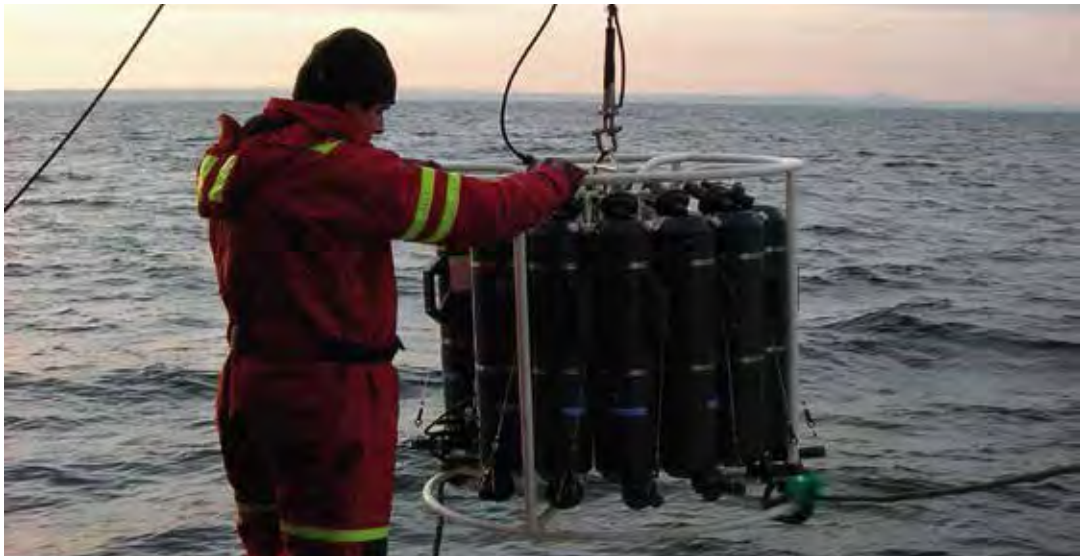
Bio Mar PT

IPMA

Curso de formação

Formação avançada de ICP-MS



Pedro Brito

Mafalda Baptista

Joana Raimundo

Cristina Almeida

eea grants · Governo de Portugal · dgpm · ipma · ciimar · enepc

Curso de Formação

Formação Avançada em ICP-MS

1. **Noções de química ambiental**
2. **Identificação dos tipos de equipamentos mais adequados para quantificar elementos químicos em amostras ambientais.**
3. **Enquadramento do curso no âmbito da Directiva-Quadro "Estratégia Marinha"**
4. **Análise de resultados (aplicação aos Descritores 8 e 9)**
5. **Noções de espectrometria de massa com plasma inductivamente acoplado (ICP-MS)**
6. **Interferências na quantificação**
7. **Noções, aplicabilidade e principais usos da Diluição Isotópica**
8. **Cálculos da concentração de elementos e das proporções dos isótopos**
9. **Validação de métodos analíticos (Marisa queres fazer sugestões)**
    a. **curvas de calibração e materiais de referência certificados;**
    b. **cálculo de reprodutibilidade, limite de detecção e limite de quantificação;**
    c. **estimativa das incertezas**
10. **Preparação de amostras em matrizes de água, partículas, sedimentos e tecidos de organismos**
    a. **métodos de modificação de matriz e de resinas absorventes para a determinação de elementos químicos em águas salinas**
    b. **métodos de remoção total, selectiva e sequencial de elementos em sedimentos**
    c. **métodos de mineralização de tecidos com vista à determinação de elementos químicos**
11. **Aplicação da técnica de ICP-MS a amostras reais:**
    a. **água do mar e águas estuarinas com salinidade variável;**
    b. **sedimento arenoso e vasoso;**
    c. **organismos (flora e fauna); e**
    d. **tecidos de organismos**
12. **Cálculo das concentrações de elementos químicos nas amostras reais**

Curso de Formação

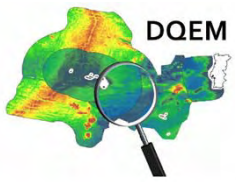
Avançada em ICP-MS

Formadores: Joana Raimundo e Pedro Brito

24 a 27 de Novembro de 2015

Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P. (IPMA)

Directiva Quadro da Estratégia Marinha



25.6.2008 PT Jornal Oficial da União Europeia L 164/19

DIRECTIVAS

DIRECTIVA 2008/56/CE DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO

de 17 de Junho de 2008

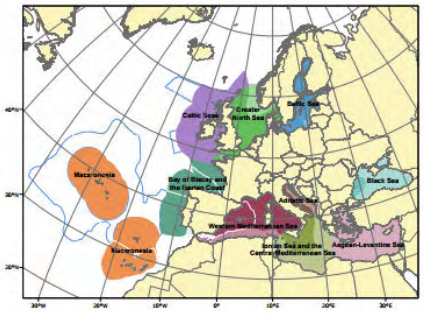
que estabelece um quadro de acção comunitária no domínio da política para o meio marinho (Directiva-Quadro «Estratégia Marinha»)

(Texto relevante para efeitos do EEE)

DQEM

O principal objetivo da Diretiva é atingir o "Bom Estado Ambiental" (GES) de todas as águas marinhas da União Europeia até 2020.

A DQEM requer que os Estados-Membros Europeus desenvolvam estratégias que possam levar a programas de monitorização e de medidas para alcançar ou manter um bom estado ambiental (GES) nos mares europeus.

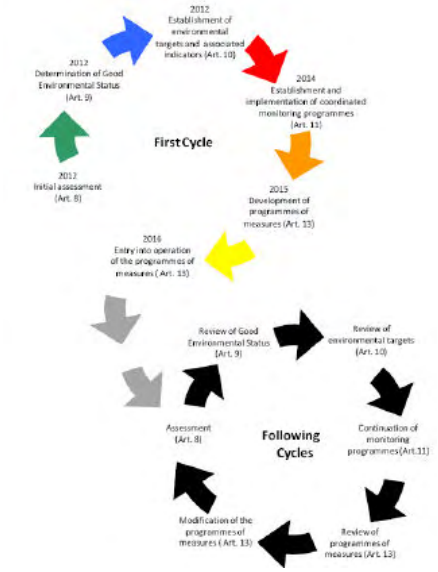


DQEM

A DQEM estabelece 11 descritores para a classificação do “GES”

Descritor da DQEM	Abreviatura	Classificação
Biodiversidade	D1	Estado
Espécies não indígenas	D2	Pressão/Estado
Espécies comerciais de peixes e moluscos	D3	Pressão/Estado
Cadeia alimentar marinha	D4	Estado
Eutrofização antropogénica	D5	Pressão/Estado
Integridade dos fundos marinhos	D6	Pressão/Estado
Alteração permanente das condições hidrográficas	D7	Pressão/Estado
Concentração de contaminantes	D8	Pressão
Contaminantes em peixe e marisco para consumo humano	D9	Pressão
Lixo marinho	D10	Pressão
Ruído submarino	D11	Pressão

DQEM



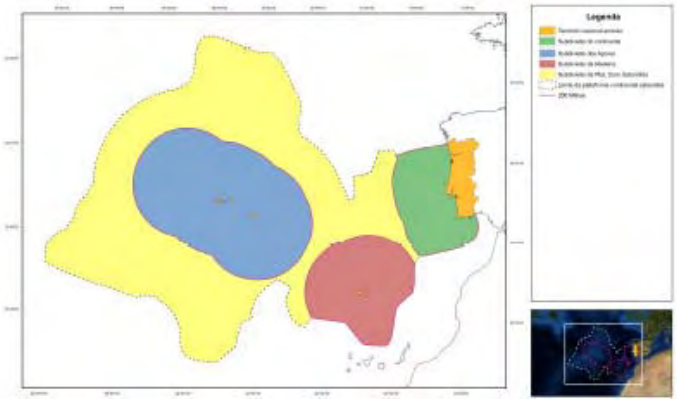
Ciclo de implementação da DQEM

(modificado de Claussen et al., 2011)

Claussen U, Connor D, de Vrees L, Leppänen JM, Percelay J, Kapari M, Mihail O, Ejdung G, Rendell J. 2011. Common Understanding of (Initial) Assessment, 639 Determination of Good Environmental Status (GES) and Establishment of Environmental Targets (Art. 8, 9 & 10 640 MSFD). WG GES EU MSFD. https://circabc.europa.eu/sd/d/ce7e2776-6ac6-4a41-846f-a04832c32da7/05_Info_Common_understanding_final.pdf

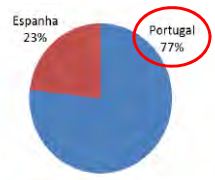
DQEM - Portugal

As águas marinhas portuguesas são parte integrante da região marinha do Atlântico Nordeste, incluindo-se também na sub-região da Macaronésia (extensão da plataforma continental), e na sub-região do Golfo da Biscaia e Costa Ibérica



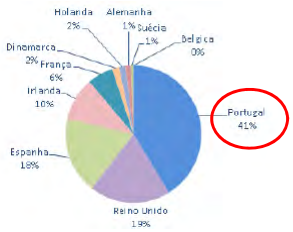
DQEM - Portugal

Proporção de mar sob soberania dos Estados-Membros:

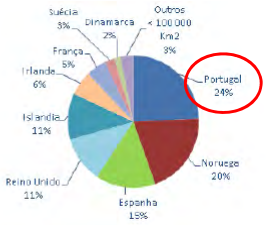


Sub-região da Macaronésia

Sub-região do Golfo da Biscaia e Costa Ibérica



Em relação aos países da UE



Em relação às Partes contratantes da OSPAR

24 a 27 de Novembro 2015

(Fonte: Dados obtidos em www.seaaroundus.org)

DQEM - Portugal

Relatório de avaliação inicial

D8 e D9

GOVERNO DE PORTUGAL

Diretiva Quadro Estratégia Marinha

Estratégia Marinha para a subdivisão do

Continente

Outubro de 2012

24 a 27 de Novembro 2015

DQEM - Portugal

D8 – Teores de contaminantes que não dão origem a efeitos de poluição

- Concentração de contaminantes: 3 matrizes – biota, sedimentos e águas
- Efeitos dos contaminantes – vários grupos taxonómicos, relação causa/efeito

D9 – Contaminantes nos peixes e mariscos para consumo humano

- Concentração de contaminantes e número de contaminantes acima dos limites
- Frequência de superação dos níveis regulamentares

✓ Directiva 2008/105/CE

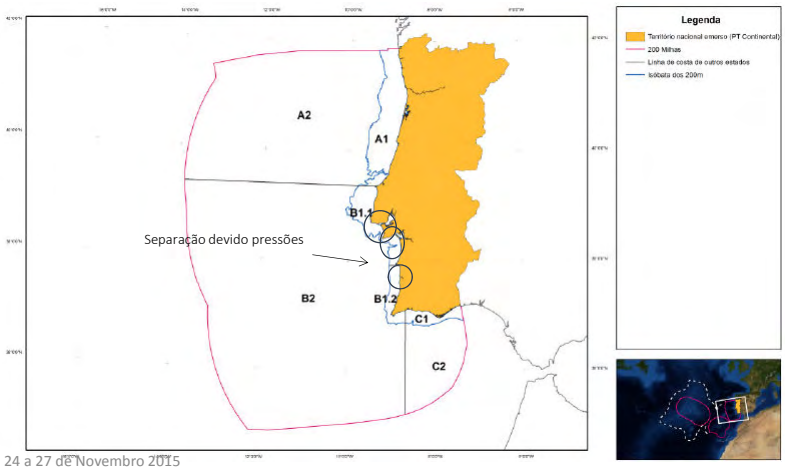
✓ Regulamento nº466/2011

✓ Sediment Quality Guidelines developed for the National Status and Trends Program

DQEM - Portugal

Área de avaliação

Harmonização entre a Directiva Quadro da Água (DQA) e Directiva Quadro da Estratégia Marinha (DQEM)

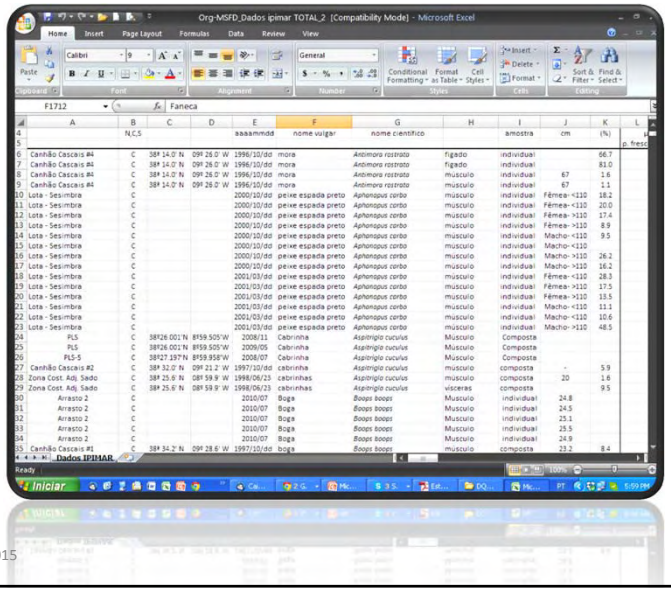


DQEM - Portugal

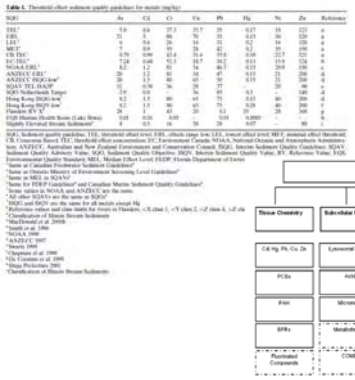
Amostragem e tratamento de amostras

DQEM - Portugal

Compilação de dados



DQEM - Portugal



Regulatory levels for cadmium set in community legislation for public health reasons

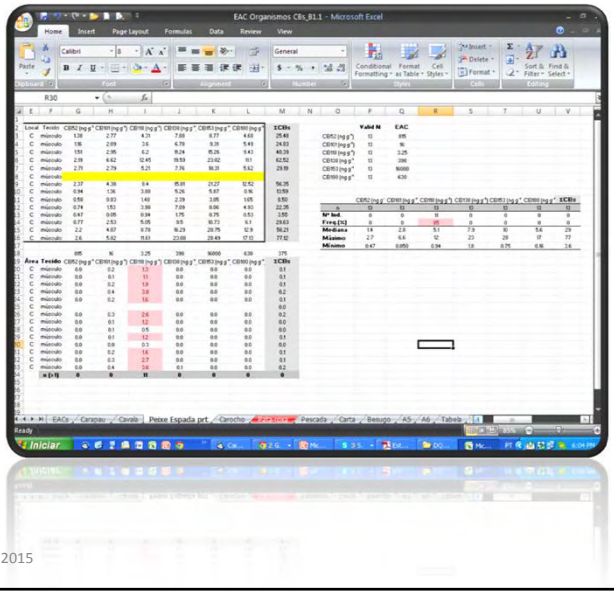
Maximum levels for cadmium in fish and other seafood[1] (mg/kg wet weight)	
Muscle meat of fish, excluding fish species listed below	0,050
Muscle meat of the following fish: bonito (*Sarda sarda*) common two-banded seabream (*Diplodus vulgaris*) eel (*Anguilla anguilla*) grey mullet (*Mugil labrosus labrosus*) horse mackerel or scad (*Trachurus species*) louvar or luvar (*Luvarus imperialis*) mackerel (*Scomber species*) sardine (*Sardina pilchardus*) sardinops (*Sardinops species*) tuna (*Thunnus species, Euthynnus species, Katsuwonus pelamis*) wedge sole (*Dicologoglossa cuneata*)	0,10
Muscle meat of the following fish: bullet tuna (*Auxis species*)	0,20
Muscle meat of the following fish: anchovy (*Engraulis species*) swordfish (*Xiphias gladius*)	0,30
Crustaceans, excluding brown meat of crab and excluding head and thorax meat of lobster and similar large crustaceans (*Nephropidae and Palinuridae*)	0,50
Bivalve molluscs	1,0
Cephalopods (without viscera)	1,0

Regulatory levels for lead set in community legislation for public health reasons

Maximum levels for lead in fish and other seafood[1] (mg/kg wet weight)	
Muscle meat of fish	0,30
Crustaceans, excluding brown meat of crab and excluding head and thorax meat of lobster and similar large crustaceans (Nephropidae and Palinuridae)	0,50
Bivalve molluscs	1,5
Cephalopods (without viscera)	1,0

DQEM - Portugal

Tratamento de dados



DQEM - Portugal

Avaliação D8

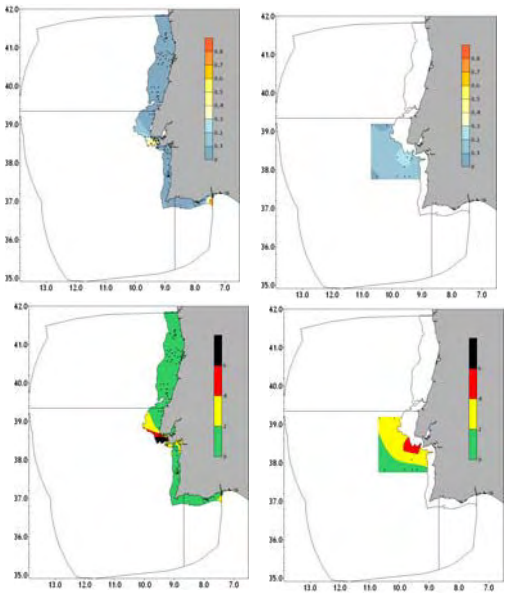
Teores de contaminantes que não dão origem a efeitos de poluição

DQEM - Portugal

Sedimentos

Concentrações Hg

Factores de Enriquecimento Hg



DQEM - Portugal

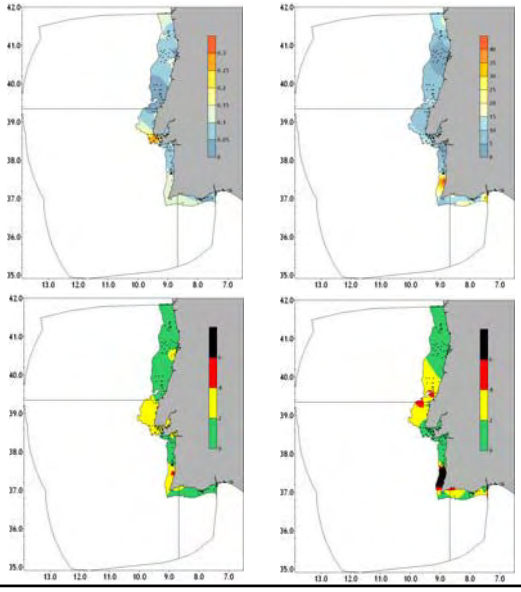
Sedimentos

Cd

As

Concentrações de metais

Factores de Enriquecimento

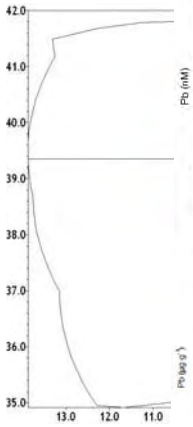


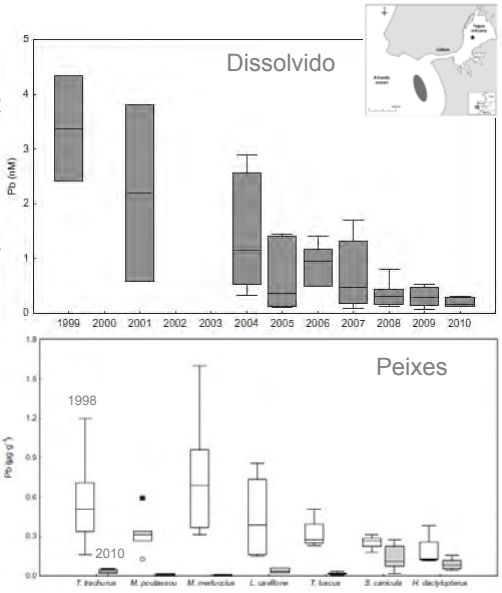
24 a 27 de Novembro 2015

DQEM - Portugal

Tendências temporais

[Pb] - Sedimentos





24 a 27 de Novembro 2015

Raimundo et al. (2011). Marine Pollution Bulletin 62, 2854-2858.

