



Rafael Christian Chavez Rocha

**Desenvolvimento de método para determinação de
elementos tóxicos e essenciais em pelo canino por
espectrometria de massa com plasma indutivamente
acoplado**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da PUC-Rio como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientador: **Tatiana Dillenburg Saint’Pierre**
Co-orientador: **Rachel Ann Hauser Davis**

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2021



Rafael Christian Chavez Rocha

Desenvolvimento de método para determinação de elementos tóxicos e essenciais em pelo canino por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada:

Prof^a. Dr^a. Tatiana Dillenburg Saint’Pierre

Orientador

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro

Prof^a. Dr^a. Rachel Ann Hauser Davis

Coorientador

Fundação Oswaldo Cruz

Prof^a. Dr^a. Cibele Maria Stivanin de Almeida

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF

Prof. Dr. Carlos German Massone

Departamento de Química – PUC-Rio

Dr. Vinícius Lionel Mateus

Departamento de Engenharia Ambiental
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor, da co-orientadora e da orientadora.

Rafael Christian Chavez Rocha

Graduou-se em Química na PUC-RIO (Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro) em 2018. Técnico em Química pelo CEFET-Química em 2007. Participou de diversos congressos na área de Química Analítica

Ficha Catalográfica

Rocha, Rafael Christian Chavez

Desenvolvimento de método para determinação de elementos tóxicos e essenciais em pelo canino por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado / Rafael Christian Chavez Rocha ; orientador: Tatiana Dillenburg Saint’Pierre ; co-orientador: Rachel Ann Hauser Davis. – 2021.

82 f. : il. color. ; 30 cm

Dissertação (mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2021.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. ICP-MS. 3. Pelo canino. 4. Metais tóxicos. 5. Metais essenciais. I. Saint’Pierre, Tatiana Dillenburg. II. Davis, Rachel Ann Hauser. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. IV. Título.

CDD: 540

Agradecimentos

À PUC-Rio, pela bolsa de isenção concedida.

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

À minha orientadora Tatiana Dillenburg Saint’Pierre, por toda a ajuda e atenção durante a minha graduação, pela oportunidade de poder cursar meu curso no local onde trabalho, pela paciência em tentar entender o que eu falo.

À minha co-orientadora e amiga Rachel Hauser Davis, por todo apoio, incentivo e paciência, por escutar e por continuar me dando ideias (malucas), pela parceria para a realização deste trabalho, por me manter animado com minha área de pesquisa. OBS: desta vez fui menos teimoso!

Ao meu aluno de iniciação, “escravo”, Pedro Fazendeiro de Vinho, por me ajudar a preparar as amostras enquanto estava atolado com outras prestações.

Aos meus pais Jose Chavez Jaldin e Beatriz Corina Rocha de Chavez, por todo o amor, carinho e atenção.

Aos meus irmãos Erick David e Jose Gabriel, por me darem bons conselhos quando precisei.

Ao meu amigo George Peter Braga Zinovetz Duarte, por me incentivar e ficar até altas horas jogando *video game* comigo.

Aos meus amigos da PUC-Rio: Helga Ribeiro Marinho e Marcelo Folhadella Martins Faria Azevedo, por toda a força dada, conversas e incentivo, além de me aguentarem nos meus momentos de estresse.

Ao LABIN do INMETRO, por permitir realizar análises no seu equipamento.

Ao LabÁguas da PUC-Rio, por permitir realizar análises no seu equipamento.

À toda equipe do LABSPECTRO, que sempre estão me aguentando estressado.

À banca avaliadora por aceitar meu trabalho escrito.

Ao Departamento de Química da PUC-Rio.

Resumo

Rocha, Rafael Christian Chavez; Hauser-Davis, Rachel Ann; Saint’Pierre, Tatiana Dillenburg. **Desenvolvimento de método para determinação de elementos tóxicos e essenciais em pelo canino por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado**. Rio de Janeiro, 2021. 82 p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

O cabelo humano pode ser utilizado para verificação do estado de saúde do indivíduo. Para tal, são quantificados os elementos essenciais e tóxicos por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) em uma amostra de cabelo e os resultados comparados com valores de referência. Com essas informações, o médico pode avaliar se há algum tipo de desequilíbrio mineral ou intoxicação. O cachorro pode ser um bom bioindicador de exposição ambiental já que ele compartilha do mesmo ambiente que o ser humano, bebe a mesma água e, em alguns casos, come o mesmo alimento. O pelo canino tem quase a mesma composição que o cabelo humano, variando somente sua taxa de crescimento. Neste trabalho, desenvolveu-se um método para determinação dos elementos essenciais e tóxicos em pelo canino por ICP-MS. Para tanto, foram otimizados os procedimentos de lavagem do pelo, a massa mínima de amostra para garantir a homogeneidade, e o procedimento de decomposição. Verificou-se que as melhores condições foram: lavagem com água, massa de amostra entre 100 e 300 mg, e decomposição com HNO_3 e H_2O_2 . Os resultados foram comparados com os obtidos por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), técnica já bem estabelecida. O método mostrou-se versátil devido a sua capacidade analítica multielementar, com sensibilidade e acurácia adequadas (os valores de recuperação em relação aos valores certificados ficaram entre 80 e 120 %) para a amostra de referência. O trabalho apontou a necessidade de novos estudos para estabelecer valores de referência do mineralograma para cães, assim como avaliar a diferença entre raças

Palavras-chave:

ICP-MS; Pelo Canino; Metais Tóxicos; Metais Essenciais.

Abstract

Rocha, Rafael Christian Chavez Rocha; Hauser-Davis, Rachel Ann; Saint’Pierre, Tatiana Dillenburg (Advisor). **Development of a method for the determination of toxic and essential elements in canine fur by inductively coupled plasma mass spectrometry**. Rio de Janeiro, 2021. 82 p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Human hair can be used to check the individual's health status. For this purpose, the essential and toxic elements are quantified in the inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS) and compared to a reference table to identify any possible mineral imbalance or intoxication. The dog can be a good bioindicator of environmental exposure since it shares the same environment as the human being, drink the same water and in some cases eat the same food. Canine fur has almost the same composition as human hair, varying only its growth. In this work, a method was developed to determine the essential and toxic elements in canine by ICP-MS. For that, the hair washing procedures were optimized, the minimal sample mass to ensure homogeneity, and the decomposition procedure. It was found that the best conditions were: washing with water, sample mass between 150 and 300 mg, and decomposition with HNO₃ and H₂O₂. The results were compared with those obtained by optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP OES), a well-established technique. The method proved to be versatile due to its multi-element analytical capacity, with adequate sensitivity and accuracy (the recovery values in relation to the certified values were between 80 and 120 %) for the reference sample. The work indicated the necessity for further studies to established reference values of the mineralogram for dogs, as well evaluated the difference between races.

Keywords:

ICP-MS; Canine Fur; Toxic Metal; Essential Elements.

Sumário

1. Introdução	13
1.1. Elementos essenciais	17
1.2. Elementos tóxicos	18
1.3. Outros elementos	18
1.4. Determinação de metais em amostras biológicas	18
1.5. Interferências em ICP-MS e ICP OES	22
1.5.1. Interferências não espectrais	23
1.5.2. Interferências espectrais em ICP OES	24
1.5.3. Interferências espectrais em ICP-MS	24
2. Objetivo	27
2.1. Objetivo Geral	27
2.2. Objetivos específicos	27
3. Materiais e Métodos	28
3.1. Materiais e Reagentes	28
3.2. Instrumentação	28
3.3. Método	29
3.3.1. Preparo da Amostra	30
3.3.1.1. Coleta e homogeneidade da amostra	30
3.3.1.2. Otimização do procedimento de lavagem	31
3.3.1.3. Otimização do procedimento de decomposição	31
3.3.1.4. Otimização da massa mínima de amostra	32
3.4. Otimização das das condições de análise	32
3.4.1. Curva analítica	32
3.5. Estabelecimento dos Parâmetros de Mérito	33
3.5.1. Sensibilidade	33
3.5.2. Exatidão	33
3.5.2.1. Teste de adição e recuperação	33
3.5.2.2. Análise de amostras de referência	34

3.5.2.3. Comparação entre técnicas de quantificação	34
3.5.3. Precisão	34
3.6. Estatística aplicada	35
4. Resultados e Discussão	36
4.1. Parâmetros operacionais dos equipamentos	36
4.2. Homogeneidade	36
4.3. Otimização do procedimento de lavagem	38
4.4. Otimização do procedimento de decomposição	44
4.5. Teste de massa mínima	45
4.6. Otimização de condições de análise	50
4.6.1. Curva analítica	50
4.7. Estabelecimento dos parâmetros de mérito	51
4.7.1. Sensibilidade	51
4.7.2. Exatidão	54
4.7.2.1. Teste de Adição e Recuperação	54
4.7.2.2. Amostras de Referência Certificada	57
4.7.2.3. Comparação entre técnicas de quantificação	60
4.7.3. Precisão	61
5. Conclusão	63
6. Trabalhos futuros	64
Referências Bibliográficas	65

Lista de Figuras

Figura 1 (A) Medula, (B) Córtex e (C) Cutícula do pelo canino, adaptado de Souza T. M., 2009.	16
Figura 2 Esquema de um espectrômetro de massas modelo NexION 300X, PerkinElmer: A: amostra líquida, B: nebulizador e câmara de nebulização, C: tocha, D: cone amostrador, E: skimmer, F: hyperskimmer, G: defletor, H: célula universal, I: quadrupolo e J: detector (imagem adaptada de EPA, 2021)	20
Figura 3 Esquema de um espectrômetro de massas modelo 7500ce, Agilent: A: nebulizador e câmara de nebulização, B: tocha, C: amostrador, cone e lente iônica, D: célula de reação, E: quadrupolo e F: detector (imagem adaptada de Ferdi, 2021).	21
Figura 4 Esquema de um ICP OES da PerkinElmer: A: câmara de nebulização, B: tocha, C: visão radial, D: visão axial, E, F, E: espelhos defletores, G: rede de difração e H: detector (imagem adaptada de Helmut, 2021).	22
Figura 5 Zonas de temperatura do plasma (Thomas, 2001).	26
Figura 6 Médias e desvios-padrão das concentrações obtidas após as lavagens I a V.	39
Figura 7 Teste t de <i>Student</i> comparativo das concentrações obtidas com as lavagens, em preto (diferença significativa, $p < 0,05$) e em cinza (sem diferença significativa, $p > 0,05$).	41
Figura 8 Coeficientes de variação (%) das concentrações obtidas com as diferentes lavagens.	42
Figura 9 Coeficientes de variação (%) das concentrações obtidas com as lavagens I (3 lavagens com água) e II (3 lavagens com água e 1 lavagem com acetona).	42
Figura 10 Médias e desvios-padrão das concentrações obtidas por ICP-MS para as decomposições com e sem H ₂ O ₂ , em mg kg ⁻¹ .	44
Figura 11 Coeficiente de variação (%) das concentrações obtidas por ICP-MS para os dois procedimentos de decomposição.	45

Figura 12 Médias e desvios-padrão das concentrações obtidas, em mg kg^{-1} , para massas de amostra de 50 mg a 500 mg.	46
Figura 13 Teste t de <i>Student</i> para as massas 50 e 100 mg, em preto (não significativas, $p < 0,05$) e em cinza (significativas, $p > 0,05$).	47
Figura 14 Teste t de <i>Student</i> para as massas 150 e 200 mg, em preto (não significativas, $p < 0,05$) e em cinza (significativas, $p > 0,05$).	48
Figura 15 Teste t de <i>Student</i> para as massas 250, 300, 350, 400, 450, e 500 mg em preto (não significativas, $p < 0,05$) e em cinza (significativas, $p > 0,05$).	49

Lista de Tabelas

Tabela 1 Comprimento de onda dos elementos analisados por ICP OES.	34
Tabela 2 Parâmetros operacionais otimizados dos equipamentos.	36
Tabela 3 Média e desvios-padrão das concentrações obtidas na amostra de pelo canino, por ICP-MS, em mg kg ⁻¹ .	37
Tabela 4 Curva analítica empregada na determinação multielementar em pelo canino por ICP-MS. Concentrações em µg L ⁻¹ .	50
Tabela 5 Limites de Detecção instrumental, em µg L ⁻¹ , obtidos com os diferentes equipamentos.	52
Tabela 6 Limites de Quantificação do método entre equipamentos, resultados em mg kg ⁻¹ .	53
Tabela 7 Resultados das recuperações (%) obtidas após adição dos elementos em média e baixa concentração antes da decomposição.	55
Tabela 8 Resultados das recuperações (%) obtidas após adição dos elementos pós decomposição.	56
Tabela 9 Média e desvio-padrão das concentrações obtidas por ICP-MS e certificadas, para o CRM NCS DC 73347 ^a , em mg kg ⁻¹ , recuperação (%) e resultados do teste t.	58
Tabela 10 Média e desvio-padrão das concentrações obtidas por ICP-MS e certificadas, para CRM ERM-DB001, em mg kg ⁻¹ , recuperação (%) e resultados do teste t.	58
Tabela 11 Média e desvio-padrão das concentrações obtidas por ICP OES e certificadas, para o CRM NCS DC 73347 ^a , em mg kg ⁻¹ , recuperação (%).	59
Tabela 12 Média e desvio-padrão das concentrações obtidas por ICP OES e certificadas para CRM ERM-DB001, em mg kg ⁻¹ , e recuperação (%).	60
Tabela 13 Média e desvio-padrão das concentrações obtidas por ICP OES e ICP-MS, em mg kg ⁻¹ , e resultados do teste t pareado da comparação entre as duas, para a amostra de referência de pelo canino.	61
Tabela 14 Resultados do DPR para a amostra de pelo canino de referência por ICP-MS.	62

Abreviaturas e siglas

ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>
AAS	<i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
CRM	<i>Certified Reference Material</i>
CV	Coeficiente de Variação
DRC	<i>Dynamic Reaction Cell</i>
DP	Desvio-padrão
DPR	Desvio-padrão Relativo
ICP-MS	<i>Inductively Coupled plasma mass Spectrometry</i>
ICP OES	<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LabÁguas	Laboratório de Caracterização de Águas
KED	<i>Kinetic Energy Discrimination</i>
Labspectro	Laboratório de Espectrometria
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
m/z	Massa/Carga

1. Introdução

Para verificação do estado de saúde humano, pode-se realizar uma análise chamada de mineralograma capilar. Esta consiste na análise de elementos químicos presentes no cabelo, sendo eles essenciais e/ou tóxicos. É uma análise complementar que visa investigar alterações das concentrações dos elementos que são excretados através do cabelo e, assim, confirmar diagnósticos médicos em relação a uma eventual exposição a algum elemento tóxico, ou um possível desequilíbrio nutricional devido à má alimentação ou à alguma alteração fisiológica, como, por exemplo, a osteoporose, hiperparatireoidismo, hipertireoidismo, hipotireoidismo e osteomalacia (Miekeley, 2001; Miekeley, 1998).

Testes para a determinação de elementos químicos no cabelo humano têm sido realizados, desde a década de 1960. No início da década de 60, descobriu-se que Napoleão apresentava uma concentração de arsênio 100 vezes acima do normal em seu cabelo, indicando possível envenenamento (Campbell, 1985). Assim, diversas pesquisas foram realizadas, não só para identificar intoxicações ou envenenamentos, mas também levando a estudos sobre correlações entre o excesso ou a deficiência de certos elementos com doenças ou condições específicas.

A análise de cabelo pode, portanto, fornecer importantes informações em diversas áreas, como, por exemplo, a química forense, medicina do trabalho, medicina ortomolecular, entre outras (Pozebon *et al.*, 1999). Isso se deve ao fato do cabelo ser capaz de incorporar espécies químicas provenientes de fontes endógenas e exógenas (Hopps, 1977; Chittlebrough, 1980; Peereboom, 1985). Ambos são importantes, porém, quando se trata de verificar o estado de saúde juntamente com anomalias fisiológicas, má nutrição ou exposição ambiental de longa data, as determinações das espécies químicas provenientes de mecanismos endógenos são mais significativas na avaliação do mineralograma capilar (Contiero, 1994). Isto se deve ao fato de que o organismo excreta elementos através do cabelo. Portanto, há a necessidade de se realizar uma lavagem do cabelo previamente às análises, para que seja removido todo material externo

adsorvido nos fios de cabelo, como, por exemplo, material particulado e poeira, dentre outros. No Brasil exames toxicológicos são exigidos para os caminhoneiros, Lei Nº 13.103, de 2 de março de 2015, e sugere-se que este exame seja feito através do cabelo.

A relação homem/cão data de milhares de anos atrás. Esta relação inicialmente se deve a presença de resíduos de alimentos que os cães selvagens passaram a se alimentar e que os humanos passaram a tolerar, pois o problema de resíduos havia sido solucionado com a presença dos cães, levando a um princípio de cooperação mútua. Logo em seguida, os humanos passaram a utilizar os cães para caça e proteção contra predadores e estes, em troca, recebiam comida e local para residir. A partir desse ponto, começaram a ser selecionadas características específicas desejadas por criadores. Hoje, os cães apresentam funções de companhia, detecção de narcóticos e explosivos, deficiência visual e auditiva, pastoreio, resgate e caça, onde cada função depende da raça de cão (Cabral *et al.*, 2020).

Atualmente, a grande maioria dos animais domésticos tem uma vida semelhante à dos seus donos, estando expostos ao mesmo ambiente em que seus donos vivem. Logo, estudar efeitos ambientais na saúde dos animais de estimação pode contribuir para a compreensão desses efeitos em humanos. Assim, surgiu a ideia de utilizar os *pets* (animal de estimação, do inglês), mais especificamente, cães, no monitoramento da exposição a elementos tóxicos devido à poluição ambiental. Ainda, a poluição pode, também, afetar os balanços entre elementos essenciais, prejudicando a saúde do animal? Ou seja, o mineralograma poderia ser empregado para avaliar a saúde de animais?

Alguns estudos neste âmbito já têm sido realizados, indicando que os elementos que costumam ser monitorados na análise de cabelos de seres humanos também podem ser monitorados nos cachorros, embora não existam valores de referência estabelecidos para cães ou outros animais, mas sim valores para mamíferos em geral (Jenkins, 1979). Neste contexto, um estudo realizado na Coréia por Park *et al.* (2005) verificou a influência das zonas urbanas em pelos caninos de animais com nenhum histórico de exposição ocupacional e verificou-se que a concentração de certos metais tóxicos (Cd, Hg, Pb e Cr) eram maiores em zonas urbanas do que em zonas rurais. Os autores também

concluíram que estes metais estavam presentes em maior concentração em residências onde os donos eram fumantes, confirmando que os ambientes onde os cães se desenvolvem apresentam relação direta com as concentrações elementares encontradas no pelo.

Em outro estudo, Dunlap *et al.* (2007) tiveram como objetivo verificar a possibilidade de utilizar pelos caninos como indicativos de contaminação por Hg, visto que os cachorros da região de estudo (Yukon River, Alaska) se alimentavam dos mesmos alimentos que os humanos. Os resultados indicaram que as concentrações de Hg diminuía nas amostras coletadas mais ao interior do continente, e se apresentavam cada vez menores, quanto mais distantes de rios onde os cachorros habitavam. Neste mesmo estudo foi realizada também a comparação de uma mesma região de pelo canino atual com pelo canino de uma zona arqueológica datada de 1290 ± 200 anos da data do estudo realizado, e observou-se que a concentração de Hg foi menor que o pelo canino atual, porém, acima do local de referência localizada o mais distante do rio.

A utilização do pelo canino para fins de biomonitoramento se torna interessante pois não requer o uso de métodos invasivos para a obtenção da amostra, é fácil de coletar e estocar, e apresenta a possibilidade de análise dos elementos por diversas técnicas analíticas, pois as concentrações elementares em pelos (e cabelos) são mais altas do que em outros tecidos ou fluidos biológicos (Carneiro *et al.*, 2002). Outro ponto positivo para o uso do pelo para tais fins se deve ao fato de sua composição ser semelhante ou praticamente igual ao cabelo humano, que é composto por cutícula, córtex e medula (Figura 1). Além disso, o pelo de cachorro, diferentemente do cabelo humano, não costuma ser submetido a tratamentos estéticos, que podem alterar sua composição mineral, facilitando a identificação de possíveis exposições ambientais.

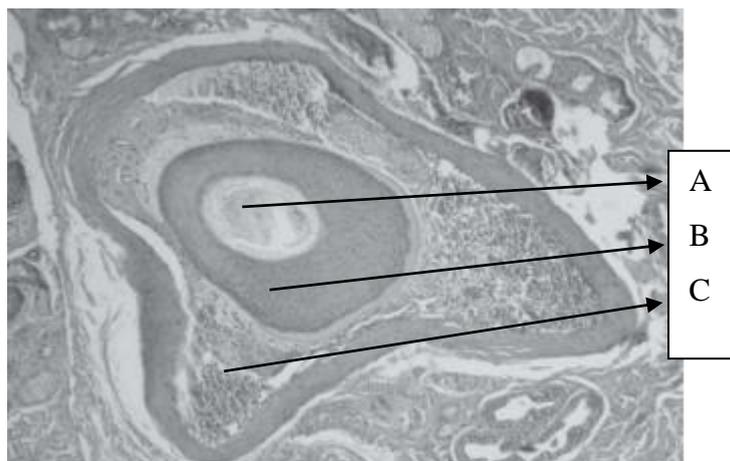


Figura 1 (A) Medula, (B) Córtex e (C) Cutícula do pelo canino, adaptado de Souza T. M., 2009.

