

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Santos Alves Vicentini Neto

**USO DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM PLASMA  
INDUTIVAMENTE ACOPLADO NA BIOMONITORIZAÇÃO HUMANA DE As, Cd,  
Pb e Hg**

Rio de Janeiro

2020

Santos Alves Vicentini Neto

USO DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM PLASMA  
INDUTIVAMENTE ACOPLADO NA BIOMONITORIZAÇÃO HUMANA DE As, Cd, Pb  
e Hg

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Dra. Silvana do Couto Jacob

Co-orientadora: Dra. Lisia Maria Gobbo  
dos Santos

Rio de Janeiro

2020

### **Catálogo na Fonte**

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde  
Biblioteca

Vicentini Neto, Santos Alves

Uso da espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado na biomonitorização humana de As, Cd, Pb e Hg. / Santos Alves Vicentini Neto. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2020.  
106 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Vigilância Sanitária) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

Orientadora: Silvana do Couto Jacob.

Co-orientadora: Lisia Maria Gobbo dos Santos.

1. ICP-MS. 2. Poluentes Inorgânicos. 3. biomonitorização humana. I.  
Título.

Use of inductively coupled plasma mass spectrometry in human biomonitoring of As, Cd, Pb and Hg.

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001."

"This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

Santos Alves Vicentini Neto

**USO DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM PLASMA INDUTIVAMENTE  
ACOPLADO NA BIOMONITORIZAÇÃO HUMANA DE As, Cd, Pb e Hg**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

Dra. Maria Helena Simões Villas Bôas

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - Fiocruz

Dra. Cristiane Barata Silva

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - Fiocruz

Dr. Fabio Grandis Lepri

Universidade Federal Fluminense

**ORIENTADORAS**

Dra. Silvana do Couto Jacob

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - Fiocruz

Dra. Lisia Maria Gobbo dos Santos

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - Fiocruz

Dedico este trabalho à minha amada filha  
Isabella.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiro a Deus, Soberano, pelo qual existimos e sem o qual nada podemos fazer.

Agradeço à minha querida esposa Juliana pela compreensão e parceria sempre demonstrada.

Sou grato à minha família pela base que sempre me deram durante toda a minha vida.

Às minhas orientadoras, Dra. Silvana do Couto Jacob e Dra. Lisia Maria Gobbo dos Santos, pela paciência e apoio durante todo esse tempo.

A todos do Setor de Elementos Inorgânicos do Departamento de Química INCQS/Fiocruz, pelo companheirismo.

Ao INCQS e à Pós Graduação em Vigilância Sanitária pela oportunidade de desenvolver o trabalho

Aos colegas de turma do Mestrado Acadêmico, amizades valiosas que construímos nestes dois anos.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram com a minha formação.

Mestre não é quem sempre ensina, mas quem de repente aprende.

Guimarães Rosa

## RESUMO

A população está ambientalmente exposta aos contaminantes inorgânicos, como o As, Cd, Pb e Hg, um dos grupos mais suscetíveis a esses elementos é o infantil, uma vez que no período intrauterino a alimentação ocorre totalmente através da gestante. Esta exposição pode ter efeitos imediatos e permanentes na estrutura e funcionamento do cérebro, ocasionando perdas no potencial de desenvolvimento, e alterações neurológicas e neurocomportamentais. A biomonitorização humana vem sendo utilizada como uma ferramenta para políticas em saúde ambiental pois fornece informações do ambiente externo e da contaminação individual. Este trabalho é uma colaboração ao Projeto Infância e Poluentes Ambientais (PIPA) coordenado pela Universidade Federal do Rio de Janeiro. O objetivo do presente estudo foi otimizar e validar a metodologia analítica para determinação de As, Cd, Pb e Hg em matriz sangue usando a Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado. Uma mistura de amostras de sangue de diversas doadoras foi usada em todo o estudo. O preparo da amostra foi realizado por digestão ácida em banho-maria a 80 °C por 2 h. A validação da metodologia abordou a avaliação da especificidade e seletividade, linearidade e faixa de trabalho, limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), exatidão, precisão e incerteza do método. O LOD e LOQ obtidos foram, respectivamente: 0,003 e 0,01  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para o As, 0,002 e 0,006  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para o Cd, 0,016 e 0,05  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para o Pb, 0,007 e 0,02  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para o Hg. A faixa de trabalho definida para todos os elementos foi: 0,05 – 0,1 – 0,5 – 1 – 2,5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . O ensaio de exatidão utilizando material de referência certificado apresentou resultados satisfatórios, entre 92 e 120%, com precisão inferior a 10% para todos os analitos. A incerteza do método calculada como incerteza padrão expandida foi de 22% para o As, 24% para o Cd, 23% para o Pb e 35% para o Hg. A metodologia estudada foi aplicada na análise de 241 amostras provenientes do projeto PIPA e poderá ser aplicada a diferentes estudos de biomonitorização humana de modo a apoiar políticas na área de saúde e ambiente.

Palavras-chave: ICP-MS. Contaminantes Inorgânicos. Biomonitorização humana

## ABSTRACT

The population is environmentally exposed to inorganic contaminants, such as arsenic (As), cadmium (Cd), lead (Pb) and mercury (Hg), but the children's group is the most susceptible to these hazards, since in the intrauterine period the feeding takes place entirely through the pregnant woman. This exposure can cause immediate and permanent effects on the structure and functioning of the brain, causing losses in development potential and neurological and neurobehavioral changes. Human biomonitoring has been used as a tool for environmental health policies because it provides information from the external environment and individual contamination. This study is a collaboration to Childhood Project and Environmental Pollutants (PIPA) coordinated by the Federal University of Rio de Janeiro. The aim of this study was to optimize and validate the analytical methodology for determining As, Cd, Pb and Hg in a blood matrix using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. A mixture of blood samples from several donors was used throughout the study. The sample was prepared by acid digestion in a water bath at 80 °C for 2 hours. The analysis technique used was Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. To validate the methodology, specificity and selectivity, linearity and working range, limits of detection (LOD) and quantification (LOQ), accuracy, precision and uncertainty of the method were evaluated. The LOD and LOQ obtained were, respectively: 0.003 and 0.01  $\mu\text{g.L}^{-1}$  for As, 0.002 and 0.006  $\mu\text{g.L}^{-1}$  for Cd, 0.016 and 0.05  $\mu\text{g.L}^{-1}$  for Pb, 0.007 and 0.02  $\mu\text{g.L}^{-1}$  for Hg. The working range for all elements was 0.05 - 0.1 - 0.5 - 1 - 2.5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . The MRC accuracy test showed satisfactory results, between 92 and 120%, with an accuracy of less than 10%, for all analytes. The calculated expanded standard uncertainty was 22% for As, 24% for Cd, 23% for Pb and 35% for Hg. The studied methodology was applied to analyze 241 samples from the PIPA project and can be applied to different studies of human biomonitoring in order to support health and environment policies.

Keywords: ICP-MS. Inorganic Contaminants. Human biomonitoring

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Essencialidade e efeitos tóxicos dos elementos .....	16
Figura 1 – Esquema de um Espectrômetro de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS).....	29
Figura 2 – Diagrama de Causa e Efeito Simplificado.....	45
Figura 3 – Equação de correção de intensidade para As em relação ao volume de amostra adicionado.....	49
Figura 4 – Curvas analíticas de As, Cd, Pb e Hg com e sem a presença da matriz sangue.....	50
Figura 5 – Faixa linear de trabalho das curvas analíticas, gráfico de resíduos, estatísticas da regressão, ANOVA da regressão e teste de desvio de linearidade.	52
Figura 6 – Faixa linear de trabalho das curvas analíticas, gráfico de resíduos, estatísticas da regressão, ANOVA da regressão e teste de desvio de linearidade. .	52
Figura 7 – Influência de cada fonte na medição da incerteza: a) As; b) Cd; c) Pb; d) Hg. ....	56
Figura 8 – Comparação entre os teores encontrados para a população de gestantes e seus cordões umbilicais .....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Condições experimentais para a determinação de As, Cd, Pb e Hg por ICP-MS.....	41
Tabela 2 – Resultados obtidos para as replicatas realizadas com o MRC Nist 955C usado como matriz, preparadas por micro-ondas e banho-maria com diferentes padrões internos e analisadas por ICP-MS (n=3). ....	47
Tabela 3 – Valor de intensidade/Rh (cps) da leitura das amostras branco para As, Cd, Pb e Hg.....	51
Tabela 4 – Limites de detecção e quantificação de As, Cd, Pb e Hg para análise de sangue por ICP-MS.....	51
Tabela 5 – Exatidão e precisão do método usando MRC Nist 955C, desvio padrão relativo (n=3). ....	54
Tabela 6 – Resultados obtidos para amostra de sangue com adição de As, Cd, Pb e Hg a 0,5 µg.L <sup>-1</sup> analisada por ICP-MS, exatidão e precisão do método expressas pelo ensaio de adição de padrão e desvio padrão relativo (n=3). ....	54
Tabela 7 – Incerteza padrão expandida calculada para As, Cd, Pb e Hg. ....	55
Tabela 8 – Teores de As, Cd, Pb e Hg em µg.L <sup>-1</sup> obtidos por ICP-MS em sangue materno (gestante) (n=118) e cordões umbilicais (n=123).....	57
Tabela 9 – Média, mediana, valores mínimo e máximo de As, Cd, Pb e Hg em µg.L <sup>-1</sup> obtidos por ICP-MS em sangue materno (n=118) e cordões umbilicais (n=123) .....	60

## LISTA DE SIGLAS

ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>
BMDL <sub>0,5</sub>	Nível de Dosagem de Referência 0,5% (do inglês <i>Benchmark Dose Level/0,5%</i> )
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CESTEH	Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana
DRC	Célula de Reação Dinâmica (do inglês <i>Dynamic Reaction Cell</i> )
F AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> )
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com forno de grafite (do inglês <i>Graphite furnace atomic absorption</i> )
HG AAS	Espectrometria de Absorção Atômica por Geração de Hidretos (do inglês <i>Hydride Generation Atomic Absorption</i> )
ICP OES	Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> )
ICP-MS	Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> )
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
JECFA	Comitê Conjunto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares (do inglês <i>Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives</i> )
LMP	Limite Máximo Permitido
LMT	Limite Máximo Tolerável
LOD	Limite de Detecção (do inglês <i>Limit of Detection</i> )
LOQ	Limite de Quantificação (do inglês <i>Limit of Quantification</i> )
MeHg	Metilmercúrio
m/z	Razão Massa Carga
MRC	Material de Referência Certificado
MSMA	Metanoarseniato Ácido Monossódico
PNVS	Política Nacional de Vigilância em Saúde
POP	Procedimento Operacional Padronizado
PROMAC	Programa de Monitoramento de Aditivos e Contaminantes
PTMI	Dose mensal tolerável provisória (do inglês <i>Provisional Tolerable Monthly Intake</i> )

PTWI	Dose semanal tolerável provisória (do inglês <i>Provisional Tolerable Weekly Intake</i> )
PVC	Cloreto de polivinila
QI	Quoeficiente de Inteligência
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
DPR	Desvio Padrão Relativo
SEI/DQ	Setor de Elementos Inorgânicos/Departamento de Química
TDAH	Transtorno de Déficit de Atenção, Hiperatividade
TMAH	Hidróxido de Tetrametilamônio
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
WHO	Organização Mundial da Saúde (do inglês <i>World Health Organization</i> )

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>1.1 Elementos de interesse</b> .....	16
1.1.1 Arsênio – Fontes de exposição e toxicidade.....	18
1.1.2 Cádmio – Fontes de exposição e toxicidade .....	19
1.1.3 Chumbo – Fontes de exposição e toxicidade .....	21
1.1.4 Mercúrio – Fontes de exposição e toxicidade.....	21
<b>1.2 Indicadores biológicos</b> .....	22
<b>1.3 Vigilância Sanitária</b> .....	24
1.3.1 Risco e suas avaliações .....	24
1.3.2 Legislações e limites para As, Cd, Pb e Hg .....	25
<b>1.4 Métodos para análise elementar em matrizes diversas</b> .....	27
1.4.1 Preparo de amostra .....	27
1.4.2 Técnicas de análise .....	28
<b>1.5 Fundamentos da técnica ICP-MS</b> .....	28
1.5.1 Fonte de Íons (Plasma de argônio).....	29
1.5.2 Analisador de Massas (Quadrupolo) .....	29
1.5.3 Detector .....	30
1.5.4 Interferências .....	30
<b>1.6 Validação de metodologia</b> .....	31
1.6.1 Especificidade e seletividade.....	32
1.6.2 Faixa de trabalho .....	32
1.6.3 Linearidade .....	32
1.6.4 Sensibilidade .....	33
1.6.5 Limites de detecção e quantificação.....	33
1.6.6 Exatidão.....	33
1.6.7 Precisão.....	33
<b>1.7 Relevância/justificativa</b> .....	34
<b>2 OBJETIVO</b> .....	36
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	36
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	36
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	37
<b>3.1 Amostragem</b> .....	37

<b>3.2 Procedimento analítico</b> .....	37
3.2.1 Equipamentos, materiais e reagentes .....	37
3.2.2 Procedimento de preparo das amostras .....	38
3.2.2.1 <i>Digestão ácida em micro-ondas</i> .....	38
3.2.2.2 <i>Digestão ácida em banho-maria</i> .....	39
3.2.2.3 <i>Diluição alcalina com TMAH</i> .....	39
3.2.3 Preparo das soluções .....	39
3.2.3.1 <i>Solução Intermediária I: As, Cd e Pb 1 mg.L<sup>-1</sup></i> .....	39
3.2.3.2 <i>Solução Intermediária II: As, Cd, Pb e Hg 10 µg.L<sup>-1</sup></i> .....	39
3.2.3.3 <i>Solução de HNO<sub>3</sub> 10% v/v</i> .....	39
3.2.3.4 <i>Solução contendo Au a 1 mg.L<sup>-1</sup></i> .....	40
3.2.3.5 <i>Solução de Rh 1 mg.L<sup>-1</sup></i> .....	40
3.2.3.6 <i>Solução de TMAH 10%</i> .....	40
3.2.4 Limpeza de vidraria .....	40
3.2.5 Descarte de resíduos.....	40
3.2.6 Técnica analítica .....	41
3.2.6.1 <i>Padronização Interna</i> .....	42
3.2.6.2 <i>Interferências</i> .....	42
<b>3.3 Validação da metodologia</b> .....	43
3.3.1 Especificidade e seletividade .....	43
3.3.2 Linearidade e faixa de trabalho.....	43
3.3.3 Limite de detecção e Quantificação .....	43
3.3.4 Exatidão.....	44
3.3.5 Precisão.....	45
<b>3.4 Incerteza do método</b> .....	45
<b>3.5 Avaliação estatística</b> .....	45
<b>3.6 Aplicação da metodologia em biomonitorização humana</b> .....	46
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	47
<b>4.1 Procedimento de preparo das amostras</b> .....	47
<b>4.2 Estudo de interferência para o As</b> .....	48
<b>4.3 Validação da metodologia</b> .....	49
4.3.1 Seletividade .....	49
4.3.2 Limite de Detecção e Quantificação .....	50
4.3.3 Linearidade e Faixa de Trabalho .....	51

4.3.4	Precisão e Exatidão .....	53
4.3.5	Incerteza do método .....	54
<b>4.4</b>	<b>Determinação de As, Cd, Pb e Hg na biomonitorização humana .....</b>	<b>57</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>65</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>66</b>
	APÊNDICE A – PLANILHA DE AVALIAÇÃO DE PREMISSAS – ARSÊNIO .....	75
	APÊNDICE B – PLANILHA DE AVALIAÇÃO DE PREMISSAS – CÁDMIO .....	79
	APÊNDICE C – PLANILHA DE AVALIAÇÃO DE PREMISSAS – CHUMBO .....	83
	APÊNDICE D – PLANILHA DE AVALIAÇÃO DE PREMISSAS – MERCÚRIO ....	87
	APÊNDICE E – PLANILHA PARA CÁLCULO DE INCERTEZA – ARSÊNIO .....	91
	APÊNDICE F – PLANILHA PARA CÁLCULO DE INCERTEZA – CÁDMIO .....	95
	APÊNDICE G – PLANILHA PARA CÁLCULO DE INCERTEZA – CHUMBO .....	99
	APÊNDICE H – PLANILHA PARA CÁLCULO DE INCERTEZA – MERCÚRIO .....	103

## 1 INTRODUÇÃO

Motivado pela constante e histórica busca pelo conforto, o processo de urbanização e modernização das cidades trouxe riscos à humanidade. A atividade humana é a responsável pela emissão e conseqüentemente pela introdução de diversas substâncias tóxicas no meio ambiente, fato que se agrava quando esse processo de desenvolvimento não ocorre de forma sustentável. No Brasil, muitas cidades não possuem infraestrutura para balancear este processo, falta tratamento de esgoto, apenas 46% do esgoto é tratado (BRASIL, 2018) e gerenciamento do lixo, ainda existem muitos lixões a céu aberto, a quantidade de lixo reciclada é baixa, estima-se que apenas 3% do lixo é reciclado (ABRELPE, 2019)

Outros fatores como, a impermeabilização dos solos, o próprio asfalto, a emissão de partículas pelo uso de combustíveis fósseis, a atividade industrial, contribuem para o aumento da contaminação do ambiente, tornando a população exposta, seja pelo ar que respira, pela água ou alimentos que ingira. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 25% das doenças que acometem a população da América Latina podem ser provenientes das condições, fatores ou agentes relacionados ao ambiente (PRUSS-USTUN; CORVALAN, 2006).

A população está ambientalmente exposta a diferentes tipos de substâncias, mas o grupo mais suscetível a esses perigos é a população infantil, uma vez que no período intrauterino a alimentação ocorre totalmente através da gestante, e na infância a ingestão de água e outros alimentos é muito maior em relação a um adulto ao considerar a proporção por peso corpóreo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002). Esta exposição durante o período de crescimento intrauterino e nos anos iniciais da infância é particularmente prejudicial para a saúde infantil. Ela pode ter efeitos imediatos e permanentes na estrutura e funcionamento do cérebro, ocasionando perdas no potencial de desenvolvimento, e alterações neurológicas e neurocomportamentais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2005; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002).

Dentro desse conjunto de substâncias tóxicas, destacam-se alguns elementos, cuja presença nos organismos vivos em quantidades mínimas pode resultar desordens fisiológicas indesejadas.

## 1.1 Elementos de interesse

Grande parte dos elementos químicos está presente no organismo humano de forma combinada desempenhando diferentes funções. Muitas dessas funções são vitais aos organismos e a ausência de algum desses elementos pode ocasionar sérias doenças, tais como: anemia, por deficiência de ferro (Fe); retardamento do crescimento de crianças, por falta de zinco (Zn); e má formação óssea em crianças, por falta de cálcio (Ca). É importante destacar, ainda, vários outros metais, sem os quais a vida humana não existiria. Entre eles estão o crômio (Cr), o manganês (Mn), o cobalto (Co), o níquel (Ni), o cobre (Cu) e o molibdênio (Mo), envolvidos em processos metabólicos que regulam a produção de energia e o bom funcionamento do corpo humano. Esses elementos essenciais também podem causar algum malefício ao organismo se presentes em quantidades acima das desejadas. Um outro grupo de elementos são aqueles que não possuem qualquer função biológica conhecida, como o arsênio (As), o cádmio (Cd), o chumbo (Pb) e o mercúrio (Hg) (GONÇALVES JUNIOR; PESSOA, 2002; SOUZA; MORASSUTI; DEUS, 2018). O Quadro 1 a seguir apresenta alguns elementos em relação à essencialidade e toxicidade.

Quadro 1 – Essencialidade e efeitos tóxicos dos elementos (continua)

Elemento	Função fisiológica	Efeitos tóxicos
<b>**As</b>	Não existe evidência da essencialidade.	Tóxico principalmente em sua forma inorgânica, abrangendo desde lesões na pele até câncer do cérebro, fígado, rim e estômago.
<b>*Cd</b>	Não existe evidência da essencialidade.	Potencial toxicológico é alto; pequenas quantidades podem provocar danos perigosos à saúde humana, podendo até ser cancerígeno, irritar os olhos e, se inalado, vir a ser fatal.
<b>*Pb</b>	Não existem evidências de essencialidade, apenas algumas sugestões que o chumbo possa ser um regulador homeostático.	Pode afetar os sistemas neurológico, hematopoiético, e renal, induzindo a anemia. A exposição prolongada causa insuficiência renal irreversível.

Quadro 1 – Essencialidade e efeitos tóxicos dos elementos (conclusão)

Elemento	Função fisiológica	Efeitos tóxicos
<b>**Hg</b>	Não existe evidência da essencialidade	A nível celular, o mercúrio se liga a uma variedade de sistemas enzimáticos provocando desintegração dos tecidos; bem como a própria inibição dos sistemas enzimáticos fundamentais e de oxidação celular.
<b>*Co</b>	No homem o cobalto é requerido como um componente da vitamina b12.	Anemia causada pela diminuição da absorção do ferro.
<b>*Cr</b>	O cromo trivalente é um elemento traço essencial para aumentar a tolerância à glicose, mas o cromo hexavalente tem se mostrado cancerígeno.	Relacionado ao aumento do câncer de pulmão, e a administração oral a danos ao fígado e ao rim.
<b>*Zn</b>	Elemento constituinte da insulina, componente de 90 enzimas que são ativadas pelo metal. Sua carência provoca nanismo, anorexia, alopecia, dificuldades de cicatrização e provável prejuízo na resposta imunológica.	O excesso está associado a casos de úlcera, pancreatites, má circulação sanguínea e fibrose pulmonar.
<b>*Ni</b>	Parece estar envolvido nos processos bioquímicos das proteínas e ácidos nucleicos, e apresenta importantes funções no metabolismo. Catalisa sistemas enzimáticos.	Inibe a ação da insulina, o contato do níquel com a pele pode acarretar reações alérgicas e é um elemento cancerígeno.
<b>*Fe</b>	A principal função do ferro no corpo humano envolve o transporte de oxigênio entre o sangue e o músculo. Sua ausência pode causar anemia.	A ingestão de ferro em excesso pode ser tóxica em condições raras.
<b>***Cu</b>	O cobre é um elemento essencial à vida em geral, participando no caso do organismo humano no processo de fixação do ferro na hemoglobina do sangue.	A mais conhecida enfermidade decorrente dos distúrbios do metabolismo do cobre é a degeneração hepato-lenticular ou doença de Wilson

Fontes: (\* MACAROVSHA, 2011; \*\*MACHADO, 2001; \*\*\*SILVA *et al.*, 2010).

As: arsênio; Cd: cádmio; Pb: chumbo; Hg: mercúrio; Co: cobalto; Cr: crômio; Cr: cromo; Zn: zinco; Fe: ferro; Cu: cobre.

Neste conjunto de elementos, alguns já possuem estudos comprovados de toxicidade. Os efeitos tóxicos do Pb já são observados há mais de 100 anos (JURUENA, 2009) e, além disso, estudos relatados pela *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR) mostram que a exposição a níveis baixos ( $<10 \mu\text{g.L}^{-1}$  de sangue materno) podem influenciar negativamente o crescimento fetal, incluindo peso e comprimento ao nascer e nascimento prematuro (ATSDR, 2019). Outros contaminantes que se destacam pela toxicidade são: o Cd que é considerado um dos elementos mais tóxicos presentes no meio ambiente; o Hg, pois já foram relatados diversos casos de intoxicação, sendo o mais famoso o de Minamata no Japão; e o As que quando descoberto, foi largamente utilizado para homicídios e suicídios por envenenamento. O As que desempenha um papel ambivalente para humanos, pode ser aplicado para cura, mas seus efeitos negativos para saúde vêm sendo relatados em diversos estudos desde que foram levados a público problemas quase epidêmicos de saúde de centenas de milhares de pessoas em Bangladesh e West Bengal, na Índia, causados por água contaminada por As (DESCHAMPS; MATSCHULLAT, 2007).

Grandjean e Landrigan (2014) relatam que Pb e Hg podem estar associados ao transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) e ao autismo. Diante das observações encontradas acima, envolvendo a ingestão de alguns elementos nos alimentos e na água pela população infantil, e pela participação ou interferência desses elementos no processo de desenvolvimento infantil, podemos considerar As, Cd, Pb e Hg como os elementos de maior risco para essa população. Informações sobre esses elementos, suas possíveis fontes de exposição e efeitos tóxicos são apresentadas a seguir.

#### 1.1.1 Arsênio – Fontes de exposição e toxicidade

No Brasil, os principais usos e aplicações do As estão na agricultura, como o herbicida organoarsenial, metanoarseniato ácido monossódico (MSMA) em culturas de ervas daninhas de café, algodão, cana-de-açúcar e citrus. Também o ácido p-aminofenilarsônico é usado misturado nas rações para aves e suínos, como promotor de crescimento e no controle de enteropatias em perus (WHO, 2001), na produção de garrafas de vidro de modo geral, sendo usado como descolorante clareador e dispersante de bolhas, na produção de ligas metálicas (principalmente

em ligas de Pb para produção de baterias) e também na fabricação de semicondutores (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

O As pode ser lançado na atmosfera tanto por causas naturais como pela atividade humana, em geral por processos com grande desprendimento de calor, como fundições, termoelétricas, incêndios florestais e atividade vulcânica. Porém, o principal meio de exposição da população ao As é a ingestão de alimentos e de água. Na categoria de alimentos, os frutos do mar são os que apresentam níveis mais elevados de As, podendo corresponder a 52% da ingestão diária total. Além dos frutos do mar, estudos apontaram níveis elevados de As inorgânico em arroz, trigo, suco de uva, melancia e espinafre (SCHOOFF *et al.*, 1999).

Depois de absorvidos pelo organismo, os compostos solúveis de As são distribuídos para praticamente todos os órgãos e tecidos do corpo. A forma trivalente de As foi predominante em tecidos estudados. A hierarquia de depósito nos órgãos pode ser definida desta forma: fígado → rins → músculos → coração → baço → pâncreas → pulmões → cérebro → pele → sangue (BENRAMDANE *et al.*, 1999). Um elemento com tão boa distribuição, dificilmente, teria problemas para ultrapassar a barreira placentária. O estudo de Lugo *et al.* mostrou altos níveis de As em diversos órgãos de uma criança autopsiada, cuja mãe havia ingerido sais de arsênio no período gestacional (LUGO *et al.*, 1969). Existe a tendência do As em acumular-se no epitélio nervoso do embrião em desenvolvimento, indicando potencial para malformações (ATSDR, 2007). O As em ambas as formas inorgânica e orgânica é detectado no leite materno após exposição alimentar ou por meio da ingestão de água contaminada (CONCHA *et al.*, 1998).

### 1.1.2 Cádmiio – Fontes de exposição e toxicidade

Cd é um subproduto na produção do Zn, portanto segue normalmente seu nível de produção. Em minerais e minérios, Cd e Zn são encontrados, normalmente, em uma relação entre 1:100 e 1:1000 (BOUDOU, 1997). Podemos destacar cinco categorias sobre os principais usos e aplicações do Cd, são elas: em recobrimento do aço e Fe devido à alta resistência do Cd à corrosão; como estabilizador para cloreto de polivinila (PVC) utilizando estearato de cádmio; em pigmentos amarelo e vermelho para plásticos e vidros pelo uso do sulfito e do sulfoseleneto de cádmio;

em baterias de níquel-cádmio principalmente as usadas em celulares; e na fabricação de ligas metálicas (BOUDOU, 1997).

As fontes de contaminação ambiental do Cd têm origem em duas categorias: fontes naturais e antropogênicas. As emissões ocorrem para a água, ar e solo e esse intercâmbio é considerado importante. As principais fontes naturais de Cd são as rochas sedimentares e rochas fosfáticas de origem marítima que podem ter concentrações de até 500 ppm. A atividade vulcânica é considerada a maior fonte natural de lançamento de Cd para atmosfera e estima-se em torno de 820 toneladas/ano (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992). As principais fontes antropogênicas de Cd estão relacionadas às atividades de mineração; produção, consumo e disposição de produtos que o utilizam; ou de fontes onde o Cd é um constituinte natural do material consumido (metais não-ferrosos, ligas de Zn, Pb e Cu, combustíveis fósseis, cimento e fertilizantes fosfatados) (ATSDR, 2012; OECD, 1994; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992).

O Cd não é um elemento essencial na alimentação humana, pelo contrário, é tóxico ao homem quando ingerido ou inalado e se deposita e acumula em vários tecidos do corpo (VENEZUELA, 2001).

Os alimentos e o cigarro são as principais fontes de exposição ao Cd pela população de modo geral. Exceto para trabalhadores ocupacionalmente expostos. Na maioria das regiões não contaminadas, a média diária de ingestão está entre 10 e 40 µg e, em fumantes, essa quantidade pode ser duplicada. Em regiões contaminadas essa quantidade pode chegar a várias centenas de µg por dia (WORLD AND HEALTH ORGANIZATION, 1992).

Após a absorção, o Cd é distribuído através do organismo, principalmente no fígado e rins, que concentram 50% de todo o Cd do corpo. É distribuído na forma de íons ligados à tioneína do eritrócito e à albumina. Aproximadamente, 80% a 90% da quantidade de Cd do organismo estão ligados à metalotioneína, diminuindo o nível de Cd circulante, conseqüentemente sua biodisponibilidade (ATSDR, 2012; GOYER, 1996). No sangue, o Cd ocorre nos eritrócitos e as concentrações plasmáticas são muito baixas. Há dois compartimentos no sangue: um relacionado à exposição recente com tempo de dois a três meses e outro que é relacionado à carga corpórea total com período de vários anos (WORLD AND HEALTH ORGANIZATION, 1992).