DQEM – Portugal

Avaliação D8

	Condições de referência			Caracterização do Estado Atual					
	Água (ng/L)	Sedimento (ng/g(ww)) (ng/g(ww))(COT))	Biota (ng/g)	Água (ng/L)	Sedimento (ng/g(ww)) (ng/g(ww))(COT))	Biota (ng/g)	Água (ng/L)	Sedimento (ng/g(ww)) (ng/g(ww))(COT))	Biota (ng/g)
				Área de avaliação A1			Área de avaliação C1		
Cd	200	0.014***	0.26; 0.50; 1.0; 2.6; 5.0*	< ref	< em 5% da área de avaliação	< ref	< ref	< ref	< ref
Pb	7200	3.3**	1.0; 2.6; 2.6; 5.0*	< ref	< ref	< ref	< ref	>cond. ref. 30% da área	< ref
Hg	50	0.010**	2.6; 5.0*	< ref	< ref	< ref	< ref	>cond. ref. 5% da área	< ref
Ni	20000	8.4**	9.5	< ref	< ref	< ref	< ref	>cond. ref. 30% da área	< ref
Cu		2.7**	95		< ref	< ref		>cond. ref. 5% da área	< ref
Zn		12**	1625		< ref	< ref			< ref
Cr		8.9**			< ref			>cond. ref. 10% da área	
As		1.8**			< ref			>cond. ref. 30% da área	
Antraceno	100	78***			< ref				
PBDE47	0.2			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
PBDE99	0.2			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
PBDE100	0.2			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
PBDE153	0.2			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
PBDE154	0.2			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
DDT	10			< ref			< ao limite de detecção		
Fluoranteno	100	250			< ref			< ref	
Hexaclorobenzeno	10			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
Nonifenol	300			condições de ref em <1% da área de avaliação			< ao limite de detecção		
Pentaclorobenzeno	0.7						>cond. ref. 10%		
Fenantreno		1252***			< ref			< ref	
Benzo-a-pireno	50	625***	10; 25; 33*		< ref	< ref		< ref	< ref
Benzo-a-antraceno		1.5**			< em 30% da área de avaliação			>cond. ref. 5%–20% da área	
Benzo-b-fluoranteno	30				< ref			< ref	
Benzo-k-fluoranteno		3.5**			< ref			>cond. ref. 5%–30% da área	
Indeno	2	1.6**			< ref			>cond. ref. 5%–30% da área	
Benzo-g-perileno		2.1**			< ref			>cond. ref. 5%–20% da área	
TBT	0.2			< ao limite de detecção			>cond. ref. 30% da área		
CB52		2.7***	0.83		< ref	< ref		< ref	
CB101		3.0***	0.016		< ref	< ref		< ref	
CB118		0.43***	0.0033		< ref	< ref		< ref	
CB138		7.4***	0.398		< ref	< ref		< ref	
CB153		40***	16		< ref	< ref		< ref	

24 a 27 de Novembro 2015

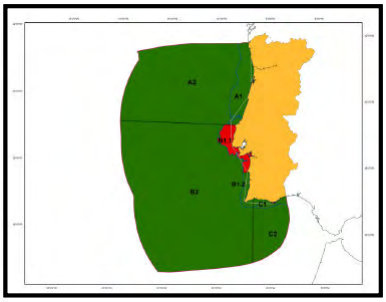
Avaliação D8

	Condições de referência			Caracterização do Estado Atual					
	Água (ng/L)	Sedimento (ng/g(ww)) (ng/g(ww))(COT))	Biota (ng/g)	Água (ng/L)	Sedimento (ng/g(ww)) (ng/g(ww))(COT))	Biota (ng/g)	Água (ng/L)	Sedimento (ng/g(ww)) (ng/g(ww))(COT))	Biota (ng/g)
				Área de avaliação B1.1			Área de avaliação B1.2		
Hg	50	0.010**	2.6; 5.0*	< ref	< condições de ref em <10% da área de avaliação	< ref	< ref	< ref	>ref. em 2 aquenos (de 11)
Ni	20000	8.4**	9.5	< ref	< ref	>ref. em 1 aquenos (de 2)	< ref	< ref	< ref
Cu		2.7**	95		< ref			< ref	< ref
Zn		12**	1625		< ref	< ref		< ref	< ref
Cr		8.9**			< ref			< ref	
As		1.8**			< ref			< ref	
Antraceno	100	78***		< ao limite de detecção			< ao limite de detecção	< ref	
PBDE47	0.2			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
PBDE99	0.2			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
PBDE100	0.2			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
PBDE153	0.2			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
PBDE154	0.2			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
Endossulfão	0.5			< ref					
Fluoranteno	100	250		< ao limite de detecção	< ref		< ao limite de detecção	< ref	
Nonifenol	300			condições de ref em <10% da área de avaliação					
Pentaclorobenzeno	0.7			condições de ref em <10% da área de avaliação					
Benzo-a-pireno	50	625***	10; 25; 33*	< ao limite de detecção	< ref	>ref. em 3 aquenos (de 11)	< ao limite de detecção	< ref	
Benzo-a-antraceno		1.5**			< condições de ref em <10% da área de avaliação			< condições ref em <10% da área de avaliação	
Benzo-b-fluoranteno	30			< ao limite de detecção	< ref		< ao limite de detecção	< condições ref em <10% da área de avaliação	
Benzo-k-fluoranteno		3.5**		< ao limite de detecção	< condições de ref em <10% da área de avaliação		< ao limite de detecção	< condições ref em <10% da área de avaliação	
Indeno	2	1.6**		< ao limite de detecção	< condições de ref em <10% da área de avaliação		< ao limite de detecção	< ref	
Benzo-g-perileno		2.1**		< ao limite de detecção	< condições de ref em <10% da área de avaliação		< ao limite de detecção	< ref	
TBT	0.2			< ao limite de detecção			< ao limite de detecção		
CB52		2.7***	0.83		< ref			< ref	
CB101		3.0***	0.016		< ref			< ref	
CB118		0.43***	0.0033		< ref	>ref. em 3 aquenos (de 11)		< ref	>ref. em 3 aquenos (de 11)
CB138		7.4***	0.398		< ref			< ref	
CB153		40***	16		< ref			< ref	
CB180		1.0**	0.630		< ref			< ref	

DQEM - Portugal

Avaliação D8

Área de avaliação	Estado Ambiental	Grau de confiança
A1	Bom Estado Ambiental Atingido	ELEVADO
A2	Bom Estado Ambiental Atingido	BAIXO
B1.1	Bom Estado Ambiental Não Atingido	ELEVADO
B1.2	Bom Estado Ambiental Atingido	BAIXO
B2	Bom Estado Ambiental Atingido	BAIXO
C1	Bom Estado Ambiental Atingido	BAIXO
C2	Bom Estado Ambiental Atingido	BAIXO



Matriz não conforme:

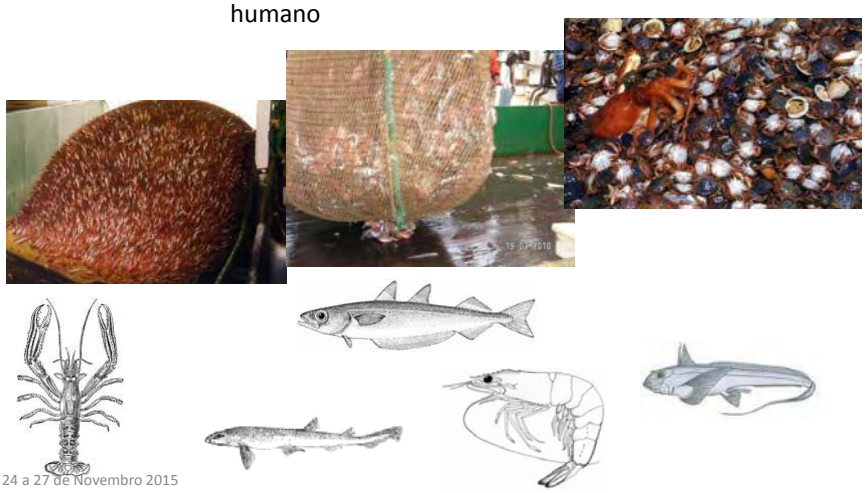
Sedimentos

24 a 27 de Novembro 2015

DQEM - Portugal

Avaliação D9

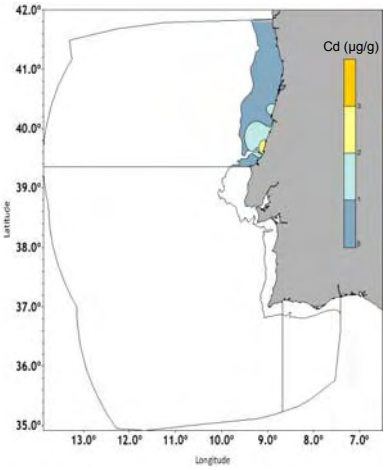
Contaminantes nos peixes e mariscos para consumo humano



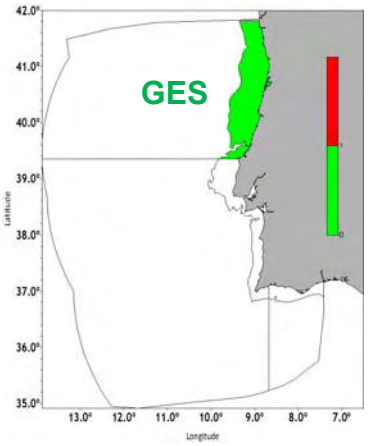
DQEM - Portugal

M. galloprovincialis [Cd] – Área de Avaliação A1

Mapa concentrações



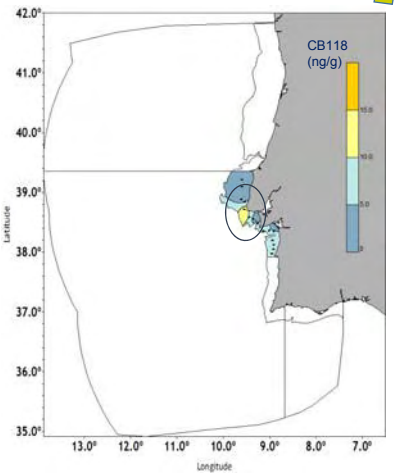
Avaliação da àrea



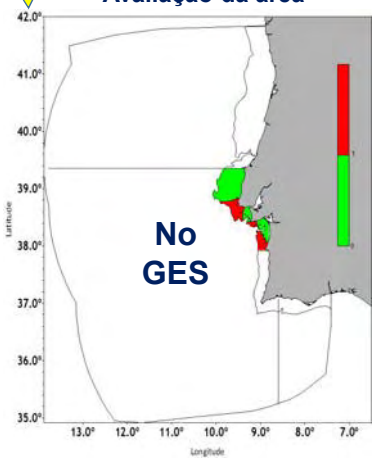
DQEM - Portugal

T. trachurus [CB118] – Área de Avaliação B1.1

Mapa concentrações

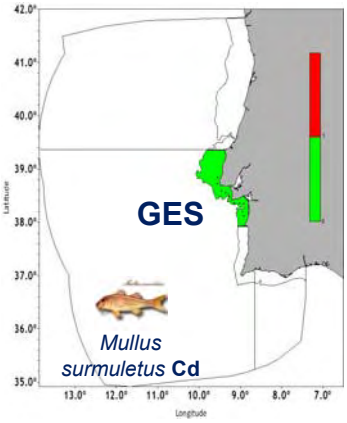


Avaliação da àrea

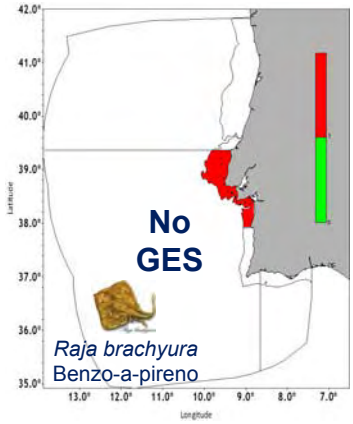


24 a 27 de Novembro 2015

DQEM - Portugal



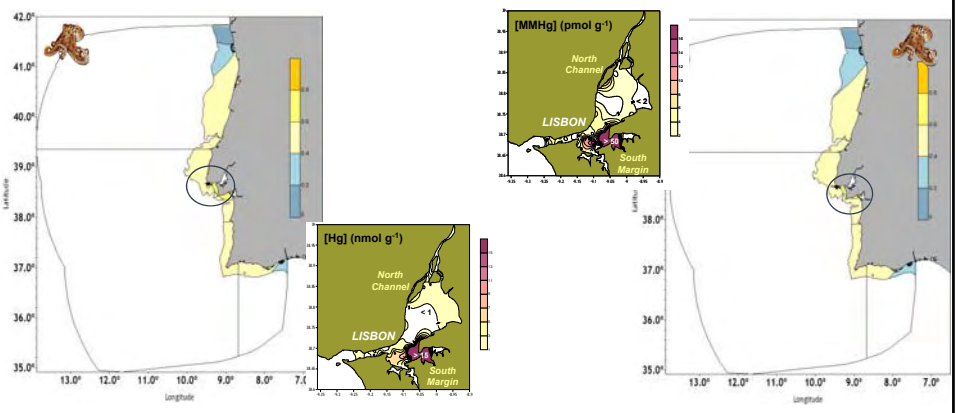
Atingido o bom estado ambiental



Bom estado ambiental não foi atingido

24 a 27 de Novembro 2015

DQEM - Portugal



Influência do Estuário do Tejo nos teores de Hg e MeHg no manto do polvo

24 a 27 de Novembro 2015

DQEM - Portugal

Avaliação D9

Tabela V.20. Resumo da avaliação do Descritor 9 (Critério 9.1. Níveis, número e frequência de contaminantes, indicadores 9.1.1 e 9.1.2) para a subdivisão do continente.