Porém, antes de se realizar as análises para quantificação e posterior diagnóstico, deve-se primeiro desenvolver um método para o preparo do cabelo para determinação dos elementos de interesse específico para esse tipo de amostra, que basicamente consistem em lavagem do material, decomposição e posteriormente uma diluição. Marta *et al.* (2000) descreve cinco procedimentos de lavagem para determinação de elementos traços e menores em cabelo, obtendo como melhor processo o uso do Triton X-100. Campbell (1985) sugere o uso de uma solução contendo um detergente não-tóxico para remoção dos materiais adsorvidos na superfície do cabelo. Já Scoble *et al.* (1978) utilizou uma solução contendo 1 % de LINBRO 7-X, detergente não iônico, no procedimento de lavagem. A *International Atomic Energy Agency* (IAEA, 1993) recomenda o uso de solventes polares e apolares e um detergente não iônico. Todos estes trabalhos foram realizados para medição de elementos majoritários como Na, K, Ca e Mg, menores como Mn, Fe, Cu, Zn, e alguns a níveis de ultra-traços como Cd, Mn e Cr.

Alguns elementos podem ser encontrados no pelo em concentrações abaixo do nível de $\mu\text{g g}^{-1}$, que podem ser menores que os limites de quantificação de algumas técnicas analíticas como, por exemplo, a espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) ou espectrometria de absorção atômica (AAS). Deste modo, torna-se interessante realizar a determinação desses elementos por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), que apresenta a

capacidade de atingir limites de quantificação menores do que os limites da maioria das outras técnicas analíticas, e a grande vantagem de ser uma técnica monoelementar sequencial, sendo, por isso, a técnica empregada nesse trabalho (G. Tyler, 1992,1994; J. Olesik, 1991).

1.1. Elementos essenciais

Como o próprio nome diz, estes elementos são essenciais para o funcionamento adequado do organismo. Para que um elemento possa ser considerado essencial quatro requisitos devem ser preenchidos. O primeiro requisito indica que, quando um elemento se encontra em baixas concentrações, o bom funcionamento do organismo é afetado, acarretando problemas de saúde, porém, esta condição é reversível se o elemento volta às suas concentrações normais. O segundo requisito é que, se este elemento essencial deixa de estar presente, o funcionamento do organismo é comprometido, levando o organismo à morte. O terceiro requisito é que o elemento deve fazer parte de algum processo importante do organismo, principalmente processos metabólicos. Finalmente, o quarto requisito indica que o elemento não pode ser substituído por outro. (SCHMIDT-NIELSEN, 1996; OLIVEIRA, 2008)

Os elementos essenciais podem ser classificados em majoritários (O, C, H, N, Ca, P, S, K, Na, Cl e Mg), minoritários (Fe, Zn, Cu, F, Br e Se) e ultra-traços (I, Mn, V, Si, As, B, Ni, Cr, Mo e Co). Existem também elementos cuja essencialidade ainda não foi comprovada (Li, Sr e Cd) (Oliveira, 2018).

Alguns elementos citados acima (B, Co, Cr, Cu, I, Mn, Mo, Se, Sr, V e Zn), quando em concentrações muito elevadas, podem ser considerados tóxicos, enquanto sua deficiência pode acarretar efeitos deletérios, de acordo com a Agência para Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2020). Alguns dos efeitos causados incluem problemas respiratórios leves e reversíveis (por exemplo, por exposição ao B por via atmosférica), o não-funcionamento de determinados órgãos (em casos de altas ou baixas concentrações de I) e até danos ao sistema nervoso central (em condições da presença de altas concentrações de Zn).

1.2. Elementos tóxicos

Elementos tóxicos são aqueles que não apresentam função para o funcionamento dos organismos e levam a efeitos nocivos acima de uma determinada concentração. Vale ressaltar que mesmo elementos essenciais, quando acima de determinadas concentrações podem se tornar tóxicos (Oliveira, 2018).

Os elementos Ag, Al, As, Ba, B, Be, Bi, Cd, Hg, Ni, Pb, Sb, Sn, Th, U são considerados tóxicos em qualquer nível de concentração, porém, levam a sintomas de intoxicação acima de determinadas concentrações. Os efeitos causados dependem da forma pela qual o organismo foi exposto (via oral, aérea ou cutânea) e também da forma química como o contaminante se encontra (orgânica ou inorgânica) (Thoma et al., 1988). Alguns dos efeitos causados pela exposição a estes elementos são perda de peso, danos respiratórios, cardiovasculares, gastrointestinais, hematológicos, hepáticos, renais, dérmicos, oculares, endócrinos, imunológicos, neurológicos, reprodutivos, de desenvolvimento, genotóxicos, e até morte (ATSDR, 2020).

1.3. Outros elementos

Existem também elementos com toxicidade ou essencialidade dúbias, como Au, Ga, Ge, Pd e Ti. Alguns estudos sobre seus efeitos têm sido realizados, e existem evidências de baixas toxicidades ou propriedades carcinogênicas (ATSDR, 2020; Thoma et al., 1988, Hauser-Davis, 2020).

1.4. Determinação de metais em amostras biológicas

A escolha da técnica analítica a ser utilizada para a determinação da concentração de elementos químicos em amostras biológicas está diretamente relacionada às concentrações presentes e a quantidade de elementos que se pretende determinar. Por exemplo, existem técnicas que realizam análises monoelementares, multielementares sequenciais e multielementares simultâneos (G. Tyler, 1994). Quando há a necessidade da análise de múltiplos elementos, torna-se mais aconselhável a análise empregando técnicas multielementares, como por exemplo ICP OES e ICP-MS. As versões multielementares

simultâneas tendem a ter um custo maior de mercado em relação aos sequenciais, devido à instrumentação mais complexa para realização de medidas simultâneas (G. Tyler,1994).

Comparando a faixa analítica do AAS (mg L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$), ICP OES (mg L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$) e ICP-MS ($\mu\text{g L}^{-1}$, ng L^{-1}), vemos que o ICP-MS é a técnica que apresenta limites de detecção na ordem de ng L^{-1} . Porém, isso não a torna melhor que as outras, pois existem elementos que apresentam baixa sensibilidade em ICP-MS, caso do S e Na. Deste modo, as técnicas de ICP OES e ICP-MS se tornam complementares. Para um grande número de elementos a serem determinados, o ideal é empregar uma técnica multielementar e, neste caso, a ICP-MS é capaz de determinar um grande número de elementos em um curto intervalo de tempo, e com alta sensibilidade, quando comparada com outras técnicas (G. Tyler,1994).

Para determinação dos elementos por ICP-MS, inicialmente há a necessidade de se ionizar os átomos, na forma monovalente, para em seguida serem separados pela razão massa/carga. Os espectrômetros apresentam, basicamente, um sistema de introdução de amostra, uma fonte de ionização, uma interface, um separador de massas e um detector. Alguns equipamentos, além desses componentes, também apresentam uma célula de colisão (KED), célula de reação (DRC) ou uma célula universal que pode operar nos dois modos (DRC/KED), cuja finalidade é reduzir ou eliminar interferências espectrais (Sousa, 2020).

A Figura 2 apresenta o esquema de componentes de um espectrômetro de ICP-MS, modelo NexION 300X (PerkinElmer, EUA), no qual a interface é composta por 3 cones (amostrador, *skimmer*, *hyperskimmer*) e um defletor. Nos modelos iniciais não existia um defletor e sim uma lente colimadora de íons e *fóton stop*. Esta mudança proporcionou uma vantagem, a remoção de espécies não-ionizadas e fótons, gerando menor ruído do que os equipamentos lineares com *fóton stop*, proporcionando melhores limites de detecção e quantificação.

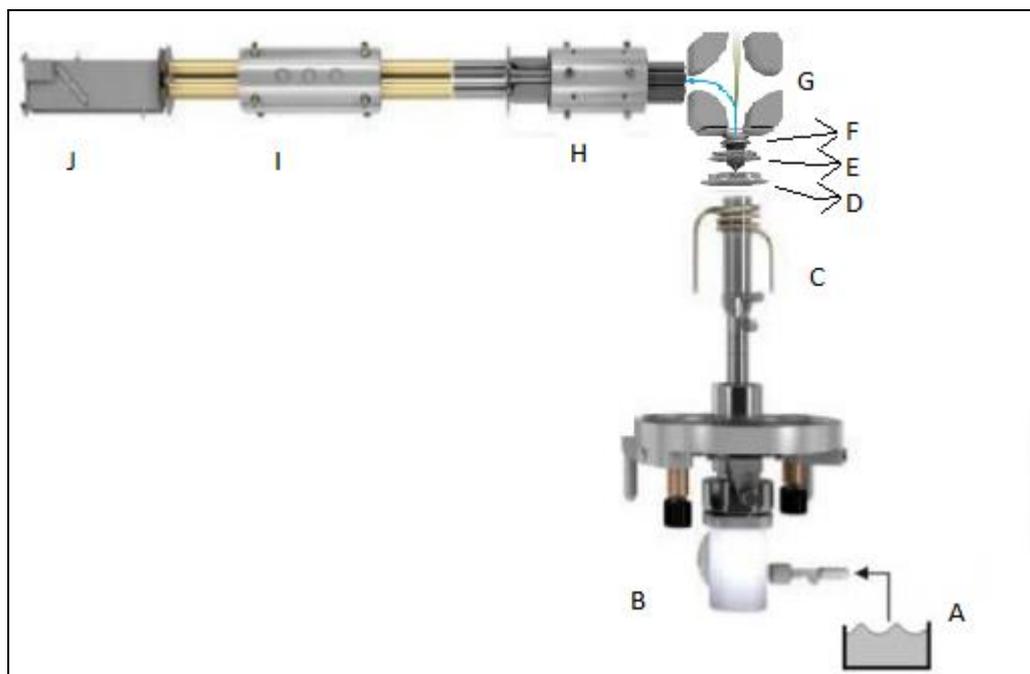


Figura 2 Esquema de um espectrômetro de massas modelo NexION 300X, PerkinElmer: A: amostra líquida, B: nebulizador e câmara de nebulização, C: tocha, D: cone amostrador, E: skimmer, F: hyperskimmer, G: defletor, H: célula universal, I: quadrupolo e J: detector (imagem adaptada de EPA, 2021)

A presença da célula universal se deve à necessidade de reduzir as interferências espectrais que podem ocorrer para alguns elementos, dependendo da matriz. Essa redução de interferência pode ser realizada de duas maneiras, (i) utilizando o modo de discriminação por energia cinética (KED), no qual é utilizado um gás não-reativo, como He, cuja finalidade é se chocar com os íons interferentes que apresentam raios maiores que o íon de interesse, e (ii) utilizando a célula de reação dinâmica (DRC), usando um gás altamente reativo que apresente maior reatividade com o íon interferente do que com o íon de interesse, como CH_4 ou NH_3 . O uso (ou não) destes modos deve ser avaliado de acordo com a matriz da amostra, pois as interferências geradas podem ser diferentes. Com a redução destas interferências, os limites de detecção e limites de quantificação podem ser melhorados, dependendo do analito.

O esquema do modelo DRCII da PerkinElmer é semelhante ao do 7500ce da Agilent (Figura 3), logo não há a necessidade de se colocar o esquema dele.

Nota-se que ambos possuem somente a célula de reação, diferente do modelo NexION 300X que possui uma célula universal, que no caso além do modo de reação teria o modo de colisão para atenuação de possíveis interferências.

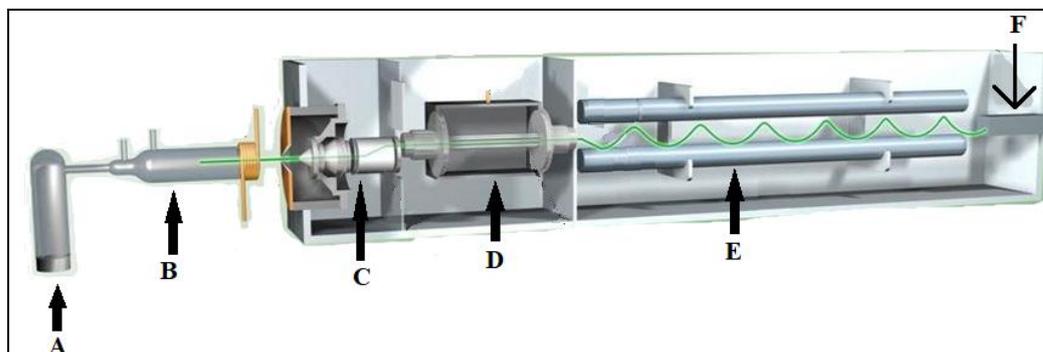


Figura 3 Esquema de um espectrômetro de massas modelo 7500ce, Agilent: A: nebulizador e câmara de nebulização, B: tocha, C: amostrador, cone e lente iônica, D: célula de reação, E: quadrupolo e F: detector (imagem adaptada de Ferdi, 2021).

No ICP OES, dependendo da concentração do analito, pode-se trabalhar com visão radial (raio do plasma), para elementos que se encontram em altas concentrações, e a visão axial, para elementos que se encontram em baixas concentrações.

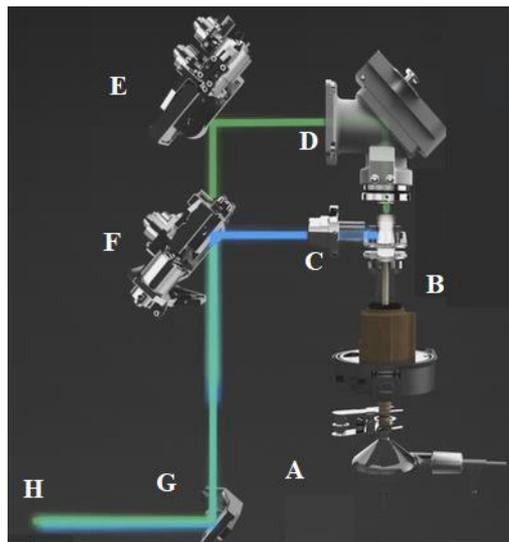


Figura 4 Esquema de um ICP OES da PerkinElmer: A: câmara de nebulização, B: tocha, C: visão radial, D: visão axial, E, F, E: espelhos defletores, G: rede de difração e H: detector (imagem adaptada de Helmut, 2021).

Ambos os equipamentos inicialmente foram projetados para trabalhar com soluções aquosas, mas hoje já se trabalha com solventes e gases. Como pode ser visto nas Figuras 3 e 4, o transporte da solução da amostra e os processos aos quais a mesma é submetida no plasma, em ambas técnicas, são semelhantes. A solução é levada para o nebulizador com vazão controlada por uma bomba peristáltica, no nebulizador ocorre a formação do aerossol da solução e o tamanho da gotícula formada no aerossol será selecionado na câmara de nebulização, onde as menores são carregadas até a tocha e, por consequência, introduzidas no plasma de argônio, onde são dessolvatadas (formação do sal), vaporizadas (transformados em gases), atomizadas e ionizadas. O que varia é a forma como é adquirida a informação do analito de interesse, seja pela razão massa/carga (ICP-MS) ou pelo comprimento de onda característico do elemento (ICP OES), emitido pelo elemento na sua forma atômica ou iônica.

1.5. Interferências em ICP-MS e ICP OES

As duas técnicas trabalham com uma fonte de plasma indutivamente acoplado de argônio, como fonte de ionização dos elementos presentes na solução aquosa. O que diferencia um espectrômetro de massa de um

espectrômetro de emissão óptica, basicamente, é a forma como os sinais dos analitos são medidos.

Em ICP OES, a emissão de radiação ocorre em comprimentos de onda (nm) característicos de cada elemento, como se fosse sua identidade. No entanto, cada elemento químico apresenta um espectro formado por uma série de comprimentos de onda de emissão, que podem acabar coincidindo com linhas de emissão características de outro elemento químico, resultando em interferência espectral.

Em ICP-MS, os elementos são separados em um “filtro” de massas, pela sua relação massa/carga, e, por isso, é desejável que o elemento químico seja ionizado no plasma preferencialmente na forma de cátion monovalente (+1). Essa técnica apresenta alta sensibilidade para uma série de elementos da tabela periódica, com exceção de poucos não metais, como o flúor que possui um potencial de ionização superior ao potencial do argônio. Assim, em ICP-MS, a escolha do isótopo a ser monitorado é fundamental, devido à possibilidade de ocorrência de interferências espectrais.

Por apresentarem formas de detecção diferentes, temos interferências espectrais diferentes para cada técnica, já que a interferência espectral se dá na detecção. A interferência não espectral também pode estar presente e ela se dá da mesma maneira para ambas, pois esta interferência ocorre no processo de transporte e ionização da amostra.

1.5.1. Interferências não espectrais

As interferências não espectrais normalmente são encontradas quando se trabalha com amostras complexas que podem provocar algum tipo de supressão ou incremento nas intensidades geradas. Esse tipo de interferência pode ser provocado pela presença de grande quantidade de sólidos dissolvidos, que afetam a nebulização da solução e, como consequência, a quantidade de material carregado até o plasma, ou pela presença de um elemento químico em alta concentração que irá se ionizar preferencialmente em relação a outro, causando assim uma supressão de sinal, sendo este analisado ou não pelo equipamento ou esta mesma concentração irá aumentar a energia do plasma de modo a

incrementar o sinal. Para atenuação deste tipo de interferência pode-se diluir a amostra, remover o interferente por alguma técnica de separação ou uso de padrão interno. Tais interferências podem ser encontradas tanto no ICP-MS como no ICP OES.

1.5.2. Interferências espectrais em ICP OES

Como mencionado, as interferências espectrais em ICP OES ocorrem quando dois elementos químicos apresentam o mesmo comprimento de onda de emissão nominal, ou seja, comprimentos de onda muito próximos (Ti 228,618 nm e Co 228,616 nm, por ex.), ocorrendo a sobreposição parcial (ou mesmo total) dos sinais entre dois elementos. Isso é particularmente problemático quando um dos elementos se encontra em concentração elevada ou quando o sinal de fundo é alto e não linearmente contínuo na região de emissão do analito. Para resolver este tipo de interferência, deve-se trabalhar com outro comprimento de onda de emissão, caso seja possível. Quando não se tem outro comprimento de onda disponível, deve-se realizar a correção matemática interelementar (IEC).

1.5.3. Interferências espectrais em ICP-MS

Em ICP-MS, ocorrem basicamente 4 tipos de interferências espectrais: isobárica, por íons poliatômicos, por óxidos e por íons de dupla carga. A maneira mais fácil de eliminar as interferências espectrais é a escolha de um isótopo livre de interferências, mas isso não é possível no caso de elementos monoisotópicos. Além disso, a maioria dos elementos, principalmente aqueles com massa menor que 80 u, apresenta algum tipo de interferência espectral em todos os isótopos ou os isótopos que não sofrem interferência possuem abundância muito baixa, podendo não apresentar sensibilidade suficiente para sua exata quantificação.

As interferências isobáricas ocorrem quando dois isótopos diferentes apresentam a mesma massa molecular ($^{202}\text{Hg} - ^{202}\text{Pb}$), normalmente encontrados nos elementos de alta massa molecular. Para resolver este tipo de interferência deve-se trabalhar com outra massa molecular que apresente nenhuma ou pouca

interferência, além de ter uma boa abundância isotópica. Caso não seja possível pode-se optar por trabalhar com equação de correção, desde que o interferente apresente outro isótopo que não sofra interferência.

As interferências poliatômicas ocorrem quando um ou mais elementos se combinam, de modo a produzir um íon poliatômico com massa coincidente com a do analito ($^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl} - ^{75}\text{As}$, $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O} - ^{56}\text{Fe}$, $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar} - ^{80}\text{Se}$, $^{12}\text{C}^{12}\text{C} - ^{24}\text{Mg}$, $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C} - ^{52}\text{Cr}$). Normalmente este tipo de interferência é fácil de prever e acontece principalmente por combinação de elementos presentes na matriz da amostra, água ou solventes, e no plasma, que é composto majoritariamente por Ar. A formação de óxidos, seja do próprio analito ou de outro elemento, cuja massa somada com 16 coincide com a do analito, também é um tipo de interferência por íon poliatômico, mas é tratada como um tipo específico de interferência, por ser muito comum devido à grande quantidade de oxigênio no ambiente do plasma. Para minimizar as interferências por óxidos ou íons poliatômicos, pode-se diluir a amostra, de modo a diminuir a intensidade da interferência, porém o problema não é resolvido se a concentração do analito também é baixa. A maneira mais eficiente para remoção do interferente, nesse caso, é o uso da célula de reação ou colisão, dependendo da interferência.

Ainda entre as espectrais, a interferência por íons de dupla carga ocorre quando o segundo potencial de ionização de um elemento é baixo o suficiente (Ba 10 eV) (William M Haynes, 2016), resultando em interferência espectral na metade da sua massa atômica (por exemplo, $^{138}\text{Ba}^{2+}$ sobre ^{69}Ga), pois o espectrômetro de massa separa os íons pela razão massa/carga.