A placenta sintetiza a metalotioneína e pode atuar como barreira parcial à exposição do feto. Vários autores demonstraram que as concentrações no cordão

umbilical estão por volta da metade da encontrada no sangue materno. Os níveis de Cd no leite materno estão entre 5-10% do encontrado no sangue, possivelmente devido à sua ligação à metalotioneína nas células sanguíneas (ATSDR, 2012).

### 1.1.3 Chumbo – Fontes de exposição e toxicidade

É um elemento de ocorrência natural, encontrado com relativa abundância na crosta terrestre, quase sempre na forma de sulfeto de Pb. As principais fontes naturais de Pb são emissões vulcânicas, intemperismo geoquímico e névoas aquáticas (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Dentre as diversas formas de aplicação, o chumbo é usado na forma de lâminas ou canos que precisem de flexibilidade e resistência à corrosão em indústrias químicas e construção. É usado como ingrediente na solda e em material de revestimento na indústria automobilística. As soldas mais comuns contêm 65% de estanho (Sn) e 35% de Pb (AZEVEDO; CHASIN, 2003). Os óxidos de Pb são usados nas placas de baterias e acumuladores, como componente na manufatura da borracha, como ingrediente nas tintas e como constituintes em vidros. Estima-se que a produção de baterias represente 75% do consumo mundial de Pb (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2009).

O Pb é um dos contaminantes ambientais mais comuns, tóxico para os homens e animais, e não há função fisiológica conhecida no organismo. Os efeitos tóxicos afetam praticamente todos os órgãos e sistemas do organismo humano. As portas de entrada no corpo são principalmente por inalação ou ingestão, sendo diretamente absorvido, distribuído e excretado. Os bebês e as crianças pequenas são especialmente vulneráveis aos efeitos tóxicos do Pb. Podem sofrer efeitos adversos profundos e permanentes para a saúde, que afetam principalmente o desenvolvimento do cérebro e do sistema nervoso, o que pode diminuir a sua capacidade de aprendizagem (MOREIRA, 2004).

### 1.1.4 Mercúrio – Fontes de exposição e toxicidade

O Hg raramente é encontrado livre na natureza. É bem distribuído em toda crosta terrestre, mas em baixas concentrações. As fontes de Hg mais importantes na natureza são as do minério cinábrio (HgS), encontrado em rochas próximas a

atividade vulcânicas, em fraturas minerais e em áreas próximas de fontes de água termais (AZEVEDO; CHASIN, 2003). É usado como catodo nas células eletrolíticas na produção do cloro e da soda cáustica. Também utilizado em baterias domésticas, em vários tipos de lâmpadas elétricas, em interruptores, pigmentos, catalisador de reações, explosivos, em termômetros e termostatos e ainda no tratamento de minérios de ouro e prata para refinamento (DAMAS, 2014).

O Hg torna-se mais biodisponível quando se apresenta na forma de metilmercúrio (MeHg). Sob esta forma no ambiente, este metal é acumulado em organismos e transportado ao longo de uma cadeia através do consumo alimentar, principalmente de peixes e derivados, sendo essa a fonte mais importante. A ingestão dos alimentos contaminados por MeHg, pode causar efeitos adversos à saúde dos seres vivos incluindo seres humanos (VENEZUELA, 2001). A dieta excede em muito, outras formas de exposição, inclusive através do ar e da água. Independente da forma química, o Hg atravessa a barreira placentária rapidamente e atinge o feto em concentrações pelo menos iguais às maternas.

## **1.2 Indicadores biológicos**

A avaliação da exposição humana aos diversos contaminantes presentes no ambiente é feita pela estimativa de suas concentrações em amostras colhidas no ambiente (monitorização ambiental) combinada com as concentrações determinadas diretamente na população exposta, por meio da determinação das concentrações dessas substâncias, dos seus metabolitos ou de produtos de reação nos fluídos biológicos (biomonitorização humana). A biomonitorização humana é a medida periódica de um biomarcador, também chamado de indicador biológico, seu objetivo é determinar quanto uma substância foi absorvida, transformada ou acumulada em consequência a uma exposição (KUNO, 2009).

Ao longo dos últimos anos, a biomonitorização humana vem sendo utilizada como uma ferramenta para políticas em saúde ambiental pois fornece informações valiosas não só do ambiente externo, mas também sobre o nível de contaminação dos indivíduos (KUNO, 2009). Dentre os diferentes indicadores biológicos, também chamados de biomarcadores, podemos citar a concentração de compostos correlatos ou seus metabólitos no sangue, soro, urina, cabelo, entre outros.

A biomonitorização para avaliação da exposição ao As pode ser feita em vários materiais biológicos. Os níveis de As no sangue e na urina refletem exposição recente. O cabelo é um bom marcador de exposição passada e crônica, pois o arsênio se liga de maneira irreversível à queratina (SAKUMA, 2004).

O Cd pode ser medido no sangue, na urina, no cabelo ou nas unhas. No sangue tende a refletir exposições recentes e o Cd urinário reflete a exposição cumulativa e a carga corporal (particularmente, níveis de Cd nos rins). Os níveis de Cd no cabelo ou nas unhas não são tão úteis como indicação de tempo de ingestão, em parte porque o Cd pode se prender ao cabelo ou às unhas (ATSDR, 2012).

A concentração de Pb no sangue é normalmente considerada como o indicador mais confiável de exposição ao metal. Mais de 95% do Pb no sangue estão ligados aos eritrócitos (AZEVEDO; CHASIN, 2003), aproximadamente 5% da concentração do Pb no sangue se situa no plasma, representando a fração lábil e biologicamente ativa do chumbo, capaz de cruzar as membranas celulares e causar seus efeitos tóxicos (MOREIRA, 2004). O Pb no sangue é representativo do elemento nos tecidos moles, e amplamente utilizado como medida de carga corpórea e dose absorvida do metal, refletindo assim a exposição recente. Cerca de 90% do chumbo corpóreo se armazenam nos ossos, principal depósito do metal no corpo (MOREIRA, 2004).

Os indicadores biológicos sangue, urina e cabelo, são maneiras confiáveis e precisas de medir os níveis de Hg no corpo. A maioria desses testes, no entanto, não determina a forma de exposição ao Hg. Os níveis de Hg encontrados no sangue, urina, leite materno ou cabelo podem ser usados para se determinar a possibilidade da ocorrência de efeitos adversos à saúde. Na urina é usado para testar a exposição ao vapor metálico de Hg e a formas inorgânicas de Hg. No sangue total ou nos cabelos, para monitorar a exposição ao MeHg. A urina não é útil para determinar se ocorreu exposição ao MeHg. Os níveis encontrados no sangue, na urina e no cabelo podem ser usados juntos para prever possíveis efeitos na saúde, causados pelas diferentes formas de Hg. O sangue é considerado útil se as amostras forem colhidas alguns dias após a exposição. Isso ocorre porque a maioria das formas de Hg no sangue diminui pela metade a cada três dias se a exposição for interrompida. Assim, os níveis de Hg no sangue fornecem informações mais úteis após exposições recentes do que após exposições de longo prazo. Vários meses

após uma exposição, os níveis de mercúrio no sangue e na urina são muito mais baixos (ATSDR, 1999).

### **1.3 Vigilância Sanitária**

A Política Nacional de Vigilância em Saúde (PNVS) visa a promoção e a proteção da saúde, a prevenção de doenças e agravos e a redução da morbimortalidade, vulnerabilidades e riscos decorrentes das dinâmicas de produção e consumo. Entende-se por Vigilância em Saúde o processo contínuo e sistemático de coleta, consolidação, análise de dados e disseminação de informações sobre eventos relacionados à saúde, com o intuito de planejar e implementar políticas sanitárias. A Vigilância em Saúde é um termo geral, que integraliza as diferentes áreas de atuação das vigilâncias sanitária, epidemiológica, ambiental e da saúde do trabalhador (BRASIL, 2018).

Por definição da Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, a vigilância sanitária consiste em um conjunto de ações capaz de eliminar, diminuir ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens, e da prestação de serviços de interesse da saúde (BRASIL, 1990).

#### **1.3.1 Risco e suas avaliações**

O risco pode ser definido como uma construção social que representa o grau de percepção de perigo intrínseco a cada pessoa ou a um bem. A palavra pode representar a probabilidade de acontecimentos da situação de perigo potencial ou futuro, assim como a possibilidade de uma situação clara de perigo imediato, de efeitos próximos (AZEVEDO, A., 2011).

Ora, considerando o risco à saúde como qualquer situação que aumente a probabilidade de ocorrência de uma doença ou agravo à saúde, verifica-se que se trata de um conceito altamente complexo que engloba fatores ambientais, sociais, psicológicos, genéticos e outros. Esta complexidade faz com que quando uma população seja submetida a um determinado agravo, nem todos os indivíduos reajam de maneira igual; enquanto uns são mais resistentes, outros são mais suscetíveis à ação desse fator. A isto se denomina suscetibilidade individual que

pode ser entendida como o estado de qualquer pessoa que não apresenta defesa ou resistência contra um determinado fator de risco e por essa razão pode adoecer ao entrar em contato com este (BRASIL, 2011).

No caso de exposição a agentes químicos, o grau de susceptibilidade é variável, o que significa que enquanto alguns indivíduos podem permanecer em contato com o fator de risco por um tempo e concentrações maiores sem apresentarem efeitos, outros adoecem mesmo quando expostos a concentrações mais baixas e tempos menores. Isto significa que dentro de uma mesma população existem grupos de diferentes suscetibilidades e, dentre os mais suscetíveis estão as crianças e os mais velhos (BRASIL, 2016).

Uma das maneiras de se conhecer os riscos à saúde sobre uma dada população ou mesmo sobre um grupo populacional envolve a utilização de metodologias próprias para avaliação de risco. De fato, a avaliação de risco à saúde humana compreende o levantamento e a análise de informações ambientais e de indicadores de saúde mediante técnicas específicas para subsidiar a tomada de decisão e implementação, de maneira sistemática, de ações e articulação intra e intersetorial visando à promoção e proteção da saúde, melhorando as condições sociais e de vida das populações. Isto envolve inúmeros campos de abrangência e dentre eles destaca-se a qualidade dos alimentos necessários ao sustento e nutrição do ser humano (FIGUEIREDO; MIRANDA, 2011). O gerenciamento do risco sobre os contaminantes inorgânicos é fundamental para garantir a segurança e saúde da população.

### 1.3.2 Legislações e limites para As, Cd, Pb e Hg

O comitê misto da *Food and Agriculture Organization* e da *World Health Organization* de Especialistas em Aditivos Alimentares (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA)), propõe, em suas reuniões, os valores seguros de ingestão desses contaminantes baseados em estudos realizados nos diversos países.

Especificamente para o As, na 72ª reunião do JECFA, concluiu-se que a dose semanal tolerável provisória (PTWI, do inglês, *provisional tolerable weekly intake*) de  $2,1 \mu\text{g.kg}^{-1}$  peso corpóreo (pc) por dia, estabelecida anteriormente, não seria mais adequada para proteção da saúde, e estabeleceu um limite inferior da dose de

referência para um aumento de 0,5% na incidência de câncer de pulmão (BMDL<sub>0,5</sub>) de 3  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  pc por dia como ponto de referência para avaliação de risco (JECFA, 2011a).

Para o Cd, na 73ª reunião do JECFA o limite foi reduzido para uma ingestão mensal tolerável provisória (PTMI, do inglês, *provisional tolerable monthly intake*) de 25  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  peso corpóreo por mês (JECFA, 2011b)

Para o Pb, na 73ª reunião do JECFA, concluiu-se que a PTWI de 25  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  pc, estabelecida anteriormente, estaria associada ao decréscimo de ao menos 3 pontos no quociente de inteligência (QI) em criança e ao aumento na pressão sanguínea de aproximadamente 3 mmHg (0,4 kPa) em adultos. Como não foi possível estabelecer um novo valor referência para ingestão de Pb, em que não fossem observados efeitos adversos, a PTWI anterior foi revogada. Portanto, há necessidade de se limitar ao máximo a sua ingestão (JECFA, 2011b).

Em 2010, o JECFA retirou o PTWI previamente estabelecido de 5  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  pc para Hg total e estabeleceu um PTWI de 4  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  pc para Hg inorgânico (JECFA, 2011B).

No Brasil, o gerenciamento do risco começa pela regulamentação dos limites máximos permitidos (LMP) desses contaminantes nos alimentos e em águas de consumo. A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 42, de 29 de agosto de 2013 (ANVISA, 2013), que dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos e a RDC nº 193, de 12 de dezembro de 2017 (ANVISA, 2017), que estabelece os Limites Máximos Tolerados (LMT) dos contaminantes arsênio inorgânico, cádmio total, chumbo total e estanho inorgânico em alimentos infantis. Essas RDC estabelecem para o As valores de 0,02 até 1,00  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ , para o Cd valores de 0,01 até 2,00  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ , para o Pb valores de 0,01 até 2,00  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$  e para o Hg valores de 0,5 até 1,00  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ , variando de acordo com a categoria do alimento. A RDC nº 274, de 22 de setembro de 2005 (ANVISA, 2005), apresenta o regulamento técnico para águas envasadas e gelo, estabelecendo os LMT de 0,01  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para As e Pb; 0,003  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para o Cd e 0,001  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para o Hg.

Para o ar atmosférico, os valores máximos admissíveis são denominados Padrões de Qualidade do Ar. A emissão de Pb no material particulado também é um parâmetro abordado pela RDC nº 491, de 19 de novembro de 2018 (BRASIL, 2018),

que dispõe sobre padrões de qualidade do ar. A expectativa é que no padrão de qualidade do ar final, obtenha-se no máximo 0,5 mg/m<sup>3</sup> de Pb.

Em relação ao controle da contaminação humana, os valores são referentes à exposição ocupacional. A Norma Regulamentadora nº 7 (NR 7), que trata do Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional, estabelece os valores máximos na urina de: 35 µg.L<sup>-1</sup> para As, 5 µg.g<sup>-1</sup> creatina para o Cd, 20 µg.g<sup>-1</sup> creatina para Hg. Para o chumbo, no máximo 60 µg/100 mL de sangue. Não existem legislações específicas para população não exposta ocupacionalmente, apenas estudos para tentar estabelecer valores de referências de uma dada população.

#### **1.4 Métodos para análise elementar em matrizes diversas**

A quantificação de um elemento em uma amostra depende de sua disponibilização (preparo/decomposição/dissolução da amostra) e da sensibilidade analítica adequada (técnica de análise).

##### **1.4.1 Preparo de amostra**

O preparo da amostra envolve operações físicas e químicas que visam convertê-la em uma forma adequada para introdução no instrumento de medida e minimizar interferências na quantificação dos elementos de interesse. É uma etapa crucial no procedimento analítico. Quando executado com imprudência pode comprometer os resultados, dessa forma, os elementos a serem determinados exigem que as estratégias sejam adequadas para tornar os analitos disponíveis para medição e preservando sua representatividade (KRUG, 2016). Existem diferentes procedimentos para o preparo de amostras como a decomposição de materiais orgânicos por combustão, ou por via úmida, e assistido por radiação por micro-ondas.

O preparo da amostra por decomposição de materiais orgânicos por combustão é baseado na queima da fração orgânica da amostra com o oxigênio do ar, onde um resíduo inorgânico, na forma de cinza é obtido, geralmente solúvel em ácido diluído. (KRUG, 2016).

A decomposição de materiais orgânicos por via úmida, envolve procedimentos que implicam em aquecimento da amostra na presença de um ácido

mineral oxidante concentrado, de mistura de ácidos ou mistura de um ácido oxidante com peróxido de hidrogênio. Pode ser realizado em sistemas abertos, como chapa de aquecimento, ou em sistemas fechados, como micro-ondas (KRUG, 2016).

O preparo assistido por radiação micro-ondas, consiste na utilização da radiação por micro-ondas, que é um tipo de energia radiante caracterizada como radiação eletromagnética. O mecanismo de transferência de energia das micro-ondas é bem diferente dos três modos convencionais de transferência de energia térmica, pois envolve a absorção da energia diretamente pelo material que está sendo aquecido (KRUG, 2016).

#### 1.4.2 Técnicas de análise

A maioria dos métodos para determinação de elementos inorgânicos baseia-se no uso de técnicas espectrométricas, dentre elas estão a Espectrometria de Absorção Atômica com forno de grafite (GF AAS), com Chama (F AAS) e com Geração de Hidretos (HG AAS), assim como a Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) e a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS).

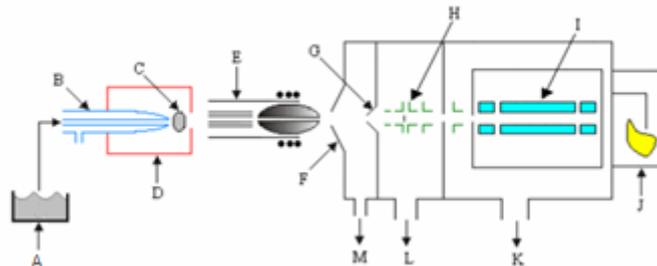
Neste trabalho, a técnica utilizada para quantificação foi a ICP-MS, por ser uma técnica versátil e rápida, que permite a análise multielementar e isotópica, com baixos limites de detecção e ampla faixa linear de trabalho, permitindo a utilização de baixos volumes de amostra, com boa precisão e exatidão e alta seletividade. Cerca de 90% dos elementos podem ser determinados com limites de detecção na faixa de 0,1 a 0,001  $\mu\text{g.L}^{-1}$  em soluções aquosas (VEIGA, 2000; MONTASER, 1998).

### 1.5 Fundamentos da técnica ICP-MS

ICP-MS é uma técnica analítica que consiste na separação de íons positivos através da aplicação de campos elétricos e/ou magnéticos em função da razão massa/carga ( $m/z$ ) de íons dos elementos presentes em uma amostra após ser ionizada pela energia gerada pelo plasma (TAYLOR, 2001). Um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado é composto por três partes principais: 1) fonte de íons, onde os íons são produzidos, neste caso o plasma acoplado (ICP), que é uma fonte de alta temperatura; 2) um sistema analisador de massas

(quadrupolo) onde os íons são separados de acordo com a sua razão massa/carga; 3) sistema de detecção de íons (Detector multiplicador de elétrons) onde os íons são quantificados sequencialmente. A Figura 1 a seguir apresenta um esquema de ICP-MS convencional com todos os seus componentes principais:

Figura 1 – Esquema de um Espectrômetro de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)



Fonte: Adaptada de SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 1998.

A) Amostra líquida; B) Nebulizador; C) Formação do aerossol; D) Câmara de Nebulização; E) Tocha; F) Cone amostrador; G) Skimmer; H) Lentes Iônicas; I) Quadrupolo; J) Detector; K) e L) Bombas de vácuo turbo-moleculares; M) Bomba de vácuo Mecânica.

### 1.5.1 Fonte de Íons (Plasma de argônio)

O plasma é um gás com os átomos em estado excitado e total ou parcialmente ionizado. Ele é constituído de três tubos de quartzo concêntricos através dos quais flui uma corrente de argônio. Dependendo do design da tocha, a vazão de argônio pode variar de 5 a 20 L/min. Ao redor do topo deste tubo há uma bobina de indução que é alimentada por um gerador de radiofrequência, que é capaz de produzir de 0,5 a 2 kW de potência entre 27 a 41 MHz. A ionização do fluido de argônio é iniciada por uma faísca de uma bobina de tesla.

### 1.5.2 Analisador de Massas (Quadrupolo)

O tipo mais comum de espectrômetro de massas utilizado é o analisador de massa quadrupolo, pois é mais compacto, menos custoso, e mais robusto que a maioria dos outros tipos de analisadores. O coração do quadrupolo é a ligação de quatro barras de cerâmica em paralelo que funcionam como eletrodos. Um par é ligado eletricamente a uma fonte variável positiva e o outro par ao terminal negativo.

Nessa ligação é aplicada uma variação de radiofrequência e voltagem que permite que dentre a mistura de íons com valores de  $m/z$  diferentes passando pelo espaço no centro do quadrupolo paralelamente ao comprimento das barras, apenas uma única espécie iônica de valor  $m/z$  específico atravesse até o final das barras, descartando todas as outras espécies (TAYLOR, 2001).

### 1.5.3 Detector

Depois que um elemento específico é selecionado do feixe de íons por um analisador de massa, é necessário um dispositivo que consiga medir a magnitude da corrente iônica produzida. Essa intensidade é proporcional à concentração deste íon na amostra original. Deste modo, quando a magnitude medida for baixa, especialmente em análises de traços, torna-se necessário que o dispositivo de detecção seja altamente sensível. Os detectores mais utilizados são os multiplicadores de elétrons de dinodo discretos.

### 1.5.4 Interferências

Para obter a maior acurácia em uma análise quantitativa, os efeitos das interferências em potencial que afetam a determinação dos íons precisam ser eliminados ou minimizados. Nesta técnica, duas categorias de interferência são encontradas: espectrais e não espectrais. Cada uma destas tem características que podem estender as interferências da menor à extremamente severa. Os efeitos de menor magnitude, usualmente podem ser, de certa forma, ignorados, de forma que são reportados como parte da incerteza da medida. Para este trabalho, destacamos a interferência espectral de íons poliatômicos, e a interferência não espectral de efeito físico:

As interferências espectrais estão diretamente ligadas ao espectro da amostra, conseqüentemente, relacionadas à resolução do equipamento pela sobreposição de massas, onde a razão massa/carga do interferente é igual do analito. A Interferência de íons poliatômicos consiste nas espécies poliatômicas formadas por componentes do solvente e/ou da matriz. Outra característica prevalente do espectro de massa, é a ocorrência de picos atribuídos a espécies moleculares ionizadas. Usualmente somente espécies homogêneas moleculares

iônicas, como o  $\text{Ar}_2^+$ , e espécies moleculares heterogêneas diatômicas, como o  $\text{ArO}^+$ , são observadas no espectro do ICP. O principal valor  $m/z$  observado no espectro de massa para espécies moleculares é determinado pela soma dos isótopos mais abundantes de cada um dos átomos pela qual a molécula é constituída. Em um ICP-MS que utilize o Argônio como gás de suporte, interferências importantes surgem de moléculas de argônio (TAYLOR, 2001). Um dos recursos utilizados para contornar esse tipo de interferências é a Célula de Reação Dinâmica (DRC, do inglês *Dynamic Reaction Cell*), que é um dispositivo posicionado entre as lentes iônicas e o analisador de massa (quadrupolo). A amostra produzida pelo ICP, que é formada pelos íons do analito, componentes da matriz e moléculas poliatômicas, passa por essa célula pela ação de um quadrupolo (célula de reação) ou hexapolo (célula de colisão). A célula é preenchida com um gás, por exemplo,  $\text{NH}_3$ , que reage seletivamente com os íons moleculares poliatômicos. Essas reações removem, de forma efetiva, os íons moleculares antes de a amostra chegar no analisador de massa (TAYLOR, 2001). Outra possibilidade para minimizar interferências poliatômicas é a aplicação de equação de correção, onde a intensidade do íon poliatômico interferente é determinada em uma massa alternativa.

Os efeitos das interferências não espectrais são independentes dos efeitos das interferências espectrais. Podem ser manifestadas tanto com aumento ou com supressão do sinal do íon a ser analisado, podem também, alterar a estabilidade do sinal e a precisão da análise (TAYLOR, 2001).

## 1.6 Validação de metodologia

Validação é a confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos (ABNT, 2017). A validação de uma metodologia é o meio que os laboratórios de ensaio utilizam na tarefa de demonstrar que um método analítico, nas condições em que é praticado, tem as características necessárias para a obtenção de resultados com a qualidade exigida.

A qualidade das medidas instrumentais e a confiabilidade estatística dos cálculos envolvidos no seu processamento definem o bom desempenho de qualquer técnica analítica. Estabelecer os limites destes parâmetros por meio da estimativa

das figuras de mérito asseguram a aplicabilidade e o alcance daquele método dentro laboratório (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Neste trabalho, a validação da metodologia aborda sete figuras mérito: especificidade e seletividade, faixa de trabalho, linearidade, sensibilidade, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão (INMETRO, 2020).

#### 1.6.1 Especificidade e seletividade

É a resposta que o método é capaz de proporcionar em relação ao analito mesmo na presença de outro material possivelmente interferente. Se um método consegue distinguir a resposta de um analito da de outros, este é chamado seletivo. Se o método fornece resposta apenas ao analito de interesse, é chamado específico (INMETRO, 2020).

#### 1.6.2 Faixa de trabalho

Faixa de trabalho de um procedimento analítico é o intervalo entre a menor concentração e a maior concentração de analito na amostra para o qual o procedimento analítico tem um nível aceitável de precisão, exatidão e linearidade que pode ser demonstrado (INMETRO, 2020).

#### 1.6.3 Linearidade

Um método é linear pela sua habilidade em obter resultados diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra em uma dada faixa de concentração (INMETRO, 2020). A equação da reta relaciona as duas variáveis e é representada pela equação 1:

$$y = aX + b \quad (1)$$

Onde:

y = Variável dependente (intensidade)

x = Variável independente (concentração da amostra)

a = Inclinação da reta ou coeficiente angular

b = Valor de intercepção da reta ou coeficiente linear

#### 1.6.4 Sensibilidade

É a variação na resposta do instrumento que corresponde a uma mudança na quantidade do analito medido (MAGNUSSON; ÖRNEMARK, 2014). É a inclinação da curva analítica. A faixa de trabalho deve cobrir a faixa em que o ensaio será aplicado e a concentração mais esperada da amostra deve, por preferência, estar no centro da faixa de trabalho.

#### 1.6.5 Limites de detecção e quantificação

Limite de detecção (LOD) de um procedimento analítico é a menor quantidade de analito na amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada sob as condições estabelecidas para o ensaio (INMETRO, 2020). Quando são realizadas medidas em amostras com baixos níveis do analito é importante saber qual o menor valor de concentração deste analito que pode ser detectado pelo método. Limite de quantificação (LOQ) é a menor quantidade do analito na amostra que pode ser quantitativamente determinada com precisão e exatidão aceitáveis (INMETRO, 2020). Geralmente, corresponde-se a solução de calibração menos concentrada.

#### 1.6.6 Exatidão

É definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência definido como verdadeiro. Os processos normalmente utilizados para avaliar a tendência de um método são: uso de materiais de referência certificados (MRC), participação em ensaios interlaboratoriais, comparação com método de referência (ou método validado) e realização de ensaios de recuperação (INMETRO, 2020).

#### 1.6.7 Precisão

É o termo utilizado para avaliar a dispersão dos resultados obtidos na repetição de um ensaio de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões em condições definidas. Normalmente determinada para circunstâncias específicas

de medição e a maneira mais comum de expressá-la é por meio da repetibilidade (SANTOS, 2004).

### **1.7 Relevância/justificativa**

No final de 2017 o Setor de Elementos Inorgânicos do Departamento de Química do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (SEI/DQ/INCQS) foi convidado a participar do Projeto Infância e Poluentes Ambientais (PIPA), que foi elaborado a partir da crescente preocupação mundial com as exposições a poluentes ambientais (especificamente metais, pesticidas e plastificantes) que acontecem em nosso cotidiano e seus efeitos na saúde humana. É um estudo longitudinal (a médio/longo prazo) que visa acompanhar as mães e seus bebês, desde a fase da gestação até os 4 anos de idade, e com isso, pretende-se avaliar os efeitos desses poluentes desde uma fase muito precoce do desenvolvimento do feto até o início da infância. Este estudo permitirá elucidar e estudar esses efeitos para que medidas preventivas e de controle possam ser tomadas, refletindo em um bem maior para toda a sociedade. O PIPA é coordenado pela Faculdade de Medicina, Instituto de Estudos em Saúde Coletiva e Maternidade Escola de Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e conta com a colaboração de diversas instituições parceiras e das mães e bebês participantes (PIPA, 2020).

Considerando que os laboratórios da Rede Nacional de Vigilância Sanitária têm uma enorme importância no processo de efetivação de medidas para promoção e proteção da saúde da população através do levantamento de dados sobre a incidência das mais diversas substâncias poluentes em sangue de populações ambientalmente expostas, o SEI se propôs a desenvolver o presente estudo para otimização e validação de metodologia analítica apropriada capaz de produzir resultados confiáveis na determinação das concentrações de As, Cd, Pb e Hg em amostras de sangue.

Uma vez que, como no Brasil não existe um programa de biomonitorização humana estabelecido, a metodologia analítica resultante desse estudo servirá para ampliar o conhecimento científico em ações pontuais que promovam qualidade de vida e ambiente saudável e servirá para impulsionar futuros programas de biomonitorização visando o estabelecimento da concentração basal de As, Cd, Pb e

Hg na população sem exposição ocupacional de modo a apoiar políticas de saúde e ambiente.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

O objetivo do presente estudo foi otimizar e validar a metodologia analítica para determinação de As, Cd, Pb e Hg em matriz sangue usando a Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado para estudos de biomonitorização humana.

### **2.2 Objetivos específicos**

- ✓ Otimizar a melhor metodologia de preparo de amostras de sangue;
- ✓ Otimizar e validar a metodologia analítica para detecção e quantificação de As, Cd, Pb e Hg em sangue por ICP-MS;
- ✓ Aplicar testes estatísticos e interpretar os resultados obtidos;
- ✓ Aplicar a metodologia em amostras de sangue do projeto PIPA.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Amostragem

Para o estudo da metodologia uma mistura (*pool*) de amostras de sangue de diferentes doadores foi preparada e usada. As amostras usadas para preparar o *pool* foram obtidas através do piloto do "Projeto Infância e Poluentes Ambientais" (PIPA) coordenado pela UFRJ em parceria com a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

Todas as coletas foram feitas em tubos a vácuo de 4 mL contendo anticoagulante EDTA K2 e armazenadas entre 2 a 7 °C por até 48 h e depois transportadas para o laboratório do Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH), onde foram armazenadas em freezer à temperatura de aproximadamente - 20 °C até serem encaminhadas ao INCQS, onde ficaram armazenadas à temperatura de -4 °C até a análise no SEI/DQ.

