etapas da avaliação da incerteza da medição	25
2.4.1.3. Avaliação da incerteza associada a uma pesagem	26
2.4.1.4. Avaliação da incerteza associada à medição de um volume	27
2.4.1.5. Avaliação da incerteza associada a uma quantificação instrumental	27
2.4.2. Abordagens para avaliação da incerteza da medição	30
2.4.3. Abordagem diferencial para avaliação da incerteza da medição	31
3. Parte Experimental	34
3.1. Material	34
3.2. Reagentes	35
3.3. Procedimento experimental para análise de corretivos orgânicos e lamas de depuração.	35
3.3.1. Preparação das amostras	35
3.3.2. Extração de metais nas tomas de amostras	36
3.3.3. Quantificação instrumental	36
3.3.3.1. Preparação dos padrões	37
3.3.3.2. Procedimento de medição do ICP-AES	38
4. Tratamento e discussão de resultados da determinação de metais pesados	40
4.1. Limite de deteção e quantificação	40
4.2. Linearidade	42
4.2.1. Aplicação da estratégia de validação do procedimento de calibração	44
4.2.1.1. Avaliação de valores aberrantes	46
4.2.1.2. Avaliação da homogeneidade da variabilidade dos sinais instrumentais	47

4.2.1.3. Avaliação do ajuste do modelo de regressão	48
4.3. Precisão Intermédia da medição	50
4.4. Veracidade da medição	51
4.5. Avaliação da incerteza de medição	54
4.5.1. Definição da mensuranda e da rastreabilidade da medição	54
4.5.2. Definição do modelo de medição	55
4.5.3. Identificação das fontes de incerteza	55
4.5.4. Quantificação das componentes de incerteza	56
4.5.4.1. Incerteza das etapas simples da medição que afetam a precisão intermédia do método	56
4.5.4.1.i. Pesagem da amostra	56
4.5.4.1.ii Quantificação instrumental	56
4.5.4.2. Incerteza das etapas complexas	59
4.5.4.3. Combinação das componentes de incerteza e cálculo da incerteza expandida	59
4.6. Avaliação do desempenho do método através da análise de um material de referência certificado (MRC)	60
5. Conclusão	65
6. Bibliografia	67

Índice de Figuras

Figura 2.1. Transição do estado fundamental para o excitado e deste para o fundamental com emissão de energia	10
Figura 2.2. Sistema do ICP-AES	11
Figura 2.3. Nebulizadores de fluxo cruzado	12
Figura 2.4. Nebulizador pneumático do tipo concêntrico	13
Figura 2.5. Nebulizador ultrassónico	13
Figura 2.6. Vaporização eletrotérmico	14
Figura 2.7. Formação do plasma no ICP-AES	14
Figura 2.8. Esquema da tocha com a formação do plasma indutivo de alta frequência	15
Figura 2.9. Formação do campo eletromagnético pelo gerador de radio frequência	16
Figura 2.10. Arranjo de díodos em análise simultânea de radiação	17
Figura 2.11. Gráficos residuais não ponderados: (a) linha de regressão adequados a dados heterocedásticos; (b) linha de regressão adequados a dados homocedásticos.	23
Figura 2.12. Etapas da avaliação da incerteza da medição	26
Figura 2.13. Avaliação da incerteza associado às etapas analíticas complexas.	32
Figura 3.1. Espectrofotómetro de emissão atómica com plasma indutivo IRIS Intrepid II XSP	34
Figura 4.1. Sinal médio de seis curvas de calibração (\bar{y}) em função da concentração (c) dos metais (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni.) obtido por ICP-AES, com a linha de regressão apresentada, segundo o modelo linear não ponderado.	43
Figura 4.2. Gráficos de residuais não ponderados da curva de calibração do Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni.	44
Figura 4.3. Esquema da validação do procedimento de calibração.	45
Figura 4.4. Representação do diagrama causa/efeito da determinação do teor material extraível, de acordo com a norma EN 13650 em corretivos orgânicos sendo (s) etapas analíticas simples e (c) etapas analíticas complexas.	55
Figura 4.5. Gráfico do desvio padrão relativo dos resultados da concentração dos padrões de controlo em função da média da concentração estimada dos padrões para os diferentes elementos estudados.	57
Figura 4.6. Diagrama de causa efeito das componentes de incerteza da determinação da concentração dos metais pesados, Cu, Zn, Pb, Cd e Cr em corretivos orgânicos e lamas pelo método ISO 22036:2008.	62

Índice de Tabelas

Tabela 2.1. Classificação dos teores de matéria orgânica dos solos agrícolas.	3
Tabela 2.2. Valores limite de concentração de metais pesados nas lamas destinadas à aplicação no solo agrícola.	8
Tabela 2.3. Valores limite de concentração de metais pesados nas lamas destinadas à aplicação na agricultura (mg kg^{-1} de matéria seca).	9
Tabela 3.1. Composição dos padrões intermédios usados para a preparação padrões de calibração.	37
Tabela 3.2. Gama de calibração do ICP-AES para a determinação dos metais pesados estudados.	38
Tabela 3.3. Condições de operação do ICP-AES	38
Tabela 3.4. Comprimento de onda das riscas de emissão usadas na análise dos demais analitos por ICP-AES.	39
Tabela 4.1. LD e LQ da determinação dos metais pesados por ICP-AES estimados através de ensaios em branco.	40
Tabela 4.2. LD e LQ dos metais pesados por ICP-AES, estimados pelo modelo de regressão linear ponderado.	41
Tabela 4.3. Teste de Fisher para a avaliação da heterocedasticidade dos dados experimentais.	48
Tabela 4.4. Teste χ^2 para a avaliação do ajuste da curva de regressão linear ponderado.	49
Tabela 4.5. Resultados da análise replicada do Cu em diversas amostras com vista a estimar a precisão intermedia da média dos replicados obtidas em condições de repetibilidade.	50
Tabela 4.6. Precisão intermedia relativa global das medições, para cada elemento analisado.	51
Tabela 4.7. Resultados das amostras MR (BIPEA) reportado em mg kg^{-1} em relação aos valores de referência.	52
Tabela 4.8. Recuperação média do analito Cu.	53
Tabela 4.9. Resumo dos resultados do teste - t e da incerteza da recuperação média obtida para os metais, Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni.	54
Tabela 4.10. Média das concentrações dos MR (BIPEA) obtido durante as 3 semanas dos ensaios.	58
Tabela 4.11. Incerteza relativa padrão associada às etapas analíticas complexas e parâmetros usados para o seu cálculo.	59

Tabela 4.12. Valores estimados dos componentes da incerteza em relação à média dos duplicados do MRC (BIPEA-145). 63

Tabela 4.13. Resultados estimados e de referência da determinação de metais pesados no MRC (BIPEA-145). 64

Tabelas em Anexo

Tabela 3.A.1. Resultados da percentagem da matéria orgânica (mo) em relação a a matéria seca (ms) e humidade (h) das BIPEA analisadas.

Tabela 4.A.1. Resultados dos 30 ensaios em branco, analisados por ICP-AES, para a determinação de LQ e LD dos metais pesados.

Tabela 4.A.2. Dados do sinal instrumental (y) do Cu analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, b PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Tabela 4.A.3. Dados do sinal instrumental (y) do Pb analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, b PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Tabela 4.A.4. Dados do sinal instrumental (y) do Zn analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, b PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Tabela 4.A.5. Dados do sinal instrumental (y) do Cd analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, c PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Tabela 4.A.6. Dados do sinal instrumental (y) do Cr analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, c PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Tabela 4.A.7. Dados do sinal instrumental (y) do Ni analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, c PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Tabela 4.A.8. Sinal instrumental (y) do Cu em ICP-AES, para o estudo da linearidade da d resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal.

Tabela 4.A.9. Sinal instrumental (y) do Zn em ICP-AES, para o estudo da linearidade da d resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal.

Tabela 4.A.10. Sinal instrumental (y) do Pb em ICP-AES, para o estudo da linearidade da d resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal..

Tabela 4.A.11. Sinal instrumental (y) do Cd em ICP-AES, para o estudo da linearidade da e resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal.

Tabela 4.A.12. Sinal instrumental (y) do Cr em ICP-AES, para o estudo da linearidade da e

resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal.

Tabela 4.A.13. Sinal instrumental (y) do Ni em ICP-AES, para o estudo da linearidade da resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal.

Tabela 4.A.14. Valores críticos de T para o teste de valores aberrantes únicos de Grubbs. f

Tabela 4.A.15. Valores críticos de T para o teste de valores aberrantes emparelhados de Grubbs f

Tabela 4.A.16. Resultados da 1ª semana das amostras de MR obtidas por ICP- AES. g

Tabela 4.A.17. Resultados da 2ª semana das amostras de MR obtidas por ICP- AES. g

Tabela 4.A.18. Resultados da 3ª semana das amostras de MR obtidas por ICP- AES. h

Tabela 4.A.19. Valores de referência da concentração das BIPEA reportado em relação à matéria original. h

Tabela 4.A.20. Valores de referência da incerteza associada à concentração das BIPEA reportado à matéria original. h

Tabela 4.A.21. Dados da repetibilidade de medição dos volumes / massas e dados de calibração dos materiais usados. i

Tabela 4.A.22. Concentração dos padrões de controlo de Cu medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos padrões de controlo, designados de P0, PA, PB,PC,PD e PE. i

Tabela 4.A.23. Concentração dos padrões de controlo de Zn medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos padrões de controlo designados de P0, PA, PB,PC,PD e PE. i

Tabela 4.A.24. Concentração dos padrões de controlo de Pb medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos padrões de controlo designados de P0, PA, PB,PC,PD e PE. j

Tabela 4.A.25. Concentração dos padrões de controlo de Cd medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos padrões de controlo designados de P0, PA, PB,PC,PD e PE. j

Tabela 4.A.26. Concentração dos padrões de controlo de Cr medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos padrões de controlo designados de P0, PA, PB,PC,PD e PE. j

Tabela 4.A.27. Concentração dos padrões de controlo de Ni medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos k

padrões de controlo designados de P0, PA, PB,PC,PD e PE.

Tabela 4.A.28. Resultados do material de referência certificado (MRC-145) obtido por ICP-AES em duplicado.

Acrónimos e Símbolos

AAS	Espectrometria de absorção atômica
BIPEA	Bureau Interprofessionnel d'Études Analytiques
CCDs	Dispositivo de carga acoplada (Charge Coupled Device)
CCE	European Comition Council
CEN	European Comimitee dor Standardization
CID	Dispositivo de injeção de carga única
DG Env	Directorate- General Environment
DIHEN	Nebulizador de injeção direta com alta eficiência
DIN	Nebulizador de injeção direta
EEC	European Economic Community
EN	European Standardization
ETARs	Estações de tratamento de água residuais
ETV	Vaporização eletrotérmica
F-AAS	Espectrometria de absorção atômico de chama
FI	Injeção em fluxo
GF-AAS	Espectrometria de absorção atômico de forno de grafite
HG	Geração de hidretos
HPN	Nebulização de alta pressão
ICP	Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivo
ICP	Plasma acoplado indutivamente
ICP-AES	Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivo
ISO	International Organization for Standardization(www.iso.org)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MR	Material de Referência
MRC	Material de referência certificado
OES	Espectrometria de emissão ótica
PDA's	Arranjos de diodo
PMTs	Tubos fotomultiplicadores
RF	Radiofrequência
USN	Nebulização ultrassônica
VIM	Vocabulário Internacional de Metrologia

r	Coeficiente de correlação linear de Pearson
λ	Comprimento de onda
c	Concentração
\bar{x}_i	Concentração de um determinado nível i
h	Constante de Planck
b_w	Declive da curva, de uma regressão linear ponderado
S'	Desvio Padrão de uma amostra, excluindo dois valores
S_i	Desvio padrão do sinal
S_{bl}	Desvio padrão do sinal do branco.
$S_{(y/x)_w}$	Desvio padrão relativo
RSD	Desvio padrão residual ponderado.
E	Energia
ν	Frequência da radiação
u'_{F_v}	Incerteza associada à diluição
u'_{R_m}	Incerteza associada à recuperação média do analito
S'_{inter}	Incerteza associada à interpolação do sinal
u'_{std}	Incerteza associada à preparação do padrão
u_{sc}	Incerteza associada às etapas analíticas simples
$U_c(y)$	Incerteza combinada expandida
\bar{x}	Média da concentração
\bar{x}_i	Média da concentração de um determinado nível
\bar{y}	Média do sinal instrumental
MS_{PEw}	Média dos quadrados do erro puro
MS_{LOFw}	Média dos quadrados da falta de ajuste
α	Nível de confiança
j	Número de observações do sinal, varia de 1 à j
n	Número dos níveis de concentração dos dados experimentais
a_w	Ordenada na origem de uma regressão linear ponderado
W_i	Peso ponderado da regressão linear
S_{exp}	Precisão intermédia
S'_{PI}	Precisão intermedia relativa
\bar{R}_m	Recuperação média do analito
y_o	Sinal da amostra
Y_{bl}	Sinal do branco

Y_{LD}	Sinal do Limite de detecção
\hat{y}_{ij}	Sinal esperado da regressão linear
y_{ij}	Sinal instrumental a um determinado nível i
SS_{RW}	Soma ponderada do quadrado dos residuais
SS_{PEW}	Soma ponderada dos quadrados do erro puro
SS_{LOF}	Soma ponderado do quadrado associado a falta de ajuste
u'_{std}	Soma ponderado do quadrado associado a falta de ajuste
s_m^2	Variância da concentração mais alta
S_1^2	Variância da concentração mais baixa
c	Velocidade da luz.

$$T_{ij} = (y_{ij} - \bar{y}) / s$$

$$T_{il} = (y_{il} - \bar{y}) / s$$

$$T = (1 - s') / s$$

$$F = S_n^2 / S_1^2$$

1. Introdução

A necessidade de matéria orgânica na maioria dos solos portugueses é uma das características mais preocupantes na agricultura. De modo a sustentar a produtividade do solo, são aplicados nutrientes essenciais sob diversas formas. A utilização de corretivos orgânicos e lamas no solo é uma das formas de aumentar as concentrações de nutrientes e assegurar o crescimento e desenvolvimento adequado das culturas. Estes têm como objetivo aumentar os teores da matéria orgânica e consequentemente os níveis dos nutrientes disponíveis para as plantas. A adição de matéria orgânica controla o pH dos extratos aquosos do solo, ou seja, aumenta o efeito tampão do solo. Os corretivos orgânicos também melhoram as propriedades físicas e químicas dos solos como a capacidade de retenção da água, porosidade e estabilidade das partículas de argilas presentes. Porém é necessário uma aplicação correta destes corretivos orgânicos de modo a garantir um conjunto de exigências de qualidade estabelecido pela legislação em rigor [2.19].

Diversos estudos têm sido realizados, nesta área, para avaliar o efeito da aplicação de corretivos orgânicos na qualidade do solo agrícola e no meio ambiente. O equilíbrio entre a produção agrícola e a proteção do meio ambiente foca-se principalmente em aspetos como, a capacidade de suprimir as necessidades das plantas em nutrientes essenciais e a necessidade de cumprir com as imposições económicas e ambientais definidas [2.20]. Para tal, é imprescindível ter um conhecimento profundo das necessidades nutritivas das culturas, do teor em nutrientes no solo, bem como as características dos materiais orgânicos e o seu comportamento no solo [2.20, 2.21].

A aplicação de corretivos orgânicos no solo têm a desvantagem, da sua utilização poder acarretar riscos para a saúde de seres humanos e dos ecossistemas envolventes, pois estes podem veicular poluentes orgânicos, inorgânicos (metais pesados) e agentes patogénicos com efeitos nefastos no sistema solo-planta-água [2.19]. Os efeitos dos metais pesados nas culturas podem incluir atraso ou interrupção do seu desenvolvimento. Por outro lado, a carência em alguns metais como o Cu ou o Zn, também tem consequências graves para o desenvolvimento das culturas. Assim, é importante estimar o teor dos metais presentes nos corretivos, de modo a assegurar as condições ideais para a sua aplicação no solo agrícola. O desenvolvimento de técnicas analíticas e a capacidade de assegurar a qualidade da medição dos elementos presente nos corretivos orgânicos é essencial para regular a utilização dos mesmos no solo.

A espectrometria de emissão atómica com plasma indutivo é uma das técnicas mais usadas na determinação da concentração dos metais pesados, em amostras ambientais, pois além de ser rápida tem a vantagem de ser pouca afetada por interferências.

O trabalho desenvolvido assenta na validação do procedimento de medição da concentração dos metais pesados Cu, Zn, Pb e Cd, Cr e Ni, extraíveis com água-régia segundo a Norma EN 13650, de corretivos orgânicos e lamas de depuração utilizando como técnica de quantificação, a espectrometria de emissão atómica com plasma indutivo, ISO 22036:2008. A validação do procedimento de medição foi avaliada a partir do estudo dos limites de deteção e de quantificação, da linearidade da resposta do ICP-AES, da precisão intermédia, da veracidade e da incerteza de medição.

De entre as abordagens analíticas para a avaliação da incerteza de medição foi considerada a abordagem diferencial com a finalidade de estimar a incerteza associada às etapas analíticas complexas separadamente. O desempenho das medições e a fiabilidade dos resultados foram avaliados através de ensaios de controlo de qualidade. Estes ensaios envolveram análises de padrões de controlo dos metais pesados (Cu, Zn, Pb e Cd, Cr e Ni), ensaios brancos, duplicado de medição das amostras e material de referência certificado.

2. Fundamentos Teóricos

2.1. Corretivos Orgânicos e Lamas

2.1.1. Corretivos orgânicos e lamas de depuração na agricultura

Os corretivos orgânicos foram, durante muito tempo, os principais fertilizantes utilizados na agricultura até o aparecimento dos adubos minerais. São matérias de origem orgânica (animal ou vegetal) utilizadas para aumentar ou manter o teor da matéria orgânica no solo [2.20]. A matéria orgânica pode incluir restos parciais ou totais da decomposição de animais e plantas (tecidos, células), designando-se húmus a parte da matéria orgânica decomposta e com elevado grau de estabilidade [2.20]. A sua aplicação no solo tem como objetivo fornecer fontes de átomos de carbono para os micro-organismos do solo entre outros fatores que promovem o crescimento das plantas e melhoram a qualidade agrícola do solo [2.17]. A utilização de matéria orgânica na agricultura, melhora um conjunto de características físicas-químicas e biológicas do solo que promove o crescimento das plantas e as condições de cultivo do solo. Estas características compreendem o aumento da solubilidade dos nutrientes minerais no solo, a promoção de trocas catiónicas, o aumento da concentração de nutrientes, como o fósforo (P), azoto (N), enxofre (S) e água, a redução da erosão do solo e da toxicidade dos pesticidas, e a melhoria da estrutura e capacidade de retenção de água do solo.

Antes da aplicação dos corretivos orgânicos no solo agrícola, deve-se proceder à análise química e física do solo de modo a determinar as concentrações dos elementos tóxicos, como os metais pesados, ou a concentração dos nutrientes disponíveis. Este procedimento evita desperdícios ou uso incorreto dos corretivos na agricultura, o que pode levar consequências graves para a produção. Habitualmente, o teor de matéria orgânica no solo é expresso em percentagem de massa. A tabela 2.1 apresenta a classificação, em Portugal, do nível de matéria orgânica nos solos em função da sua textura grosseira, média ou fina [2.20].

Tabela 2.1. Classificação dos teores de matéria orgânica dos solos agrícolas. Adaptada de [2.20].

Matéria orgânica do solo (%)		
Classificação	Solos de textura grosseira	Solos de textura média ou fina
Muito Baixa	≤ 0,5	≤ 1
Baixa	0,6 - 1,5	1,1 - 2,0
Média	1,6 - 3,0	2,1 - 4,0
Alta	3,1 - 4,5	4,1 - 6,0
Muito Alta	> 4,5	> 6,0

Em Portugal, a grande generalidade dos solos de cultivo têm teores de matéria orgânica baixos a médios. Em algumas regiões com sistema intensivo de aplicação de fertilizantes, surgem teores altos e muito alto de matéria orgânica [2.20].

De acordo com o Comité Europeu de Normalização (CEN) [2.27], as lamas são definidas como sendo mistura de água e de solos como resultado de processos naturais ou artificiais. Quando tratadas e caracterizadas, considerando um conjunto de requisitos de qualidade para a sua aplicação em solos agrícolas, as lamas são denominadas de lamas de depuração ou lamas de composição similar.

O uso de lamas de depuração, proveniente das estações de tratamento de água residuais (ETARs), em solos agrícolas tem algumas restrições sendo necessário tratamentos que promovam a estabilização e desinfeção através da inativação ou destruição de micro-organismos patogénicos. A qualidade e a composição das lamas de depuração vão depender do tipo de tratamento realizado, que podem ser de natureza química, biológica e térmica, ou também da composição da água de que provém. São compostas na sua maioria por matéria orgânica, substâncias minerais e água, e podem conter algumas substâncias contaminantes como os metais pesados. O valor fertilizante na agricultura depende do seu teor em matéria orgânica e macronutrientes (N, P, S, potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg)). Devido ao seu teor em matéria orgânica, as lamas de depuração podem ser usados como corretivos orgânicos do solo [2.27].

2.1.2. Metais pesados presentes nos corretivos orgânicos.

Os metais pesados, potencialmente veiculados pelo corretivos orgânicos, podem atingir quantidades significativas no solo, num curto período de tempo, pois estes elementos são bastantes persistentes no ambiente devido não serem degradados biológica ou quimicamente. O Cu e o Zn são designados como micronutrientes essenciais, pois são necessários para o crescimento das plantas, embora em concentrações baixas, desempenhando funções específicas no seu metabolismo [2.18]. O Cd e o Pb só são benéficos em certas concentrações, e apenas, em algumas espécies. A biodisponibilidade dos metais pesados nos solos, depende de certas propriedades e / ou características do solo. Propriedades como o pH, composição mineral, atividade microbiana, potencial redox, textura do solo e outros tipos de componentes presentes no solo, vão influenciar processos que conferem a solubilidade e mobilidade aos metais [2.18]. Além das propriedades dos solos, a biodisponibilidade dos metais pesados também é influenciada pela sua especiação.

- **Cu**

Apesar da maioria das espécies de culturas precisar de baixas concentrações de Cu, a falta de Cu nos solos pode provocar a interrupção do ciclo de vida das plantas (desenvolvimento e

crescimento das plantas). O Cu desempenha funções importantes no metabolismo das proteínas, glícidos e do azoto. Este elemento participa em processos de oxidação de compostos fenólicos, na oxidase do ácido ascórbico e na lactase de processos fisiológicos como a fotossíntese, respiração, reprodução e metabolismos de nitrato e hidrato de carbono. Alguns fatores influenciam a disponibilidade do Cu no solo para a assimilação pelas plantas, como o valor de pH e as concentrações de matéria orgânica e de elementos como o N, P e Zn. Para a grande generalidade das culturas, o nível de tolerância ao Cu, nos tecidos das plantas, varia entre 5 a 30 mg kg⁻¹. Quando este intervalo de concentração excede de 20 a 30 mg kg⁻¹, o Cu torna-se tóxico para as plantas [2.21]. Situações de toxicidade por Cu, ocorrem frequentemente nos solos ácidos ocupados por plantações de vinhas, devido ao uso de pesticidas à base de Cu [2.21]. A toxicidade resulta no *stress* oxidativo das plantas, atraso no desenvolvimento e redução da absorção de nutrientes como o K, Ca, Mg, Fe e Zn.

- **Zn**

O Zn é um dos metais essenciais para o desenvolvimento das plantas, fazendo parte da estrutura de diversas proteínas e atuando como catalisador em diversas reações. No solo apresenta-se ligado aos cristais dos minerais Fe e Mg, ou pode formar complexos e quelatos [2.18]. A sua disponibilidade no solo é afetada pelo pH, presença de fosfatos, humidade, textura, teor em matéria orgânica e potencial redox. Esta disponibilidade diminui com o aumento do pH, da humidade e da concentração dos fosfatos no solo. A absorção do Zn pelas plantas diminui com o aumento da concentração do Cu, pois estes dois elementos competem pelo mesmo centro de ligação de absorção. A carência do Zn nos solos leva a diminuição do nível de RNA e ribossomas, o que resulta na diminuição da síntese de proteínas e dificuldade de divisão celular. A sua aplicação no solo, na forma de sulfatos ou óxido de Zn, bem como a sua aplicação foliar constitui processo importante para assegurar os níveis deste metal nas plantas [2.20]. Segundo estudos efetuados por Pendias e Pendias *et al*, 1991, os teores do Zn no solo variam normalmente entre 17 a 125 mg kg⁻¹ [2.18].

- **Pb**

O Pb encontra-se presente no solo maioritariamente no seu estado de oxidação II e IV [4.1.]. Devido às características geoquímicas do Pb²⁺, nomeadamente a sua semelhança com os metais divalentes terrosos, este pode substituir micronutrientes como o K, Ca, Ba no solo. Segundo Pendias *et al*, o teor médio de Pb na crosta continental e na superfície dos solos é cerca de 27 mg kg⁻¹ [2.21]. A distribuição do Pb no solo não é uniforme e apresenta associação com grupos hidróxido, em particular de Fe e Mn. Também pode ser encontrado com carbonato de cálcio e partículas de fosfatos. Segundo Chardon *et al* 2008, solos com pH elevado estimulam a adsorção do Pb através de permuta catiónica [2.21].

Embora o Pb apareça naturalmente em todas espécies de plantas, este elemento não apresenta funções essenciais para o seu metabolismo. Segundo Broyer *et al* [2.21], se o Pb for necessário para as plantas será em níveis de concentração de 2 a 6 $\mu\text{g kg}^{-1}$. A absorção do Pb pelas plantas vai depender das propriedades do solo, como o teor em matéria orgânica, granulometria dos componentes e pH, bem como das características das plantas como a superfícies de área das raízes (Sillanpää e jansson e Davies, 1995) [2.21]. O pH do solo é um dos fatores mais importante na determinação da biodisponibilidade do Pb nas plantas. Os efeitos tóxicos do Pb nas plantas incluem a inibição da respiração, fotossíntese e alterações na mitose e absorção da água. O Pb provoca alterações na permeabilidade das membranas celulares. Para as culturas de chás foi estabelecido um limite máximo de 60 mg kg^{-1} na China [2.21].

- **Cd**

O Cd é considerado como sendo um dos metais mais ecotóxicos com efeitos adversos nos humanos, animais e plantas. Segundo Pendias *et al*, o teor médio de Cd na crosta continental e na superfície dos solos situa-se entre 0,2 e 1,1 mg kg^{-1} [2.21]. O teor de Cd no solo depende da textura do solo, matéria orgânica, capacidade de troca catiónica, teor de Fe e Mn, pH e a fração da argila no solo. A redução do pH diminui a solubilidade do Cd no solo [2.21]. A adsorção do cádmio no solo diminui com aumento da concentração de outros metais como Cu, Zn e Pb, e também com aumento da matéria orgânica [2.20]. Apesar do Cd ser considerado como um elemento não essencial para o metabolismo das plantas, ele é absorvido através das raízes e folhas. Devido à sua forte afinidade para a ligação a grupos sulfidrilo de diversos compostos, o Cd é encontrado ligado às proteínas das plantas. Segundo Ben Amur *et al* 2008, o Cd acumula-se sobre a forma de complexos fitoquelatina-Cd nas raízes dos tomates [2.21].

A presença do Cd nas plantas é a principal via de entrada de Cd na cadeia alimentar e, mesmo em baixas concentrações, é potencialmente tóxico para as plantas. Este é responsável pela redução das atividades enzimáticas, desnaturação das proteínas e *stress* oxidativo resultando em danos na membrana celular. Também diminui a fotossíntese e níveis de clorofila produzida [2.21]. Algumas plantas apresentam tolerância ao Cd por formação de quelatos a partir de grupos tióis de algumas proteínas como glutationa, fitoquelatinas e metalotioneinas [2.23].