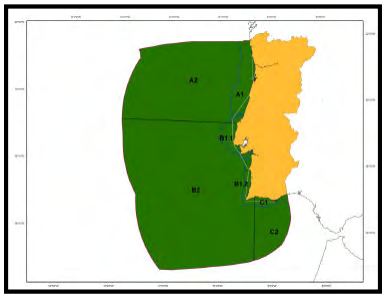
Espécie	Contaminante	Condições de referência	Caracterização do Estado Atual			
			Indicador 9.1.1 Intervalo de valores encontrados (Indicador 9.1.2 Frequência %) (µg/g)			
		Nível regulamentar (µg/g)	Área de avaliação A1	Área de avaliação B1.1	Área de avaliação B1.2	Área de avaliação C1
Trachurus trachurus	Pb	0,5	< valor regulamentar			
Lophius budegassa	Hg	5,0	< valor regulamentar	< valor regulamentar	< valor regulamentar	
Pagellus acarne	Pb	1,0	< valor regulamentar	< valor regulamentar	< valor regulamentar	
Conger conger	Hg	2,5	< valor regulamentar	< valor regulamentar		
Mytilus galloprovincialis	Pb	5,0	< valor regulamentar	< valor regulamentar	< valor regulamentar	
Trachurus trachurus	CB118	3,25	< valor regulamentar			
Merluccius merluccius	CB118	3,25	< valor regulamentar		< valor regulamentar	
Lepidorhombus boshii	CB118	3,25	< valor regulamentar		< valor regulamentar	
Raias spp.	Benzo-a-pireno	10	< valor regulamentar		< valor regulamentar	
Octopus vulgaris	Ni	9,5	< valor regulamentar	< valor regulamentar	< valor regulamentar	0,048-15 (Freq. 4)
Merluccius merluccius	Pb	1	< valor regulamentar		< valor regulamentar	0,22-1,7 (Freq. 14)
Sepia officinalis	Cu	95	< valor regulamentar		< valor regulamentar	4,7-113 (Freq. 6)
Merluccius merluccius	Hg	2,5	< valor regulamentar		< valor regulamentar	0,15-3,1

24 a 27 de Novembro 2015

DQEM - Portugal

Avaliação D9

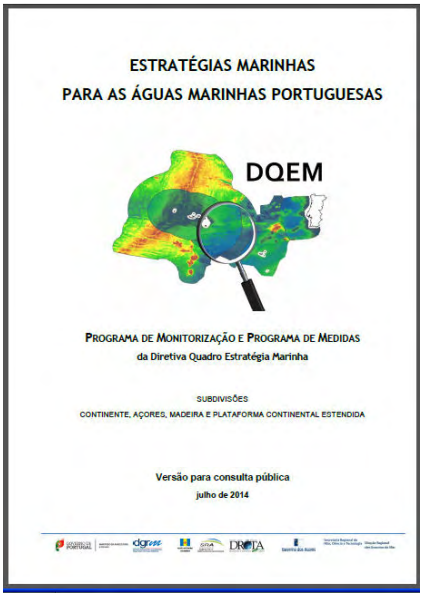
Área de avaliação	Estado Ambiental	Grau de confiança
A1	Bom Estado Ambiental Atingido	ELEVADO
A2	Bom Estado Ambiental Atingido	BAIXO
B1.1	Bom Estado Ambiental Atingido	ELEVADO
B1.2	Bom Estado Ambiental Atingido	BAIXO
B2	Bom Estado Ambiental Atingido	BAIXO
C1	Bom Estado Ambiental Atingido	BAIXO
C2	Bom Estado Ambiental Atingido	BAIXO



DQEM - Portugal

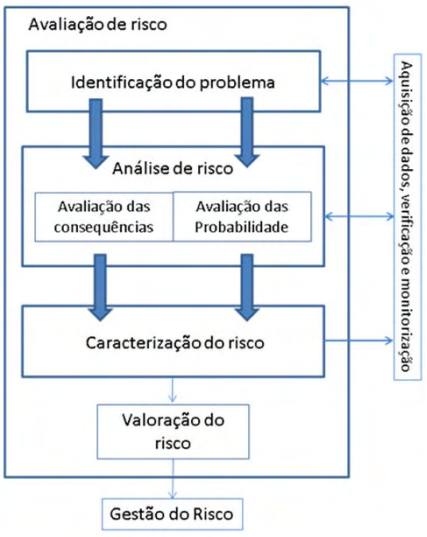
Ciclo da DQEM e a posição actual de PT

DQEM - Portugal



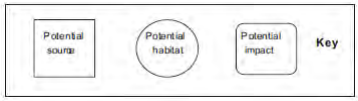
DQEM - Portugal

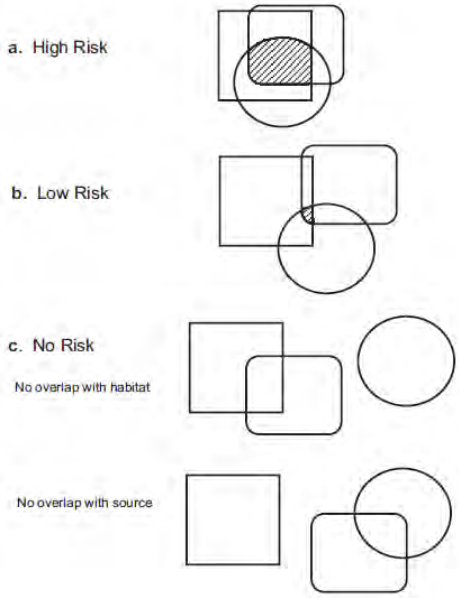
Avaliação de Risco



DQEM - Portugal

Valoração do Risco

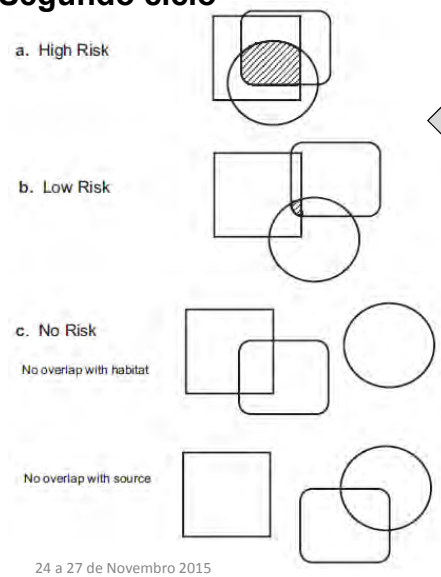




Wieger et al., 1998. Hum Ecol Risk Assess 4(5)

DQEM - Portugal

Segundo ciclo

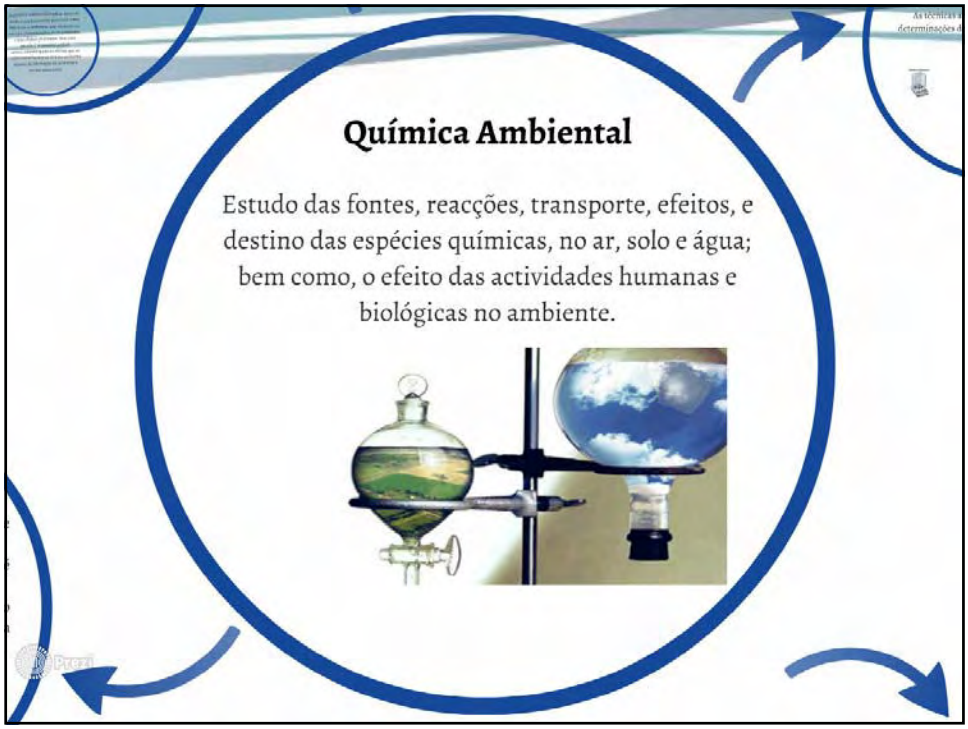


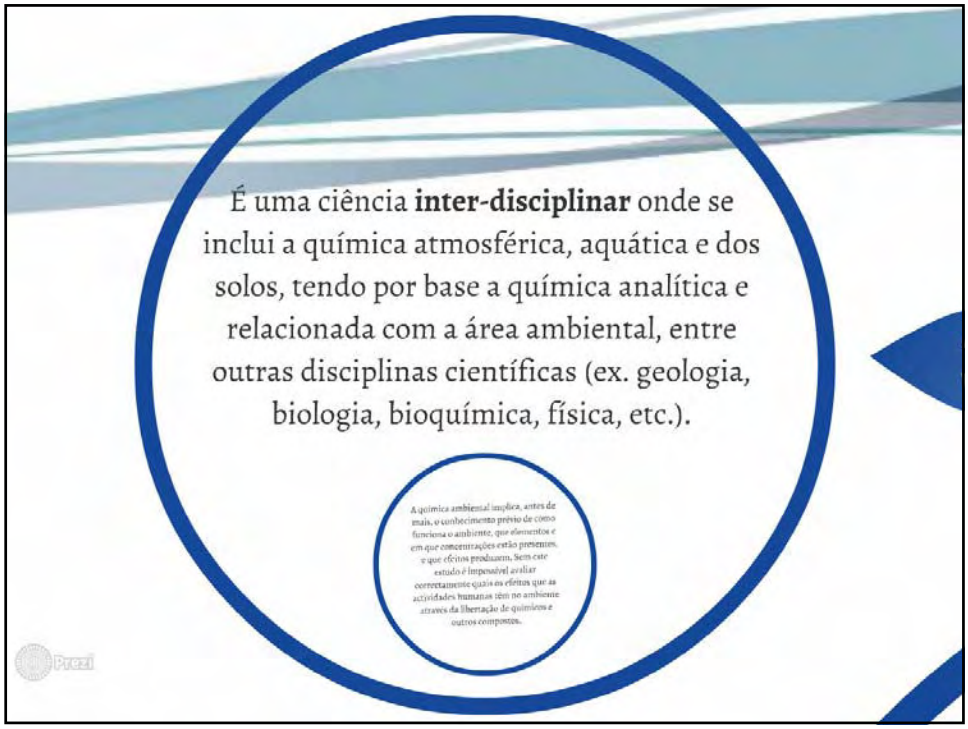
Possível desvio do GES, nova avaliação e continuação da monitorização

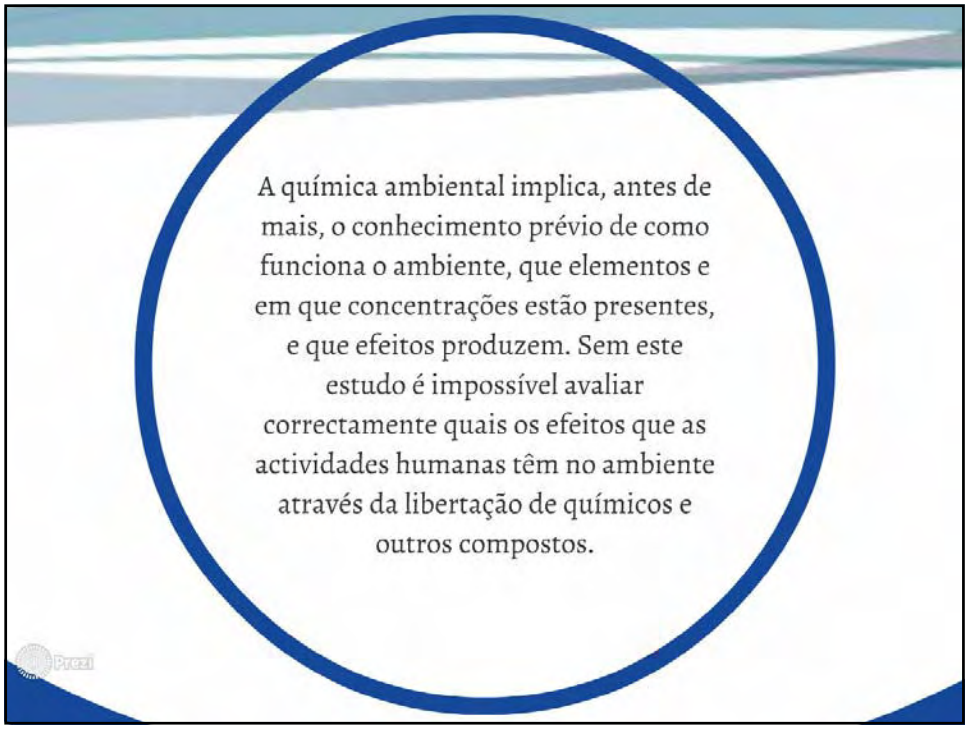
GES está mantido não é necessária nova avaliação

BioMarPT
Curso de Formação Avançada em ICP-MS
Formadores: Joana Raimundo e Pedro Brito
24 a 27 de Novembro de 2015
Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P. (IPMA)
ipma
Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I. P.
24 a 27 de Novembro 2015

BioMarPT
Química Ambiental
O estudo científico dos fenómenos químicos e bioquímicos que ocorrem na natureza
Pedro Brito - IPMA
Química Ambiental
Contaminação
Indicadores ambientais
GOVERNO DE PORTUGAL
ipma
climar


Química Ambiental
Estudo das fontes, reacções, transporte, efeitos, e destino das espécies químicas, no ar, solo e água; bem como, o efeito das actividades humanas e biológicas no ambiente.

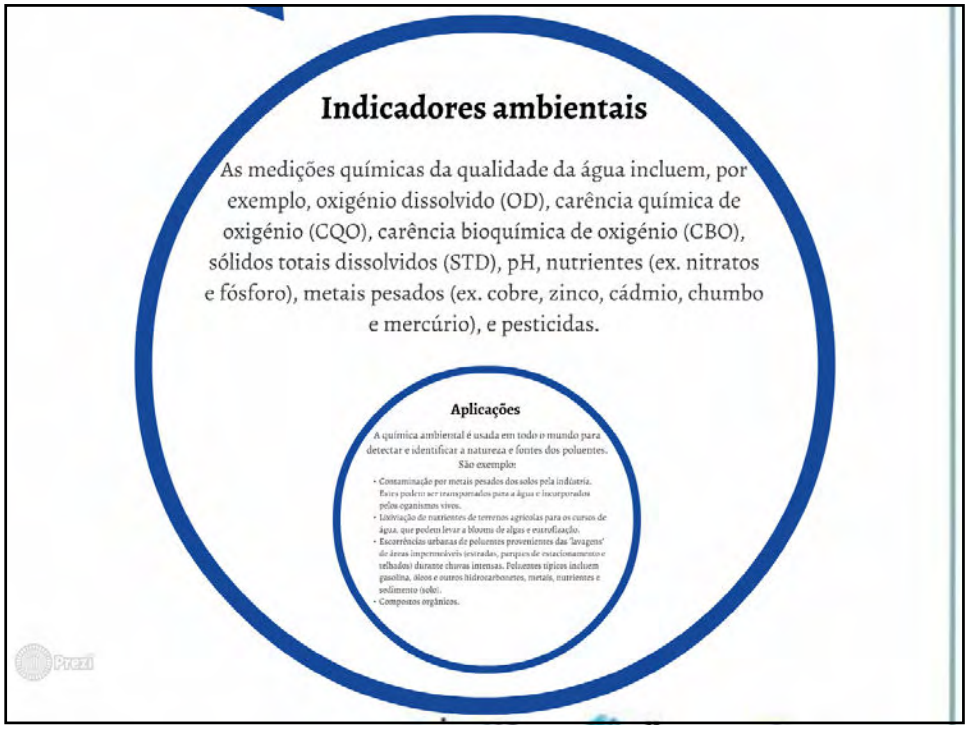

É uma ciência **inter-disciplinar** onde se inclui a química atmosférica, aquática e dos solos, tendo por base a química analítica e relacionada com a área ambiental, entre outras disciplinas científicas (ex. geologia, biologia, bioquímica, física, etc.).
A química ambiental implica, antes de mais, o conhecimento prévio de como funciona o ambiente, que elementos e em que concentrações estão presentes, e que efeitos produzem. Sem este estudo é impossível avaliar correctamente quais os efeitos que as actividades humanas têm no ambiente através da libertação de químicos e outros compostos.

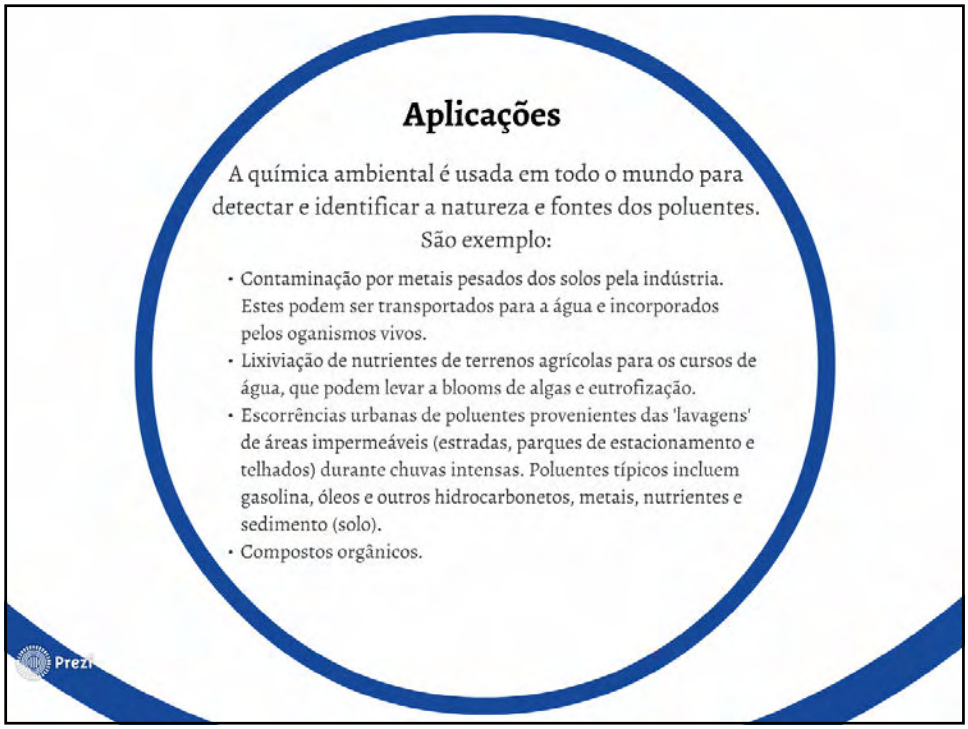

A química ambiental implica, antes de mais, o conhecimento prévio de como funciona o ambiente, que elementos e em que concentrações estão presentes, e que efeitos produzem. Sem este estudo é impossível avaliar correctamente quais os efeitos que as actividades humanas têm no ambiente através da libertação de químicos e outros compostos.

Contaminação

Um **contaminante** é uma sustância presente numa concentração mais alta que os valores expectáveis ou que não deveria estar presente. O termo **'contaminante'** é normalmente usado a par com a palavra **'poluente'**, que é uma substância que tem um impacto negativo no ambiente. Um **contaminante** é, por vezes, definido como uma substância presente no ambiente como resultado da actividade humana, mas sem efeitos negativos, embora esses efeitos possam aparecer muito mais tarde.

O *meio* (ex. sedimento) ou *organismo* (ex. peixe) afectados pelo poluente ou contaminante é chamado de *receptor*, enquanto um *depósito* (*sink*) é um meio químico ou espécie que retem e interage com o contaminante.