#### 3.2 Procedimento analítico

Para execução de todo o procedimento prático laboratorial os seguintes métodos e equipamentos foram utilizados.

##### 3.2.1 Equipamentos, materiais e reagentes

- Tubos de polipropileno de fundo cônico de 15 e 50 mL;
- Micropipetas automáticas;
- Ponteiras variadas (10 – 5.000 µL);
- Tubo a vácuo para coleta de sangue com EDTA K2 como anticoagulante;
- Banho-maria SPLabor, modelo SP-02/100ED;
- ICP-MS da marca Perkin Elmer, modelo NexION 300D;
- *Software* Syngistix;
- Micro-ondas da marca Berghof, modelo Speed Wave Four;
- Ácido nítrico 65% P.A. Merck;
- Água deionizada;

- Solução padrão de Berílio (Be), Cério (Ce), Fe, Na, Lítio (Li), Magnésio (Mg) e Pb 1  $\mu\text{g.L}^{-1}$  Perkin Elmer;
- Solução padrão de As 1.000  $\text{mg.L}^{-1}$  Sigma-Aldrich;
- Solução padrão de Cd 1.000  $\text{mg.L}^{-1}$  Merck;
- Solução padrão de Pb 1.000  $\text{mg.L}^{-1}$  Sigma-Aldrich;
- Solução padrão de Hg 10  $\text{mg.L}^{-1}$  Perkin Elmer;
- Solução padrão de Rhodium (Rh) 10  $\text{mg.L}^{-1}$  Merck;
- Material de Referência Certificado (MRC) Nist 955C de sangue de caprino;
- Solução padrão de Ouro (Au) 1000  $\text{mg.L}^{-1}$  Merck;
- Solução de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) 25% (v/v) Sigma-Aldrich.

### 3.2.2 Procedimento de preparo das amostras

Para escolha da metodologia mais adequada para o preparo de amostras, três procedimentos diferentes foram estudados utilizando o MRC NIST 955C e o *pool* preparado: digestão ácida em micro-ondas; digestão ácida em banho-maria e diluição alcalina com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH). Em todos os procedimentos, foram preparados ensaios em branco concomitantemente com as amostras.

#### 3.2.2.1 *Digestão ácida em micro-ondas*

O procedimento foi realizado segundo POP INCQS 65.3120.159. Para o preparo, foram pipetados 0,1 mL de amostra e 4,9 mL de solução de  $\text{HNO}_3$  10% Suprapur® nos frascos de teflon específicos do equipamento. A digestão foi realizada em forno de micro-ondas em frascos de teflon com tampa rosqueável a uma pressão máxima de 50 bar e temperatura máxima de 180 °C, por aproximadamente 30 min. Após a digestão, as soluções foram transferidas para frascos de polipropileno graduado e avolumadas para 10 mL com água deionizada (INCQS, 2017a).

### 3.2.2.2 *Digestão ácida em banho-maria*

O procedimento foi realizado no equipamento banho-maria eletrônico à uma temperatura máxima de 80 °C por aproximadamente 2 h, utilizando água deionizada como fluido. Para o preparo, foram pipetados 0,1 mL de amostra e 4,9 mL de solução de HNO<sub>3</sub> 10% Suprapur® em um tubo de polipropileno de fundo cônico de 15 mL. Após a digestão, as soluções foram avolumadas para 10 mL com água deionizada (SOLDÁ, 2011).

### 3.2.2.3 *Diluição alcalina com TMAH*

O procedimento foi realizado por meio da diluição das amostras em tubos de polipropileno de fundo cônico de 15 mL, em temperatura ambiente em uma razão de 1:50 com solução TMAH 10% (NUNES, 2009).

## 3.2.3 Preparo das soluções

### 3.2.3.1 *Solução Intermediária I: As, Cd e Pb 1 mg.L<sup>-1</sup>*

Foi retirada uma alíquota de 50 µL de cada padrão monoelementar de As, Cd e Pb 1.000 mg.L<sup>-1</sup> com pipeta automática para um balão volumétrico de 50 mL, e o volume foi completado com água deionizada e ácido nítrico para obter um meio ácido a 0,5% de HNO<sub>3</sub>.

### 3.2.3.2 *Solução Intermediária II: As, Cd, Pb e Hg 10 µg.L<sup>-1</sup>*

Em um balão volumétrico de 50 mL, foi adicionada uma alíquota de 500 µL da solução intermediária I e 50 µL do padrão monoelementar de Hg 10 mg.L<sup>-1</sup> com pipeta automática, em seguida o volume foi completado com água deionizada e ácido nítrico para obter um meio ácido a 0,5% de HNO<sub>3</sub>.

### 3.2.3.3 *Solução de HNO<sub>3</sub> 10% v/v*

Em balão volumétrico de 50 mL contendo um pouco de água deionizada foi adicionada uma alíquota de 5,5 mL de HNO<sub>3</sub> 65% Suprapur. Em seguida, o volume foi completado com água deionizada.

#### 3.2.3.4 *Solução contendo Au a 1 mg.L<sup>-1</sup>*

Retirou-se uma alíquota de 50 µL do padrão monoelementar de Au 1.000 mg.L<sup>-1</sup> com pipeta automática para um balão volumétrico de 50 mL, e o volume foi completado com água deionizada e ácido nítrico para obter um meio ácido a 1% de HNO<sub>3</sub>.

#### 3.2.3.5 *Solução de Rh 1 mg.L<sup>-1</sup>*

Retirou-se uma alíquota de 50 µL do padrão monoelementar de Rh 1.000 mg.L<sup>-1</sup> com pipeta automática para um balão volumétrico de 50 mL, e o volume foi completado com água deionizada.

#### 3.2.3.6 *Solução de TMAH 10%*

Em balão volumétrico de 10 mL, foi adicionada uma alíquota de 4 mL da solução de TMAH 25%, e o volume foi completado com água deionizada.

#### 3.2.4 *Limpeza de vidraria*

Todo material utilizado nas análises foi lavado por imersão em banho de HNO<sub>3</sub> a 18% durante o tempo mínimo de 4 h, seguido de enxague com água deionizada e secagem à temperatura ambiente (INCQS, 2017b).

#### 3.2.5 *Descarte de resíduos*

O descarte dos materiais utilizados foi feito conforme os procedimentos institucionais recomendados para material químico, e para material biológico (INCQS, 2015). Os resíduos químicos foram separados em bombas específicas. Os resíduos biológicos (frascos de coleta e digestão das amostras e ponteiras que

entraram em contato com sangue) foram destinados a autoclavação e posteriormente incinerados. Os resíduos ácidos líquidos e os resíduos sólidos, foram destinados ao paiol de armazenamento para posterior coleta e descarte correto, efetuado por empresa responsável.

### 3.2.6 Técnica analítica

As análises foram realizadas no SEI/DQ do INCQS. A técnica de análise utilizada foi a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS), utilizando o espectrômetro ICP-MS - NexION 300D, equipado com um nebulizador concêntrico (Meinhard), câmara de nebulização ciclônica de vidro, cones, skimmer e hiper-skimmer de níquel.

Gás argônio com pureza mínima de 99,996% foi fornecido pela White Martins (São Paulo, Brasil) e utilizado como gás carreador e gerador do plasma. Na Tabela 1 são descritas as condições operacionais do ICP-MS. A avaliação diária de desempenho do instrumento foi feita utilizando uma solução padrão contendo Berílio (Be), Cério (Ce), Fe, Na, Lítio (Li), Magnésio (Mg) e Pb em uma concentração de 1  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , e os resultados foram comparados com os parâmetros fornecidos pelo fabricante.

Tabela 1 – Condições experimentais para a determinação de As, Cd, Pb e Hg por ICP-MS

ICP-MS	Condições Experimentais
RF potência	1.400 W
Fluxo no nebulizador	1,0 Lmin <sup>-1</sup>
Fluxo do gás auxiliar	1,1 Lmin <sup>-1</sup>
Fluxo de argônio (plasma)	17,0 Lmin <sup>-1</sup>
Tempo de permanência	15 ms
Modo de operação do detector	Dual
Varreduras	50
Medição de sinal	Altura do pico
Leituras por replicata	3
Modo de lente automática	Ligado

Fonte: do autor, 2020.

### 3.2.6.1 *Padronização Interna*

A padronização interna consiste na adição de um elemento às soluções de calibração e às soluções de amostras em uma concentração conhecida, que não tenha interferência espectral, que gere sinal com intensidade adequada de massa e energia de ionização próxima a do analito (TAYLOR, 2001). Para este trabalho, foram estudados dois isótopos para uso como padrão interno: Rh e Ge. A escolha do Ge se deve ao fato de ser o padrão interno ideal para análise de As; e o Rh, por ser o padrão interno usado na rotina do laboratório, além, de outros estudos apresentarem resultados satisfatórios com o seu uso (SANTOS, 2017).

### 3.2.6.2 *Interferências*

Para reduzir ou evitar a interferência não espectral de efeito físico, o efeito de memória em análises de Hg por ICP-MS muito relatado na literatura, foi utilizada uma solução 1 mg.L<sup>-1</sup> de Au em HNO<sub>3</sub> 1%. Essa solução foi aspirada por 1 min para limpeza do sistema entre as leituras realizadas (HARRINGTON, 2003; CHEVALLIER *et al.*, 2015).

Para controlar a interferência espectral do As, causada pela presença de Cloro (Cl) na matriz, foi estudada a eficiência da equação de correção conforme descrito na literatura (TAYLOR, 2001), por meio da aplicação da equação 2.

$$I(^{75}\text{As}) = I(\text{total}^{75}) - [I(\text{total}^{77}) \times ab(^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl})] \quad (2)$$

Onde:

i = intensidade

ab = abundância

Neste estudo, foram preparadas 7 soluções em tubos de polipropileno de 15 mL, sendo que nos tubos de 1 a 5, foi adicionado um volume de solução padrão de As para atingir concentração final de 2 µg.L<sup>-1</sup>, após, foram adicionados volumes variados do *pool* preparado com amostras de sangue para alcançar os fatores de diluição: 1:500, 1:100, 1:50, 1:10 e 1:3; no tubo 6, apenas a solução padrão com

concentração final de  $2,5 \mu\text{g.L}^{-1}$  e no tubo 7, apenas a matriz com fator de diluição 1:3.

### 3.3 Validação da metodologia

Os parâmetros estudados na validação do método estão de acordo com os descritos no documento de orientação sobre Validação de Métodos Analíticos do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro) e Norma ISO 17025.

#### 3.3.1 Especificidade e seletividade

A técnica analítica de ICP-MS é naturalmente específica e seletiva, visto que por princípio cada isótopo responde por uma razão massa/carga específica e proporcional à quantidade presente na amostra, gerando um espectro de massa característico. Para comprovação desse parâmetro foram preparados dois tipos de curva analítica: a primeira utilizando apenas a solução de padrão em água; a segunda adicionando a solução padrão na matriz de interesse.

#### 3.3.2 Linearidade e faixa de trabalho

A linearidade foi avaliada utilizando-se a Planilha para Avaliação de Premissas (BASÍLIO *et al.*, 2012), para isso, foi preparada uma curva analítica com 5 níveis de concentração ( $0,05 - 2,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) de As, Cd, Pb e Hg. O teste de Brown-Forsythe foi aplicado para avaliar a homocedasticidade ou heterocedasticidade da curva, o teste de Ryan-Joiner foi aplicado para verificar a normalidade. Na avaliação da autocorrelação dos resíduos foi aplicado o teste de Durbin-Watson. Com base nos resultados dos testes estatísticos a faixa de trabalho foi definida.

#### 3.3.3 Limite de detecção e Quantificação

O LOD e o LOQ da técnica foram estabelecidos a partir da leitura de sete amostras branco independentes (apenas solvente e reagente, sem a presença de

amostra de sangue) e da tangente da curva de calibração. Os cálculos seguem as equações 3 e 4 a seguir:

$$LOD = \frac{3,3s}{b} \quad (3)$$

$$LOQ = \frac{10s}{b} \quad (4)$$

Onde:

LOD = Limite de detecção

LOQ = Limite de quantificação

s = Desvio padrão das leituras do branco

b = Inclinação da curva analítica

### 3.3.4 Exatidão

Para o estudo da exatidão do método foi utilizado o *pool* de amostras com adição dos analitos em concentração conhecida e uma solução de MRC Nist 955C. Os valores encontrados foram comparados com o valor certificado aplicando o teste t de Student e a equação 5. Para o estudo com amostra previamente fortificada, a recuperação foi calculada pelo uso da equação 6 (INMETRO, 2020).

$$t = \frac{(\mu - \bar{x})\sqrt{n}}{\sigma} \quad (5)$$

Onde:

$\mu$  = Valor Verdadeiro;

x = Média;

n = número de determinações;

$\sigma$  = Desvio padrão

$$\left( \frac{C1 - C2}{C3} \right) \times 100 \quad (6)$$

Onde:

C1 = Concentração do analito na amostra fortificada.

C2 = Concentração do analito na amostra não fortificada.

C3 = Concentração do analito adicionado à amostra fortificada.

### 3.3.5 Precisão

A precisão foi avaliada através do desvio padrão relativo (equação 7).

$$\%DPR = \frac{\sigma}{\bar{x}} \times 100 \quad (7)$$

Onde:

%DPR = Desvio padrão relativo %;

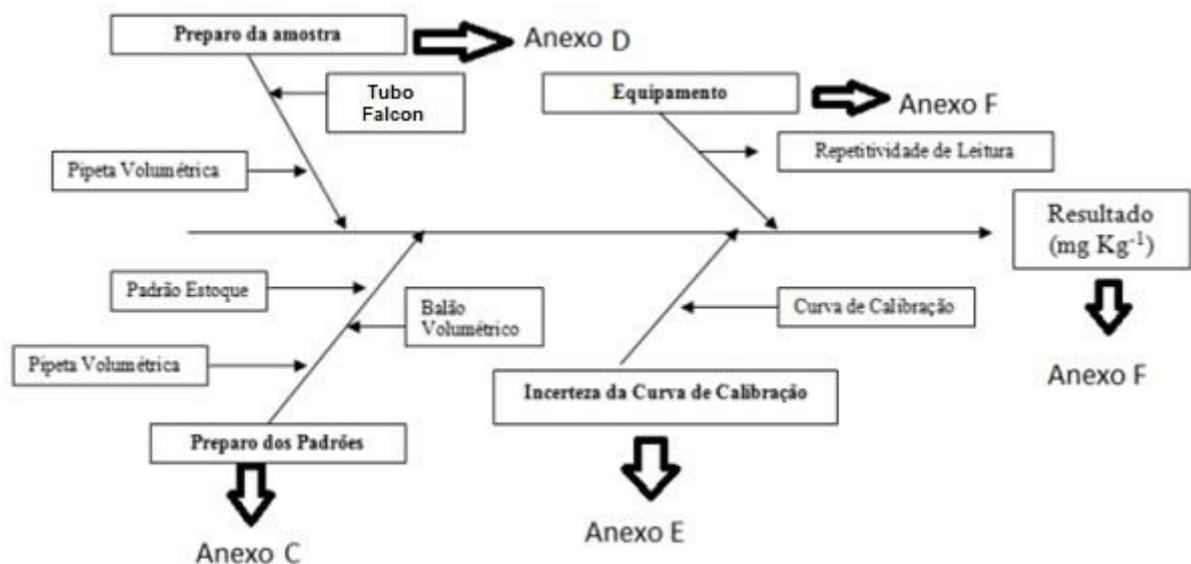
$\sigma$  = Desvio padrão dos resultados;

$\bar{x}$  = Média dos resultados.

### 3.4 Incerteza do método

A incerteza da medição foi avaliada conforme o POP INCQS 65.3120.170. De acordo com esse procedimento foram considerados todos os fatores conforme Figura 2, diagrama de Causa e Efeito Simplificado.

Figura 2 – Diagrama de Causa e Efeito Simplificado.



Fonte: Adaptado de INCQS, 2018.

### 3.5 Avaliação estatística

Para o tratamento dos dados produzidos no presente estudo foi utilizado o programa Microsoft Excel, *software* 2010. A estatística descritiva aplicada incluiu

calcular média aritmética, mediana, desvio padrão (SD). Testes foram aplicados para comparação de médias, teste t Student, para avaliação de linearidade teste de Durbin-Watson, teste de Brown-Forsythe, teste de Jack-Knife e para análise de variância ANOVA. Os testes para análise da linearidade e a ANOVA foram feitos utilizando como ferramenta de cálculo a Planilha de Avaliação de Premissas desenvolvida por Basílio (2012).

### **3.6 Aplicação da metodologia em biomonitorização humana**

Em cooperação com o projeto PIPA, a metodologia analítica validada foi aplicada no estudo prospectivo que engloba a quantificação de contaminantes em sangue de uma população de gestantes e seus cordões umbilicais (PIPA, 2020).

As amostras foram coletadas no hospital maternidade escola da UFRJ que atende gestantes de baixo risco encaminhadas pelas unidades básicas de saúde da região e gestantes de alto risco encaminhadas de outras áreas do município e de outros estados. A escolha dessa população se caracteriza por ter grande sensibilidade aos efeitos adversos provocados pelos contaminantes em estudo e qualquer influência em decorrência da presença desses contaminantes em uma gestante pode provocar alterações irreversíveis não só para ela como também para seu recém-nato.

O estudo foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade - Escola da UFRJ (Parecer número: 2.092.440) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz (Parecer número 2.121.397).

Cento e quarenta e duas mães aceitaram participar do projeto piloto, todas maiores de 16 anos e todas assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, e um total de 135 nascimentos ocorreram no período do estudo, outubro de 2017 e agosto de 2018. As amostras de sangue foram coletadas no período gestacional entre a 30<sup>a</sup> e 34<sup>a</sup> semana, e de sangue do cordão umbilical no momento do parto, no Hospital Maternidade-Escola da UFRJ em Laranjeiras.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Procedimento de preparo das amostras

O preparo das amostras por diluição alcalina com TMAH 10% apresentou alto ruído nas soluções branco, resultando um elevado LOQ (em torno de  $2 \mu\text{g.L}^{-1}$  para todos os analitos), isso pode ser consequência da alta concentração de carbono residual presente, visto que o TMAH é uma base orgânica muito forte. Foi observado neste preparo que as soluções resultantes não apresentavam aspecto límpido, sendo necessário realizar filtração das amostras, aumentando o tempo e os gastos com materiais. Além disso, esses resíduos poderiam provocar um desgaste excessivo nos itens consumíveis do equipamento ICP-MS, exigindo manutenção constante.

Os parâmetros precisão e exatidão das duas outras técnicas de preparo de amostras, por micro-ondas e banho-maria, foram comparados usando os dois padrões internos, Rh e Ge, como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados obtidos para as replicatas realizadas com o MRC Nist 955C usado como matriz, preparadas por micro-ondas e banho-maria com diferentes padrões internos e analisadas por ICP-MS (n = 3).

	Exatidão (%)				Precisão (%)			
	Micro-ondas		Banho Maria		Micro-ondas		Banho Maria	
	Rh	Ge	Rh	Ge	Rh	Ge	Rh	Ge
As	175	174	111	109	10	12	5	3
Cd	65	67	61	63	10	13	8	7
Pb	85	87	92	94	4	3	6	4
Hg	154	156	101	104	26	24	10	5

Fonte: Do autor, 2020.

Os resultados do ensaio de exatidão com o MRC NIST 955C para As (175%) e Hg (154%), e do ensaio de precisão para Hg (26%) utilizando a metodologia de preparo por micro-ondas, ficaram acima da faixa aceitável que vai de 40 - 120% para recuperação e até 15% para precisão (INMETRO, 2020). A metodologia de preparo com banho-maria apresentou valores aceitáveis para recuperação e precisão,

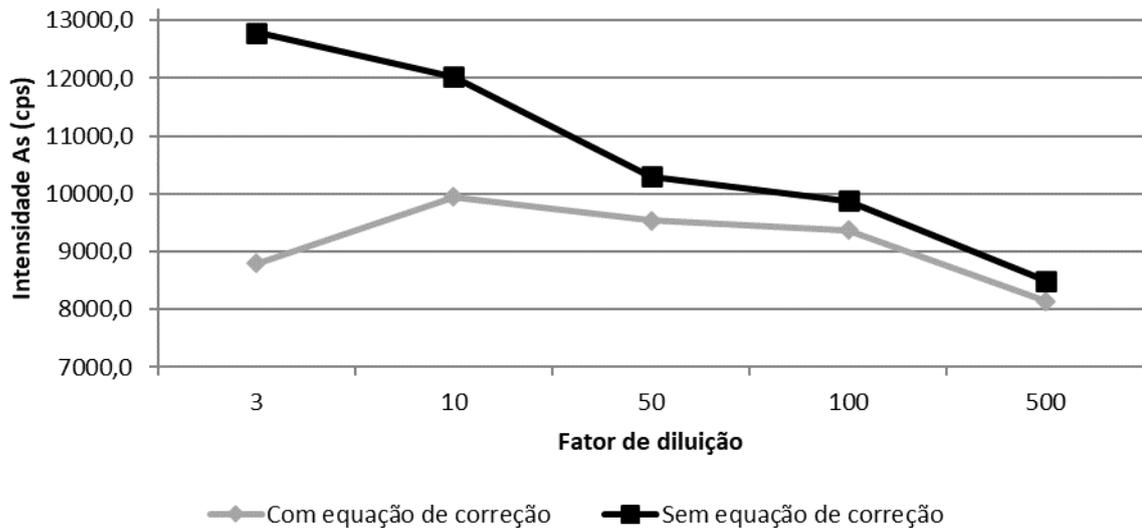
demonstrando ser a metodologia de preparo mais adequada para a matriz estudada. Estes resultados corroboram com os de Soldá (2011), que também utilizou essa metodologia para o preparo de amostras.

Em relação a escolha do padrão interno, o teste t de Student mostrou que não há diferença estatística entre os resultados usando Rh ou Ge, já que ambos apresentaram valores com desvios-padrão relativos iguais ou inferiores a 10% entre as leituras. Considerando que a massa do Rh é intermediária as massas dos analitos em estudo e devido à disponibilidade da solução padrão monoelementar de Rh, optou-se pelo uso desse elemento como padrão interno.

#### **4.2 Estudo de interferência para o As**

Observou-se que a presença de Cl, possivelmente formando a espécie  $\text{ArCl}^+$ , influenciou diretamente na medida de intensidade do As. Para avaliar esta interferência, soluções com diferentes fatores de diluição da amostra foram analisadas e para o cálculo final aplicou-se a equação de correção pelo *software* do equipamento, conforme descrito na literatura (item 3.3.6). A Figura 3, representa graficamente as intensidades observadas para soluções de amostra de sangue com diferentes diluições sem e com a aplicação da equação de correção. Nota-se que a intensidade do As não sofre a mesma alteração na presença de Cl, observando-se uma variação de aproximadamente 10% entre a amostra mais diluída (500x) e a mais concentrada (3x).

Figura 3 – Equação de correção de intensidade para As em relação ao volume de amostra adicionado.



Fonte: Do autor, 2020.

Este estudo mostra que o uso da equação de correção é eficiente frente aos resultados de As nas amostras de sangue, quando os fatores de diluição variam de 3 a 500 vezes.

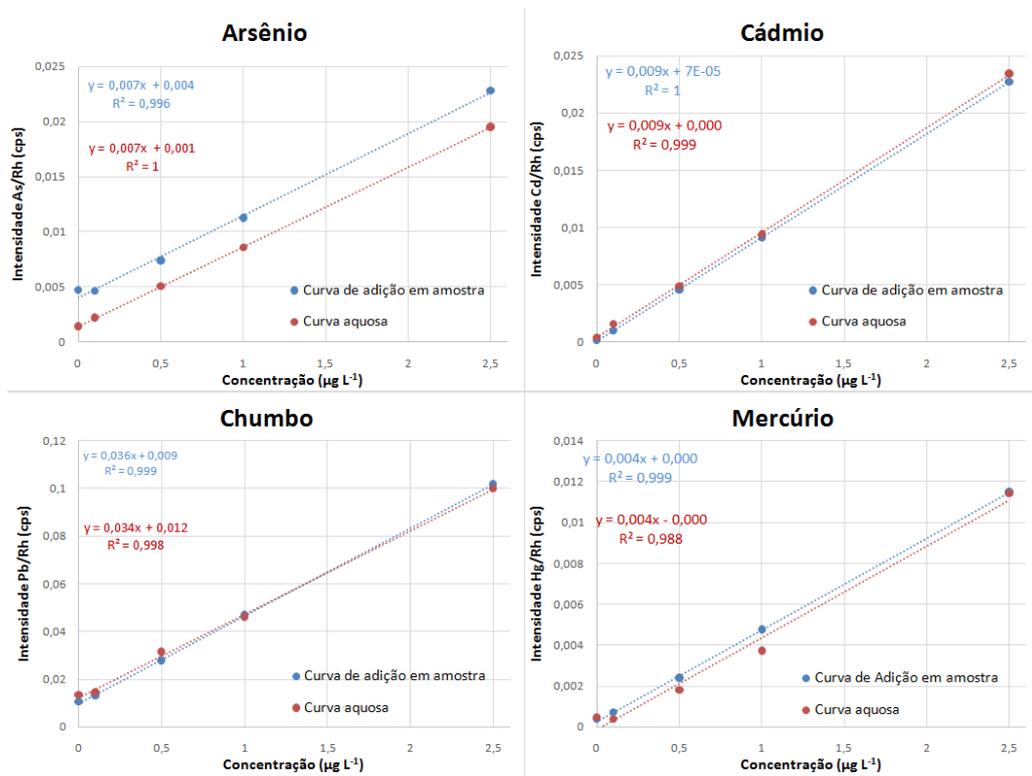
De acordo com a literatura científica, o método mais indicado para correção desse tipo de interferência seria a utilização da célula de reação (DRC). Embora esta técnica fosse mais efetiva, ela demandaria um maior tempo e aumentaria muito o custo da análise devido ao uso de outras fontes de gás. No presente estudo, com o uso da equação de correção foi possível minimizar o efeito de interferência causado pela presença de Cl nas amostras de sangue analisadas (TAYLOR, 2001).

### 4.3 Validação da metodologia

#### 4.3.1 Seletividade

A Figura 4 apresenta a comparação entre as curvas analíticas preparadas com e sem a presença da matriz sangue. Visualmente, o paralelismo entre as curvas analíticas demonstra que, possivelmente, o método de preparo da amostra eliminou com grande extensão a matriz orgânica do sangue, diminuindo significativamente a possibilidade de interferência não espectral.

Figura 4 – Curvas analíticas de As, Cd, Pb e Hg com e sem a presença da matriz sangue.



Fonte: Do autor, 2020.

A igualdade das curvas analíticas de cada analito com e sem a presença de matriz foi avaliada estatisticamente através do teste t de Student, com um nível de confiança de 95%. Não há evidência estatística que comprove que há diferença na comparação entre as curvas de cada analito com e sem a presença de matriz.

#### 4.3.2 Limite de Detecção e Quantificação

Os valores de LOD e LOQ foram calculados a partir dos dados da Tabela 3 e são apresentados na Tabela 4.

Tabela 3 – Valor de intensidade/Rh da leitura das amostras branco para As, Cd, Pb e Hg

Intensidade normalizada				
N	As	Cd	Pb	Hg
1	0,00212	0,0000470	0,00339	0,000262
2	0,00272	0,0000959	0,00415	0,000253
3	0,00227	0,0000760	0,00363	0,000202
4	0,00264	0,0000629	0,00445	0,000224
5	0,00194	0,0000335	0,00264	0,000211
6	0,00217	0,0000372	0,00309	0,000401
7	0,00231	0,0000605	0,00363	0,000390

Fonte: Do autor, 2020.

Tabela 4 – Limites de detecção e quantificação de As, Cd, Pb e Hg para análise de sangue por ICP-MS

Elemento	LOD ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
<b>As</b>	0,003	0,01
<b>Cd</b>	0,002	0,006
<b>Pb</b>	0,016	0,05
<b>Hg</b>	0,007	0,02

Fonte: Do autor, 2020.

#### 4.3.3 Linearidade e Faixa de Trabalho

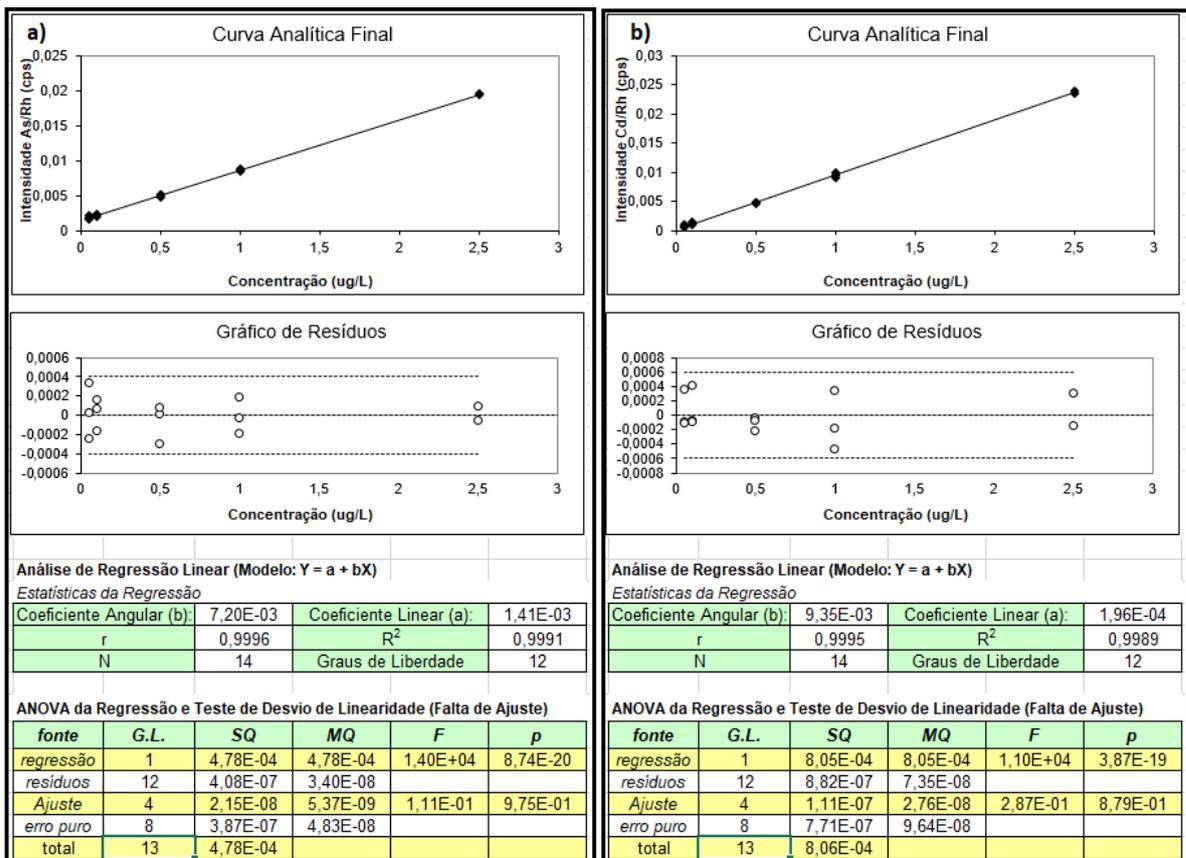
As Figuras 5 e 6 são recortes da planilha de avaliação de premissas (BASÍLIO, 2012), utilizada como ferramenta de cálculo neste trabalho (APÊNDICES A, B, C e D).