- **Cr**

A adsorção do Cr no solo está associada ao teor de argila no solo, matéria orgânica, e concentrações de hidróxidos de ferro. A toxicidade do Cr nas plantas vai depender do seu estado de oxidação, sendo o Cr (VI) altamente tóxico e o Cr (III) menos tóxico e encontrado principalmente ligado à matéria orgânica do solo (Becquer *et al*, 2003). A matéria orgânica influencia a redução do Cr (VI) em Cr (III) [2.21].

Os efeitos tóxicos do Cr sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas incluem alterações no processo de germinação, bem como no crescimento das raízes, caules e folhas, que podem afetar a produção de matéria seca total e conseqüentemente o rendimento da produção agrícola. O Cr acarreta efeitos nocivos sobre os processos fisiológicos das plantas, tais como fotossíntese, absorção da água e nutrição mineral. Este contaminante provoca alterações metabólicas quer por um efeito direto sobre os enzimas ou outros metabolitos, quer pela capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio, que podem causar o *stress* oxidativo. Algumas plantas porém têm a capacidade de acumular e estabilizar compostos de Cr sendo assim usadas em processos de biorremediação do solo. O impacto da contaminação Cr nas plantas depende da especiação do metal que influencia a sua mobilização, absorção, acumulação e conseqüentemente a toxicidade [2.24].

- **Ni**

Segundo Pendias et al, o teor médio de Cd nos solos de diversos países (Japão, Brasil, China, Rússia, Nova Zelândia, Israel) situa-se entre 13 a 37 mg kg⁻¹ [2.21]. O nível máximo de Ni permitido no solo agrícola, na Africa do Sul, é cerca de 50 mg kg⁻¹ (Herselman et al, 2005). O aumento do teor de Ni no meio ambiente está relacionado principalmente com dois fatores: a combustão de carvão e a utilização de lamas fertilizante de fosfato na agricultura. Foi demonstrado por Eskew et al., 1983 que o Ni tem funções essenciais no crescimento das leguminosas, no qual está envolvido no metabolismo do urease [2.21].

A maior parte dos estudos efetuados sobre o Ni tem foco nos efeitos nocivos sobre plantas e humanos. À semelhança do que acontece no caso do Cr, a toxicidade do Ni também depende da sua especiação. As formas catiónicas Ni²⁺ são mais facilmente adsorvidas e tóxicas do que as formas complexas. O teor do Ni nas plantas depende das propriedades do solo e também da capacidade de absorção deste elemento pelas plantas. O aumento do pH do solo, a presença de óxidos de Fe e o aumento do teor da matéria orgânica (com formação de complexos de Fe) diminuem o teor do Ni disponível nas plantas [2.26]. A toxicidade do Ni resulta da diminuição da absorção de nutrientes pelas plantas, redução do metabolismo, diminuição do teor de clorofila, atraso no crescimento das plantas [2.25].

2.1.3. Regulamentação dos níveis de metais pesados

Tendo em conta que a toxicidade dos metais pesados é influenciada por um conjunto de fatores como a sua biodisponibilidade, especiação, sensibilidade dos organismos e propriedades do solo, a concentração máxima permitida nos corretivos orgânicos, varia de país para país. Por essa razão são definidos diferentes limites médios permitidos destes metais em diferentes países e alguns casos em diferentes regiões do mesmo país. A definição dos limites admissíveis dos metais pesados nos corretivos orgânicos é um processo complexo, e a

toxicidade não depende só da concentração destes metais no solo, mas também assenta em metodologias de avaliação de riscos. Deste modo vários países não têm uma legislação em rigor perante os limites máximos toleráveis destes elementos nos corretivos [2.19]. A fixação dos limites baseia-se tanto em critérios preventivos da defesa da qualidade do ambiente e da saúde pública, bem como em fatores de ordem técnica e carácter económico-político.

Atualmente está a ser preparada legislação Europeia para regulamentar os níveis máximos permitidos dos metais pesados nos corretivos orgânicos. Em Portugal, o teor de metais pesados nas lamas de depuração e efluentes pecuários são regulamentados pelo Decreto-Lei nº 276/2009 de 3 de Outubro e pela Portaria 631/2009 de 9 de junho respetivamente. O Decreto-Lei estabelece o regime de utilização de lamas de depuração em solos agrícolas, transpondo para a ordem jurídica interna a Diretiva nº 86/278/CCE [2.22]. De salientar que os limites dos metais pesados reportados no Decreto-Lei correspondem a limites nas lamas de depuração e não em corretivos orgânicos, destinado a aplicação no solo (Tabela 2.2) [2.22]. Para os produtos compostados são tidos em conta os limites propostos no documento “Especificação técnicas” de 2008. A aplicação dos corretivos orgânicos e lamas de depuração no solo depende sempre do prévio conhecimento do valor do pH do solo e também do seu teor em metais pesados.

Tabela 2.2. Valores limite de concentração de metais pesados nas lamas destinadas à aplicação no solo agrícola. Tabela adaptada do Decreto - Lei nº 276/2009.

Metais pesados	Valores limite (mg kg⁻¹ de matéria seca)
Cu	1000
Zn	2500
Pb	750
Cd	20
Cr	1000
Ni	300

O Concelho Diretivo da Comissão Europeia, através da diretiva 86/278/EEC de 1986, estabelece os limites máximos para a concentração dos metais pesados presente nos resíduos orgânicos biodegradáveis provenientes das lamas das estações de tratamento de água residuais (ETARs), de uso agrícola, tabela 2.3 [2.28].

Tabela 2.3. Valores limite de concentração de metais pesados nas lamas destinadas à aplicação na agricultura (mg kg⁻¹ de matéria seca). Esta tabela foi adaptada da diretiva 86/278/EEC de 1986 [2.28].

Metais	Valores-Limite (mg kg ⁻¹ de matéria seca)
Cobre	1000 - 1750
Zinco	2500 - 4000
Chumbo	750 - 1200
Cádmio	20 - 40
Crómio	^a
Níquel	300 – 400

^a A Diretiva não estabelece valor limite para o crómio

A par das diretivas Europeias para estabelecer os limites dos metais pesados e garantir a qualidade do solo, a Direção Geral do Ambiente da Comissão Europeia tem desenvolvido regulamentações e normas para tratamento de resíduos biológicos segundo o documento DG Env.A.2., 2001 [2.29].

2.2. Espectrometria de emissão atómica com plasma indutivo (ICP-AES)

2.2.1. Introdução histórica

Em 1752, Thomas Melville observou a emissão de uma luz amarela através da queima de uma mistura de álcool e água do mar. Observou que quando não havia mistura de sal, não ocorria a emissão da luz amarela. Em 1776, Alessandro Volta, realizou um dos primeiros estudos usando descargas elétricas em análises químicas. Descobriu uma forma de produzir uma corrente elétrica estática, forte o suficiente para provocar faíscas nos elementos e conseguiu identificar que alguns gases emitiam chamas com cores diferentes, quando era aplicada uma corrente elétrica [2.15]. Em 1826 W.H. Talbot conduziu várias experiências nos quais observou a coloração das chamas de diferentes sais. Em 1859, quando Kirchhoff e Bunsen assumiram que o espectro das chamas era produzido por átomos e não moléculas, começou-se a perceber o princípio do espectro de emissão. Entre 1860 a 1864, realizaram vários ensaios químicos, com base na emissão espectroscópica que conduziram à descoberta de quatro elementos, o céσιο (Cs), rubídio (Rb), tálio (Tl) e índio (In) [2.15].

Em 1960 e 1970 o uso de espectrometria de emissão ótica (OES) de chama foi substituído pelo uso de espectrometria de absorção atómica (AAS), apesar de OES ter permitido a determinação de cerca de metade dos elementos da tabela periódica. Esta alteração deveu-se a utilização de energia de absorção como técnica de deteção, ultrapassando assim, as dificuldades imposta pela AAS em conseguir temperaturas altas para a excitação do átomo. Em 1961 Reed et al descreveu a formação e estabilização do plasma acoplado indutivamente. Em 1964 Stanley Greenfield desenvolveu procedimentos de medição, com uso de plasma acoplado

indutivamente (ICP) à pressão atmosférica para análises de elementos via espectrometria de emissão atômica. Demonstrou as vantagens do uso de plasma como fonte de emissão em relação ao uso de chamas. A fonte de plasma tem um elevado grau de estabilidade e a capacidade de reduzir interferências causadas por formação de compostos estáveis, capaz de eliminar alguns elementos e aumentar a sensibilidade de detecção [2.1].

2.2.2. Princípio Teórico

Segundo o modelo atômico de Bohr, os átomos estão representados, por um núcleo rodeado por elétrons a descreverem orbitais. Cada átomo tem um número específico de orbitais com um nível de energia associado [2.1].

Quando um átomo é excitado, ocorre a transição dos elétrons do nível fundamental para níveis de energias mais elevados. Devido a instabilidade do átomo no estado excitado, ocorre o decaimento dos elétrons para níveis de energia inferiores com emissão de fótons. Cada radiação emitida é caracterizada por uma determinada frequência e comprimento de onda, figura 2.1 [2.1]. Em consequência, a intensidade das riscas vai depender do número de elétrons que se encontram no nível a partir do qual se dá a transição. O tempo que estes elétrons permanecem no estado excitados, a meia vida, é da ordem dos 10^{-7} a 10^{-8} segundos [2.2].

Se a energia absorvida por um átomo for suficientemente elevada, ocorre a ionização, um dos elétrons pode ser completamente dissociado do átomo, formando um ião de carga positiva. A energia de ionização é característica de cada elemento.

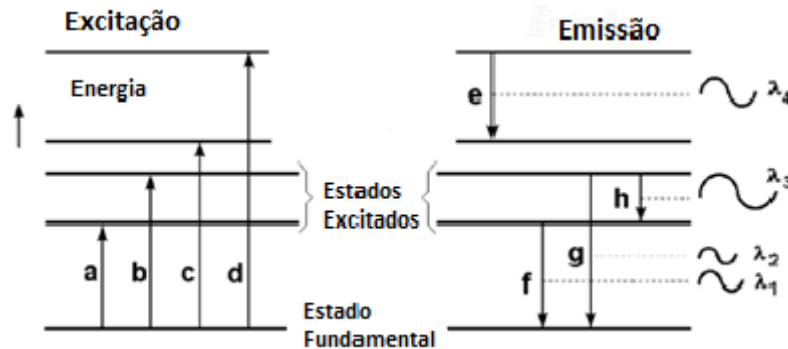


Figura 2.1. Transição do estado fundamental para o excitado e deste para o fundamental com emissão de energia. Adaptado de [2.15].

A relação entre a diferença dos dois níveis de energia é descrita através da equação 2.2.1 de Planck.

$$(2.2.1) \quad E = h\nu \Leftrightarrow E = h \frac{c}{\lambda}$$

sendo h , a constante de Planck, ν a frequência da radiação, λ o comprimento de onda e c a velocidade da luz. Cada elemento tem níveis de energia e comprimento de onda de absorção e de emissão característicos. Esta propriedade torna a espectrometria atômica uma técnica analítica essencial para análises elementares [2.15].

O desenvolvimento dos procedimentos analíticos de quantificação, com espectros de emissão atômica, encontra-se associado ao desenvolvimento de novos tipos de fontes de excitação dos átomos [2.5]. A fonte de energia para a excitação do átomo é conseguida através de processos térmicos, descargas elétricas ou radiação.

Os métodos de análise com base em espectros de emissão são usados em diversas áreas como a geologia, ecologia, biologia, medicina e agricultura.

2.2.3. Componentes de um ICP-AES

A espectrometria de emissão atômica utiliza a radiação eletromagnética que é emitida pelos átomos, para obter informação qualitativa, comprimento da radiação emitida, ou quantitativa, quantidade de radiação eletromagnética que é emitida. A amostra líquida é introduzida no nebulizador onde é convertida em aerossóis. Seguidamente os aerossóis formados, sofrem a dessolvatação e volatilização, ou seja, a água é extraída e os aerossóis transformados em gases. Na tocha ocorre a atomização do vapor atômico (as ligações dos gases são quebradas) causada pela temperatura do plasma. Após a excitação dos átomos ocorre o decaimento dos elétrons para níveis inferiores de energia [2.9]. As radiações emitidas são separadas e detetada por um sistema ótico que por sua vez transmite o sinal para um computador [2.15]. A figura 2.2 representa o esquema geral da instrumentação do ICP-AES.

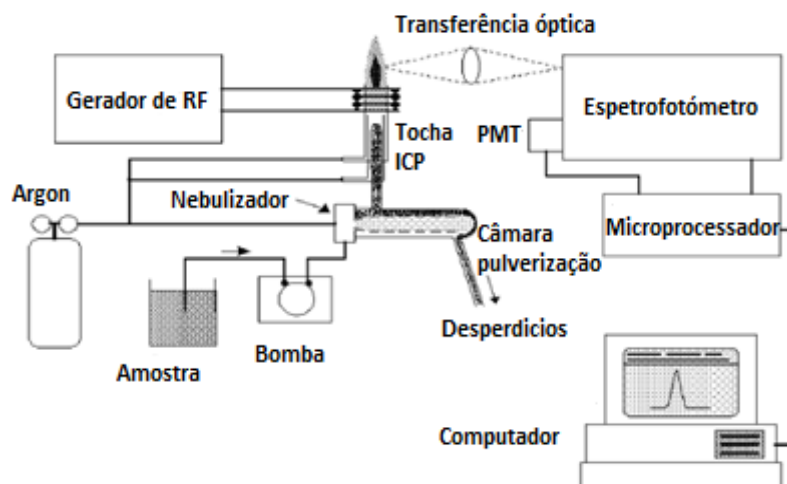


Figura 2.2. Sistema do ICP-AES. Adaptado de [2.15].

2.2.3.1. Sistemas de injeção da amostra

Existem diferentes técnicas de introdução da amostra no plasma, que variam de vaporização eletrotérmica (ETV), injeção em fluxo (FI), de geração de hidretos (HG), nebulizador de alta

pressão (HPN), nebulizador ultrassônica (USN), nebulizador de injeção direta (DIN), e nebulizador de injeção direta com alta eficiência (DIHEN) [2.2].

Apesar do ICP-AES conseguir analisar amostras no estado sólido, líquido ou gasoso, as análises das amostras líquidas são mais frequentes. A injeção do líquido diretamente para plasma, levaria à frequente extinção do plasma ou a dessolvatação inapropriado do átomo com a diminuição da eficiência de emissão, a introdução das amostras é efetuada sob a forma de aerossol. A formação do aerossol no nebulizador nomeadamente o tamanho, a uniformidade, a distribuição e a quantidade das partículas da solução influencia a intensidade do sinal. [2.2].

Os nebulizadores mais frequentes usados no ICP-AES são os ultrassônicos e os pneumáticos. Os nebulizadores ultrassônicos têm a vantagem de produzir aerossóis, com partículas de tamanhos mais uniformes e densidade mais elevada, permitindo um limite de detecção menor [2.6]. Nos nebulizadores pneumáticos a densidade do aerossol é mais baixa e as partículas formadas tendem a ter tamanhos maiores e menos homogêneas [2.7].

Nebulizadores Pneumáticos

Os nebulizadores pneumáticos mais frequentes usados em ICP-AES são os nebulizadores de fluxo cruzado e os nebulizadores concêntricos [2.15].

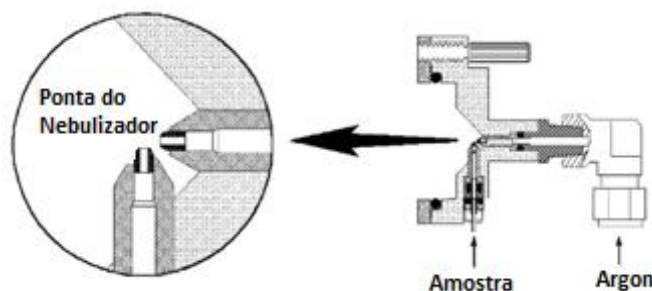


Figura 2.3. Nebulizadores de fluxo cruzado. Adaptado de [2.15]

Nos nebulizadores do tipo de fluxo cruzado, o fluxo de argon é direcionado perpendicularmente à amostra e o impacto da união entre a solução da amostra e o gás nebulizador leva a formação de aerossóis [2.15].

Os nebulizadores pneumáticos concêntricos são formados por dois tubos de diâmetro aproximadamente de 1 mm por onde passa o gás argon e o outro por onde passa a amostra. O princípio de sucção da amostra baseia-se no efeito de Venturi, ou seja, a velocidade e a pressão do fluido vai depender da geometria (altura, e o comprimento do tubo e do raio da curvatura do tubo) da secção por onde passa a amostra e o gás nebulizador. A amostra ao passar de uma zona de constrição para uma zona de expansão sofre diminuição de pressão e é aspirada [2.8]. Na figura 2.4 é apresentado um esquema de sucção da amostra através de um capilar pelo fluxo do gás nebulizador, segundo o nebulizador pneumático concêntrico. O aerossol formado na camara de nebulização é separado mediante o tamanho das gotículas. As

menores são transportadas para o plasma enquanto as maiores são drenadas [2.9]. Normalmente nos nebulizadores usa-se uma bomba peristáltica de modo a manter o caudal constante da amostra para o nebulizador e aumentar a eficiência da introdução da amostra [2.2].

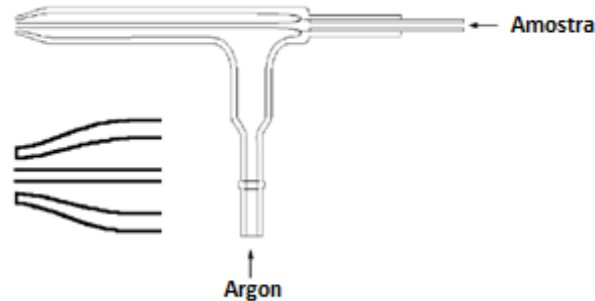


Figura 2.4. Nebulizador pneumático do tipo concêntrico. Adaptado de [2.15].

Nebulizadores Ultrassónicos

Nos nebulizadores do tipo ultrassónico, a vibração do cristal piezoelétrico a uma frequência ultrassónica (50 kHz to 4 MHz) leva ao bombeamento da amostra, através de um tubo de plástico, para o cristal. A vibração dos cristais faz com que as gotas das amostras se separem em partículas mais pequenas. A entrada de água e a circulação do ar permite diminuir o aumento da temperatura provocado pelas ondas de choques altamente energéticas [2.9].

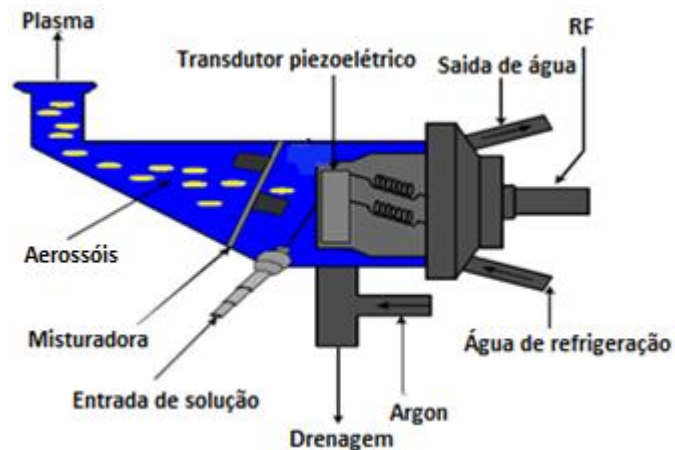


Figura 2.5. Nebulizador ultrassónico. Adaptado de [2.9].

Outros nebulizadores

A injeção da amostra por vaporização eletrotérmica é usada tanto para amostras líquidas como sólidas e consiste. No caso das amostras líquidas, é introduzida cerca de 5 a 50 μl [2.9] de volume, num forno de grafite que é posteriormente aquecido por energia elétrica. A amostra vaporizada é seguidamente transportada para o plasma.

O aquecimento do dispositivo elétrico dá-se gradualmente. A amostra é submetida a uma temperatura inicial relativamente baixa (ex: 100 °C) para evaporar o solvente. Em seguida a

temperatura é aumentada (ex: 2000° C) de modo a provocar a vaporização dos sólidos [2.9]. Em alguns casos ocorre uma etapa intermédia que permite a dissociação molecular e volatilização das espécies da matriz da amostra, que podem constituir interferentes. Quando os vapores da amostra são transportados para o plasma ocorre um aumento brusco na corrente elétrica, traduzida no aumento da temperatura, produzindo um sinal transiente. Deste modo o sistema de aquecimento e o detetor de sinal no ICP devem estar sintonizados [2.2].

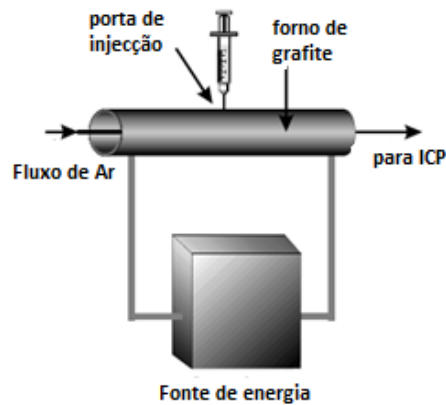


Figura 2.6. Vaporização eletrotérmica. Adaptado de [2.9].

O Nebulizador de injeção direta (DIN) consegue introduzir pequenos volumes de amostras líquidas com alta eficiência a partir de uma válvula. Volumes de amostras, entre 10 a 100 μL , são arrastados através de um fluxo de gás a alta pressão num tubo injetor. As amostras são seguidamente introduzidas diretamente no plasma. O fluxo da solução no capilar vai depender da densidade além de ser também influenciada pela pressão [2.2].

2.2.3.2. Tochas

O plasma é formado numa tocha de quartzo através da aplicação de um campo eletromagnético originado por uma fonte de radiofrequências (RF) ao fluxo de gás [2.2]. Os eletrões livres formados no campo eletromagnético, colidem com outros átomos de argón conduzindo a uma reação em cadeia na formação e argón iónico, atómico e iões livres, figura 2.7.

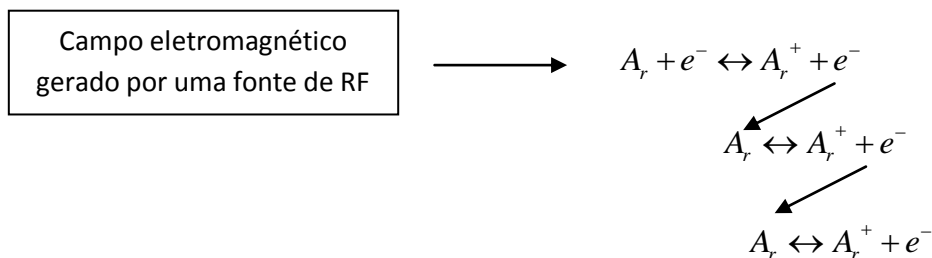


Figura 2.7. Formação do plasma no ICP-AES. Adaptado de [2.2].

O Plasma é constituído por um gás raro parcialmente ionizável, onde coexistem iões positivos e eletrões livres. Um dos gases raros usado para a formação do plasma é o árgon. Este apresenta a vantagem de ter uma menor energia de dissociação, ser monoatômico e quimicamente inerte. Outras das vantagens de usar o árgon é o baixo custo relativamente a outros gases raros e a sua capacidade de atomizar e excitar grande parte dos elementos da tabela periódica, e apresentando poucas interferências espectrais [2.3].

Um dos primeiros modelos de tocha do ICP foi desenvolvido por Reed em 1961. Posteriormente o modelo foi utilizado em sistemas analíticos por Greenfield et al em 1964 e por Wendt e Fassel em 1965.

Atualmente, a tocha de ICP mais comum usada, baseia-se num tubo circular de quartzo com três entradas de gás de árgon: principal, auxiliar e nebulizador, figura 2.8. O fluxo de gás principal, o árgon do plasma, é introduzido tangencialmente com um fluxo entre 8 a 20 L min⁻¹. O gás auxiliar transporta a amostra até a parte central do tubo e tem um fluxo tangencial de 0,5-3 L min⁻¹. Este gás é responsável pela estabilização do plasma. O fluxo de gás do nebulizador flui do nebulizador à camara de nebulização conduzindo o aerossol ao centro do plasma e tem um padrão de fluxo de (0,1 a 1,0) L min⁻¹ [2.9, 2.10]. A zona analítica é aproximadamente 1 cm acima da bobina e a temperatura do plasma nesta zona pode atingir cerca de 5000 a 8000 K. A alta temperatura permite que a maior parte dos elementos sejam atomizados, embora algumas espécies moleculares (N₂, N₂⁺, OH, C₂) possam ser facilmente lidos sem atomização. O plasma emite uma radiação de fundo contínua desde a região do visível a ultravioleta, essa radiação leva a formação de eletrões livres, Ar e Ar⁺ e outras espécies atômica e moleculares na matriz [2.9].

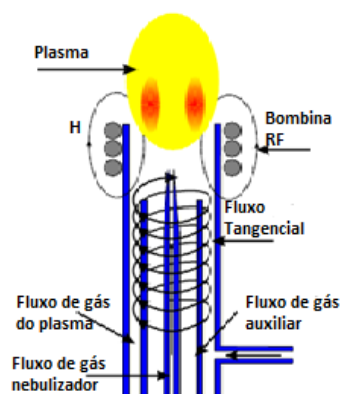


Figura 2.8. Esquema da tocha com a formação do plasma indutivo. Adaptado de [2.9].

O fluxo do gás e o tipo do gás utilizado vai influenciar a forma e o tamanho do plasma formado. As linhas do campo magnético induzido são distribuídas axialmente ao longo da tocha. Uma bobina de carga (geralmente um tubo de cobre) rodeia a extremidade superior da tocha e liga-se a uma fonte de radio frequência [2.9].

2.2.3.3. Geradores de radiofrequências

Os geradores mais comuns usados em ICP são os dos cristais controlados e os de livre circulação, “free-running” [2]. As fontes de radiofrequência de cristais piezoelétricos que oscilam a uma frequência fixa proporcionam uma RF constante. No gerador de RF de livre circulação, a tocha está integrada no circuito [2.3]. Quando a potência da radiofrequência é aplicada à bobina de carga (fio de cobre) ocorre a formação de uma corrente alterna oscilante na bobina a uma taxa correspondente à frequência do gerador. Esta oscilação da corrente da RF na bobina provoca um campo eletromagnético intenso, na parte superior da tocha. A figura 2.9. representa o processo de formação do campo eletromagnético pelo gerador de radio frequência [2.12].

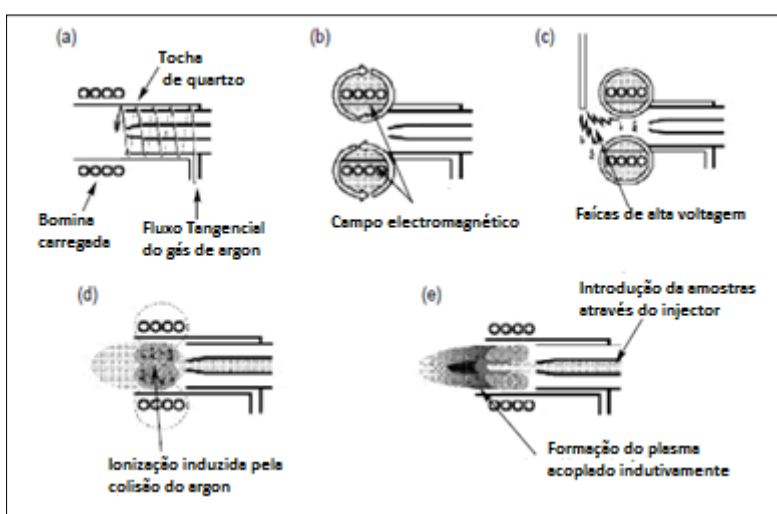


Figura 2.9. Formação do campo eletromagnético pelo gerador de radio frequência. Adaptado de [2.12]

Um critério importante a considerar na relação de geradores de RF é o modo como o sistema de detecção compensa as alterações na impedância (resistência do material ao fluxo da corrente elétrica) produzida por componentes da matriz da amostra ou pelas diferenças da volatilidade do solvente. Os geradores de cristais controlados, uma vez que são dispositivos mecânicos, exigem um esforço maior para compensar as alterações rápidas na impedância produzidas por algumas amostras. Deste modo o plasma é facilmente extinto, principalmente durante a aspiração de solventes orgânicos voláteis. Este problema é superado pela utilização de geradores de “free-running”, em que o sistema de detecção faz o ajustamento a partir da afinação de pequenas alterações na frequência [2.12].