Indicadores ambientais
As medições químicas da qualidade da água incluem, por exemplo, oxigénio dissolvido (OD), carência química de oxigénio (CQO), carência bioquímica de oxigénio (CBO), sólidos totais dissolvidos (STD), pH, nutrientes (ex. nitratos e fósforo), metais pesados (ex. cobre, zinco, cádmio, chumbo e mercúrio), e pesticidas.
Aplicações
A química ambiental é usada em todo o mundo para detectar e identificar a natureza e fontes dos poluentes. São exemplo:
• Contaminação por metais pesados dos solos pela indústria. Estes podem ser transportados para a água e incorporados pelos oganismos vivos.
• Lixiviação de nutrientes de terrenos agrícolas para os cursos de água, que podem levar a blooms de algas e eutrofização.
• Escorrências urbanas de poluentes provenientes das 'lavagens' de áreas impermeáveis (estradas, parques de estacionamento e telhados) durante chuvas intensas. Poluentes típicos incluem gasolina, óleos e outros hidrocarbonetos, metais, nutrientes e sedimento (solo).
• Compostos orgânicos.
Prezi

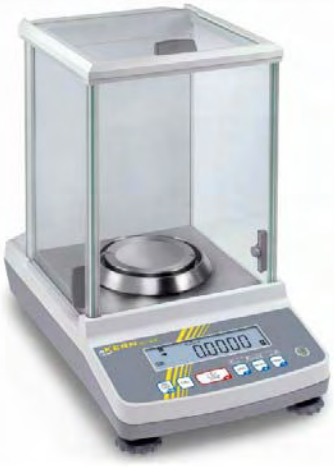

Aplicações
A química ambiental é usada em todo o mundo para detectar e identificar a natureza e fontes dos poluentes. São exemplo:
• Contaminação por metais pesados dos solos pela indústria. Estes podem ser transportados para a água e incorporados pelos oganismos vivos.
• Lixiviação de nutrientes de terrenos agrícolas para os cursos de água, que podem levar a blooms de algas e eutrofização.
• Escorrências urbanas de poluentes provenientes das 'lavagens' de áreas impermeáveis (estradas, parques de estacionamento e telhados) durante chuvas intensas. Poluentes típicos incluem gasolina, óleos e outros hidrocarbonetos, metais, nutrientes e sedimento (solo).
• Compostos orgânicos.
Prezi

Métodos

A análise química quantitativa é uma parte chave da química ambiental, uma vez que fornece os dados que enquadram a maior parte dos estudos ambientais.

As técnicas analíticas mais comuns, usadas nas determinações de química ambiental incluem métodos analíticos tais como...

Métodos gravimétricos



Métodos titrimétricos

Métodos electroquímicos

Uma abordagem mais sofisticada é usada na determinação de compostos orgânicos e de metais traço.

Os compostos orgânicos são normalmente medidos usandos métodos de espectrometria de massa acoplados a cromatografia gasosa (GC-MS) ou cromatografia líquida (LC-MS).

Os metais são geralmente medidos por espectroscopia atómica e espectrometria de massa:

- espectrofotometria de absorção atómica (AAS);
- espectrometria de massa com plasma indutivo acoplado (ICP-MS).

Aprender a conhecer o ambiente marinho de Portugal

Formação avançada em ICP-MS

24 a 27 de Novembro de 2015

CIIMAR & IPMA

1

Aprender a conhecer o ambiente marinho de Portugal

Princípios Básicos de ICP-MS

Marisa Almeida

CIIMAR

24 Novembro 2015

2

ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)

Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

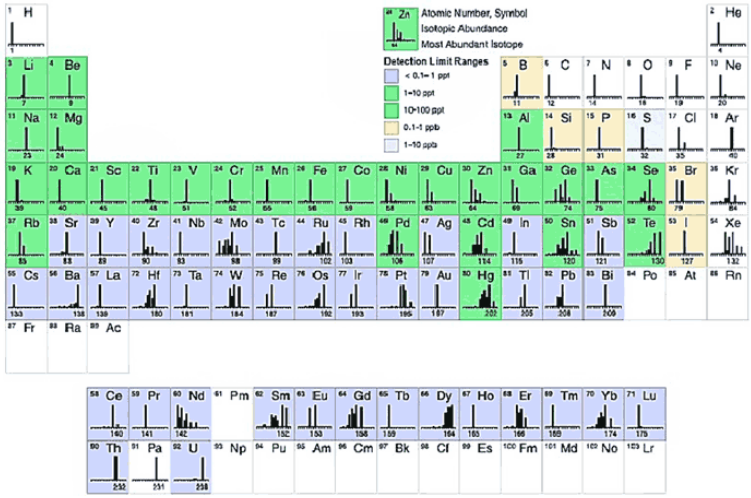
- A técnica de ICP-MS é relativamente recente
  - O primeiro equipamento comercial data de 1983
- Apesar das múltiplas vantagens que apresenta, esta técnica apresenta diversos problemas, e.g.:
  - baixa tolerância a sólidos dissolvidos e
  - fenómenos interferentes de discriminação de massas
- Na verdade, a história da técnica de ICP-MS é em grande parte a história de uma guerra para ultrapassar os diversos fenómenos interferentes.

Consequentemente tem se observado um processo permanente de inovação técnica

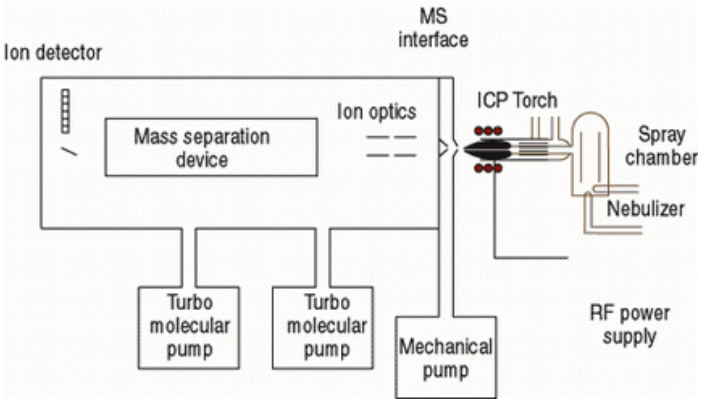
ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)

- Diversas vantagens relativamente a outras técnicas espectroscópicas:
  - determinação "simultânea" de mais de 75 elementos,
  - rapidez de análise,
  - baixos limites de detecção ($\leq 1\ \mu g\ l^{-1}$ para a maioria dos elementos) e
  - possibilidade de determinações isotópicas
- Aplicação a diversos tipos de amostras (ambientais, geoquímicas, biológicas, alimentares, industriais, semicondutores,…) permitindo:
- Actualmente é considerada uma ferramenta extremamente versátil, permitindo:
  - caracterização elementar de diversas amostras,
  - informação sobre a origem de um determinado elemento se este apresentar uma composição isotópica variável na natureza

ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)



Existem diversos tipos de equipamento ICP-MS, cada um com as suas vantagens e desvantagens.
Todos partilham componentes semelhantes: nebulizador, plasma torch, interface e detector, diferindo significativamente no design do espectrómetro de massa

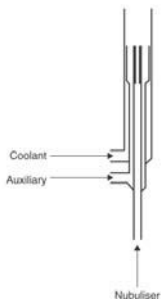


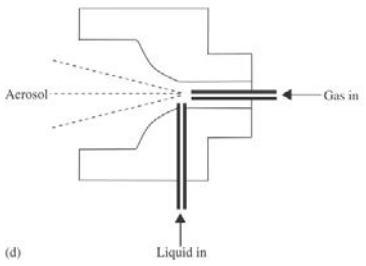
Sistema de introdução da amostra

A principal função do sistema de introdução da amostra é a produção de um aerossol

A amostra, normalmente no estado líquido, é:

- bombeada para um sistema composto por um nebulizador e uma câmara de spay,
- convertida a um aerossol
- conduzida através de um tubo injector até à região do plasma

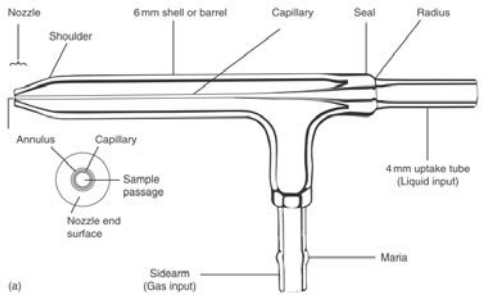




Sistema de introdução da amostra

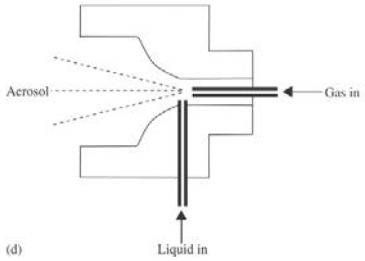
Existem diversos tipos de nebulizadores:

- *cross-flow, concentric, micro-concentric* e *micro-flow*, sendo os dois primeiros os mais comuns.
- *cross-flow* ⇒ o gás árgon é introduzido perpendicularmente em relação à amostra
- *concentric* ⇒ o gás árgon é introduzido paralelamente em relação à amostra



glass concentric nebulizer

Sistema de introdução da amostra

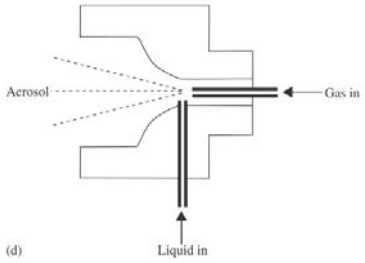


Nebulizadores *cross-flow*:

- menos eficientes que os nebulizadores *concentric*,
- mais robustos para trabalho de rotina
- permitem amostras com matrizes mais complicadas

cross-flow nebulizer

Sistema de introdução da amostra

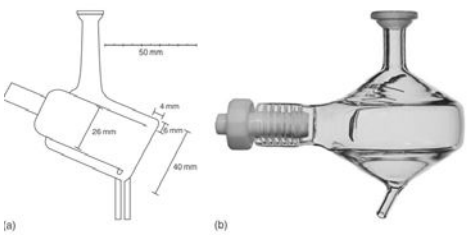


https://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcTFUKxmYiwo_IluT-XiKa9Cdx3GvwgpFTJoR7BFQEpDpAYWCaPdcA

cross-flow nebulizer

Sistema de introdução da amostra – câmaras de *spray*

A principal função da camara de spray é a remoção de gotas "gordas" permite a passagem apenas das gotas que podem ser totalmente processadas pelo plasma



Os dois designs mais comuns:

- *double-pass* (a) e *cyclonic* (b), sendo o primeiro o mais comum.

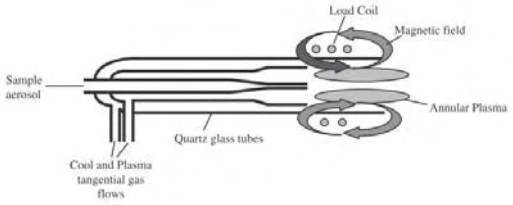
Algumas câmaras de *spray* podem ser refrigeradas externamente, nomeadamente para o uso de solventes orgânicos,

- Para as *double-pass* o Scott *design* é o mais comum – consiste basicamente em dois tubos concêntricos

Formação avançada em ICP-MS

Região do Plasma

- Quando a amostra, na forma de aerossol, emerge da camara de spray, é conduzida através de um tubo injector até à região do plasma
- Este aerossol é arrastado pelo gás que atravessa o nebulizador (fluxo ~1 l min^{-1})
- Este tubo de injector, normalmente de alumina, está colocado no centro da plasma *torch*
- A plasma *torch* é constituído por 2 tubos concêntricos, normalmente de quartzo
- O gás (normalmente árgon) que forma o plasma (*plasma gas*) passa entre os dois tubos (fluxo ~15 l min^{-1}), enquanto um segundo fluxo de gás, o gás auxiliar, passa entre o tubo interior da *torch* e o injector de alumina (fluxo ~1 l min^{-1})



Circundando o topo da *torch* há um filamento, normalmente de cobre, que está ligado ao gerador de rádio frequência

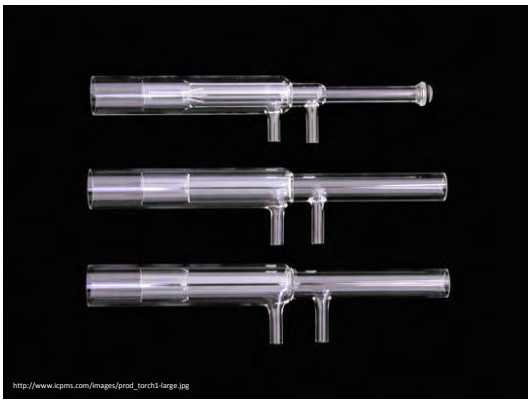
Formação avançada em ICP-MS

Região do Plasma

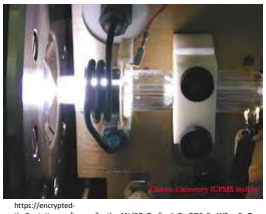
- O plasma resulta da transferência de energia de rádio frequência para o fluxo continuo de árgon (*plasma gas*), que é constituído maioritariamente por átomos de árgon, iões e electrões
- Uma faísca de alta voltagem inicia a ionização do fluxo de árgon
- Estes iões e os seus electrões interagem com o campo magnético criado pelo filamento de cobre
- Estas interacções geram uma corrente circulatória de iões dentro do filamento
- A resistência a este movimento provocado um aquecimento óhmico que é responsável pela formação de um plasma com temperaturas extremamente elevadas (entre 6000 e8000 K).
- Esta temperaturas elevadas originam a dessolvatação, vaporização, atomização e ionização da amostra durante a sua passagem pelo plasma
- Estes iões são então direccionados para a zona de interface.

Região do Plasma

https://www.google.pt/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=&url=http%3A%2F%2Fwww.elementalanalysis.com%2Fservices%2Finductively-coupled-plasma-icp%2F&psig=AFQjCNFSNXDYfXgXtZh8IzPvv1IBHWmxrQ&ust=1448296587810435

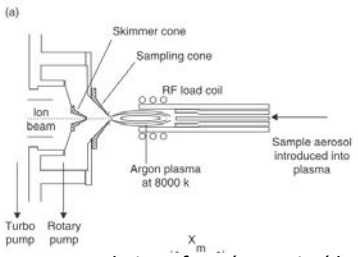


http://www.icpms.com/images/prod_torch1-large.jpg



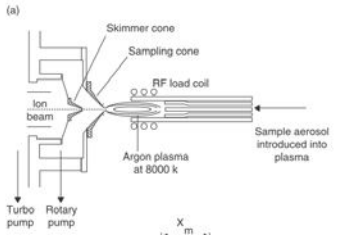
https://encrypted-tbn2.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQ_dhmJnGmOQSvSccW0m_EwTz_ayCcvuZVtjWvEiqk_c2IpbSig

Zona de Interface

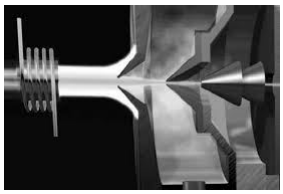


- A função da zona de interface é o transporte eficiente dos iões formados na região do plasma, que se encontra a pressão atmosférica (ca. 760 torr), para a zona do espectrómetro de massa, que requer alto vácuo (pressão ca. 1 x 10^{-6} torr)
- É uma zona com uma pressão já reduzida (ca. 4 torr)
- A zona de interface é constituída por 2 cones metálicos, cada um com uma abertura central de ca 1 mm de diâmetro, cuja função é extrair os iões
- Os iões gerados no plasma passam através do primeiro cone (*sampler cone*), e percorrem uma pequena distancia até ao segundo cone (*skimmer cone*)
- Ambos os cones são normalmente de níquel, embora outros metais mais resistentes a líquidos corrosivos, e.g. platina, possam ser usados
- Após passagem pelos cones, o fluxo de iões entram na região do espectrómetro de massa através da *gate valve*

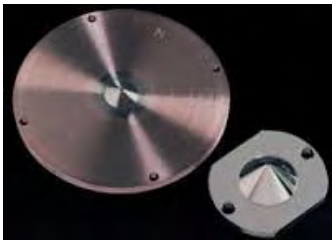
Zona de Interface



http://www.google.pt/imgres?imgurl=http://www.meinhard.com/rotation/images/slide/8.jpg&imgrefurl=http://www.meinhard.com/&h=310&w=938&tbnid=Wk_b2CI9g9AheM:&docid=znxoDlh6NDcCPM&ei=x_JRVuChCMzZU97IisgN&tbm=isch&ved=0ahUKEwigofz1vqTJAhXM7BQKHd6yAtkQMwhVKDAwMA

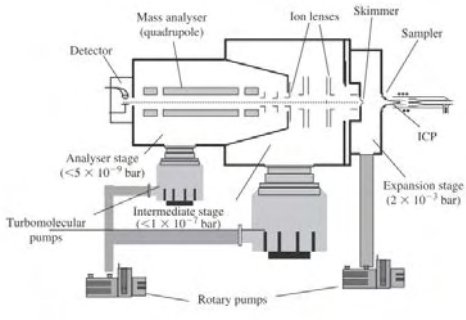


https://encrypted-tbn2.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQRxrszt Y7Lexi5QjI396EI1c1bkrKfB7o4PIO8kELCm-5VQFZP



https://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcS3X2iPVPRmyvjRPygcZ6a1YFRmQA7pREnQXv82yYnyns1OQTSZnA

Ion optics



- Assim que os iões são extraídos da zona de interface o fluxo de iões é direccionados para a região do espectrómetro através de uma serie de lentes electrostáticas – as *ion optics*
- A sua função é conduzir os iões até ao analisador de massas
- Uma função secundária, mas igualmente importante, do sistema *ion optics* é o impedir que partículas, espécies neutras espécies carregadas negativamente e fotões cheguem ao analisador de massas e ao detector

Mass separation devices

Apos a passagem pelo sistema de *ion optics*, os iões são então introduzidos no equipamento de separação de massas para serem separados de acordo com a sua razão massa /carga (m/z)

Existem 3 tipos comuns de analisadores de massa:

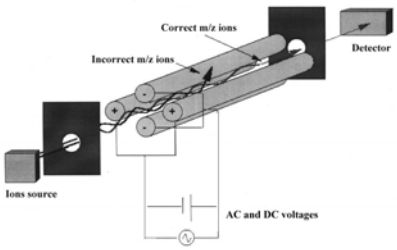
- *quadrupole* (mais comum),
- *high-resolution double-focusing sector field*
- time*-of-flight* (TOF)

Apesar de terem funcionamentos distintos todos os analisadores de massa têm o mesmo propósito:

- permitir que iões de determinada m/z chegue ao detector eliminando todos os iões não solicitados ou interferentes

