





# Otimização e Validação de Metodologia Analítica para Determinação de As, Cd, Pb e Hg em Matriz Sangue por Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)

## *Optimization and Validation of an analytical methodology for the Determination of As, Cd, Pb and Hg in Blood Matrix by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS)*

Santos Alves Vicentini Neto,<sup>a\*</sup>  Lisia Maria Gobbo dos Santos,<sup>a</sup>  Cristiane Barata Silva,<sup>a</sup> Mayssa Andrade Fonseca,<sup>a</sup>  Carolina Duque Magalhães,<sup>a</sup>  Silvana do Couto Jacob<sup>a</sup> 

<sup>a</sup>Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde -INCQS/Fiocruz, Departamento de Química, Setor de Elementos Inorgânicos, CEP 21040-900, Rio de Janeiro - RJ, Brasil.

\*E-mail: [santos.neto@incqs.fiocruz.br](mailto:santos.neto@incqs.fiocruz.br)

Recebido em: 15 de Janeiro de 2021

Aceito em: 16 de Novembro de 2021

Publicado online: 22 de Março de 2022

The disorderly growth of cities has caused an environmental pollution problem. Recent studies show concern about the emission and deposition of metals in urban centers, thus, there is a risk of population contamination by elements that are proven harmful to health, such as As, Cd, Pb and Hg. The control of human contamination is done through products intended for human consumption, there is no population biomonitoring program, which could be an instrument to guide measures to prevent and promote collective health. Since human blood is an important biomarker and the analytical validation is one of the main instruments of quality assurance, this study intends to optimize and to validate an analytical methodology for determination of As, Cd, Pb and Hg in blood. Analyzes were performed in the INCQS and the quantification technique was ICP-MS. Accuracy, as assessed by the recovery test, was between 80-120% and a maximum deviation of 10%. All validation parameters presented values consistent with those established by INMETRO in the concentration range studied. The analytical methodology has been shown to be sensitive, specific, linear in the working range and good accuracy and precision were achieved, being adequate to quantify these elements in blood samples.

**Keywords:** ICP-MS; inorganic contaminants; validation; human biomonitoring.

## 1. Introdução

Motivado pela constante e histórica busca pelo conforto, o processo de urbanização e modernização das cidades trouxe riscos à humanidade. A atividade humana é a responsável pela emissão e conseqüentemente pela introdução de diversas substâncias tóxicas no meio ambiente, fato que se agrava quando esse processo de desenvolvimento não ocorre de forma sustentável.<sup>1</sup> Fatores como, a impermeabilização dos solos, o próprio asfalto, a emissão de partículas pelo uso de combustíveis fósseis, a atividade industrial, contribuem para o aumento da contaminação do ambiente, tornando a população exposta, seja pelo ar que respira, pela água ou alimentos que ingere.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 25% das doenças que acometem a população da América Latina podem ser provenientes das condições, fatores ou agentes relacionados ao ambiente.<sup>2</sup> Com isso, a população está ambientalmente exposta a diferentes tipos de substâncias, dentro dessas substâncias tóxicas, destacam-se alguns metais como As, Cd, Pb e Hg, cuja presença nos organismos vivos em quantidades mínimas pode resultar desordens fisiológicas indesejadas.

Os efeitos tóxicos do Pb já são observados há mais de 100 anos<sup>3</sup> e estudos relatados pela *Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)* mostram que a exposição a níveis baixos (< 10 µg L<sup>-1</sup> de sangue materno) podem influenciar negativamente o crescimento fetal, incluindo peso e comprimento ao nascer e nascimento prematuro, além disso o Pb e o Hg podem estar associados ao transtorno do déficit de atenção, hiperatividade (TDAH) e ao autismo.<sup>4</sup> Outros contaminantes que se destacam pela toxicidade são o As e o Cd considerados carcinogênicos pela *Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)*.<sup>4,5</sup>

A biomonitorização humana vem sendo utilizada como uma ferramenta para políticas públicas em saúde ambiental, pois fornece informações valiosas não só do ambiente externo, mas, também, sobre o nível de contaminação dos indivíduos.<sup>6</sup> Dentre os diferentes indicadores

biológicos, também, chamados de biomarcadores, podemos citar o sangue, soro, urina, cabelo, entre outros.