As duas frequências, 27 MHz e 40 MHz, usadas nos geradores de RF não constituem interferências para outros equipamentos baseados em radio frequências. Os primeiros geradores de frequência usavam a frequência de 27 MHz e só posteriormente apareceram

geradores de 40 MHz. Esta última tem níveis de energia mais baixa o que produz uma menor intensidade de sinal e níveis reduzidos de fundo [2.12].

2.2.3.4. Detetores

Um sistema espectrómetro eficiente deve permitir análise numa banda larga do espectro com máximo de resolução e sensibilidade. Deverá apresentar uma fenda com capacidade de seleccionar uma banda fina de radiação e que esteja alinhada na região do plasma onde os elementos apresentam a máxima razão entre a intensidade de emissão do elemento e de fundo [2.2].

Existem três dispositivos, mais frequentemente usadas para separar ou dispersar a luz: redes de difração, prisma ou interferómetros de Michelson. Os sistemas de detecção podem ser do tipo: tubos fotomultiplicadores (PMTs, “photomultiplier tubes”), dispositivo de carga acoplada (CCDs, “charge coupled devices”), dispositivo de carga de injeção (CID “charge injection device”) e arranjos de foto díodos (PDAs, “photo diode arrays”). Estes dispositivos de dispersão da luz e detecção combinam-se entre si, em um a quatro configurações diferentes: sequencial, em simultâneo com um ponto de detecção, simultâneo com detecção unidimensional, simultâneo com detecção bidimensional [2.9]. Os espectrómetros sequenciais são monocromáticos e os simultâneos são policromáticos.

O sistema sequencial utiliza um prisma ou uma rede de difração na dispersão da luz e um detetor PMTs e permite analisar apenas uma linha analítica de cada vez (monocromador). Na análise da região do espectro eletromagnético com este sistema, o detetor é fixado numa posição e a rede de difração gira gradualmente. Sistemas mais eficientes como os policromados, permitem analisar simultaneamente um específico comprimento de onda a diferentes posições. Os PDAs representados na figura 2.10 são semelhantes aos fotomultiplicadores, isto é, os seus detetores estão numa posição fixa, e tem a vantagem de serem menores e menos dispendioso. Como resultado, mais detetores podem ser incorporados num único instrumento [2.9].

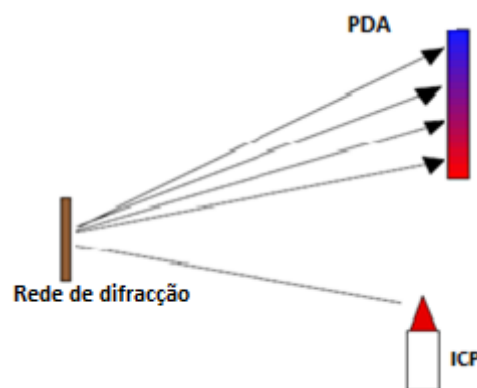


Figura 2.10. Arranjo de díodos em análise simultânea de radiação. Adaptado de [2.9].

A combinação de um sistema de dispersão da luz como um prisma ou rede de difração com um sistema de detecção de CCDs permite a análise multielementar usando mais do que um comprimento de onda por elemento. O prisma ou a rede de difração dispersam a radiação espectral em função da energia em duas dimensões. Cada pixel descarrega uma corrente, proporcional à energia que recebe [2.9]. A capacidade do espectrômetro de dispersar a radiação, vai depender da largura da fenda e da capacidade do elemento dispersivo separar as bandas de radiação em diferentes frequências [2.2].

2.2.4. Interferências

Qualquer processo físico ou químico que pode afetar a medição da radiação pode ser classificada como uma interferência. Esta pode ser consequência da preparação da amostra ou das condições operacionais do plasma. As interferências são classificadas em espectrais e não espectrais e podem ser específicas para um analito ou mais abrangente [2.9, 2.14].

2.2.4.1. Interferências espectrais

As interferências espectrais estão relacionadas com a separação incompleta da radiação emitida pelo analito das outras fontes de radiação. Radiações estas detetadas e amplificadas pelo sistema de detecção [2.14]. Estas interferências podem ser causadas por:

- ✓ Sobreposição parcial ou completa da linha de emissão de outro elemento com o do analito. (exemplo: emissão de fundo do Pb 220, 353 nm causado por Al 220, 463 nm).
- ✓ Sobreposição de uma banda molecular proveniente de uma partícula multiatômica formada no plasma, com origem no solvente, no ar ou nos gases (N₂, NO, NH, OH, CN), com a emissão do analito.
- ✓ Aumento da emissão do fundo causada pelo fenómeno de recombinação atômica.
- ✓ Aumento de fundo causado pela difusão da luz do elemento mais concentrado

A sobreposição espectral pode ser reduzida, usando um comprimento de onda alternativo, ou compensada, recorrendo a uma equação que corrige a contribuição de interelementos. Quando não corrigidas, as interferências podem levar a resultados, falsos positivos [2.3, 2.14].

Quando a interferência é responsável por cerca de 10% ou mais da concentração do analito, deve ser usado um comprimento de onda alternativo livre de interferências. Por exemplo, um pico de emissão de cobre a 213,853 nm pode ser confundido com um pico de zinco a 213,856 nm na leitura de uma solução com concentração elevada de cobre e baixa de zinco. Um varrimento de espectro na região de 213,8 nm não permite revelar o erro da identificação e o pico perto do zinco é observado. Este problema é ultrapassado se o cobre for medido no comprimento de onda de emissão a 324,754 nm. Dependendo da resolução do equipamento, um comprimento de onda alternativo, com uma sensibilidade apropriada e livre de interferentes, pode não estar disponíveis para todas as avaliações de analito/matriz [2.3].

As interferências devem ser avaliadas também para cada equipamento e condições operacionais, pois a intensidade interferente altera, não apenas com a resolução ótica mas também com as condições de operação (potência do gerador, configuração radial ou axial e fluxo de argônio) [3]. O impacto da presença de interferentes pode ser detectado pela análise de padrões de calibração ou de controle de qualidade.

Segundo Boumans [2.16] as amostras que contêm normalmente altas concentrações de Al, Ca e Mg causam um aumento significativo da intensidade do fundo em várias regiões do espectro. O Ti pode constituir uma interferência por sobreposição das linhas de emissão na determinação de concentrações vestigiais de diversos elementos [2.16].

2.2.4.2. Interferências não espectrais

As interferências não espectrais estão relacionadas com a sensibilidade do desempenho de medição às alterações da composição da solução. Estas podem ocorrer durante a nebulização, injeção da amostra, ou podem ser provenientes do plasma [2.3]. As interferências não espectrais podem ser físicas, de químicas ou de memória.

As interferências físicas estão relacionadas com o transporte, nebulização das amostras e às alterações nas propriedades físicas (viscosidade, tensão superficial, densidade) entre a solução da amostra e a solução de calibração. São causados pela diferença no conteúdo sólido dissolvido (sais ou substâncias orgânicas) bem como o tipo e a concentração do ácido usado nas soluções. Níveis altos de sólidos dissolvidos levam à formação de sais no nebulizador, com impacto na velocidade de fluxo do aerossol e causa desvio instrumental. O fornecimento do gás nebulizante, a eficiência da nebulização, e a distribuição do tamanho de gotas do aerossol são alterados e como consequência a sensibilidade [2.13].

As Interferências químicas incluem os efeitos da ionização e os efeitos da vaporização do soluto. As alterações na sensibilidade são atribuídas às alterações das condições de excitação do plasma que são causadas pela presença de elementos de fácil ionização, como os metais alcalinos. O efeito destes elementos depende das condições de operação do plasma (potência, fluxo de gás na introdução da amostra) e diferem de elemento para elemento [2.13, 2.14].

As interferências de memória surgem quando a análise de uma amostra anterior contribui para o sinal medido na amostra seguinte. Os efeitos de memória podem resultar da deposição da amostra no nebulizador, acumulação do material da amostra na tocha e ou na câmara de nebulização. O local onde ocorre esta deposição depende do elemento e pode ser minimizado através da lavagem do sistema com o branco entre as amostras [2.13, 2.14].

As interferências não espectrais podem ser superadas por diluição das soluções, uso de padrões com matriz equivalente a das amostras, uso da técnica de adição do padrão, uso de uma bomba peristáltico [2.13, 2.14].

2.2.5. Otimização

Um dos aspectos mais importantes a otimizar no ICP-AES é a intensidade da risca de emissão do elemento em estudo por comparação com a emissão de fundo. A otimização deste parâmetro é efetuada por ajuste da potência do gerador de radiofrequência, da velocidade dos três fluxos de gás da tocha e da zona de observação de emissão. Estes três parâmetros são dependentes entre si e dependem também do comprimento de onda de emissão estudado. O principal objetivo de otimizar as condições de operação é encontrar a melhor sensibilidade e a melhor precisão do sinal a ser usado [2.3, 2.5].

Para a otimização das condições é necessário saber a variação da intensidade das riscas de emissão dos átomos e iões da amostra ao longo da zona analítica, o que depende do elemento analisado. Devido às dificuldades em otimizar as condições de operação, frequentemente recorre-se a métodos estatísticos formais para otimizar os parâmetros todos. Porém os métodos estatísticos podem conduzir à indicação de condições, para além do limite físico do aparelho. O conhecimento dos processos físicos que ocorrem no plasma permite explicar algumas características do espectro de emissão do ICP-AES e a otimização das condições de operação, evitando trabalho desnecessário nas escolhas dos parâmetros ótimo usando modelos estatísticos [2.5].

2.2.6. Vantagens e desvantagens em relação a outras técnicas analíticas

O ICP-AES apresenta algumas vantagens em relação às outras técnicas como espectrometria de absorção atômica de chama (F-AAS) ou com forno de grafite (GF-AAS), permite análises multi elementares de diferentes amostras, nas mesmas condições de operação, num curto período de tempo e com limites de deteção da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$. Tem também a vantagem de apresentar elevada repetibilidade de medição e ausência de interferências interelementares. Em contrapartida o custo económico associado ao ICP-AES é muito mais dispendioso em relação F-AAS e GF-AAS, devido ao consumo elevado de argon. Também é a menos adequada na determinação de elementos voláteis.

Outra desvantagem é que como o número de comprimentos de onda de emissão aumenta, consequência de emissão de vários elementos diferentes ao mesmo tempo, a probabilidade para as interferências que possam surgir a partir de linhas espectrais que são muito próximos do comprimento de onda do analito também aumenta [2.15].

2.3. Validação do procedimento de medição

A validação do procedimento de medição permite avaliar se o método adotado é adequado ao objetivo alvo. Na validação do procedimento de medição, alguns parâmetros devem ser estudados e estabelecidos critérios de aceitação dos mesmos. Os parâmetros avaliados vão

depende do procedimento usado e do objetivo da medição. Neste trabalho, a validação do procedimento envolveu a determinação da linearidade da resposta, limite de detecção e quantificação, precisão intermédia, veracidade e incerteza da medição. A validação do procedimento de medição pode condicionar a abordagem seguida para avaliar a incerteza da medição, com vista a garantir que esta será mais baixa que um valor máximo alvo [2.32].

2.3.1. Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O limite de detecção pode ser definido como a concentração de analito associada a um sinal instrumental significativamente diferente do branco e do sinal de fundo, ou seja, a concentração mínima de analito que pode ser distinguida da ausência deste [2.30]. De acordo com o vocabulário internacional de metrologia (VIM), o limite de detecção é o valor da quantidade medida, obtida por um procedimento de medição, para a qual a probabilidade de detetar falsamente a ausência do analito num material é dado pelo β sendo β , o recomendado pelo IUPAC, de 0,05 [2.31]. O limite de quantificação define-se como sendo a menor concentração quantificada por um determinado método de medição, com precisão e exatidão aceitáveis [2.35].

A determinação do limite de detecção e quantificação é então dada a partir das equações 2.3.1 e 2.3.2 respetivamente.

$$(2.3.1) \quad LD = 3 \times S_{bl}$$

sendo o LD , limite de detecção, S_{bl} o desvio padrão da concentração estimada do branco.

O mesmo raciocínio é efetuado para o limite de quantificação (LQ) sendo dado pelo fator multiplicativo de 10 (Equação 2.3.2.).

$$(2.3.2) \quad LQ = 10 \times S_{bl}$$

A razão de estabelecer o LD e LQ é que estes dois parâmetros permitem definir o limite inferior da gama de trabalho do método, evitando medições quantitativas abaixo do LQ e assumir a presença do analito quando este de fato não está presente ou a sua ausência quando este está presente (erro tipo I e tipo II respetivamente) [2.30]. A reportação de resultados com incerteza evita a necessidade de estimar estes limiares analíticos.

2.3.2. Linearidade

A linearidade da variação da resposta instrumental do ICP-AES com a concentração de analito pode ser testada, de forma sumária, a partir do coeficiente de correlação linear de Pearson (r), visualmente, a partir da análise de um gráfico de residuais, ou, de forma rigorosa, a partir de testes estatísticos.

2.3.2.1. Coeficiente de correlação linear de Pearson

O coeficiente de correlação linear de Pearson (r) testa a relação linear entre duas variáveis (x , y), dado pela equação:

$$(2.3.3) \quad r = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{\left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right]}}$$

onde o \bar{x} e o \bar{y} representam a média dos valores das variáveis x e y respetivamente, e o i o número de observações, que varia de 1 a n , dos pares ordenados (x_i , y_i)

O r pode tomar valores entre $-1 < r < +1$. Quando o $r = +1$, este descreve uma correlação linear positiva perfeita, no qual os pontos estão posicionados numa reta com declive positivo. Um $r = -1$ indica uma correlação linear negativa perfeita, ou seja, os pontos estão posicionados numa reta com declive negativo. Quando o $r = 0$, significa que as variáveis x e y não têm uma correlação linear. O quadrado de r é designado como coeficiente de determinação da curva [2.30].

As desvantagens dos coeficientes de correlação linear de Pearson e de determinação para avaliação da linearidade dos sistemas estudados, resultam do facto de poderem produzir valores próximos de 1 mesmo quando o desvio à linearidade é evidente, ou estimarem valores muito diferentes de 1 quanto uma tendência linear perfeita é afetada por uma dispersão elevada dos resultados [2.33].

2.3.2.2. Gráfico de residuais

Os valores residuais são obtidos pela diferença entre o sinal estimado e o determinado, \hat{y}_{ij} e y_{ij} respetivamente. O gráfico de residuais não ponderados permite evidenciar a linearidade da relação entre x e y , e por outro lado, avaliar a homogeneidade da variância do sinal instrumental e detetar a presença de valores aberrantes [2.33].

Quando a curva de calibração é descrita por um modelo de regressão ponderado, normalmente representam-se valores residuais ponderados versus concentração. Os residuais ponderados são estimados através da equação 2.3.4 [2.33].

$$(2.3.4) \quad (y_{ij} - \hat{y}_{ij})_w = (y_{ij} - \hat{y}_{ij}) \times \sqrt{\frac{1}{s_i}}$$

A figura 2.11 representa gráficos residuais de dados heterocedásticos e homocedásticos respetivamente.

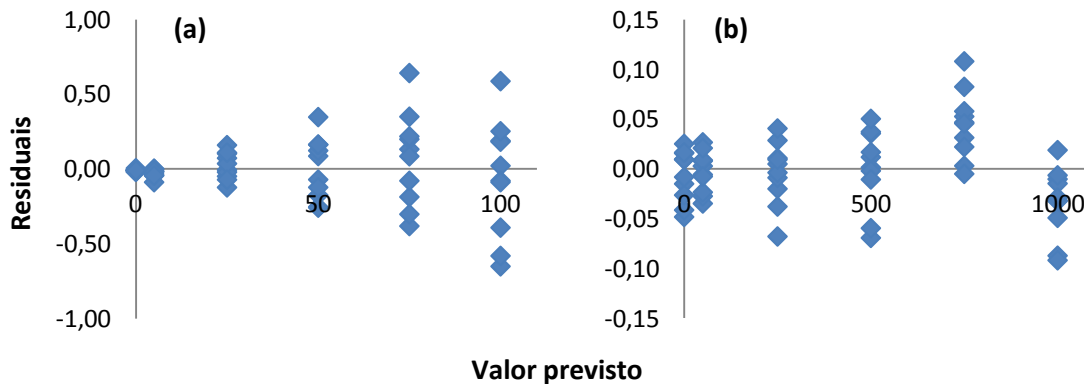


Figura 2.11. Gráficos residuais não ponderados: (a) linha de regressão adequados a dados heterocedásticos; (b) linha de regressão adequados a dados homocedásticos.

2.3.2.3. Validação do procedimento de calibração segundo Penninckx et al.

A estratégia para a validação do procedimento de calibração, proposta por Penninckx et al., baseia-se na análise estatística do sinal instrumental com vista à seleção de modelos lineares ou quadráticos para descrever a curva de calibração. No estudo desenvolvido por Penninckx et al., começaram por avaliar a combinação de diversos *designs* experimentais usados para descrever a curva de calibração, com objetivo em garantir respostas estatísticas fiáveis para um mínimo de medições. Estabeleceram desenhos experimentais com base num número máximo de 36 pontos de leituras. Para a avaliação estatística dos resultados, foi analisada, à priori, a presença de valores aberrantes nos dados experimentais, a variabilidade das variâncias dos sinais e o ajuste dos sinais ao modelo de regressão. A presença de valores aberrantes é avaliada porque estes distorcem a normalidade dos dados exigidos por grande parte dos testes estatísticos estudados. Quando a variância dos sinais instrumentais é homoscedástica recorre-se a modelos de regressão não ponderados, e quando é heterocedástica a modelos ponderados. Por último, o modelo de regressão é avaliado, por testes estatísticos, quanto à qualidade do seu ajuste aos dados experimentais. Neste trabalho estudaram-se modelos de regressão lineares: modelos linear não ponderado e modelo linear ponderado.

Verificaram que para a avaliação da falta de ajuste aos dados experimentais de um modelo linear ou quadrático são necessários pelo menos 3 a 4 níveis de concentração respetivamente. Verificaram também que a probabilidade dos testes de Grubbs e Dixon, usados na deteção de valores aberrantes, de conseguirem identificar corretamente valores aberrantes, diminui com a diminuição da dimensão da amostra. Concluíram que era necessário, pelo menos 5 medições para cada nível de concentração de modo a conseguir detetar corretamente valores aberrantes únicos e mais de 6 medições para valores aberrantes emparelhados. Em relação ao estudo da tendência da variabilidade da variância ao longo da concentração, constataram que

a distribuição das medições por 3 níveis de concentrações permitiu detetar a heterogeneidade dos dados mais facilmente, ou seja, a distribuição dos dados por mais níveis de concentração diminui a probabilidade dos testes estatísticos (teste Fisher, Cochran, Hartley e Bartlett) detetarem a heterogeneidade das variâncias. Da comparação dos testes, verificaram que o teste F (teste de Fisher), produziu melhores resultados, além de ser o teste recomendado pela Norma ISO 8466 -1/2 e o mais fácil de aplicar.

A avaliação da qualidade de ajuste ao modelo de regressão linear não ponderado é efetuada segundo os testes ajuste ANOVA e um teste de aleatorização proposto por Penninckx et al. Para os dados heterocedásticos, Penninckx et al. estudaram o desempenho de quatro testes para avaliar a qualidade do ajuste a modelos de regressão ponderados. Um destes testes, teste χ^2 , consiste na soma do quadrado dos valores residuais multiplicado pelo fator ponderado (W_i):

$$(2.3.5) \quad S = \sum W_i (\bar{y}_i - \hat{y}_i)^2$$

sendo o W_i , o inverso da variância do y_i . O teste de aleatorização proposto por Van der Voet para o modelo ponderado consiste no cálculo da raiz do valor ponderado multiplicado pelo valor residual:

$$(2.3.6) \quad S = \sqrt{W_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)$$

2.3.3. Precisão Intermédia da medição

A precisão da medição, segundo VIM, corresponde ao grau de concordância entre indicações ou valores medidos, obtida por medições repetidas, no mesmo objeto ou em objetos similares, sob condições específicas. As condições podem ser de precisão intermédia, repetibilidade ou reprodutibilidade. A medição da precisão é expressa normalmente em termos de desvio padrão, variância e coeficiente de variação [2.31].

A precisão intermédia é a dispersão de resultados em condição de medição num conjunto de condições, as quais compreendem o mesmo procedimento de medição, o mesmo local e medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares, ao longo dum período extenso de tempo, mas pode incluir outras condições que envolvam mudanças. A repetibilidade, a condição de medição corresponde a um conjunto de condições, as quais incluem o mesmo procedimento de medição, os mesmos operadores, o mesmo sistema de medição, as mesmas condições de operação e o mesmo local, assim como medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares durante um curto período de tempo. A condição de medição num conjunto de condições, as quais incluem diferentes locais, diferentes operadores, diferentes sistemas de medição e medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares corresponde a condições de reprodutibilidade, VIM [2.31].

A determinação da precisão intermédia da medição é um dos componentes essenciais para estimar a incerteza global desta. Neste trabalho a precisão da medição foi quantificada em condições de precisão intermédia.

2.3.3. Veracidade da medição

Segundo (VIM) [2.31], a veracidade define-se como sendo o grau de concordância entre a média dum número infinito de valores medidos repetidos e um valor de referência [2.31]. Desta forma é afetada por erro sistemático da medição. Normalmente efetua-se a correção de recuperação do analito, para corrigir os erros sistemáticos que ocorrem ao longo do procedimento de medição.

Apesar da validação do procedimento de medição também compreender a avaliação da incerteza de medição, esta última, será descrita na alínea 2.4 (separado), que apresenta-se a seguir.

2.4. Avaliação da incerteza da medição

2.4.1. Princípios da avaliação da incerteza da medição

2.4.1.1. Conceito de incerteza da medição

A incerteza, segundo VIM, define-se como “parâmetro não negativo que caracteriza a dispersão dos valores atribuídos a uma mensuranda, com base nas informações utilizadas” [2.31].

2.4.1.2. Etapas da avaliação da incerteza da medição

O primeiro passo na avaliação da incerteza é definir a mensuranda. A definição da mensuranda consiste em especificar o que se quer medir, ou seja, definir o alvo da nossa medição. A incerteza final de uma medição resulta da combinação de vários componentes de incerteza que afetam a medição. A identificação das fontes que contribuem para a incerteza final da medição é uma das etapas mais difíceis de avaliar e depende da complexidade do método e da abordagem de quantificação seguida. A avaliação dos componentes da incerteza é expressa pelo desvio padrão e a sua combinação num só valor final é efetuada através da lei de propagação da incerteza.

Depois de enumeradas, as componentes de incerteza são quantificadas e combinadas antes de serem reportadas com o valor da quantidade medida. Uma das abordagens seguidas na avaliação da incerteza consiste no estudo, em separado, das diversas fontes de incerteza que contribuem para a incerteza global. Porém também pode-se optar por avaliar diretamente o resultado da combinação de diversas fontes, este processo tem a vantagem de ser relativamente mais rápido e simples e reduzir o esforço envolvido na avaliação da incerteza [2.32].

Normalmente determina-se a incerteza expandida que permite a produção de um intervalo no qual se acredita que o valor da mensuranda se encontra com um grau de confiança elevado (normalmente de 95 ou 99%). A incerteza combinada expandida $U_c(y)$ é estimada através da multiplicação do valor da incerteza padrão combinada, analisada a um nível de confiança de apenas 68%, por um fator de expansão, que depende do nível de confiança final escolhido. A figura 2.12 representa as etapas envolvidas no processo de avaliação da incerteza de medição [2.32].

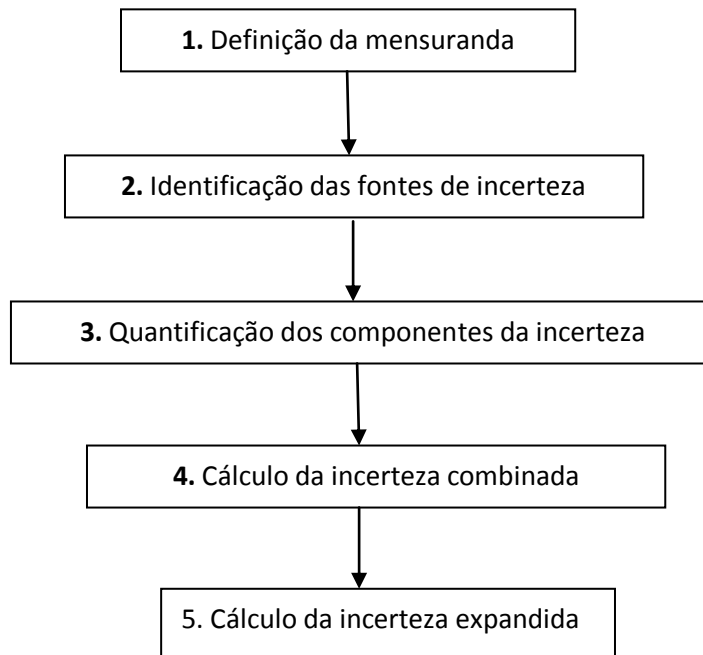


Figura 2.12 Etapas da avaliação da incerteza da medição.

2.4.1.3. Avaliação da incerteza associada a uma pesagem

No estudo da incerteza associada à pesagem, são avaliados diversos fatores que podem afetar a qualidade da medição. As fontes de incerteza contabilizadas, para a determinação da incerteza associada à um pesagem única, compreendem a calibração da balança e a repetibilidade da pesagem [2.33].

$$(2.4.1) \quad u_m = \sqrt{(u_{bal}^{calib})^2 + (u_{bal}^{rep})^2}$$

a u_{bal}^{calib} corresponde a incerteza associada a linearidade e sensibilidade da balança e é normalmente estimada pela razão entre o erro máximo atribuído ao equipamento (informação retirada do certificado de calibração do equipamento) e $\sqrt{3}$, considerando uma distribuição retangular uniforme. A incerteza da repetibilidade u_{bal}^{rep} é estimada pelo desvio padrão de um conjunto de resultados de pesagens, medidos na balança em condições de repetibilidade. Quando a pesagem é efetuada por diferença [$m = m(\text{bruto}) + m(\text{tara})$] em condições de

temperatura, humidade e pressão constantes, as fontes de incerteza associada a repetibilidade e à calibração da balança, podem ocorrer duas vezes, equação 2.4.2.

$$(2.4.2) \quad u_m = \sqrt{2(u_{bal}^{calib})^2 + 2(u_{bal}^{rep})^2}$$

2.4.1.4. Avaliação da incerteza associada à medição de um volume

Em química analítica, a volumetria é uma das operações mais recorrentemente utilizado no caso das análises de amostras líquidas.

Na avaliação da incerteza associada à medição de um volume isolado, normalmente considera-se a combinação das seguintes fontes de incerteza: a incerteza associada à calibração do material volumétrico, à repetibilidade da manipulação do material volumétrico e à diferença entre a temperatura de medição e a temperatura de referência de calibração (normalmente 20 °C). Estas componentes de incertezas são quantificadas pelas incertezas padrão u_v^{calib} , u_v^{rep} e u_v^{temp} respetivamente, equação 2.4.3.

$$(2.4.3) \quad u_v = \sqrt{(u_v^{calib})^2 + (u_v^{rep})^2 + (u_v^{temp})^2}$$

A incerteza associada ao efeito da temperatura é desprezável face às outras fontes de incertezas pois normalmente as medições dos volumes são realizadas sob condições (temperaturas) muito próximas das de referências. Ou seja, considera-se que o efeito da temperatura na expansão térmica dos líquidos é pouca acentuada. Deste modo, a incerteza associada à medição de um volume é determinada pela equação 2.4.4:

$$(2.4.4) \quad u_v = \sqrt{(u_v^{calib})^2 + (u_v^{rep})^2}$$

A incerteza associada à calibração do material volumétrico é estimada pela tolerância do valor nominal do volume a um determinado nível de confiança. Se não existir qualquer informação sobre a distribuição dos valores da tolerância, assume-se uma distribuição retangular uniforme com nível de confiança de 99%. A repetibilidade da manipulação do material volumétrico é estimada pelo desvio padrão das massas dos volumes de água destilada, medidos em condições de repetibilidade [2.33].