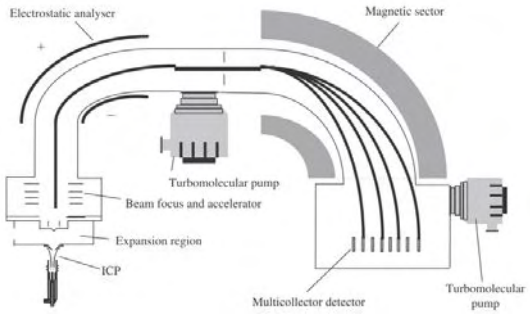
Mass separation devices - Quadropole

- Consiste em 4 rolos
- Controlado por potenciais eléctricos que formam um campo eléctrico
- Aplicando uma voltagem especifica, os iões de interesse são conduzido pelo centro dos 4 rolos sendo no final convertidos em impulsos eléctricos que são detectados pelo detector
- Iões de diferentes m/z colidem com os rolos, sendo neutralizados e removidos do feixe de iões seleccionados



https://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcS-bFRVtocLQxlqaWOLPatfkWgAOFCDNckm3RU16antzcUCu9ZR

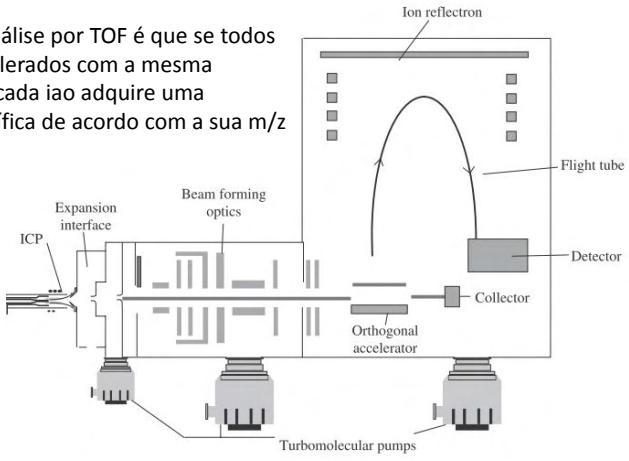
Mass separation devices -double-focusing sector field



- Baseado em dois designs: *Nier-Johnson* ou *reverse Nier-Johnson geometry*
- Ambos seguem o mesmo principio básico: um íman tradicional e um analisador electrostático (ESA)

Mass separation devices - Time-of-flight (TOF)

O princípio da análise por TOF é que se todos os iões forem acelerados com a mesma energia cinética, cada iao adquire uma velocidade específica de acordo com a sua m/z



Detectores

Após a passagem pelo separador de massas, os iões seleccionados são detectados por um detector especifico
Dois detectores mais comuns: *Faraday cup* e *electron multiplier* (o mais comum)

O detector *electron multiplier* tem a forma de um cone curvo, revisto com um material que liberta electrões quando os iões lá colidem
Estes electrões colidem novamente com o detector libertando mais electrões
O processo continua até que a corrente gerada por esta nuvem de electrões é medida na saída do detector

O detector Faraday cup é um copo metálico ligado a um equipamento que mede a corrente do feixe de iões que entram no copo
É menos sensível que o *electron multiplier*, sendo às vezes usado para os elementos que se encontram em concentrações muito elevadas

Interferências

Como referido a técnica de ICP-MS apresenta alguns problemas entre os quais as interferências:

- ***espectroscópicas*** – causadas pela resolução limitada do espectrómetro de massa usado
- ***não-espectroscópicas*** - associadas com a matriz da amostra e portanto variável de caso para caso

Muitas técnicas tem sido usadas para a eliminação ou redução das interferências.

Por exemplo, técnicas de interface como *dynamic reaction cells*, ou outros ICP-MS com diferentes designs desenvolvidos especificamente para eliminar as interferências.

Interferências espectroscópicas:

causadas por iões atómicos ou moleculares com a mesma razão m/z do analito de interesse, aumentando o verdadeiro sinal analítico ou até o mascarando

Dividida em duas categorias:

interferências isobáricas, e.g., $^{114}Sn^+$ com $^{114}Cd^+$ e $^{40}Ar^+$ com $^{40}Ca^+$

Estas interferências são facilmente previsíveis e podem ser ultrapassadas pela escolha de um outro isótopo do elemento ou por equações matemáticas

Por exemplo, ^{40}Ca (96.97%), sofre interferência de $^{40}Ar^+$ mas o isótopo ^{43}Ca, não tem problemas de interferências e pode ser escolhido. Apesar do isótopo ^{43}Ca ter uma baixa abundancia isotópica (0.145 %), é perfeitamente mensurável porque o Ca tem normalmente uma concentração elevada na maioria das amostras

Outro exemplo, uma correcção matemática para corrigir a interferência de $^{114}Sn^+$ no $^{114}Cd^+$:

I (^{114}Cd) = I (^{114}Cd + ^{114}Sn) – [Ab (^{114}Sn) / Ab (^{118}Sn) * I (^{118}Sn)]

I - intensidade do sinal e Ab - abundância isotópica

Formação avançada em ICP-MS

Interferências espectroscópicas:

causadas por iões atómicos ou moleculares com a mesma razão m/z do analito de interesse, aumentando o verdadeiro sinal analítico ou até o mascarando

Dividida em duas categorias:

interferências isobáricas, e.g., $^{114}Sn^+$ com $^{114}Cd^+$ e $^{40}Ar^+$ com $^{40}Ca^+$

interferências poliatómicas

Estes iões são formados a partir dos elementos do gás do plasma (árgon), dos gases da atmosfera que são introduzidos na região do plasma (carbono, oxigénio e azoto), da agua e ácidos usados na dissolução e diluição das amostras (e.g. cloretos, sulfuretos, azoto, hidrogénio e oxigénio) e ainda na matriz das amostras

Formação avançada em ICP-MS

Interferências poliatómicas comuns

Table 5.1 Common polyatomic ion interferences with the mass analyser resolution necessary to resolve them from the analyte of interest

Analyte ion		Interfering ion		
Nominal *m/z*	Accurate *m/z*	Nominal *m/z*	Accurate *m/z*	Resolution required
^{24}Mg	23.9850	$^{12}C_2$	24.0000	1599
^{28}Si	27.9769	$^{14}N_2$	28.0060	962
^{28}Si	27.9769	$^{12}C^{16}O$	27.9949	1555
^{31}P	30.9737	$^{14}N^{16}O^{1}H$	31.0057	968
^{31}P	30.9737	$^{15}N^{16}O$	30.9950	1455
^{32}S	31.9721	$^{16}O_2$	31.9898	1807
^{44}Ca	43.9555	$^{12}C^{16}O_2$	43.9898	1282
^{48}Ti	47.9479	$^{32}S^{16}O$	47.9670	2511
^{51}V	50.9440	$^{35}Cl^{16}O$	50.9637	2586
^{52}Cr	51.9405	$^{35}Cl^{16}O^{1}H$	51.9715	1676
^{52}Cr	51.9405	$^{40}Ar^{12}C$	51.9623	2383
^{54}Fe	53.9396	$^{40}Ar^{14}N$	53.9653	2099
^{56}Fe	55.9349	$^{40}Ar^{16}O$	55.9572	2509
^{63}Cu	62.9296	$^{40}Ar^{23}Na$	62.9521	2797
^{64}Zn	63.9291	$^{32}S^{16}O_2$	63.9619	1950
^{64}Zn	63.9291	$^{32}S_2$	63.9442	4234
^{75}As	74.9216	$^{40}Ar^{35}Cl$	74.9311	7887
^{80}Se	79.9165	$^{40}Ar_2$	79.9246	9867

Formação avançada em ICP-MS

Interferências

Eliminação ou correcção:

- Métodos alternativos de preparação de amostras
  - Dissolução com acido nítrico na vez de acido clorídrico ou perclórico – eliminação das interferências de cloretos
  - Extracção dos solventes
  - Separação on-line com resinas quelantes ou outras técnicas cromatográficas
- Métodos alternativos para introdução de amostras na região do plasma
  - *flow injection*, *electrothermal vaporisation*, *laser ablation* (para amostras sólidas) ou dessolvatação da amostra usando diferentes tipos de nebulizadores – redução da formação de óxidos e hidróxidos
- Abordagens instrumentais alternativas

  mixed gas plasmas

  cool plasma conditions

  collision/reaction cell ou *dynamic reaction cell*

  high resolution ICP-MS

Formação avançada em ICP-MS

Interferências

Como referido a técnica de ICP-MS apresenta alguns problemas entre os quais as interferências:

- ***espectroscópicas*** – causadas pela resolução limitada do espectrómetro de massa usado
- ***não-espectroscópicas*** - associadas com a matriz da amostra e portanto variável de caso para caso

- Interferências não-espectroscópicas são caracterizadas pela redução ou pelo incremento no sinal do analito de interesse
- A natureza da amostra e do elemento, assim como a respectiva concentração, influencia a intensidade dos efeitos interferentes
- Estes efeitos podem ser reversíveis ou não reversíveis

Formação avançada em ICP-MS

Interferências *não-espectroscópicas*

- Interferências não-espectroscópicas não reversíveis podem ser mais problemáticas – por exemplo concentrações elevadas de sais podem originar depósitos de sais ou óxidos que vão reduizr a entrar de ioes – pode ser resolvido com diluição da amsotra

Elimination ou correcção de interferências não-espectroscópicas:

- Padrão interno – padrao com massa isotopica proxima da do analito de interesse
- Adição padrão
- Diluição isotopica
- Separação da matriz
- *flow injection*

Cada caso é um caso – devem ser considerados os objectivos do estudo – necessário identificar possíveis interferências e o procedimento mais adequado para as eliminar e/ou corrigir
Este tipo de problema tem de ser solucionado num fase preliminar do estudo antes da utilização do ICP-MS

Aplicação de ICP-MS a amostras ambientais

- Amostras de **águas naturais** – níveis muito baixos – ICP-MS será a técnica ideal

Recolha e preparação da amostra:
- recipientes apropriados
- necessário filtração (filtros *acid clean*)
- acidificação da amostra

Limpeza e remoção de interferências:
por exemplo água do mar – elevado conteúdo de sais, elevada concentração de elementos que causam interferências poliatómicas – necessário separação de matriz
anion-exchange resins, *matrix modification*, *precipitation*, *desolvation*, *thermal vaporization*, *chromatographic coupling*
Collision/reaction cell

Preconcentration

Isotope ratios

- No geral a composição isotópica dos elementos é constante na natureza . No entanto há um reduzido numero de elementos com composição isotópica variável
- A proporção entre isótopos nestes elementos varia com a idade geológica do mineral de onde provem
- Portanto estas variações podem se exploradas para por exemplo identificar a fonte de um determinado elemento

Table 6.1 Examples of elements for which measurable variations in the isotopic composition occur in normal terrestrial materials [2,3,4]

Factors limiting uncertainty on representative isotopic composition as tabulated by IUPAC	Effect measurable by ICP-MS	Effect not measurable by ICP-MS
Man-made variation	Li, B, U	H, He, Kr
Natural mass fractionation	Li, B	H, C, N, O
Radioactive decay of naturally occurring radionuclides	Sr, Os, Pb	Ar

Isotope ratios

Table 6.2 Natural variations in the relative abundances of isotopes of Li, Sr and Pb in terrestrial materials [2]

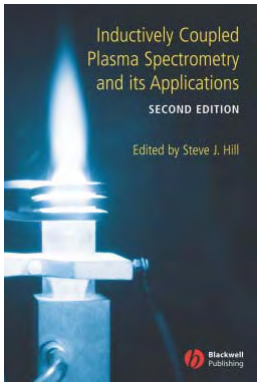
Nuclide	Lower level for isotopic abundance (%)	Upper level for isotopic abundance (%)
^{6}Li	7.21	7.71
^{7}Li	92.29	92.79
^{84}Sr	0.55	0.58
^{86}Sr	9.75	9.99
^{87}Sr	6.94	7.14
^{88}Sr	82.29	82.75
^{204}Pb	1.04	1.65
^{206}Pb	20.84	27.48
^{207}Pb	17.62	23.65
^{208}Pb	51.28	56.21

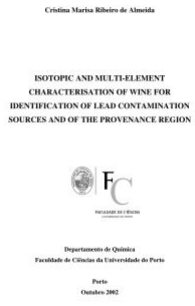
A analise isotópica pode assim dar indicações sobre a origem de uma determinada fonte de poluição no ambiente

Por exemplo medir a razão ^{206} Pb/ ^{207} Pb pode indicar a fonte de Pb num determinado sedimento

A razão ^{87}Sr/^{86}Sr é uma ferramenta estabelecida na datação geológica, mas pode também ser usado para identificar origem dos peixes através da análise dos otólitos

Referências:




Cristina Marisa Ribeiro de Almeida

ISOTOPIC AND MULTI-ELEMENT CHARACTERISATION OF WINE FOR IDENTIFICATION OF LEAD CONTAMINATION SOURCES AND OF THE PROVENANCE REGION

Departamento de Química
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto
Porto
Outubro 2002

Agradecimentos:

Aprender a conhecer o ambiente marinho de Portugal

Formação avançada em ICP-MS

24 a 27 de Novembro de 2015

CIIMAR & IPMA

dgpm
Direção-Geral de Política do Mar

ICELAND LIECHTENSTEIN NORWAY
eea grants

GOVERNO DE PORTUGAL
MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO MAR

Aprender a conhecer o ambiente marinho de Portugal

Introdução à validação de métodos analíticos

25 de Novembro de 2015

CIIMAR & IPMA

dgpm Direção-Geral de Política do Mar

ICELAND LIECHTENSTEIN NORWAY eea grants

GOVERNO DE PORTUGAL | MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO MAR

25 Novembro

Desempenho de métodos analíticos
- Curva de calibração
- Limite de detecção
- Limite de quantificação
- Selectividade
- Sensibilidade
- Precisão
- Exactidão
- Material de referência certificado
- Quantificação de erros
- Padrão interno

Resolução de problemas
- Interferências
- Contaminações
- Efeitos de matriz
- Aumento da sensibilidade analítica

Validação de métodos analíticos

Garantia de que os resultados analíticos são confiáveis

Os resultados satisfazem os níveis de exigência (ex. acreditação)

Resultados obtidos em diferentes locais e diferentes momentos são consistentes e comparáveis

Validação de métodos ou sistemas analíticos

É aconselhável usar a expressão "Validação do Sistema Analítico" porque sistema analítico corresponde:

- ao próprio método analítico (incluindo, quando for o caso, as etapas de amostragem)
- à matriz à qual o método será aplicado
- à gama de concentrações considerada

Validação

Implementação de um conjunto de princípios na realização dos métodos analíticos

- durante (ou após) a implementação do método
- substituição do equipamento (ou partes)
- alteração do(s) operadore(s)
- alterações significativas (ex. reagentes)
- comparação de métodos

Valid Analytical Measurement (VAM)

As medições analíticas deverão ser realizadas com vista a satisfazer um requisito previamente estabelecido

As medições analíticas deverão ser realizadas usando métodos e equipamentos que tenham sido verificados (i.e. cumprem os requisitos estabelecidos para um determinado procedimento)

O pessoal responsável pela realização de medições analíticas deverá ser competente e qualificado para a execução da tarefa

Deverá existir uma avaliação regular e independente do desempenho do laboratório

Os resultados de medição obtidos num determinado local, usando um determinado procedimento, deverão ser consistentes com os resultados obtidos, aplicando o mesmo procedimento, num outro qualquer local

Adoptar procedimentos bem definidos de controlo e garantia da qualidade

Validação

Guia da EURACHEM referente à validação de sistemas analíticos *"The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics"* - três definições de validação, apresentadas em três documentos normativos internacionais:

- ISO 9000:2005
  Quality management systems - Fundamentals and vocabulary

- ISO/IEC 17025:2005
  General requirements for the competence of testing and calibration laboratories

- VIM (3ª edição)
  International Vocabulary of Metrology (BIPM)
  Vocabulário Internacional de Metrologia (Instituto Português da Qualidade)

Validação

Não existe consenso quanto à definição de validação e terminologia associada

A ideia comum a todas as definições é:

comprovar, através de evidência objectiva, que um determinado procedimento é adequado para o uso pretendido (*fit for purpose*)

Verificação ou Validação

Verificação:

Fornecimento de evidência objectiva de que um dado item satisfaz os requisitos especificados

Validação:

Verificação de que os requisitos especificados são adequados para um uso pretendido

Processos de Validação

Abordagem interlaboratorial

Estudos de comparação entre vários laboratórios usando o mesmo sistema analítico

Frequentemente adoptada pelas instituições de normalização

Abordagem intralaboratorial

Validação de um sistema analítico realizada internamente

Aplicado a procedimentos analíticos não normalizados

Insuficiente para acreditação (ausência de comparação interlaboratorial)

Ferramentas de Validação

Brancos - soluções em que o analito não está presente e permitem avaliar a intensidade de sinal analítico atribuível ao analito e a que é atribuível a outros constituintes da amostra de teste