Para reduzir as interferências espectrais, os espectrômetros de ICP-MS apresentam parâmetros de otimização que se baseiam na potência da radiofrequência e na posição do plasma em relação ao amostrador, visto que diferentes regiões do plasma têm diferentes temperaturas (Figura 5) que podem favorecer a formação dos óxidos (baixas temperaturas) ou formação de íons de dupla carga (altas temperaturas). Para tanto, otimiza-se principalmente, a vazão do gás de nebulização e a potência da radiofrequência.

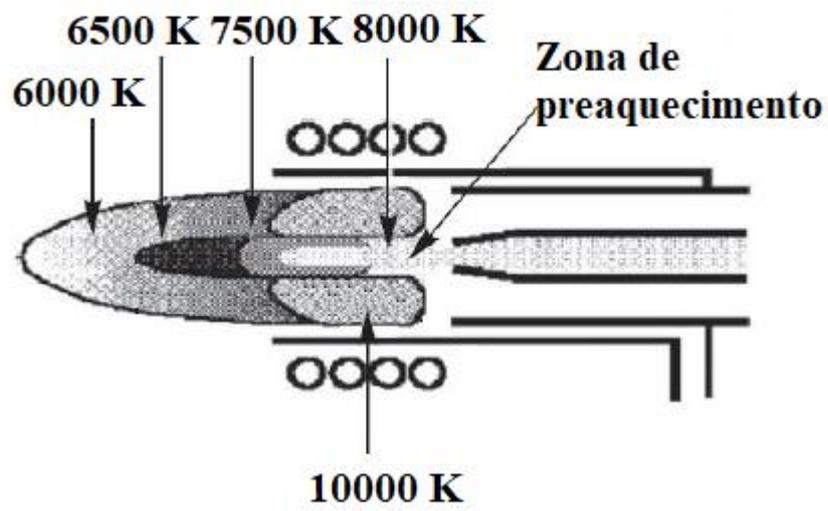


Figura 5 Zonas de temperatura do plasma (Thomas, 2001).

2. Objetivo

2.1. Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo desenvolver uma metodologia para lavagem, decomposição e determinação multielementar (elementos essenciais, tóxicos e outros) em pelos caninos.

2.2. Objetivos específicos

- Verificar a homogeneidade de amostra, para que os testes seguintes sejam melhor avaliados;
- Otimizar o procedimento de lavagem de modo a obter o melhor método para remoção de elementos exógenos;
- Otimizar o procedimento de decomposição e verificar se pode ser utilizado na rotina de análise do laboratório;
- Otimização de massa mínima utilizada para que se tenha a menor variação possível de resultados;
- Atualização da curva analítica utilizada;
- Realizar testes de diluição;
- Estabelecer os parâmetros de mérito;
- Avaliação da exatidão do método desenvolvido através de teste de adição e recuperação, análise de amostras de referência e comparação entre técnicas de quantificação.

3. Materiais e Métodos

3.1. Materiais e Reagentes

Foram utilizados os seguintes reagentes: HNO₃ P.A. (bidestilado) (Qhemis, Brasil), TRITON X-100 (Dinâmica, Brasil), acetona (ISO FAR, Brasil), H₂O₂ suprapur (Merck, Brasil).

Os padrões *Multi-Element Calibration Standard 3* (no Hg), *Multi-Element Calibration Standard 5*, *Multi-Element Calibration Standard 2* na concentração de 10 mg L⁻¹ e monoelementar de Hg de 1000 mg L⁻¹ da Perkin Elmer, EUA, foram utilizados. Os padrões monoelementares Au, B, K, Na, Ti e Zn na concentração de 1000 mg L⁻¹, Rh na concentração 10 mg L⁻¹ e Al, Ca, Fe, P e Mg na concentração de 10000 mg L⁻¹ da Merck, Alemanha, foram utilizados. Os padrões monoelementares Br, I, Sb, Sn e Pd na concentração de 1000 mg L⁻¹ da VHG Labs, EUA e S 10000 mg L⁻¹ da Dinâmica, Brasil, foram utilizados.

Micropipetas de volume fixo marca Kacil, Brasil, de 10 µL, 50 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 500 µL e 1000 µL e tubos de polipropileno do tipo Falcon de 50,0 mL e 15,0 mL da marca Sarstedt, Alemanha.

3.2. Instrumentação

Devido a problemas no equipamento modelo NexION 300X (PerkinElmer, EUA) do Labspectro foi necessária também a utilização, através de parcerias, dos seguintes equipamentos: DRCII (PerkinElmer, EUA) do LabIn (INMETRO) e 7500ce (Agilent, EUA) do LAB Águas. Também foi utilizado o OPTIMA 7300 DV (PerkinElmer, EUA) do Labspectro.

Para os preparos das amostras foram utilizados o moinho tipo Willye TE, 650 (Tecnal, Brasil), balança analítica (OHAUS, EUA), chapa de aquecimento (Fisaton, Brasil), ultrassom (Thornton, Brasil), estufa de secagem (SPLabor, Brasil) e Milli-Q Plus (Merck, Millipore, EUA).

3.3. Método

Inicialmente a metodologia de pesagem, preparo, decomposição se baseou no procedimento desenvolvido no Labspectro para análises de rotina de cabelo humano, conhecido como mineralograma capilar. O procedimento para preparo do cabelo é:

- Pesar em tubo Falcon um pouco mais de 250 mg de cabelo, cabelo do qual foi cortado dois dedos de comprimento a partir da raiz;
- Lavagem do cabelo com 3 lavagens com água e 3 lavagens com acetona, intercalando entre uma e outra e, para cada uma das lavagens, os frascos foram submetidos por 15 min a um banho de ultrassom;
- Secagem das amostras pernoite a 60 °C em estufa de secagem;
- Pesar novamente o cabelo de modo a obter um valor próximo de 250,0 mg de massa;
- Adicionar 2,500 mL de HNO₃ bidestilado e deixar em pernoite à temperatura ambiente;
- Levar à chapa de aquecimento a 100 °C, por quatro horas;
- Esperar esfriar, adicionar 1,000 mL de H₂O₂ suprapur e levar à chapa de aquecimento a 100 °C por 15 min;
- Avolumar com água ultra pura até 25 mL e analisar por ICP-MS.

A partir deste método empregado para preparo e análise de amostra de cabelo humano, foram realizadas otimizações de cada etapa do procedimento, de modo a verificar a necessidade de alguma alteração para o preparo da amostra para posterior análise das amostras de pelo canino.

Para garantir uma maior homogeneidade da amostra teste, primeiramente foi realizado a moagem da amostra de pelo canino e análise do mesmo para verificação. Em seguida, foram estudados diferentes tipos de lavagem, de maneira a remover elementos que estão adsorvidos ao pelo e não o que foi excretado pelo corpo do cão. Determinada a metodologia de lavagem, foi otimizado o procedimento de decomposição para, em seguida, otimizar a massa mínima de amostra a ser pesada e as diluições apropriadas, de modo a garantir a confiabilidade dos resultados encontrados.

Definido todo o procedimento de preparo da amostra, foram estabelecidas as concentrações da curva analítica, a partir da curva empregada no mineralograma capilar, em seguida foi verificada a necessidade de posterior diluição da amostra.

3.3.1. Preparo da Amostra

3.3.1.1. Coleta e homogeneidade da amostra

A coleta de pelo canino pode se dar de acordo com o guia de normas recomendadas pelo *Hair Analysis Standardization Board* (Campbell, 1985), que recomenda que a coleta seja feita com uma tesoura de aço inoxidável de alta qualidade. Porém, esse procedimento descreve a coleta de cabelo humano (Carneiro *et al.*, 2002), no caso do pelo canino a coleta também pode ser dada com o uso de uma tesoura de aço inox para cachorros que tem pelo longo e para os cachorros de pelo curto fazer o uso de uma escova de aço inoxidável, essa diferenciação se deve ao fato da parte de interesse do pelo ser o mais próximo da pele do animal, como também é feito como cabelo humano. Neste trabalho, foi feita a coleta com o uso da escova de aço inoxidável, já que os estudos para o desenvolvimento do método foram feitos com o pelo de um cão da raça labrador, que tem pelo curto, foi trabalhado somente com um cachorro para ter uma menor variabilidade no preparo da amostra. As coletas de amostra de pelo foram realizadas pela simples escovação, ao longo de vários dias, sem qualquer tipo de maus-tratos ao cão.

Após as coletas, as amostras eram inicialmente cortadas com o auxílio de uma tesoura de cerâmica para redução do tamanho e, em seguida, eram moídas em um moinho do tipo Willye (TECNAL, TE-650), foram feitos cinco ciclos no moinho, de maneira a obter um material o mais fino possível, com aspecto homogêneo a olho nu.

Foram pesadas 7 alíquotas de aproximadamente 250 mg, pesado ao décimo de mg, em tubos Falcon de 50 mL, e adicionados 2,5 mL de HNO₃. Os tubos foram deixados à temperatura ambiente em pernoite e, depois, aquecidos a 100 °C por 4 h. Após retornarem à temperatura ambiente, as amostras eram diluídas com água ultrapura para um volume de 25,0 mL.

3.3.1.2. Otimização do procedimento de lavagem

Como um dos objetivos deste trabalho é desenvolver um método para poder avaliar quais elementos são excretados no pelo do cão, há a necessidade de se remover os contaminantes adsorvidos no pelo, já que, em sua composição temos a presença de sais inorgânicos e de ácidos orgânicos. Logo, a utilização de água para remoção destas impurezas pode não ser eficiente. Para uma melhor limpeza externa, pode ser utilizado, além da água, algum tipo de detergente ou solvente para remoção de elementos ligados a compostos orgânicos. Para tanto, é pesada uma massa de aproximadamente 250,0 mg, ao décimo de mg, em tubo Falcon de 50 mL. Para cada etapa da lavagem, o reagente utilizado deve cobrir toda a amostra para, em seguida, os frascos serem deixados em banho de ultrassom por quinze minutos. Após isso, a solução resultante é descartada de maneira adequada. No caso dos procedimentos englobando dois reagentes, ambos eram intercalados. Cinco diferentes procedimentos de lavagem foram avaliados.

1. Três lavagens com água;
2. Três lavagens com água e uma com acetona;
3. Três lavagens com água e três com acetona;
4. Três lavagens com água e uma solução aquosa com Triton X-100 10%_{v/v};
5. Três lavagens com água e três com uma solução aquosa com Triton X-100 10%_{v/v}.

3.3.1.3. Otimização do procedimento de decomposição

Escolhido o melhor procedimento de lavagem, foi otimizado o procedimento de decomposição da amostra. Em análises por ICP-MS, normalmente se emprega apenas ácido nítrico entre as opções de ácidos minerais. O HCl interfere em vários elementos e o H₂SO₄ apresenta um alto grau de impurezas. Nesta etapa serão realizados dois testes: um somente com ácido nítrico e outro com ácido nítrico e água oxigenada. A utilização da água oxigenada é recomendada quando se deseja aumentar o poder oxidante do meio.

Novamente, alíquotas de aproximadamente 250,0 mg eram decompostas seguindo o procedimento descrito acima. Metade dos tubos receberam 1,0 mL de H₂O₂ e voltaram para a chapa de aquecimento a 100 °C por mais 15 min, porém esta etapa era feita com a tampa semiaberta devido à alta liberação de oxigênio. Após o retorno à temperatura ambiente, todas as amostras eram diluídas com água ultrapura para um volume final de 25,0 mL.

3.3.1.4. Otimização da massa mínima de amostra

Devido à possibilidade de se obter amostras com diferentes volumes e densidades, há a necessidade de se trabalhar com uma massa fixa determinada. A fim de otimizar a massa a ser pesada, foram avaliadas alíquotas com diferentes massas de amostra, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 e 500 mg, às quais foram aplicados o mesmo teste de lavagem e decomposição, a fim de verificar a estabilidade e dispersão dos resultados de acordo com a massa.

3.4. Otimização das condições de análise

3.4.1. Curva analítica

Inicialmente trabalhou-se com a curva analítica utilizada no mineralograma capilar do Labspectro, que é composto por 12 pontos divididos em dois grupos. As concentrações na curva variam de acordo com cada elemento Ag, Al, As, Au, B, Ba, Be, Bi, Cd, Cr, Co, Cu, Ga, Ge, Hg, Li, Mn, Mo, Pb, Pd, Sb, Se, Sn, Sr, Ti, U, V e Zn nas concentrações de 1 a 80 µg L⁻¹, I na concentração de 2 a 200 mg L⁻¹, Ca, Fe K, Mg e Na nas concentrações de 100 a 1100 µg L⁻¹, P na concentração de 200 a 2100 µg L⁻¹ e S nas concentrações de 10 a 500 mg L⁻¹.

A partir desta curva serão determinadas as concentrações dos elementos presentes no pelo canino para em seguida realizar as devidas adaptações da curva para uma melhor determinação do mesmo.

Para verificação de possíveis interferências não espectrais e espectrais e verificar a confiabilidade dos resultados uma diluição maior deve ser preparada.

Diluição escolhida deve ser feita após uma análise prévia da amostra de pelo canino.

3.5. Estabelecimento dos Parâmetros de Mérito

3.5.1. Sensibilidade

Após a determinação da curva e estabelecida a necessidade de uma diluição ou não da amostra, a sensibilidade do método foi estimada através dos LD e LQ de detecção. Para tanto foram preparados e analisados individualmente dez brancos do método. A partir do desvio-padrão das razões sinal do analito/sinal do padrão interno (Rh) e dos coeficientes de inclinação (Slopes) foram determinados os limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ) tanto instrumental como do método, conforme as Equações 1 e 2 apresentadas abaixo.

$$LD = 3*s/\text{inclinação da reta} \quad \text{Equação 1}$$

$$LQ = (10*s/\text{inclinação da reta}) * fd \quad \text{Equação 2}$$

Onde s é o desvio-padrão da medida da razão citada no parágrafo acima e fd é o fator de diluição da amostra, volume final da solução (mL)/massa de amostra (g), caso tenha-se realizado uma diluição a mais esta diluição deve ser considerada no cálculos de diluições. Foram avaliados o percentual de recuperação dos materiais de referência, o coeficiente de correlação da curva analítica ($r \geq 0,999$) (INMETRO, 2016).

3.5.2. Exatidão

3.5.2.1. Teste de adição e recuperação

Foram realizadas duas adições de elemento baseadas nas concentrações encontradas, uma em concentração intermediária variando de 5 a 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ e outra em baixa concentração que foi de 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Também foi realizada a adição de analito em triplicata em uma amostra já preparada, com as concentrações adicionadas variando de 25 a 1300 $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.5.2.2. Análise de amostras de referência

Foram utilizadas duas amostras de referência certificada de cabelo humano (NCSDC 73347a, Pequim, China; ERM-DB001, *European Reference Materials*, Bélgica), visto que não foi encontrado amostra de pelo canino certificado e o cabelo humano tem a composição semelhante ao pelo canino.

3.5.2.3. Comparação entre técnicas de quantificação

Adicionalmente, os resultados obtidos por ICP-MS foram comparados com os obtidos por uma técnica independente, no caso ICP OES. Como a técnica de ICP OES não tem sensibilidade para determinar todos os elementos nas concentrações encontradas no pelo canino, foram determinados apenas os elementos apresentados na Tabela 1, com seus respectivos comprimentos de onda (nm).

Tabela 1 Comprimento de onda dos elementos analisados por ICP OES.

Elemento	nm	Elemento	nm
Al	396,153	Mg	279,077
B	249,677	Mn	257,610
Ba	455,403	Mo	202,031
Be	313,042	Li	766,784
Bi	223,063	Na	589,592
Ca	317,933	P	213,617
Cd	228,802	Pb	220,353
Co	228,616	S	181,975
Cr	267,716	Sr	407,771
Cu	324,752	Ti	334,940
Fe	259,939	V	311,071
K	766,490	Zn	206,200

Para Be e S foram utilizados também os comprimentos de onda 313,107 nm e 180,669 nm, respectivamente.

3.5.3. Precisão

A precisão foi estimada através do desvio-padrão relativo das medidas de três replicatas independentes da amostra de referência de pelo canino.

3.6. Estatística aplicada

Foi aplicado teste Q para exclusão de *outlier* de um grupo de resultados. Para cada uma das diferentes otimizações foram comparados os resultados obtidos para cada elemento através do teste t de *Student*, bicaudal com 95 % de intervalo de confiança. O mesmo foi utilizado para as comparações entre valores encontrados com os valores certificados (CRM) seguindo a Equação 3:

$$t = \frac{X_M - \mu_o}{\frac{s}{(n)^{1/2}}} \quad \text{Equação 3}$$

Onde X_M é a média dos resultados de um elemento, s é seu desvio-padrão, μ_o é o valor real, n é o número de resultados e t é o valor de t calculado que será comparado com o valor de t tabelado para 95 % de intervalo de confiança. Usou-se como critério de diferença significativa valores em todos os testes que apresentaram valor de $p < 0,05$. As análises estatísticas e os gráficos foram construídos com o *software* Excel® para Windows.

4. Resultados e Discussão

4.1. Parâmetros operacionais dos equipamentos

As condições dos equipamentos utilizados se encontram na Tabela 2 abaixo e otimizações de sensibilidade foram realizados de acordo com os parâmetros de cada equipamento, no qual foram medidos.

Tabela 2 Parâmetros operacionais otimizados dos equipamentos.

	DRCII IMMETRO	Agilent 7500ce	NexION 300X	Optima 7300 DV
RF Power (W)	1100	1500	1100	1400
Gás Principal (L min ⁻¹)	15,0	15,0	17,0	15,0
Gás Auxiliar (L min ⁻¹)	1,20	1,00	1,10	0,60
Gás de Nebulização (L min ⁻¹)	0,96	1,00	0,98	0,60
Replicatas	5	3	5	3

Tais condição são alcançadas fazendo o alinhamento da tocha para obter a região do plasma com a maior sensibilidade, tal região pode ser encontrada de modo manual (DRCII) ou de modo automático (7500ce, NexION 300X e 7300 DV). Varredura da potência da RF Power de modo a alcançar a maior sensibilidade sem comprometer a formação de óxidos e bivalentes para o ICP-MS e sem ionizar demais de modo a perder o sinal da emissão característica para o ICP OES. A vazão do gás principal não é otimizada, porém, as outras duas vazões são otimizadas de modo a carrear mais ou menos amostra para o plasma (gás de nebulização) e alterar o tempo de permanência da amostra no plasma (gás auxiliar), alterações destas vazões irão influenciar na a sensibilidade, formação de óxidos e bivalentes.

4.2. Homogeneidade

Conforme mencionado anteriormente, os testes iniciais foram feitos seguindo as condições empregadas no mineralograma capilar, empregando uma massa de 250 mg que também é indicado pela amostra certificada para garantir a homogeneidade. Após submeter a amostra a cinco ciclos no moinho, o material tinha aparência homogênea e foi analisado para avaliar sua homogeneidade, obtendo os resultados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 Média e desvios-padrão das concentrações obtidas na amostra de pelo canino, por ICP-MS, em mg kg⁻¹.

Elemento	Massa	Concentração média	DP	Coef. de Variação (%)
Li	7	0,12	0,01	6,3
B	11	1,98	0,16	8,3
Na	23	88,9	7,2	8,1
Mg	24	192	7	3,5
P	31	240	13	5,3
S	34	46065	1069	2,3
K	39	29,1	1,3	4,6
Ca	44	1629	45	2,7
V	51	0,62	0,05	8,4
Cr	53	4,29	0,42	9,7
Mn	55	12,1	0,9	7,4
Fe	57	865	112	12,9
Co	59	0,19	0,02	9,7
Cu	65	10,03	1,4	14
Zn	66	10,03	1,4	14
Se	82	182	7	4
Sr	88	8,29	0,14	1,6
Mo	98	0,23	0,01	5,5
I	127	1,11	0,08	7,2
Be	9	0,011	0,001	9,7
Al	27	213	11	5,4
Ni	60	42	7,7	18,5
As	75	0,36	0,04	10,5
Ag	107	0,042	0,004	10,1
Cd	114	0,058	0,008	13
Sn	118	0,29	0,02	7
Sb	121	0,083	0,006	7,4
Ba	137	7,93	0,51	6,4
Hg	202	0,047	0,002	4,6
Pb	208	3,58	0,17	4,6
Bi	209	0,063	0,004	6
Th	232	0,086	0,006	7,1
U	238	0,017	0,001	4
Ti	47	5,27	0,27	5,22
Ga	69	0,31	0,01	4,4
Ge	74	0,019	0,001	5,6
Pd	105	0,004	0,0001	10,7
Au	197	0,002	0,0001	13,5

Aplicou-se o teste Q para eliminação dos valores discordantes (*outliers*) que foram encontrados para alguns dos resultados. É possível que tenha ocorrido contaminação durante a moagem, visto que o moinho é composto de laminas metálicas ou mesmo ter ocorrido variação da concentração presente naquela região do cabelo analisada.

A partir dos coeficientes de variação encontrados, verificou-se que foram obtidos, para a maioria dos elementos, percentuais de variação abaixo ou próximos de 10 %. De maneira geral, os elementos que apresentaram coeficientes de variação acima de 10 % foram aqueles com as concentrações mais baixas, próximas aos limites de quantificação. Apesar disso, consideramos que a moagem foi eficiente para garantir a homogeneidade do material, seguindo os critérios da AOAC, descritos no manual do INMETRO (2016).