Na diluição de um volume inicial V_i , da solução para um volume final V_f , a incerteza associada ao fator de diluição $F_v = V_i / V_f$ corresponde:

$$(2.4.5) \quad \frac{u_{F_v}}{F_v} = \sqrt{\left(\frac{u_{V_i}}{V_i}\right)^2 + \left(\frac{u_{V_f}}{V_f}\right)^2} \Leftrightarrow \frac{u_{F_v}}{F_v} = \sqrt{\frac{(u_{V_i}^{calib})^2 + (u_{V_i}^{rep})^2}{V_i^2} + \frac{(u_{V_f}^{calib})^2 + (u_{V_f}^{rep})^2}{V_f^2}}$$

2.4.1.5. Avaliação da incerteza associada a uma quantificação instrumental

A incerteza associada à quantificação instrumental divide-se em duas partes. A incerteza associada à interpolação do sinal da amostra no modelo de regressão usado para descrever a curva de calibração e a incerteza associada à preparação dos padrões de calibração da instrumentação. A incerteza da preparação dos padrões, dependendo das operações envolvidas, é determinada pela combinação da incerteza associada às etapas gravimétricas e / ou volumétricas. A incerteza da interpolação do sinal da amostra vai depender do tipo do modelo regressão linear usado na calibração.

Para a avaliação da incerteza associada à interpolação do sinal da amostra na curva de calibração é descrito o modelo de regressão linear ponderado. Este modelo é aplicado quando existe uma relação linear entre a concentração do analito (x) e o sinal instrumental (y) e a variância da resposta instrumental é heterocedástica, ou seja, a dispersão absoluta da resposta instrumental, varia com a concentração do analito [2.30]. Normalmente, esta aumenta com a concentração do analito.

Os parâmetros da regressão linear ponderada, nomeadamente a ordenada na origem e o declive, são determinados a partir de um fator de ponderação (w_i) que consiste no inverso da variância do sinal a diferentes níveis de concentração. De um conjunto de valores do sinal instrumental é determinado o desvio padrão s_i para cada nível de concentração, que varia de 1 a n . Os pesos individuais dos pares ordenados (x_i, y_i) são então determinados a partir da equação 2.4.6

$$(2.4.6) w_i = \frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2} / n}$$

O declive e a ordenada na origem são respetivamente determinados por:

$$(2.4.7) b_w = \frac{\sum_i w_i x_i y_i - n \bar{y}_w \bar{x}_w}{\sum_i w_i x_i^2 - n \bar{x}_w^2}$$

$$(2.4.8) a_w = \bar{y}_w - b_w \bar{x}_w$$

com \bar{x}_w e \bar{y}_w , representado a coordenada do peso centróide pelo qual passa a linha de regressão ponderada ($\bar{x}_w = \sum_i x_i w_i / n$ e $\bar{y}_w = \sum_i y_i w_i / n$).

O modelo de regressão linear ponderado tem a desvantagem de requerer leituras replicadas dos padrões de calibração, para a determinação do desvio padrão do sinal associado a diferentes níveis de concentração.

O cálculo do desvio padrão da concentração de uma amostra estimado por interpolação na linha de regressão ponderada é realizado pela equação 2.4.9.

$$(2.4.9) \quad s_{x_{ow}} = \frac{s_{(y/x)w}}{b} \times \sqrt{\left(\frac{1}{w_o}\right) + \left(\frac{1}{n}\right) + \frac{(y_o - \bar{y}_w)^2}{b^2 (\sum_i w_i x_i^2 - n \bar{x}_w^2)}}$$

o $s_{(y/x)w}$ representa o desvio padrão residual ponderado.

$$(2.4.10) \quad s_{(y/x)w} = \sqrt{\frac{\sum_i w_i (y_i - \hat{y})^2}{n-2}}$$

em que o w_o corresponde o peso relativo do sinal da amostra y_o e é determinado, tendo em conta uma relação linear entre a concentração e o desvio padrão do sinal instrumental (x_i, s_i) descrita por um modelo de regressão linear não ponderado.

A incerteza associada à concentração da amostra, estimada por interpolação na regressão ponderada, é menor quando o valor da concentração da amostra encontra-se próximo do valor do centróide ponderado $(y_o - \bar{y}_w)$. Pode-se assim concluir que o desvio padrão produzido por uma linha de regressão ponderada associado à concentração da uma amostra estimado por interpolação é menor em amostras com concentrações baixas, pois o centróide está mais próximo da origem [2.30].

Um dos pressupostos do modelo é considerar que a incerteza associada à razão das concentrações dos padrões (eixo x) é desprezável face à precisão da resposta instrumental. Ou seja, como a regressão linear minimiza os valores residuais do sinal instrumental, esta só será afetada se a posição relativa dos pontos associado ao eixo das concentrações dos padrões for afetado pelo procedimento da preparação dos mesmos. Para validar o pressuposto, avalia-se se a razão das concentrações dos padrões de calibração é afetada por uma incerteza desprezável considerando a resposta instrumental.

Para tal, determina-se incerteza associada à razão da concentração de pares de padrões da curva de calibração $(c_{Std1}$ e $c_{Std2})$, diluídos da mesma solução intermédia com concentração

c_{SI} , usando pipetas e balões volumétricos (p_1, b_1, p_2, b_2) , equação 2.4.11.

$$(2.4.11) \quad R_{1,2} = \frac{c_{Std1}}{c_{Std2}} = \frac{c_{SI} \cdot p_1 / b_1}{c_{SI} \cdot p_2 / b_2} = \frac{p_1 / b_1}{p_2 / b_2}$$

Seguidamente a relativa $u'_{R_{1,2}}$ associada a $R_{1,2}$ é estimada pela equação 2.4.12.

$$(2.4.12) \quad u'_{R_{1,2}} = \frac{u_{R_{1,2}}}{R_{1,2}} = \sqrt{\left(\frac{u_{p_1}}{p_1}\right)^2 + \left(\frac{u_{p_2}}{p_2}\right)^2 + \left(\frac{u_{b_1}}{b_1}\right)^2 + \left(\frac{u_{b_2}}{b_2}\right)^2}$$

em que a $u_{R_{1,2}}$ é a incerteza padrão absoluta.

Compara-se então, o valor da incerteza padrão relativa $u'_{R_{x,y}}$ obtido para as diferentes combinações de concentrações dos padrões da curva, com menor repetibilidade relativa do sinal instrumental (estimado para a maior concentração). Para o pressuposto do modelo ser cumprido, para cada par de níveis de concentração, a incerteza associada à razão da concentração dos padrões de calibração, deve ser pelo menos 3 vezes inferior ao desvio padrão relativo da resposta instrumental (RSD).

$$(2.4.13) \quad u'_{R_{x,y}} \cdot 3 \leq RSD$$

Quando a condição é válida, a incerteza associada à preparação dos padrões da curva de calibração é avaliada a partir da incerteza associada à preparação do padrão intermédio (padrão a partir do qual foram preparados, os padrões da curva de calibração)

2.4.2. Abordagens para avaliação da incerteza da medição

Apesar das etapas comuns na avaliação da incerteza, nos últimos anos foram desenvolvidas diversas formas (abordagens), com objetivo de avaliar a incerteza de medição. As abordagens da avaliação da incerteza dividem-se em 3 tipos: a subanalítica, o supralaboratorial e a supra-analítica [3.2, 3.3].

As abordagens subanalíticas têm por base a identificação e a quantificação isolada de todas as fontes de incerteza que afetam o desempenho das etapas analíticas do método. Esta abordagem envolve a quantificação de incerteza associada às etapas analíticas ou efeitos isolados. Uma das desvantagens desta abordagem, resulta da dificuldade da sua aplicação a procedimentos analíticos complexos, quer pela dificuldade em identificar todas as fontes de incerteza que afetam o desempenho das etapas do método analítico quer pela dificuldade em contabilizar a interdependência das fontes de incerteza e estimar a contribuição de cada um dos componentes da incerteza de medição. Porém, as abordagens subanalíticas apresentam uma grande vantagem, ao permitirem estudar a contribuição percentual de cada uma das fontes de incerteza, servindo assim de base para otimizar o procedimento de medição. Esta abordagem ao identificar as fontes de incertezas minoritárias associadas ao processo de medição, permite reduzir os custos em materiais e equipamentos. Por outro lado, ao contrário da abordagem supralaboratorial, a abordagem subanalítica não depende de informação interlaboratorial para estimar a incerteza de medição [2.33].

A abordagem supralaboratorial consiste em usar dados interlaboratoriais para estimar a incerteza associada a resultados obtidos em ambiente intralaboratorial. Ou seja, os erros sistemáticos e aleatórios que ocorrem em ambiente intralaboratorial são observados como erros aleatórios a nível supralaboratorial. Deste modo, uma das grandes desvantagens desta abordagem é estar dependente de informações de outros laboratórios. Este facto é responsável pela sua reduzida aplicação na avaliação da incerteza de medição, apesar de ser facilmente quantificável. Esta abordagem também tende a sobrestimar a incerteza associada às medições.

Devido às dificuldades envolvidas na aplicação da abordagem subanalítica e devido a pouca informação a nível interlaboratorial em alguns sectores analíticos, em 1998 Stephan Ellison e Vicki Barwick desenvolveram uma abordagem baseado em dados da validação designada como abordagem de reconciliação [2.33]. Esta abordagem é designada do tipo supra-analítica.

As abordagens supra-analíticas baseiam-se na combinação da incerteza estimada com base nos parâmetros do desempenho global da medição reunidos durante a validação interna do procedimento (precisão e veracidade) e da incerteza associada às fontes de incerteza mantidas constantes ao longo do estudo de validação. Ou seja, esta abordagem divide as fontes de incertezas em três tipos. A incerteza associada à veracidade da medição, a incerteza associada à precisão da medição e a incerteza associada às outras fontes de incerteza. A incerteza da precisão da medição é avaliada a partir do desvio padrão dos resultados de medições replicados obtidos em condições de precisão intermédia ou repetibilidade. Já a avaliação da incerteza associada à veracidade de medição incerteza é mais complexa e envolve a determinada da recuperação média do analito (R), da influência da matriz e concentração do analito na recuperação e de eventuais diferenças na recuperação do analito nativo nas amostras nos materiais de referências usadas no cálculo de R [2.33].

A principal vantagem desta abordagem é a sua simplicidade, mesmo quando o método é complexo e a sua avaliação considerar apenas dados intralaboratoriais. Por outro lado, esta abordagem tem a desvantagem de não conseguir estimar a contribuição percentual das etapas e efeitos isolados para a incerteza de medição.

Apesar destas abordagens apresentarem vantagens sobre determinados aspetos e desvantagens sobre outros, uma das dificuldades em comum apresentada por estas três abordagens, consiste na avaliação de incertezas das etapas complexas de um método analítico.

2.4.3. Abordagem diferencial para avaliação da incerteza da medição

Neste trabalho, a avaliação da incerteza foi estimada recorrendo à abordagem diferencial, que tem a vantagem de fornecer pormenores ao nível do contributo de cada etapa do procedimento de medição para a incerteza, sendo possível determinar incertezas associadas às

etapas analíticas complexas isoladamente. Esta abordagem consiste na quantificação da incerteza de diferentes etapas do procedimento de medição, como as fontes de incertezas de etapas simples (volumétricas, gravimétricas, quantificação instrumental) e etapas analíticas complexas (extração, digestão) [2.36].

A metodologia estatística usada neste trabalho, para a determinação das etapas complexas do procedimento analítico, foi baseada no trabalho desenvolvido por Bettencourt da Silva et al [2.33]. A figura 2.13 representa um esquema na determinação da incerteza associada às etapas analíticas complexas da abordagem diferencial, usado neste trabalho, para avaliar a incerteza de medição.

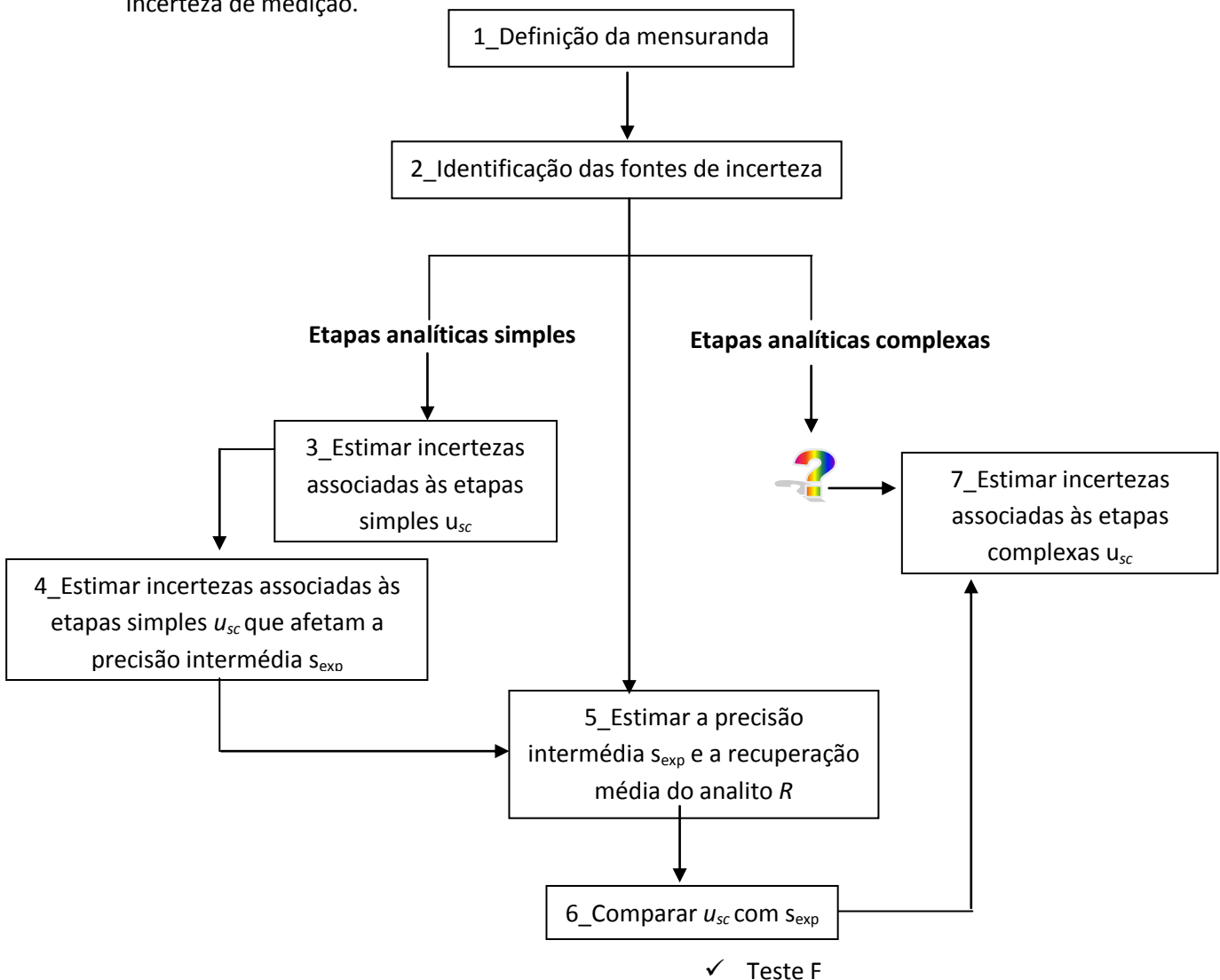


Figura 2.13 Avaliação da incerteza associada às etapas analíticas complexas.

Começa-se por definir a mensuranda, ou seja, estabelecer de forma objetiva o alvo do estudo e os parâmetros de que esta depende. Seguidamente as etapas simples e complexas envolvidas no procedimento são identificadas. A precisão intermédia estimada é comparada

com a incerteza resultante da combinação de todas as etapas analíticas simples que afetam a precisão intermédia. Através de um teste de Fisher com nível de confiança de 95%, é avaliado se a precisão intermédia (S_{exp}) é significativamente maior que a incerteza associada à combinação das etapas simples relevantes (u_{SC}). Se o S_{exp} for significativamente maior que u_{SC} , estima-se, por diferença, a incerteza associada às etapas complexas recorrendo a lei de propagação de incerteza. Por outro lado, se o S_{exp} não for significativamente maior que u_{SC} , conclui-se que as fontes de incertezas das etapas simples são suficientes para descrever a dispersão dos resultados (desprezando as outras fontes de incerteza) ou considera-se que a incerteza das etapas analíticas simples foi sobrestimada.

Após a determinação da incerteza das etapas analíticas complexas, define-se um modelo de desempenho da medição com base na combinação das fontes de incertezas das etapas analíticas simples com etapas analíticas complexas, considerando também a incerteza associado à recuperação média do analito. A incerteza relativa global da medição $u'_c(y)$, é então determinada por:

$$(2.4.14) \quad u'_c(y) = \sqrt{(u'_{\text{simples}})^2 + (u'_{\text{complexas}})^2 + (u'_R)^2}$$

3. Parte Experimental

3.1. Material

Nesta alínea são descritos os materiais e equipamentos usados durante todo o procedimento de medição da concentração dos metais pesados nas amostras, desde a preparação e digestão da amostra até a sua quantificação através da espectrometria de emissão atômica com plasma induzido.

- I. Na preparação da amostra foi utilizada uma estufa Heraeus[®] e um moinho Retsch[®].
- II. Na determinação do teor de matéria orgânica e a percentagem de humidade foi usada uma mufla Barracha[®] modelo KD4, 9 kW com alcance de 1300 °C e uma estufa Memmert[®] ULE 500 respetivamente.
- III. Para a pesagem de 1 g da amostra foi usada uma balança eletrónica de Shimadzu[®] modelo AW220, alcance de 220 g e sensibilidade de 0,1 mg.
- IV. Na extração foi utilizada um condensador de refluxo de 8 bolas e uma bateria de 6 placas de aquecimento circulares P Selecta[®]
- V. Filtros whatman[®] de 150 mm
- VI. Na extração e aferição do volume das amostras foram usadas balões volumétricos de 100 ml de classe A (Germany[®], Hirschmann Techolor[®] e Labbox[®]) e erlenmeyers de 250 ml (labbox[®])
- VII. Na preparação dos padrões de calibração foram usadas pipetas volumétricas aferidas e graduadas de classe A (Germany[®])
- VIII. Micropipetas de 1, 5 e 10 mL (Eppendorf[®]).
- IX. Balões volumétricos de 100, 200 e 250 ml de classe A (Germany[®], Hirschmann Techolor[®] e Labbox[®]).
- X. Espectrofotómetro de emissão atômica de modelo IRIS Intrepid II XSP, programado com um sistema de *software* TEVA desenvolvido por Thermo Elemental[®].



Figura 3.1. Espectrofotómetro de emissão atômica com plasma indutivo IRIS Intrepid II XSP.

3.2. Reagentes

A extração dos metais pesados das amostras de materiais de referência, BIPEA (Bureau Interprofessionnel d'Études Analytiques), foi realizada com uma solução de água-régia. Os reagentes, usados para a oxidação da matéria orgânica das amostras são: HCl 37% PA-ACS-ISO, de densidade de $1,19 \text{ g cm}^{-3}$ com limite máximo de impurezas de metais pesados de 0,0001%, e HNO_3 65% PA-ISSO de densidade de $1,39 \text{ g cm}^{-3}$ com limite máximo de impurezas de metais pesados de 0,00002%, combinadas na proporção de 7 e 21 mL respectivamente. As amostras das BIPEA analisadas correspondem a materiais de referências de corretivos orgânicos, com as seguintes referências: ID de 509/2010, 169/2010, 18/2010, 10/2011, 9/2012 e foi igualmente analisado um material de referência interno com a referência 155-MRI.

Para a preparação dos padrões da curva de calibração, para análise das amostras no ICP-AES, foram utilizados soluções mãe comerciais dos elementos cobre, zinco, chumbo, cádmio, crômio e níquel:

- I. Solução (1001 ± 2) mg L^{-1} de cobre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ em HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) da MERCK® com teor rastreável às referências da NIST.
- II. Solução (1002 ± 2) mg L^{-1} de zinco ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ em HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) da MERCK® com teor rastreável às referências da NIST.
- III. Solução (998 ± 2) mg L^{-1} de chumbo (Pb (II) em HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) da MERCK®.
- IV. Solução (1001 ± 2) mg L^{-1} de cádmio ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ em HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) da MERCK® com teor rastreável às referências da NIST.
- V. Solução (996 ± 5) mg L^{-1} de crômio (Cr (III) em HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) da MERCK®.
- VI. Solução (999 ± 2) mg L^{-1} de níquel ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ em HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) da MERCK® com teor rastreável às referências da NIST.

Foi também necessário HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e água destilada para a preparação dos padrões da curva de calibração. Para a quantificação instrumental, foi utilizado o gás árgon (pureza de 99,999 %)

3.3. Procedimento experimental para análise de corretivos orgânicos e lamas de depuração.

A determinação dos metais pesados, cobre, zinco, chumbo, cádmio e crômio, em resíduos orgânicos e lamas de depuração foi realizado seguindo 3 etapas distintas: a preparação da amostra, a extração da toma e a quantificação instrumental. Foram realizadas análises em seis amostras de materiais de referências (MR), BIPEA. Os MR usados são corretivos orgânicos, cujos valores de concentrações de metais pesados, são determinados em testes interlaboratoriais.

3.3.1. Preparação das amostras

A preparação das amostras consiste na remoção de partes não desejáveis da amostra (como pedras e folhas) e na sua homogeneização. A amostra é colocada na estufa a secar durante 48 horas a 102°C e seguidamente moída. Este processo permite obter grânulos com diâmetro de aproximadamente de 500 µm, promovendo assim, a sua homogeneidade e a eficácia do ataque do ácido durante a extração. Antes da digestão das amostras, normalmente é determinada a percentagem de matéria orgânica e a percentagem da humidade de acordo com a norma EN 13040:2000 [3.1]. Na determinação da humidade pesa-se a cápsula com aproximadamente 50 g de amostra colocando-a na estufa à 102 °C a secar, até que a diferença entre duas pesagens sucessivas não ultrapasse 0,1 g (no mínimo 4 horas) de acordo com o critério de massa constante. A determinação da matéria orgânica é realizada depois da determinação da humidade da amostra. As capsulas com as amostras são colocadas na mufla no mínimo durante 6 h, à 450 °C.

Neste trabalho, não foi necessário determinar o teor em humidade nem em matéria orgânica das amostras analisadas, pois estes dois parâmetros já tinham sido determinados pelo laboratório. Os resultados, disponibilizados pela responsável do laboratório, encontram-se apresentados no 3.anexo A, tabela 3.A.1.

3.3.2. Extração de metais nas tomas de amostras

Após a preparação das amostras é efetuada a extração de uma toma analítica para a quantificação dos metais pesados, segundo a norma EN 13650 [3.2]. A extração da toma de ensaio consiste na obtenção de uma solução com o analito, numa concentração correspondente à amostra preparada. É pesada aproximadamente 1 g de amostra e seguidamente adicionados 7 mL de ácido nítrico e 21 mL de ácido clorídrico. As amostras ficam em repouso aproximadamente 16h à temperatura ambiente, de modo a permitir a oxidação lenta da matéria orgânica. Após este período, a extração é conseguida com uso de um condensador de refluxo submetida a um aumento gradual de temperatura. A volatilização da amostra é evitada com recurso a esta técnica. Após 2 horas de reação, as amostras são transferidas para um balão volumétrico de 100 mL e o volume é aferido. Na última etapa da extração da amostra, a solução contendo uma fração insolúvel é filtrada. Dependendo da concentração em metais pesados, a solução filtrada pode ser diluída para análise por ICP-AES.

Em algumas amostras com teor de matéria orgânica muito elevados (509/2010, 18/2010 e 9/2012) foi necessário reduzir a toma de ensaio bem como aumentar o volume de HNO₃ adicionado, o tempo de ataque (oxidação da matéria orgânica) e controlar a temperatura de extração.

3.3.3. Quantificação instrumental

Após o processo de extração, a quantificação dos teores dos metais pesados nos extratos, foi realizada recorrendo à espectrometria de emissão atómica com plasma induzido (ICP-AES) seguindo a norma ISO 22036:2008 [3.3]. A quantificação instrumental envolveu a preparação dos padrões de calibração, a calibração e leitura das amostras.

3.3.3.1. Preparação dos padrões

A preparação dos padrões de calibração foi realizada considerando as possíveis interferências, tanto espectrais como não espectrais, nas determinações e a gama de trabalho. A partir de uma solução mãe, foi preparada, por diluição, uma solução intermédia. Mediante a diluição da solução intermédia, em diferentes concentrações, preparou-se os padrões de calibração e procedeu-se à calibração numa gama específica de trabalho. As soluções intermédias dos metais pesados foram preparadas em separado em HNO_3 0,5 mol L^{-1} e HNO_3 1:1 de HNO_3 de 65%, seguindo as indicações apresentadas na tabela 3.1.

Tabela 3.1. Composição dos padrões intermédios usados para a preparação padrões de calibração.

Metais pesados	Volume de padrão da solução mãe	Volume de HNO_3 1:1	Concentração final da solução intermédia SI
Cobre	20 mL	20 mL	100 mg L^{-1}
Zinco	20 mL	20 mL	100 mg L^{-1}
Chumbo	1 mL	20 mL	5 mg L^{-1}
Cádmio	200 μL	20 mL	1 mg L^{-1}
Crómio	2 mL	20 mL	10 mg L^{-1}
Níquel	1 mL	20 mL	5 mg L^{-1}

Os padrões intermédios preparados foram aferidos com HNO_3 0,5 mol L^{-1} . As curvas de calibração usadas na análise em ICP-AES, tabela 3.2, foram traçadas com bases em padrões mistos de cobre e zinco, crómio e cádmio e padrões isolados de chumbo e níquel à uma gama de trabalho específico.

Tabela 3.2. Gama de calibração do ICP-AES para a determinação dos metais pesados estudados. A primeira coluna apresenta a notação usada para designar os padrões.

Padrões	Cu ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cr ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ni ($\mu\text{g L}^{-1}$)
PO	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PA	0,5	0,5	50,0	5,0	100,0	200,0
PB	2,0	2,5	250,0	25,0	500,0	500,0
PC	3,0	10,0	500,0	50,0	750,0	1000,0
PD	4,0	20,0	750,0	75,0	1000,0	1500,0
PE	5,0	30,0	1000,0	100,0	2000,0	2000,0

Os padrões mistos foram preparados, adicionando os padrões intermédios, 7 mL de HNO_3 e 21 mL de HCl, num balão volumétrico de 100 mL. O volume foi aferido com água destilada.

3.3.3.2. Procedimento de medição do ICP-AES

A análise foi efetuada num espectrofotómetro de Thermo elemental[®], modelo IRIS Intrepid II XSP, com uma fonte de emissão, de árgon acoplado indutivamente (ICAP). As amostras foram introduzidas sob a forma de aerossóis através de um nebulizador. Foi utilizado um nebulizador concêntrico tipo conikal de modelo AR30-07-FC2E. O gerador de radio frequência usado no ICP-AES consistia num gerador do tipo cristal controlado de 27,12 MHz a 40,68 MHz e de potência de 2 kW. O sistema de deteção consistia no dispositivo de injeção de carga única, detetor tipo CID. Por último os sinais eletrónicos foram tratados no software “TEVA”. A tabela 3.3 resume as condições instrumentais de análise das amostras através do ICP-AES.