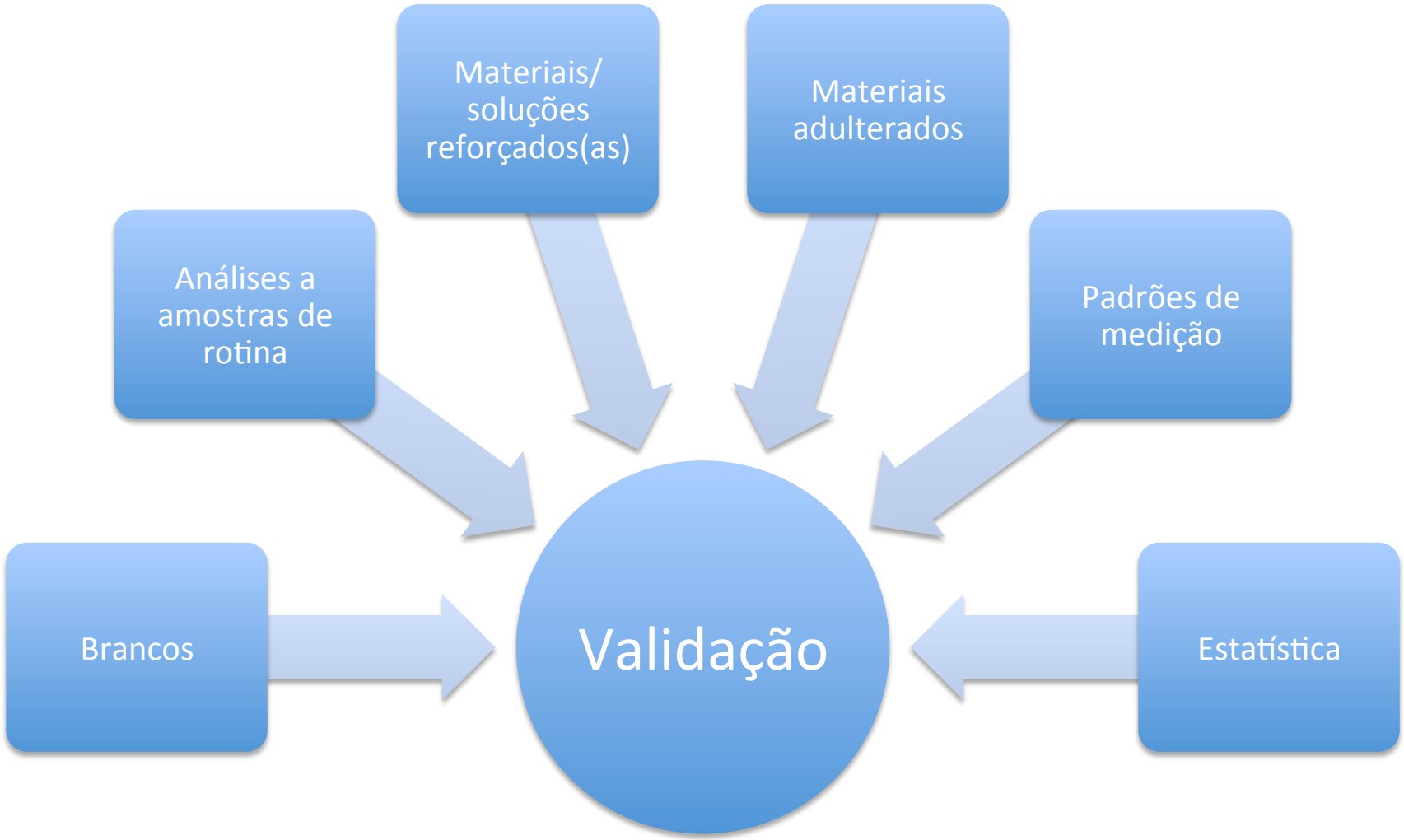
Padrões de medição ou calibração – materiais de referência e materiais de referência certificados

Ferramentas de Validação

Materiais/soluções reforçados(as) ou *spikes* - adição intencional do analito ou de outra substância de interesse

Materiais adulterados - amostras em que uma determinada substância pode estar presente, não por ser um verdadeiro constituinte da amostra, mas sim porque foi introduzida de forma externa, antes da amostragem

Análises a amostras de rotina – dão informação realística acerca da precisão, de interferentes, etc., encontrada(os) no trabalho diário


Materiais/ soluções reforçados(as)
Materiais adulterados
Análises a amostras de rotina
Padrões de medição
Brancos
Validação
Estatística

Parâmetros de Validação

- Selectividade
- Curva de calibração
- Limiares analíticos
- Sensibilidade
- Exactidão
- Precisão
- Incerteza
- Robustez

Selectividade

(também por vezes especificidade)

É a capacidade de um método identificar e distinguir um analito em particular numa mistura ou matriz, simples ou complexa, sem interferência de outros componentes

Para a avaliação da selectividade é necessário averiguar a possível interferência de outras substâncias eventualmente presentes na amostra, utilizando uma amostra complexa

Habitualmente analisam-se diferentes amostras negativas para assegurar a não existência de interferentes

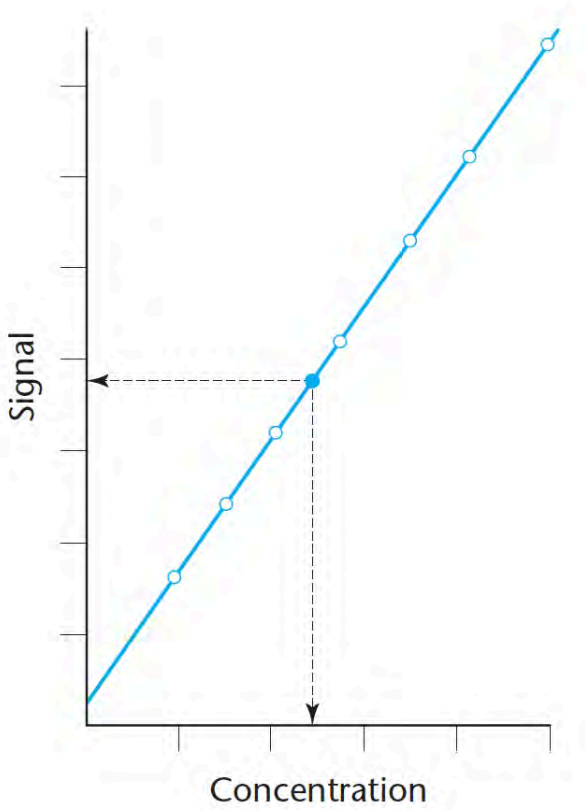
Curva de calibração

Em análises quantitativas, a calibração indica um processo pelo qual a resposta dum sistema de medida se relaciona com uma concentração ou uma quantidade conhecida

Passos para a calibração analítica externa do equipamento:

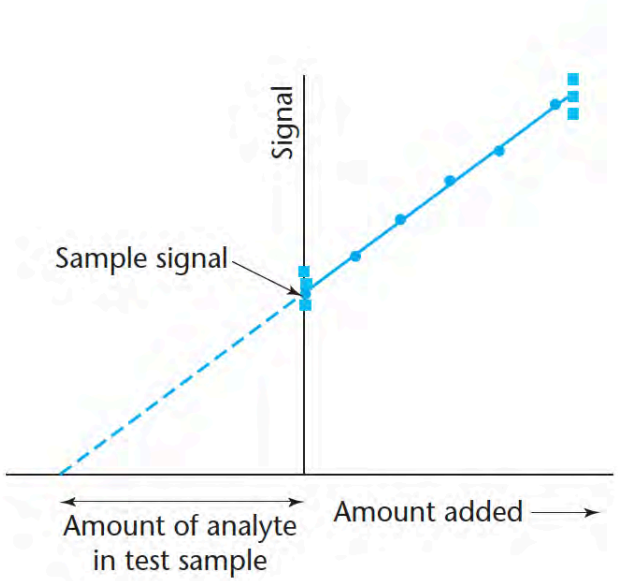
- preparação de uma série de soluções padrão em que a concentração do parâmetro a dosear é conhecida
- as soluções padrão de calibração são medidas num equipamento analítico, nas mesmas condições da amostra a analisar
- estabelecimento de um gráfico de calibração (sinal do equipamento em função calibração) e determina-se a concentração nas amostras, por interpolação

Calibração externa



Miller JN and Miller JC. 2010. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. 6th Edition, Pearson Education Limited, England

Calibração com adição padrão



Miller JN and Miller JC. 2010. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. 6th Edition, Pearson Education Limited, England

Curva de calibração

O branco da calibração (solução com todos os reagentes, com excepção do analito a analisar) é muitas vezes diferente de zero e deve ser incluído na curva de calibração, quando aplicável

Recomenda-se efectuar regressões lineares pelo método dos minímos quadrados

Curva de calibração

É desejável que a calibração analítica seja efectuada aquando da análise, devendo existir critérios internos para aceitação de curvas relativos à linearidade e à estabilidade entre calibrações

Quando não é efectuada a curva de calibração diária, para cada série de amostras, deverá ser definido um processo para verificação da validade da curva usada, face a critérios de aceitação de desvios (ex. recorrendo a histórico de curvas)

Os pontos de calibração devem distribuir-se equitativamente pela gama de trabalho

Gama de trabalho e linearidade

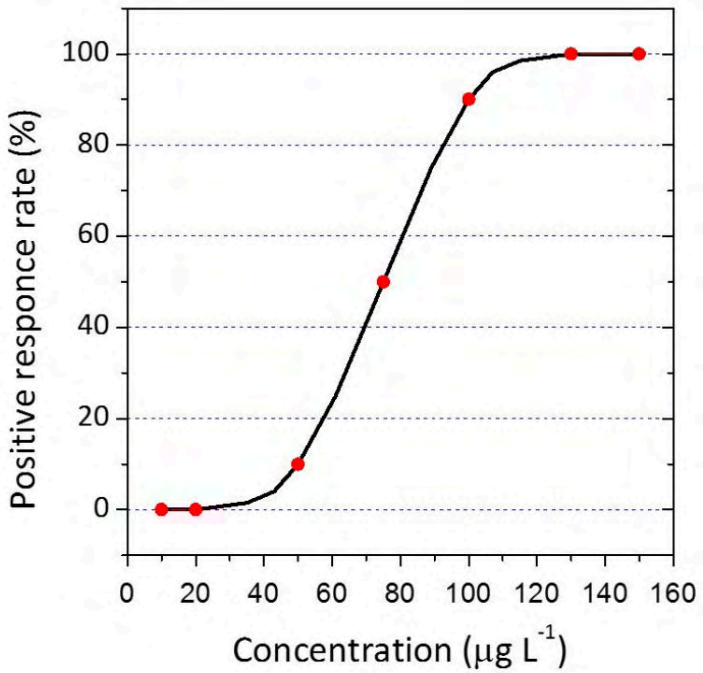
Gama de trabalho

A gama de trabalho pode ser avaliada pelo teste de homogeneidade de variâncias. Neste teste determinam-se as variâncias associadas ao primeiro e último padrão e verifica-se se existem diferenças significativas entre elas nos limites da gama de trabalho

Recomenda-se dez pontos de calibração, não devendo ser em número inferior a cinco, distribuindo-se de igual modo na gama de concentrações

Example 4 – Determination of cut-off concentration for a qualitative method with a stated cut-off equal to 100 µg L^{-1}. Ten observations were recorded at each level. A response curve with fraction (in %) of positive results versus concentration was constructed, from which it was possible to determine, by inspection, the threshold concentration at which the test becomes unreliable. With a criterion of < 5 % false negative results, the cut-off concentration is between 100 and 130 µg L^{-1}.

C (µg L^{-1})	No. of positive/negative results
150	10/0
130	10/0
100	9/1
75	5/5
50	1/9
20	0/10
10	0/10



B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014).

Sensibilidade

A sensibilidade pode ser definida como o quociente entre o acréscimo do valor lido e a variação da concentração

Avalia a capacidade de um método para distinguir pequenas diferenças de concentração de um analito

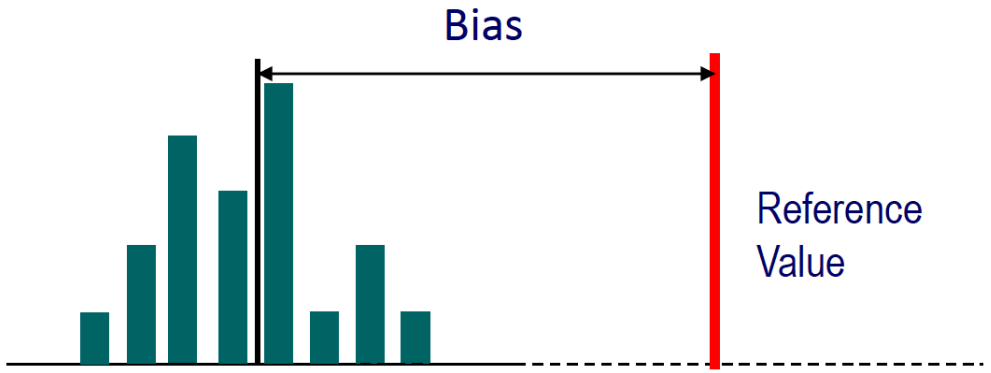
Na prática a sensibilidade corresponde ao declive da curva de calibração. Se essa curva for linear, então a sensibilidade da calibração será constante (independente da calibração)

A sensibilidade deverá ter em conta o ruído instrumental, que poderá ter elevada influência na zona de baixas concentrações

Exactidão

Exactidão – é a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceite como verdadeiro

O termo ***bias*** (desvio) é a diferença entre estes dois valores



Seby F. 2010. Method validation for spectrochemical analysis. Ultra Traces Analyses Aquitaine, France

Outliers

$$G = |\text{suspect value} - \bar{x}|/s$$

$$Q = \frac{|\text{suspect value} - \text{nearest value}|}{\text{largest value} - \text{smallest value}}$$

Miller JN and Miller JC. 2010. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. 6th Edition, Pearson Education Limited, England

Exactidão

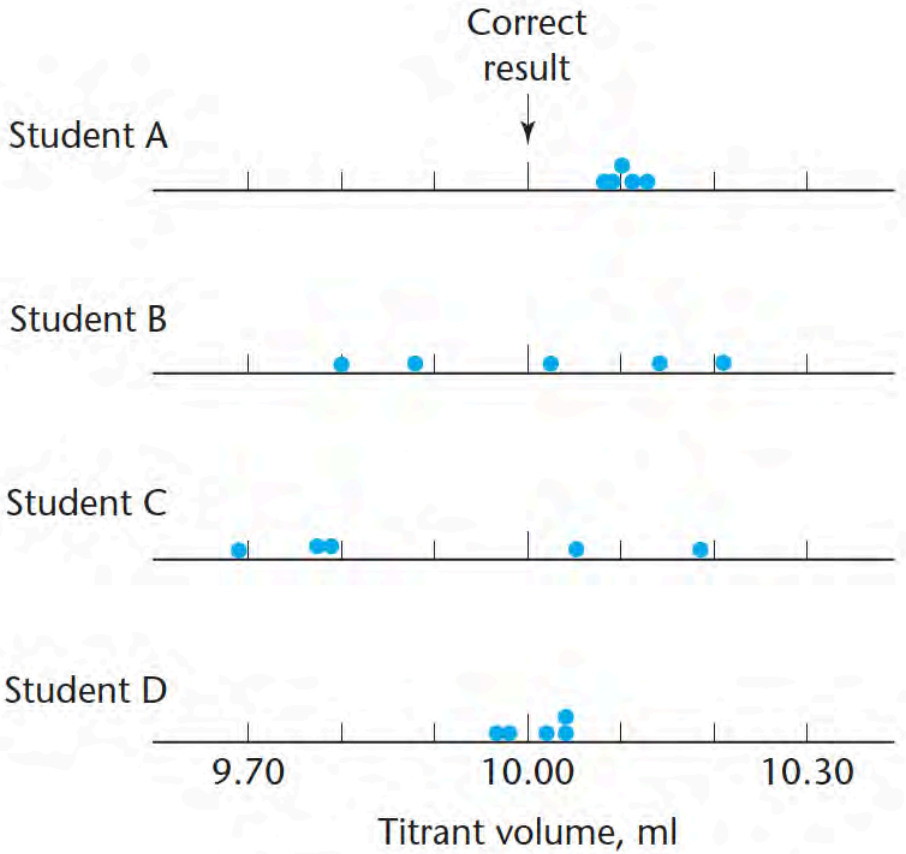
Valor de referência é geralmente desconhecido para uma amostra

Assim, um material de referência certificado (MRC) pode ser uma amostra com um valor de referência aceite como verdadeiro

Precisão

Precisão – termo geral que pretende avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos sobre uma mesma amostra, amostras semelhantes, ou padrões, em condições definidas

Exactidão e precisão



Miller JN and Miller JC. 2010. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. 6th Edition, Pearson Education Limited, England

Precisão

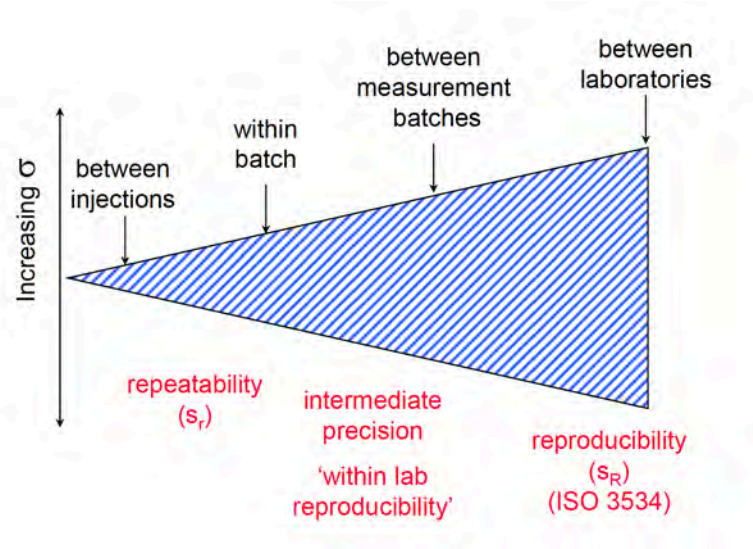
Medidas para avaliar a precisão:

Repetibilidade – dispersão que surge sob condições constantes no mesmo laboratório, usando os mesmos reagentes, instrumento e operador, com repetição durante um intervalo curto de tempo

Reprodutibilidade – variação que surge utilizando o mesmo método analítico com diferentes reagentes, operadores e instrumentos, em épocas diferentes

Precisão

O termo **precisão intermédia** refere-se à precisão avaliada, sobre a mesma amostra, utilizando o mesmo método, no mesmo laboratório ou em laboratórios diferentes, mas definindo exactamente as condições a variar, tais como diferentes analistas, diferentes equipamentos, diferentes épocas



Seby F. 2010. Method validation for spectrochemical analysis. Ultra Traces Analyses Aquitaine, France

Exactidão e precisão

- Como podemos medir a **precisão** de um método analítico?