A faixa de trabalho foi definida levando-se em consideração o mais alto LOQ obtido, que foi de  $0,05 \mu\text{g.L}^{-1}$  para o Pb. Uma vez que o preparo da curva analítica multielementar em laboratórios de rotina reduz os custos e o trabalho, quando a concentração de todos os elementos é igual em todos os níveis de concentração, a faixa de trabalho definida para todos os elementos foi:  $0,05 - 0,1 - 0,5 - 1 - 2,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

Para as curvas analíticas preparadas para As, Cd, Pb e Hg, o teste de Brown-Forsythe demonstrou homocedasticidade. A ANOVA da regressão e o teste de desvio de linearidade comprovaram que a regressão é significativa e que não houve

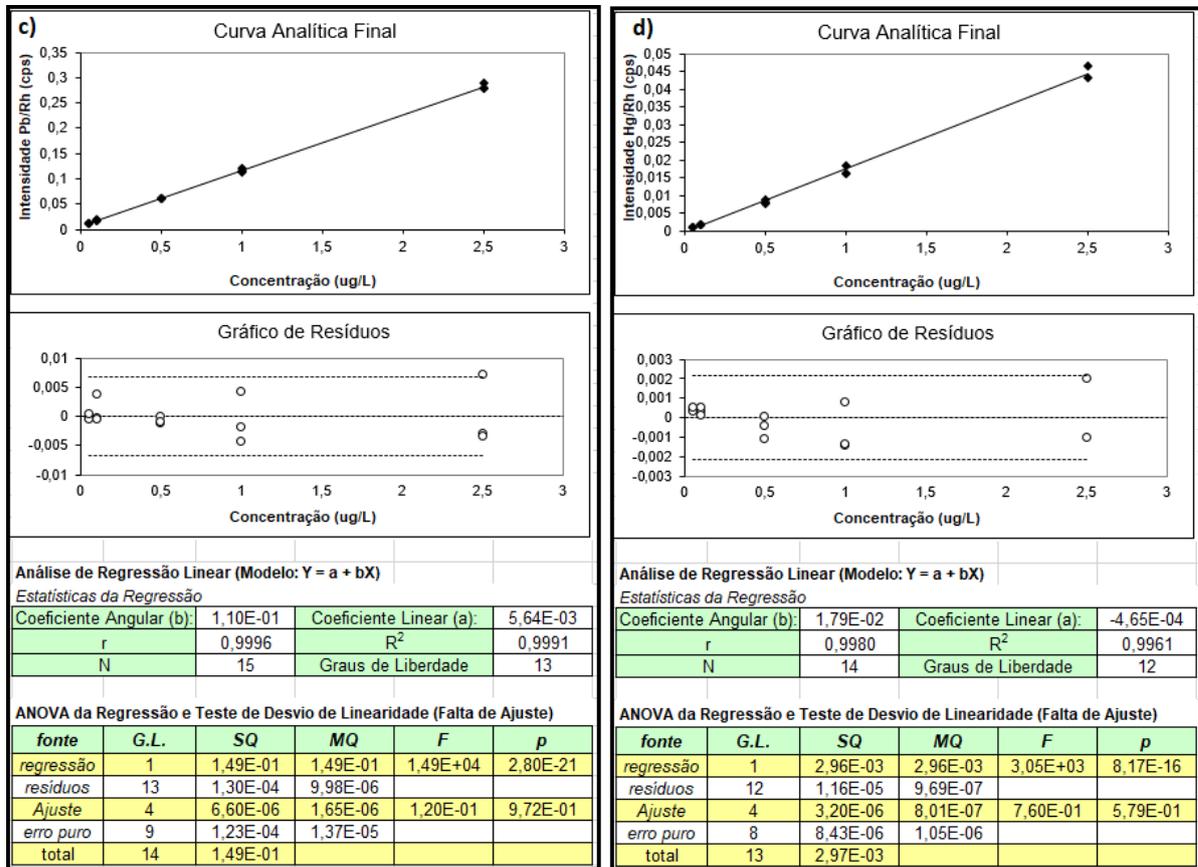
desvio de linearidade. Além disso, não houve autocorreção dos resíduos segundo o teste de Durbin-Watson e através do teste de Ryan-Joiner pode-se dizer que os dados seguiram a distribuição normal.

Figura 5 – Faixa linear de trabalho das curvas analíticas, gráfico de resíduos, estatísticas da regressão, ANOVA da regressão e teste de desvio de linearidade: a) dados do As; b) dados do Cd



Fonte: Do autor, 2020.

Figura 6 – Faixa linear de trabalho das curvas analíticas, gráfico de resíduos, estatísticas da regressão, ANOVA da regressão e teste de desvio de linearidade: c) dados do Pb; d) dados do Hg



Fonte: Do autor, 2020.

#### 4.3.4 Precisão e Exatidão

Segundo o Inmetro (2020) para avaliação da precisão e da exatidão de uma metodologia analítica deve-se utilizar MRC e quando não se tem esse material disponível, esses parâmetros de validação podem ser avaliados pelo estudo da recuperação por meio da análise de soluções-amostra com adição de pelo menos três níveis diferentes de concentração do analito (INMETRO, 2020). No presente estudo a eficiência da metodologia foi avaliada utilizando o MRC Nist 955C e uma solução-amostra com adição de padrão em apenas um nível de concentração de  $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de Pb, Cd, As e Hg. As Tabelas 5 e 6 apresentam os resultados obtidos para a exatidão e a precisão (%DPR) do método obtidos usando MRC e adição de padrão, respectivamente.

Tabela 5 – Exatidão e precisão do método usando MRC Nist 955C, desvio padrão relativo (n = 3)

	Valor Certificado ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Valor encontrado ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Recuperação (%)	DPR (%)
<b>As</b>	77,5	85,8	111	5
<b>Cd</b>	9,85	6,4	65	8
<b>Pb</b>	455,3	418,1	92	6
<b>Hg</b>	33,9	34,4	101	9

Fonte: Do autor, 2020.

Tabela 6 – Resultados obtidos para amostra de sangue com adição de As, Cd, Pb e Hg a  $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$  analisada por ICP-MS, exatidão e precisão do método expressas pelo ensaio de adição de padrão e desvio padrão relativo (n = 3)

	Valor adicionado ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Valor encontrado ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Recuperação (%)	DPR (%)
<b>As</b>	0,50	0,60	119	3
<b>Cd</b>	0,50	0,49	98	7
<b>Pb</b>	0,50	0,60	120	15
<b>Hg</b>	0,50	0,60	120	1

Fonte: Do autor, 2020.

Os resultados obtidos para a exatidão do método estão dentro da faixa aceitável (40-120%), relacionada ao nível de concentração de trabalho (INMETRO, 2020).

#### 4.3.5 Incerteza do método

Utilizando o diagrama de causa x efeito para a determinação quantitativa de cada um dos analitos, foi possível plotar os diagramas apresentados na Figura 7. Os cálculos foram realizados utilizando as planilhas de cálculo de incerteza (INCQS, 2018), e estão representadas pelos APÊNDICES E, F, G e H.

Observou-se que o fator que mais influencia o aumento do valor de incerteza é o preparo dos padrões 1 e 2, que correspondem às concentrações de  $0,05$  e  $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente. Isto acontece devido ao valor de incerteza das pipetas

automáticas e à concentração inicial dos padrões utilizados, que torna necessária uma série de diluições, magnificando assim o erro da medida. À medida que a faixa de trabalho torna-se mais baixa, a dificuldade de medição aumenta, visto que os erros de medidas dos instrumentos passam a ter um peso maior, dessa forma, é comum encontrar valores de incerteza mais altos ao se trabalhar em níveis de  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Ulrich *et al.* (2006) estimaram a incerteza em amostras biológicas para As, Cd, Pb e Hg em 74, 58, 30 e 50%, respectivamente.

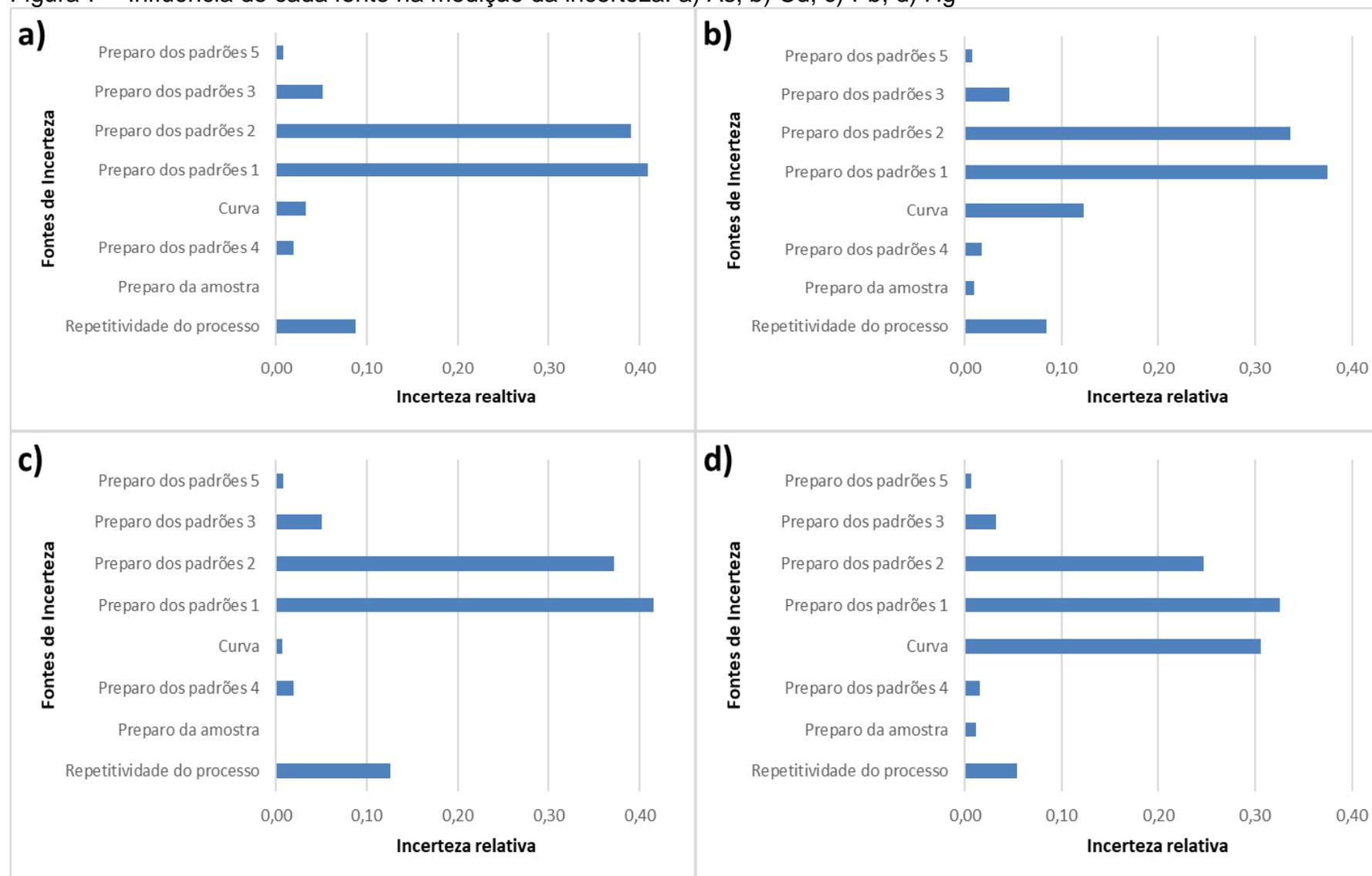
As ações sugeridas para minimizar essa fonte de erro, seriam a utilização de solução padrão inicial de menor concentração, para que não haja necessidade de múltiplas diluições, e a escolha de pipetas certificadas com menores valores de incerteza. A Tabela 7 apresenta os resultados da incerteza padrão expandida para as determinações de cada um dos quatro analitos.

Tabela 7 – Incerteza padrão expandida calculada para As, Cd, Pb e Hg.

<b>Elemento</b>	<b>Incerteza Padrão Expandida (%)</b>
<b>As</b>	22
<b>Cd</b>	24
<b>Pb</b>	23
<b>Hg</b>	35

Fonte: Do autor, 2020.

Figura 7 – Influência de cada fonte na medição da incerteza: a) As; b) Cd; c) Pb; d) Hg



Fonte: Do autor, 2020.

#### 4.4 Determinação de As, Cd, Pb e Hg na biomonitorização humana

A metodologia analítica validada foi aplicada para analisar as amostras provenientes do projeto PIPA. Embora esses resultados já tenham sido publicados, estão sendo apresentados aqui de modo a ilustrar o uso da metodologia analítica validada.

Dos 135 nascimentos que aconteceram no período do estudo, foram analisadas 118 amostras de sangue materno (gestante) e 123 amostras de sangue de cordão umbilical, totalizando 241 amostras. Os motivos por que nem todas as amostras foram analisadas foram relacionados a perda durante o transporte ou armazenamento, problemas de coagulação e quantidade insuficiente de amostra. Na Tabela 8 estão apresentados os resultados de todas as amostras analisadas.

Tabela 8 – Teores de As, Cd, Pb e Hg em  $\mu\text{g.L}^{-1}$  obtidos por ICP-MS em sangue materno (gestante) (n = 118) e cordões umbilicais (n = 123) (continua)

Identificação	As		Cd		Pb		Hg	
	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão
<b>Mãe 001</b>	8,46	8,66	0,75	0,56	16,67	17,75	2,26	5,50
<b>Mãe 002</b>	9,44	8,39	0,72	0,95	26,05	32,99	1,77	3,90
<b>Mãe 003</b>	9,90	8,05	1,42	1,62	128,30	109,00	6,57	6,38
<b>Mãe 004</b>	6,89	13,30	1,93	2,11	27,68	26,47	1,40	1,37
<b>Mãe 005</b>	8,94	8,19	0,78	0,81	11,06	50,79	2,15	3,31
<b>Mãe 006</b>	9,95	8,69	0,68	0,81	61,61	54,48	2,12	3,72
<b>Mãe 007</b>	11,24	11,40	1,48	1,20	58,09	130,71	2,00	2,83
<b>Mãe 008</b>	7,56	7,70	0,49	0,74	33,91	55,56	7,31	3,80
<b>Mãe 010</b>	11,15	8,36	0,64	0,57	42,97	44,53	10,50	2,11
<b>Mãe 011</b>	11,21	10,32	0,25	0,29	33,46	27,84	3,06	3,74
<b>Mãe 012</b>	10,18	10,53	1,47	0,45	27,24	31,24	0,38	0,54
<b>Mãe 013</b>	10,27	9,57	0,51	0,72	19,94	23,95	0,48	0,37
<b>Mãe 014</b>	12,45	10,58	0,63	0,72	52,30	40,99	7,89	2,15
<b>Mãe 016</b>	11,32	11,19	0,04	0,51	20,57	45,63	7,38	4,38
<b>Mãe 018</b>	11,47	10,30	0,72	0,86	64,61	38,19	6,70	2,64
<b>Mãe 019</b>	11,04	9,59	0,83	0,33	50,79	29,19	4,89	5,61
<b>Mãe 020</b>	8,68	7,64	0,57	0,54	31,88	42,94	2,81	4,76
<b>*</b>	-	7,83	-	0,97	-	52,55	-	6,28
<b>Mãe 021</b>	7,86	6,05	0,88	0,78	59,37	42,79	4,89	4,43
<b>Mãe 022</b>	8,76	9,09	0,58	0,51	48,91	43,10	2,19	2,16
<b>Mãe 023</b>	8,24	13,43	0,50	2,26	63,87	84,25	2,77	2,75
<b>Mãe 024</b>	11,53	9,15	0,13	0,05	44,16	39,44	0,78	0,84
<b>Mãe 026</b>	0,33	8,12	0,20	0,36	28,16	32,86	0,40	1,07
<b>Mãe 027</b>	9,29	8,66	0,02	0,35	70,28	113,73	0,87	2,24
<b>Mãe 028</b>	9,42	11,02	0,30	0,22	41,24	24,89	1,00	1,27

Tabela 8 – Teores de As, Cd, Pb e Hg em  $\mu\text{g.L}^{-1}$  obtidos por ICP-MS em sangue materno (gestante) (n = 118) e cordões umbilicais (n = 123) (continuação)

Identificação	As		Cd		Pb		Hg	
	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão
<b>Mãe 030</b>	8,94	8,74	0,30	0,04	14,79	39,22	0,71	0,66
<b>Mãe 031</b>	9,38	8,16	0,30	0,32	41,38	15,73	0,67	0,61
<b>Mãe 032</b>	8,93	8,65	0,03	0,96	21,67	22,74	0,51	1,22
<b>Mãe 033</b>	10,16	10,65	0,30	0,98	34,05	32,40	1,25	1,30
<b>Mãe 035</b>	8,79	8,42	0,03	0,29	22,70	24,83	0,54	1,05
<b>Mãe 036</b>	9,98	12,47	0,33	0,30	43,17	28,16	1,04	0,69
<b>Mãe 037</b>	9,53	9,63	0,04	0,26	30,58	49,26	0,63	0,71
<b>Mãe 038</b>	9,23	10,83	0,34	0,55	26,21	22,57	0,42	1,31
<b>Mãe 039</b>	8,43	6,86	0,44	0,29	37,06	28,81	0,49	0,71
<b>Mãe 040</b>	9,70	10,21	0,01	0,30	23,36	22,90	0,43	0,51
<b>Mãe 041</b>	11,79	10,88	0,07	0,01	23,69	16,88	0,67	0,56
<b>Mãe 042</b>	11,80	12,56	0,35	0,02	34,42	44,68	0,83	0,91
<b>Mãe 043</b>	11,58	11,44	0,08	0,01	24,62	23,28	0,52	0,53
<b>Mãe 044</b>	11,78	11,59	0,37	0,35	22,64	23,89	0,45	0,42
<b>Mãe 047</b>	12,94	11,87	0,35	0,04	29,05	27,96	0,87	0,90
<b>Mãe 050</b>	12,08	12,01	0,13	0,21	37,12	35,53	0,44	0,52
<b>Mãe 051</b>	12,49	11,62	0,14	0,13	21,51	20,66	0,67	0,99
<b>Mãe 052</b>	11,13	11,93	0,02	0,17	22,43	23,54	0,84	1,06
<b>Mãe 053</b>	12,09	11,21	0,11	0,27	19,57	24,13	0,94	0,46
<b>Mãe 054</b>	10,76	11,97	0,41	0,60	23,77	29,67	0,58	0,62
<b>Mãe 055</b>	15,94	11,02	0,25	0,21	19,40	18,17	0,42	0,45
<b>Mãe 056</b>	11,65	11,68	0,20	0,27	21,59	20,29	0,41	0,51
<b>Mãe 057</b>	11,81	11,94	0,18	0,43	18,53	28,72	0,33	0,35
<b>Mãe 058</b>	11,80	11,71	0,38	0,37	25,59	25,56	0,57	0,70
<b>Mãe 059</b>	36,48	19,94	9,97	4,88	124,11	145,28	3,46	1,30
<b>Mãe 060</b>	12,26	13,27	1,12	2,08	24,50	31,30	0,50	0,63
<b>Mãe 061</b>	12,86	12,52	1,75	1,83	27,77	28,98	0,54	0,56
<b>Mãe 062</b>	10,13	10,24	0,25	0,32	18,55	33,56	0,69	0,59
<b>Mãe 063</b>	10,69	10,02	0,28	0,32	16,44	19,61	1,65	2,16
<b>Mãe 064</b>	9,89	9,92	0,30	0,33	22,45	31,15	0,72	0,89
<b>Mãe 065</b>	9,60	9,71	0,22	0,31	14,34	23,45	0,72	0,71
<b>Mãe 066</b>	9,79	9,86	0,35	0,34	20,25	20,65	0,70	0,70
<b>Mãe 067</b>	11,63	10,99	0,25	0,34	19,14	31,12	1,16	1,21
<b>Mãe 069</b>	9,31	8,11	0,19	0,20	21,28	22,86	0,67	0,82
<b>Mãe 070</b>	8,30	8,99	0,08	0,08	13,18	24,98	0,60	0,75
<b>Mãe 071</b>	8,56	8,84	0,08	0,42	20,30	14,28	0,65	0,93
<b>Mãe 072</b>	10,48	10,28	0,30	0,27	25,33	23,94	0,79	1,31
<b>Mãe 073</b>	10,63	10,34	0,30	0,28	30,18	24,17	0,65	0,66
<b>Mãe 074</b>	11,20	10,09	2,09	0,87	54,35	22,11	1,41	1,71
<b>*</b>	-	12,45	-	2,48	-	146,72	-	1,63
<b>Mãe 075</b>	7,11	9,44	1,93	1,67	50,32	39,61	13,32	1,17
<b>Mãe 076</b>	6,69	5,77	1,65	1,34	65,73	65,79	1,48	6,31

Tabela 8 –Teores de As, Cd, Pb e Hg em  $\mu\text{g.L}^{-1}$  obtidos por ICP-MS em sangue materno (gestante) (n = 118) e cordões umbilicais (n = 123) (continuação)

Identificação	As		Cd		Pb		Hg	
	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão
Mãe 077	6,11	14,62	2,97	7,35	39,17	36,92	0,90	2,35
Mãe 078	8,48	10,97	2,81	1,22	52,20	38,28	1,05	1,12
Mãe 079	6,19	5,90	1,08	0,36	48,27	33,17	0,57	0,54
Mãe 080	5,72	6,15	0,26	0,16	33,96	30,12	0,80	1,11
Mãe 082	4,87	5,06	0,12	0,37	34,91	39,49	0,78	0,79
Mãe 084	4,51	6,08	0,34	0,87	29,82	47,89	0,58	2,20
Mãe 085	5,84	5,42	0,38	0,32	52,27	33,68	0,76	0,71
Mãe 086	7,02	7,05	0,13	0,05	58,08	29,82	0,68	0,76
Mãe 087	17,97	9,94	9,28	2,79	74,50	54,35	1,44	1,15
	-	8,23	-	1,59	-	53,71	-	0,87
Mãe 088	28,40	7,65	13,73	0,84	146,45	56,94	3,63	0,87
Mãe 089	5,47	4,89	0,26	0,15	29,28	36,33	0,83	0,53
Mãe 090	4,36	5,17	0,02	0,07	41,49	57,89	0,52	0,59
*	-	5,45	-	0,08	-	51,02	-	0,58
Mãe 094	13,70	13,45	0,68	0,18	64,50	67,59	6,19	5,10
Mãe 096	13,37	12,86	3,37	3,56	39,89	33,24	0,70	0,72
Mãe 097	11,41	13,04	2,32	3,95	25,22	27,72	0,62	0,80
Mãe 098	11,31	12,83	1,94	0,38	19,57	34,72	0,56	0,68
*	-	11,81	-	0,25	-	36,44	-	0,63
Mãe 100	9,86	8,51	0,23	0,03	36,88	34,03	0,70	0,73
Mãe 102	8,80	16,14	0,00	1,11	20,17	64,39	0,41	0,82
Mãe 105	14,00	9,24	0,74	0,14	46,03	33,30	0,85	0,86
Mãe 106	3,61	12,82	0,24	0,87	20,69	35,82	0,58	0,99
Mãe 107	11,81	16,30	0,99	1,83	54,77	53,02	1,01	1,45
Mãe 108	12,10	11,18	0,37	0,45	43,47	31,23	0,55	0,68
Mãe 109	12,65	12,28	0,92	0,67	58,11	35,70	0,95	0,74
Mãe 110	6,50	8,34	1,11	0,22	74,37	47,32	0,56	1,12
Mãe 111	5,54	5,06	0,08	0,09	46,88	40,45	0,90	1,32
Mãe 112	5,76	6,70	0,72	0,44	71,10	51,06	2,45	2,60
Mãe 113	4,65	5,47	0,02	0,02	57,67	38,57	0,72	1,98
Mãe 114	10,32	4,96	2,34	0,19	152,61	41,17	3,38	0,66
Mãe 116	13,42	14,18	0,47	16,90	53,56	56,88	0,53	2,62
Mãe 117	12,51	12,78	22,43	13,74	73,21	40,91	3,36	2,24
Mãe 118	19,78	15,75	6,69	4,65	50,33	34,43	1,42	1,30
Mãe 119	13,86	12,36	13,40	17,41	63,42	67,80	3,13	4,05
Mãe 120	15,00	15,85	1,37	0,68	75,27	45,14	1,03	0,96
Mãe 121	15,90	15,66	0,80	0,71	62,87	66,89	2,52	2,98
Mãe 122	15,39	14,68	0,72	0,59	43,83	39,21	0,59	0,78
Mãe 124	15,36	15,62	0,97	0,75	118,49	142,41	0,69	0,76
Mãe 125	13,80	14,59	0,67	0,76	58,88	39,80	0,67	0,83
Mãe 126	14,97	14,76	0,74	0,03	55,53	75,68	0,50	0,68
Mãe 127	13,67	15,64	0,02	1,07	55,97	48,07	0,78	1,01
Mãe 128	14,75	15,26	0,73	0,81	46,37	50,89	1,41	0,86

Tabela 8 – Teores de As, Cd, Pb e Hg em  $\mu\text{g.L}^{-1}$  obtidos por ICP-MS em sangue materno (gestante) (n = 118) e cordões umbilicais (n = 123) (conclusão)

Identificação	As		Cd		Pb		Hg	
	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão
<b>Mãe 129</b>	17,47	14,78	0,16	0,37	44,13	160,26	0,97	0,74
<b>Mãe 130</b>	14,90	13,71	0,99	0,79	45,01	61,20	0,68	1,05
<b>Mãe 131</b>	15,79	14,73	0,64	0,56	43,82	53,46	1,02	0,45
<b>Mãe 132</b>	13,94	11,59	0,53	0,90	42,00	69,19	0,58	1,47
<b>Mãe 133</b>	13,02	13,86	0,37	0,10	35,77	45,22	0,45	0,57
<b>Mãe 134</b>	15,00	14,05	0,06	0,29	27,55	35,13	0,36	0,42
<b>Mãe 135</b>	15,92	16,20	0,36	0,37	49,81	42,30	0,65	0,95
<b>Mãe 136</b>	18,31	14,27	0,06	0,13	45,62	48,56	0,40	0,42
<b>Mãe 137</b>	14,57	14,78	0,16	0,00	37,45	41,53	0,44	0,47
<b>Mãe 138</b>	18,65	17,60	0,15	0,12	56,40	40,00	0,39	0,55
<b>Mãe 139</b>	12,16	11,87	0,47	0,45	54,63	39,95	1,15	1,02
<b>Mãe 140</b>	12,81	10,71	0,53	0,43	51,73	61,14	0,47	1,29
<b>Mãe 141</b>	9,98	9,89	0,19	0,07	35,21	50,21	0,61	1,24

\*Valores correspondem a amostra de cordão umbilical do gemelar.

Fonte: Do autor, 2020.

De maneira geral, os teores de As, Cd, Pb e Hg encontrados nas amostras de cordão umbilical acompanham os níveis do sangue materno (gestante). Níveis de Pb acima de  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$  foram encontradas em 12 amostras, sendo cinco de sangue e sete de cordão umbilical (aproximadamente 5% do total). Em duas amostras de sangue materno, os valores de As foram acima de  $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Cinco amostras de sangue e quatro de cordão umbilical, apresentaram valores próximos a  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$  para Cd. Enquanto para Hg, oito amostras de sangue e seis de cordão umbilical, apresentaram valores acima de  $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Na Tabela 9 estão apresentadas as médias, medianas referentes as amostras de sangue (gestante) e cordão umbilical analisadas.