Tabela 3.3. Condições de operação do ICP-AES

Parâmetros do plasma

- ✚ Potência de RF: 1150 W
- ✚ Pressão no nebulizador: 193.74 kPa
- ✚ Gás auxiliar: 1 L min^{-1}
- ✚ Bomba do nebulizador
 - Velocidade de descarga da bomba: 2,22 ml min^{-1}
 - Velocidade de análise da bomba: 1,85 ml min^{-1}
 - Tempo de relaxação da bomba: 5 s

Amostras

- ✚ Tempo de lavagem das amostras: 100 s
- ✚ Tempo de atraso: 20 s
- ✚ Nº de medições das amostras: 3

Análise do tempo máximo de integração

- ✚ Comprimento de onda maior: 5 s
- ✚ Comprimento de onda menor: 30 s

Fonte

- ✚ Tipo de plasma: ICAP
- ✚ Introdução das amostras: Nebulizador

Padrões de controlo

- ✚ PC-QC (Designação do padrão usado como padrão de controlo)
- ✚ Tempo de lavagem dos padrões: 5 s

A partir das interferências das linhas espectrais dos diferentes elementos apresentados na ISO 22036:2008, foi possível definir as linhas espectrais para análise. A tabela 3.4 apresenta as linhas espectrais usadas para quantificar a concentração dos metais pesados estudados.

Tabela 3.4. Comprimento de onda das riscas de emissão usadas na análise dos demais analitos por ICP-AES.

Metais Pesados	Comprimento de onda de emissão (nm)
Cobre	324,754
Zinco	206,200
Chumbo	220,353
Cádmio	214,438
Crômio	206,149
Níquel	231,604

Todos os comprimentos de onda apresentados na tabela 3.4 já estavam pré-definidos pelo laboratório. Dos estudos de interferências espectrais apresentados pela ISO 22036:2008 foi possível confirmar a utilização das linhas espectrais apresentadas na tabela 3.4.

4. Tratamento e discussão de resultados da determinação de metais pesados

Na validação do procedimento de medição, dos metais pesados (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni), começou-se por determinar o limite de deteção e de quantificação. Em seguida foi avaliada a linearidade da gama de trabalho, a precisão intermédia, a veracidade e a incerteza da mediação. Por último, o desempenho do procedimento de medição foi verificado a partir da análise do material de referência certificado (MRC) em duplicado e de ensaios em branco.

4.1. Limite de deteção e de quantificação

Neste trabalho procedeu-se à determinação dos limites de deteção (LD) e de quantificação (LQ) tanto através de ensaios em branco como recorrendo aos sinais de calibrações multi-ponto. Os limites de deteção de medições cujo desempenho varia de dia para dia, são igualmente variáveis.

Foram efetuados 30 ensaios em branco que passaram pelo mesmo procedimento de medição das amostras, mas em condições de repetibilidade e precisão intermédia.

Os ensaios em branco foram seguidamente quantificado por ICP-AES e os resultados apresentados em concentrações (4. Anexo A, tabela 4.A.1). Com os dados determinou-se o desvio padrão da concentração dos 30 ensaios em branco. Por fim, de acordo com a equação 2.3.1 e 2.3.2 (ver alínea 2.3) foram determinados os LD e LQ respetivamente. Na tabela 4.1 estão apresentados os LD e os LQ das medições dos metais pesados, (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni), por ICP-AES, através da análise dos ensaios em branco. Além da determinação dos LD e LQ, os ensaios em branco têm como objetivo principal, detetar contaminações que podem ocorrer durante o processo de preparação da amostra, evitando a ocorrência deste tipo de erros.

Tabela 4.1. LD e LQ da determinação dos metais pesados por ICP-AES estimados através de ensaios em branco.

Metais Pesados	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cu	28	93
Zn	265	883
Pb	9,5	32
Cd	0,52	1,4
Cr	13	43
Ni	78	260

Como seria de esperar o LQ é superior ao LD. Este, por sua vez, deve estar associado a sinais superiores ao fundo (linha de base) numa magnitude três vezes superior ao ruído de fundo.

Como referido anteriormente, os LD e LQ podem ser determinados recorrendo aos parâmetros do modelo de regressão usados para descrever uma calibração multi-ponto. Foi produzida uma curva de calibração multi-ponto em condições de precisão intermédia. As leituras não foram realizadas em dias consecutivos. No total, obteve-se dez leituras de sinais instrumentais de cada um dos padrões da calibração multi-ponto, ou seja, dez curvas de calibração diárias foram combinadas (4.anexo A, tabela de 4.A.2 - 4.A.7). A partir do histórico do sinal, destas medições, foi determinado o desvio padrão residual ponderado.

Uma vez que o limite de deteção define-se como sendo a concentração do analito que produz um sinal igual ao sinal do branco mais três vezes o desvio padrão do branco (Equação 4.1.1):

$$(4.1.1) Y_{LD} = Y_{bl} + 3 \times S_{bl}$$

No caso do sinal do branco ser aproximadamente igual à ordenada na origem:

$$(4.1.2) LD = (3 \times S_{(y/x)_w}) / b_w$$

$$(4.1.3) LQ = (10 \times S_{(y/x)_w}) / b_w$$

em que b_w é o declive da curva estimado pelo modelo de regressão linear ponderado. Os resultados dos LD e LQ estão reportados na tabela 4.2.

Tabela 4.2. LD e LQ dos metais pesados por ICP-AES, estimados pelo modelo de regressão linear ponderado.

Metais Pesados	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cu	6	20
Zu	23	78
Pb	6,0	20
Cd	0,13	0,45
Cr	4,7	15
Ni	35	116

Os valores de LD e LQ determinados através do modelo de regressão foram menores que os obtidos usando os ensaios em branco.

Podemos então concluir que a variabilidade do sinal dos ensaios branco é maior do que a estimada pelo modelo de regressão. O primeiro ponto da curva de calibração, excluindo o branco, foi estabelecido tendo em conta o histórico das concentrações das amostras analisadas e os valores de LD e LQ previstos. Neste trabalho estabeleceu-se o primeiro ponto,

de forma que seja menor que o observado nas amostras e 2 a 3 vezes superior ao LQ estimado pela regressão linear ponderada anteriormente descrita.

O ICP-AES foi calibrado com padrões de concentrações aproximadamente equidistantes, de modo a representar equitativamente toda a gama. Desta forma, garantimos que o declive seja igual entre cada ponto, não tendo os pontos das baixas ou altas concentrações, maior ou menor peso para o declive da curva de calibração. Como o laboratório já tinha pré definido o primeiro e último ponto da curva de calibração (com base no histórico das amostras analisadas), foi mais fácil definir a curva de calibração. Para a maioria dos elementos, os pontos foram apenas ajustados, para pontos mais ou menos equidistantes. Porém para o elemento Ni, foi preciso ajustar toda a gama de calibração, pois o primeiro ponto se encontrava fora do LQ do ICP-AES. O LQ do Ni determinado foi de aproximadamente $116 \mu\text{g L}^{-1}$ e o primeiro ponto da curva de calibração estava definido para $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

4.2. Linearidade

Neste trabalho, a linearidade foi avaliada, usando o coeficiente de determinação, considerando o sinal médio obtido em 6 leituras efetuadas em dias diferentes (4.anexo A, tabela 4.A.8 - 4.A.13) e o gráfico residual do sinal instrumental. Muitas vezes valores acima de 0,99 são aceites como indicando uma correlação linear, porém neste trabalho estabeleceu-se como critério de aceitação de r , valores iguais ou superior a 0,999. A figura 4.1 apresenta as curvas de calibração usadas para a avaliação da linearidade da determinação de Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni.

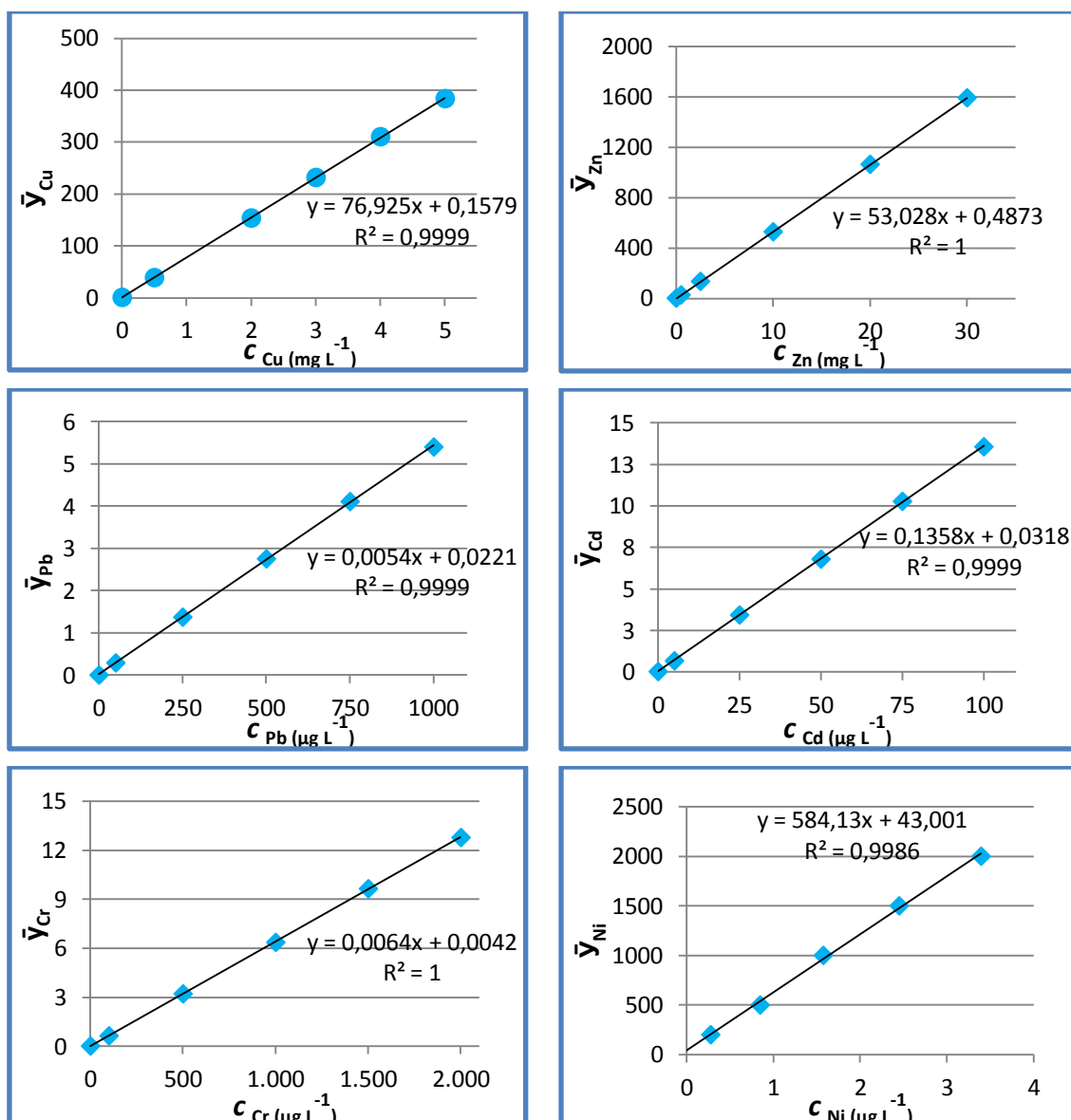


Figura 4.1. Sinal médio de seis curvas de calibração (\bar{y}) em função da concentração (c) dos metais (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni.) obtido por ICP-AES, com a linha de regressão apresentada, segundo o modelo linear não ponderado.

Para todos os elementos analisados, foi obtido um coeficiente de correlação linear superior a 0,999 atestando a linearidade das curvas de calibração. Esta afirmação pode ser ainda corroborada através de um gráfico de valores residuais, das seis leituras da curva de calibração realizada em seis dias diferentes, figura 4.2.

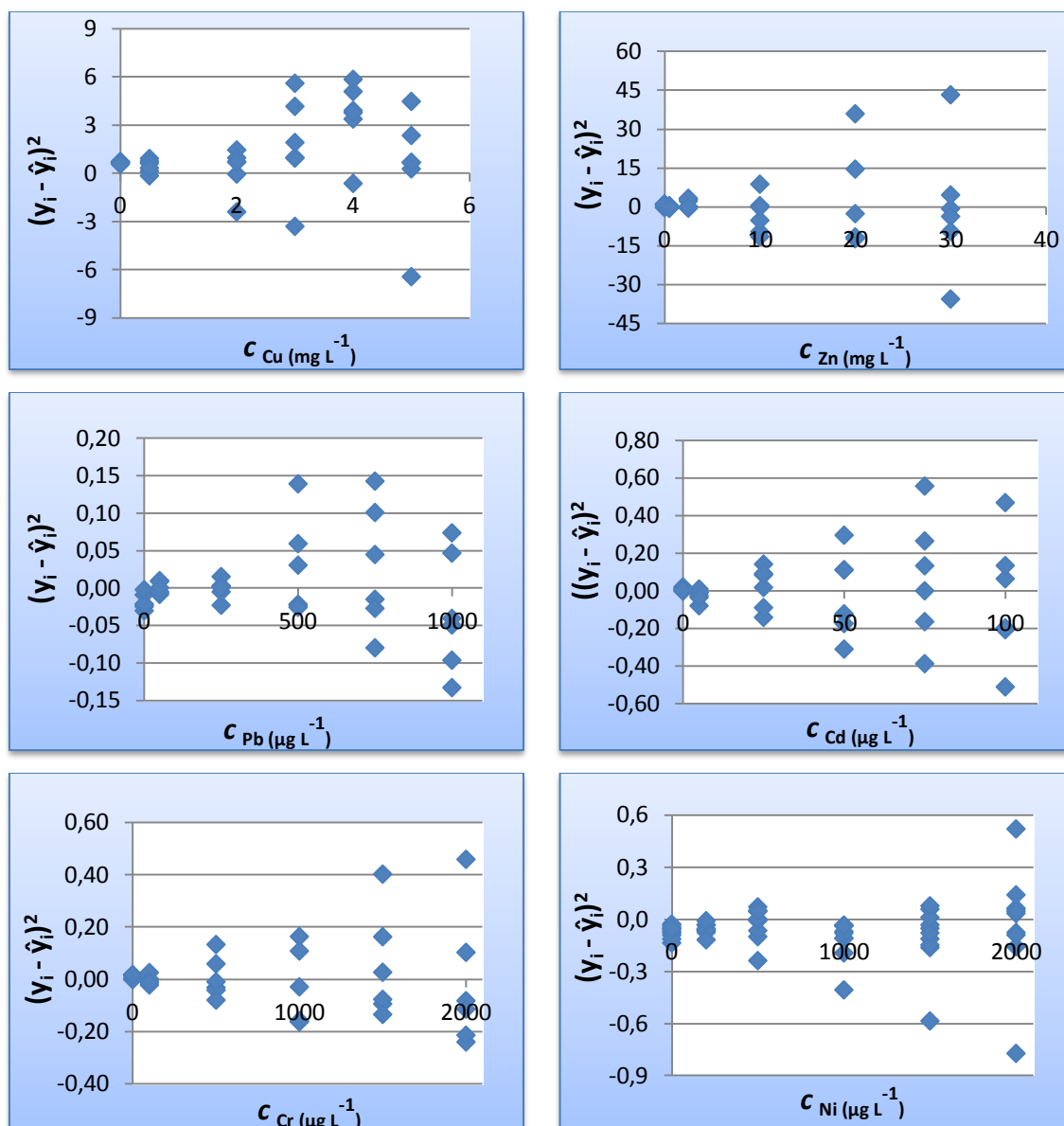


Figura 4.2. Gráficos de residuais não ponderados da curva de calibração do Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni.

Pode-se constatar, na figura 4.2, a heterogeneidade da variância do sinal instrumental, neste caso, ocorre um aumento da variabilidade do sinal ao longo da concentração. Este facto foi observado em todos os metais pesados estudados.

Os gráficos de residuais são muitas vezes combinados com os coeficientes de correlação linear de Pearson ou determinação, para proteger a avaliação da linearidade das fragilidades destes últimos.

4.2.1. Aplicação da estratégia de validação do procedimento de calibração

Uma alternativa, mais fiável, ao uso combinado destas ferramentas é a utilização de testes de significância estatística. Penninckx et al [2.34] desenvolveu e validou uma estratégia da definição dos modelos de regressão mais adequados para descrever a resposta de um método

instrumental de análise baseado em ferramentas estatísticas. Com bases nestes estudos foi desenvolvida a estratégia que se apresenta neste trabalho, na avaliação do comportamento da variância e do ajuste do modelo de regressão selecionado aos dados experimentais, figura 4.3.

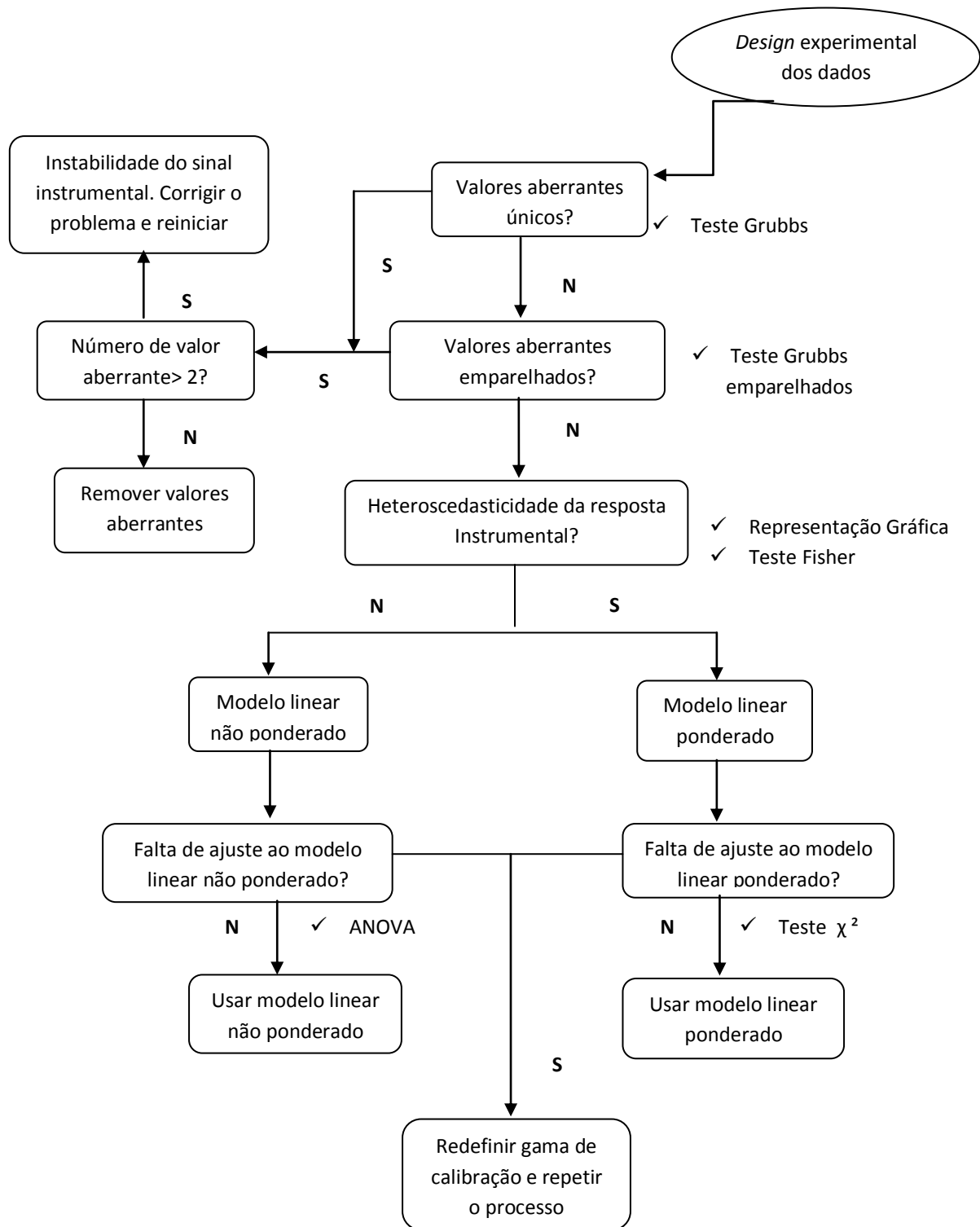


Figura 4.3. Esquema da validação do procedimento de calibração.

Na sequência do estudo do *design* experimental que melhor traduz a capacidade de identificar os valores aberrantes, testar a variabilidade da variância, e testar a qualidade de ajuste do modelo de regressão, foi usado um desenho experimental de 36 pontos, 6 níveis de concentração dos padrões com 6 replicados em cada nível, a partir do histórico das medições experimentais (4.anexo A, tabela 4.A.8 - 4.A.13) das curvas de calibrações.

4.2.1.1. Avaliação de valores aberrantes

A partir dos testes de Grubbs, desenvolvidos por Grubbs e Beck [4.2], foi avaliada a presença dos valores aberrantes nos sinais dos 6 níveis de concentração para cada metal pesado estudado. O conjunto de leituras y_{ij} dos sinais instrumentais foram ordenados por ordem crescente de $y_{i1} \leq y_{i2} \leq \dots y_{ij-1} \leq y_{ij}$ [4.1]. Em seguida determinou-se se a leitura (do sinal) mais alta ou a mais baixa é inconsistente com os outros dados experimentais (sinal) considerando uma distribuição normal. Neste caso, foram calculados os parâmetros apresentados nas equações 4.2.1 e 4.2.2 respetivamente para determinação de valores aberrantes únicos.

$$(4.2.1) T_{ij} = \frac{y_{ij} - \bar{y}}{s}$$

$$(4.2.2) T_{i1} = \frac{y_{i1} - \bar{y}}{s}$$

em que o \bar{y} representa a média de todas as observações e s o desvio padrão do sinal y_{ij} .

Quando o T_{ij} ou o T_{i1} calculado for superior a um valor crítico tabelado ($T_{critico}$), para o nível de confiança desejado e número de observações (4.anexo A, tabela 4.14), considera-se que os valores y_{ij} e o y_{i1} são valores aberrantes únicos. O teste efetuado requer no mínimo 3 números de observações, de modo a determinar o desvio padrão das observações.

Uma vez que não foram detetados valores aberrantes únicos através do teste de Grubbs, para um nível de confiança de 99%, recorreu-se ao teste de Grubbs de valores emparelhados. Este teste tem como objetivo verificar se os pares de observações mais altas, baixas ou antagónicas (nos extremos superior e inferior), estão significativamente afastadas das restantes, assumindo uma distribuição normal. O teste é dado pela equação 4.2.3.

$$(4.2.3) T = \frac{1 - s'}{s}$$

sendo s' o desvio padrão das observações excluindo as duas leituras mais baixas, altas ou antagónicas.

O valor do T é seguidamente comparado com um valor crítico tabelado (4.anexo A, tabela 4.15), para um nível de confiança estabelecido e número de observações efetuadas. Se o T for superior ao valor crítico, o par de observações excluídos para o cálculo de T , são considerados valores aberrantes [4.1].

Para todos os elementos analisados, as 6 curvas de calibração não apresentaram valores aberrantes emparelhados superiores a 2, para um nível de confiança de 99%.

4.2.1.2. Avaliação da homogeneidade da variabilidade dos sinais instrumentais

Após análise dos valores aberrantes, estudou-se a tendência da variabilidade da resposta instrumental através do teste de Fisher e da análise do gráfico de residuais *versus* concentração, como indicada na figura 4.2. Da análise dos gráficos residuais, figura 4.2, constatou-se que os residuais aumentavam com aumento da concentração dos metais pesados (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni). Através do teste de Fisher segundo a ISO 8466, foi também constatada a variabilidade do sinal com aumento da concentração.

O teste de Fisher unilateral avalia, se a variância da concentração mais alta é superior à variância da concentração mais baixa e é dado pela razão entre as variâncias da concentração mais alta s_m^2 , e da concentração mais baixa s_1^2 , como mostrado na equação 4.2.4.

$$(4.2.4) F = \frac{s_m^2}{s_1^2}$$

o valor de F é seguidamente comparado com uma tabela de valores da distribuição $F_{(\alpha, v_1, v_2)}$ unilateral com um nível confiança de 99%, designado de $F_{crítico}$. O $v_1(n-1)$ e o $v_2(n-1)$ correspondem, respetivamente, aos graus de liberdade dos termos do numerador e denominador. O n é o número de observações. A avaliação da variabilidade das variâncias é realizada da seguinte forma:

- Se F for superior a $F_{(\alpha, v_1, v_2)}$, considera-se que s_m^2 é significativamente superior a s_1^2 .
- Se F for inferior a $F_{(\alpha, v_1, v_2)}$, considera-se que não existem diferenças significativas entre as variâncias s_m^2 e s_1^2 .

Exemplificando o teste F , para o elemento Zn, temos:

$$(4.2.5) s_i = \sqrt{\frac{\sum_i (y_{ij} - \bar{y}_i)^2}{n-1}}$$

o s_i representa o desvio padrão associado ao sinal das leituras do padrão a um nível de concentração i , e o n o número de leituras. Para a concentração mais alta ($i = 6$) e para a concentração mais baixa ($i = 1$), temos:

$$s_6^2 = 25,56$$

$$s_1^2 = 0,5556$$

$$(4.2.6) F = \frac{s_6^2}{s_1^2} = 2117$$

$$F_{(\alpha, v_1, v_2)} = F_{(0,01;5;5)} = 10,97$$

O valor do F é muito superior ao valor do $F_{(0,01;5;5)}$, concluindo assim, que há diferenças significativas entre as variâncias das concentrações mais alta e a mais baixa, ou seja, os dados das leituras do sinal instrumental são heterocedásticas. Na tabela 4.3, encontram-se apresentados os valores de F calculado, para todos os metais analisados (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni).

Tabela 4.3. Teste de Fisher para a avaliação da heterocedasticidade dos dados experimentais.

Metais Pesados	$F_{(0,01;5;5)}$	F
Cu		3617
Zn		2117
Pb	10,97	57,44
Cd		2158
Cr		1148
Ni		34,27

Os resultados são reportados com 4 algarismos significativos.

Todos os elementos determinados e as gamas de concentração estudadas apresentam variâncias de sinais instrumentais heteroscedásticas. Este fato foi corroborado pela representação dos gráficos de residuais e pelo teste de Fisher. Em suma, estas gamas de calibração devem ser estudadas por modelos ponderados. Neste trabalho, foi estudado o modelo de regressão ponderado mais simples: o linear.

4.2.1.3. Avaliação do ajuste do modelo de regressão

Como proposto por Penninckx et al., foi utilizado o teste chi-quadrado (χ^2) para avaliar a qualidade de ajuste do modelo linear ponderado. O teste χ^2 é um teste não paramétrico, que avalia as divergências entre valores observados e estimados pelo modelo de regressão. Considera-se um conjunto de dados de pares ordenados (x_{ij}, y_{ji}) que representam a relação

entre as duas variáveis x e y (concentração e sinal), sendo o i , o número de níveis de x estudados (varia de 1 a m) e j , o número de observações replicadas (varia de 1 a k). Seguidamente determina-se a soma ponderada do quadrado dos residuais SS_{Rw} , dado pela equação 4.2.7

$$(4.2.7) \quad SS_{Rw} = \sum_i \sum_j w_i \left(y_{ij} - \hat{y}_i \right)^2$$

o w_i representa o fator de ponderação dos valores y_{ij} e o \hat{y}_i , o valor de y , estimado pela linha de regressão ponderada. Determina-se também a soma ponderada dos quadrados do erro puro SS_{PEw} , dado pela equação 4.2.8:

$$(4.2.8) \quad SS_{PEw} = \sum_i \sum_j w_i \left(y_{ij} - \bar{y}_i \right)^2$$

Por último a soma ponderada do quadrado associado à falta de ajuste do modelo é dada pela equação 4.2.9:

$$(4.2.9) \quad SS_{LOF} = SS_{Rw} - SS_{PEw}$$

Após determinar o SS_{LOF} , calcula-se a média dos quadrados associados ao erro puro e à falta de ajuste do modelo através equações 4.2.10 e 4.2.11, respetivamente.

$$(4.2.10) \quad MS_{LOF_w} = \frac{SS_{LOF_w}}{n - 2}$$

$$(4.2.11) \quad MS_{PE_w} = \frac{SS_{PE_w}}{n(k - n)}$$

A razão das médias quadráticas $F = MS_{LOF_w} / MS_{PE_w}$ é seguidamente comparada com o valor de $F_{crítico} = F_{(\alpha, n(k-n), n-2)}$ para um grau de confiança de 99% ($\alpha = 0,01$). Se $F \leq F_{crítico}$, considera-se que o ajuste do modelo é satisfatório. O teste χ^2 foi realizado, utilizando uma folha de cálculo desenvolvida no software MS-Excel 2007. Os resultados encontram-se apresentados na tabela 4.4.