4.3. Otimização do procedimento de lavagem

Foram pesadas 7 alíquotas da amostra de pelo canino para cada um dos testes de lavagem, totalizando 35 alíquotas. Após os processos de lavagem, decomposição com HNO_3 e avolumação com água ultrapura, foi observado que todas as amostras que foram lavadas com TRITON X-100 apresentaram turbidez em suas soluções, o que não foi notado com as outras lavagens. Mesmo após centrifugação a turbidez se manteve, embora não tenha sido observada formação de precipitado. Sendo assim, sua análise foi mantida. Os gráficos com as médias e desvios-padrão das concentrações obtidas após a decomposição das alíquotas que foram submetidas aos diferentes procedimentos de lavagem estão apresentados na Figura 6.

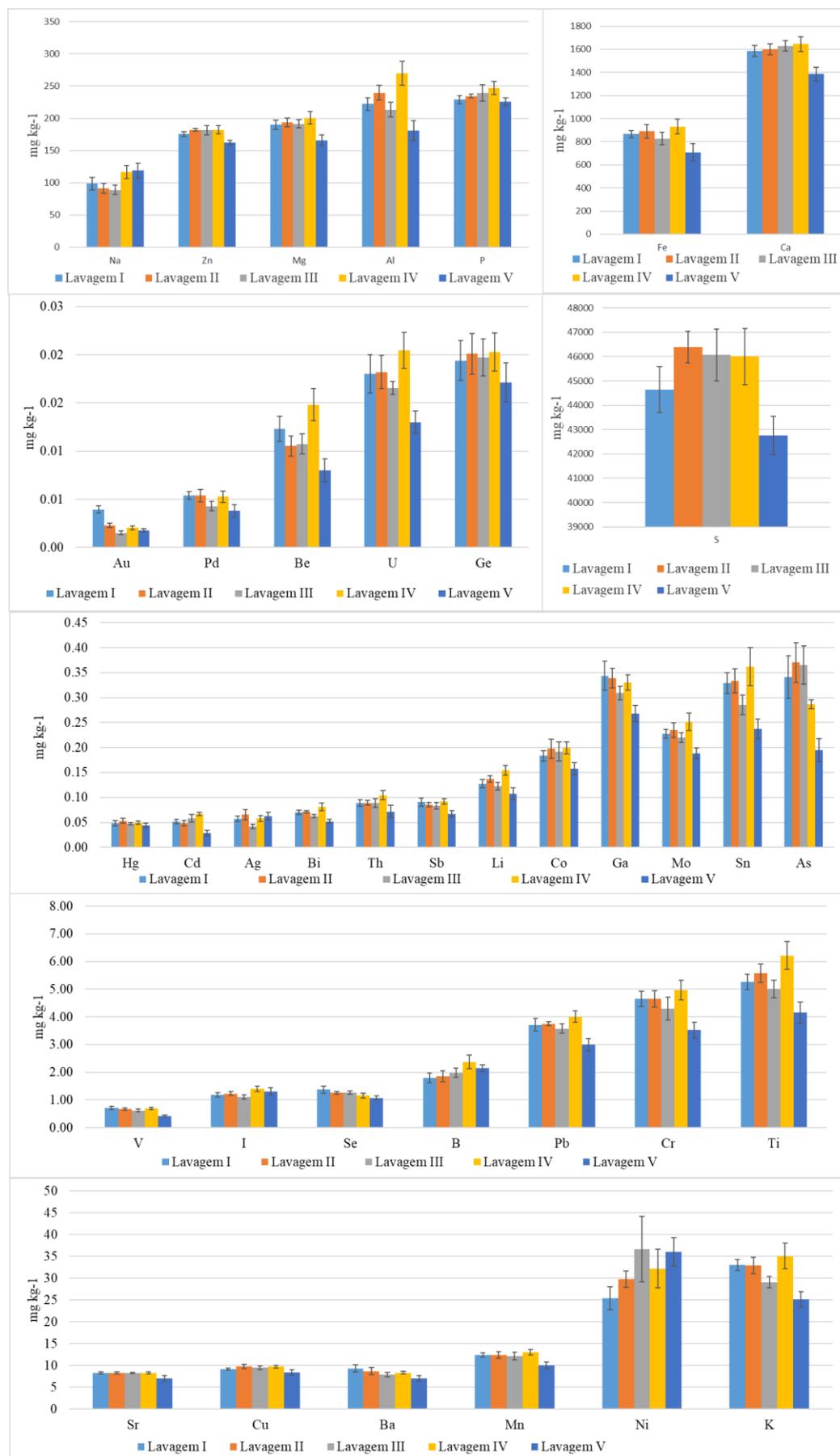


Figura 6 Médias e desvios-padrão das concentrações obtidas após as lavagens I a V.

As lavagens resultando em menores concentrações foram as III e V para a maioria dos elementos. As lavagens IV e V apresentaram o maior incremento para alguns elementos (lavagem IV), para B, Be, Bi, Cd, Cr, I, Li, Na, Pb, Pd, Sn, Ti, Th e U, e o maior decréscimo também (lavagem V) para a maioria dos elementos, com exceção de Ag, B, Cu, I, Ni e P, em relação às outras lavagens. Nas lavagens IV e V, foi usado TRITON X-100 para remoção de material exógeno aderido ao pelo. As lavagens III e V, além de removerem materiais exógenos, possivelmente também removeram elementos endógenos, situação não desejada, visto que o interesse é avaliar a excreção do animal. No caso da lavagem IV, as concentrações para alguns elementos aumentaram, o que também não é desejado, visto que o aumento pode ser caracterizado pela adsorção de elementos na amostra provenientes da solução. Foi observado que a concentração de Na aumentou nas lavagens IV e V, indicando a necessidade de mais processos de lavagem com água ultra pura para total remoção do TRITON X-100, o que aumenta o número de etapas, também não desejado.

Para uma melhor avaliação dos resultados obtidos aplicou-se o teste t de *Student* entre as concentrações dos elementos obtidas empregando cada procedimento de lavagem (Figura 7), sendo os resultados com $p < 0,05$ representados em preto, e com $p > 0,05$, em cinza. Os resultados detalhados desta análise se encontram no Anexo A.

Elemento	Comparação entre lavagens									
	I x II	I x III	I x IV	I x V	II x III	II x IV	II x V	III x IV	III x V	IV x V
Li										
B										
Na										
Mg										
P										
S										
K										
Ca										
V										
Cr										
Mn										
Fe										
Co										
Cu										
Zn										
Se										
Sr										
Mo										
I										
Be										
Al										
Ni										
As										
Ag										
Cd										
Sn										
Sb										
Ba										
Hg										
Pb										
Bi										
Th										
U										
Ti										
Ge										
Ge										
Pd										
Au										

Figura 7 Teste t de *Student* comparativo das concentrações obtidas com as lavagens, em preto (diferença significativa, $p < 0,05$) e em cinza (sem diferença significativa, $p > 0,05$).

Os valores de p das comparações da lavagem V com todas as outras lavagens apresentaram, para a maioria dos elementos, diferenças significativas ($p < 0,05$), porém resultados semelhantes foram encontrados nas comparações da lavagem IV com as outras lavagens. A lavagem III não apresentou resultados muito discordantes com relação às lavagens I e II, mas em sua maioria, as médias foram ligeiramente menores.

Os coeficientes de variação das cinco lavagens estão apresentados na Figura 8.

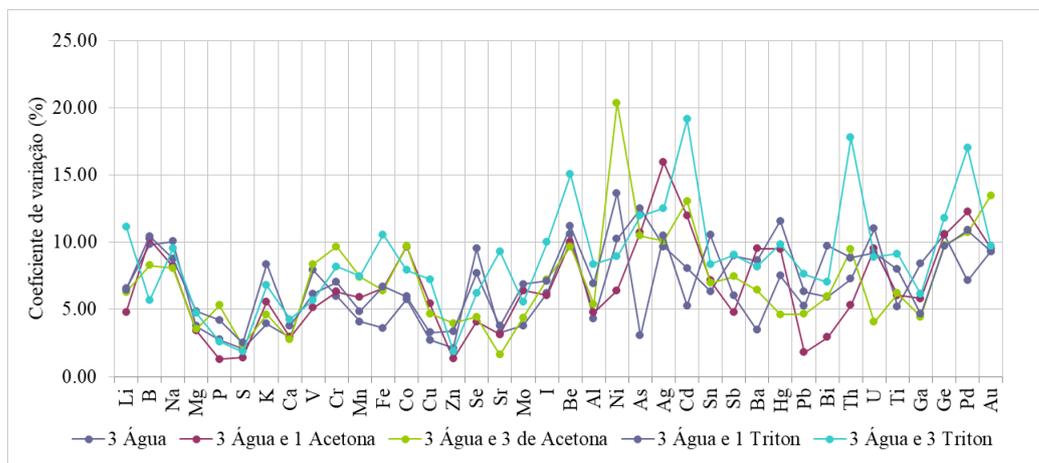


Figura 8 Coeficientes de variação (%) das concentrações obtidas com as diferentes lavagens.

Através do gráfico apresentado na Figura 8, verifica-se que a lavagem V (três lavagens com água e três lavagens com Triton) e a lavagem III (três lavagens com água e três lavagens com acetona) apresentaram desvios-padrão maiores que a das outras lavagens, próximas ou acima de 20 %, podendo assim serem excluídas já que não estão de acordo com os critérios da AOAC, descritos no manual do INMETRO (2016). A lavagem IV, por apresentar diferenças significativas (Figura 7) com relação às outras lavagens, também foi removida. Os resultados estão apresentados na Figura 9.

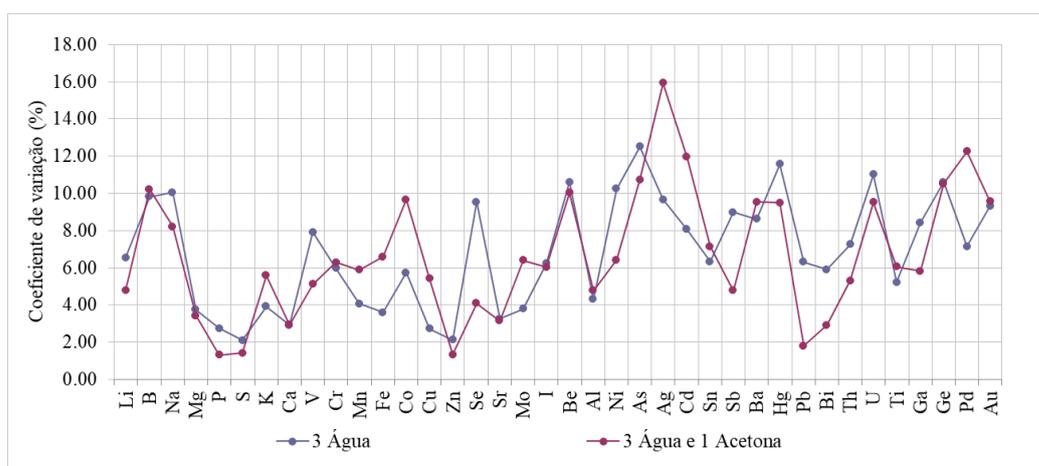


Figura 9 Coeficientes de variação (%) das concentrações obtidas com as lavagens I (3 lavagens com água) e II (3 lavagens com água e 1 lavagem com acetona).

Pela Figura 9, observa-se pouca diferença entre os coeficientes de variação, podendo assim escolher qualquer um dos dois testes de lavagem. Assim sendo, o processo de lavagem escolhido foi a lavagem I (três lavagens com água), porque não apresentou contaminações ou extrações significativas de elementos endógenos, apresentou baixos coeficientes de variação (%) que também indica que não está havendo extração significativa, e por ser um procedimento mais simples, mais barato e não requerer o uso do solvente orgânico (acetona) controlado pela Polícia Federal (2021).

No entanto, Joseph (1985) descreve um procedimento para tratamento das amostras de cabelo humano que envolve o uso de ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), acetona, água e secagem a vácuo. Já Carneiro *et al.* (2002), aplicou sucessivas lavagens utilizando acetona, EXTRAN[®] (1 % v/v) alternada com água ultrapura em banho ultrassom. Neste mesmo trabalho foram estabelecidos os intervalos de referência para elementos essenciais e limites para os elementos tóxicos, usados ainda hoje.

A escolha de se lavar somente com água ultrapura é corroborada como a melhor escolha por Raposo *et al.* (2014), que verificaram através de Microscopia Eletrônica de Varredura e de Transmissão (MEV e MET, respectivamente) que as lavagens com acetona, o método padrão de lavagem, e o TRITON X-100 tendem, além de lavar o cabelo humano, a remover uma parte do anel externo do mesmo, podendo assim remover, além das impurezas, os minerais que estão presentes dentro dessa região. Eles também realizaram a análise dos mesmos, no ICP-MS e ICP OES, e verificaram que os cabelos que foram lavados com acetona e TRITON X-100 apresentaram concentrações (Hg, Cr, Mn, Pb, Al, Cu e Fe) menores que as lavadas somente com água.

O resultado acima obtido indica ainda a possibilidade de aplicar esta mesma metodologia de lavagem, empregando somente água, no mineralograma capilar utilizado pelo Labspectro, já que se tratam de matrizes semelhantes. Estudos posteriores serão realizados com as amostras do mineralograma capilar, nesse sentido.

4.4. Otimização do procedimento de decomposição

Como o procedimento de decomposição do pelo canino se baseia no procedimento do mineralograma capilar citado no item 3.3, nesta etapa verificou-se somente a necessidade do uso do H_2O_2 . Obtendo os seguintes resultados da otimização de decomposição com HNO_3 sem H_2O_2 e HNO_3 com H_2O_2 (Figura 10).

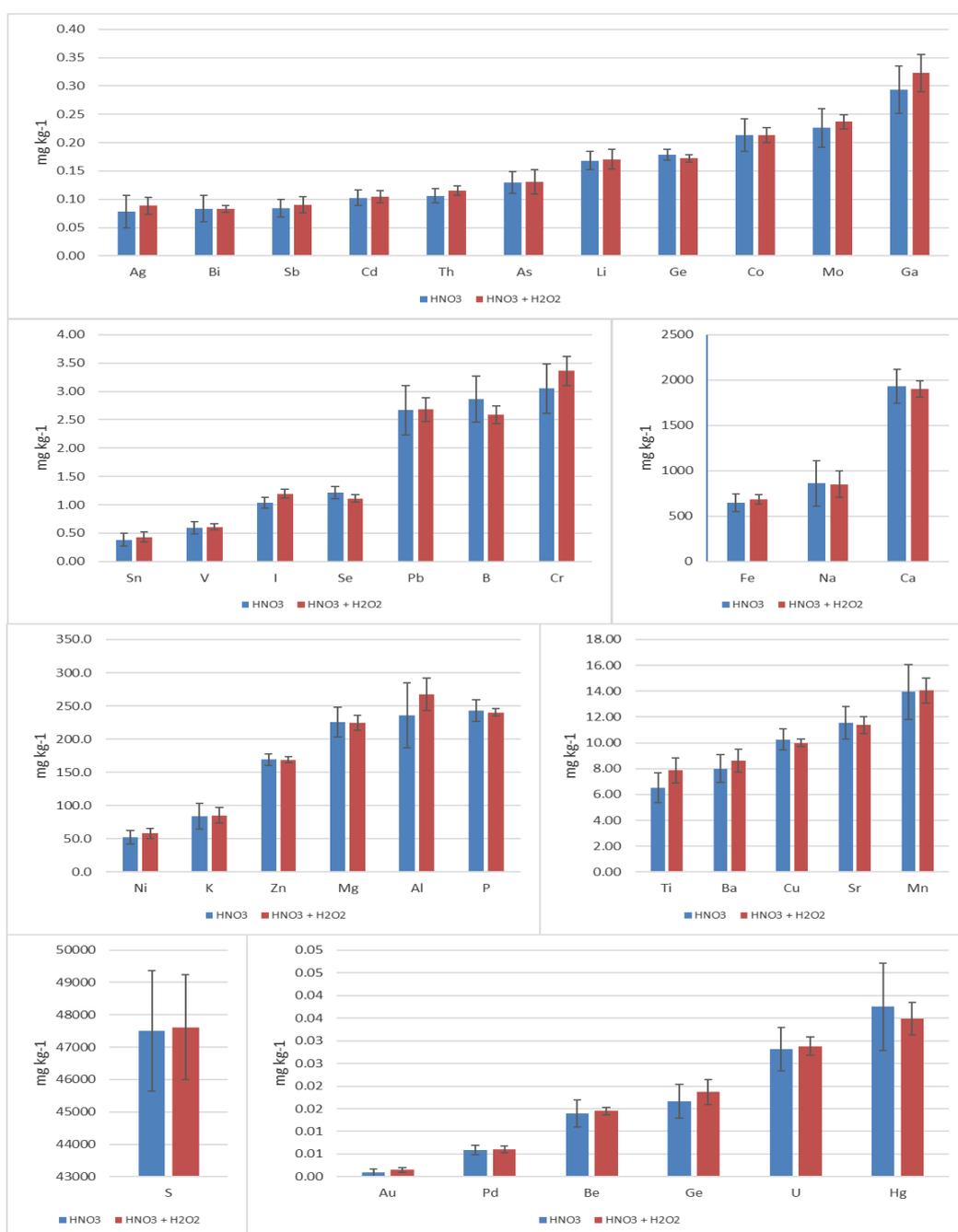


Figura 10 Médias e desvios-padrão das concentrações obtidas por ICP-MS para as decomposições com e sem H_2O_2 , em $mg\ kg^{-1}$.

Aplicando o teste t de *Student* entre resultados obtidos (n=3) empregando os dois procedimentos de decomposição, observa-se diferenças significativas ($p < 0,05$) somente para Se, Ag, I e Ti, apesar de apresentarem valores muito próximos um do outro. Para uma melhor observação montou-se um gráfico com os coeficientes de variação percentuais, apresentado na Figura 11.

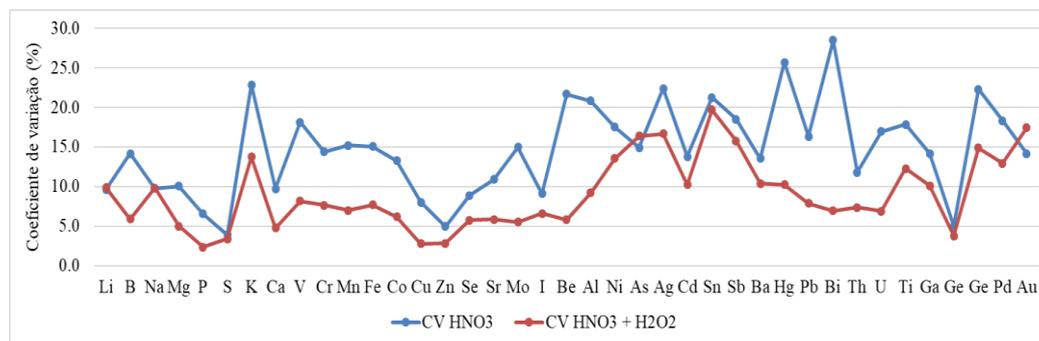


Figura 11 Coeficiente de variação (%) das concentrações obtidas por ICP-MS para os dois procedimentos de decomposição.

Apesar de não ser observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre as concentrações obtidas com os dois procedimentos de decomposição, os coeficientes de variação da decomposição sem o uso do H_2O_2 apresentaram valores maiores que os da decomposição com o uso do H_2O_2 , sendo a maioria acima de 10%, o que mostra que a decomposição com o uso do H_2O_2 se torna mais indicada. Ambas seguem os critérios da AOAC descrito no manual do INMETRO (2016). Além disso, visualmente as soluções da decomposição com o uso do H_2O_2 ficaram mais claras e transparentes quando comparadas com as soluções que não usam H_2O_2 , que ficaram turvas. Por esse motivo o procedimento seguiu o procedimento do mineralograma capilar, com o uso do H_2O_2 . Os resultados detalhados desta análise se encontram no Anexo B.

4.5. Teste de massa mínima

Conforme citado no item 3.3.1.4. a necessidade de se trabalhar com uma massa fixa se torna ideal para obtenção de menor dispersão dos resultados.

Logo, foram analisadas três alíquotas para cada amostra, resultando em um total de 30 alíquotas. Os resultados dessas análises estão apresentados na Figura 12.