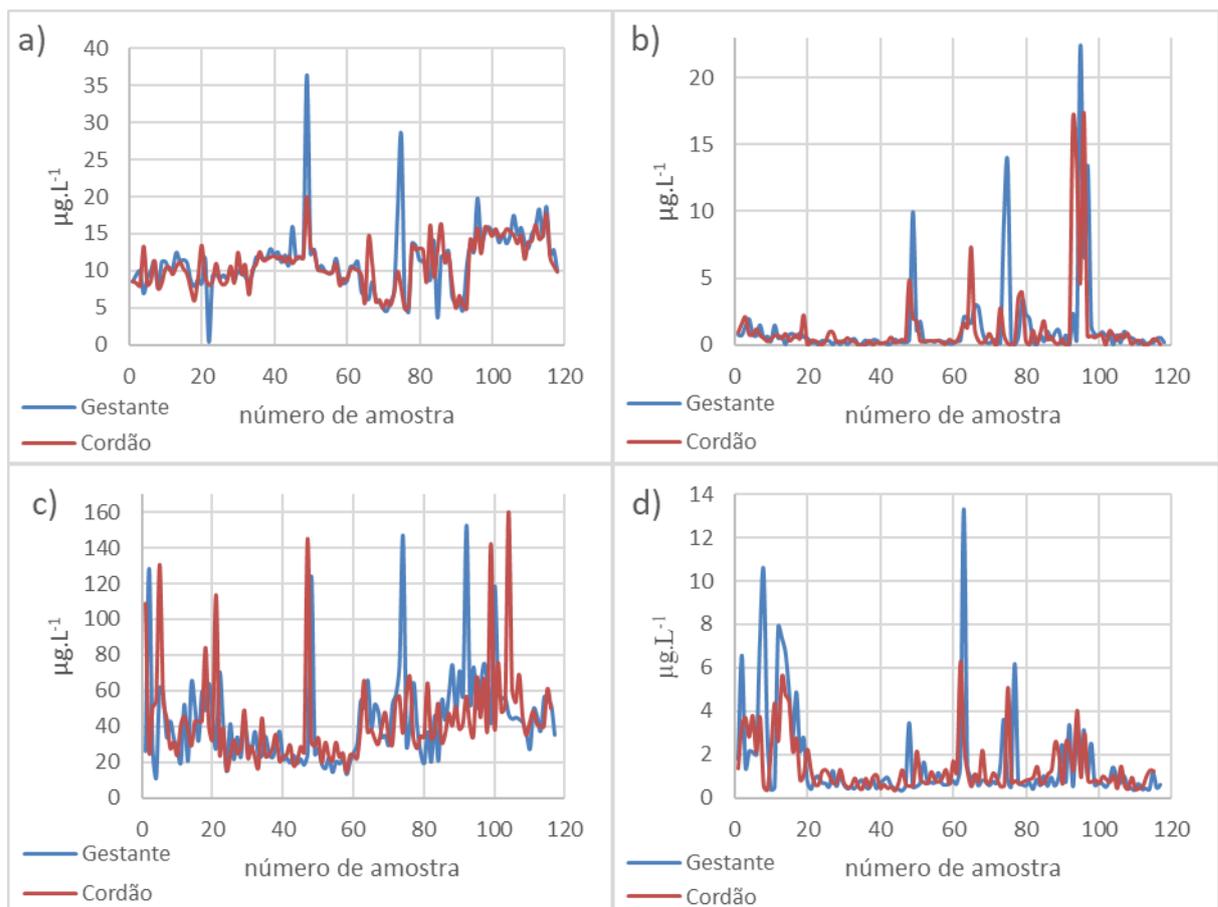
Tabela 9 – Média, mediana, valores mínimo e máximo de As, Cd, Pb e Hg em  $\mu\text{g.L}^{-1}$  obtidos por ICP-MS em sangue materno (n = 118) e cordões umbilicais (n = 123)

	As		Cd		Pb		Hg	
	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão	Gestante	Cordão
<i>média (<math>\mu\text{g.L}</math>)</i>	11,1	10,8	1,2	1,1	43,0	43,9	1,6	1,5
<i>mediana (<math>\mu\text{g.L}</math>)</i>	11,1	10,7	0,4	0,4	38,3	38,2	0,7	0,9
<i>Mínimo (<math>\mu\text{g.L}</math>)</i>	0,3	4,9	<LOQ	0,0	11,1	14,3	0,3	0,3
<i>Máximo (<math>\mu\text{g.L}</math>)</i>	36,5	19,9	22,4	17,4	152,6	160,3	13,3	6,4

Fonte: Do autor, 2020.

A comparação entre os teores de cada analito nas amostras de sangue materno (gestantes) e seus respectivos cordões umbilicais está representada na Figura 8. Nota-se, com algumas exceções, que o teor dos analitos no sangue dos cordões umbilicais, acompanha o teor do sangue materno, ou seja, quanto maior o nível sérico do elemento na gestante, maior é o do cordão umbilical. Em resumo, o presente estudo fornece dados informativos de biomonitoramento que revelam uma exposição a contaminantes inorgânicos, principalmente o Pb, em gestantes não expostas ocupacionalmente e seus recém-nascidos, que pode comprometer a saúde de ambos.

Figura 8 – Comparação entre os teores encontrados para a população de gestantes e seus cordões umbilicais: a) As; b) Cd; c) Pb; d) Hg



Fonte: Do autor, 2020.

Neste estudo foi observada concentração média de  $1,1 \mu\text{g.L}^{-1}$  de Cd,  $43 \mu\text{g.L}^{-1}$  de Pb,  $11 \mu\text{g.L}^{-1}$  de As e  $1,5 \mu\text{g.L}^{-1}$  de Hg, semelhante aos resultados encontrados

por Costa (2015) que também avaliou amostras de sangue na população da cidade do RJ e encontrou  $46 \mu\text{g.L}^{-1}$  para Pb e  $0,64 \mu\text{g.L}^{-1}$  para Cd, e aos resultados de Pb obtidos por Kuno (2009), com valor de referência de  $46 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Já quando se comparou com estudo realizado por Kira em 2014, que estudou amostras de sangue da população da cidade de São Paulo observou-se que para as mulheres com mais de 20 anos, os valores foram  $0,6 \mu\text{g.L}^{-1}$  para Cd,  $31,1 \mu\text{g.L}^{-1}$  para Pb e  $3,2 \mu\text{g.L}^{-1}$  para Hg.

O único documento nacional que aborda valores máximos dos elementos em amostra biológica é a Norma Regulamentadora nº 7 (NR 7), porém estes parâmetros são aplicáveis apenas para exposições ocupacionais. Segundo a norma, para avaliação de As, Cd e Hg o indicador biológico recomendado é a urina, portanto os valores não podem ser comparados com os obtidos neste estudo. Já para o Pb, o limite máximo é de  $600 \mu\text{g.L}^{-1}$  em sangue e sendo assim, todas as amostras deste estudo apresentaram teores de Pb abaixo deste valor. Estudos realizados nos Estados Unidos mostraram que o nível de Pb em sangue diminuiu nas últimas décadas, em função da remoção do Pb da gasolina e restrições de seu uso em tintas residenciais, chegando a níveis de  $9,2 \mu\text{g.L}^{-1}$  em adultos e  $7,6 \mu\text{g.L}^{-1}$  em crianças (ATSDR, 2019). Embora o Brasil tenha sido um dos primeiros países a diminuir o nível de Pb nos combustíveis, ainda existe uma lacuna de infraestrutura e saneamento básico que pode contribuir para a manutenção desses níveis de Pb.

Em estudo de avaliação de risco realizado em Manguinhos, Rio de Janeiro, 5% das amostras de sangue apresentaram valores acima de  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$  e 40%, acima de  $60 \mu\text{g.L}^{-1}$ , comprovando que o ambiente e outras fontes, como solo contaminado, poeira, pinturas antigas de residência, ar contaminado por exaustão dos automóveis e emissões industriais produzem uma exposição adicional aos elementos tóxicos (MATTOS, 2009). As baterias de automóveis armazenadas que não são recicladas também são fonte de Pb no lixo urbano. Quiterio *et al.* (2006) comprovaram em seu trabalho que o entorno de uma reformadora de baterias contém níveis elevados de Pb, sendo necessária a implementação de medidas que melhorem os processos de produção, como instalação de sistemas adequados de exaustão. A ATSDR (2019) indica que efeitos adversos do chumbo (neurológico, renal, cardiovascular, hematológico, reprodutivo e de desenvolvimento) podem ser percebidos em níveis inferiores a  $50 \mu\text{g.L}^{-1}$  e dessa forma, não há como estabelecer um valor de segurança para esse elemento. Observa-se que o valor para o teor de

chumbo na população estudada é um dado preocupante que deve ser considerado pois valores elevados de até  $152,6 \mu\text{g.L}^{-1}$  foram encontrados.

Para o arsênio, segundo a ATSDR (2007) os valores típicos de indivíduos expostos ambientalmente estão abaixo de  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ , para os indivíduos que consomem medicamentos que contém As os valores ficam entre  $100\text{-}250 \mu\text{g.L}^{-1}$ , enquanto casos agudos e fatais podem ser maiores que  $1.000 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Dessa forma, os resultados encontrados não estão de fato dentro dos limites estabelecidos para exposição ambiental pela ATSDR como também não estão altos o suficiente para as outras classificações. Os valores encontrados podem ter relação com a exposição a alguma fonte que contenha este elemento, por exemplo, o frequente consumo de alimentos contaminados com As, como o arroz (SILVA, 2014).

Já no estudo desenvolvido por Moffat *et al.* citado por Carvalhosa (2016) foram atribuídos como normais, valores de As com concentração até  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$  em sangue. Considerando essa referência, todas as amostras analisadas estão em média dentro da faixa de concentração considerada normal.

A média de concentração de Cd no sangue é de  $0,5\text{-}1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$  em não fumantes. O fumante, pode ter um acréscimo de 1 a  $3 \mu\text{g.L}^{-1}$  para cada maço de cigarro consumido (ATSDR, 2012). Nos alimentos, a presença de Cd está relacionada ao uso de fertilizantes fosfatados, descarga de esgoto em terras de cultivo, utilização de utensílios galvanizados ou com revestimentos com Cd no processamento e preparação dos alimentos, louças pigmentadas com Cd, e a presença em estabilizantes de plásticos usados como recipientes (ATSDR, 2012).

Segundo a OMS, o valor de referência estabelecido para Hg total em sangue é de  $8 \mu\text{g.L}^{-1}$ . No presente estudo apenas duas amostras de sangue apresentaram valores superiores ao estabelecido. O padrão alimentar pode ser a justificativa destes valores, visto que a principal fonte de contaminação por Hg é a alimentação, sobretudo pelo consumo de peixe. O estudo realizado por Kehrig e Malm (2011), comprovou que o fator de bioconcentração da baía de Guanabara, que no Rio de Janeiro é um dos principais ecossistemas costeiros produtivos, aumentou sucessivamente com o nível trófico, o que suporta o fato que o MeHg foi progressivamente acumulado, apontando que o processo de biomagnificação está ocorrendo ao longo da cadeia trófica aquática.

Araujo (2018), em sua dissertação de mestrado e em seu artigo publicado (2020), e Damasceno (2020) utilizaram os dados obtidos pelo presente estudo para

avaliação em relação a idade, classe social, grau de escolaridade, hábitos alimentares, bem como a interrelação dos elementos analisados, além de outras informações relevantes que podem ser observadas nos estudos.

## 5 CONCLUSÃO

Pelo estudo realizado, o método de preparo de amostra de sangue por digestão ácida em banho-maria mostrou-se eficiente e pode ser utilizado em substituição ao método convencional de preparo por micro-ondas, proporcionando um ganho em quantidade de amostras a serem preparadas em cada batelada. A metodologia otimizada mostrou-se apta para determinar As, Cd, Pb e Hg em sangue como observado pelos parâmetros de validação estudados. A população estudada pelo projeto PIPA, gestantes da cidade do Rio de Janeiro, não apresentou teores de As, Cd, Pb e Hg em suas amostras de sangue e de cordão umbilical que pudessem caracterizar uma contaminação aguda ou crônica em comparação com a literatura pesquisada. Os dados resultantes do presente estudo podem auxiliar o estabelecimento de valores de referência de sangue numa população exposta ambientalmente e contribuir para estudos de biomonitoramento.

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO/IEC 17025/2017**: requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2017.
- ABRELPE. Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. **Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil 2018/2019**. São Paulo, 2019. Disponível em: <http://abrelpe.org.br/panorama/>. Acesso em: 24 maio 2020.
- Al-SALEH, I. *et al.* **Heavy Metals (lead, cadmium and mercury) in maternal, cord blood and placenta of healthy women**. International Journal of Hygiene and Environmental Health 214, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21093366/>. Acesso em: 24 maio 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC Nº 42, de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: Brasília: ANVISA, 2013. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0042\\_29\\_08\\_2013.pdf/c5a17d2d-a415-4330-90db-66b3f35d9fbd](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0042_29_08_2013.pdf/c5a17d2d-a415-4330-90db-66b3f35d9fbd). Acesso em: 24 maio 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). RDC Nº 193, de 13 de dezembro de 2017. Estabelece os Limites Máximos Tolerados (LMT) dos contaminantes arsênio inorgânico, cádmio total, chumbo total e estanho inorgânico em alimentos infantis, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: Brasília: ANVISA, 2017. Disponível em: [http://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/994292/do1-2017-12-13-resolucao-rdc-n-193-de-12-de-dezembro-de-2017-994288](http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/994292/do1-2017-12-13-resolucao-rdc-n-193-de-12-de-dezembro-de-2017-994288). Acesso em: 24 maio 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC Nº 274, de 22 de setembro de 2005. Aprova o "REGULAMENTO TÉCNICO PARA ÁGUAS ENVASADAS E GELO". **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: Brasília: ANVISA, 2005. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC\\_274\\_2005.pdf/19d98e61-fa3b-41df-9342-67e0167bf550](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_274_2005.pdf/19d98e61-fa3b-41df-9342-67e0167bf550). Acesso em: 24 maio 2020.
- ARAUJO, M. S. A. **Exposição materno-fetal a metais de interesse a saúde pública em área urbana**. 2018. 100 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Estudos em Saúde Coletiva, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <http://pipaufRJ.me.ufrj.br/pt/publicacoes/>. Acesso em: 24 maio 2020.
- ARAUJO, M. S. A.; FIGUEIREDO, N. D.; CAMARA, V. M.; ASMUS, C. I. R. F. Maternal-child exposure to metals during pregnancy in Rio de Janeiro city, Brazil: The Rio Birth Cohort Study of Environmental Exposure and childhood Development (PIPA Project). **Environmental Research**, Rio de Janeiro, v. 183, abr. 2020. Disponível em: <http://pipaufRJ.me.ufrj.br/pt/publicacoes/>. Acesso em: 24 maio 2020.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (U.S.A.). U.S. Department of Health and Human Services. **Toxicological Profile for Arsenic**. Atlanta: ATSDR, 2007. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=22&tid=3>. Acesso em: 24 maio 2020.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (U.S.A.). U.S. Department of Health and Human Services. **Toxicological profile for cádmium**. Atlanta: ATSDR, 2012. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=48&tid=15>. Acesso em: 24 maio 2020.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (U.S.A.). U.S. Department of Health and Human Services. **Toxicological profile for lead**. Atlanta: ATSDR, 2019. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>. Acesso em: 24 maio 2020.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (U.S.A.). U.S. Department of Health and Human Services. **Toxicological profile for Mercury**. Atlanta: ATSDR, 1999. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.pdf>. Acesso em: 24 maio 2020.

AZEVEDO, A. Da diferença entre os termos perigo e risco. **Direito Net**, fev. 2011.

AZEVEDO, F. A. de; CHASIN, A. A. da M. (org.). **Metais: gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2003.

BASÍLIO, F. S. *et al.* Uso de planilha eletrônica na verificação da adequação de curva analítica ao modelo linear. **Revista Analytica**, São Paulo, v. 10, n. 59, p. 60-67, jun./jul. 2012. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/9141>. Acesso em: 24 maio 2020.

BENRAMDANE, L.; *et al.* Arsenic speciation in human organs following fatal arsenic trioxide poisoning – a case report. **Clinical Chemistry**, v.45, n. 2, p. 301-306, fev. 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9931060/>. Acesso em: 24 maio 2020.

BOUDOU, A.; RIBEYRE, F. Mercury in the food web: accumulation and transfer mechanisms. **Metal Ions in Biological Systems**, v.34, p. 289-319, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9046574/>. Acesso em: 24 maio 2020.

BRASIL. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Lei Orgânica da Saúde. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, set. 1990. Disponível em: [http://conselho.saude.gov.br/legislacao/lei8080\\_190990.htm](http://conselho.saude.gov.br/legislacao/lei8080_190990.htm). Acesso em: 24 maio 2020.

BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Profissional e à Distância. Instituto Federal do Paraná. **Toxicologia**. Curitiba, PR, 2011. Disponível em:

<http://proedu.rnp.br/bitstream/handle/123456789/1438/Toxicologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 24 maio 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC N° 588, de 12 de julho de 2018. Política Nacional de Vigilância em Saúde (PNVS). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: Brasília, DF, 12 jul. 2018. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/vigilancia-em-saude/politica-nacional-de-vigilancia-em-saude>. Acesso em: 24 maio 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Síntese de evidências para políticas de saúde: Reduzindo a emissão do poluente atmosférico: material particulado em benefício da saúde no ambiente urbano. **Ministério da Saúde**: Brasília, DF, 2016. Disponível em: <https://www.saudeesustentabilidade.org.br/publicacao/documento-sintese-de-evidencias-reduzindo-a-emissao-do-poluente-atmosferico-material-particulado-no-ambiente-urbano-em-beneficio-da-saude/>. Acesso em: 24 maio 2020.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento – SNS. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: 24º Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2018**. Brasília: SNS/MDR, 2019. Disponível em: [http://www.snis.gov.br/downloads/diagnosticos/ae/2018/Diagnostico\\_AE2018.pdf](http://www.snis.gov.br/downloads/diagnosticos/ae/2018/Diagnostico_AE2018.pdf). Acesso em: 24 maio 2020.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução N° 491, de 19 de novembro de 2018. Dispões sobre padrões de qualidade do ar. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: Brasília, DF, 19 nov. 2018. Disponível em: [http://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/51058895](http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/51058895). Acesso em: 24 maio 2020.

BRASIL. Ministério do Trabalho. Portaria N° 6734, de 9 de março de 2020. Norma Regulamentadora-7. Programa de controle médico de saúde ocupacional. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: Brasília, DF, 9 mar. 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n-6.734-de-9-de-marco-de-2020-247886194>. Acesso em: 11 jun. 2020.

CARVALHOSA, D. R. **Otimização e validação do método para análise de arsênio em sangue post-mortem por espectrometria de absorção atômica**. 2016. 98 f. Dissertação (Mestrado em Metrologia e Qualidade) - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, Duque de Caxias, 2016. Disponível em: [http://bom.org.br:8080/jspui/bitstream/2050011876/1055/1/2016\\_Carvalhosa.pdf](http://bom.org.br:8080/jspui/bitstream/2050011876/1055/1/2016_Carvalhosa.pdf). Acesso em: 24 maio 2020.

CHEVALLIER, E. *et al.* Simultaneous determination of 31 elements in foodstuffs by ICP-MS after closed-vessel microwave digestion: Method Validatio Based on the Accuracy Profile. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 41, p. 35-41, ago. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S088915751500054X>. Acesso em: 24 maio 2020.

CONCHA, G.; VOGLER, G.; NERMELL, B.; VAHTER, M. Low-Level arsenic excretion in breast milk of native Andean women exposed to high levels of arsenic in drinking water. **International archives of occupational and environmental health**, vol. 71, n.1, p. 42-46, fev. 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9523248/>. Acesso em: 24 maio 2020.

COSTA, L. C. **Avaliação da exposição ao chumbo e cádmio de jovens adultos residentes na região metropolitana do Rio de Janeiro**. 2015. 112 f. Tese (Doutorado)- Escola de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ens-33388>. Acesso em: 24 maio 2020.

DAMAS, G. B.; BERTOLDO, B.; COSTA, L.T. Mercúrio: da antiguidade aos dias atuais. **Rev. Virtual Quim.**, v. 6, n. 4, p. 1010-1020, mar. 2014. Disponível em: <http://rvq-sub.s bq.org.br/index.php/rvq/article/view/608>. Acesso em: 24 maio 2020.

DE FIGUEIREDO, N.D. *et al.* **Metal mixtures in pregnant women and umbilical cord blood at urban populations**. *Environmental Science and Pollutants Research*, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10021-w>. Acesso em 14 jul 2020.

DESCHAMPS, E.; MASCHULLAT, J. (org.). **Arsênio antropogênico e natural: um estudo em regiões do quadrilátero ferrífero**. Belo Horizonte. Ed. Fundação Estadual do Meio Ambiente, 2007

GONÇALVES JUNIOR, A. C.; PESSOA, A.C.S. **Fitodisponibilidade de Cádmio, Chumbo e Crômio, em soja cultivada em argilossolo vermelho eutrófico a partir de adubos comerciais**. *Scientia Agrária*, v.3, n.1-2, p.19-23, 2002. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/agraria/article/view/1026>. Acesso em: 24 maio 2020.

GOYER, R. A. Toxic effects of Metals In: KLAASEN, C.D. Casarett & Doull's **Toxicology. The basic Science of poisons**. 5. ed. New York: Mc. Graw Hill, 1996. p. 691-736.

GRANDJEAN, P.; LANDRIGAN, P. J. Neurobehavioural effects of developmental toxicity. **Lancet Neural**, v. 13, p. 330-338, fev. 2014. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lanneur/article/PIIS1474-4422\(13\)70278-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanneur/article/PIIS1474-4422(13)70278-3/fulltext). Acesso em: 24 maio 2020.

HARRINGTON, C. F., MERSON, S. A., D'SILVA, T. M. Method to reduce memory effect of Mercury in the analysis of fish tissue using inductively coupled plasma mass spectrometer. **Analytica Chimica Acta**, v. 505, n. 2, p. 247-254, mar. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003267003013102>. Acesso em: 24 maio 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. (Brasil). **POP 65.3120.159: decomposição de amostras por micro-ondas**. Rev. 2. Rio de Janeiro: INCQS, 2017a. 4 p. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. (Brasil). **POP 65.3120.009**: descarte de Resíduos Químico-Tóxico e/ou Perigoso. Rev. 0. Rio de Janeiro: INCQS, 2015. 14 p. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. (Brasil). **POP 65.3120.023**: lavagem de material e vidraria utilizados na determinação de elementos inorgânicos. Rev. 5. Rio de Janeiro: INCQS, 2017b. 6 p. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. (Brasil). **POP 65.3120.170**: protocolo de validação e cálculo de incerteza para determinações de elementos inorgânicos por espectrometria. Rev. 2. Rio de Janeiro: INCQS, 2018. 21 p. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. Coordenação Geral de Acreditação. **Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos**. Rev. 08, 2020. Disponível em: [http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc\\_organismos.asp?torgani smo=calibensaio s](http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?torgani smo=calibensaio s). Acesso em: 24 maio 2020.

FIGUEIREDO, A. V. A.; MIRANDA, M. S. Análise de Risco aplicada aos alimentos no Brasil: perspectivas edesafios. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 16, n. 4 p. 2251-2262, 2011. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-81232011000400024&script=sci\\_abstract&tlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-81232011000400024&script=sci_abstract&tlng=pt). Acesso em: 24 maio 2020.

JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES. **Evaluation of certain contaminants in food**: Seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva: WHO Technical Report Series n. 959, 2011a. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44514>. Acesso em: 24 maio 2020.

JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES. **Safety Evaluation of Certain Contaminants in Food**: Seventy third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva: WHO Technical Report Series n. 960, 2011b. Disponível em: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/fbf01686-b940-44c2-a077-1052740ad1c6/>. Acesso em: 24 maio 2020.

JURUENA, M. F. P. Exposição ao chumbo: consequências neuropsiquiátricas e comportamentais. **Medicina**, v. 42, n. 3, p. 296-300, 2009. Disponível em: [http://revista.fmrp.usp.br/2009/vol42n3/Simp4\\_Exposicao\\_chumbo\\_Consequencias\\_Neuropsiquiatricas\\_Comportamentais.pdf](http://revista.fmrp.usp.br/2009/vol42n3/Simp4_Exposicao_chumbo_Consequencias_Neuropsiquiatricas_Comportamentais.pdf). Acesso em: 24 maio 2020.

KEHRIG, H. A.; MALM, O. Bioconcentração e Biomagnificação de Metilmercúrio naBaía de Guanabara, Rio de Janeiro. **Química Nova**, V. 34, n. 3, p. 377-384, 2011. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422011000300003](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422011000300003). Acesso em: 24 maio 2020.

KIRA, C. S. **Determinação de valores de referência para chumbo, cádmio, mercúrio e níquel em sangue de crianças e adultos da cidade de São Paulo.**

2014. 223 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5137/tde-22092014-151937/pt-br.php>. Acesso em: 24 maio 2020.

KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. Ed. SQB – Sociedade Brasileira de Química, 2016

KUNO, R. **Valores de Referência para chumbo, cádmio e mercúrio em população adulta da Região Metropolitana de São Paulo**. 2009. 185 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5137/tde-03062009-095040/pt-br.php>. Acesso em: 24 maio 2020.

LUGO, G.; CASSADY, G.; PALMISANO, P. Acute maternal arsenic intoxication with neonatal death. **American Journal of Disease of Children**, v. 117, p. 328-330, 1969. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5765153/>. Acesso em: 24 maio 2020.

MACAROVSHA, G. T. **Determinação de elementos metálicos em nutrição enteral**. 2011. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, 2011. Disponível em: [http://taurus.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/249405/1/Macarovscha\\_GreiceTrevisan\\_D.pdf](http://taurus.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/249405/1/Macarovscha_GreiceTrevisan_D.pdf). Acesso em: 24 maio 2020.

MACHADO, L. L. **Cádmio, chumbo e mercúrio em medicamentos fitoterápicos**. 2001. 160 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)– Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2001. Disponível em: <https://www.toxicologia.unb.br/admin/ckeditor/kcfinder/upload/files/disserta%E7%E3o%20Leonardo.pdf>. Acesso em: 24 maio 2020.

MAGNUSSON, B.; ÖRNEMARK, U. (ed.). **Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics**. 2 ed., 2014. Disponível em: <https://eurachem.org/index.php/publications/guides/mv>. Acesso em: 24 maio 2020.

MATTOS, R. de C. O. C. *et al.* Avaliação dos Fatores de Risco Relacionados à Exposição ao Chumbo em Crianças e Adolescentes do Rio de Janeiro. **Ciências e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 6, p. 2039-2048, dez. 2009. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-81232009000600011](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232009000600011). Acesso em: 24 maio 2020.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. Secretaria de Geologia, Mineração e Transformação Mineral. **Relatório técnico 66: perfil do chumbo**. Brasília, 2009. Disponível em: [http://www.mme.gov.br/documents/36108/449811/P40\\_RT66\\_Perfil\\_do\\_Chumbo.pdf/6e12ba07-be43-332d-7f94-bf43181c0d06?version=1.0](http://www.mme.gov.br/documents/36108/449811/P40_RT66_Perfil_do_Chumbo.pdf/6e12ba07-be43-332d-7f94-bf43181c0d06?version=1.0). Acesso em: 25 maio 2020.

MOFFAT A.C., *et al.* **Clarke's analysis of drug and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material**. 3. ed. London, Chicago: Pharmaceutical Press. 2004.

MONTASER, A. **Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**. Nova York: Ed. Wiley-VCH, 1998.

MOREIRA, J. C.; MOREIRA, F.R. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 1, p. 167-181, 2004. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-81232004000100017&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-81232004000100017&script=sci_arttext). Acesso em: 24 maio 2020.

NUNES, J. A. **Desenvolvimento de método para determinação de Ag, As, Cd, Co, Mn, Pb, e Se em sangue por espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) utilizando diluição das amostras em meio alcalino**. 2009. Dissertação (Mestrado em toxicologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60134/tde-25082009-143632/pt-br.php>. Acesso em: 24 maio 2020.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. Environmental Directorate. **Risk Reduction Monograph N° 5: Cadmium**. Paris, 1994. Disponível em: <https://www.oecd.org/env/ehs/risk-management/cadmiumincludingnickelcadmiumbatteries.htm>. Acesso em: 24 maio 2020.

PROJETO INFÂNCIA E POLUENTES AMBIENTAIS (PIPA). **PipaUFRJ**. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <http://pipaufrj.me.ufrj.br/pt/>. Acesso em: 24 maio 2020.

PRUSS-USTUN, A.; CORVALAN, C. Preventing disease through health environments: towards an estimate of the environmental burden of disease. **World Health Organization**. Geneva, 2006. Disponível em: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204585/9789241565196\\_eng.pdf;jsessionid=3C773FB739C445860D8802405C657B9F?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204585/9789241565196_eng.pdf;jsessionid=3C773FB739C445860D8802405C657B9F?sequence=1). Acesso em: 24 maio 2020.

QUITERIO, S. L. *et al.* Avaliação da Poluição Ambiental Causada por Particulado de Chumbo Emitido por uma Reformadora de Baterias na Cidade do Rio de Janeiro. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 9, p. 1817-1823, Set. 2006. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-311X2006000900012](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2006000900012). Acesso em: 24 maio 2020.

RIBEIRO, F. A. D. L. *et al.* Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 164-171, 2008. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422008000100029](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000100029). Acesso em: 24 maio 2020.

SAKUMA, A. M. **Avaliação da exposição humana ao arsênio no alto Vale do Ribeira, Brasil.** 2004. 196 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2004.

SANTOS, L. M. G. **Avaliação e otimização de metodologia de determinação do arsênio total, As(III) e As(IV) em amostras de água e alimentos e a relevância dos riscos por ingestão.** 2004. 118 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2004. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/8428>. Acesso em: 24 maio 2020.

SANTOS, L. M. G., *et al.* Determinação da concentração de arsênio, cádmio e chumbo em amostras de erva-mate comercializadas no Sul do País por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 12, Dez. 2017. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782017001200751&script=sci\\_abstract&tlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782017001200751&script=sci_abstract&tlng=pt). Acesso em: 24 maio 2020.