Tabela 4.4. Teste χ^2 para a avaliação do ajuste da curva de regressão linear ponderado.

Metais Pesados	$F_{crítico} = F_{(\alpha, n(k-n), n-2)}$	F
Cu	4,018	2,012
Zn		3,027
Pb		3,331
Cd		1,615
Cr		1,115

Ni 3,171

Os resultados são reportados com 4 algarismos significativos.

Para todos os elementos estudados pelo histórico do sinal apresentado em 4.anexo A, tabela 4.A.8 - 4.A.13, os sinais ajustam-se ao modelo de regressão linear ponderado.

4.3. Precisão Intermédia da medição

Neste estudo, optou-se por estimar a precisão intermédia em vez da reprodutibilidade ou repetibilidade. A reprodutibilidade precisaria de dados de outros laboratórios, para ser estimada, o que seria difícil de realizar. Por outro lado, a reprodutibilidade não constitui um parâmetro imprescindível a ser avaliado neste trabalho, pois o objetivo foi validar o procedimento de medição usado no laboratório.

Para a determinação da precisão intermédia foram analisadas 6 amostras de materiais de referência (MR), as BIPEA, durante 3 semanas. Em cada semana, foi determinado a concentração de Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni das 6 amostras, em ensaios duplicados. Os resultados encontram-se apresentados em 4.anexo A, tabela 4.A.16 – 4.A.18.

Os ensaios em branco das amostras foram realizados em paralelo com as amostras em estudo, de modo a detetar possíveis contaminações, que podem ocorrer durante a medição.

Na determinação da precisão intermedia relativa (S'_{PI}), dado pela equação 4.3.2, foi usada a média dos duplicados de cada semana, como exemplificado na tabela 4.5 em relação ao elemento cobre. Os ensaios duplicados realizados em cada semana envolveram digestão independente.

A determinação da concentração dos metais pesados em relação à massa da amostra pesada é calculada com base na seguinte equação:

$$(4.3.1) \quad c_a \text{ (mg g}^{-1}\text{)} = \frac{c \text{ (mg L}^{-1}\text{)} \times v \text{ (L)}}{m \text{ (g)}}$$

sendo c_a , a concentração no extrato, v o volume do extrato (100 mL = 0,1 L) e m , a massa da amostra pesada.

Tabela 4.5. Resultados da análise replicada do cobre em diversas amostras com vista a estimar a precisão intermedia da média dos replicados obtidas em condições de repetibilidade.

	\bar{x} 1ª Semana (mg g ⁻¹)	\bar{x} 2ª Semana (mg g ⁻¹)	\bar{x} 3ª Semana (mg g ⁻¹)	\bar{X} Média das médias (mg g ⁻¹)
BIPEAS				
509	0,0128	0,0133	0,0131	0,0131
169	0,0262	0,0259	0,0263	0,0261
18	0,0313	0,0307	0,0310	0,0310
9	0,0086	0,0089	0,0084	0,0086
10	0,0577	0,0643	0,0555	0,0591
155 MRI	0,0755	0,0720	0,0705	0,0727

$$(4.3.2) \quad s'_{PI} = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^t \sum_{k=1}^n ((\bar{x}_{ij} - \bar{X}_j) / \bar{X}_j)^2}{t(n-1)}}$$

o t representa o número de amostras analisadas, n o número de semanas da análise dos replicados, \bar{x}_{ij} a média dos duplicados das amostras em cada uma das semanas e \bar{X}_j , a média dos resultados de todas as semanas.

Tabela 4.6. Precisão intermédia relativa global das medições, para cada elemento analisado

Metais pesados	Precisão intermédia relativa (s'_{PI})
Cu	0,0381
Zn	0,0387
Pb	0,0699
Cd	0,1049
Cr	0,1238
Ni	0,1084

Podemos verificar que o desvio padrão relativo dos resultados é maior para elementos como Pb, Cd, Cr e Ni, nos quais as concentrações das amostras são da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto nos elementos como o Cu e Zn, cujas amostras têm uma concentração na ordem de mg L^{-1} , a dispersão relativa é menor.

4.4. Veracidade da medição

Os resultados das 6 BIPEA analisadas foram comparados com os valores de referência conhecidos dos mesmos. É recomendado que o valor mais baixo dos MR seja pelo menos 3 vezes superior ao limite inferior de quantificação, o que foi verificado nas amostras em estudo. Os valores de referência reportados das BIPEA foram determinados tendo em conta vários resultados de diversos laboratórios e diferentes métodos de quantificação de metais pesados extraíveis em água-régia. A matriz dos MR (BIPEA) corresponde ao da aplicação do método. A média dos resultados das amostras, das 3 semanas é comparada com o valor de referência conhecido das BIPEA. O valor referente a cada uma das semanas é determinado pela média dos duplicados das amostras (4.anexo A, tabela 4.A.16 - 4.A.18). Como os valores de referências estimado pelas BIPEA estavam reportados em relação à massa da matéria original (4.anexo A, tabela 4.19), foi necessário a partir da determinação da humidade das amostras BIPEA (3.anexo A, tabela 3.A.1), converter estes valores relativos à matéria seca pois a determinação dos metais pesados, realizado neste trabalho, foi efetuada tendo por base, amostras secas. A equação 4.4.1 descreve a correção da determinação para matéria seca.

$$(4.4.1) c_{ms} = c_{mo} \times \frac{\%ms}{100}$$

C_{ms} é a concentração em relação à matéria seca, C_{mo} a concentração em relação à matéria tal qual (original) e a % ms , a percentagem da matéria seca.

A tabela 4.7. resume os resultados obtidos da análise das amostras BIPEAS, para cada elemento estudado, e os seus respetivos valores de referência.

Tabela 4.7. Resultados das amostras MR (BIPEA) reportado em $mg\ kg^{-1}$ em relação aos valores de referência.

Na sequência da análise da amostra 509, constatou-se que a diferença entre o valor obtido e o valor de referência é significativamente mais elevada que nas restantes análises. Este resultado pode ser explicado pelas dificuldades que ocorreram durante o processo de extração. A amostra 509 apresentava um elevado teor de matéria orgânica, o que levou a uma maior efervescência e formação de bolhas durante a digestão. Poderão ter ocorrido possíveis perdas de solução, apesar de ter sido controlado a temperatura e a subida da solução na coluna do condensador. Outras amostras como a BIPEA 9/2012 e 10/2011, com elevado teor em matéria orgânica, apresentaram o mesmo problema de extração mas em menor grau. Na

Valor de referência, com base em matéria seca ($mg\ kg^{-1}$)						
BIPEA ^d	Cu	Zn	Pb	Cd	Cr	Ni
509	15,4 ± 0,5	68,8 ± 1,7	20,0 ± 0,9	0,44 ± 0,02	7,1 ± 0,3	4,1 ± 0,2
169	26,3 ± 1,1	76,4 ± 2,0	- ^b	- ^b	31,1 ± 3,3	24,7 ± 1,3
18	32,8 ± 1,6	79,5 ± 2,8	- ^b	- ^b	8,6 ± 0,7	4,1 ± 0,4
9	8,0 ± 0,3	47,3 ± 1,0	11,3 ± 0,3	0,37 ± 0,01	5,6 ± 0,3	3,5 ± 0,1
10	53,0 ± 1,5	158,8 ± 3,0	37,2 ± 1,3	0,56 ± 0,03	21,4 ± 0,8	15,4 ± 0,3
155/MRI ^a	70,99	208,59	39,15	0,99	53,35	32,14

Média dos valores obtidos nas 3 semanas expressos em matéria seca ($mg\ kg^{-1}$) ^c						
BIPEA	Cu	Zn	Pb	Cd	Cr	Ni
509	13,07	48,34	15,71	0,250	5,020	4,200
169	26,14	67,51	1,900	0,270	27,47	30,52
18	30,98	67,37	1,630	0,100	5,400	5,310
9	8,640	44,20	11,41	0,260	3,630	4,380
10	59,14	143,37	37,13	0,650	22,06	19,59
155/MRI	72,68	204,39	43,88	0,560	61,88	36,08

^a O valor de referência do 155/MRI é dado pela média dos resultados da amostra obtido pelo laboratório (valores em histórico). ^b O valor de referência não foi reportado. ^c Nota: Os resultados são reportados com 4 algarismos significativos sem considerar, nesta fase, a respetiva incerteza. ^d Valores repostados com as respetivas casas decimais dos valores da incerteza associada.

amostra 509, a concentração estimada dos elementos Zn e Cd, foi praticamente metade do valor esperado. Deste modo o estudo da veracidade foi efetuado excluindo estes dois valores no cálculo da recuperação média do analito.

A recuperação média do analito, para cada amostra, foi avaliada a partir da razão entre o valor medido e o valor de referência.

$$(4.4.2) \bar{R}_m = \frac{\bar{C}_{med}}{C_{MR}}$$

\bar{C}_{med} é a média da concentração, estimada pela análise dos MR (BIPEA) e C_{MR} , a concentração declarada no certificado dos MR (BIPEA).

A tabela 4.8 exemplifica os cálculos efetuados, para o elemento Cu, na determinação da recuperação média.

Tabela 4.8. Recuperação média do analito Cu.

BIPEA	Cu (mg kg ⁻¹)		
	C_{med}	C_{MR}	\bar{R}_m
509	13,07	15,37	0,8509
169	26,14	26,31	0,9934
18	30,98	32,82	0,9439
9	8,640	8,020	1,077
10	59,14	52,98	1,116
155/MRI	72,68	-	- ^a
		$\bar{\bar{R}}_m$	Média 1,000

^a O valor de referência do MRI não foi determinado pelos ensaios interlaboratoriais como nas outras amostras, por isso, este valor foi excluído na determinação da recuperação média.

Tendo em conta que a recuperação média do analito pode variar com a sua concentração, o cálculo ilustrado para o caso do cobre, só deverá ser realizado considerando dados numa gama estreita de concentração. Calculou-se assim, a média da recuperação média ($\bar{\bar{R}}_m$) das 6 BIPEA. Para avaliar se os resultados são afetados por desvios sistemáticos relevantes que necessitam de correção, foi realizado um teste *t-student* dado por:

$$(4.4.3) t = \frac{|1 - \bar{\bar{R}}_m|}{u_{\bar{\bar{R}}_m}}$$

em que $u_{\bar{\bar{R}}_m}$, representa a incerteza associada a recuperação média do analito. Este teste avalia se o $\bar{\bar{R}}_m$ é significativamente diferentes de 1. Assim se o $t \leq t_{critico}$, o $\bar{\bar{R}}_m$ não é significativamente diferente de 1, e não se procede à correção da recuperação de analito. Mas

se o $t > t_{\text{critico}}$, o \overline{R}_m é significativamente diferente de 1, e procede-se à correção da recuperação de analito, multiplicando os resultados por $1/\overline{R}_m$.

A incerteza associada a recuperação média do analito, estimada pela análise de materiais de referência é dada pela equação:

$$(4.4.4) \quad u_{Rm} = \sqrt{\left(\frac{s'_{PI}}{\sqrt{n}}\right)^2 + \left(\frac{u_{RM}}{c_{RM}}\right)^2}$$

o n corresponde ao número de análises independentes realizados para estimar s'_{PI} e u_{RM}/c_{RM} a incerteza padrão relativa mais elevada das BIPEA estudadas. Tenta-se sobrestimar a incerteza relativa do MR (BIPEA), de modo a aumentar a incerteza da recuperação média.

No cálculo da incerteza relativa u'_{RM} considerou-se que a incerteza associada à correção da concentração reportada para a matéria seca é desprezável. A contribuição da incerteza da humidade para a incerteza da concentração reportada em matéria seca dos MR é insignificante relativamente à incerteza da concentração na matéria original. Assim a incerteza padrão relativa associada à concentração das BIPEA sob matéria original é igual à incerteza padrão relativa associada à concentração expressa em relação à matéria seca, 4.anexo A, tabela 4.A.20.

Tabela 4.9. Resumo dos resultados do teste - t e da incerteza da recuperação média obtida para os metais, Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni.

Metais Pesados	$\left(\frac{s'_{PI}}{\sqrt{n}}\right)$	\overline{R}_m	$\frac{u_{RM}}{c_{RM}}$	u'_{Rm}	Teste - t
Cu	0,0110	0,9963	0,0487	0,0500	$t \leq t_{\text{critico}}$
Zn	0,0112	0,8901	0,0189	0,0219	$t \geq t_{\text{critico}}$
Pb	0,0202	0,9301	0,0349	0,0403	$t \leq t_{\text{critico}}$
Cd	0,0303	0,9302	0,0531	0,0611	$t \leq t_{\text{critico}}$
Cr	0,0357	0,7817	0,1062	0,1120	$t \leq t_{\text{critico}}$
Ni	0,0313	1,1863	0,0527	0,0613	$t \leq t_{\text{critico}}$

O valor de t_{critico} foi determinado relativamente a um nível de confiança de 99 %. Para todos os elementos à exceção do zinco, não é necessário proceder à correção de recuperação de analito.

4.5. Avaliação da Incerteza da medição

4.5.1. Definição da mensuranda e da rastreabilidade da medição

Neste trabalho, a mensuranda define-se como sendo a concentração de um metal pesado específico (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni) extraível em água-régia, segundo a Norma EN 13650 numa determinada amostra de corretivos orgânicos. A incerteza de medição foi avaliada tendo em conta a abordagem diferencial. Esta abordagem permite determinar a incerteza associada às etapas analíticas complexas isoladamente. Através da análise das amostras dos MR e da avaliação da sua incerteza é possível estabelecer a rastreabilidade da medição. Segundo VIM, a rastreabilidade é uma propriedade dum resultado de medição pelo qual tal resultado pode ser relacionado a uma referência através de uma cadeia ininterrupta e documentada de calibrações, cada uma contribuindo para a incertezas de medição [2.31]. Quando a recuperação média do analito observada através da análise de materiais de referência não é significativamente diferente de 100%, os resultados da medição são rastreados ao valor definido pelo procedimento de medição. No entanto, quando a recuperação observada tem de ser corrigida nos resultados da análise das amostras, estes resultados corrigidos são rastreáveis aos valores de referência incorporados nos materiais usados no cálculo do fator de correção inverso da recuperação média ($1/\overline{R}_m$).

4.5.2. Definição do modelo de medição

O modelo de medição segundo VIM é a relação matemática entre todas as grandezas que se sabe estarem envolvidas numa medição. A equação 2.4.14 apresenta o modelo de medição que relaciona todas as grandezas envolvidas na medição. Nos casos em que é necessário corrigir desvios significativos observados na recuperação de analito, é ainda necessário multiplicar estas grandezas pelo inverso da recuperação média.

4.5.3. Identificação das fontes de incerteza

Após definir a mensurada, um dos primeiros passos na avaliação da incerteza foi identificar as fontes de incertezas associadas às etapas simples e às etapas complexas do procedimento analítico. No diagrama de causa efeito apresentado na figura 4.4, estão identificadas as etapas do procedimento analítico, correspondente às etapas simples e complexas que contribuíram para a incerteza global do método.

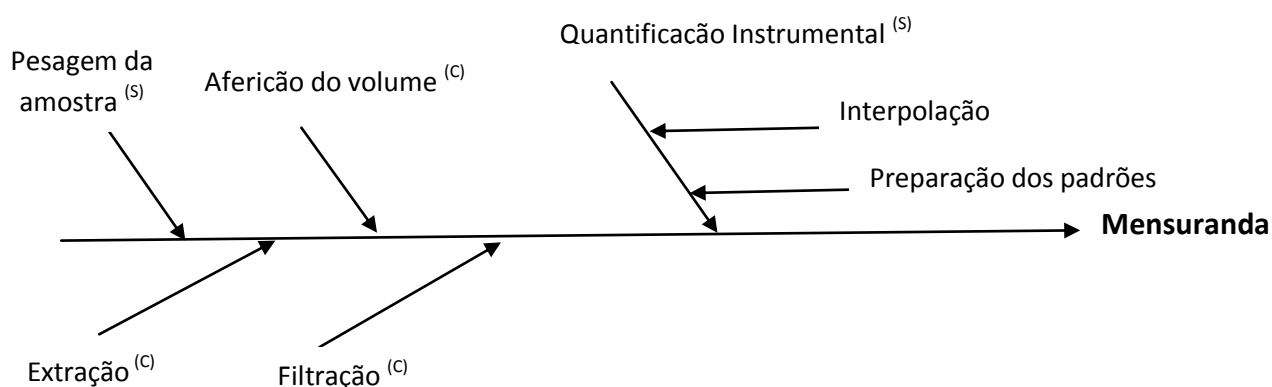


Figura 4.4 Representação do diagrama causa/efeito da determinação do teor material extraível, de acordo com a norma EN 13650 em corretivos orgânicos sendo (s) etapas analíticas simples e (c) etapas analíticas complexas.

As etapas analíticas simples (S) do método englobam a pesagem da amostra e a quantificação instrumental. Já as etapas complexas (C) correspondem a extração, a aferição do volume e a filtração da solução. A aferição do volume do extrato é uma etapa complexa visto que esta é efetuada antes da filtração e inclui uma fração insolúvel relevante e variável.

4.5.4. Quantificação das componentes de incerteza

4.5.4.1. Incerteza das etapas analíticas simples que afetam a precisão intermédia

Na determinação da incerteza das etapas analíticas complexas foi adotada a abordagem desenvolvida no esquema da figura 2.13 (ver alínea 2.4). Deste modo, logo após a identificação da mensuranda e das fontes de incerteza foi estimada a incerteza associada às etapas analíticas simples que afetam a precisão intermédia da medição.

4.5.4.1.i. Pesagem da amostra

Nos ensaios foi usada uma balança analítica de resolução de 0,1 mg. A repetibilidade da pesagem (de uma amostra de 1g) foi estimada pelo desvio padrão de medições replicadas (anexo, tabela 4.19). Como a balança usada foi sempre a mesma, apenas a repetibilidade da balança afeta a precisão intermédia da medição, ou seja o componente da calibração da balança é excluído neste cálculo.

$$(4.5.1) \quad s'_m = \sqrt{\frac{(u^{rep}_{bal})^2}{m^2}} = 0,00093$$

em que m representa a média da massa pesada e u^{rep}_{bal} a repetibilidade da pesagem da amostra.

4.5.4.1.ii Quantificação instrumental

A incerteza da quantificação instrumental engloba a incerteza da preparação dos padrões de calibração e a incerteza da interpolação do sinal da amostra na curva de calibração. A incerteza associada à preparação dos padrões da curva de calibração, não afeta a precisão intermédia estimada, pois as concentrações dos padrões da curva foram obtidas através da mesma solução intermédia. Não ocorreu a variabilidade deste parâmetro de modo a influenciar a precisão intermédia.

Na determinação da incerteza da interpolação obtida em condições de precisão intermédia, recorreu-se a um histórico de resultados de análises de padrões de controlo, equivalentes os da calibração (4.anexo A tabela 4.A.22 - 4.A.27). Os padrões de controlo analisados tiveram

como finalidade detetar possíveis desvios do sinal instrumental em relação às concentrações dos padrões.

A determinação da incerteza de interpolação baseou-se nos gráficos do desvio padrão relativo dos resultados da concentração s'_x dos padrões (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni) em função da média das concentrações \bar{x} , figura 4.5. O desvio padrão relativo e a média das concentrações dos metais pesados foram calculados a partir dos dados experimentais obtidos por ICP-AES (ver 4.anexo A tabela 4.A.22 - 4.A.27).

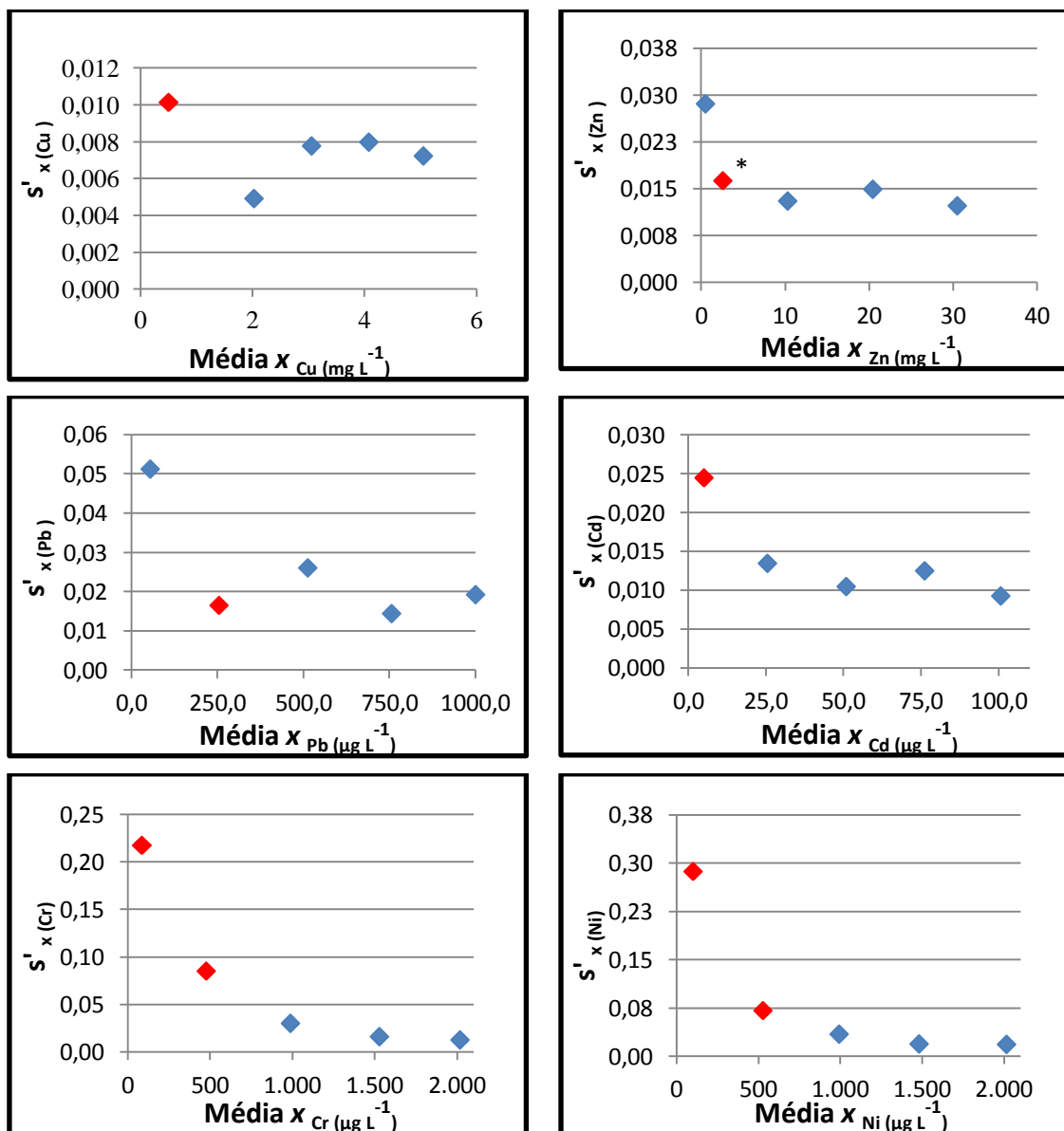


Figura 4.5. Gráfico do desvio padrão relativo dos resultados da concentração dos padrões de controlo em função da média da concentração estimada dos padrões para os diferentes elementos estudados. * Os pontos vermelhos representam os pontos de referência para a

interpolação da concentração dos extratos de MR. No caso do Cr e Ni foi considerada a interpolação linear entre os dois pontos vermelhos.

A partir dos gráficos da figura 4.5, verifica-se que, com o aumento da concentração dos padrões o desvio padrão relativo se mantém constante. Este facto corrobora a heterogeneidade de variâncias absolutas da resposta instrumental, pois se o desvio padrão não aumentasse com a concentração dos padrões, o desvio padrão relativo seria cada vez menor com aumento do eixo xx (concentração dos padrões).

A partir da média das concentrações dos MR obtida em 3 semanas diferentes (tabela 4.10) foi estipulada a incerteza de interpolação do sinal da amostra na curva de calibração. Para tal, recorreu-se à maior concentração obtida dos MR. Ou seja, a incerteza de interpolação da amostra em condições de precisão intermédia, foi estimada através do desvio padrão da maior concentração dos extratos dos MR. De acordo com o gráfico da figura 4.5, a maior concentração dos extratos estaria associada a um desvio padrão relativo menor. O objetivo foi subestimar a incerteza da interpolação de modo a sobrestimar o valor das incertezas associadas a etapas analíticas complexas.

O exemplo que se segue, estima a incerteza da interpolação do sinal da amostra, para a determinação do elemento Cu. A concentração máxima de Cu obtida para extratos dos MR analisados (à exceção do MRI-155) foi de 0.5919 mg L⁻¹ (tabela 4.10). Tendo em conta o gráfico da figura 4.5, o desvio padrão relativo associado à 0.5919 mg L⁻¹ pode ser estimada a partir do desvio padrão relativo da concentração do padrão dado por 0.5 mg L⁻¹.

A tabela 4.10 que se segue, resume a média das concentrações dos extratos dos MR obtido durante as 3 semanas. Estes valores foram determinados a partir dos resultados expostos no 4.anexo A, tabela 4.A.16 - 4.A.18.

Tabela 4.10. Média das concentrações dos MR (BIPEA) obtido durante as 3 semanas dos ensaios.

Média da concentração das 3 semanas \bar{X}						
BIPEA	Cu (mg L ⁻¹)	Zn (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Cd (µg L ⁻¹)	Cr (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
509	0,1308	0,4836	157,2	2,477	50,26	39,68
169	0,2615	0,6755	19,02	2,675	274,8	303,0
18	0,3101	0,6744	16,34	0,9772	54,02	50,77
9	0,0865	0,4421	114,1	2,627	36,36	41,40
10	0,5919	1,435	371,6	6,512	220,8	193,8

A interpolação direta da concentração mais elevada (à vermelho) dos MR na curva de variação do desvio padrão relativo da concentração dos padrões de controlo *versus* concentração dos padrões conduz aos desvios padrão relativos de 0,010; 0,016; 0,017; 0,024; 0,017 e 0,097 para os elementos Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni respetivamente.

4.5.4.2. Incerteza das etapas complexas

Após a determinação da incerteza associada à interpolação do sinal da amostra e da incerteza associado à repetibilidade da pesagem da amostra, foi determinada a incerteza combinada das etapas analíticas simples que afetam a precisão intermédia. Ao determinar a incerteza padrão relativa das etapas analíticas simples (por combinação das incertezas padrão relativa de interpolação e pesagem da amostra), através da lei de propagação da incerteza, é possível estimar a incerteza das etapas complexas. A incerteza das etapas analíticas complexas é obtida a partir da equação 4.5.2, segundo o esquema da figura 2.13.

$$(4.5.2) \quad u'_{comp} = \sqrt{s'_{exp} - u'_{simp}}$$

em que a s'_{exp} corresponde à precisão intermédia s'_{PI} e u'_{simp} a incerteza associada às etapas analíticas simples que afetam a precisão intermédia. Os resultados encontram-se apresentados na tabela 4.11.

Tabela 4.11. Incerteza relativa padrão associada às etapas analíticas complexas e parâmetros usados para o seu cálculo.