O objetivo do presente estudo foi otimizar e validar metodologia analítica para determinação de As, Cd, Pb e Hg em matriz sangue usando a Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS), que servirá para impulsionar futuros programas de biomonitorização visando o estabelecimento da concentração basal de As, Cd, Pb e Hg na população sem exposição ocupacional de modo a ampliar o conhecimento científico em ações pontuais e apoiar políticas de saúde e ambiente na promoção da qualidade de vida da população.

## 2. Materiais e Método

### 2.1. Reagentes e Soluções

Os reagentes utilizados no preparo das soluções foram de grau analítico com água deionizada, produzida com um sistema Milli-Q® (Bedford, MA, EUA). A partir de padrões estoque monoelementar de As, Cd e Pb contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> e de Hg de 10 mg L<sup>-1</sup> (Sigma Aldrich) foi preparada uma solução intermediária multielementar com concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> e a partir dessa solução foi preparada uma segunda solução mais diluída contendo 10 µg L<sup>-1</sup> de cada elemento. As curvas de calibrações foram preparadas por meio de diluições sucessivas a partir da solução de 10 µg L<sup>-1</sup>. Como padrão interno foi utilizado solução de ródio de 1000 mg L<sup>-1</sup> (Merck, Alemanha), e no preparo das amostras foi usado ácido nítrico supra puro 65% (p/v) (Merck, Alemanha).

Para validação da metodologia uma mistura (*pool*) de amostras de sangue de diferentes doadores foi preparada e usada. As amostras usadas para preparar o *pool* foram obtidas através do piloto do “Projeto Infância e Poluentes Ambientais” (PIPA) coordenado pela UFRJ em parceria com a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). O estudo foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade - Escola da UFRJ (Parecer número: 2.092.440) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz (Parecer número 2.121.397). Além desse *pool* foi utilizado material de referência Certificado (MRC) NIST SRM 955<sub>C</sub> de sangue de caprino.

### 2.2. Equipamento

Os experimentos foram realizados em um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) modelo NexION 300D (Perkin Elmer, EUA). Gás argônio com pureza mínima de 99,996% foi fornecido pela White Martins (São Paulo, Brasil) e utilizado como gás carreador e gerador do plasma. As condições operacionais do ICP-MS foram: 1400W de potência de radiofrequência, fluxo no nebulizador de 1 L min<sup>-1</sup>, fluxo do gás auxiliar de 1,1 L min<sup>-1</sup>, fluxo de argônio (plasma) de 17 L min<sup>-1</sup>. A avaliação diária

de desempenho do instrumento foi feita utilizando uma solução padrão contendo uma mistura de elementos na concentração final de 1 µg L<sup>-1</sup> (Be, Ce, Fe, Na, Li, Mg, Pb) e os resultados foram comparados com os parâmetros fornecidos pelo fabricante.

De modo a minimizar possíveis interferências não espectrais de efeito físico causadas pela análise de mercúrio, uma solução padrão de ouro (Au) 1 mg L<sup>-1</sup> foi utilizada para limpeza do sistema entre as análises.

Além da interferência na análise de mercúrio sabe-se que a presença de Cl<sup>-</sup> com o Ar<sup>+</sup> formam a espécie ArCl<sup>+</sup>, que pode influenciar diretamente na medida de intensidade do As. Para avaliar esta interferência, 7 soluções com diferentes fatores de diluição do Pool foram analisadas e para o cálculo final aplicou-se a equação de correção (equação 1), conforme descrito na literatura.<sup>7</sup>

$$I(^{75}\text{As}) = I(\text{total}^{75}) - [I(\text{total}^{77}) \times ab(^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl})] \quad (1)$$

onde: i = intensidade; ab = abundância.