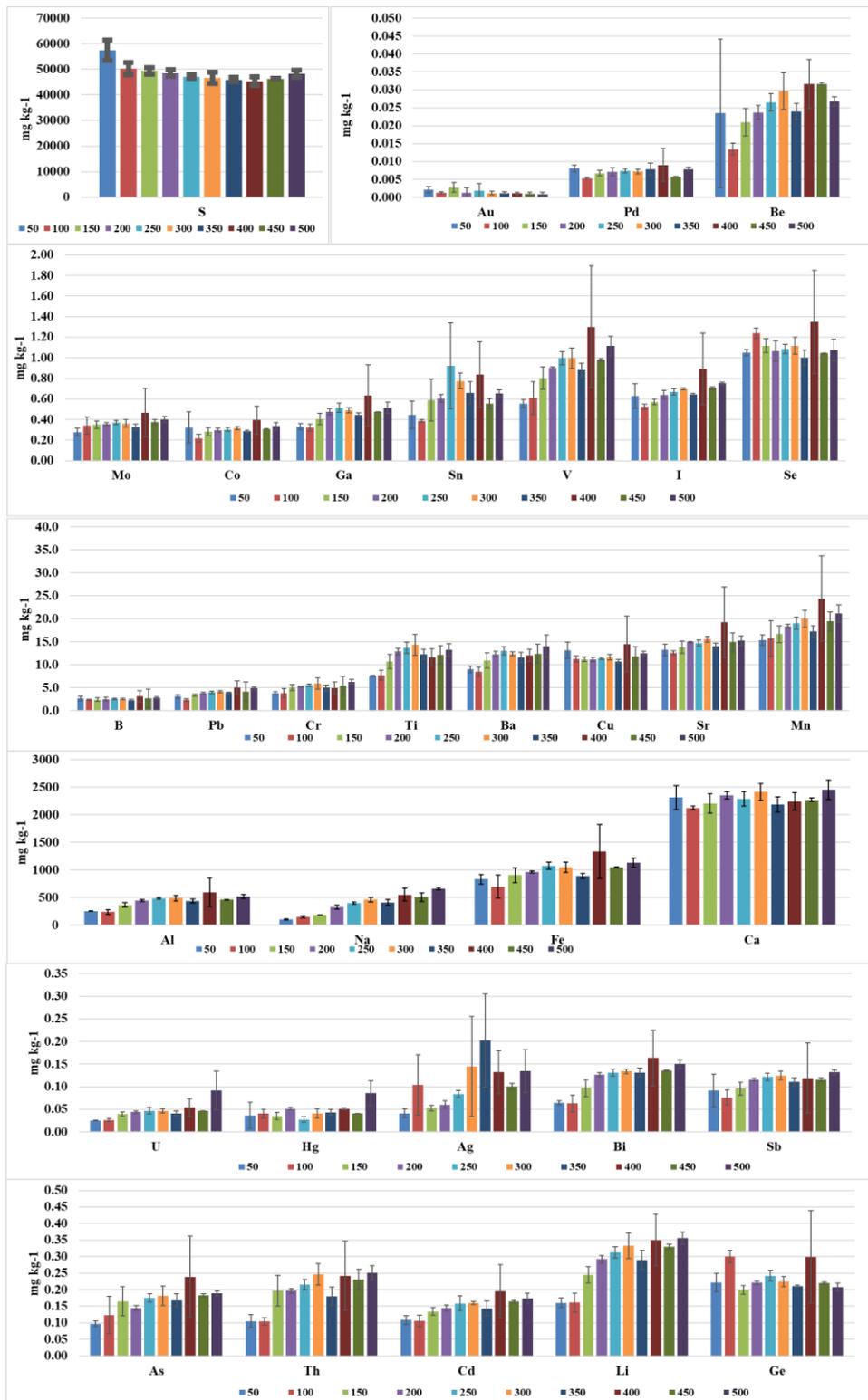


Figura 12 Médias e desvios-padrão das concentrações obtidas, em mg kg^{-1} , para massas de amostra de 50 mg a 500 mg.

A faixa de massa de maior linearidade foi entre 100-300 mg, pois abaixo ou acima dessa faixa, nota-se uma diferença significativa na concentração encontrada para alguns elementos (Ag, Al, As, Be, Bi, Ca, Ga, K, I, Li, Na, Ni, Sn, Th, U e V), além de apresentarem desvios mais elevados, chegando a 50%. Aplicando o teste t de *Student*, obtém-se os resultados das Figuras 13, 14 e 15.

	Elemento	50 x 100	50 x 150	50 x 200	50 x 250	50 x 300	50 x 350	50 x 400	50 x 450	50 x 500	100 x 150	100 x 200	100 x 250	100 x 300	100 x 350	100 x 400	100 x 450	100 x 500	
Nutrientes	Li																		
	B																		
	Na																		
	Mg																		
	P																		
	S																		
	K																		
	Ca																		
	V																		
	Cr																		
	Mn																		
	Fe																		
	Co																		
	Sr																		
	Cu																		
	Zn																		
	Se																		
Mo																			
I																			
Tóxicos	Be																		
	Al																		
	Ni																		
	As																		
	Ag																		
	Cd																		
	Sn																		
	Sb																		
	Ba																		
	Hg																		
	Pb																		
	Bi																		
	Th																		
	U																		
Outros	Ti																		
	Ga																		
	Ge																		
	Pd																		
	Au																		

Figura 13 Teste t de *Student* para as massas 50 e 100 mg, em preto (não significativas, $p < 0,05$) e em cinza (significativas, $p > 0,05$).

	Elemento	150 x 200	150 x 250	150 x 300	150 x 350	150 x 400	150 x 450	150 x 500	200 x 250	200 x 300	200 x 350	200 x 400	200 x 450	200 x 500
		Nutrientes												
	Li	Preto	Preto	Preto	Cinza	Cinza	Preto	Preto	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Preto
	B	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	Na	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto
	Mg	Preto	Preto	Preto	Cinza	Cinza	Preto	Preto	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	P	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Cinza	Cinza	Cinza
	S	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Cinza	Cinza	Cinza
	K	Preto	Preto	Preto	Preto	Cinza	Preto	Preto	Cinza	Preto	Cinza	Cinza	Preto	Preto
	Ca	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	V	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Preto
	Cr	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto
	Mn	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto
	Fe	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Preto
	Co	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	Sr	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	Cu	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto
	Zn	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Cinza	Cinza	Cinza
	Se	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	Mo	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	I	Cinza	Preto	Preto	Preto	Cinza	Preto	Preto	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Preto
Tóxicos														
	Be	Cinza	Preto	Preto	Preto	Cinza	Preto	Preto	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Preto
	Al	Preto	Preto	Preto	Cinza	Cinza	Preto							
	Ni	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	As	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Preto
	Ag	Cinza	Cinza	Cinza	Preto									
	Cd	Cinza	Cinza	Preto	Cinza	Cinza	Preto	Preto	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto
	Sn	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto	Preto	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	Sb	Cinza	Preto											
	Ba	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	Hg	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto
	Pb	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto	Preto
	Bi	Cinza	Preto											
	Th	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Preto
	U	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
Outros														
	Ti	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	Ga	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	Ge	Cinza	Preto	Cinza	Preto	Cinza	Cinza	Cinza						
	Pd	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza
	Au	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza	Cinza

Figura 14 Teste t de *Student* para as massas 150 e 200 mg, em preto (não significativas, $p < 0,05$) e em cinza (significativas, $p > 0,05$).

	Elemento	250 x 300	250 x 350	250 x 400	250 x 450	250 x 500	300 x 350	300 x 400	300 x 450	300 x 500	350 x 400	350 x 450	350 x 500	400 x 450	400 x 500	450 x 500
		Nutrientes	Li					■							■	
B						■							■			
Na						■			■				■			■
Mg													■	■		
P			■				■						■	■		
S														■		
K						■			■				■			■
Ca																
V													■	■		
Cr																
Mn																
Fe			■										■	■		
Co																
Sr								■								
Cu						■							■	■		
Zn								■					■	■		
Se																
Mo													■	■		
I						■	■		■			■	■		■	
Tóxicos	Be											■	■			■
	Al												■			
	Ni															
	As															
	Ag				■											
	Cd															
	Sn								■							
	Sb													■		■
	Ba															
	Hg		■	■	■		■							■	■	
	Pb						■			■				■	■	■
	Bi															
Th												■				
U																
Outros	Ti															
	Ga															
	Ge		■													
	Pd				■				■							■
	Au															■

Figura 15 Teste t de *Student* para as massas 250, 300, 350, 400, 450, e 500 mg em preto (não significativas, $p < 0,05$) e em cinza (significativas, $p > 0,05$).

Analisando o teste t de *Student*, observa-se que a partir da massa 150 mg passam-se a encontrar mais valores concordantes, visto que apresentam menores ocorrências de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os resultados dos elementos analisados. Logo, optou-se por trabalhar com as massas 200 mg e 250 mg para os trabalhos seguintes, reduzindo a quantidade de reagentes gastos ao trabalhar com massas acima de 250 mg. Os resultados detalhados desta análise se encontram no Anexo C.

4.6. Otimização de condições de análise

4.6.1. Curva analítica

A partir de dados preliminares determinou-se quais seriam as faixas de concentração a serem utilizadas (Tabela 4).

Tabela 4 Curva analítica empregada na determinação multielementar em pelo canino por ICP-MS. Concentrações em $\mu\text{g L}^{-1}$.

Elemento	Faixa	Elemento	Faixa
Li	1 - 80	As	1 - 80
Be	1 - 80	Se	1 - 80
B	11 - 580	Sr	1 - 80
Na	51 - 1080	Mo	1 - 80
Mg	51 - 1080	Ag	1 - 80
Al	11 - 380	Cd	1 - 80
P	41 - 3280	Ba	1 - 80
K	51 - 1080	Pb	1 - 80
Ca	71 - 2680	Bi	1 - 80
V	1 - 80	Th	1 - 20
Cr	1 - 80	U	1 - 80
Mn	1 - 80	S	10000 - 500000
Fe	51 - 1080	Ti	1 - 80
Co	1 - 80	Pd	1 - 80
Ni	1 - 80	Sn	1 - 80
Cu	1 - 80	Sb	1 - 80
Zn	11 - 280	I	2 - 160
Ga	1 - 80	Au	0.5 - 15
Ge	1 - 80	Hg	1 - 20

Foram preparadas seis amostras de pelo canino onde três receberam uma adição de elementos e em seguida as seis amostras foram diluídas com um fator de diluição de 10x, a partir dos resultados encontrados aplicou-se o teste t de *Student*. Os resultados encontrados para as soluções apresentaram ordens de grandeza semelhantes entre a normal e a diluída. Os elementos a níveis de ultra-traço apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) e isso se deve ao fato dos resultados da diluição de 10x terem ficado abaixo do LQ do método.

Os resultados majoritários ou que se encontram a níveis de traços apresentaram resultados semelhantes para ambas as soluções (concentrada e

diluída), logo, não há a necessidade de se realizar uma outra diluição para obtenção de um valor mais confiável como também não seria possível detectar os elementos a níveis de ultra-traços. Caso se deseje realizar uma diluição intermediária seria possível ser aplicada, de, por exemplo, 1:2, de modo a diluir a concentração do teor ácido da solução sem comprometer a exatidão da técnica. Os resultados detalhados desta análise se encontram no Anexo D.

4.7. Estabelecimento dos parâmetros de mérito

4.7.1. Sensibilidade

Uma comparação entre os LD e LQ dos ICP-MS (DRCII INMETRO, Agilent 7500ce e NexION 300X) e do ICP OES (Optima 7300) utilizados estão apresentados na Tabela 5 e 6.

Tabela 5 Limites de Detecção instrumental, em $\mu\text{g L}^{-1}$, obtidos com os diferentes equipamentos.

Elemento	DRCII INMETRO	Agilent	NexION 300X	Elemento (nm)	Optima 7300	Optima 7300
⁷ Li	0,018	0,005	0,017	Li 670,784	0,02	
⁹ Be	0,030	0,007	0,005	Be 313,107 e 313,042	0,12	0,09
¹¹ B	3,62	0,85	4,01	B 249,677	3,74	
²³ Na	1,03	0,64	0,35	Na 589,592	0,96	
²⁴ Mg	0,39	0,12	0,21	Mg 279,077	2,89	
²⁷ Al	0,42	1,22	0,92	Al 396,153	1,05	
³¹ P	3,10	23,52	14,01	P 213,617	7,68	
³⁴ S	343	199	428	S 181,975 e 180,669	47	39
³⁹ K	2,5	3,5	4,7	K 766,490	1,0	
⁴⁴ Ca	20,9	13,5	18,7	Ca 317,933	17,6	
⁴⁷ Ti	0,15	0,37	0,10	Ti 334,940	0,10	
⁵¹ V	0,17	0,02	0,01	V 311,071	0,52	
⁵³ Cr	0,92	0,11	0,04	Cr 267,716	0,64	
⁵⁵ Mn	0,03	0,05	0,03	Mn 257,610	0,03	
⁵⁷ Fe	1,52	2,10	4,92	Fe 259,939	1,47	
⁵⁹ Co	0,003	0,004	0,005	Co 228,616	0,60	
⁶⁰ Ni	0,035	0,164	0,017			
⁶⁵ Cu	0,06	0,09	0,02	Cu 324,752	1,18	
⁶⁶ Zn	0,21	0,12	0,15	Zn 206,200	0,31	
⁶⁹ Ga	0,003	0,019	0,003			
⁷⁴ Ge	0,021	0,025	0,028			
⁷⁵ As	0,047	0,163	0,022			
⁸² Se	0,043	0,996	0,002			
⁸⁸ Sr	0,010	0,013	0,014	Sr 407,771	0,02	
⁹⁸ Mo	0,010	0,009	0,015	Mo 202,031	0,70	
¹⁰⁵ Pd	0,007	0,014	0,010			
¹⁰⁷ Ag	0,004	0,045	0,012	Ag 328,068	1,07	
¹¹⁴ Cd	0,005	0,005	0,043	Cd 228,802	0,50	
¹¹⁸ Sn	0,005	0,009	0,007			
¹²¹ Sb	0,004	0,003	0,007			
¹²⁷ I	0,46	0,34	0,11			
¹³⁷ Ba	0,04	0,03	0,02	Ba 455,403	0,07	
¹⁹⁷ Au	0,005	0,014	0,003			
²⁰² Hg	0,020	0,137	0,037			
²⁰⁵ Tl	0,001	0,005	0,001			
²⁰⁸ Pb	0,003	0,007	0,009	Pb 220,353	2,98	
²⁰⁹ Bi	0,003	0,002	0,003	Bi 223,061	9,63	
²³² Th	0,001	0,002	0,002			
²³⁸ U	0,0001	0,002	0,001			

Tabela 6 Limites de Quantificação do método entre equipamentos, resultados em mg kg⁻¹.

Elemento	DRCII INMETRO	Agilent 7500ce	NexION300X	Elemento (nm)	Optima 7300	Optima 7300
⁷ Li	0,006	0,0015	0,006	Li 670,784	0,006	
⁹ Be	0,010	0,002	0,002	Be 313,042	0,030	0,040
¹¹ B	1,21	0,28	1,34	B 249,677	1,25	
²³ Na	0,34	0,21	0,11	Na 589,592	0,32	
²⁴ Mg	0,13	0,04	0,07	Mg 279,077	0,97	
²⁷ Al	0,14	0,41	0,31	Al 396,153	0,35	
³¹ P	1,0	7,8	4,7	P 213,617	2,6	
³⁴ S	114	67	143	S 180,669	13	16
³⁹ K	0,83	1,18	1,56	K 766,490	0,33	
⁴⁴ Ca	6,95	4,49	6,25	Ca 317,933	5,86	
⁴⁷ Ti	0,050	0,123	0,032	Ti 334,940	0,033	
⁵¹ V	0,058	0,008	0,002	V 311,071	0,174	
⁵³ Cr	0,31	0,04	0,01	Cr 267,716	0,21	
⁵⁵ Mn	0,010	0,018	0,009	Mn 257,610	0,010	
⁵⁷ Fe	0,51	0,70	1,60	Fe 259,939	0,49	
⁵⁹ Co	0,001	0,001	0,002	Co 228,616	0,199	
⁶⁰ Ni	0,012	0,055	0,006			
⁶⁵ Cu	0,021	0,031	0,007	Cu 324,752	0,392	
⁶⁶ Zn	0,071	0,039	0,050	Zn 206,200	0,103	
⁶⁹ Ga	0,001	0,006	0,001			
⁷⁴ Ge	0,007	0,009	0,009			
⁷⁵ As	0,016	0,054	0,007			
⁸² Se	0,014	0,332	0,001			
⁸⁸ Sr	0,003	0,005	0,005	Sr 407,771	0,007	
⁹⁸ Mo	0,004	0,003	0,005	Mo 202,031	0,234	
¹⁰⁵ Pd	0,002	0,005	0,003			
¹⁰⁷ Ag	0,001	0,015	0,004	Ag 328,068	0,356	
¹¹⁴ Cd	0,002	0,002	0,014	Cd 228,802	0,167	
¹¹⁸ Sn	0,002	0,003	0,003			
¹²¹ Sb	0,001	0,001	0,003			
¹²⁷ I	0,15	0,11	0,04			
¹³⁷ Ba	0,012	0,010	0,006	Ba 455,403	0,022	
¹⁹⁷ Au	0,002	0,005	0,001			
²⁰² Hg	0,007	0,045	0,013			
²⁰⁵ Tl	0,0003	0,002	0,0002			
²⁰⁸ Pb	0,001	0,002	0,003	Pb 220,353	0,994	
²⁰⁹ Bi	0,001	0,001	0,001	Bi 223,061	3,211	
²³² Th	0,0002	0,0007	0,0007			
²³⁸ U	0,0002	0,0008	0,0002			

Nota-se que os valores de LD e LQ das tabelas 5 e 6, em sua grande maioria, não apresentaram uma diferença significativa em termos de ordem de grandeza de suas concentrações limites, o que torna ambas as técnicas ideais para a determinação dos elementos essenciais para este tipo de amostra. Entretanto muitos elementos não tiveram concentração alta suficiente para serem determinadas por ICP OES, que é o caso de alguns elementos tóxicos, como As, Hg, Sb, Sn, Se, Th e U, já que normalmente suas concentrações se encontram em níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$ em solução. Com relação ao uso de ICP-MS de modelos ou marcas diferentes, todos os espectrômetros usados apresentam resultados comparáveis e adequados para esse tipo de estudo.

4.7.2. Exatidão

4.7.2.1. Teste de Adição e Recuperação

Foram realizadas adições de elementos em duas concentrações diferentes, obtendo-se os resultados apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 Resultados das recuperações (%) obtidas após adição dos elementos em média e baixa concentração antes da decomposição.

Elemento	Adição	Recup. (%)	DP	Adição	Recup. (%)	DP
Li	10	81,5	1,8	2,5	89,3	9,9
Be	10	82,5	4,3	2,5	92,2	4,7
Na	110	62	30,9			
P	400	164,6	30,7			
K	110	81,7	16			
Ti	10	132,6	67,8			
V	10	103,2	9,3	2,5	104,5	54,9
Se	10	172,4	13,8			
Ag	10	100,1	2,8	2,5	106,2	12,5
Cd	10	116,1	3,2	2,5	125,3	16,3
Sb	10	107,5	4,1	2,5	112,3	9,3
I	20	102,3	8,8	2,5	107,2	14,6
Au	5	121,2	2,1	1,25	123,3	6
Ba	10	99,9	32,4			
Cr	10	132,5	17,7			
Cr	10	150	63,9			
Mn	10	224,4	43,4			
Co	10	110,9	2,9	2,5	110,2	5,8
Cu	10	157,5	41,9			
As	10	145,5	25,3	2,5	162,8	22,1
Br	100	152,3	8,2			
Hg	10	108,9	4,8	2,5	96,9	13,7
Tl	10	136,2	3,7	2,5	146,7	11,1
Pb	10	120,9	13			
U	10	137,1	3,2	2,5	149,7	9,5

Foram obtidas recuperações adequadas (entre 80 e 120 %) para a maioria dos elementos adicionados na concentração intermediária, embora alguns analitos tenham apresentado recuperações abaixo de 80 % e outros acima de 120 %. Isto pode ser devido à maior flutuação percentual das concentrações dos elementos traços ou possíveis interferências espectrais, caso do Cr, Se e As, como mencionado na Introdução. Já para a adição em baixa concentração, as melhores recuperações se deram para os elementos que normalmente são encontrados em níveis de ultra-traço neste tipo de amostra.

Foi aplicado também o teste de recuperação na amostra, à qual foram adicionados os elementos após a decomposição (Tabela 8).

Tabela 8 Resultados das recuperações (%) obtidas após adição dos elementos pós decomposição.

Elemento	Adicionado	Encontrado	DP	Recuperação %
Li	0,025	0,024	0,0003	97
Be	0,025	0,02	0,0001	82
Na	0,275	0,31	0,194	113
Mg	0,275	0,375	0,131	136
Al	0,525	0,451	0,135	86
P	1	0,99	0,134	99
K	0,275	0,209	0,021	76
Ca	1,275	1,22	0,98	96
Ti	0,05	0,038	0,005	76
V	0,025	0,026	0,002	104
Cr	0,025	0,033	0,0004	132
Mn	0,025	0,03	0,009	118
Co	0,025	0,025	0,0001	99
Ni	0,025	0,026	0,001	105
Cu	0,025	0,025	0,003	101
Zn	0,275	0,249	0,06	90
Ga	0,025	0,025	0,0002	101
As	0,025	0,031	0,001	125
Se	0,025	0,033	0,002	131
Rb	0,025	0,027	0,0001	106
Sr	0,025	0,027	0,004	109
Ag	0,025	0,025	0,0001	99
Cd	0,025	0,023	0,0004	91
Sn	0,025	0,023	0,0003	93
Sb	0,025	0,022	0,0003	89
I	0,05	0,053	0,004	106
Ba	0,025	0,035	0,004	138
Hg	0,0015	0,0015	0,0001	99
Tl	0,025	0,029	0,001	114
Pb	0,025	0,032	0,001	128
Bi	0,025	0,027	0,001	107
U	0,025	0,036	0,001	144

De maneira semelhante foram encontradas algumas recuperações acima de 120 %, podendo caracterizar possível interferência, havendo assim a necessidade do estudo do uso do DRC ou KED para estes elementos.