Analito	s'_{inter}	s'_m	u'_{simp}	$s'_{exp} = s'_{PI}$	u'_{comp}
Cu	0,0101		0,0102	0,0381	0,0367
Zn	0,0163		0,0163	0,0387	0,0350
Pb	0,0170	0,0009	0,0171	0,0699	0,0678
Cd	0,0245		0,0245	0,1049	0,1020
Cr	0,0171		0,0171	0,1238	0,1226
Ni	0,0974		0,0974	0,1084	0,0479

As etapas analíticas complexas constituem a maior componente da incerteza da precisão intermédia (tabela 4.11) para a maior parte dos elementos, à exceção do Ni. No caso do Ni, a incerteza associada às etapas simples que afetam a precisão intermédia é estatisticamente equivalente à própria precisão intermédia. Esta diferença verificada, deve estar relacionada com um desempenho fraco da determinação do Ni por ICP. Os valores da incerteza das etapas analíticas simples (Cu, Zn, Pb, Cd e Cr), face à incerteza das etapas complexas, são desprezáveis. Podemos concluir que, para o método analítico usado, devemos ter especial atenção aos processos de extração, aferição e filtração. Por outro lado a incerteza associada a interpolação contribuiu, em comparação com a incerteza da pesagem, bastante mais para a incerteza associada às etapas analíticas simples.

4.5.4.3. Combinação das componentes de incerteza e cálculo da incerteza expandida

A quantificação da incerteza da medição é realizada a partir da combinação de todos os componentes da incerteza, segundo a equação 4.5.3.

$$(4.5.3) u'_x = \sqrt{(u'_m)^2 + (s'_{inter})^2 + (u'_{Rm})^2 + (u'_{comp})^2 + (u'_{std})^2}$$

Após a determinação da incerteza padrão combinada relativa u'_x , determina-se a incerteza combinada, multiplicando a u'_x pela concentração do metal na amostra.

$$(4.5.4) u_x = u'_x \times c_a$$

A incerteza expandida calcula-se multiplicando a incerteza padrão combinada pelo fator de expansão, que depende, do nível de confiança escolhido. Foi usado um fator de cobertura $k = 2$ que corresponde a um nível de confiança de aproximadamente de 95%.

$$(4.5.5) U_x = u_x \times k$$

4.6. Avaliação do desempenho do procedimento de medição através da determinação dos metais no material de referência certificado (MRC-145)

Para testar o desempenho do procedimento de medição, incluindo o cálculo da incerteza, desenvolvido para a determinação dos metais pesados em corretivos orgânicos, foi efetuado a análise de material de referência certificado (MRC), em duplicado, usando o mesmo procedimento de medição. Ao contrário das amostras das BIPEA, foi necessário diluir o extrato do MRC (BIPEA - 145) por um fator de 10, antes da análise por ICP-AES. Este controlo também permite avaliar a qualidade da medição de outras medições realizadas no mesmo dia.

A incerteza combinada da medição do MRC-145 é estimada pela seguinte equação:

$$(4.6.1) u'_x = \sqrt{(u'_m)^2 + (s'_{inter})^2 + (u'_{Rm})^2 + (u'_{std})^2 + (u'_{comp})^2 + (u'_{Fv})^2}$$

onde u'_m , u'_{std} , u'_{Fv} , s'_{inter} , u'_{Rm} correspondem respetivamente à incerteza padrão relativa da pesagem, da preparação do padrão intermédio, do fator da diluição, da interpolação do sinal da amostra e da recuperação do analito.

A incerteza associada à interpolação do sinal da amostra foi estimada a partir do modelo de regressão linear ponderado, pois os dados da resposta instrumental para os elementos e para a gama de concentração estudados tem uma distribuição heterocedástica. Porém para aplicar o modelo foi necessário verificar se a incerteza associada à preparação dos padrões de calibração era desprezável face a precisão instrumental como descrito na alínea 2.4.

Para todos os metais pesados estudados, à exceção do elemento Cu, o pressuposto é válido, sendo assim possível aplicar o modelo de regressão linear ponderado para determinação da incerteza de interpolação do sinal das amostras. Apenas para o Cu, os desvios padrão relativos

associados ao sinal instrumental são inferiores a três vezes os valores da incerteza associada à razão entre a concentração de pares de padrões da curva de calibração. Deste modo, no caso do Cu, a incerteza associada à interpolação do sinal da amostra, foi estimada a partir do gráfico do desvio padrão relativo, estimado em condições de precisão intermédia, em função da concentração.

O uso do modelo de regressão linear ponderado na determinação da incerteza de interpolação do sinal da amostra na curva de calibração segue a equação apresentada na alínea 2.4.5.1. A partir do histórico do sinal instrumental, obtido em condições de precisão intermédia, determina-se o desvio padrão associado a cada nível de concentração. Seguidamente determina-se o peso individual de cada nível de concentração, equação 2.4.6.

Através da equação 2.4.9, determina-se a incerteza associada à interpolação do sinal da amostra. Neste trabalho, como o resultado obtido no ICP-AES é dado em concentração (mg L^{-1} ou $\mu\text{g L}^{-1}$), foi necessário converter a concentração, em sinal da amostra y_o , usando os parâmetros de regressão usado no ICP-AES. A determinação do valor w_o associado ao sinal da amostra, baseou-se na relação linear observada entre a concentração dos padrões da curva de calibração e o desvio padrão do sinal instrumental do histórico (x_i, s_i) .

A incerteza associada à preparação do padrão u'_{std} tem como componentes as incertezas associadas à solução padrão mãe comercial (SPM) e à preparação da solução padrão intermédia através da diluição, equação 4.6.2.

$$(4.6.2) \quad u'_{std} = \sqrt{(u'_{F_v})^2 + \left(\frac{u_{SPM}}{SPM}\right)^2}$$

Em 4.anexo A tabela 4.A.19, encontra-se apresentado, os resultados da incerteza associada à repetibilidade e calibração de diversos materiais (pipetas, pipetas automáticas, balões volumétricos, balança eletrónica) usados durante os processos de pesagem e diluição das soluções. De acordo com as especificações das soluções padrões mãe dos metais analisados (alínea 3.2) foram determinadas as incertezas padrão relativa u'_{SPM} , para cada analito.

A figura 4.6 apresenta um diagrama de causa efeito com todas as componentes de incertezas contabilizadas na avaliação da incerteza final associada à concentração estimada dos metais pesados Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni no MRC-145, e a tabela 4.12 resume a incerteza associada à interpolação do sinal da amostra, à pesagem da amostra e à preparação dos padrões intermédios (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni), bem como a incerteza da precisão intermédia, da pureza do MRC (BIPEA-145) e da recuperação do analito para cada um dos duplicados da amostra.

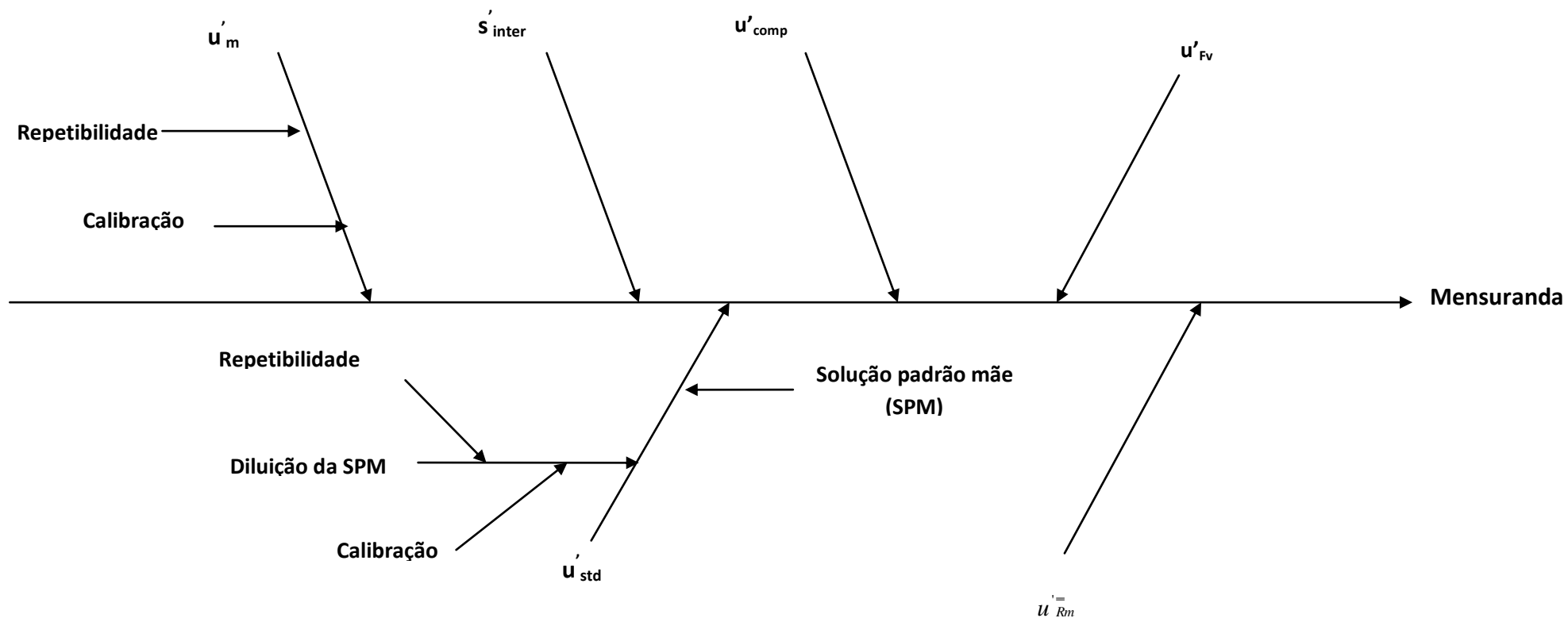


Figura 4.6 Diagrama de causa efeito das componentes de incerteza da determinação da concentração dos metais pesados, Cu, Zn, Pb, Cd e Cr em corretivos orgânicos e lamas pelo método ISO 22036:2008.

Tabela 4.12. Valores estimados dos componentes da incerteza em relação à média dos duplicados do MRC (BIPEA-145).

Componentes da incerteza							Incerteza relativa padrão combinada
Analito	S'_{inter}	u'_m	u'_{std}	u'_{Comp}	u'_{F_v}	u'_{Rm}	U'_x
Cu	0,0091 ^a		0,0024	0,0367		0,0500	0,0628
Zn	0,0171		0,0024	0,0350		0,0219	0,0449
Pb	0,0178	0,0009	0,0024	0,0678	0,0031	0,0403	0,0810
Cd	0,0484		0,0463	0,1020		0,0611	0,1366
Cr	0,0335		0,0044	0,1226		0,1120	0,1695
Ni	0,0287		0,0119	0,0476		0,0613	0,0836
Contribuição percentual (%) dos diversos componentes de incerteza							
Analito	S'_{inter}	u'_m	u'_{std}	u'_{Comp}	u'_{F_v}	u'_{Rm}	
Cu	2,0	0,0	0,0	34	0,0	63	
Zn	15	0,0	0,0	61	0,0	24	
Pb	5,0	0,0	0,0	70	0,0	25	
Cd	13	0,0	11	56	0,0	20	
Cr	4,0	0,0	0,0	52	0,0	44	
Ni	12	0,0	2,0	32	0,0	54	

^a Como o pressuposto não foi válido para o elemento Cu, a interpolação da amostra não é dada pela regressão linear ponderado mas sim pelo gráfico concentração vs. desvio padrão relativo.

Os sinais instrumentais envolvidos na determinação da concentração de metais pesados no MRC (BIPEA-145), encontram-se apresentados no 4.anexo A, tabela 4.A.28. A partir da concentração e da incerteza padrão relativa combinada estimada (u'_x), determina-se a incerteza expandida (U_x) usando um fator de expansão $k = 2$.

Tabela 4.13. Resultados estimados e de referência da determinação de metais pesados no MRC (BIPEA-145). Os intervalos de confiança estimados e de referência estão associados a um nível de confiança aproximadamente de 95%, considerando um fator de expansão de 2.

Analito	MRC (mg kg ⁻¹)		%
	$\bar{X} \pm U_x$	$X_{ref} \pm U_{ref}$	Incerteza expandida estimada
Cu	772 ± 97	707 ± 9,0	13
Zn^a	2480 ± 220	2140 ± 50	9
Pb^b	236 ± 38	282 ± 9,0	16
Cd^b	2,39 ± 0,65	3,43 ± 0,17	27
Cr	242 ± 82	307 ± 13	34
Ni	262 ± 44	252 ± 6,0	17

^a Como $t \geq t_{critico}$, procedeu-se à correção da recuperação média do elemento Zn. ^b Apesar do teste para o Pb e Cd não ser necessário proceder a correção de recuperação $t \leq t_{critico}$, nestes elementos foi preciso também efetuar esta correção pois na avaliação da recuperação do analito considerou-se, um numero de grau de liberdade de apenas 1.

Depois de determinar a incerteza da medição do MRC, compara-se o valor obtido com o valor de referência $X_{ref} \pm U_{ref}$, através de um teste de compatibilidade metrológica com um nível de confiança aproximadamente de 99%, considerando um fator de expansão de 3, equação 4.6.3.

$$(4.6.3) \quad |X - X_{ref}| \leq 3\sqrt{\mu_x^2 + \mu_{ref}^2}$$

As medições dos outros metais são compatíveis entre si, ou seja, rastreados à mesma referência. Comparando os valores obtidos, com os limites estabelecidos no Decreto - Lei nº 276/2009 para a concentração dos metais pesados nas lamas, verifica-se que os valores destes metais pesados estão dentro dos limites máximos permitidos, à exceção do elemento Zn. O valor do Zn, estimado na tabela 4.13, tanto podem ser superior ou inferior ao valor máximo permitido (tabela 2.2). Considerando que os resultados foram reportados para um nível de confiança de 95%, a avaliação da conformidade com os limites está associado a um nível de confiança de 97,5%, com um fator de expansão 2, para um teste unilateral [4.3].

5. Conclusão

Na sequência da validação do modelo de regressão usado para descrever as curvas de calibração do ICP-AES constatou-se que a variância da resposta instrumental aumenta com a concentração de analito (figura 4.2) e que o sinal instrumental varia linearmente com a mesma concentração (figura 4.1), para a gama de trabalho estudada. Desta forma, recorreu-se ao modelo de regressão linear ponderado (alínea 2.4.15) para descrever as curvas de calibração.

Os estudos da precisão intermédia e da veracidade da medição foram baseados na análise de 6 materiais de referência de corretivos orgânicos com teores conhecido de Cu, Zn, Pb, Cd, Cr e Ni. Da análise da veracidade constatou-se que é necessário corrigir os resultados estimados de Zn considerando os desvios observados na recuperação média de analito (tabela 4.9).

A incerteza da medição foi avaliada recorrendo à abordagem diferencial que permitiu estimar a incerteza associada às diversas etapas do procedimento de medição. Para a grande generalidade dos analitos estudados, a incerteza associada à interpolação do sinal da amostra na curva de calibração foi estimada, em condições de repetibilidade, pelo modelo de regressão usado. No caso da determinação de Cu, tendo em conta que o pressuposto do modelo de regressão relativamente à qualidade dos padrões de calibração não é válido, optou-se por estimar a incerteza de interpolação com base num historial de resultados da análise de padrões e controlo em condições de precisão intermédia. O levantamento da contribuição percentual (tabela 4.12) dos diversos componentes de incerteza permitiu concluir que a incerteza associada às etapas analíticas complexas e à recuperação média do analito são as componentes maioritárias.

O controlo da qualidade proposto para estes ensaios são a realização de ensaios brancos, ensaios duplicados, avaliação do coeficiente de correlação linear de Pearson da calibração instrumental, análise de padrões de controlo da calibração analítica e análise de materiais de referência ou de amostras fortificadas. Este estudo apresenta igualmente propostas de critérios de aceitação da resposta destas ferramentas de controlo da qualidade.

A qualidade do modelo de desempenho do procedimento de medição foi avaliada através da análise de um material de referência (BIPEA-145) independente dos usados na validação do mesmo. Para todos os metais, as medições são rastreados ao MRC.

O procedimento de medição provou ser adequado à monitorização de metais pesados em corretivos orgânicos e lamas de depuração visto que apresenta incertezas expandidas relativas inferiores a 40%. Este valor é adequado à caracterização de materiais sólidos, previsivelmente heterogéneos, de interesse ambiental. O valor nominal é posicionado em 40 %, considerando a

referência dos valores definida para a análise de água potável [4.6] (20%) e para a análise de vários compostos orgânicos em produtos alimentares [4.5] (50%).

6. Bibliografia

2.

- [2.1] Twyman R. M, Principles and Instrumentation - Atomic Emission Spectrometry, Elsevier, 2005.
- [2.2] Giné M.F., Espetrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente, Universidade de São Paulo, 1998.
- [2.3] Martin T.D., Brockhoff C.A., Creed J.T., and EMMC Methods Work Group, Determination of metals and trace elements in water and wastes by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry Method 200.7, Revision 4.4, 1994
- [2.4] Alves A. A., Estudos e avaliação de um método de quantificação de elementos vinho, Tese de Mestrado em Química Analítica, Universidade de Aveiro, Departamento Química, 2009.
- [2.5] Gerasimov G. N., Kartasheva M. A., and Petrov Ya. S., Inductively coupled plasma and its use in emission spectral analysis (review), Vol. **55**, (1991), 7-30.
- [2.6] Britske M. É., Sukach Yu. S., and Filimonov L. N., High frequency induction discharge Emission spectral analysis, Vol. **25**, (1976), 5-11
- [2.7] Boysen D.A., Peters T.M., *Journal of Aerosol Science* **41** (2010) 170–179
- [2.8] Rozza G. and Patera A.T., in collaboration with D.B.P Huynh and NC Nguyen, Venturi: Potential Flow, March 28, (2008).
- [2.9] Manning T.J. and William R. Grow, Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry, vol **2**, (1997), No.1
- [2.10] Miles D. L., The application of inductively coupled plasmas to the analysis of natural waters and acidic deposition, *British Geological Survey*.
- [2.11] Reed T. B., Induction coupled plasma Torch, *J. Appl. Phys.* **32**, (1961) 821-824
- [2.12] Thomas R., A Beginner's Guide to ICP-MS, Part III: The Plasma Source, *Spectroscopy Tutorial* **16** (2001) 6.
- [2.13] Xie H., Huang K., Liu J., Nie X., and Fu L., Determination of trace elements in residual oil by high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry, *Anal Bioanal Chem* **393** (2009) 2075–2080
- [2.14] ISO 22036: 2008, Soil quality - Determination of trace elements in extracts of soil by inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry (ICP-AES).
- [2.15] Boss C. B., and Fredeen K. J., Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, Perkin-Elmer 2 st Ed., 1997

- [2.16] Daskalova N., Boevski Iv., Spectral interferences in the determination of trace elements in environmental materials by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B* **54** (1999) 1099-1122.
- [2.17] The United States Department of Agriculture Soil Quality Information Sheet, Soil Quality Indicators: Organic Matter, Natural Resources Conservation Service, 1996.
- [2.18] Pedra F. M., Aproveitamento agrícola de dois corretivos orgânicos aplicados em dois solos: Dinâmica da matéria orgânica, dos metais pesados e efeitos sobre o comportamento das plantas, Tese de Doutorado em Ciências do Ambiente, Universidade Nova de Lisboa, 2007.
- [2.19] Gonçalves M. J., Gestão e tratamento de resíduos sólidos urbanos. Sua Valorização para fins agrícolas pelo método de compostagem, Tese de Doutorado em Engenharia Agronómica, Universidade Técnica de Lisboa, 1999.
- [2.20] INIA-Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva, Manual de Fertilizantes das Culturas, 2000.
- [2.21] Pendias H., Kabata-Pendias A., Trace Elements in Soils and Plants, Third Edition, CRC press, 2000.
- [2.22] Decreto – Lei nº 275/2009, Diário da República, 1ª serie Nº 192, 2 de Outubro de 2009.
- [2.23] Gonçalves M. A., Santana T. A., Silva E.V, Zenzen I. L, Lourenço M. E., Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas, *Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas* **1:3** (2008) 58-68.
- [2.24] Shanker. A. K, Cervantes. C, Loza-Tavera, H., Avudainayagam S., Chromium toxicity in plants, *Environment International* **31** (2005) 739– 753.
- [2.25] Yang X., Baligar V. C., Marten D. C., Clark R. B., Plant tolerance to nickel toxicity: II nickel effects on influx and transport of mineral nutrients in four plant species, *Journal of Plant Nutrition* **19: 2** (2010) 265 – 279.
- [2.26] Mellis E. V., Cruz M. C. P., Casagrande J. C., Nickel adsorption by soils in relation to pH, organic matter, and iron oxides, *Sci. Agric* **61:2** (2004) 190-195.
- [2.27] Dias J.C.Soveral, Guias de boas práticas - Aplicação de lamas na agricultura, Reciclamos, 2004.
- [2.28] EC. European Commission Council Directive 1986/278/EEC of 12 June 1986, on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture, 2009.
- [2.29] DG Env.A.2 Working document of Biological treatment of biowaste — 2nd draft. Directorate-General Environment, Brussels, 12th February; 2001.
- [2.30] J. N. Miller and J. C. Miller, Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, Fifth Edition, 2005.

[2.31] Vocabulário Internacional de Metrologia – Conceitos fundamentais e gerais e termos associados (VIM), 1ª edição Luso-Brasileira, 2012.

[2.32] Guia Eurachem, Quantifying Uncertainty analytical measurement (2012)

[2.33] Bettencout da Silva, Modelação do desempenho de métodos analíticos complexos, Tese de Doutoramento em Química, Universidade de Lisboa, Departamento de Química e Bioquímica, 2007.

[2.34] Penninckx. W, Hartmann. C, Massart. D. L, Smeyers-verbeke. J. Validation of the Calibration Procedure in Atomic Absorption Spectrometric Method, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **Vol. 11**, 237-246, (1996)

[2.35] Cassiano. N. M., Barreiro J C Martins. L. R. R, Oliveira. R. V e Cass. Q. B., Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas, *Quim. Nova*, **Vol. 32**, No. 4, 1021-1030, 2009

[2.36] R.J.N.B. Silva, H. Figueiredo, J.R. Santos, M.F.G.F.C. Camões, Evaluation of sample processing and sub sampling performance, *Analytica Chimica Acta* **477** (2003) 169-185.

3.

[3.1] EN 13040:2000, soil improvers and growing media - sample preparation for chemical and physical tests, determination of dry matter content, moisture content and laboratory compacted bulk density;

[3.2] EN 13650:2001, Soil Improvers and growing - Extraction of aqua regia soluble elements.

[3.3] ISO 22036:2008, Soil quality - Determination of trace elements in extracts of soil by inductively couple plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES).

4.

[4.1] Kelly C.P, Outliers Detection in Collaborative Studies, Canada Packers Inc. Research Centre. *J.Assoc. off. Anal. Chem* **vol 73** No 1, (1990).

[4.2] Grubbs E.F, Beck G., Extension of Sample Sizes and Percentage Points for Significance Tests of outlying Observations, *Technometrics* **vol 14**, No.4, (1972).

[4.3] D. M. Silveira, P. A. S. Salgueiro, M. F. G. F. C. Camões, R. J. N. Bettencourt da Silva, "Development of metrological models for internal standard single-point and multi-point calibrations for the assessment of tear gas weapons compliance with legislation ", *Accreditation and Quality Assurance*, **17**, 115-127, (2012).

[4.5] Ricardo J. N. Bettencourt da Silva, M. Filomena G. F. C. Camões, "Comparability of measurement results for pesticide residues in foodstuffs: an open issue?", *Accreditation and Quality Assurance*, **15**, 691-704, (2010).

[4.6] A. M. E. Viana da Silva, R. J. N. Bettencourt da Silva, M. F. G. F. C Camões, "Optimization of the determination of chemical oxygen demand in wastewaters", *Analytica Chimica Acta*, **699**, 161-169,(2011).

3. Anexo A: Parte experimental

Tabela 3.A.1. Resultados da percentagem da matéria orgânica (mo) em relação a matéria seca (ms) e humidade (h) das BIPEA analisadas.

ID das amostras	ID BIPEA	%		
		h	ms	Matéria orgânica em relação a matéria seca
509 /2010	02-0445	59,0	41,0	76,6
169 /2010	01-0845	14,1	85,9	59,1
18 /2010	03-0145	22,0	78,0	80,1
9 /2012	3-0445-0019	51,4	48,6	83,1
10 /2011	9-0145-0012	34,5	65,5	47,8
155 /2011	MRI	5,0	95,0	15,54

4. Anexo A: Tratamento e discussão dos resultados da determinação dos metais

Tabela 4.A.1. Resultados dos 30 ensaios em branco, analisados por ICP-AES, para determinação de LQ e LD dos metais pesados.