### 2.3. Amostragem e preparação das amostras

Para escolha da metodologia mais adequada para o preparo das amostras, dois procedimentos diferentes foram utilizados para digerir o NIST SRM 955<sub>C</sub> e o *pool*: digestão ácida em micro-ondas e digestão ácida em banho-maria. Em todos os procedimentos, foram preparados ensaios em branco concomitantemente com as amostras.

#### 2.3.1. Digestão ácida em micro-ondas

Foram pipetados 0,1 mL de amostra e 4,9 mL de solução de HNO<sub>3</sub> 10% Suprapur® nos frascos de teflon com tampa rosqueável específicos. A digestão foi realizada em forno de micro-ondas, modelo speed wave (Berghof) a uma pressão máxima de 50 bar e temperatura máxima de 180 °C, por aproximadamente 30 min. Após a digestão, as soluções foram transferidas para frascos de polipropileno graduado e avolumadas para 10 mL com água deionizada.<sup>8</sup>

#### 2.3.2. Digestão ácida em bloco digestor

Foram pipetados 0,1 mL de amostra e 4,9 mL de solução de HNO<sub>3</sub> 10% (v/v) Suprapur® em um tubo de polipropileno de fundo cônico de 15 mL, do tipo Falcon. O procedimento foi realizado no banho-maria à uma temperatura máxima de 80°C por aproximadamente 2 h. Após a digestão, as soluções foram avolumadas para 10 mL com água deionizada.<sup>9</sup>

### 2.4. Validação do método

A validação da metodologia aborda sete parâmetros analíticos descritos no documento de orientação sobre Validação de Métodos Analíticos do INMETRO (DOQ-CGCRE-008) e Norma ISO 17025: especificidade e seletividade, faixa de trabalho, linearidade, sensibilidade, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão.<sup>10,11</sup>

A seletividade foi avaliada através da adição padrão e a linearidade da curva foi comprovada através de testes estatístico de acordo e Bazílio *et al.* (2012).<sup>12</sup> A faixa de trabalho variou em função dos elementos determinados e do limite de quantificação.

O LOD (limite de detecção) e o LOQ (limite de quantificação) foram obtidos através de dez leituras independentes da solução branco contendo água, padrão interno e ácido nítrico 1%. Com os resultados foram calculados a média e o desvio padrão e os limites foram calculados conforme orientação do INMETRO com grau de confiança de 99%.<sup>13</sup> A exatidão e a precisão foram avaliadas utilizando material de referência NIST SRM 955<sub>C</sub> e o pool, sendo o critério de aceitação para recuperação de 80-120% e o desvio padrão relativo (% RSD) 20% para cada elemento estudado.<sup>10,11</sup>

## 2.5. Análises estatísticas

A estatística descritiva foi realizada no programa Microsoft Excel®, Software 2010, incluindo média aritméticos, mediana, desvio padrão (SD), teste t de Student com nível de confiança de 95% e análise de variância (ANOVA). Além disso, a incertezas de medição para determinação foi estimada pelo modo “bottom-up, onde foram consideradas as incertezas combinadas final de todas as etapas do procedimento analítico: preparação da amostra, preparação de padrões, curva analítica e a incerteza associada a repetibilidade da metodologia que está associada a efeitos aleatório e foi medido a partir de experimentos repetidos e quantificada pelo desvio padrão da resposta.<sup>14,15</sup> Uma vez que foi calculada as incertezas combinadas finais e definido o fator de abrangência k (k=2) para um nível de confiança 95% foi calculada a incerteza expandida final.<sup>13</sup>

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Procedimento de preparo das amostras