Comparando os resultados encontrados da adição pré-decomposição e pós-decomposição, verifica-se recuperações, em sua maioria, acima de 100 % para ambas as adições, o que indica uma possível interferência presente e não a perda de elementos no processo de decomposição. Caso a recuperação da adição pré-decomposição fosse menor que 100 %, indicaria perdas durante o processo de decomposição, o que não aconteceu e a adição pós-decomposição identificaria a possível presença de interferências, o que aconteceu para alguns elementos.

4.7.2.2. Amostras de Referência Certificada

Foram usadas duas amostras de referência certificadas (NCSDC 73347a, China; e ERM-DB001, União Europeia), sendo obtidos os resultados apresentados nas Tabelas 9 e 10. Foi adotado o valor de t de *Student* de 2,776 para 95 % de confiança com n=4.

Tabela 9 Média e desvio-padrão das concentrações obtidas por ICP-MS e certificadas, para o CRM NCS DC 73347^a, em mg kg⁻¹, recuperação (%) e resultados do teste t.

Elemento	Certificado	DP (CRM)	Obtido	DP	Rec. %	Teste t
Na	89	12	68	14	76,2	2,55
P	140	20	126,7	8,1	90,5	2,83
S	41900	1100	45443	3747	108	1,64
Ca	1450	200	1350	564	93	0,31
V	0,5	0,18	0,46	0,08	92,9	0,8
Cr	0,41	0,12	0,38	0,231	91,6	0,26
Mn	2	0,3	1,73	0,18	86,5	2,6
Fe	36	5	47,6	7,9	132	2,53
Cu	14,3	1,6	12,3	0,9	85,8	3,94
Zn	137	9	125	19	91	1,08
As	0,28	0,05	0,21	0,2	73,4	0,65
Br	1,1		1,43	0,49	130,4	1,18
Se	0,58	0,12	0,64	0,09	109,8	1,06
Sr	7,7	0,4	6,954	0,679	90,3	1,9
Mo	0,17	0,03	0,18	0,02	104,4	0,64
Cd	0,07		0,071	0,006	100,7	0,16
Sn	0,2		0,17	0,07	84,2	0,82
Sb	0,065		0,072	0,016	111,1	0,77
I	0,8	0,2	0,89	0,13	111,6	1,19
Ba	11,4	0,6	12	1,616	104,9	0,6
Hg	0,67	0,1	0,54	0,04	80,2	5,35
Tl	0,0077	0,0011	0,008	0,002	102,4	0,2
Pb	5,7	0,5	5,93	0,73	104,1	0,55
Bi	0,021	0,002	0,021	0,002	98,5	0,27
Th	0,064	0,0011	0,06	0,003	93,7	2,63
U	0,099	0,015	0,106	0,019	106,9	0,61

Tabela 10 Média e desvio-padrão das concentrações obtidas por ICP-MS e certificadas, para CRM ERM-DB001, em mg kg⁻¹, recuperação (%) e resultados do teste t.

Elemento	Certificado	DP	Obtido	DP	Rec. %	Teste t
Cu	33	4	30,5	4,3	92,4	1
Zn	209	12	214,4	86	102,6	0,11
Se	3,24	0,24	3,58	1,1	110,5	0,53
Cd	0,125	0,007	0,113	0,025	90,5	0,824
Hg	0,37	0,03	0,32	0,02	87,8	3,35
Pb	2,14	0,2	2,25	0,26	105,1	0,72

Como pode ser observado, foram obtidos percentuais de recuperação entre 80 e 120%, com valores de t calculado abaixo de 2,776, que é o t tabelado.

Porém, alguns elementos, mesmo tendo percentual de recuperação nessa faixa, apresentaram valores de t ou acima ou abaixo do valor tabelado, como P, Cu e Hg para ambas as amostras certificadas. Também foi verificado que alguns elementos ficaram fora dessa faixa de recuperação, porém, apresentaram valor do t calculado menor que o t tabelado, que é o caso do Na, Fe, As e Br. De maneira semelhante alguns elementos não foram concordantes pelo t, mas ficaram dentro da faixa de recuperação. Os resultados detalhados desta análise se encontram no Anexo F.

Para fins de comparação, as amostras certificadas também foram analisadas por ICP OES e os resultados estão apresentados nas Tabelas 11.

Tabela 11 Média e desvio-padrão das concentrações obtidas por ICP OES e certificadas, para o CRM NCS DC 73347a, em mg kg⁻¹, recuperação (%).

Elemento	CRM	DP	Obtido	Rec. %
Ba	11,4	0,6	10,13	88,9
Be	0,11		0,09167	83,3
Be	0,11		0,07757	70,5
Ca	1450	200	1113	76,8
Cd	0,07		0,07756	110,8
Cu	14,3	1,6	10,4	72,7
Fe	36	5	44,79	124,4
Mn	2	0,3	1,862	93,1
Mo	0,17	0,03	0,06384	37,6
Na	89	12	66,87	75,1
P	140	20	84,89	60,6
Pb	5,7	0,5	4,673	82,0
S	41900	1100	42880	102,3
S	41900	1100	42820	102,2
Sr	7,7	0,4	6,17	80,1
Ti	0,77		0,6454	83,8
V	0,5	0,18	0,4406	88,1
Zn	137	9	119,4	87,2

Tabela 12 Média e desvio-padrão das concentrações obtidas por ICP OES e certificadas para CRM ERM-DB001, em mg kg⁻¹, e recuperação (%).

Elemento	CRM	DP	Obtido	Rec%
Cd	0,125	0,007	0,1241	99,28
Cu	33	4	28,2	85,45
Zn	209	12	180,1	86,17

4.7.2.3. Comparação entre técnicas de quantificação

Os seguintes elementos foram determinados por ICP OES (Optima 7300) e por ICP-MS (Agilent 7500ce), obtendo os resultados da Tabela 13. Os elementos Ag, As, Au, Ga, Ge, Hg, I, Ni, Sb, Se, Sn, Th e U apresentaram concentrações abaixo do LQ e por isso não estão apresentados na tabela, porém os resultados obtidos por ICP-MS podem ser vistos na Tabela 3.

Tabela 13 Média e desvio-padrão das concentrações obtidas por ICP OES e ICP-MS, em mg kg⁻¹, e resultados do teste t pareado da comparação entre as duas, para a amostra de referência de pelo canino.

Elemento	ICP OES	ICP-MS	Teste t pareado
Al	177,2 ± 52,1	147,5 ± 42,8	0,49
Ba	5,68 ± 1,48	5,61 ± 1,48	0,96
Ca	1621 ± 334	1399 ± 296	0,44
Cd	0,050 ± 0,030	0,038 ± 0,013	0,57
Co	0,08 ± 0,04	0,08 ± 0,02	0,92
Cr	0,79 ± 0,182	0,89 ± 0,20	0,57
Cu	8,37 ± 0,28	8,31 ± 0,56	0,89
Fe	193 ± 56	198 ± 55	0,92
K	33 ± 15	27 ± 12	0,62
Li	0,11 ± 0,039	0,06 ± 0,017	0,09
Mg	175 ± 40	145 ± 33	0,38
Mn	6,42 ± 2,04	6,11 ± 1,89	0,85
Mo	< LQ	0,148 ± 0,016	
Na	186,2 ± 91,3	144,2 ± 64,9	0,55
P	181,8 ± 5,9	157,9 ± 18	0,09
Pb	2 ± 0,4	2 ± 0,4	0,91
S	47453 ± 707	50607 ± 3891	0,24
S	47077 ± 762	50607 ± 3891	0,2
Sr	6,4 ± 1,6	6,4 ± 1,7	1
Ti	4,6 ± 1	4,6 ± 1,4	0,96
V	0,405 ± 0,122	0,518 ± 0,114	0,31
Zn	161,7 ± 1,9	150,8 ± 9,1	0,11

Observa-se que os elementos apresentados da Tabela 13 foram concordantes pelas duas técnicas, indicando que ICP OES também pode ser utilizada como alternativa para determinação desses elementos, enquanto ICP-MS permite também a determinação dos elementos traço.

4.7.3. Precisão

Foi analisada a amostra de referência de pelo canino em triplicada e os resultados do desvio-padrão relativo estão mostrados na Tabela 14.

Tabela 14 Resultados do DPR para a amostra de pelo canino de referência por ICP-MS.

Elemento	DPR	Elemento	DPR
Li	7,4	Be	29,9
B	15	Al	9,4
Na	26	Ni	13,7
Mg	4	Ag	6,6
P	3,5	Cd	3,9
S	3,0	Sn	5,1
K	9,4	Sb	7,7
Ca	2,6	Ba	2,7
V	14,8	Hg	10
Cr	1,2	Pb	2,1
Mn	0,9	Bi	13,9
Fe	1	Th	1,5
Co	4,2	U	11,3
Sr	2,6	Ti	12,5
Cu	3,7	Ga	4,3
Zn	2,5	Ge	39,1
Se	3,4	Pd	9,7
Mo	9,5	Au	12
I	4,8		

Como pode ser observado, foram obtidos RSD baixos de acordo com os critérios da AOAC descrito no manual do INMETRO (2016), o único elemento que apresentou RSD alto e fora desses critérios foi o Na. Embora alguns elementos tenham apresentado valores altos de RSD, como Be e Ge, esses valores são aceitáveis de acordo com a AOAC, pois os valores de concentração estão muito próximos do LQ.

5. Conclusão

A não utilização de solventes para o preparo das amostras se torna vantajosa pela simplicidade da metodologia e por evitar o uso de um solvente orgânico controlado pela polícia federal, caracterizando o procedimento como química verde.

A decomposição da amostra de pelo canino empregando o procedimento usado no mineralograma capilar foi eficiente, indicando que essa análise pode ser incluída na rotina de análises do LABSPECTRO.

Ambas técnicas de espectrometria atômica multielementar, ICP OES e ICP-MS, podem ser utilizadas nas análises de pelo canino, porém, alguns elementos só podem ser determinados por ICP-MS devido à sua baixa concentração, o que torna essa técnica mais indicada para esse tipo de análise.

6. Trabalhos futuros

Definida a metodologia de preparo e análise do pelo canino para a determinação multielementar por ICP-MS, pode-se estabelecer intervalos de concentração recomendadas para cachorros saudáveis, de modo a ter uma tabela de referência para esse tipo de amostra, podendo ser separados por raça e sexo, que também pode ser estendido a outras espécies de mamíferos.

Como existe a possibilidade de interferências para alguns elementos no ICP-MS, sugere-se o uso da célula de colisão ou da célula de reação, de modo a reduzir possíveis interferências ou realizar a análise matemática das interferências.

Referências Bibliográficas

- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/>. Acessado em dezembro de 2020
- Cabral, Francisco Giugliano de Souza, Carine Savalli, **Sobre a relação humano-cão**, Psicologia USP, volume 31, p.1-9, 2020, <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6564e190109>
- Chittlebrough, G. A., **Is human hair a dosimeter for endogenous zinc and other trace elements?**; Sci. Tot. Environ. V. 14, p.53, 1980.
- Contiero, E.; Folin, M.; **Trace elements nutritional status. Use of hair as a diagnostic tool**, Biol. Trace Elem. Res. v. 40, p. 151, 1994.
- EPA, disponível em: https://19january2017snapshot.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/icpms_fgd_collision-reaction_cell_procedure_draft_03-11-2013.pdf. Acessado em janeiro de 2021.
- Ferdi F. K., disponível em: <https://slideplayer.com/slide/4949682/>. Acessado em janeiro de 2021.
- Geoffrey Tyler, **ICP-MS, or ICP-AES and AAS?—a comparison**, Varian, 1994,
- G.Tyler, **AA or ICP - which do you choose?**, Chemistry in Australia, Vol 59, No 4, pp 150-152, April 1992.
- HAUSER-DAVIS, R. A.; MONTEIRO, F. S. ; ROCHA, R. C. C. ; LEMOS, L. S. ; CARDOSO, M. D. ; SICILIANO, S. . **Titanium as a contaminant of emerging concern in the aquatic environment and the current knowledge gap regarding seabird contamination**. ORNITHOLOGIA (CEMAVE/IBAMA. IMPRESSO), v. 11, p. 7-15, 2020.
- Helmut Ernstberger, disponível em: http://per-form.hu/wp-content/uploads/2019/06/budapest_avio_comparison.pdf. Acessado em janeiro de 2021.
- Hopps, H.C., **The biologic bases for using hair and nail for analyses of trace elements**; Sci. Tot. Environ. V. 7, p. 71,1977;
- Hubert A. Scoble & Robert Litman, **Preparation of Hair and Nail Samples for Trace Element Analysis**, Analytical Letters, 11:2, 183-189, 1978
- INMETRO, **ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS**, p. 31, Revisão 5, 2016.
- Jenkins DW, **Toxic Metals in Mammalian Hair and Nails**. EPA Report 600, 1979.
- Joseph D. Campbell, **Hair Analysis: A Diagnostic Tool for Measuring Mineral Status in Humans**, JOURNAL OF ORTHOMOLECULAR PSYCHIATRY, VOLUME 14, NUMBER 4, 1985
- Kriya L. Dunlap, Arleigh J. Reynolds, Peter M. Bowers, Lawrence K. Duffy, **Hair analysis in sled dogs (Canis lupus familiaris) illustrates a linkage of mercury exposure along the Yukon River with human subsistence food systems**, Science of the Total Environment, v. 385, p. 80–85, 2007
- Maria Tereza W.D. Carneiro, Carmem L. Porto da Silveira *, Norbert Miekeley e Lúcia M. de Carvalho Fortes, **INTERVALOS DE REFERÊNCIA PARA ELEMENTOS MENORES E TRAÇO EM CABELO HUMANO PARA A POPULAÇÃO DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO – BRASIL**, Quim. Nova, Vol. 25, No. 1, 37-45, 2002.

MARTA A. CHYLA AND WIESLAW ZYRNICKI, **Determination of Metal Concentrations in Animal Hair by the ICP Method Comparison of Various Washing Procedures**, Biological Trace Element Research, Vol. 75, p. 187, 2000

Miekeley, N.; Fortes, L. M. C; Porto da Silveira C. L.; Lima M. B., **Elemental anomalies in hair as indicators of endocrinologic pathologies and deficiencies in calcium and bone metabolism** J. Trace Elem. Med. Biol. Vol 15, pp. 46-55 (2001)

Miekeley, N.; Carneiro, M.T.W.D.; Porto da Silveira, C.L.; **How reliable are human hair reference intervals**, Sci. Tot. Environ. **1998**, 218, 9.

Nöte, J.; **ICP Emission Spectrometry, A Practical Guide**, Willey-VCH: Weinheim, 2003, 267p p.

Olesik, J., **Elemental Analysis Using ICP OES and ICP-MS**, Anal. Chem. Vol 63 No 1, Jan 1 1991 pp 12A-21A

Oliveira, L.C., **Estudo da Distribuição de íons e metais em sangue via metodologia nuclear**, 91f. (Tese de doutorado), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- Autarquia associada a Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008

Park, S. H., M. H. Lee and S. K. Kim, **Studies on Cd, Pb, Hg and Cr Values in Dog Hairs from Urban Korea**, Asian-Aust. J. Anim. Sci. Vol 18, No. 8 : 1135-1140, 2005

Peereboom, J.W. C **General aspects of trace elements and health**; Sci. Tot. Environ. 1985, 42,

Polícia Federal, disponível em: <http://www.pf.gov.br/servicos-pf/produtos-quimicos/legislacao/anexos-da-portaria-1274-03/01-Anexo%20I%20-%20Listas.pdf/view>. Acessado em fevereiro de 2021,

POZEBON, Dirce; DRESSLER, Valderi L. and CURTIUS, Adilson J.. **Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traço e aplicações**. Quím. Nova [online]. vol.22, n.6, pp.838-846, 1999.

Raposo, Juan Carlos, Patricia Navarro, Alfredo Sarmiento, Enara Arribas, Mireia Irazola, Rosa María Alonso, **Analytical proposal for trace element determination in human hair. Application to the Biscay province population, northern Spain**, Microchemical Journal, v.116, p. 125–134, 2014.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia Animal: Adaptação e meio ambiente**. Ed Santos, São Paulo, 1996.

Sousa, V. M.. **Correção de interferências isobáricas em análises de elementos terras raras em apatita e feldspato alcalino por LA-ICP-MS**. Tese de doutorado, São Paulo, Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, 234 p., 2020.

Souza T.M., Figuera R.A., Kommers G.D. & Barros C.S.L, **Aspectos histológicos da pele de cães e gatos como ferramenta para dermatopatologia**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 29(2), p.177-190, 2009.

Thomas, R., **A beginner's guide to ICP-MS – Part III: The plasma source: Spectroscopy**, v. 16, p. 16+, 2001.

Thomas, R., **A beginner's guide to ICP-MS – Part III: The plasma source: Spectroscopy**, V. 16, p. 16+, 2001.

Thomas W. Clarkson, Lars Friberg, Gunnar F. Nordberg, and Polly R. Sager, **Biological Monitoring of Toxic Metals**, ROCHESTER SERIES ON ENVIRONMENTAL TOXICITY, Plenum Press, 1988, New York

Toro EC et al, **The significance of hair mineral analysis as a means for assessing internal body burdens of environmental polutants: results from an IAEA**, Co-ordinated Research Programme. J Radioanal Nucl Chem 167(2):413–421, 1993.

William, M Haynes, **CRC Handbook of Chemistry and Physics**, 97th Edition: CRC Press, 2016.

Anexos

A. Teste de Lavagem

Elemento:	Li	B	Na	Mg	P	S	K	Ca	V	Cr
Massa:	7	11	23	24	31	34	39	44	51	53
Rafael-I-1	0.12	1.64	110	180	234	44759	34.2	1491	0.51	4.07
Rafael-I-2	0.12	1.87	115	186	232	45770	32.8	1596	0.63	4.80
Rafael-I-3	0.13	1.94	93.5	187	227	43801	33.2	1587	0.72	4.65
Rafael-I-4	0.12	1.94	92.3	189	233	43828	32.0	1594	0.69	4.85
Rafael-I-5	0.13	1.67	93.6	196	218	43879	33.4	1593	0.75	4.71
Rafael-I-6	0.14	1.95	97.1	202	234	46058	34.7	1645	0.80	4.89
Rafael-I-7	0.13	1.52	89.1	190	223	44364	30.9	1585	0.71	4.61
Rafael-II-8	0.13	1.65	84.4	185	231	45460	30.2	1553	0.64	4.27
Rafael-II-9	0.13	1.63	81.5	184	237	46547	31.0	1555	0.63	4.26
Rafael-II-10	0.15	2.13	92.3	197	238	46974	34.0	1674	0.70	4.76
Rafael-II-11	0.14	1.87	103	196	230	45927	35.4	1574	0.70	4.71
Rafael-II-12	0.14	2.05	88.9	197	233	45878	33.8	1580	0.72	4.67
Rafael-II-13	0.14	1.86	98.5	202	235	47230	33.8	1613	0.66	5.07
Rafael-II-14	0.13	1.78	91.3	197	237	46762	32.2	1647	0.70	4.81
Rafael-III-15	0.12	2.07	93.7	199	263	47110	29.5	1679	0.69	4.67
Rafael-III-16	0.13	1.80	82.8	193	237	45808	30.5	1596	0.69	4.87
Rafael-III-17	0.13	1.79	98.2	189	231	45724	31.0	1596	0.62	4.28
Rafael-III-18	0.12	2.21	85.6	183	234	47018	27.4	1559	0.56	3.87
Rafael-III-19	0.12	1.87	78.4	200	250	47213	29.2	1659	0.59	4.36
Rafael-III-20	0.12	2.08	88.7	194	236	45025	27.9	1652	0.61	4.31
Rafael-III-21	0.11	2.05	95.3	183	226	44558	28.2	1661	0.57	3.67
Rafael-IV-22	0.15	2.28	117	200	251	45944	33.7	1611	0.67	5.03
Rafael-IV-23	0.16	2.65	116	205	260	47118	33.5	1663	0.71	4.84
Rafael-IV-24	0.16	2.32	135	209	247	45809	36.7	1714	0.75	5.21
Rafael-IV-25	0.14	2.23	110	186	231	44670	31.4	1560	0.62	4.37
Rafael-IV-26	0.15	1.92	105	197	258	45918	34.1	1633	0.70	5.43
Rafael-IV-27	0.17	2.71	163	214	245	47818	40.5	1733	0.72	5.12
Rafael-IV-28	0.15	2.07	116	194	238	44707	35.6	1601	0.66	4.75
Rafael-V-29	0.088	1.99	117	154	220	41646	19.7	1317	0.44	3.22
Rafael-V-30	0.10	2.00	96.9	169	232	43162	22.7	1456	0.44	3.63
Rafael-V-31	0.11	2.17	123	173	225	42132	27.2	1434	0.45	3.99
Rafael-V-32	0.12	2.10	125	173	232	43446	26.3	1433	0.44	3.60
Rafael-V-33	0.12	2.28	126	170	223	42552	24.6	1354	0.41	3.44
Rafael-V-34	0.10	2.18	126	170	231	42467	25.0	1401	0.39	3.24
Rafael-V-35	0.067	2.30	91.4	156	219	43922	18.0	1311	0.30	2.35