SCHOOOF, R. A. *et al.* Dietary exposure to inorganic arsenic. In: CHAPPEL, W. R., ABERNATHY, C. O.; CALDERON, R. L. (Ed.), **Arsenic Exposure and Health Effects.**, London, 1999.

SILVA, A. C. da.; COLÓSIMO, A. P.; SALVESTRO, D. **Doença de Wilson (degeneração hepatolenticular):** revisão bibliográfica e relato de caso. *Ver Méd Minas Gerais.*, v. 20, n. esp., p. 404-411, 2010. Disponível em: <http://rmmg.org/artigo/detalhes/1175>. Acesso em: 24 maio 2020.

SILVA, J. M. B. **Especiação química do arsênio por HPLC/ICP/MS em alimentos sem glúten derivados do arroz.** 2014. 77 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/8831>. Acesso em: 24 maio 2020.

SOLDÁ, N. **Determinação dos níveis de chumbo em amostras de sangue por meio da técnica de fingerstick associada à espectrometria de massas de alta resolução com fonte de plasma acoplada indutivamente (HR/ICP/MS).** Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear-Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo, 2011. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85134/tde-31052013-103332/pt-br.php>. Acesso em: 24 maio 2020.

SOUZA, A. K. R.; MORASSUTI, C. Y.; DEUS, W. b. **Poulição do Ambiente por Metais pesados e Utilização de Vegetais como Bioindicadores.** *Acta Biomedica Brasiliensia / Volume 9/ nº 3/ Dezembro de 2018.* Disponível em: <https://www.actabiomedica.com.br/index.php/acta/article/view/300> . Acesso em: 24 maio 2020.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. **Principles of Instrumental Analysis.** 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 1998.

TAYLOR, H. E. **Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry**. Practices and Techniques. Ed. Academic Press, 2001.

ULRICH, J. C.; SARKIS, J. E. S.; KAKAZU, M. H.; NASCIMENTO, R. M. L. **Estimativa de Incerteza Associada à Determinação Simultânea de As, Cd, Hg, Pb em Amostras de Urina Usando HRICP-MS**. In: SIMPOSIO DE METROLOGIA NA ÁREA DE SAÚDE, 7-8 de novembro, São Paulo, 2006. Disponível em: <https://www.ipen.br/biblioteca/variosanos/17772>. Acesso em: 24 maio 2020.

VEIGA, M. A. M. S. **Determinação de elementos traço por AAS e ICP-MS após extração no ponto nuvem, usando dietil-ditiofosfato como agente quelante**. 2000. 97 f. Tese (Doutorado) – Centro de Filosofias e Ciências humanas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/78174>. Acesso em: 24 maio 2020.

VENEZUELA, T. C. **Determinação de contaminantes metálicos (metal tóxico) num solo adubado com composto de lixo em área olerícola no município de nova Friburgo**. 2001. 96 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/4721>. Acesso em: 24 maio 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental Health Criteria 134: cadmium**. Geneva: WHO, 1992. Disponível em: <https://www.who.int/ipcs/features/cadmium.pdf>. Acesso em: 24 maio 2020.

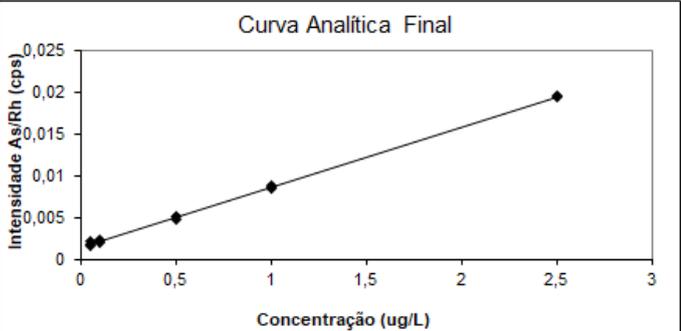
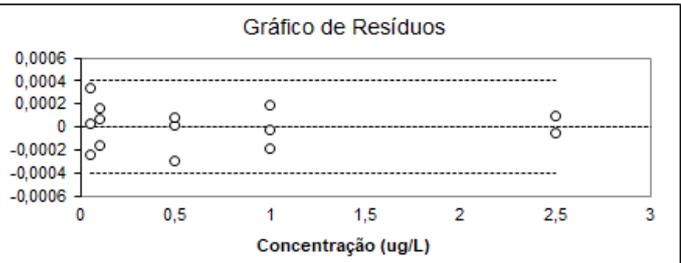
WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Children's health and the environment: a global perspective: a resource manual for the health sector**. Ed. J. Pronczuk-Garbino. Geneva: WHO, 2005. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43162>. Acesso em: 24 maio 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental health criteria 224: arsenic and arsenic compounds**. Geneva: WHO, 2001, 521 p. Disponível em: [https://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc\\_224/en/](https://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_224/en/). Acesso em: 24 maio 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The world health report: reducing risks, promoting healthy life**. Geneva: WHO, 2002. Disponível em: <https://www.who.int/whr/2002/en/>. Acesso em: 24 maio 2020.

## APÊNDICE A – “PLANILHA DE AVALIAÇÃO DE PREMISSAS – ARSÊNIO”

Ministério da Saúde		FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		INCQS	
		Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde			
<b>Planilha para Avaliação de Premissas</b>				<input type="button" value="Iniciar Nova Planilha"/>	
<b>Entrada de Dados</b>					
Análise: <input type="text" value="Arsênio"/>					
Data de Confeção da Curva:		<input type="text" value="2019-2020"/>	Curva N°:		<input type="text" value="1"/>
Replicatas por Nível (k):		<input type="text" value="3"/>	N° de Níveis (n):		<input type="text" value="5"/>
Equipamento:		<input type="text" value="ICP-MS"/>	Responsável:		<input type="text" value="Santos"/>
Unidade de Concentração:		<input type="text" value="ug/L"/>	Tipo de Medição:		<input type="text" value="Intensidade As/Rh (cps)"/>
<b>Curva Analítica</b>					
Nível (k)	i	Xi ug/L	Yi Intensidade As/Rh (cps)	<input type="button" value="Avaliar Outliers"/>	
1	1	5,00E-02	0,0017899	N° de Outliers Retirados	<input type="text" value="1"/>
	2	5,00E-02	0,0015218		
	3	5,00E-02	0,0021066		
2	4	1,00E-01	0,0022012	<input type="button" value="Resumo dos Resultados"/>	
	5	1,00E-01	0,001966	<input type="button" value="Salvar Planilha"/>	
	6	1,00E-01	0,002288	<input type="button" value="Recuperar Dados"/>	
3	7	5,00E-01	0,0050223	<input type="text" value="Dados Originais Armazenados!"/>	
	8	5,00E-01	0,0047108		
	9	5,00E-01	0,0050823		
4	10	1,00E+00	0,0085825	<b>Observações</b>	
	11	1,00E+00	0,0087979		
	12	1,00E+00	0,0084244		
5	13	2,50E+00	0,0194987	<input type="text"/>	
	14	2,50E+00	0,0193581		
	15				

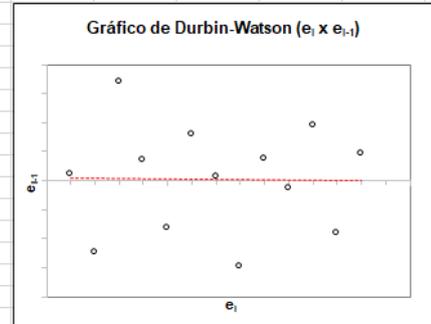
 Ministério da Saúde <b>FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ</b> Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde		 <b>INCCS</b>			
<b>AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA</b>					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Arsênio				
Data de Confeção da Curva:	2019-2020	Curva N°:	1		
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	5		
Equipamento:	ICP-MS	Responsável:	Santos		
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. ug/L	Resposta Intensiva As/Rh (cps)		
1	01	5,00E-02	1,79E-03		
	02	5,00E-02	1,52E-03		
	03	5,00E-02	2,11E-03		
2	04	1,00E-01	2,20E-03		
	05	1,00E-01	1,97E-03		
	06	1,00E-01	2,29E-03		
3	07	5,00E-01	5,02E-03		
	08	5,00E-01	4,71E-03		
	09	5,00E-01	5,08E-03		
4	10	1,00E+00	8,58E-03		
	11	1,00E+00	8,80E-03		
	12	1,00E+00	8,42E-03		
5	13	2,50E+00	1,95E-02		
	14	2,50E+00	1,94E-02		
	15	2,50E+00	1,81E-02		
<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)					
Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.					
<b>Curva Analítica Final</b>					
					
<b>Gráfico de Resíduos</b>					
					
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,99				
Rcrit ( $\alpha = 0,05$ )	0,94				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	2,92				
dL (Limite Inferior) $\alpha = 0,05$	1,05				
dU (Limite Superior) $\alpha = 0,05$	1,35				
<b>Homogeneidade da Variância dos Resíduos</b> (Teste de Brown-Forsythe)					
Variância Combinada	3,48E-08				
$t_L$ calculado	4,39E-01				
$t_{tabelado}$ ( $\alpha = 0,05$ )	2,18E+00				
p	6,68E-01				
<b>Resumo da Avaliação</b>					
Homogeneidade de variância					
Há Homocedasticidade	$p > 0,05$				
Regressão e Teste de Desvio de Linearidade					
A regressão é significativa	$p < 0,001$				
Não há desvio de Linearidade	$p > 0,05$				
Autocorrelação dos Resíduos ( $\alpha = 0,05$ )					
Não há autocorrelação	$d > dU$				
Teste de Normalidade ( $\alpha = 0,05$ )					
Segue a Normal	$Req > Rcrit$				
<b>Análise de Regressão Linear (Modelo: <math>Y = a + bX</math>)</b>					
<i>Estatísticas da Regressão</i>					
Coefficiente Angular (b):	7,20E-03	Coefficiente Linear (a):	1,41E-03		
r	0,9996	R <sup>2</sup>	0,9991		
N	14	Graus de Liberdade	12		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	4,78E-04	4,78E-04	1,40E+04	8,74E-20
resíduos	12	4,08E-07	3,40E-08		
Ajuste	4	2,15E-08	5,37E-09	1,11E-01	9,75E-01
erro puro	8	3,87E-07	4,83E-08		
total	13	4,78E-04			
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ___/___/___ Verificado por: _____ Data: ___/___/___					
AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA				Pág.: 1/1	



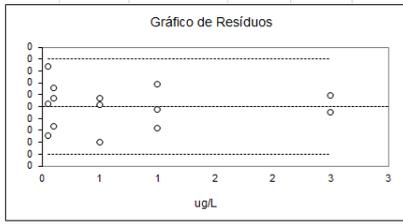
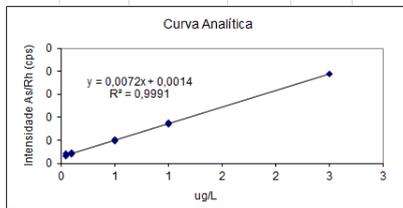
Teste de Durbin-Watson para autocorrelação dos resíduos

i	i	e <sub>i</sub>	e <sub>i-1</sub>	e <sub>i</sub> - e <sub>i-1</sub>	(e <sub>i</sub> - e <sub>i-1</sub> ) <sup>2</sup>	e <sub>i</sub> <sup>2</sup>
1	1	0,000	-	-	-	4,60E-10
2	2	0,000	0,000	0,000	7,19E-08	6,08E-08
3	3	0,000	0,000	0,001	3,42E-07	1,14E-07
4	4	0,000	0,000	0,000	7,04E-08	5,31E-09
5	5	0,000	0,000	0,000	5,53E-08	2,64E-08
6	6	0,000	0,000	0,000	1,04E-07	2,55E-08
7	7	0,000	0,000	0,000	2,11E-08	2,02E-10
8	8	0,000	0,000	0,000	9,70E-08	8,83E-08
9	9	0,000	0,000	0,000	1,38E-07	5,51E-09
10	10	0,000	0,000	0,000	9,88E-09	6,34E-10
11	11	0,000	0,000	0,000	4,64E-08	3,62E-08
12	12	0,000	0,000	0,000	1,40E-07	3,36E-08
13	13	0,000	0,000	0,000	7,59E-08	8,51E-09
14	14	0,000	0,000	0,000	1,98E-08	2,33E-09

n	14
α	0,05
d	2,917988
dL	1,045729
dU	1,349312



Y <sub>est</sub>	Y <sub>i</sub> -Y <sub>est</sub>	X <sub>i</sub> -X <sub>med</sub>	Y <sub>med</sub>	(Y <sub>est</sub> -Y <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	Y <sub>i</sub> -Y <sub>med</sub>	Y <sub>i</sub> -Y <sub>med</sub>	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>est</sub> )	(X <sub>i</sub> -X <sub>med</sub> )(Y <sub>i</sub> -Y <sub>med</sub> )	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>est</sub> ) <sup>2</sup>	(X <sub>i</sub> -X <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	t <sub>(1-a/2;n-2)</sub> 'S	-t <sub>(1-a/2;n-2)</sub> 'S
0.00176843	0	-0.6607	0	0	0	0	0	0.003128587	0	0.4365	0	0	0.00	0.00
0.00176843	0	-0.6607	0	0	0	0	0	0.003305702	0	0.4365	0	0	0.00	0.00
0.00176843	0	-0.6607	0	0	0	0	0	0.002919324	0	0.4365	0	0	0.00	0.00
0.00212839	0	-0.6107	0	0	0	0	0	0.002640598	0	0.3730	0	0	0.00	0.00
0.00212839	0	-0.6107	0	0	0	0	0	0.002784264	0	0.3730	0	0	0.00	0.00
0.00500806	0	-0.2107	0	0	0	0	0	0.003166556	0	0.0444	0	0	0.00	0.00
0.00500806	0	-0.2107	0	0	0	0	0	0.003382277	0	0.0444	0	0	0.00	0.00
0.00500806	0	-0.2107	0	0	0	0	0	0.003040005	0	0.0444	0	0	0.00	0.00
0.00860764	0	0.2893	0	0	0	0	0	0.009595185	0	0.0837	0	0	0.00	0.00
0.00860764	0	0.2893	0	0	0	0	0	0.009657522	0	0.0837	0	0	0.00	0.00
0.00860764	0	0.2893	0	0	0	0	0	0.009549452	0	0.0837	0	0	0.00	0.00
0.0194064	0	1.7893	0	0	0	0	0	0.023213557	0	3.2015	0	0	0.00	0.00
0.0194064	0	1.7893	0	0	0	0	0	0.022962028	0	3.2015	0	0	0.00	0.00
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0



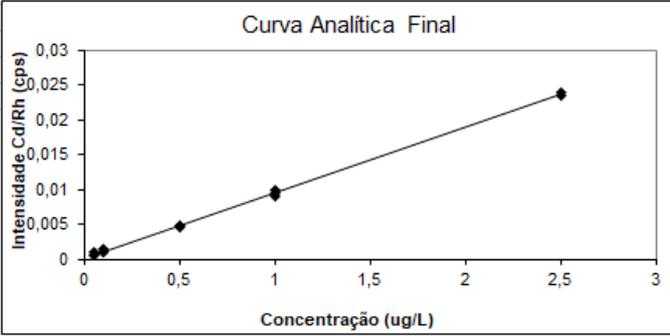
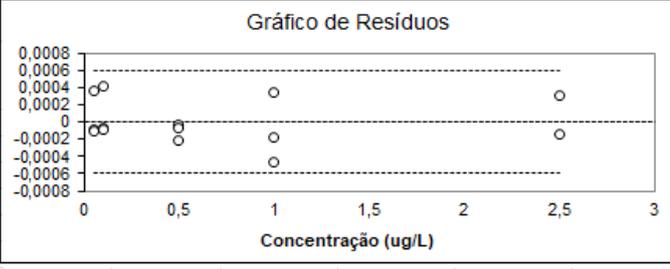
p	8,74E-20
	9,75E-01

Nível	i	e <sub>i</sub>	Grupo (k)	Grupo 1 (k <sub>1</sub> )	Grupo 2 (k <sub>2</sub> )	d1	d2	d <sub>1</sub>	d <sub>2</sub>	d <sub>1</sub> <sup>2</sup>	d <sub>2</sub> <sup>2</sup>
1	1	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	2	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	3	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
2	4	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	5	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	6	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
3	7	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	8	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	9	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
4	10	0,00	2		0,00	0,00		0,00		0,00	
	11	0,00	2		0,00	0,00		0,00		0,00	
	12	0,00	2		0,00	0,00		0,00		0,00	
5	13	0,00	2		0,00	0,00		0,00		0,00	
	14	0,00	2		0,00	0,00		0,00		0,00	

n	14
n/2	7
mediana k <sub>1</sub>	0,00
mediana k <sub>2</sub>	0,00

Estatística	Grupo 1	Grupo 2
n	9	5
Mediana	2,14E-05	-2,52E-05
dm	1,49E-04	1,03E-04
SQD	3,32E-07	8,58E-08
Var	3,48E-08	
t*	0,439	
t <sub>0,975</sub>	2,179	
p	0,668	p > 0,05



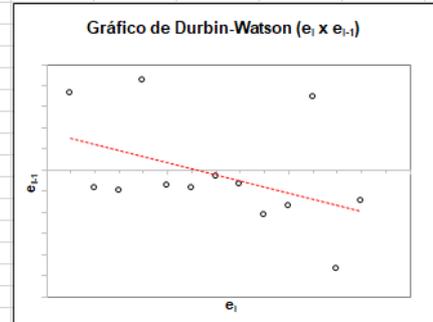
 Ministério da Saúde <b>FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ</b> Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde		 INCQS			
<b>AValiação de Linearidade de Curva Analítica</b>					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Cádmio				
Data de Confeção da Curva:	2019-2020	Curva N°:	1		
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	5		
Equipamento:	ICP-MS	Responsável:	Santos		
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. ug/L	Resposta Intensiva (Cd/Rh (cps))		
1	01	5,00E-02	1,03E-03		
	02	5,00E-02	5,79E-04		
	03	5,00E-02	5,63E-04		
2	04	1,00E-01	1,55E-03		
	05	1,00E-01	1,06E-03		
	06	1,00E-01	1,04E-03		
3	07	5,00E-01	4,84E-03		
	08	5,00E-01	4,80E-03		
	09	5,00E-01	4,66E-03		
4	10	1,00E+00	9,37E-03		
	11	1,00E+00	9,88E-03		
	12	1,00E+00	9,07E-03		
5	13	2,50E+00	2,34E-02		
	14	2,50E+00	2,39E-02		
	15	2,50E+00	2,26E-02		
<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)					
Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.					
<b>Curva Analítica Final</b>					
					
<b>Gráfico de Resíduos</b>					
					
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,94				
Rcrit ( $\alpha = 0,05$ )	0,94				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	2,26				
dL (Limite Inferior) $\alpha = 0,05$	1,05				
dU (Limite Superior) $\alpha = 0,05$	1,35				
<b>Homogeneidade da Variância dos Resíduos</b> (Teste de Brown-Forsythe)					
Variância Combinada	8,49E-08				
$t_L$ calculado	-7,99E-01				
$t_{\text{tabelado}} (\alpha = 0,05)$	2,18E+00				
p	4,40E-01				
<b>Resumo da Avaliação</b>					
Homogeneidade de variância					
Há Homocedasticidade $p > 0,05$					
Regressão e Teste de Desvio de Linearidade					
A regressão é significativa $p < 0,001$					
Não há desvio de Linearidade $p > 0,05$					
Autocorrelação dos Resíduos ( $\alpha = 0,05$ )					
Não há autocorrelação $d > dU$					
Teste de Normalidade ( $\alpha = 0,05$ )					
Segue a Normal $Req > Rcrit$					
<b>Análise de Regressão Linear (Modelo: <math>Y = a + bX</math>)</b>					
<i>Estatísticas da Regressão</i>					
Coeficiente Angular (b):	9,35E-03	Coeficiente Linear (a):	1,96E-04		
r	0,9995	R <sup>2</sup>	0,9989		
N	14	Graus de Liberdade	12		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	8,05E-04	8,05E-04	1,10E+04	3,87E-19
resíduos	12	8,82E-07	7,35E-08		
Ajuste	4	1,11E-07	2,76E-08	2,87E-01	8,79E-01
erro puro	8	7,71E-07	9,64E-08		
total	13	8,06E-04			
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ___/___/___ Verificado por: _____ Data: ___/___/___					
AValiação de Linearidade de Curva Analítica				Pág.:1/1	



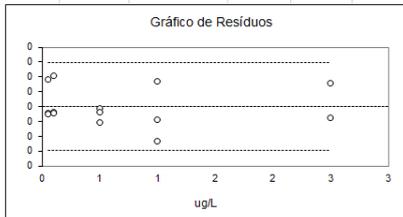
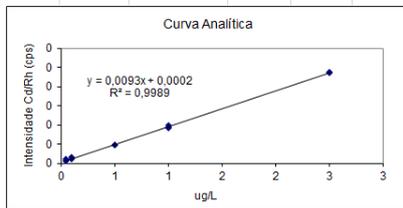
Teste de Durbin-Watson para autocorrelação dos resíduos

i	i	e <sub>i</sub>	e <sub>i-1</sub>	e <sub>i</sub> - e <sub>i-1</sub>	(e <sub>i</sub> - e <sub>i-1</sub> ) <sup>2</sup>	e <sub>i</sub> <sup>2</sup>
1	1	0,000	-	-	-	1,34E-07
2	2	0,000	0,000	0,000	2,02E-07	7,00E-09
3	3	0,000	0,000	0,000	2,64E-10	9,98E-09
4	4	0,000	0,000	0,001	2,72E-07	1,78E-07
5	5	0,000	0,000	0,000	2,46E-07	5,51E-09
6	6	0,000	0,000	0,000	1,42E-10	7,42E-09
7	7	0,000	0,000	0,000	3,12E-09	9,15E-10
8	8	0,000	0,000	0,000	1,57E-09	4,88E-09
9	9	0,000	0,000	0,000	2,04E-08	4,52E-08
10	10	0,000	0,000	0,000	1,71E-09	2,94E-08
11	11	0,000	0,000	0,001	2,65E-07	1,18E-07
12	12	0,000	0,000	-0,001	6,63E-07	2,22E-07
13	13	0,000	0,000	0,000	1,06E-07	2,13E-08
14	14	0,000	0,000	0,000	2,12E-07	9,87E-08

n	14
α	0,05
d	2,259267
dL	1,045729
dU	1,349312



Y <sub>est</sub>	Y <sub>i</sub> -Y <sub>est</sub>	X <sub>i</sub> -X <sub>med</sub>	Y <sub>med</sub>	(Y <sub>est</sub> -Y <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	Y <sub>i</sub> -Y <sub>med</sub>	Y <sub>i</sub> -Y <sub>med</sub>	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>est</sub> )	(X <sub>i</sub> -X <sub>med</sub> )(Y <sub>i</sub> -Y <sub>med</sub> )	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>est</sub> ) <sup>2</sup>	(X <sub>i</sub> -X <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>med</sub> )	t <sub>(1-a/2;n-2)</sub> 'S	-t <sub>(1-a/2;n-2)</sub> 'S
0,00066293	0	-0,6607	0	0	0	0	0	0,003838077	0	0,4365	0	0	0,00	0,00
0,00066293	0	-0,6607	0	0	0	0	0	0,004135345	0	0,4365	0	0	0,00	0,00
0,00066293	0	-0,6607	0	0	0	0	0	0,004146074	0	0,4365	0	0	0,00	0,00
0,00113025	0	-0,6107	0	0	0	0	0	0,003228435	0	0,3730	0	0	0,00	0,00
0,00113025	0	-0,6107	0	0	0	0	0	0,00353125	0	0,3730	0	0	0,00	0,00
0,00486878	0	-0,2107	0	0	0	0	0	0,003538534	0	0,3730	0	0	0,00	0,00
0,00486878	0	-0,2107	0	0	0	0	0	0,00421357	0	0,4444	0	0	0,00	0,00
0,00486878	0	-0,2107	0	0	0	0	0	0,00429698	0	0,4444	0	0	0,00	0,00
0,00486878	0	-0,2107	0	0	0	0	0	0,00459803	0	0,4444	0	0	0,00	0,00
0,00954196	0	0,2893	0	0	0	0	0	0,000732573	0	0,0837	0	0	0,00	0,00
0,00954196	0	0,2893	0	0	0	0	0	0,000881394	0	0,0837	0	0	0,00	0,00
0,00954196	0	0,2893	0	0	0	0	0	0,000645884	0	0,0837	0	0	0,00	0,00
0,02356147	0	1,7893	0	0	0	0	0	0,02966159	0	3,2015	0	0	0,00	0,00
0,02356147	0	1,7893	0	0	0	0	0	0,030484883	0	3,2015	0	0	0,00	0,00
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0



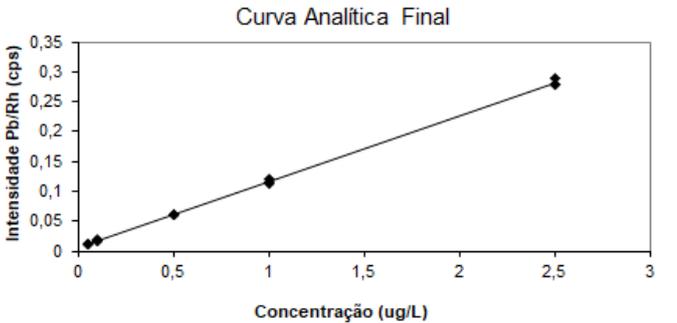
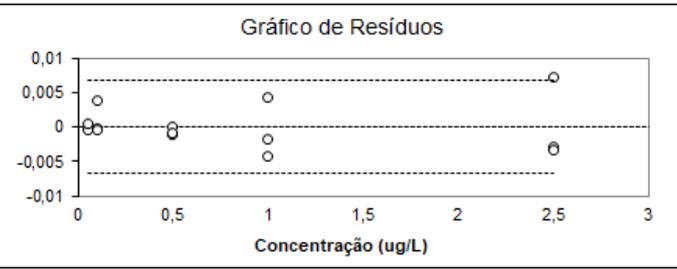
p	3,87E-19
	8,79E-01

Nível	i	e <sub>i</sub>	Grupo (k)	Grupo 1 (k <sub>1</sub> )	Grupo 2 (k <sub>2</sub> )	d1	d2	d <sub>1</sub>	d <sub>2</sub>	d <sub>1</sub> <sup>2</sup>	d <sub>2</sub> <sup>2</sup>
1	1	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	2	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	3	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
2	4	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	5	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	6	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
3	7	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	8	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	9	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
4	10	0,00	2		0,00		0,00		0,00		0,00
	11	0,00	2		0,00		0,00		0,00		0,00
	12	0,00	2		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	13	0,00	2		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	14	0,00	2		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

n	14
n/2	7
mediana k <sub>1</sub>	0,00
mediana k <sub>2</sub>	0,00

Estatística	Grupo 1	Grupo 2
n	9	5
Mediana	-7,42E-05	-1,46E-04
dm	1,30E-04	2,60E-04
SQD	4,62E-07	5,57E-07
Var	8,49E-08	
t*	-0,799	
t <sub>0,975</sub>	2,179	
p	0,440	p > 0,05



	Ministério da Saúde <b>FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ</b> Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde				
<b>AValiação de Linearidade de Curva Analítica</b>					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Chumbo				
Data de Confeção da Curva:	2018-2019	Curva N°:	4.6.7		
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	5		
Equipamento:	ICP-MS	Responsável:	Santos		
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. ug/L	Resposta Intensiva Pb/Rh (cps)		
1	01	5,00E-02	1,09E-02		
	02	5,00E-02	1,08E-02		
	03	5,00E-02	1,15E-02		
2	04	1,00E-01	1,64E-02		
	05	1,00E-01	1,62E-02		
	06	1,00E-01	2,06E-02		
3	07	5,00E-01	5,97E-02		
	08	5,00E-01	6,09E-02		
	09	5,00E-01	6,00E-02		
4	10	1,00E+00	1,12E-01		
	11	1,00E+00	1,20E-01		
	12	1,00E+00	1,14E-01		
5	13	2,50E+00	2,79E-01		
	14	2,50E+00	2,89E-01		
	15	2,50E+00	2,78E-01		
<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)					
Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.					
<b>Curva Analítica Final</b>					
					