Através de análises em replicado de amostras representativas contendo o analito em concentrações nos intervalos expectáveis:

Usando:

a) amostras de interesse
b) amostras reforçadas (*spikes*)
c) materiais de referência certificados

Exactidão e precisão

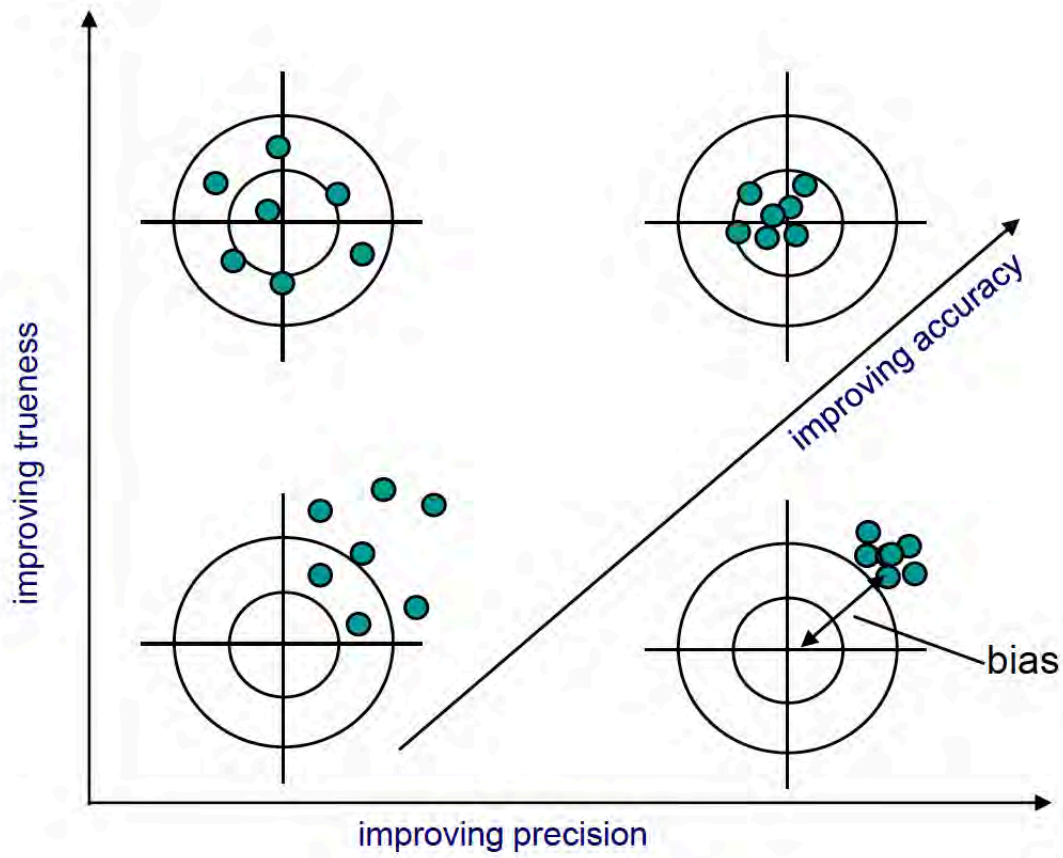
- Como podemos medir a **exactidão** de um método analítico?

É importante que o nosso método tenho o menor valor possível de *bias*

Podemos testar analisando amostras representativas contendo o analito em concentrações conhecidas nos intervalos expectáveis:

a) amostras reforçadas (*spikes*)
b) materiais de referência certificados

Exactidão e precisão



Seby F. 2010. Method validation for spectrochemical analysis. Ultra Traces Analyses Aquitaine, France

Materiais de Referência Certificados

Material de referência (MR)

- Material que é suficientemente homogéneo e estável relativamente a uma ou mais propriedades específicas
- É desenvolvido para uso em processos de medição

Material de referência certificado (MRC)

- Material de referência que foi caracterizado por um procedimento metrologicamente válido relativamente a uma ou mais propriedades específicas
- É acompanhado por um certificado que fornece o valor da propriedade específica, a incerteza associada e a declaração de traceabilidade metrológica
- Elevado grau de caracterização com utilização de métodos independentes e complementares de análise

Materiais de Referência Certificados

MRC geralmente são amostras que contêm uma matriz natural em que determinadas substâncias, ou analitos, pode ser certificada

A sua produção e certificação são realizadas por um organismo reconhecido internacionalmente; ex.

EU

·Institute for Reference Materials and Measurements (JRC-IRMM)

EUA

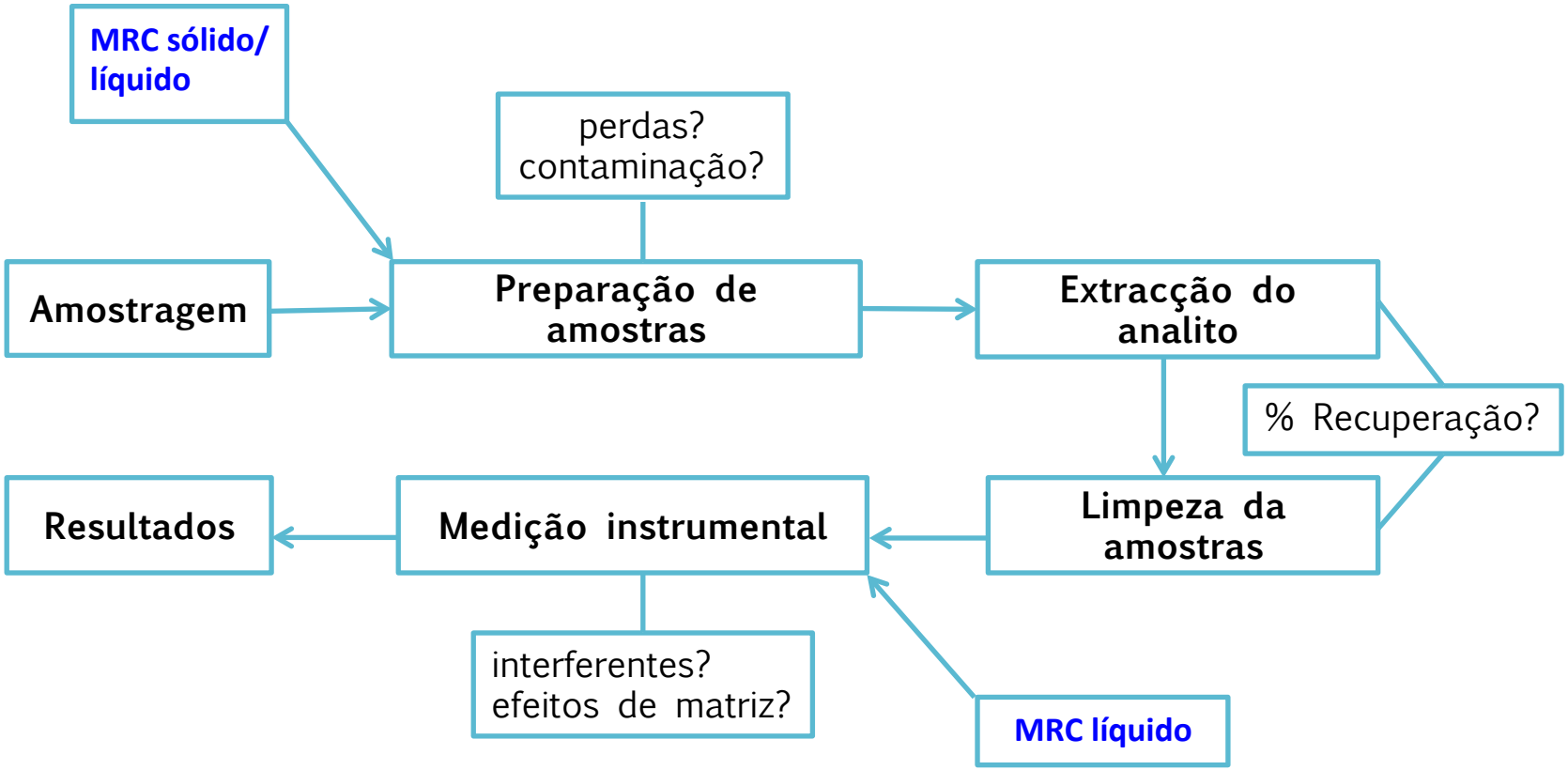
·National Institute of Standards and Technology (NIST)

Canada

·National Research Council of Canada (NRCC)

Estado liquído e sólido dos MRCs

- Soluções ou materiais puros
- Materiais em matriz – usados para a validação de todo o método desde a extração da amostra até a medição final

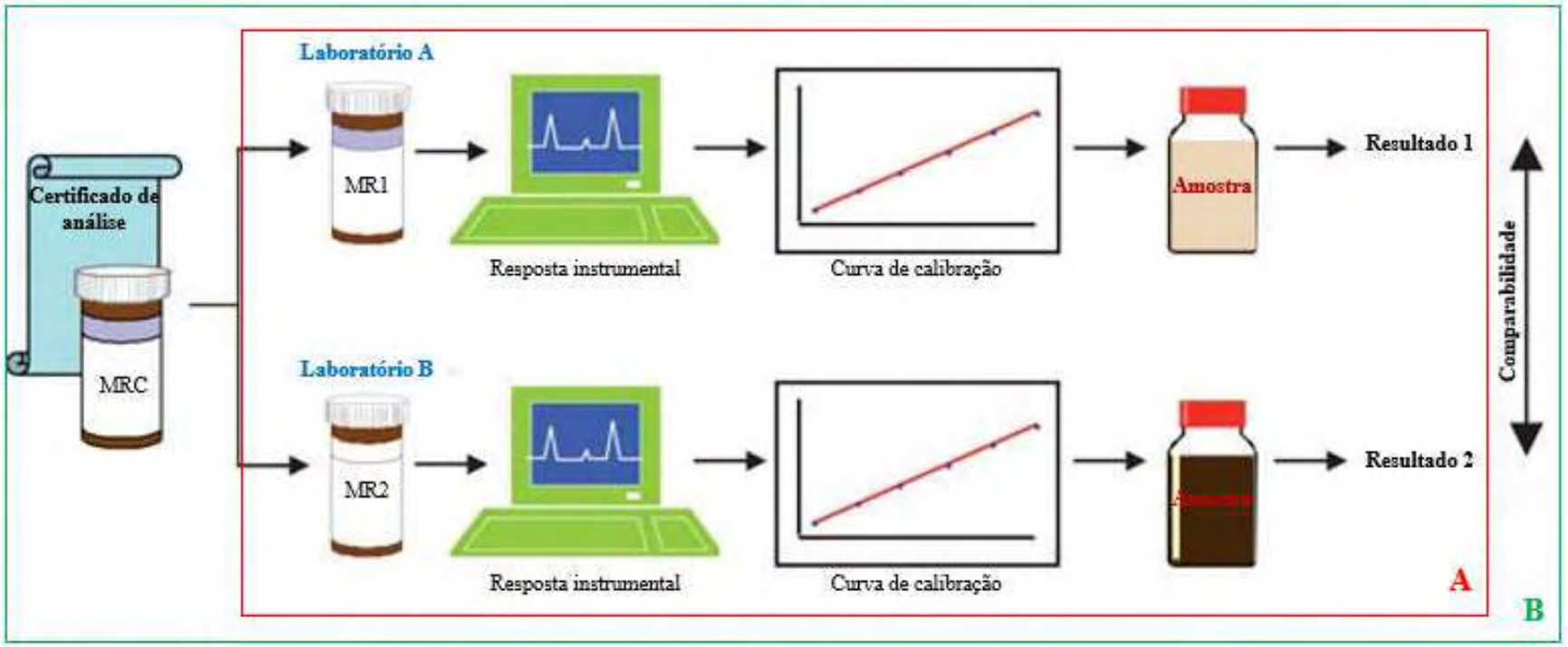


Materiais de Referência Certificados

MRCs podem servir para

- validação do método
- aferição da adequação do sistema de medição
- verificar o desempenho do analista
- rastreabilidade

Rastreabilidade e comparibilidade



Barwick V, Wood S. J. Anal. At. Spectrom., 2010, 25, 785–799

A – Os resultados 1 e 2 não podem ser directamente comparados, pois não são rastreáveis a um MR comum

B – Os resultados 1 e 2 podem ser comparados, uma vez que são rastreáveis a uma mesma referência (um MRC).

Incerteza

Incerteza (*uncertainty*) é um parâmetro que caracteriza a dispersão dos valores atribuídos a uma variável a medir, com base nas informações disponíveis acerca das fontes de erro (erros aleatórios e *bias*)

Precisão intermédia (reprodutibilidade intra-laboratorial)

Exactidão

Expressão da incerteza (u) é o desvio padrão

Incerteza expandida (U)

Combina as duas componentes (multiplicada pelo factor k - 2 para aprox. metade do intervalo de confiança de 95%)

$$U = k\,u$$

Robustez

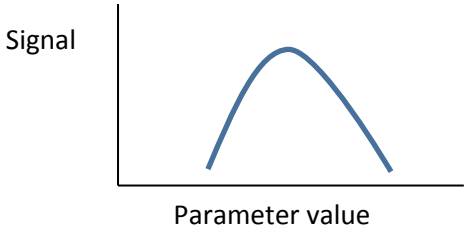
- A robustez de um método de ensaio mede a sensibilidade que este apresenta face a pequenas variações. Quanto maior a robustez do método, maior será a confiança desse relativamente à sua precisão

- É essencial conhecer os parâmetros críticos do método e definir qual o seu valor de precisão

- Nos testes de robustez são aplicados testes estatísticos que examinam, simultaneamente, os efeitos de alterações em diferentes variáveis do método

Robustez

ex. pH



6.9 a 7.1 é requerido ou 6 a 8?

Robustness vs Ruggedness

Podemos considerar que o termo *robustness* remete apenas para uma **variação intralaboratorial** de parâmetros experimentais, enquanto o termo *ruggedness* está associado à insensibilidade do sistema analítico relativamente a alterações inadvertidas de parâmetros experimentais e a **variações interlaboratoriais**

Padrão interno

Padrão interno – adicionado em concentração (ou massa) constante a todas as amostras

- brancos
- amostras sem o analito de interesse
- amostras com o analito de interesse
- amostras dopadas com o analito de interesse

A escolha do padrão interno depende do analito de interesse e da matriz

ex. In, Lu, Re, Rh e Y

· Elemento a usar deve ter uma massa semelhante à dos elementos a determinar

· Deve estar ausente das amostras (ou estar presente em concentrações negligenciáveis)

Avaliação do desempenho do laboratório

O valor obtido na análise de um MRC deve ser comparado com o valor certificado, determinando-se o erro da análise. Em geral utiliza-se o intervalo de confiança para esta avaliação

- quando o valor obtido não se encontrar dentro do intervalo de incerteza indicado para o valor certificado, o laboratório deve procurar as causas desse desvio e tentar eliminá-las (ou aceitá-las)

- conforme o rigor definido para os seus resultados, o laboratório pode adoptar critérios diferentes para aceitação dos resultados dos MRC

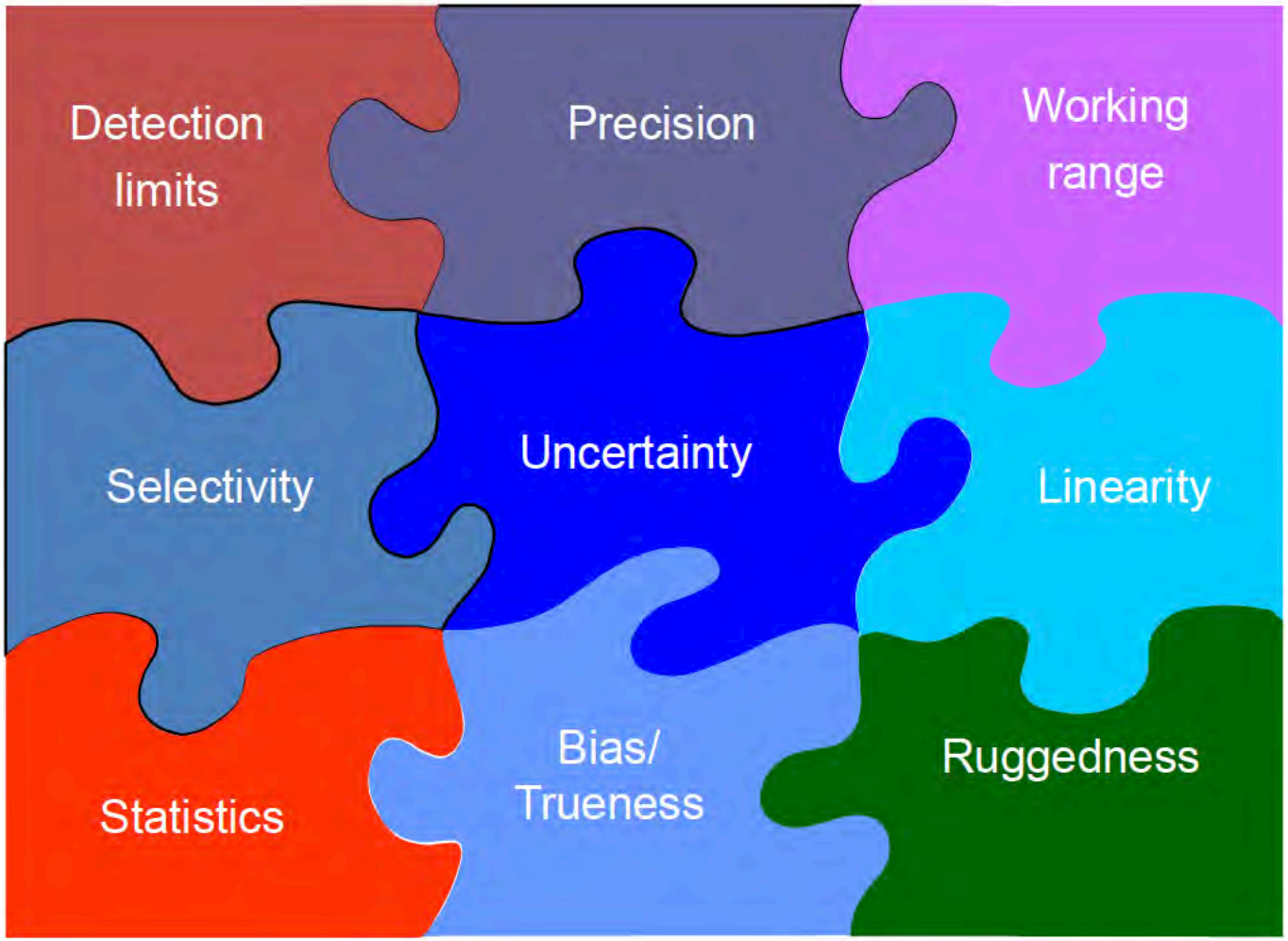
Avaliação do desempenho do laboratório

A avaliação do desempenho do laboratório também deve ser feita recorrendo à participação em ensaios interlaboratoriais, em que cada laboratório participante é avaliado pela entidade organizadora do ensaio. Em geral utiliza-se o factor de desempenho *Z-score.*