Elemento:	Mn	Fe	Co	Cu	Zn	Se	Sr	Mo	I	Be
Massa:	55	57	59	65	66	82	88	95	127	9
Rafael-I-1	11.8	849	0.17	8.71	168	1.48	8.15	0.22	1.21	0.011
Rafael-I-2	12.4	873	0.24	9.21	178	1.36	7.91	0.22	1.16	0.012
Rafael-I-3	12.4	905	0.18	9.46	176	1.35	8.16	0.22	1.09	0.014
Rafael-I-4	11.6	821	0.18	9.02	177	1.61	8.22	0.22	1.31	0.012
Rafael-I-5	12.8	906	0.20	9.03	179	1.25	8.59	0.23	1.11	0.013
Rafael-I-6	12.9	865	0.19	9.34	176	1.34	8.63	0.24	1.18	0.010
Rafael-I-7	12.7	849	0.18	9.23	177	1.24	8.08	0.23	1.22	0.011
Rafael-II-8	11.8	856	0.19	9.46	182	1.26	7.93	0.21	1.10	0.010
Rafael-II-9	11.4	812	0.17	9.25	179	1.25	8.02	0.23	1.17	0.010
Rafael-II-10	13.2	899	0.20	9.78	184	1.21	8.30	0.23	1.25	0.013
Rafael-II-11	12.5	889	0.21	10.8	181	1.35	8.42	0.25	1.30	0.012
Rafael-II-12	12.6	900	0.21	9.36	181	1.23	8.25	0.24	1.30	0.011
Rafael-II-13	13.4	1004	0.23	9.80	182	1.31	8.29	0.25	1.25	0.010
Rafael-II-14	11.9	876	0.18	9.83	186	1.21	8.72	0.23	1.26	0.010
Rafael-III-15	11.8	803	0.17	10.3	191	1.59	8.34	0.23	1.21	0.010
Rafael-III-16	12.4	899	0.22	9.66	180	1.24	8.41	0.23	1.15	0.011
Rafael-III-17	11.9	845	0.21	13.1	173	1.29	8.11	0.23	1.16	0.012
Rafael-III-18	11.3	853	0.18	9.38	180	1.24	8.20	0.21	1.05	0.010
Rafael-III-19	14.0	1094	0.20	9.45	192	1.25	8.32	0.22	1.02	0.011
Rafael-III-20	12.1	821	0.19	9.23	179	1.36	8.16	0.22	1.15	0.010
Rafael-III-21	11.5	742	0.17	9.08	175	1.19	8.47	0.21	1.01	0.012
Rafael-IV-22	12.9	891	0.20	9.66	185	1.29	8.30	0.24	1.33	0.012
Rafael-IV-23	12.9	892	0.19	10.1	186	1.28	8.34	0.27	1.40	0.017
Rafael-IV-24	13.2	974	0.20	10.1	187	1.13	8.57	0.25	1.58	0.016
Rafael-IV-25	11.9	841	0.19	9.51	170	1.13	7.86	0.24	1.35	0.011
Rafael-IV-26	13.6	1031	0.20	9.40	184	1.06	8.05	0.28	1.30	0.016
Rafael-IV-27	13.9	944	0.22	10.1	186	1.17	8.77	0.26	1.51	0.015
Rafael-IV-28	13.1	944	0.19	9.44	178	1.09	8.12	0.23	1.39	0.014
Rafael-V-29	8.74	577	0.13	7.96	158	1.09	6.11	0.18	1.39	0.008
Rafael-V-30	10.3	782	0.16	9.59	165	1.12	7.25	0.19	1.43	0.007
Rafael-V-31	10.7	774	0.17	10.6	161	0.98	7.15	0.20	1.34	0.011
Rafael-V-32	9.87	720	0.16	8.43	163	1.01	8.12	0.19	1.46	0.007
Rafael-V-33	9.73	679	0.16	8.59	167	1.15	6.90	0.20	1.30	0.008
Rafael-V-34	10.8	706	0.16	8.12	164	1.03	6.82	0.18	1.14	0.010
Rafael-V-35	6.71	440	0.10	8.00	160	1.13	5.68	0.17	1.13	0.007

Elemento:	Al	Ni	As	Ag	Cd	Sn	Sb	Ba	Hg	Pb
Massa:	27	60	75	107	114	118	121	137	202	208
Rafael-I-1	206	21.9	0.22	0.041	0.037	0.30	0.076	6.93	0.046	3.45
Rafael-I-2	221	101	0.69	0.060	0.063	0.33	0.087	7.56	0.046	3.59
Rafael-I-3	219	25.7	0.30	0.064	0.055	0.35	0.094	9.43	0.046	3.83
Rafael-I-4	221	23.9	0.97	0.057	0.045	0.30	0.089	8.03	0.056	3.52
Rafael-I-5	228	42.6	0.38	0.050	0.054	0.35	0.10	10.2	0.042	3.87
Rafael-I-6	237	26.7	0.45	0.052	0.054	0.35	0.090	9.43	0.053	4.12
Rafael-I-7	223	28.7	0.34	0.079	0.050	0.33	0.098	9.56	0.056	3.64
Rafael-II-8	224	44.6	0.38	0.045	0.046	0.30	0.079	9.83	0.050	3.65
Rafael-II-9	230	27.5	0.23	0.064	0.036	0.34	0.083	8.69	0.055	3.75
Rafael-II-10	244	31.9	0.26	0.052	0.041	0.34	0.089	10.7	0.051	3.78
Rafael-II-11	260	29.2	0.37	0.080	0.063	0.35	0.084	8.33	0.062	3.83
Rafael-II-12	240	72.3	0.40	0.15	0.055	0.47	0.084	7.78	0.057	3.70
Rafael-II-13	240	73.0	0.30	0.070	0.046	0.36	0.090	7.96	0.046	3.83
Rafael-II-14	241	30.5	0.39	0.060	0.053	0.31	0.090	9.49	0.052	3.71
Rafael-III-15	229	29.1	0.40	0.051	0.064	0.29	0.091	7.10	0.049	3.52
Rafael-III-16	223	103	0.39	0.039	0.052	0.29	0.081	8.37	0.050	3.55
Rafael-III-17	217	31.6	0.31	0.044	0.036	0.29	0.092	8.40	0.046	3.47
Rafael-III-18	197	42.3	0.25	0.039	0.032	0.25	0.082	8.24	0.043	3.44
Rafael-III-19	211	43.8	0.69	0.039	0.065	0.30	0.080	13.2	0.049	3.82
Rafael-III-20	215	50.2	0.39	0.043	0.051	0.28	0.084	7.64	0.047	3.43
Rafael-III-21	201	25.1	0.33	0.041	0.037	0.30	0.074	7.80	0.046	3.80
Rafael-IV-22	259	28.2	0.30	0.066	0.064	0.37	0.087	7.93	0.047	3.93
Rafael-IV-23	291	20.1	0.29	0.054	0.068	0.41	0.097	12.0	0.053	4.31
Rafael-IV-24	279	33.0	0.40	0.050	0.071	0.34	0.091	8.49	0.054	4.16
Rafael-IV-25	253	35.8	0.27	0.061	0.047	0.33	0.086	8.26	0.041	3.91
Rafael-IV-26	269	37.0	0.40	0.061	0.071	0.40	0.090	12.0	0.048	3.87
Rafael-IV-27	294	71.4	0.29	0.054	0.065	0.43	0.10	8.68	0.068	4.17
Rafael-IV-28	246	27.2	0.29	0.072	0.064	0.32	0.090	8.20	0.046	3.71
Rafael-V-29	159	16.9	0.19	0.062	0.019	0.21	0.056	6.34	0.047	2.77
Rafael-V-30	188	39.5	0.31	0.071	0.031	0.25	0.069	7.75	0.047	3.08
Rafael-V-31	200	32.4	0.19	0.055	0.031	0.26	0.068	7.28	0.038	3.24
Rafael-V-32	187	52.0	0.23	0.040	0.032	0.25	0.074	6.81	0.047	3.13
Rafael-V-33	185	34.6	0.17	0.034	0.019	0.23	0.067	7.57	0.044	3.17
Rafael-V-34	167	37.8	0.19	0.045	0.030	0.23	0.071	6.51	0.039	2.91
Rafael-V-35	122	7.72	0.096	0.031	0	0.17	0.055	5.72	0.059	2.63

Elemento:	Bi	Th	U	Ti	Ge	Ge	Pd	Au
Massa:	209	232	238	47	72	74	105	197
Rafael-I-1	0.064	0.070	0.016	4.95	0.16	0.016	0.006	0.007
Rafael-I-2	0.068	0.083	0.017	4.94	0.18	0.020	0.005	0.005
Rafael-I-3	0.072	0.086	0.050	5.34	0.21	0.020	0.005	0.004
Rafael-I-4	0.068	0.083	0.016	5.23	0.19	0.023	0.006	0.004
Rafael-I-5	0.073	0.099	0.021	5.45	0.20	0.019	0.005	0.003
Rafael-I-6	0.073	0.093	0.019	5.72	0.21	0.018	0.007	0.004
Rafael-I-7	0.075	0.089	0.018	5.25	0.21	0.020	0.005	0.003
Rafael-II-8	0.071	0.085	0.017	5.01	0.21	0.018	0.005	0.002
Rafael-II-9	0.069	0.11	0.017	5.56	0.19	0.012	0.006	0.003
Rafael-II-10	0.072	0.095	0.021	5.90	0.19	0.021	0.005	0.002
Rafael-II-11	0.075	0.092	0.018	5.85	0.20	0.019	0.004	0.003
Rafael-II-12	0.073	0.11	0.021	5.91	0.20	0.018	0.005	0.002
Rafael-II-13	0.071	0.089	0.018	5.53	0.21	0.023	0.006	0.002
Rafael-II-14	0.069	0.084	0.019	5.31	0.20	0.022	0.006	0.002
Rafael-III-15	0.066	0.10	0.017	5.03	0.20	0.020	0.005	0.002
Rafael-III-16	0.066	0.095	0.017	5.39	0.20	0.021	0.004	0.001
Rafael-III-17	0.064	0.087	0.016	5.10	0.21	0.017	0.005	0.001
Rafael-III-18	0.057	0.084	0.017	4.43	0.20	0.019	0.004	0.002
Rafael-III-19	0.058	0.078	0.016	5.05	0.21	0.019	0.004	0.002
Rafael-III-20	0.064	0.25	0.016	5.22	0.19	0.023	0.005	0.002
Rafael-III-21	0.065	0.087	0.017	4.80	0.18	0.019	0.005	0.002
Rafael-IV-22	0.093	0.10	0.056	5.76	0.20	0.020	0.005	0.0008
Rafael-IV-23	0.13	0.15	0.023	6.11	0.21	0.017	0.006	0.002
Rafael-IV-24	0.085	0.12	0.022	6.44	0.20	0.020	0.006	0.002
Rafael-IV-25	0.078	0.10	0.020	5.51	0.19	0.021	0.006	0.002
Rafael-IV-26	0.076	0.098	0.019	6.36	0.21	0.018	0.004	0.002
Rafael-IV-27	0.083	0.11	0.022	7.04	0.22	0.023	0.005	0.003
Rafael-IV-28	0.071	0.092	0.018	6.30	0.21	0.021	0.006	0.003
Rafael-V-29	0.046	0.062	0.011	3.54	0.15	0.015	0.003	0.002
Rafael-V-30	0.053	0.15	0.013	4.53	0.16	0.019	0.004	0.002
Rafael-V-31	0.055	0.090	0.014	4.56	0.16	0.020	0.005	0.002
Rafael-V-32	0.066	0.080	0.020	4.21	0.16	0.022	0.004	0.002
Rafael-V-33	0.055	0.064	0.013	4.09	0.14	0.016	0.005	0.002
Rafael-V-34	0.052	0.062	0.013	3.98	0.16	0.017	0.003	0.001
Rafael-V-35	0.039	0.041	0.007	2.81	0.12	0.012	0.007	0.002

B. Teste de decomposição

Elemento:	Li	B	Na	Mg	P	S	K	Ca	V	Cr
Massa:	7	11	23	24	31	34	39	44	51	53
Código:										
Rafael-I-1	0.16	3.22	975	234	247	47391	92.1	1889	0.59	2.93
Rafael-I-2	0.16	3.14	865	216	248	46032	80.6	1893	0.58	2.97
Rafael-I-3	0.20	3.22	651	260	272	51298	115	2247	0.76	3.68
Rafael-I-4	0.16	3.02	753	231	244	47047	81.7	1907	0.60	3.08
Rafael-I-5		2.16	853	184	221	47967	50.0	1611	0.39	2.23
Rafael-I-6	0.17	2.53	807	229	235	45617	84.3	1995	0.63	3.26
Rafael-I-7	0.17	2.72	878	228	234	47202	86.4	1962	0.63	3.19
Rafael-II-1	0.17	2.68	770	208	230	46481	77.8	1837	0.57	3.09
Rafael-II-2	0.14	2.66	656	224	237	48584	71.7	1787	0.55	3.85
Rafael-II-3	0.16	2.30	826	213	237	45613	81.0	1817	0.58	3.35
Rafael-II-4	0.17	2.78	717	225	245	50597	74.5	1888	0.59	3.12
Rafael-II-5	0.19	2.60	953	230	245	47258	95.4	1985	0.66	3.33
Rafael-II-6	0.18	2.55	1001	230	245	47006	100	1983	0.66	3.30
Rafael-II-7	0.19	2.55	856	242	242	47782	96.6	2007	0.67	3.51

Elemento:	Mn	Fe	Co	Cu	Zn	Se	Sr	Mo	I	Be
Massa:	55	57	59	65	66	82	88	95	127	9
Código:										
Rafael-I-1	13.3	638	0.21	10.7	170	1.24	11.4	0.21	1.11	0.016
Rafael-I-2	13.0	604	0.19	9.84	166	1.19	11.1	0.21	1.11	0.014
Rafael-I-3	16.4	744	0.25	11.9	187	1.45	13.3	0.29	1.17	0.016
Rafael-I-4	14.5	669	0.23	9.88	168	1.16	11.8	0.23	1.01	0.012
Rafael-I-5	9.94	458	0.16	9.43	160	1.14	9.23	0.18	0.89	0.008
Rafael-I-6	15.3	694	0.22	9.99	168	1.20	12.4	0.22	1.02	0.017
Rafael-I-7	15.1	732	0.23	10.0	166	1.14	11.8	0.24	0.97	0.016
Rafael-II-1	13.6	655	0.22	9.64	161	0.99	10.7	0.23	1.06	0.014
Rafael-II-2	13.4	642	0.19	10.1	167	1.14	10.7	0.21	1.15	0.013
Rafael-II-3	13.3	642	0.20	9.55	167	1.12	10.9	0.24	1.15	0.015
Rafael-II-4	13.3	663	0.21	10.2	175	1.12	11.5	0.25	1.22	0.015
Rafael-II-5	15.0	735	0.23	10.1	172	1.09	12.2	0.24	1.25	0.014
Rafael-II-6	13.9	681	0.21	10.2	170	1.11	11.4	0.25	1.29	0.015
Rafael-II-7	15.8	780	0.22	10.1	173	1.21	12.3	0.25	1.24	0.015

Elemento:	Al	Ni	As	Ag	Cd	Sn	Sb	Ba	Hg	Pb
Massa:	27	60	75	107	114	118	121	137	202	208
Código:										
Rafael-I-1	234	50.5		0.088	0.11	0.33	0.087	8.14	0.030	2.74
Rafael-I-2	233		0.13	0.059	0.097	0.36	0.082	7.54	0.034	2.43
Rafael-I-3	308	52.3	0.16		0.11	0.45	0.10	9.09	0.047	3.16
Rafael-I-4	237	59.5	0.12	0.056	0.11	0.36	0.087	7.95	0.039	2.67
Rafael-I-5	142	47.7	0.10	0.053	0.074	0.22	0.052	5.88	0.024	1.88
Rafael-I-6	255	46.4	0.14		0.12		0.094	8.96	0.053	3.12
Rafael-I-7	244	71.9	0.12	0.061	0.10	0.35	0.086	8.44	0.036	2.67
Rafael-II-1	249	64.0	0.11	0.097	0.097	0.49	0.081	8.18	0.037	2.72
Rafael-II-2	240	55.8	0.13		0.100	0.33	0.083	7.64	0.033	2.38
Rafael-II-3	257	47.7	0.14	0.096	0.091	0.33	0.087	8.84	0.032	2.51
Rafael-II-4	247	66.2	0.11		0.098	0.40	0.084	7.50	0.040	2.54
Rafael-II-5	296	67.7		0.062	0.11	0.39	0.084	9.01	0.030	2.80
Rafael-II-6	281	55.9	0.13	0.096	0.11			9.99	0.036	2.81
Rafael-II-7	298	50.3	0.17	0.090	0.12	0.53	0.12	9.19		3.00

Elemento:	Bi	Th	U	Ti	Ga	Ge	Pd	Au
Massa:	209	232	238	47	69	74	105	197
Código:								
Rafael-I-1	0.078	0.098	0.028	6.40	0.30	0.013	0.006	0.0011
Rafael-I-2	0.072	0.10	0.027	6.37	0.27	0.014	0.005	0.0011
Rafael-I-3	0.10	0.13	0.034	7.85	0.34	0.022	0.008	0.0008
Rafael-I-4	0.12	0.096	0.028	6.86	0.30	0.017	0.005	0.0011
Rafael-I-5	0.048	0.12	0.020	4.14	0.21	0.012	0.005	0.0005
Rafael-I-6	0.083			7.16	0.32	0.018	0.007	0.0010
Rafael-I-7	0.076	0.097	0.031	6.93	0.31	0.019	0.006	0.0008
Rafael-II-1	0.082	0.12	0.029	7.51	0.31	0.017	0.006	0.0010
Rafael-II-2		0.12	0.026	6.51	0.28	0.022	0.005	0.0014
Rafael-II-3	0.077	0.099	0.027	7.45	0.33	0.016	0.007	0.0012
Rafael-II-4	0.076	0.12	0.028	7.17	0.29	0.022	0.006	0.0010
Rafael-II-5	0.091	0.12	0.030	9.13	0.34	0.020	0.006	0.0096
Rafael-II-6	0.086	0.12	0.029	8.40	0.37	0.018	0.007	0.0010
Rafael-II-7	0.086		0.032	8.90	0.35	0.016	0.006	0.0015

C. Teste de massa mínima

Elem.	Massa	TC01	TC02	TC03	TC04	TC05	TC06	TC07	TC08
Li	7	0.14	0.17	0.16	0.13	0.17	0.19	0.23	0.27
B	11	2.36	3.24	2.35	2.31	2.44	2.27	2.36	2.76
Na	23	100	114	104	162	150	126	188	186
Mg	24	231	245	238	225	220	235	252	258
P	31	261	284	245	247	254	227	243	240
S	34	56199	61900	54204	51454	51785	47496	50566	49685
K	39	36.1	42.9	38.0	36.0	37.7	43.8	53.9	61.7
Ca	44	2128	2553	2259	2136	2092	2153	2251	2356
V	51	0.51	0.58	0.57	0.47	0.57	0.78	0.72	0.93
Cr	53	3.94	3.97	3.43	2.89	4.84	3.53	4.70	5.84
Mn	55	14.4	16.5	15.1	11.8	19.5	15.8	16.0	18.7
Fe	57	778	931	789	551		848	875	1051
Co	59	0.27	0.50	0.20	0.18	0.25	0.23	0.29	0.31
Sr	88	12.3	14.6	12.6	12.4	12.3	13.1	14.4	14.8
Cu	65	11.8	15.1	12.5	10.6	11.8	11.2	11.3	11.5
Zn	66	212	206	200	192	202	189	191	201
Se	82	1.08	1.06	1.02	1.25	1.28	1.18	1.14	1.17
Mo	98	0.27	0.32	0.25	0.24	0.39	0.39	0.38	0.35
I	127	0.50	0.73	0.65	0.51	0.51	0.56	0.59	0.58
Be	9	0.010	0.047	0.013	0.013	0.015	0.012	0.017	0.022
Al	27	247	261	257	195	246	275	329	416
Ni	60	130	377	63.0	40.6	45.1	83.2	128	84.2
As	75	0.092	0.11	0.094	0.077	0.19	0.11	0.22	0.13
Ag	107	0.052	0.039	0.033	0.12	0.033	0.64	0.060	0.050
Cd	114	0.10	0.12	0.098	0.093	0.44	0.12	0.13	0.15
Sn	118	0.34	0.59	0.39	0.38		0.40	0.43	0.82
Sb	121	0.071	0.071	0.13	0.066	0.095	0.068	0.086	0.11
Ba	137	8.25	9.72	9.03	7.35	8.78	9.25	10.2	12.9
Hg	202	0.069	0.030	0.012	0.30	0.045	0.047	0.030	0.044
Pb	208	2.61	3.30	3.35	2.05	2.33	2.59	3.16	3.60
Bi	209	0.066	0.068	0.060	0.049	0.084	0.057	0.081	0.12
Th	232	0.089	0.13	0.099	0.10	0.095	0.12	0.15	0.24
U	238	0.025	0.025	0.026	0.023	0.026	0.029	0.035	0.044
Ti	47	7.70	7.53	7.49	6.61	7.93	8.63	9.67	12.5
Ga	69	0.31	0.36	0.33	0.28	0.35	0.34	0.38	0.47
Ge	72	0.20	0.25	0.22	0.17	0.54	0.19	0.19	0.21
Pd	105	0.008	0.009	0.007	0.005	0.006	0.005	0.007	0.007
Au	197	0.003	0.002	0.001	0.001	0.001		0.003	0.004