<b>Gráfico de Resíduos</b>					
					
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,94				
Rcrit (α = 0,05)	0,94				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	2,96				
dL (Limite Inferior) α = 0,05	1,08				
dU (Limite Superior) α = 0,05	1,36				
<b>Homogeneidade da Variância dos Resíduos</b> (Teste de Brown-Forsythe)					
Variância Combinada	1,23E-05				
t <sub>L</sub> calculado	-1,40E+00				
t <sub>tabelado</sub> (α = 0,05)	2,16E+00				
p	1,86E-01				
<b>Resumo da Avaliação</b>					
Homogeneidade de variância					
Há Homocedasticidade $p > 0,05$					
Regressão e Teste de Desvio de Linearidade					
A regressão é significativa $p < 0,001$					
Não há desvio de Linearidade $p > 0,05$					
Autocorrelação dos Resíduos (α = 0,05)					
Não há autocorrelação $d > dU$					
Teste de Normalidade (α = 0,05)					
Segue a Normal $Req > Rcrit$					
<b>Análise de Regressão Linear (Modelo: Y = a + bX)</b>					
<i>Estatísticas da Regressão</i>					
Coeficiente Angular (b):	1,10E-01	Coeficiente Linear (a):	5,64E-03		
r	0,9996	R <sup>2</sup>	0,9991		
N	15	Graus de Liberdade	13		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	1,49E-01	1,49E-01	1,49E+04	2,80E-21
resíduos	13	1,30E-04	9,98E-06		
Ajuste	4	6,60E-06	1,65E-06	1,20E-01	9,72E-01
erro puro	9	1,23E-04	1,37E-05		
total	14	1,49E-01			
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ___/___/___ Verificado por: _____ Data: ___/___/___					
AValiação de Linearidade de Curva Analítica				Pág.:1/1	

i	X <sub>i</sub>	Y <sub>i</sub>	Y <sub>est</sub>	Y <sub>i</sub> -Y <sub>est</sub> (e <sub>i</sub> )	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>est</sub> ) <sup>2</sup>	(X <sub>i</sub> -X <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	h <sub>i</sub>	Se <sub>i</sub>	r <sub>i</sub>	Je <sub>i</sub>	outliers
1	00,05000	00	00	-0,0002	0	01	0,1165	0	-0,083	-0,0801	
2	00,05000	00	00	-0,0004	0	01	0,1165	0	-0,120	-0,1155	
3	00,05000	00	00	0,0004	0	01	0,1165	0	0,126	0,1210	
4	00,10000	00	00	-0,0003	0	01	0,1103	0	-0,089	-0,0851	
5	00,10000	00	00	-0,0004	0	01	0,1103	0	-0,148	-0,1421	
6	00,10000	00	00	0,0039	0	01	0,1103	0	1,314	1,3555	
7	00,50000	00	00	-0,0012	0	00	0,0756	0	-0,397	-0,3837	
8	00,50000	00	00	0,0000	0	00	0,0756	0	-0,002	-0,0022	
9	00,50000	00	00	-0,0009	0	00	0,0756	0	-0,293	-0,2820	
10	01,00000	00	00	-0,0043	0	00	0,0690	0	-1,418	-1,4819	
11	01,00000	00	00	0,0042	0	00	0,0690	0	1,387	1,4434	
12	01,00000	00	00	-0,0019	0	00	0,0690	0	-0,611	-0,5961	
13	02,50000	00	00	-0,0028	0	03	0,2952	0	-1,061	-1,0664	
14	02,50000	00	00	0,0072	0	03	0,2952	0	2,730	4,0160	outlier
15	02,50000	00	00	-0,0033	0	03	0,2952	0	-1,262	-1,2946	

15											
2											
0,01											
0,11											
0,83											
12											
0,00											
0,05											
2,1788											

Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos

Teste de Normalidade dos resíduos (Teste de Ryan-Joiner)

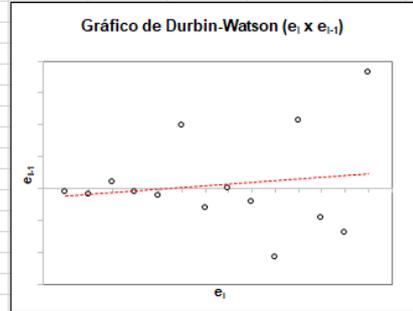
i	p <sub>i</sub>	b <sub>i</sub>	e <sub>i</sub>	e <sub>i</sub> ordenados	(e <sub>i</sub> -emed)(q <sub>i</sub> -qmed)	(e <sub>i</sub> -emed) <sup>2</sup>	(q <sub>i</sub> -qmed) <sup>2</sup>
1	0,04098	-1,73938	-0,00025	-0,00432	0,01	0,00	3,0255
2	0,10656	-1,24505	-0,00036	-0,00335	0,00	0,00	1,5501
3	0,17213	-0,94578	0,00037	-0,00281	0,00	0,00	0,8945
4	0,23770	-0,71370	-0,00026	-0,00186	0,00	0,00	0,5094
5	0,30328	-0,51499	-0,00044	-0,00121	0,00	0,00	0,2652
6	0,36885	-0,33489	0,00392	-0,00089	0,00	0,00	0,1122
7	0,43443	-0,16512	-0,00121	-0,00044	0,00	0,00	0,0273
8	0,50000	0,00000	-0,00001	-0,00036	0,00	0,00	0,0000
9	0,56557	0,16512	-0,00089	-0,00026	0,00	0,00	0,0273
10	0,63115	0,33489	-0,00432	-0,00025	0,00	0,00	0,1122
11	0,69672	0,51499	0,00423	-0,00001	0,00	0,00	0,2652
12	0,76230	0,71370	-0,00186	0,00037	0,00	0,00	0,5094
13	0,82787	0,94578	-0,00281	0,00392	0,00	0,00	0,8945
14	0,89344	1,24505	0,00724	0,00423	0,01	0,00	1,5501
15	0,95902	1,73938	-0,00335	0,00724	0,01	0,00	3,0255

n	15	S <sub>eq</sub>	0,04		R <sub>eq</sub>	0,9426
qmed	-1,18E-16	S <sub>ee</sub>	0,00			
emed	0,00	S <sub>qq</sub>	12,7682			
<b>Valores Críticos de R</b>						
Rcrit (α: 0,10) = 0,9505						
Rcrit (α: 0,05) = 0,9383						
Rcrit (α: 0,01) = 0,9109						

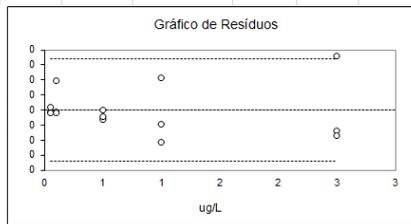
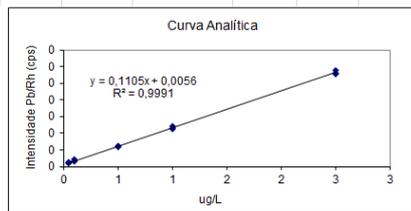
Teste de Durbin-Watson para autocorrelação dos resíduos

i	i	e <sub>i</sub>	e <sub>i-1</sub>	e <sub>i</sub> - e <sub>i-1</sub>	(e <sub>i</sub> - e <sub>i-1</sub> ) <sup>2</sup>	e <sub>i</sub> <sup>2</sup>
1	1	0.000	-	-	-	6,12E-08
2	2	0.000	0.000	0.000	1,19E-08	1,27E-07
3	3	0.000	0.000	0.001	5,34E-07	1,40E-07
4	4	0.000	0.000	-0.001	4,07E-07	6,97E-08
5	5	0.000	0.000	0.000	3,12E-08	1,94E-07
6	6	0.004	0.000	0.004	1,90E-05	1,53E-05
7	7	-0.001	0.004	-0.005	2,62E-05	1,45E-06
8	8	0.000	-0.001	0.001	1,44E-06	4,80E-11
9	9	-0.001	0.000	-0.001	7,78E-07	7,90E-07
10	10	-0.004	-0.001	-0.003	1,18E-05	1,87E-05
11	11	0.004	-0.004	0.009	7,31E-05	1,79E-05
12	12	-0.002	0.004	-0.006	3,71E-05	3,47E-06
13	13	-0.003	-0.002	-0.001	9,02E-07	7,92E-06
14	14	0.007	-0.003	0.010	1,01E-04	5,25E-05
15	15	-0.003	0.007	-0.011	1,12E-04	1,12E-05

n	15
α	0,05
d	2,963473
dL	1,076973
dU	1,359632



Y <sub>i</sub> est	Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> med	X <sub>i</sub> -X <sub>i</sub> med	Y <sub>i</sub> med	(Y <sub>i</sub> est-Y <sub>i</sub> med) <sup>2</sup>	Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> med	Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> med	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> est)	(X <sub>i</sub> -X <sub>i</sub> med)(Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> med)	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> est) <sup>2</sup>	(X <sub>i</sub> -X <sub>i</sub> med) <sup>2</sup>	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> med) <sup>2</sup>	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> med) <sup>2</sup>	t <sub>(1-α/2;n-2)</sub> S	-t <sub>(1-α/2;n-2)</sub> S
0,01116625	0	-0,7800	0	0	0	0	0	0,067395092	0	0,6084	0	0	0,01	-0,01
0,01116625	0	-0,7800	0	0	0	0	0	0,067480334	0	0,6084	0	0	0,01	-0,01
0,01116625	0	-0,7800	0	0	0	0	0	0,066910493	0	0,6084	0	0	0,01	-0,01
0,01668911	0	-0,7300	0	0	0	0	0	0,059055279	0	0,5329	0	0	0,01	-0,01
0,01668911	0	-0,7300	0	0	0	0	0	0,059184171	0	0,5329	0	0	0,01	-0,01
0,01668911	0	-0,7300	0	0	0	0	0	0,056004245	0	0,5329	0	0	0,01	-0,01
0,06087196	0	-0,3300	0	0	0	0	0	0,012426765	0	0,1089	0	0	0,01	-0,01
0,06087196	0	-0,3300	0	0	0	0	0	0,012031067	0	0,1089	0	0	0,01	-0,01
0,06087196	0	-0,3300	0	0	0	0	0	0,012322082	0	0,1089	0	0	0,01	-0,01
0,11610052	0	0,1700	0	0	0	0	0	0,00245727	0	0,0289	0	0	0,01	-0,01
0,11610052	0	0,1700	0	0	0	0	0	0,003910952	0	0,0289	0	0	0,01	-0,01
0,11610052	0	0,1700	0	0	0	0	0	0,002875311	0	0,0289	0	0	0,01	-0,01
0,2817862	0	1,6700	0	0	0	0	0	0,30335473	0	2,7889	0	0	0,01	-0,01
0,2817862	0	1,6700	0	0	0	0	0	0,320148404	0	2,7889	0	0	0,01	-0,01
0,2817862	0	1,6700	0	0	0	0	0	0,302462513	0	2,7889	0	0	0,01	-0,01
1			1	0				1	0	12	0	0		



p	2,80E-21
	9,72E-01

Nível	i	e <sub>i</sub>	Grupo (k)	Grupo 1 (k <sub>1</sub> )	Grupo 2 (k <sub>2</sub> )	d1	d2	d <sub>1</sub>	d <sub>2</sub>	d <sub>1</sub> <sup>2</sup>	d <sub>2</sub> <sup>2</sup>
1	1	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	2	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	3	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
2	4	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	5	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	6	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
3	7	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	8	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	9	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
4	10	0,00	2		0,00		0,00		0,00		0,00
	11	0,00	2		0,00	-0,01		0,01		0,00	
	12	0,00	2		0,00	0,00		0,00		0,00	
5	13	0,00	2		0,00	0,00		0,00		0,00	
	14	0,01	2		0,01	-0,01		0,01		0,00	
	15	0,00	2		0,00	0,00		0,00		0,00	

n	15
n/2	7,5
mediana k <sub>1</sub>	0,00
mediana k <sub>2</sub>	0,00

Estadística	Grupo 1	Grupo 2
n	9	6
Mediana	-2,64E-04	-2,34E-03
dm	7,70E-04	3,35E-03
SQD	1,93E-05	1,40E-04
Var	1,23E-05	
t*	-1,397	
t <sub>0,975</sub>	2,160	
p	0,186	p > 0,05

## APÊNDICE D – “PLANILHA DE AVALIAÇÃO DE PREMISSAS – MERCÚRIO”

Ministério da Saúde		FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		INCQS	
		Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde			
<b>Planilha para Avaliação de Premissas</b>					<a href="#">Iniciar Nova Planilha</a>
<b>Entrada de Dados</b>					
Análise:	<input type="text" value="Mercúrio"/>				
Data de Confeção da Curva:	<input type="text" value="2019-2020"/>	Curva N°:	<input type="text" value="1"/>		
Replicatas por Nível (k):	<input type="text" value="3"/>	N° de Níveis (n):	<input type="text" value="5"/>		
Equipamento:	<input type="text" value="ICP-MS"/>	Responsável:	<input type="text" value="Santos"/>		
Unidade de Concentração:	<input type="text" value="ug/L"/>	Tipo de Medição:	<input type="text" value="Intensidade Hg/Rh (cps)"/>		
<b>Curva Analítica</b>					
Nível (k)	i	$X_i$ ug/L	$Y_i$ Intensidade Hg/Rh (cps)	<a href="#">Avaliar Outliers</a>	
1	1	5,00E-02	0,0008047	N° de Outliers Retirados	<input type="text" value="1"/>
	2	5,00E-02	0,0007775		
	3	5,00E-02	0,0009749		
2	4	1,00E-01	0,0016878	<a href="#">Resumo dos Resultados</a>	
	5	1,00E-01	0,0014856	<a href="#">Salvar Planilha</a>	
	6	1,00E-01	0,0018404	<a href="#">Recuperar Dados</a>	
3	7	5,00E-01	0,0085854	<b>Dados Originais Armazenados!</b>	
	8	5,00E-01	0,0081211		
	9	5,00E-01	0,007431		
4	10	1,00E+00	0,0182271	Observações	
	11	1,00E+00	0,0160608		
	12	1,00E+00	0,0161281		
5	13	2,50E+00	0,0432851	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	
	14	2,50E+00	0,0463286		
	15				



**AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA**

**Dados da Curva Analítica**

Análise:	Mercúrio		
Data de Confeção da Curva:	2019-2020	Curva N°:	1
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	5
Equipamento:	ICP-MS	Responsável:	Santos

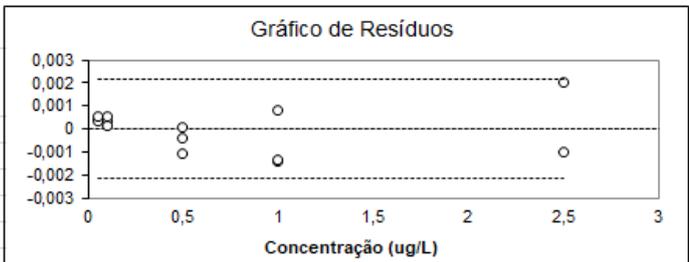
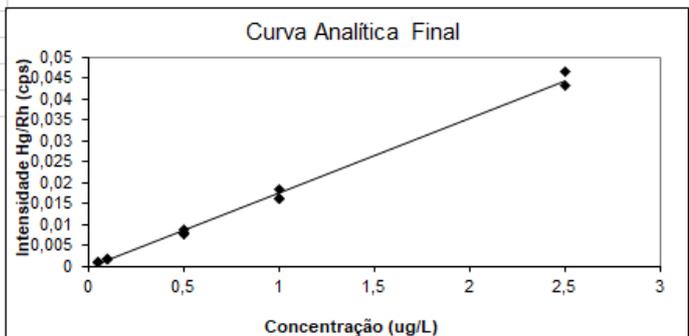
**Tabela de dados originais**

Nível (k)	i	Conc. ug/L	Resposta intensidade Hg/Rh (cps)
1	01	5,00E-02	8,05E-04
	02	5,00E-02	7,77E-04
	03	5,00E-02	9,75E-04
2	04	1,00E-01	1,69E-03
	05	1,00E-01	1,49E-03
	06	1,00E-01	1,84E-03
3	07	5,00E-01	8,59E-03
	08	5,00E-01	8,12E-03
	09	5,00E-01	7,43E-03
4	10	1,00E+00	1,82E-02
	11	1,00E+00	1,61E-02
	12	1,00E+00	1,61E-02
5	13	2,50E+00	4,33E-02
	14	2,50E+00	4,63E-02
	15	2,50E+00	3,44E-02

**Avaliação de Valores Extremos**

(Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)

Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.



**Normalidade dos Resíduos**

(Teste de Ryan-Joiner)

Req	0,96
Rcrit ( $\alpha = 0,05$ )	0,94

**Autocorrelação dos Resíduos**

(Teste de Durbin-Watson)

d (calculado)	1,59
dL (Limite Inferior) $\alpha = 0,05$	1,05
dU (Limite Superior) $\alpha = 0,05$	1,35

**Homogeneidade da Variância dos Resíduos**

(Teste de Brown-Forsythe)

Variância Combinada	1,28E-06
$t_c$ calculado	-1,22E+00
$t_{tabelado}$ ( $\alpha = 0,05$ )	2,18E+00
p	2,47E-01

**Resumo da Avaliação**

Homogeneidade de variância	
Há Homocedasticidade	$p > 0,05$
Regressão e Teste de Desvio de Linearidade	
A regressão é significativa	$p < 0,001$
Não há desvio de Linearidade	$p > 0,05$
Autocorrelação dos Resíduos ( $\alpha = 0,05$ )	
Não há autocorrelação	$d > dU$
Teste de Normalidade ( $\alpha = 0,05$ )	
Segue a Normal	$Req > Rcrit$

**Análise de Regressão Linear (Modelo:  $Y = a + bX$ )**

Estadísticas da Regressão

Coefficiente Angular (b):	1,79E-02	Coefficiente Linear (a):	-4,65E-04
r	0,9980	R <sup>2</sup>	0,9961
N	14	Graus de Liberdade	12

**ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)**

fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	2,96E-03	2,96E-03	3,05E+03	8,17E-16
resíduos	12	1,16E-05	9,69E-07		
Ajuste	4	3,20E-06	8,01E-07	7,60E-01	5,79E-01
erro puro	8	8,43E-06	1,05E-06		
total	13	2,97E-03			

**Observações**

Responsável: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Verificado por: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

i	X <sub>i</sub>	Y <sub>i</sub>	Y <sub>est</sub>	Y <sub>i</sub> -Y <sub>est</sub> (e <sub>i</sub> )	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>est</sub> ) <sup>2</sup>	(X <sub>i</sub> -X <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	h <sub>i</sub>	Se <sub>i</sub>	r <sub>i</sub>	Je <sub>i</sub>	outliers
1	00,05000	00	00	0,0004	0	00	0,1188	0	0,404	0,3897	
2	00,05000	00	00	0,0003	0	00	0,1188	0	0,375	0,3609	
3	00,05000	00	00	0,0005	0	00	0,1188	0	0,588	0,5717	
4	00,10000	00	00	0,0004	0	00	0,1119	0	0,389	0,3749	
5	00,10000	00	00	0,0002	0	00	0,1119	0	0,171	0,1640	
6	00,10000	00	00	0,0005	0	00	0,1119	0	0,554	0,5369	
7	00,50000	00	00	0,0001	0	00	0,0762	0	0,098	0,0943	
8	00,50000	00	00	-0,0004	0	00	0,0762	0	-0,392	-0,3780	
9	00,50000	00	00	-0,0011	0	00	0,0762	0	-1,122	-1,1350	
10	01,00000	00	00	0,0008	0	00	0,0805	0	0,824	0,8122	
11	01,00000	00	00	-0,0014	0	00	0,0805	0	-1,471	-1,5552	
12	01,00000	00	00	-0,0013	0	00	0,0805	0	-1,399	-1,4647	
13	02,50000	00	00	-0,0010	0	03	0,4188	0	-1,379	-1,4389	
14	02,50000	00	00	0,0020	0	03	0,4188	0	2,676	4,0358	outlier
15											

14											
2											
0,00											
0,02											
0,71											
9											
0,00											
0,05											
2,2010											

Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos

**Teste de Normalidade dos resíduos (Teste de Ryan-Joiner)**

i	p <sub>i</sub>	b <sub>i</sub>	e <sub>i</sub>	e <sub>i</sub> ordenados	(e <sub>i</sub> -emed)(q <sub>i</sub> -qmed)	(e <sub>i</sub> -emed) <sup>2</sup>	(q <sub>i</sub> -qmed) <sup>2</sup>
1	0,04386	-1,70755	0,00037	-0,00139	0,00	0,00	2,9157
2	0,11404	-1,20534	0,00035	-0,00132	0,00	0,00	1,4529
3	0,18421	-0,89943	0,00054	-0,00106	0,00	0,00	0,8090
4	0,25439	-0,66075	0,00036	-0,00103	0,00	0,00	0,4366
5	0,32456	-0,45498	0,00016	-0,00037	0,00	0,00	0,2070
6	0,39474	-0,26699	0,00051	0,00009	0,00	0,00	0,0713
7	0,46491	-0,08807	0,00009	0,00016	0,00	0,00	0,0078
8	0,53509	0,08807	-0,00037	0,00035	0,00	0,00	0,0078
9	0,60526	0,26699	-0,00106	0,00036	0,00	0,00	0,0713
10	0,67544	0,45498	0,00078	0,00037	0,00	0,00	0,2070
11	0,74561	0,66075	-0,00139	0,00051	0,00	0,00	0,4366
12	0,81579	0,89943	-0,00132	0,00054	0,00	0,00	0,8090
13	0,88596	1,20534	-0,00103	0,00078	0,00	0,00	1,4529
14	0,95614	1,70755	0,00201	0,00201	0,00	0,00	2,9157
n	14	S <sub>eq</sub>	0,01		R <sub>eq</sub>	0,9581	
qmed	0,00E+00	S <sub>ee</sub>	0,00				
emed	0,00	S <sub>qq</sub>	11,8004				
<b>Valores Críticos de R</b>							
Rcrit (α: 0,10) = 0,9480							
Rcrit (α: 0,05) = 0,9351							
Rcrit (α: 0,01) = 0,9061							

Teste de Durbin-Watson para autocorrelação dos resíduos

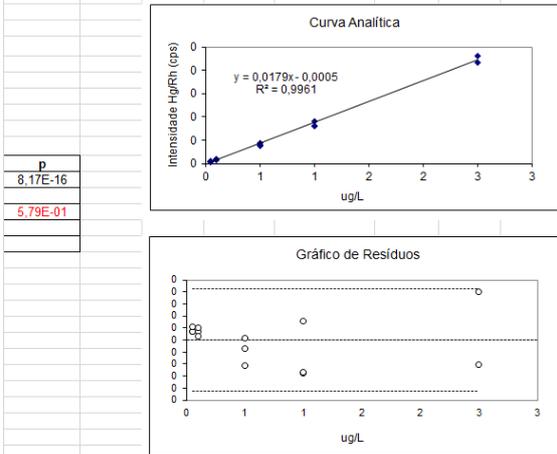
i	i	e <sub>i</sub>	e <sub>i-1</sub>	e <sub>i</sub> - e <sub>i-1</sub>	(e <sub>i</sub> - e <sub>i-1</sub> ) <sup>2</sup>	e <sub>i</sub> <sup>2</sup>
1	1	0,000	-	-	-	1,40E-07
2	2	0,000	0,000	0,000	7,41E-10	1,20E-07
3	3	0,001	0,000	0,000	3,90E-08	2,96E-07
4	4	0,000	0,001	0,000	3,34E-08	1,30E-07
5	5	0,000	0,000	0,000	4,09E-08	2,52E-08
6	6	0,001	0,000	0,000	1,26E-07	2,64E-07
7	7	0,000	0,001	0,000	1,77E-07	8,67E-09
8	8	0,000	0,000	0,000	2,16E-07	1,38E-07
9	9	-0,001	0,000	-0,001	4,76E-07	1,13E-06
10	10	0,001	-0,001	0,002	3,38E-06	6,05E-07
11	11	-0,001	0,001	-0,002	4,69E-06	1,93E-06
12	12	-0,001	-0,001	0,000	4,52E-09	1,75E-06
13	13	-0,001	-0,001	0,000	8,20E-08	1,07E-06
14	14	0,002	-0,001	0,003	9,26E-06	4,03E-06

n	14
α	0,05
d	1,593417
dL	1,045729
dU	1,349312

Y <sub>i</sub> est	Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> est	X <sub>i</sub> -X <sub>i</sub> med	Y <sub>i</sub> med	(Y <sub>i</sub> est-Y <sub>i</sub> med) <sup>2</sup>	Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> med	Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> med	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> est)	(X <sub>i</sub> -X <sub>i</sub> med)(Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> med)	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> est) <sup>2</sup>	(X <sub>i</sub> -X <sub>i</sub> med) <sup>2</sup>	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> med) <sup>2</sup>	(Y <sub>i</sub> -Y <sub>i</sub> med) <sup>2</sup>	t <sub>(1-α/2;n-2)</sub> S	-t <sub>(1-α/2;n-2)</sub> S
0,0004311	0	-0,6607	0	0	0	0	0	0,007573323	0	0,4365	0	0	0,00	0,00
0,0004311	0	-0,6607	0	0	0	0	0	0,007591303	0	0,4365	0	0	0,00	0,00
0,0004311	0	-0,6607	0	0	0	0	0	0,007460856	0	0,4365	0	0	0,00	0,00
0,00132679	0	-0,6107	0	0	0	0	0	0,006460869	0	0,3730	0	0	0,00	0,00
0,00132679	0	-0,6107	0	0	0	0	0	0,00658438	0	0,3730	0	0	0,00	0,00
0,00132679	0	-0,6107	0	0	0	0	0	0,006367665	0	0,3730	0	0	0,00	0,00
0,0084923	0	-0,2107	0	0	0	0	0	0,000775762	0	0,0444	0	0	0,00	0,00
0,0084923	0	-0,2107	0	0	0	0	0	0,000873602	0	0,0444	0	0	0,00	0,00
0,0084923	0	-0,2107	0	0	0	0	0	0,001019011	0	0,0444	0	0	0,00	0,00
0,0174492	0	0,2893	0	0	0	0	0	0,001724173	0	0,0837	0	0	0,00	0,00
0,0174492	0	0,2893	0	0	0	0	0	0,001097495	0	0,0837	0	0	0,00	0,00
0,0174492	0	0,2893	0	0	0	0	0	0,001116952	0	0,0837	0	0	0,00	0,00
0,04431988	0	1,7893	0	0	0	0	0	0,055500269	0	3,2015	0	0	0,00	0,00
0,04431988	0	1,7893	0	0	0	0	0	0,060945893	0	3,2015	0	0	0,00	0,00



p	8,17E-16
	5,79E-01

Nível	i	e <sub>i</sub>	Grupo (k)	Grupo 1 (k <sub>1</sub> )	Grupo 2 (k <sub>2</sub> )	d1	d2	d <sub>1</sub>	d <sub>2</sub>	d <sub>1</sub> <sup>2</sup>	d <sub>2</sub> <sup>2</sup>
1	1	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	2	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	3	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
2	4	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	5	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	6	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
3	7	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	8	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
	9	0,00	1	0,00		0,00		0,00		0,00	
4	10	0,00	2		0,00		0,00		0,00		0,00
	11	0,00	2		0,00		0,00		0,00		0,00
	12	0,00	2		0,00		0,00		0,00		0,00
5	13	0,00	2		0,00		0,00		0,00		0,00
	14	0,00	2		0,00		0,00		0,00		0,00

n	14
n/2	7
mediana k <sub>1</sub>	0,00
mediana k <sub>2</sub>	0,00

Estadística	Grupo 1	Grupo 2
n	9	5
Mediana	3,46E-04	-1,03E-03
dm	3,30E-04	1,10E-03
SQD	2,66E-06	1,28E-05
Var	1,28E-06	
t*	-1,216	
t <sub>0,975</sub>	2,179	
p	0,247	p > 0,05

## APÊNDICE E – “PLANILHA PARA CÁLCULO DE INCERTEZA – ARSÊNIO”

Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 0,05 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V. Veff/ Graus de liberdades	participação
C_1000	1000	concentração -As	2,0	mg/L	normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,0%
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,5%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,0%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,2%
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,0%
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	6,2%
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	23,4%
pip_3	50	Upip_1	0,130	µL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	11,7%
pip_1	50	Upip_1	0,130	µL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	11,7%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,0%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,5%
uc										100%
Resultado=		0,0500		µg/L				0,00391		
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k= 2,00		0,00782049 relativo		
								0,000391024		
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular						0,026 balão		0,053 pipeta		
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99%										
incerteza da pureza = 0,005780347 distribuição retangulat raiz 3										
0,005780925 3,34E-05										
Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 0,1 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V. Veff/ Graus de liberdades	participação
C_1000	1000	concentração -As	2,0	mg/L	normal	2,00	1	0,00100	infinito	6,1%
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,4%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	6,1%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	3,5%
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	6,1%
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	4,2%
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	15,9%
pip_3	100	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00650	infinito	39,9%
pip_1	50	Upip_1	0,130	µL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	8,0%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	6,1%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	3,7%
uc										100%
Resultado=		0,1000		µg/L				0,00747		
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k= 2,00		0,01494657 relativo		
								0,001494657		
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular						0,026 balão		0,053 pipeta		
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99%										
incerteza da pureza = 0,005780347 distribuição retangulat raiz 3										
0,005780925 3,34E-05										

Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração											
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição											
Objeto : Ponto de 0,5 ppb da curva padrão											
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K	
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO											
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V, Veff/ Graus de liberdades	participação	
C_1000	1000	concentração -As	2,0	mg/L	normal	2,00	1	0,00100	infinito	7,6%	
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,4%	
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	7,6%	
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	4,4%	
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	7,6%	
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	5,3%	
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	19,8%	
pip_3	500	Upip_1	3,300	uL	Normal	2,0	1	0,00330	infinito	25,2%	
pip_1	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	9,9%	
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	7,6%	
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	4,6%	
uc										100%	
Resultado=		Incerteza padrão Combinada								0,00495	
Resultado=		0,5000	µg/L								
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,00989748 relativo			
								0,004948738			
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602											
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL											
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer											
							0,026	balão			
							0,053	pipeta			
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular											
50= volume do balão											
5- variação da temperatura											
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza											
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3											
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05											
Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração											
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição											
Objeto : Ponto de 1 ppb da curva padrão											
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K	
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO											
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V, Veff/ Graus de liberdades	participação	
C_1000	1000	concentração -As	2,0	mg/L	normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,6%	
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,6%	
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,6%	
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,5%	
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,6%	
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	6,6%	
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	24,9%	
pip_3	1000	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00065	infinito	6,2%	
pip_1	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	12,4%	
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,6%	
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,8%	
uc										100%	
Resultado=		Incerteza padrão Combinada								0,00374	
Resultado=		1,0	µg/L								
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,00748933 relativo			
								0,007489328			
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602											
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL											
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer											
							0,026	balão			
							0,053	pipeta			
							0,011	balão			
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular											
50= volume do balão											
5- variação da temperatura											
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza											
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3											
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05											

Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração											
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição											
Objeto : Ponto de 2,5 ppb da curva padrão											
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K	
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO											
S <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V, Veff/ Graus de liberdades	participação	
C_1000	1000	concentração -As	2,0	mg/L	normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,2%	
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,5%	
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,2%	
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,6%	
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,2%	
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	6,7%	
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	23,9%	
pip_3	2500	Upip_1	5,300	uL	Normal	2,0	1	0,00106	infinito	9,8%	
pip_1	50	Upip_1	0,130	µL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	12,0%	
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,2%	
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,6%	
uc									Incerteza padrão Combinada	0,00384	
Resultado=		2,5000	µg/L								
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,00767427	relativo		
									0,019185677		
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602											
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL											
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer											
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular											
50= volume do balão											
5- variação da temperatura											
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza											
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangulat raiz 3											
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05											

Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição											
Objeto : preparo amostra											
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K	
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO											
S <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza	FONTE DE INCERTEZA	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) ( )	V, Veff	participação	
pip_2	500	Upip_2	3,3000	µL	Normal	2,0	1	0,00330	infinito	45,7%	
bv_2	15	U bv_2	0,0500	mL	Normal	5,00	1	0,00067	infinito	9,2%	
bv_2	15	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01575	mL	retangular	1,73	1	0,00061	infinito	8,4%	
pip-3	1000.000	Upip_3	5.300	µL	Normal	2.000	1.000	0,00265		36,7%	
uc									Incerteza padrão Combinada	0,00433	
Resultado=		21,993	mg/L								
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,0086544	relativo		
									0,190334026	mg/L	

Anexo E - Incerteza da Curva de Calibração												
	x	y1	y2	y3	Y4	Y5	ymédio	Y calculado	resíduo	(yi-Y)	(xi-X)	(xi-X) <sup>2</sup>
1	0,05	0,0016	0,0015	0,0017	0,0016		0,002	0,002029	0,000429	-0,020	-0,78	0,6084
2	0,1	0,0029	0,0031	0,0029	0,0039		0,003	0,003294	0,000094	-0,019	-0,73	0,5329
3	0,5	0,0140	0,0136	0,0117	0,0141		0,013	0,013407	0,000057	-0,008	-0,33	0,1089
	1	0,0270	0,0274	0,0274	0,0261		0,027	0,026048	-0,000927	0,005	0,17	0,0289
4	2,5	0,0684	0,0664	0,0546	0,0651		0,064	0,063972	0,000347	0,042	1,67	2,7889
								0,063972099			-0,83	0,6889

x(médio)=	0,83
y(médio)=	0,022
Sxx=	4,068
Desv. Pdr. Res. (S)	0,000626
N=	5
n =	20
nc =	4
xo=	0,7331 mg/L
u(xo)=	0,0079 mg/L
Y = a+bx	
a=	0,0008
b=	0,0253

calculo da concentração	0,7330958
BB75	

Anexo F - Calculo de Incerteza Repetitividade e Resultado											
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição											
Objeto : C=(abs-b)/a *(bv2/pip2)											
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K	
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO											
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza	FONTE DE INCERTEZA	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) ( )	V, Veff	participação	
Concentração	22,00	Repetitividade do processo	0,980000	ug/g	t student	2,65	1	0,01684	7	8,8%	
Amostra	22	Preparo da amostra	0,00865	ug/g	Normal	2,00	1	0,00020	infinito	0,1%	
conc. padrão	1,0	Preparo dos padrões 4	0,007489	ug/L	Normal	2,00	1	0,00374	infinito	2,0%	
Curva	0,733	Curva	0,007921	ug/L	retangular	1,73	1	0,00624	infinito	3,3%	
conc. padrão	0,05	Preparo dos padrões 1	0,007820	ug/L	Normal	2,00	1	0,07820	infinito	40,9%	
conc. padrão	0,1	Preparo dos padrões 2	0,014947	ug/L	Normal	2,00	1	0,07473	infinito	39,0%	
conc. padrão	0,5	Preparo dos padrões 3	0,009897	ug/L	Normal	2,00	1	0,00990	infinito	5,2%	
conc. padrão	2,5	Preparo dos padrões 5	0,007674	ug/L	Normal	2,00	1	0,00153	infinito	0,8%	
										100,0%	
uc		Incerteza padrão Combinada						0,11017	1,3E+04		
Resultado=	22	ug/g									
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,220343	relativo		
								4,84598	ug/g		
								22,0 %			

APÊNDICE F – “PLANILHA PARA CÁLCULO DE INCERTEZA – CÁDMIO”

Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 0,05 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
$s_{(i)}$	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	$C_{(i)}$	$u(i)$ Incerteza relativa	V, Veff/ Graus de liberdades	participação
C_1000	1000	concentração -Cd	4.0	mg/L	normal	2,00	1	0,00200	infinito	16,5%
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,5%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,3%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	4,8%
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,3%
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	5,7%
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	21,5%
pip_3	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	10,7%
pip_1	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	10,7%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,3%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,0%
uc										100%
Resultado=		0,0500		µg/L		k= 2,00		0,00855336		relativo
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)						0,000427668		
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular						0,026 balão		0,053 pipeta		
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3										
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05										
Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 0,1 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
$s_{(i)}$	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	$C_{(i)}$	$u(i)$ Incerteza relativa	V, Veff/ Graus de liberdades	participação
C_1000	1000	concentração -Cd	4.0	%	normal	2,00	1	0,00200	infinito	11,6%
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,3%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	5,8%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	3,5%
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	5,8%
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	4,1%
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	15,0%
pip_3	100	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00650	infinito	37,6%
pip_1	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	7,5%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	5,8%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	3,5%
uc										100%
Resultado=		0,1000		µg/L		k= 2,00		0,01534275		relativo
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)						0,001534275		
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular						0,026 balão		0,053 pipeta		
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3										
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05										

Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 0.5 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V. Veff/ Graus de liberdades	participação
C_1000	1000	concentração -Cd	4,0	mg/L	normal	2,00	1	0,00200	infinito	14,2%
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,4%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	7,1%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	4,1%
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	7,1%
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	4,9%
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	18,4%
pip_3	500	Upip_1	3,300	uL	Normal	2,0	1	0,00330	infinito	23,4%
pip_1	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	9,2%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	7,1%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	4,3%
uc										100%
Resultado=		0,5000		µg/L				0,00524		
U		0,5000		µg/L		k= 2,00		0,01048618 relativo		
								0,005243091		
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
						0,026	balão			
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3=						0,053	pipeta			
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangulat raiz 3										
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05										
Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 1 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V. Veff/ Graus de liberdades	participação
C_1000	1000	concentração -Cd	4,00	mg/L	normal	2,00	1	0,00200	infinito	17,5%
C	1000	pureza 99,9	0,10	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,5%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,10	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,7%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,0%
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,7%
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	6,0%
pip_2	250	Upip_1	1,30	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	22,7%
pip_3	1000	Upip_1	1,30	uL	Normal	2,0	1	0,00065	infinito	5,7%
pip_1	50	Upip_1	0,13	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	11,3%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,7%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,3%
uc										100%
Resultado=		1,0		µg/L				0,00413		
U		1,0		µg/L		k= 2,00		0,00825167 relativo		
								0,008251668		
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
						0,026	balão			
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3=						0,053	pipeta			
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangulat raiz 3										
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05										

Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração											
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição											
Objeto : Ponto de 2,5 ppb da curva padrão											
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K	
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO											
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V, Veff/ Graus de liberdades	participação	
C_1000	1000	concentração -Cd	4,0	mg/L	normal	2,00	1	0,00200	infinito	16,9%	
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,5%	
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,4%	
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	4,9%	
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,4%	
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	5,8%	
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	21,9%	
pip_3	2500	Upip_1	5,300	uL	Normal	2,0	1	0,00106	infinito	8,9%	
pip_1	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	11,0%	
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,4%	
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,1%	
										100%	
uc	Incerteza padrão Combinada								0,00421		
Resultado=	0,5000	µg/L									
U	Incerteza padrão Expandida (95,45%)					k=	2,00	0,00841988	relativo		
										0,004209942	

balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602  
 pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL  
 Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer

Influência da temperatura =  $VT=0,00021*50*5/ \text{raiz}3=$  - distribuição retangular  
 50= volume do balão  
 5- variação da temperatura  
 0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza  
 pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangulat raiz 3  
 incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05

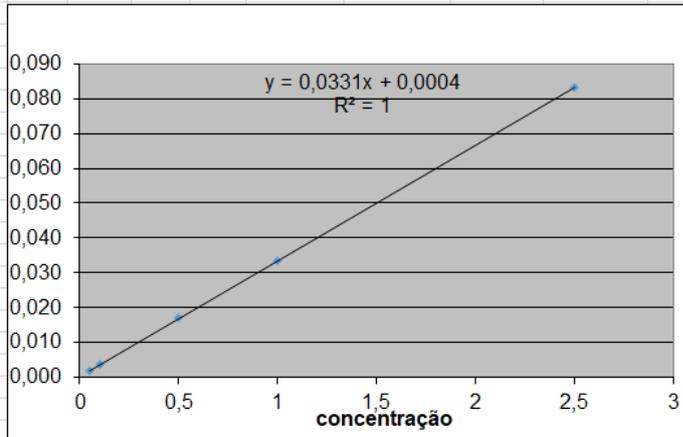
0,026 balão  
 0,053 pipeta

Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição											
Objeto : preparo amostra											
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K	
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO											
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza	FONTE DE INCERTEZA	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) ( )	V, Veff	participação	
pip_2	500	Upip_2	3,3000	µL	Normal	2,0	1	0,00330	infinito	45,7%	
bv_2	15	U bv_2	0,0500	mL	Normal	5,00	1	0,00067	infinito	9,2%	
bv_2	15	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01575	mL	retangular	1,73	1	0,00061	infinito	8,4%	
pip-3	1000,000	Upip_3	5,300	µL	Normal	2,000	1,000	0,00265		36,7%	
										100,0%	
uc	Incerteza padrão Combinada								0,00433		
Resultado=	1,170	mg/L									
U	Incerteza padrão Expandida (95,45%)					k=	2,00	0,0086544	relativo		
										0,010124261 mg/L	

**Anexo E - Incerteza da Curva de Calibração**

	x	y1	y2	y3	Y4	Y5	ymédio	Y calculado	residuo	(yi-Y)	(xi-X)	(xi-X) <sup>2</sup>
1	0,05	0,0016	0,0026	0,0017	0,0019		0,002	0,002102	0,000152	-0,026	-0,78	0,6084
2	0,1	0,0032	0,0037	0,0044	0,0039		0,004	0,003757	-0,000043	-0,024	-0,73	0,5329
3	0,5	0,0168	0,0161	0,0156	0,0197		0,017	0,017003	-0,000047	-0,011	-0,33	0,1089
	1	0,0321	0,0329	0,0297	0,0400		0,034	0,033559	-0,000116	0,006	0,17	0,0289
4	2,5	0,0813	0,0794	0,0717	0,1003		0,083	0,083229	0,000054	0,055	1,67	2,7889
								0,083229456			-0,83	0,6889

x(médio)=	0,83
y(médio)=	0,028
Sxx=	4,068
Desv. Pdr. Res. (S)	0,000120
N=	5
n =	20
nc =	3
xo=	0,0390 mg/L
u(xo)=	0,0019 mg/L
Y = a+bx	
a=	0,0004
b=	0,0331



calculo da concentração BB75 0,0389949

**Anexo F - Calculo de Incerteza Repetitividade e Resultado**

**Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição**

Objeto :  $C=(abs-b)/a *(bv2/pip2)$

A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
$s_{(i)}$	Estimativa da grandeza	FONTE DE INCERTEZA	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	$C_{(i)}$	$u(i) ( )$	V, Veff	participação
Concentração	1,17	Repetitividade do processo	0,060000	ug/g	t student	2,65	1	0,01938	13	8,5%
Amostra	2	Preparo da amostra	0,00865	ug/g	Normal	2,00	1	0,00216	infinito	0,9%
conc. padrão	1,0	Preparo dos padrões 4	0,008252	ug/L	Normal	2,00	1	0,00413	infinito	1,8%
Curva	0,039	Curva	0,001889	ug/L	retangular	1,73	1	0,02797	infinito	12,3%
conc. padrão	0,05	Preparo dos padrões 1	0,008553	ug/L	Normal	2,00	1	0,08553	infinito	37,5%
conc. padrão	0,1	Preparo dos padrões 2	0,015343	ug/L	Normal	2,00	1	0,07671	infinito	33,6%
conc. padrão	0,5	Preparo dos padrões 3	0,010486	ug/L	Normal	2,00	1	0,01049	infinito	4,6%
conc. padrão	2,5	Preparo dos padrões 5	0,008420	ug/L	Normal	2,00	1	0,00168	infinito	0,7%
										100,0%
uc		Incerteza padrão Combinada						0,12039	1,9E+04	
Resultado=	1,17	ug/g								
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,240777	relativo	
								0,28167	ug/g	

APÊNDICE G – “PLANILHA PARA CÁLCULO DE INCERTEZA – CHUMBO”

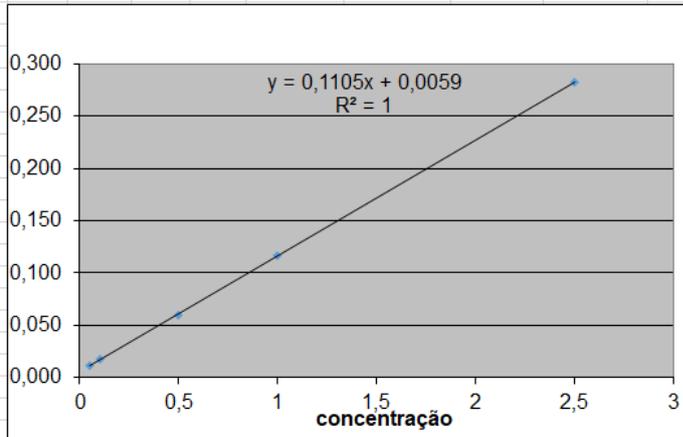
Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 0,05 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) Incerteza relativa	V, Veff/ Graus de liberdades	participação
C_1000	1000	concentração Pb	4,0	mg/L	normal	2,00	1	0,00200	infinito	16,5%
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,5%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,3%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	4,8%
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,3%
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	5,7%
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	21,5%
pip_3	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	10,7%
pip_1	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	10,7%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,3%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,0%
uc										100%
Resultado=		0,0500		µg/L		k=		2,00		0,00855336 relativo
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)								0,000427668
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*/ raiz3= - distribuição retangular						0,026 balão		0,053 pipeta		
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3										
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05										
Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 0,1 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) Incerteza relativa	V, Veff/ Graus de liberdades	participação
C_1000	1000	concentração Pb	4,0	%	normal	2,00	1	0,00200	infinito	11,6%
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,3%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	5,8%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	3,3%
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	5,8%
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	4,0%
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	15,0%
pip_3	100	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00650	infinito	37,6%
pip_1	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	7,5%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	5,8%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	3,5%
uc										100%
Resultado=		0,1000		µg/L		k=		2,00		0,01534275 relativo
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)								0,001534275
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*/ raiz3= - distribuição retangular						0,026 balão		0,053 pipeta		
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3										
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05										

Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 0.5 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V. Veff/ Graus de liberdades	participação
C_1000	1000	concentração Pb	4,0	mg/L	normal	2,00	1	0,00200	infinito	14,2%
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,4%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	7,1%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,050	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	4,1%
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,050	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	7,1%
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,030	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	4,9%
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	18,4%
pip_3	500	Upip_1	3,300	uL	Normal	2,0	1	0,00330	infinito	23,4%
pip_1	50	Upip_1	0,130	µL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	9,2%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,020	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	7,1%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,010	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	4,3%
uc										100%
Resultado=		0,5000 µg/L		Incerteza padrão Expandida (95,45%)		k= 2,00		0,01048618 relativo		0,005243091
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 0602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular										
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3										
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05										
Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 1 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V. Veff/ Graus de liberdades	participação
C_1000	1000	concentração Pb	4,0	mg/L	normal	2,00	1	0,00200	infinito	17,4%
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,5%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,7%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,0%
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,7%
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	6,0%
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	22,6%
pip_3	1000	Upip_1	1,400	µL	Normal	2,0	1	0,00070	infinito	6,1%
pip_1	50	Upip_1	0,130	µL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	11,3%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,7%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,3%
uc										100%
Resultado=		1,0 µg/L		Incerteza padrão Expandida (95,45%)		k= 2,00		0,00826801 relativo		0,008268013
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 0602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular										
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3										
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05										

Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 2,5 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V, Veff/ Graus de liberdades	participação
C_1000	1000	concentração Pb	4,0	mg/L	normal	2,00	1	0,00200	infinito	16,9%
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,5%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,4%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	4,9%
bv_5	25	U bv_5/vidraria	0,05	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,4%
bv_5	25	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,03	mL	retangular	1,73	1	0,00069	infinito	5,8%
pip_2	250	Upip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00260	infinito	21,9%
pip_3	2500	Upip_1	5,300	uL	Normal	2,0	1	0,00106	infinito	8,9%
pip_1	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	11,0%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	8,4%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,1%
uc										100%
Resultado=		0,5000	µg/L	Incerteza padrão Combinada				0,00421		
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,00841988	relativo	
								0,004209942		
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular						0,026	balão			
50= volume do balão						0,053	pipeta			
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangulat raiz 3										
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : preparo amostra										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza	FONTE DE INCERTEZA	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) ( )	V, Veff	participação
pip_2	500	Upip_2	3,3000	µL	Normal	2,0	1	0,00330	infinito	45,7%
bv_2	15	U bv_2	0,0500	mL	Normal	5,00	1	0,00067	infinito	9,2%
bv_2	15	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01575	mL	retangular	1,73	1	0,00061	infinito	8,4%
pip-3	1000,000	Upip_3	5,300	µL	Normal	2,000	1,000	0,00265		36,7%
uc										100,0%
Resultado=		49,507	mg/L	Incerteza padrão Combinada				0,00433		
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,0086544	relativo	
								0,428452814	mg/L	

Anexo E - Incerteza da Curva de Calibração												
	x	y1	y2	y3	Y4	Y5	ymédio	Y calculado	residuo	(yi-Y)	(xi-X)	(xi-X) <sup>2</sup>
1	0,05	0,0108	0,0109	0,0115			0,011	0,011424	0,000357	-0,087	-0,78	0,6084
2	0,1	0,0162	0,0164	0,0206			0,018	0,016950	-0,000783	-0,080	-0,73	0,5329
3	0,5	0,0608	0,0596	0,0599			0,060	0,061160	0,001060	-0,038	-0,33	0,1089
4	1	0,1203	0,1170	0,1142			0,117	0,116423	-0,000744	0,020	0,17	0,0289
5	2,5	0,2890	0,2789	0,2784			0,282	0,282210	0,000110	0,184	1,67	2,7889
								0,282209796			-0,83	0,6889

x(médio)=	0,83
y(médio)=	0,098
Sxx=	4,068
Desv. Pdr. Res. (S)	0,000900
N=	5
n =	15
nc =	3
xo=	1,6502 mg/L
u(xo)=	0,0045 mg/L
Y = a+bx	
a=	0,0059
b=	0,1105



calculo da concentração BB75 1,6502406

Anexo F - Calculo de Incerteza Repetitividade e Resultado

Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição

Objeto : C=(abs-b)/a \*(bv2/pip2)

A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza	FONTE DE INCERTEZA	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) ( )	V, Veff	participação
Concentração	49,51	Repetitividade do processo	3,400000	ug/g	t student	2,65	1	0,02596		12,6%
Amostra	49,51	Preparo da amostra	0,00865	ug/g	Normal	2,00	1	0,00009	infinito	0,0%
conc. padrão	1,0	Preparo dos padrões 4	0,008268	ug/L	Normal	2,00	1	0,00413	infinito	2,0%
Curva	1,650	Curva	0,004451	ug/L	retangular	1,73	1	0,00156	infinito	0,8%
conc. padrão	0,05	Preparo dos padrões 1	0,008553	ug/L	Normal	2,00	1	0,08553	infinito	41,5%
conc. padrão	0,1	Preparo dos padrões 2	0,015343	ug/L	Normal	2,00	1	0,07671	infinito	37,2%
conc. padrão	0,5	Preparo dos padrões 3	0,010486	ug/L	Normal	2,00	1	0,01049	infinito	5,1%
conc. padrão	2,5	Preparo dos padrões 5	0,008420	ug/L	Normal	2,00	1	0,00168	infinito	0,8%
										100,0%
uc		Incerteza padrão Combinada						0,11835		
Resultado=	49,51	ug/g								
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,236703	relativo	
								11,71849	ug/g	
								23,7 %		

APÊNDICE H – “PLANILHA PARA CÁLCULO DE INCERTEZA – MERCÚRIO”

Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração											
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição											
Objeto : Ponto de 0,05 ppb da curva padrão											
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K	
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO											
§(i)	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V. Veff/ Graus de liberdades	participação	
C_10	10	concentração Hg	0,1	mg/L	normal	2,00	1	0,00500	infinito	46,2%	
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,5%	
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,2%	
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,3%	
										100%	
uc		Incerteza padrão Combinada							0,00557		
Resultado=		0,0500		µg/L							
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)					k= 2,00		0,01114451 relativo		
0,000557225											
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602											
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL											
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer											
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular							0,026 balão		0,053 pipeta		
50= volume do balão											
5- variação da temperatura											
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza											
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3											
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05											
Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração											
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição											
Objeto : Ponto de 0,1 ppb da curva padrão											
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K	
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO											
§(i)	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V. Veff/ Graus de liberdades	participação	
C_10	10	concentração Hg	0,1	mg/L	normal	2,00	1	0,00500	infinito	31,2%	
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,4%	
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	6,2%	
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	3,6%	
										100%	
uc		Incerteza padrão Combinada							0,00846		
Resultado=		0,1000		µg/L							
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)					k= 2,00		0,01692454 relativo		
0,001692454											
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602											
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL											
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer											
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular							0,026 balão		0,053 pipeta		
50= volume do balão											
5- variação da temperatura											
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza											
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3											
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05											

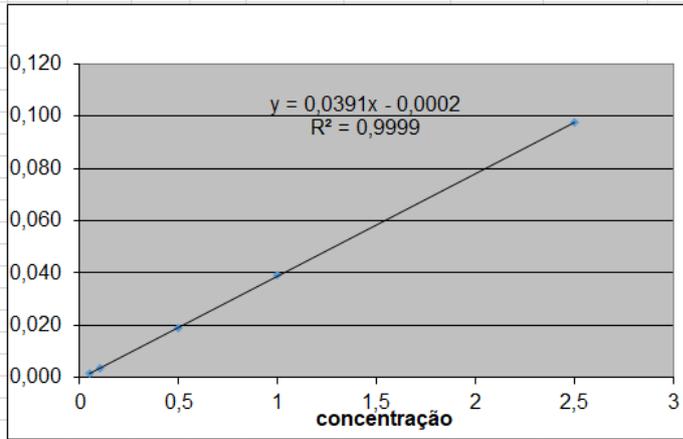
Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 0.5 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V <sub>i</sub> Veff/ Graus de liberdades	participação
C_10	10	concentração Hg	0,100	mg/L	normal	2,00	1	0,00500	infinito	46,2%
C	1000	purezza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,5%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,2%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,050	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,3%
pip_3	500	U pip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	12,0%
pip_1	50	U pip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	12,0%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,020	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,2%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,010	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,6%
uc										100%
Resultado=		0,5000		µg/L				0,00557		
U		0,00557		Incerteza padrão Expandida (95,45%)		k= 2,00		0,01114451 relativo		
								0,005572253		
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular										
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3										
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05										
Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração										
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição										
Objeto : Ponto de 1 ppb da curva padrão										
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V <sub>i</sub> Veff/ Graus de liberdades	participação
C_10	10	concentração Hg	0,1	mg/L	normal	2,00	1	0,00500	infinito	49,2%
C	1000	purezza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,6%
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,8%
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,7%
pip_3	1000	U pip_1	1,300	uL	Normal	2,0	1	0,00065	infinito	6,4%
pip_1	50	U pip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	12,8%
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,8%
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	6,0%
uc										100,3%
Resultado=		1,0		µg/L				0,00546		
U		0,00546		Incerteza padrão Expandida (95,45%)		k= 2,00		0,01091467 relativo		
								0,01091467		
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602										
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL										
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer										
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular										
50= volume do balão										
5- variação da temperatura										
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza										
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangular raiz 3										
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05										

Anexo c - Preparo dos Padrões da Curva de Calibração											
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição											
Objeto : Ponto de 2,5 ppb da curva padrão											
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K	
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO											
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza / Valor de Xi	FONTE DE INCERTEZA / GRANDEZA DE ENTRADA Xi	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) incerteza relativa	V, Veff/ Graus de liberdades	participação	
C_10	10	concentração Hg	0,1	mg/L	normal	2,00	1	0,00500	infinito	47,3%	
C	1000	pureza 99,9	0,100	%	retangular	1,73	1	0,00006	infinito	0,5%	
bv_4	50	U bv_4/ Vidraria	0,100	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,5%	
bv_4	50	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,05	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,5%	
pip_3	2500	Upip_1	5,300	uL	Normal	2,0	1	0,00106	infinito	10,0%	
pip_1	50	Upip_1	0,130	uL	Normal	2,0	1	0,00130	infinito	12,3%	
bv_6	10	U bv_5/vidraria	0,02	mL	Normal	2,00	1	0,00100	infinito	9,5%	
bv_6	10	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01	mL	retangular	1,73	1	0,00058	infinito	5,8%	
uc										100%	
Resultado=		2,2500	µg/L	Incerteza padrão Combinada						0,00552	
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,01104239	relativo		
0,024845383											
balão preparo da curva de calibração de 50 mL- V07195/ balão de 25 mL V 00602											
pipeta - variavel 10-100 - volume de 50 uL											
Padrões AS,Cd,Pb sigma e HG perkin Elmer											
Influência da temperatura = VT=0,00021*50*5/ raiz3= - distribuição retangular											
50= volume do balão											
5- variação da temperatura											
0,00021 coeficiente de expansão - POP de incerteza											
pureza do padrao 99,99% 0,005780347 distribuição retangulat raiz 3											
incerteza da pureza = 0,005780925 3,342E-05											
Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição											
Objeto : preparo amostra											
A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G/(B)	J	K	
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO											
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza	FONTE DE INCERTEZA	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) ( )	V, Veff	participação	
pip_2	500	Upip_2	3,3000	µL	Normal	2,0	1	0,00330	infinito	45,7%	
bv_2	15	U bv_2	0,0500	mL	Normal	5,00	1	0,00067	infinito	9,2%	
bv_2	15	Influência da temperatura(variação para 5 graus)	0,01575	mL	retangular	1,73	1	0,00061	infinito	8,4%	
pip-3	1000,000	Upip_3	5,300	µL	Normal	2,000	1,000	0,00265		36,7%	
uc										100,0%	
Resultado=		0,899	mg/L	Incerteza padrão Combinada						0,00433	
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,0086544	relativo		
0,007781103 mg/L											

**Anexo E - Incerteza da Curva de Calibração**

	x	y1	y2	y3	Y4	Y5	ymédio	Y calculado	resíduo	(yi-Y)	(xi-X)	(xi-X) <sup>2</sup>
1	0,05	0,0022	0,0016	0,0018			0,002	0,001775	-0,000091	-0,030	-0,78	0,6084
2	0,1	0,0036	0,0035	0,0039			0,004	0,003729	0,000062	-0,029	-0,73	0,5329
3	0,5	0,0187	0,0175	0,0206			0,019	0,019355	0,000422	-0,013	-0,33	0,1089
	1	0,0386	0,0373	0,0423			0,039	0,038888	-0,000512	0,007	0,17	0,0289
4	2,5	0,0967	0,0888	0,1066			0,097	0,097487	0,000120	0,065	1,67	2,7889
								0,097486549			-0,83	0,6889

x(médio)=	0,83
y(médio)=	0,032
Sxx=	4,068
Desv. Pdr. Res. (S)	0,000394
N=	5
n =	15
nc =	3
xo=	0,0300 mg/L
u(xo)=	0,0054 mg/L
Y = a+bx	
a=	-0,0002
b=	0,0391



calculo da concentração BB75 0,0299699

**Anexo F - Calculo de Incerteza Repetitividade e Resultado**

**Planilha de Cálculo de Incerteza da Medição**

Objeto :  $C=(abs-b)/a *(bv2/pip2)$

A	B	C	D	E	F	G	H	I=D*H/G(B)	J	K
PLANILHA DE CÁLCULO DE INCERTEZA DA MEDIÇÃO										
s <sub>(i)</sub>	Estimativa da grandeza	FONTE DE INCERTEZA	Valor da incerteza ±	Unidade	Distr.	DIV.	C <sub>(i)</sub>	u(i) ( )	V, Veff	participação
Concentração	0,90	Repetitividade do processo	0,044000	ug/g	t student	2,65	1	0,01848	7	5,4%
Amostra	1,057	Preparo da amostra	0,00865	ug/g	Normal	2,00	1	0,00409	infinito	1,2%
conc. padrão	1,0	Preparo dos padrões 4	0,010915	ug/L	Normal	2,00	1	0,00546	infinito	1,6%
Curva	0,030	Curva	0,005443	ug/L	retangular	1,73	1	0,10485	infinito	30,6%
conc. padrão	0,05	Preparo dos padrões 1	0,011145	ug/L	Normal	2,00	1	0,11145	infinito	32,6%
conc. padrão	0,1	Preparo dos padrões 2	0,016925	ug/L	Normal	2,00	1	0,08462	infinito	24,7%
conc. padrão	0,5	Preparo dos padrões 3	0,011145	ug/L	Normal	2,00	1	0,01114	infinito	3,3%
conc. padrão	2,5	Preparo dos padrões 5	0,011042	ug/L	Normal	2,00	1	0,00221	infinito	0,6%
										100,0%
uc		Incerteza padrão Combinada						0,17633	5,8E+04	
Resultado=	0,90	ug/g								
U		Incerteza padrão Expandida (95,45%)				k=	2,00	0,352658	relativo	
								0,31707	ug/g	
									35,3 %	