- ensaios interlaboratoriais ou estudos colaborativos envolvem um número de diferentes laboratórios analisando a mesma amostra pelo mesmo método

- o principal objectivo deste tipo de estudos é estabelecer a precisão interlaboratorial do método ou reprodutibilidade

Tipo de método	Testar
Método padrão já existente	Exatidão e precisão em matrizes e analitos representativos
Modificação de um método padrão	Exatidão e precisão em matrizes e analitos representativos Calibração, limiares analíticos, selectividade da extracção, robustez
Método novo	Validação completa



Seby F. 2010. Method validation for spectrochemical analysis. Ultra Traces Analyses Aquitaine, France

Exemplo de métodos validados disponíveis

- **ISO 17294-1:2004 Water quality** - Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) -Part 1: General guidelines
- **ISO 30011:2010 Workplace air** - Determination of metals and metalloids in airborne particulate matter by inductively coupled plasma mass spectrometry
- **BS EN 15763:2009 Foodstuffs**. Determination of trace elements. Determination of arsenic, cadmium, mercury and lead in foodstuffs by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS) after pressure digestion

Documentação

Relatório da validação (pode servir de plano de validação)

Título

Informação acerca do método
(âmbito, e descrição do estado da arte, analito de interesse e uso pretendido para o método

Reagentes e material/Amostragem

Validação de método novo / Verificação da *performance* de um método existente / Nova aplicação de um método pré-existente

Características do método a validar

Resultados

Sumário

Implicações para o uso rotineiro

Controlo de qualidade

Precauções

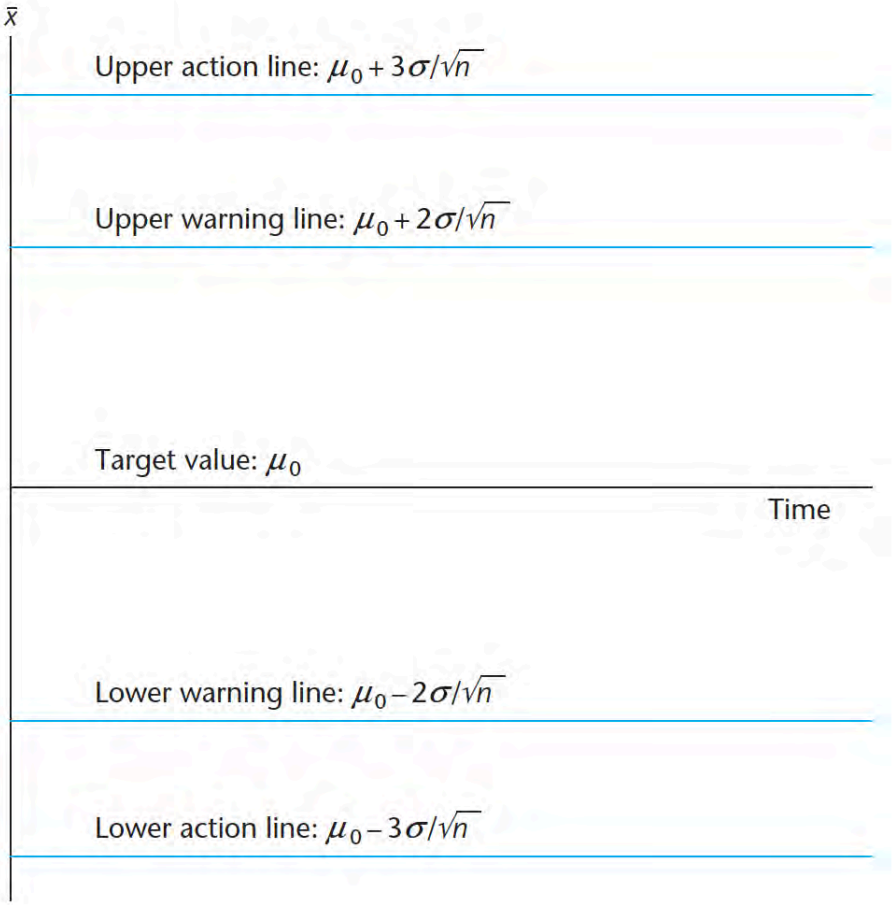
- **Perda de analitos vestigiais em superfícies**
  - superfície de vidro (*sites* activados, superfícies acidificadas)
  - plásticos (ex. pontas de pipetas)

- **Contaminação cruzada**
  - limpeza de material de vidro, plástico
  - utilização de um branco para teste

- **Estabilidade da amostra**
  - pH
  - reacção com solventes
  - oxidação
  - decomposição de resíduo seco

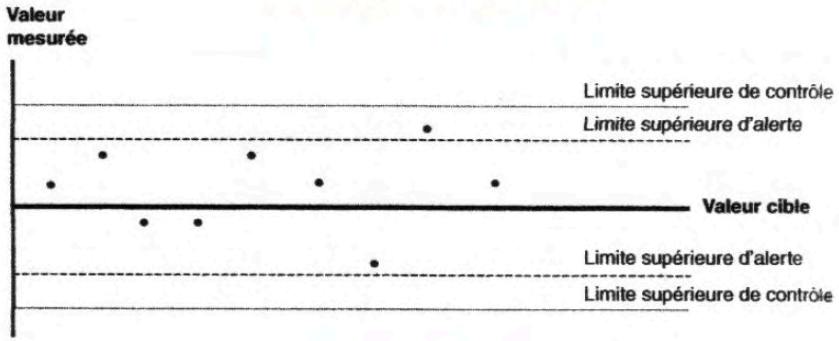
Controlo de Qualidade

(Shewhart chart)

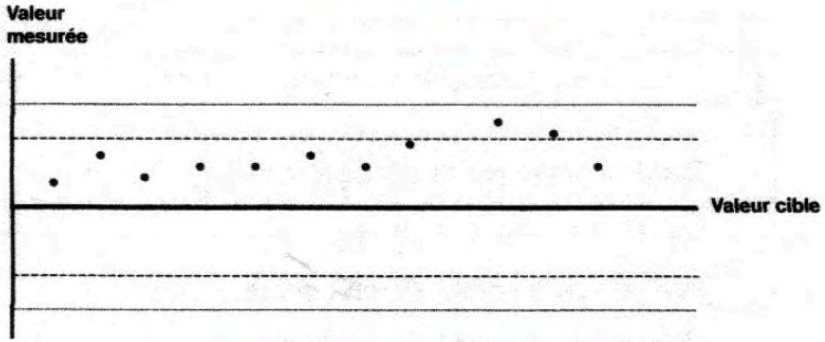


Miller JN and Miller JC. 2010. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. 6th Edition, Pearson Education Limited, England

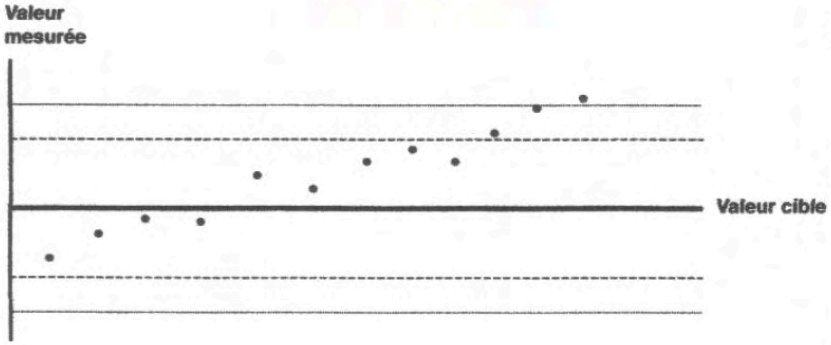
Data under control



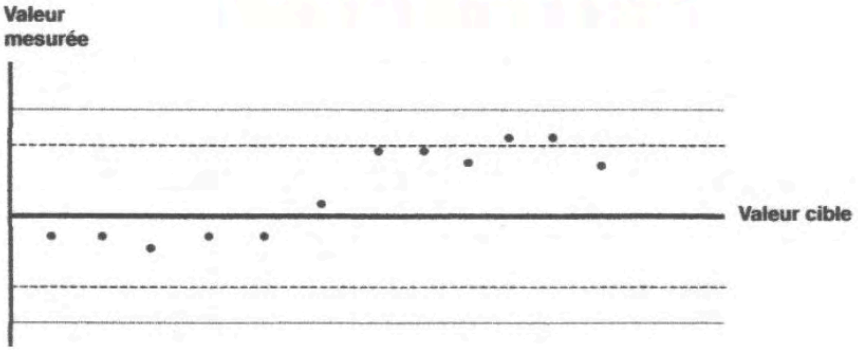
Deviating data



Drifting data



Data with a step change

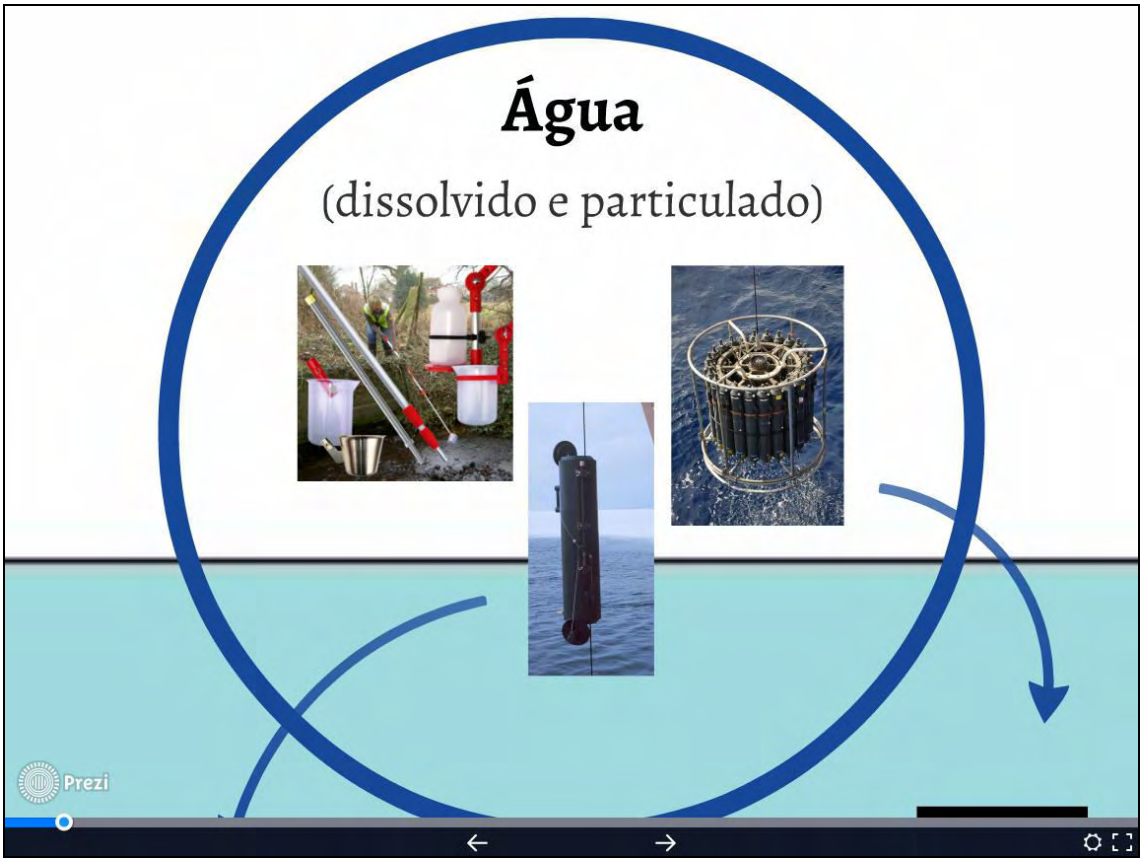


Seby F. 2010. Method validation for spectrochemical analysis. Ultra Traces Analyses Aquitaine, France

Referências

- Barwick, V. and Wood, S. (2010). Achieving metrological traceability in chemical and bioanalytical measurement. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 25, 785–799.
- Burns, D.T., Danzer, K. and Townshend, A. (2009). A tutorial discussion of the use of the terms "Robust" and "Rugged" and the associated characteristics of ”Robustness" and "Ruggedness" as used in descriptions of analytical procedures. Journal of the Association of Public Analysts, 37, 40-60.
- Magnusson, B. and Örnemark, U. (eds.) (2014). Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2nd ed.
- Miller, J. N. and J. C. Miller (2010). Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry 6th edition. Prentice Hall/Pearson Education.
- Sargent, M. (2003). "UK delivery of traceable chemical measurements in the 21st century: building on the foundation of the VAM programme." Accreditation and Quality Assurance 8(10), 480-482.
- Seby, F. 2010. Method validation for spectrochemical analysis. Ultra Traces Analyses Aquitaine, France.

Das amostras em campo aos resultados no laboratório



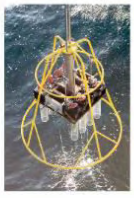
Organismos

(fauna e flora)

Prezi

Sedimento

(superficial/profundidade)



Prezi

Pré-preparação da amostra

- filtração (dissolvido+particulado)
- pré-concentração/separação da matriz
- secagem e triagem de sedimentos
- secagem/liofilização de tecidos

Prezi

Digestão das amostras

(particulado/sedimento/tecidos)

Ataque ácido (HF/HNO3/aqua regia/C2H4O2
Oxidação da matéria orgânica (tecidos) H2O2

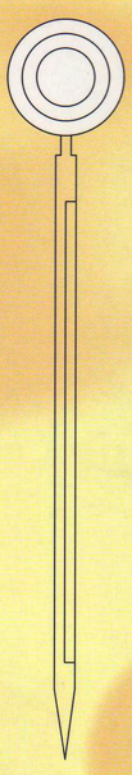
Prezi

Equipamentos

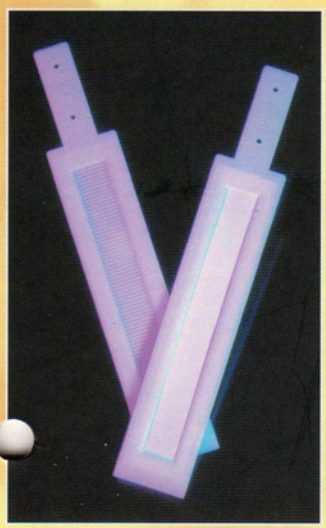
Prezi

Análise das amostras por ICP-MS

Prezi



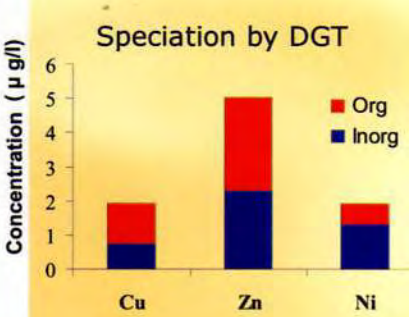
DIFFUSIVE GRADIENTS IN THIN FILMS



Innovative ways of measuring metals,
cations and anions in waters, soils and sediments

Use in water

In its routine form, DGT measures all solution species that are labile (available to biota). This includes all inorganic species in true solution and most organic complexes. It does not measure metals that are incorporated inside mineral particles and are therefore inert or unreactive. DGT measurements agree well with dialysis and voltammetry. By using different types of gel for the diffusive layer the inorganic species in solution can be measured separately from the organic species.

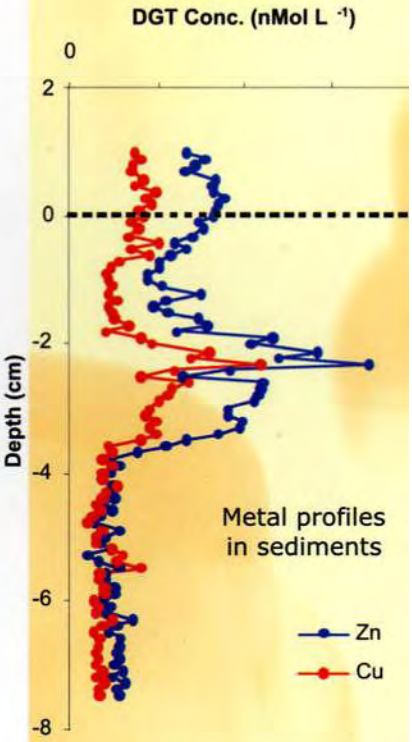


Features include:

- Independent of flow, pH and ionic strength
- Independent of matrix (not affected by oils or surfactants)
- Easily deployed in situ, even in sewage and underground waters
- Monitors continuously for any time (hours to weeks)
- Simple, robust and low cost
- Built in calibration and preconcentration
- Measures speciation and bioavailability

Use in sediments

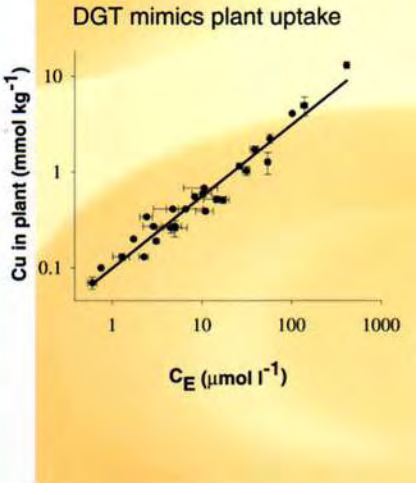
DGT measures directly the ***mean flux of labile species*** to the device during the deployment. This can be interpreted directly as the ***mean concentration of metal ions in the pore-water at the surface of the device***. In some cases this is the same as the concentration in bulk pore-water.



DGT probes can be inserted directly into sediments. On retrieval the resin-gel layer can be sliced as thinly as 1mm and metal measured in each slice. Measurements have been made at much finer spatial resolution and in two dimensions by measuring the metal in the resin gel by a beam technique (PIXE or laser ablation ICP-MS).

Use in soils

For a given device and deployment time, the DGT-measured concentration can be related directly to the ***effective concentration of labile metal, C_E*** (Zhang *et al.*, 2001). C_E represents, as a concentration, the supply of metal from both solution and solid phase.



Concentrations of metals in plants are very well correlated with C_E measured by DGT. By lowering the concentration locally, and inducing diffusive supply and release from the solid phase, DGT mimics the main mechanism of plant uptake.

A dynamic, numerical model (DIFS) that simulates the interaction of DGT with saturated soils and sediments can be used to obtain thermodynamic and kinetic constants.