Elem.	Massa	TC09	TC10	TC11	TC12	TC13	TC14	TC15	TC16
Li	7	0.23	0.29	0.28	0.31	0.33	0.31	0.30	0.36
B	11	2.07	2.87	2.58	2.04	2.67	2.60	2.32	2.60
Na	23	191	304	364	309	425	396	391	499
Mg	24	244	284	271	266	280	266	283	293
P	31	221	238	237	226	234	242	245	263
S	34	48020	49991	47926	47556	46942	46504	47828	49096
K	39	53.3	75.2	78.1	75.4	89.7	82.5	77.9	94.0
Ca	44	2012	2404	2280	2374	2426	2175	2270	2596
V	51	0.76	0.89	0.91	0.90	1.07	0.94	0.98	1.07
Cr	53	4.59	5.28	5.12	5.31	5.45	5.32	5.87	6.24
Mn	55	15.3	18.0	18.8	18.2	20.4	17.8	18.9	22.0
Fe	57	792	947	984	972	1093	1001	1129	1132
Co	59	0.24	0.29	0.32	0.28	0.32	0.29	0.30	0.33
Sr	88	12.3	15.0	15.1	14.8	14.8	14.0	15.3	16.1
Cu	65	10.6	11.6	11.0	10.7	11.4	11.2	11.6	12.1
Zn	66	184	190	197	190	193	180	189	201
Se	82	1.04	1.13	1.11	0.95	1.05	1.14	1.07	1.19
Mo	98	0.31	0.34	0.35	0.37	0.37	0.35	0.39	0.36
I	127	0.54	0.69	0.62	0.61	0.70	0.64	0.67	0.71
Be	9	0.024	0.026	0.022	0.023	0.029	0.026	0.024	0.030
Al	27	356	427	465	441	498	474	490	507
Ni	60	34.8	54.7	164	52.2	80.0	53.2	55.4	76.4
As	75	0.15	0.14	0.15	0.14	0.18	0.16	0.18	0.21
Ag	107	0.048	0.061	0.069	0.051		0.056	0.068	0.061
Cd	114	0.12	0.15	0.13	0.15	0.16	0.14	0.18	0.16
Sn	118	0.52	0.62	0.63	0.56	0.74	0.62	1.40	0.77
Sb	121	0.090	0.11	0.12	0.12	0.13	0.12	0.12	0.14
Ba	137	9.84	12.9	12.2	11.7	13.6	13.4	12.0	12.7
Hg	202	0.032	0.055	0.049	0.051	0.033	0.021	0.029	0.037
Pb	208	3.26	3.86	3.97	3.62	4.17	3.70	4.05	4.30
Bi	209	0.093	0.12	0.13	0.13	0.14	0.12	0.13	0.14
Th	232	0.20	0.20	0.19	0.19	0.20	0.22	0.23	0.28
U	238	0.039	0.047	0.042	0.043	0.055	0.043	0.043	0.049
Ti	47	9.93	12.6	13.7	12.3	14.9	12.5	13.8	15.0
Ga	69	0.37	0.47	0.51	0.45	0.56	0.52	0.47	0.50
Ge	72	0.19	0.22	0.22	0.23	0.26	0.22	0.25	0.23
Pd	105	0.006	0.008	0.007	0.006	0.008	0.008	0.007	0.008
Au	197	0.001	0.0008	0.003	0	0.001	0.004	0.0003	0.002

Elem.	Massa	TC17	TC18	TC19	TC20	TC21	TC22	TC23	TC24
Li	7	0.35	0.29	0.30	0.31	0.26	0.42	0.36	0.27
B	11	2.56	2.36	2.46	2.33	2.10	4.55	2.67	2.26
Na	23	464	420	457	430	346	682	462	511
Mg	24	267	280	268	252	240	390	283	249
P	31	231	242	218	216	223	390	231	222
S	34	45096	45839	45495	45299	46934		46563	44133
K	39	84.2	85.6	82.8	81.0	66.1	155	90.5	83.8
Ca	44	2327	2326	2285	2253	2023	4199	2392	2144
V	51	1.04	0.88	0.87	0.95	0.82	1.98	1.08	0.85
Cr	53	6.89	4.55	4.32	5.43	5.21		5.84	4.00
Mn	55	19.6	18.4	18.0	17.8	15.7	34.8	21.5	16.9
Fe	57	1061	945	883	942	847	1863	1247	897
Co	59	0.31	0.30	0.29	0.29	0.28	0.54	0.38	0.27
Sr	88	15.7	14.9	14.5	14.4	13.4	28.1	15.5	14.1
Cu	65	11.0	11.9	10.6	11.1	10.4	21.5	11.0	11.0
Zn	66	194	189	179	184	186	355	194	179
Se	82	1.13	1.03	0.92	1.07	1.01	1.93	1.11	1.01
Mo	98	0.40	0.33	0.30	0.36	0.33	0.73	0.38	0.29
I	127	0.69	0.70	0.64	0.65	0.64	1.29	0.72	0.67
Be	9	0.035	0.025	0.026	0.024	0.022	0.040	0.027	0.028
Al	27	524	435	409	475	419	882	505	384
Ni	60	62.4	88.7	53.7	55.6	66.7	86.6	147	54.6
As	75	0.18	0.15	0.15	0.17	0.19	0.38	0.18	0.16
Ag	107	0.10	0.27	0.10	0.31	0.20	0.18	0.14	0.083
Cd	114	0.16	0.15	0.14	0.17	0.12	0.29	0.16	0.14
Sn	118	0.70	0.86	0.69	0.74	0.53	1.21	0.66	0.65
Sb	121	0.12	0.12	0.11	0.12	0.10	0.25	0.12	0.12
Ba	137	12.6	11.9	12.7	11.5	10.5	24.4	12.9	11.1
Hg	202	0.032	0.052	0.050	0.038	0.043	0.050	0.054	0.050
Pb	208	4.25	3.88	3.87	4.05	3.68	6.75	4.27	4.05
Bi	209	0.14	0.13	0.13	0.12	0.14	0.23	0.13	0.12
Th	232	0.24	0.22	0.17	0.21	0.16	0.36	0.21	0.16
U	238	0.049	0.041	0.041	0.047	0.036	0.076	0.048	0.038
Ti	47	16.2	11.7	11.1	13.2	12.5	41.5	13.0	10.3
Ga	69	0.51	0.46	0.44	0.46	0.43	0.98	0.50	0.42
Ge	72	0.21	0.23	0.21	0.21	0.21	0.46	0.23	0.21
Pd	105	0.007	0.008	0.009	0.006	0.008	0.014	0.007	0.006
Au	197	0.0009	0.0009	0.002	0.001	0.0009	0.001	0.0008	0.001

Elem.	Massa	TC26	TC27	TC28	TC29	TC30
Li	7	0.33	0.32	0.34	0.38	0.35
B	11	2.63	2.68	2.73	3.03	2.51
Na	23	565	455	681	652	650
Mg	24	274	281	290	298	280
P	31	244	240	251	265	235
S	34	46493	46223	48272	49647	46903
K	39	85.1	82.9	99.0	107	99.4
Ca	44	2254	2297	2358	2655	2347
V	51	0.99	0.97	1.05	1.23	1.07
Cr	53	5.43	5.43	5.93	6.83	6.03
Mn	55	19.2	19.7	19.3	23.1	20.9
Fe	57	1043	1054	1067	1223	1098
Co	59	0.30	0.31	0.29	0.35	0.36
Sr	88	14.9	14.9	14.5	16.4	14.7
Cu	65	11.4	12.2	11.9	12.5	12.8
Zn	66	198	198	199	208	191
Se	82	1.04	1.04	1.08	1.18	0.97
Mo	98	0.36	0.39	0.38	0.44	0.38
I	127	0.72	0.70	0.75	0.76	0.74
Be	9	0.031	0.032	0.026	0.028	0.026
Al	27	464	458	508	563	496
Ni	60	60.8	51.5	51.1	65.5	99.6
As	75	0.18	0.19	0.19	0.20	0.18
Ag	107	0.096	0.11	0.19	0.090	0.13
Cd	114	0.17	0.16	0.16	0.19	0.17
Sn	118	0.52	0.59	0.65	0.69	0.63
Sb	121	0.12	0.11	0.13	0.14	0.13
Ba	137	12.9	11.9	12.7	16.9	12.6
Hg	202	0.041	0.041	0.095	0.055	0.11
Pb	208	4.22	4.12	4.62	4.86	5.10
Bi	209	0.14	0.14	0.15	0.16	0.14
Th	232	0.21	0.25	0.25	0.27	0.23
U	238	0.047	0.045	0.14	0.092	0.048
Ti	47	12.0	12.3	12.8	14.7	12.1
Ga	69	0.48	0.47	0.48	0.58	0.49
Ge	72	0.22	0.22	0.20	0.22	0.20
Pd	105	0.006	0.006	0.007	0.008	0.008
Au	197	0.001	0.0006	0.000041	0.001	0.001

Teste de diluição

Elemento	Massa	1_10x	2_10x	3_10x	1	2	3
Li	7	0.076	0.065	0.077	0.072	0.080	0.070
B	11	-0.277	-0.595	-0.494	0.668	0.607	0.494
Na	23	71	46	47	75	50	48
Mg	24	144	137	139	151	145	140
P	31	256	250	259	275	272	257
S	34	57370	57000	57820	51400	52220	49260
K	39	21.2	18.5	20.0	22.6	22.0	18.9
Ca	44	1422	1301	1355	1492	1448	1417
V	51	0.52	0.50	0.47	0.59	0.73	0.56
Cr	53	1.43	1.40	1.46	1.50	1.54	1.52
Mn	55	6.03	5.82	6.17	6.83	6.72	6.73
Fe	57	300	285	307	339	332	336
Co	59	0.052	0.059	0.053	0.058	0.062	0.058
Sr	88	5.61	5.17	5.51	6.24	5.99	5.95
Cu	65	7.95	7.49	7.49	8.65	8.68	8.13
Zn	66	165.5	160.7	164.8	133.0	133.9	127.7
Se	82	0.72	0.82	1.09	1.07	1.01	1.01
Mo	98	0.146	0.172	0.179	0.163	0.186	0.155
I	127	-2.763	-3.786	-3.868	0.477	0.523	0.511
Be	9	0.007	0.013	0.005	0.008	0.005	0.006
Al	27	160.1	155.5	170.2	157.5	183.2	155.1
Ni	60	7.474	6.376	8.784	7.850	6.629	8.743
As	75	4.664	4.783	5.003	-0.228	-0.222	-0.249
Ag	107	0.031	0.029	0.025	0.037	0.033	0.037
Cd	114	0.035	0.043	0.042	0.030	0.028	0.029
Sn	118	0.261	0.265	0.257	0.275	0.285	0.257
Sb	121	0.035	0.033	0.042	0.035	0.039	0.034
Ba	137	5.19	5.06	5.07	5.46	5.65	5.36
Hg	202	0.021	0.009	-0.039	0.025	0.021	0.021
Pb	208	3.046	2.955	2.893	3.054	3.141	3.013
Bi	209	0.034	0.034	0.041	0.013	0.017	0.017
Th	232	0.139	0.073	0.067	0.083	0.082	0.084
U	238	0.032	0.018	0.016	0.014	0.011	0.012
Ti	47	4.336	4.971	4.689	4.010	4.938	4.003
Ga	69	0.215	0.235	0.238	0.213	0.215	0.199
Ge	72	0.042	0.026	0.031	0.005	0.010	0.005
Pd	105	-0.001	0.006	0.015	0.012	0.011	0.010
Au	197	0.003	-0.002	0.001	0.002	0.002	0.001

Elemento	Massa	4_10x	5_10x	6_10x	4	5	6
Li	7	2.290	2.119	2.103	2.496	2.389	2.366
B	11	0.017	-0.412	-0.356	0.873	0.596	0.683
Na	23	66.39	82.94	96.91	71.43	88.48	102.9
Mg	24	164.7	177.5	174.9	172.4	186.9	182.9
P	31	354.1	351.1	357.1	361	362.7	361.9
S	34	59550	58460	58740	51710	51540	51760
K	39	38.8	40.5	40.32	40.55	41.21	41.75
Ca	44	1401	1504	1435	1508	1627	1553
V	51	2.79	2.843	2.846	3.523	2.977	2.89
Cr	53	4.15	3.981	3.842	5.804	4.415	4.363
Mn	55	8.08	9.6	8.311	9.058	10.45	9.192
Fe	57	325.1	372.1	350.9	371.7	403.1	384.9
Co	59	2.45	2.317	2.319	2.545	2.461	2.374
Sr	88	7.52	7.975	7.793	8.463	8.91	8.605
Cu	65	10.27	10.26	9.965	10.96	10.92	10.75
Zn	66	193.7	194.4	192.4	153.7	156.7	154
Se	82	3.73	4.168	4.185	4.745	4.301	4.561
Mo	98	0.150	0.150	0.171	0.174	0.184	0.174
I	127	1.57	1.89	1.90	5.39	5.61	5.87
Be	9	2.21	2.14	2.12	2.05	1.98	1.91
Al	27	201.4	203.2	186.1	228.6	194.2	200.6
Ni	60	10.61	10.57	9.80	10.56	10.37	9.82
As	75	7.97	7.05	8.26	2.93	2.63	2.80
Ag	107	2.66	2.52	2.40	2.51	2.43	2.36
Cd	114	2.54	2.55	2.50	2.30	2.24	2.10
Sn	118	2.49	2.41	2.43	2.57	2.52	2.45
Sb	121	2.43	2.27	2.25	2.27	2.15	2.15
Ba	137	8.36	8.56	7.55	8.89	9.21	8.29
Hg	202	0.106	0.209	0.225	0.162	0.161	0.171
Pb	208	5.67	5.82	5.16	6.33	6.05	6.06
Bi	209	2.64	2.65	2.57	2.67	2.48	2.63
Th	232	0.069	0.084	0.070	0.077	0.087	0.077
U	238	2.91	2.90	2.66	3.61	3.35	3.50
Ti	47	8.18	7.37	6.39	8.76	7.40	7.68
Ga	69	2.68	2.65	2.54	2.77	2.65	2.54
Ge	72	0.0790	0.0622	0.1032	0.0847	0.0905	0.1022
Pd	105	0.0122	0.0030	0.0133	0.0176	0.04	0.0157
Au	197	0.0247	0.0117	0.0052	0.0039	0.0040	0.0020

Comparação entre técnicas

ICP OES	TSA 1	TSA 2	TSA 3	ICP-MS	TSA 1	TSA 2	TSA 3
Al 396.153	144.9	237.3	149.4	Al	132.4	195.8	114.3
B 249.677	-0.133	-0.07	-0.221	B	0.48	0.407	0.124
Ba 455.403	4.87	7.38	4.78	Ba	5.05	7.30	4.49
Be 313.107	-0.022	-0.032	-0.026	Be	0.006	0.010	0.004
Be 313.042	0.026	0.027	0.029	Be	0.006	0.010	0.004
Bi 223.061	-2.36	-2.49	-2.05	Bi	0.025	0.010	0.024
Ca 317.933	1482	2002	1378	Ca	1369	1708	1119
Cd 228.802	0.040	0.083	0.025	Cd	0.032	0.053	0.029
Co 228.616	0.033	0.106	0.102	Co	0.067	0.096	0.070
Cr 267.716	0.655	0.999	0.725	Cr	0.789	1.118	0.760
Cu 324.752	8.154	8.677	8.268	Cu	8.599	8.671	7.664
Fe 259.939	158.8	257.5	162.5	Fe	175.6	260.1	156.9
K 766.490	23.39	50.57	24.15	K	21.05	40.2	18.62
Li 670.784	0.086	0.155	0.090	Li	0.054	0.075	0.042
Mg 279.077	156.9	220.7	147	Mg	144.6	178.6	112.3
Mn 257.610	5.275	8.779	5.213	Mn	5.359	8.263	4.705
Mo 202.031	0.054	0.093	-0.0002	Mo	0.149	0.163	0.131
Na 589.592	137.3	291.6	129.8	Na	119.7	217.8	95.14
P 213.617	178.4	188.6	178.5	P	173.2	162.5	138.1
Pb 220.353	1.976	2.355	1.535	Pb	2.138	2.341	1.505
S 181.975	47730	46650	47980	S	54950	49430	47440
S 180.669	47260	46240	47730	S	54950	49430	47440
Sr 407.771	5.747	8.24	5.306	Sr	6.024	8.255	5.028
Ti 334.940	3.874	5.791	4.114	Ti	4.059	6.225	3.656
V 311.071	0.323	0.546	0.347	V	0.481	0.646	0.428
Zn 206.200	160	163.7	161.4	Zn	158	153.9	140.6

Amostra de referência

Elemento	Massa	NCSDC 73347a (Godoy 26-11)	NCSDC 73347a (Inmetro)	NCSDC 73347a (godoy 30-10)	NCS DC 73347a_19-01- 21
Li	7	0.511	0.49	0.377	0.6821
Be	9	0.061	0.080	0.056	0.074
B	11	0.672	0.41	0.056	1.603
Na	23	55.240	83.5		64.56
Mg	24	67.780	107.0	52.280	77.95
Mg	25	59.040	106.4	65.780	78.03
Al	27	806.400	2267	789.300	863.7
P	31		132.5		121
S	34	40980.000	50141	45540.000	45110
K	39	5.900	1.44	4.823	6.971
Ca	43	1067.000	1134	975.700	1009
Ca	44	1104.000	2191	988.000	1117
Sc	45	0.060	0	0.078	0.1682
Ti	47	0.321	0.83	0.697	0.3483
V	51	0.567	0.380	0.448	0.463
Cr	53	0.283	0.712	0.317	0.191
Mn	55	1.69	1.88	1.86	1.49
Fe	57	35.88	51.16	53.32	50.02
Co	59	0.026	0.024	0.025	0.000
Ni	60	0.209	0.176	0.222	0.1638
Cu	65	12.660	13.34	11.540	11.52
Zn	66	137.300	145.0	113.600	104.4
Ga	69	0.698	0.77	1.337	0.614
Ge	74	0.018	0.003	0.013	0.00363
Se	82	0.702		0.571	
Sr	88	7.870	7.07	6.409	6.472
Mo	98	0.216	0.182	0.040	0.1517
Pd	105	0.134	0.29	0.087	0.1192
Ag	107	0.075		0.078	0.0867
Cd	114	0.077		0.067	0.06806
Sn	118	0.091	0.21	0.201	
Sb	121	0.070	0.095	0.068	0.05648
I	127			0.989	0.7976
Ba	137	12.940	13.60	10.020	11.3
Au	197	0.000	0.005	0.005	0.00303
Hg	202	0.568		0.507	
Tl	205	0.008	0.006	0.007	0.00992
Pb	208	6.837	5.61	5.149	6.134
Bi	209	0.023	0.021	0.018	
Th	232	0.063	0.058		0.05912
U	238	0.118	0.122	0.079	0.1055

Elemento	Massa	ERM-DB001 (Godoy 26*11)	ERM-DB001 INMETRO	ERM-DB001 (godoy 30-10)	ERM-DB001 _19-01-21
Li	7	0.007		0.004	0.0071
Be	9	0.002	0	0.001	0.00332
B	11	0.068	0	0.001	0.465
Na	23	4.094	2.71	-0.052	5.741
Mg	24	42.140	69.4	4.004	46.96
Mg	25	36.360	67.5	37.430	44.8
Al	27	12.460	15.52	9.667	11.5
P	31	69.430	140.1	62.220	126.4
S	34	45430.000	59074	46900.000	49400
K	39	1.577	0	0.875	3.277
Ca	43	898.400	996	742.900	830.7
Ca	44	923.000	1083	758.500	931.9
Sc	45	0.038	0	-0.008	0.1434
Ti	47	56.700	49.4	49.250	43.83
V	51	0.339	0.127	0.233	0.266
Cr	53	0.431	0.76	0.326	0.2941
Mn	55	0.504	0.47	0.360	0.3761
Fe	57	49.190	19.74	23.570	38.76
Co	59	0.090	0.101	0.071	0.05091
Ni	60	0.617	0.68	0.581	0.4946
Cu	65	34.430	33.5	25.020	29.06
Zn	66	209.000	338	156.200	154.8
Ga	69	0.034	0.040	0.072	0.02522
Ge	74	0.022	0	0.014	0.01351
Se	82	4.126		2.310	4.304
Sr	88	2.138	2.35	1.869	1.921
Mo	98	0.049	0.050	0.040	0.04236
Pd	105	0.001	0.003	0.002	0.00465
Ag	107	0.295	0.42	0.296	0.2906
Cd	114	0.131			0.09533
Sn	118	0.271	14.95	16.500	0.2783
Sb	121	0.092	0.152	0.088	0.06167
I	127	0.692	0	0.737	1.027
Ba	137	0.915	0.94	0.593	0.7988
Au	197	0.003	0.014	0.007	0.00572
Hg	202	0.349	0.31	0.325	0.2938
Tl	205	0.001	0.0004	0.001	0.00064
Pb	208	2.436			2.063
Bi	209	0.010	0.014	0.009	-0.00521
Th	232	0.005	0.0007	0.001	0.00123
U	238	0.010	0.012	0.007	0.0045