Dia extração	Nº Ensaios	Cu (mg L ⁻¹)	Zn (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Cd (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
08-05-2012	1	-0,001	0,103	-2,19	0,127	-4,20
	2	0,000	0,091	-1,24	0,074	-5,67
	3	-0,001	0,087	2,33	0,084	-1,43
	4	0,003	0,498	4,34	-0,074	-17,5
21-06-2012	5	0,002	0,055	1,31	0,184	5,34
	6	0,001	0,101	5,76	0,148	1,80
	7	0,002	0,094	6,13	0,058	2,42
	8	0,001	0,054	3,25	0,023	4,50
	9	0,002	0,034	2,70	0,005	6,50
	10	0,001	0,034	5,87	0,051	3,00
02-07-2012	11	0,001	0,093	6,23	-0,020	-2,17
	12	0,002	0,083	4,85	0,030	1,89
	13	0,000	0,097	6,29	0,070	-0,870
	14	0,001	0,055	6,08	0,090	-2,10
	15	0,002	0,091	5,85	0,020	-3,49
	16	0,002	0,068	1,40	0,010	-1,17
10-07-2012	17	0,003	0,120	10,3	0,060	-2,26
	18	0,003	0,053	10,5	-0,015	2,58
	19	0,001	0,047	6,69	-0,079	1,21
	20	0,001	0,143	6,54	-0,015	0,72
	21	0,002	0,056	6,21	-0,034	3,20
	22	0,001	0,036	6,94	0,017	1,81
29-02-2012	23	0,020	0,033	-14,5	-0,018	-2,42
	24	0,018	0,027	-19,6	-0,255	-0,262
02-02-2012	25	0,032	0,032	-26,4	0,429	-1,01
	26	0,028	0,036	-22,5	0,069	-0,137
28-03-2012	27	0,023	-0,005	-23,1	-0,005	-2,46
	28	0,019	-0,005	-22,7	0,009	-1,32
17-04-2012	29	0,008	0,000	-22,9	0,737	0,131
	30	0,008	0,015	-20,6	0,325	-0,637

Tabela 4.A.2. Dados do sinal instrumental (y) do Cu analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Cu (mg L ⁻¹)	Y do Cu em 10 dias diferentes									
	14-05-2012	15-05-2012	16-05-2012	17-05-2012	28-05-2012	01-06-2012	04-06-2012	12-06-2012	14-06-2012	15-06-2012
P0 = 0,0	0,3044	0,3879	0,3231	0,4127	0,3366	0,3070	0,3419	0,2413	0,3323	0,1935
PA = 0,5	37,92	38,18	38,50	37,83	38,88	38,70	38,09	38,58	37,80	38,29
PB = 2,0	152,5	154,2	154,1	151,9	154,4	153,9	152,9	153,7	150,6	153,7
PC = 3,0	215,4	217,0	216,5	212,7	233,8	235,2	230,6	230,6	226,3	231,5
PD = 4,0	309,1	313,1	313,0	307,8	311,4	312,1	310,2	309,7	305,7	310,1
PE = 5,0	378,9	382,8	383,9	379,8	385,3	387,4	383,6	383,2	376,5	383,6

Tabela 4.A.3. Dados do sinal instrumental (y) do Pb analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Pb (µg L ⁻¹)	Y do Pb em 10 dias diferentes									
	14-05-2012	15-05-2012	16-05-2012	17-05-2012	28-05-2012	01-06-2012	04-06-2012	12-06-2012	14-06-2012	15-06-2012
P0 = 0,0	-0,0100	-0,0031	0,0019	-0,0087	0,0128	0,0197	-0,0084	-0,0010	-0,0029	0,0006
PA = 50	0,2900	0,317	0,2882	0,2812	0,2842	0,287	0,3026	0,2875	0,3016	0,2930
PB = 250	1,370	1,386	1,394	1,397	1,353	1,391	1,378	1,379	1,371	1,377
PC = 500	2,946	2,734	2,766	2,743	2,707	2,709	2,761	2,789	2,704	2,869
PD = 750	4,239	4,181	4,183	4,111	4,005	4,069	4,227	4,185	4,057	4,129
PE = 1000	5,574	5,569	5,498	5,424	5,306	5,389	5,398	5,512	5,342	5,485

Tabela 4.A.4. Dados do sinal instrumental (y) do Zn analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Zn (mg L ⁻¹)	Y do Zn em 10 diferentes dias									
	14-05-2012	15-05-2012	16-05-2012	17-05-2012	28-05-2012	01-06-2012	04-06-2012	12-06-2012	14-06-2012	15-06-2012
P0 = 0,0	0,1659	0,1756	0,1904	0,1758	1,681	1,822	1,487	1,107	1,136	1,1109
PA = 0,5	26,31	26,79	28,52	26,50	27,51	28,84	26,61	27,31	27,30	26,63
PB = 2,5	132,4	135,9	142,5	136,3	137,4	143,7	133,0	135,2	136,3	133,0
PC = 10	521,0	525,4	550,4	530,5	549,3	574,3	531,1	539,4	530,6	519,1
PD = 20	1049	1097	1121	1076	1092	1147	1049	1075	1058	1049
PE = 30	1556	1634	1673	1605	1617	1718	1590	1596	1587	1582

Tabela 4.A.5. Dados do sinal instrumental (y) do Cd analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Cd ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Y do Cd em 10 diferentes dias									
	14-05-2012	15-05-2012	16-05-2012	17-05-2012	28-05-2012	01-06-2012	04-06-2012	12-06-2012	14-06-2012	15-06-2012
P0 = 0,0	0,0345	0,0394	0,0377	0,0263	0,0369	0,0279	0,0379	0,0383	0,0506	0,0356
PA = 5	0,7030	0,6739	0,7198	0,7114	0,6295	0,6836	0,7184	0,6984	0,6994	0,6739
PB = 25	3,402	3,359	3,387	3,481	3,285	3,567	3,511	3,444	3,517	3,336
PC = 50	6,596	6,517	6,857	6,893	6,512	7,118	6,933	6,700	6,934	6,648
PD = 75	9,946	9,751	10,26	10,33	9,830	10,77	10,35	10,22	10,48	10,05
PE = 100	12,84	12,91	13,68	13,52	13,10	14,08	13,68	13,42	13,75	13,41

Tabela 4.A.6. Dados do sinal instrumental (y) do Cr analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Cr ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Y do Cr em 10 dias diferentes									
	14-05-2012	15-05-2012	16-05-2012	17-05-2012	28-05-2012	01-06-2012	04-06-2012	12-06-2012	14-06-2012	15-06-2012
P0 = 0,0	0,0182	0,0070	0,0093	0,0162	0,0087	0,0021	0,0206	0,0189	0,0201	0,0195
PA = 100	0,5186	0,5187	0,5471	0,4682	0,6211	0,6442	0,6687	0,6339	0,6333	0,6295
PB = 500	2,968	2,940	3,013	2,828	3,170	3,335	3,261	3,160	3,192	3,122
PC = 1000	6,418	6,361	6,577	6,226	6,237	6,564	6,508	6,240	6,371	6,242
PD = 1500	9,598	9,503	9,842	9,784	9,504	10,001	9,761	9,522	9,625	9,464
PE = 2000	12,50	12,54	13,06	12,88	12,71	13,26	12,90	12,56	12,68	12,58

Tabela 4.A.7. Dados do sinal instrumental (y) do Ni analisado por ICP-AES, sendo P0, PA, PB, PC, PD e PE as designações dos padrões de calibração.

Ni ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Y do Ni em 10 dias diferentes									
	24-07-2012	25-07-2012	03-08-2012	08-08-2012	09-08-2012	10-08-2012	26-07-2012	30-07-2012	31-07-2012	11-08-2012
P0 = 0,0	-0,0792	-0,1363	-0,0443	-0,0918	-0,1139	-0,0285	-0,0538	-0,0697	-0,0317	-0,0570
PA = 200	0,2691	0,2661	0,2565	0,2755	0,2691	0,3229	0,2973	0,3006	0,2755	0,2130
PB = 500	0,8740	0,7283	0,8265	0,8995	0,8784	0,8741	0,7628	0,8202	0,8293	0,5903
PC = 1000	1,621	1,548	1,463	1,577	1,619	1,620	1,586	1,622	1,547	1,250
PD = 1500	2,372	2,322	2,406	2,542	2,495	2,562	2,337	2,432	2,452	1,899
PE = 2000	3,833	3,154	3,223	3,453	3,347	3,360	3,236	3,376	3,373	2,541

Tabela 4.A.8. Sinal instrumental (y) do Cu em ICP-AES, para o estudo da linearidade da resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal.

Padrões	Y do Cu em 6 dias diferentes						\bar{Y}	X (mg L ⁻¹)
	28-05-2012	01-06-2012	04-06-2012	12-06-2012	14-06-2012	15-06-2012		
PO	0,3366	0,3070	0,3419	0,2413	0,3323	0,1935	0,2921	0,0
PA	38,88	38,70	38,09	38,58	37,80	38,29	38,39	0,5
PB	154,4	153,9	152,9	153,7	150,6	153,7	153,2	2,0
PC	233,8	235,2	230,6	230,6	226,3	231,5	231,3	3,0
PD	311,4	312,1	310,2	309,7	305,7	310,1	309,8	4,0
PE	385,3	387,4	383,6	383,2	376,5	383,6	383,3	5,0

Tabela 4.A.9. Sinal instrumental (y) do Zn em ICP-AES, para o estudo da linearidade da resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal.

Padrões	Y do Zn em 6 dias diferentes						\bar{Y}	X (mg L ⁻¹)
	14-05-2012	15-05-2012	04-06-2012	12-06-2012	14-06-2012	15-06-2012		
PO	0,1659	0,1756	1,487	1,107	1,136	1,1109	0,8638	0
PA	26,31	26,79	26,61	27,31	27,30	26,63	26,82	0,5
PB	132,4	135,9	133,0	135,2	136,3	133,0	134,3	2,5
PC	521,0	525,4	531,1	539,4	530,6	519,1	527,8	10
PD	1049	1097	1049	1075	1058	1049	1063	20
PE	1556	1634	1590	1596	1587	1582	1591	30

Tabela 4.A.10. Sinal instrumental (y) do Pb em ICP-AES, para o estudo da linearidade da resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal.

Padrões	Y do Pb em 6 dias diferentes						\bar{Y}	X (µg L ⁻¹)
	28-05-2012	01-06-2012	04-06-2012	12-06-2012	14-06-2012	15-06-2012		
PO	0,0128	0,0197	-0,0084	-0,0010	-0,0029	0,0006	0,0035	0
PA	0,2842	0,287	0,3026	0,2875	0,3016	0,2930	0,2926	50
PB	1,353	1,391	1,378	1,379	1,371	1,377	1,375	250
PC	2,707	2,709	2,761	2,789	2,704	2,869	2,757	500
PD	4,005	4,069	4,227	4,185	4,057	4,129	4,112	750
PE	5,306	5,389	5,398	5,512	5,342	5,485	5,405	1000

Tabela 4.A.11. Sinal instrumental do cádmio (y) em ICP-AES, para o estudo da linearidade da resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal.

Padrões	Y do Cd em 6 dias diferentes						\bar{Y}	X ($\mu\text{g L}^{-1}$)
	28-05-2012	01-06-2012	04-06-2012	12-06-2012	14-06-2012	15-06-2012		
PO	0,0369	0,0279	0,0379	0,0383	0,0506	0,0356	0,0379	0
PA	0,6295	0,6836	0,7184	0,6984	0,6994	0,6739	0,6839	5
PB	3,285	3,567	3,511	3,444	3,517	3,336	3,443	25
PC	6,512	7,118	6,933	6,700	6,934	6,648	6,807	50
PD	9,830	10,77	10,35	10,22	10,48	10,05	10,28	75
PE	13,10	14,08	13,68	13,42	13,75	13,41	13,57	100

Tabela 4.A.12. Sinal instrumental (y) do Cr em ICP-AES, para o estudo da linearidade da resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal.

Padrões	Y do Cr em 6 dias diferentes						\bar{Y}	X ($\mu\text{g L}^{-1}$)
	28-05-2012	01-06-2012	04-06-2012	12-06-2012	14-06-2012	15-06-2012		
PO	0,0087	0,0021	0,0206	0,0189	0,0201	0,0195	0,0150	0
PA	0,6211	0,6442	0,6687	0,6339	0,6333	0,6295	0,6385	100
PB	3,170	3,335	3,261	3,160	3,192	3,122	3,207	500
PC	6,237	6,564	6,508	6,240	6,371	6,242	6,360	1000
PD	9,504	10,001	9,761	9,522	9,625	9,464	9,646	1500
PE	12,71	13,26	12,90	12,56	12,68	12,58	12,78	2000

Tabela 4.A.13. Sinal instrumental (y) do Ni em ICP-AES, para o estudo da linearidade da resposta instrumental, sendo X a concentração esperada da curva de calibração e \bar{Y} a média do sinal.

Padrões	Y do Ni em 6 dias diferentes						\bar{Y}	X ($\mu\text{g L}^{-1}$)
	24-07-2012	25-07-2012	03-08-2012	08-08-2012	09-08-2012	10-08-2012		
PO	-0,0792	-0,1363	-0,0443	-0,0918	-0,1139	-0,0285	-0,0823	0
PA	0,2691	0,2661	0,2565	0,2755	0,2691	0,3229	0,2765	200
PB	0,8740	0,7283	0,8265	0,8995	0,8784	0,8741	0,8468	500
PC	1,621	1,548	1,463	1,577	1,619	1,620	1,575	1000
PD	2,372	2,322	2,406	2,542	2,495	2,562	2,450	1500
PE	3,833	3,154	3,223	3,453	3,347	3,360	3,395	2000

Tabela 4.A.14. Valores críticos de T para o teste de valores aberrantes únicos de Grubbs [4.2].

Valores críticos				
Nº de Observações	Níveis de confiança			
	99%	97.5%	95%	90%
3	1,155	1,155	1,153	1,148
4	1,492	1,481	1,463	1,425
5	1,749	1,715	1,672	1,602
6	1,944	1,887	1,822	1,729
7	2,097	2,02	1,938	1,828
8	2,221	2,126	2,032	1,909
9	2,323	2,215	2,11	1,977
10	2,41	2,29	2,176	2,036
11	2,485	2,355	2,234	2,088
12	2,55	2,412	2,285	2,134
13	2,607	2,462	2,331	2,175
14	2,659	2,507	2,371	2,213
15	2,705	2,549	2,409	2,247
16	2,747	2,585	2,443	2,279
17	2,785	2,62	2,475	2,309
18	2,821	2,651	2,504	2,335
19	2,854	2,681	2,532	2,361
20	2,884	2,709	2,557	2,385
...	--	--	--	--

Tabela 4.A.15. Valores críticos de T para o teste de valores aberrantes emparelhados de Grubbs [4.2].

Valores Críticos			
Nº De Observações	Níveis de confiança		
	90%	95%	99%
4	97,1	98,6	99,7
5	85	89,5	95,4
6	73,9	79,6	88,4
7	65,3	71,2	81,3
8	58,7	64,5	74,9
9	53,4	59	69,4
10	49,2	54,5	64,6
11	45,6	50,7	60,4
12	42,6	47,4	56,8
13	40,1	44,6	53,6
14	37,8	42,1	50,6
15	35,9	40	48,2
16	34,1	38	46
17	32,6	36,3	43,9
18	31,2	34,7	42,1
19	29,9	33,3	40,4
20	28,7	32	38,8
...	--	--	--

Tabela 4.A.16. Resultados da 1ª semana das amostras de MR obtidas por ICP- AES.

Resultados da 1ª semana							
Id das BIPEA	Massa BIPEA (g)	Cu (mg L ⁻¹)	Zn (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Cd (µg L ⁻¹)	Cr (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
EB 1	---	0,00	0,06	1,31	0,18	5,34	2,07
EB 2	---	0,00	0,10	5,77	0,15	1,80	1,28
EB 3	---	0,00	0,09	6,13	0,06	2,42	-13,44
EB 4	---	0,00	0,05	3,25	0,02	4,50	14,21
EB 5	---	0,00	0,03	2,70	0,00	6,50	-13,56
EB 6	---	0,00	0,03	5,87	0,05	3,00	-4,78
Média		0,00	0,06	4,17	0,08	3,93	-2,37
Id das BIPEA	Massa BIPEA (g)	Cu (mg L ⁻¹)	Zn (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Cd (µg L ⁻¹)	Cr (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
509	1,0006	0,13	0,53	153,48	2,48	29,44	33,46
509R	1,0005	0,13	0,58	163,84	3,04	104,73	50,51
169	1,0013	0,27	0,75	24,05	3,06	293,09	300,39
169R	1,0010	0,26	0,76	19,41	2,77	239,59	361,83
18	1,0026	0,31	0,74	17,19	1,00	57,97	61,24
18 R	1,0019	0,32	0,76	25,75	1,16	57,03	31,40
9	1,0002	0,09	0,59	139,86	2,87	38,04	36,56
9 R	1,0004	0,08	0,48	119,43	2,58	35,67	50,51
10	1,0020	0,58	1,62	395,38	8,81	221,77	198,59
10 R	1,0025	0,57	1,49	403,14	6,99	207,36	208,23
155	1,0011	0,76	2,21	480,15	5,88	524,57	379,00
155 R	1,0037	0,76	2,16	452,56	5,47	601,62	390,64

Tabela 4.A.17. Resultados da 2ª semana das amostras de MR obtidas por ICP-AES.

Resultados da 2ª semana							
Id das BIPEA	Massa BIPEA (g)	Cu (mg L ⁻¹)	Zn (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Cd (µg L ⁻¹)	Cr (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
EB 1	---	0,00	0,12	10,34	0,06	-2,26	2,07
EB 2	---	0,00	0,05	10,53	-0,02	2,59	1,28
EB 3	---	0,00	0,05	6,69	-0,08	1,21	-13,44
EB 4	---	0,00	0,14	6,54	-0,01	0,72	14,21
EB 5	---	0,00	0,06	6,21	-0,03	3,20	-13,56
EB 6	---	0,00	0,04	6,94	0,02	1,81	-4,78
Média		0,00	0,08	7,87	-0,01	1,21	-2,37
Id das BIPEA	Massa BIPEA (g)	Cu (mg L ⁻¹)	Zn (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Cd (µg L ⁻¹)	Cr (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
509	1,0001	0,13	0,50	165,64	2,33	46,18	31,27
509	1,0004	0,13	0,57	182,49	2,44	41,93	37,98
169	1,0002	0,27	0,80	26,21	2,77	294,47	353,51
169R	1,0000	0,26	0,72	30,17	2,62	259,68	267,43
18	1,0005	0,30	0,72	27,16	0,91	62,23	52,19
18R	1,0005	0,32	0,78	22,78	1,06	57,43	61,62
9	1,0006	0,08	0,48	111,42	2,70	36,11	39,92
9R	1,0002	0,09	0,55	123,32	2,62	45,57	55,94
10	1,0009	0,56	1,52	339,27	5,99	194,04	180,09
10R	1,0002	0,55	1,46	396,46	5,59	227,89	191,20
155	1,0003	0,67	2,05	416,23	4,71	562,34	341,35
155R	1,0004	0,74	2,08	430,91	8,09	610,34	354,77

Tabela 4.A.18. Resultados da 3ª semana das amostras de MR obtidas por ICP-AES.

Resultados da 3ª semana							
Id das BIPEA	Massa BIPEA (g)	Cu (mg L ⁻¹)	Zn (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Cd (µg L ⁻¹)	Cr (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
EB 1	---	0,00	0,09	6,23	-0,02	-2,17	2,07
EB 2	---	0,00	0,08	4,85	0,03	1,89	1,28
EB 3	---	0,00	0,10	6,29	0,07	-0,87	-13,44
EB 4	---	0,00	0,06	6,08	0,09	-2,10	14,21
EB 5	---	0,00	0,09	5,85	0,02	-3,49	-13,56
EB 6	---	0,00	0,07	1,40	0,01	-1,17	-4,78
Média		0,00	0,08	5,12	0,03	-1,32	-2,37
Id das BIPEA	Massa BIPEA (g)	Cu (mg L ⁻¹)	Zn (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Cd (µg L ⁻¹)	Cr (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
509	1,0003	0,13	0,57	150,44	2,35	37,43	42,37
509	1,0006	0,14	0,58	161,47	2,42	49,48	42,51
169	1,0000	0,26	0,74	25,31	2,50	314,56	309,92
169R	1,0003	0,26	0,73	23,27	2,54	255,21	224,79
18	1,0007	0,31	0,73	20,27	1,07	49,49	51,03
18R	1,0005	0,31	0,76	19,19	0,86	47,62	47,15
9	1,0002	0,09	0,52	114,01	2,54	31,75	29,84
9R	1,0002	0,09	0,48	111,16	2,64	38,65	35,66
10	1,0002	0,67	1,49	344,06	5,89	208,98	200,77
10R	1,0002	0,62	1,46	385,81	6,00	272,34	183,73
155	1,0005	0,71	2,08	435,43	4,64	667,49	312,90
155R	1,0005	0,74	2,13	454,80	4,76	758,17	374,26

Tabela 4.A.19. Valores de referência da concentração das BIPEA reportado em relação à matéria original

ID das amostras	ID BIPEA	BIPEA em mg Kg ⁻¹ reportados em relação à matéria original				
		Cu	Zn	Pb	Cd	Cr
509 /2010	02-0445	6,30	28,2	8,20	0,18	2,90
169 /2010	01-0845	22,6	66,0	--	--	26,7
18 /2010	03-0145	25,6	62,2	--	--	6,70
9 /2012	3-0445-0019	3,90	23,0	5,50	0,18	2,70
10 /2011	9-0145-0012	34,7	104	24,4	0,37	14,0
155 MRI/2011		--	--	--	--	--

Tabela 4.A.20. Valores de referência da incerteza associada à concentração das BIPEA reportado à matéria original

ID das amostras	Incerteza das BIPEA (mg Kg ⁻¹) em relação à matéria original				
	Cu	Zn	Pb	Cd	Cr
509 /2010	0,5	1,7	0,9	0,02	0,3
169 /2010	1,1	2	--	--	3,3
18 /2010	1,6	2,8	--	--	0,7
9 /2012	0,3	1	0,3	0,01	0,3
10 /2011	1,5	3	1,3	0,03	0,8
155 MRI/2011					
Valor máximo	1,6	3,0	1,3	0,03	3,3
Incerteza relativa	0,0487	0,0189	0,0349	0,0531	0,1062

Tabela 4.A.21. Dados da repetibilidade de medição dos volumes / massas e dados de calibração dos materiais usados.

	100 ml	30 ml	25ml	20ml	15ml	10ml	5ml	2ml	1ml	100ml	1g
Desvio padrão	0,0588	0,1004	0,0442	0,0282	0,0099	0,0214	0,0135	0,0123	0,0057	0,111992	0,0009
Média	99,6661	29,8597	24,9141	19,9011	14,9287	9,9449	4,9517	1,9518	0,9799	98,95584	1,0009
Tolerância	0,0800	0,0530	0,0300	0,0300	0,0300	0,0200	0,0150	0,0100	0,0060	0,1000	0,0010
Tolerância / $\sqrt{3}$	0,0462	0,0306	0,0173	0,0173	0,0173	0,0115	0,0087	0,0058	0,0035	0,057735	0,0006

Tabela 4.A.22. Concentração dos padrões de controlo de Cu medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos padrões de controlo, designados de P0, PA, PB,PC,PD e PE.

	Concentração dos padrões de controlo de Cu quantificados em dias diferentes										X (mg L ⁻¹)
	14-05-12	15-05-12	16-05-12	17-05-12	28-05-12	01-06-12	04-06-12	12-06-12	14-06-12	15-06-12	
PO	-0,0004	-0,0019	-0,0012	0,0002	-0,0009	-0,0003	-0,0005	0,0027	-0,0012	0,0028	0,0
PA	0,5054	0,5043	0,5031	0,5075	0,5062	0,5011	0,4965	0,5093	0,4944	0,4967	0,5
PB	2,0260	2,0227	2,0141	2,0351	2,0151	2,0062	2,0098	2,0275	2,0089	2,0075	2
PC	3,0564	3,0557	3,0525	3,0812	3,0480	3,0323	3,0310	3,0770	3,0155	3,0105	3
PD	4,0988	4,0687	4,0951	4,0942	4,0781	4,0413	4,0763	4,1049	4,0267	4,0115	4
PE	5,0698	5,0611	5,0574	5,1094	5,0503	5,0036	5,0316	5,0607	5,0110	4,9860	5

Tabela 4.A.23. Concentração dos padrões de controlo de Zn medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos padrões de controlo designados de P0, PA, PB,PC,PD e PE.

	Concentração dos padrões de controlo de Zn quantificados em dias diferentes										X (mg L ⁻¹)
	14-05-12	15-05-12	16-05-12	17-05-12	28-05-12	01-06-12	04-06-12	12-06-12	14-06-12	15-06-12	
PO	-0,0004	0,0053	0,0020	0,0123	-0,0253	-0,0245	-0,0184	-0,0097	-0,0088	0,0020	0,0
PA	0,5057	0,5206	0,5051	0,5285	0,4891	0,4881	0,4942	0,5064	0,4929	0,5219	0,5
PB	2,5255	2,5670	2,5272	2,6197	2,5366	2,4951	2,5282	2,5408	2,5107	2,6137	2
PC	10,1685	10,3882	10,1255	10,5046	10,1919	10,2108	10,2877	10,2974	10,2345	10,5051	10
PD	20,1574	20,4292	20,1250	20,8661	20,4164	20,3027	20,4613	20,3978	20,0943	21,0224	20
PE	30,2249	30,9086	30,0240	31,0615	30,4463	30,1930	30,7706	30,2907	30,1078	30,8392	30

Tabela 4.A.24. Concentração dos padrões de controlo de Pb medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos padrões de controlo designados de P0, PA, PB,PC,PD e PE.

	Concentração dos padrões de controlo de Pb quantificados em dias diferentes										X ($\mu\text{g L}^{-1}$)
	14-05-12	15-05-12	16-05-12	17-05-12	28-05-12	01-06-12	04-06-12	12-06-12	14-06-12	15-06-12	
PO	4,71	2,5497	-1,4933	5,9614	0,2661	-3,1178	4,7655	0,6136	3,5474	0,6384	5
PA	55,42	56,9788	50,5856	56,8538	48,4804	53,3490	53,4300	52,1809	55,7319	54,7955	50
PB	250,53	250,9519	249,0236	254,3416	257,5005	258,7842	261,6834	250,4449	255,0187	251,7891	250
PC	532,59	494,2136	498,3331	502,4006	514,3120	512,2750	513,6412	497,7113	523,6639	527,3358	500
PD	755,01	740,2545	736,4374	749,6591	767,5794	764,7069	767,5922	752,8543	762,9596	754,9191	750
PE	1000,27	960,2450	983,6772	990,7346	1.022,2817	1.021,1255	1.013,1837	990,0813	1.013,6700	998,2773	1000

Tabela 4.A.25. Concentração dos padrões de controlo de Cd medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos padrões de controlo designados de P0, PA, PB,PC,PD e PE.

	Concentração dos padrões de controlo de Cd quantificados em dias diferentes										X ($\mu\text{g L}^{-1}$)
	14-05-12	15-05-12	16-05-12	17-05-12	28-05-12	01-06-12	04-06-12	12-06-12	14-06-12	15-06-12	
PO	-0,005	0,101	0,047	0,139	0,100	0,085	0,072	0,106	-0,097	0,078	0,0
PA	4,967	5,105	4,900	5,234	5,129	5,143	5,160	5,114	4,894	4,922	5
PB	25,191	25,915	25,182	25,197	25,908	25,761	25,613	25,796	25,282	25,031	25
PC	50,816	51,895	50,955	51,178	51,464	50,511	50,328	50,884	50,360	50,261	50
PD	76,373	77,812	76,514	76,570	77,395	75,818	75,318	75,151	75,618	74,960	75
PE	100,822	102,148	100,879	100,506	102,211	100,122	99,287	100,696	100,073	99,884	100

Tabela 4.A.26. Concentração dos padrões de controlo de Cr medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos padrões de controlo designados de P0, PA, PB,PC,PD e PE. *Valores estimados foram diferentes dos valores esperados, sendo assim desprezados para o estudo da interpolação do sinal da amostra na curva de calibração.

	Concentração dos padrões de controlo de Cr quantificados em dias diferentes										X ($\mu\text{g L}^{-1}$)
	14-05-12	15-05-12	16-05-12	17-05-12	28-05-12	01-06-12	04-06-12	12-06-12	14-06-12	15-06-12	
PO	-2,800	-0,276	1,054	-1,413	1,041	1,228	0,286	3,857	0,563	0,025	0,0
PA	61,605*	65,542*	65,274*	66,160*	100,581	105,078	98,862	101,004	99,338	99,924	100
PB	424,771*	435,966*	425,984*	431,027*	502,951	510,453	506,028	516,244	505,688	501,692	500
PC	939,617	957,461	948,451	966,536	997,632	999,193	1.008,769	1.025,223	1.005,130	1.006,124	1000
PD	1.531,943	1.561,598	1.541,696	1.569,678	1.499,861	1.507,786	1.507,388	1.518,858	1.510,636	1.508,839	1500
PE	2.022,672	2.049,284	2.026,958	2.058,999	1.984,424	1.985,770	1.993,461	2.021,076	2.002,448	2.009,490	2000

Tabela 4.A.27. Concentração dos padrões de controlo de Ni medido em 10 curvas de calibração em condições de precisão intermédia, sendo x a concentração esperada dos padrões de controlo designados de PO, PA, PB, PC, PD e PE.

	Concentração dos padrões de controlo de Ni quantificados em dias diferentes										X ($\mu\text{g L}^{-1}$)
	24-07-12	25-07-12	26-07-12	30-07-12	31-07-12	03-08-12	08-08-12	09-08-12	10-08-12	11-08-12	
PO	22,40	15,22	25,22	1,86	-22,83	-51,04	51,87	14,25	-40,84	23,70	0,0
PA	239,30	229,06	236,69	244,18	177,34	213,72	227,06	216,93	170,50	208,90	200
PB	577,30	560,20	516,22	571,75	541,56	562,93	522,32	543,62	506,25	523,54	500
PC	1.014,35	955,91	968,00	1.061,35	966,97	1.011,95	999,59	1.033,91	958,44	1.000,26	1000
PD	1.495,11	1.499,17	1.541,30	1.541,38	1.477,75	1.536,42	1.548,25	1.560,99	1.524,10	1.514,75	1500
PE	2.016,02	1.978,65	2.031,27	2.037,06	2.085,41	2.122,01	2.038,56	2.106,47	2.041,36	2.074,67	2000

Tabela 4.A.28. Resultados do MRC (BIPEA-145) obtido por ICP-AES em duplicado.

Amostra MRC	Cu (mg L^{-1})	Zn (mg L^{-1})	Pb ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cr ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ni ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1º Duplicado dIL 1/10	0,7863	2,2562	225,2526	2,1662	247,7904	272,4659
2º Duplicado dIL 1/10	0,8032	2,2857	227,1329	2,4194	249,9544	266,1467
Média	0,7947	2,2709	226,1927	2,2928	248,8724	269,3063