Inicialmente determinou-se o melhor método de preparo de amostras através dos parâmetros precisão e exatidão obtidas pelas duas técnicas, micro-ondas e bloco digestor banho de água aquecida. Os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Os resultados do ensaio de exatidão com o NIST SRM 955<sub>C</sub> para As (175%) e Hg (154%), e do ensaio de precisão para Hg (26%) utilizando a metodologia de preparo por micro-ondas, ficaram acima da faixa aceitável que vai de 40 - 120% para recuperação e até 15% para precisão.<sup>10</sup> Embora essa metodologia seja muito utilizada com sucesso no preparo de diferentes tipos de amostra,<sup>8</sup> no presente trabalho os resultados levantam um questionamento quanto ao seu uso em amostras biológicas. A metodologia de preparo em bloco digestor apresentou valores aceitáveis para recuperação e precisão, demonstrando ser a metodologia de preparo mais adequada para a matriz estudada. Estes resultados corroboram com outros estudos, que também utilizaram essa metodologia para o preparo de amostras.<sup>9</sup>

### 3.2. Validação da metodologia

#### 3.2.1. Seletividade

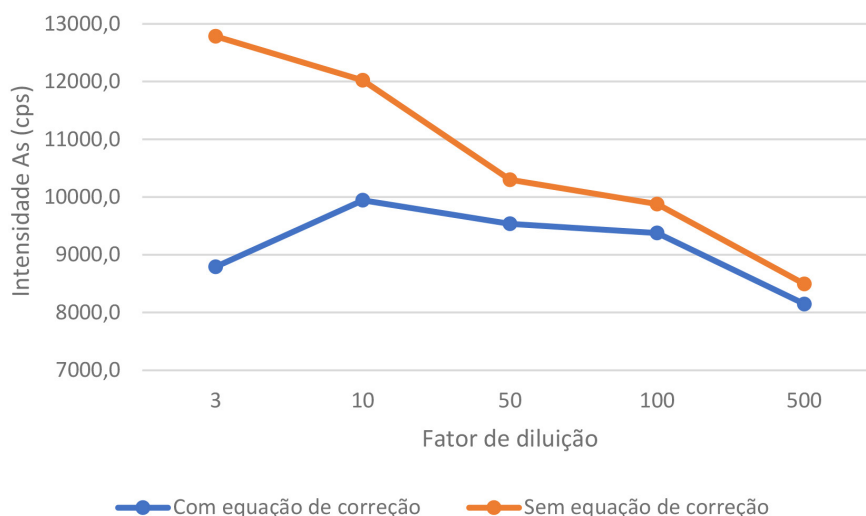
Inicialmente, foi avaliada a interferência do cloro sobre a quantificação do arsênio nas amostras biológicas. A Figura 1 representa graficamente as intensidades observadas para soluções *pool* com diferentes diluições sem e com a aplicação da equação de correção. Nota-se que a intensidade do As não sofre a mesma alteração na presença de Cl<sup>-</sup>, observando-se uma variação de aproximadamente 10% entre a amostra mais diluída (fator de diluição 500x) e a mais concentrada (fator de diluição 3x).

Este estudo mostra que o uso da equação de correção fornece uma resposta mais exata para os resultados de As nas amostras de sangue, quando os fatores de diluição variam de 3 a 500 vezes. De acordo com a literatura científica, o método mais indicado para correção desse tipo de interferência seria a utilização da célula de reação (DRC).<sup>7</sup> Embora esta técnica fosse mais efetiva, ela demandaria um maior tempo e aumentaria muito o custo da análise devido ao uso de outras fontes de gás. Nesse estudo, com o uso da equação de correção foi possível minimizar o efeito de interferência causado pela presença de Cl<sup>-</sup> nas amostras de sangue analisadas.<sup>7</sup>

Através do estudo de comparação da calibração com adição padrão e calibração externa observamos que as inclinações e interseções das curvas são estatisticamente iguais, através do teste t de Student, com um nível de confiança de 95%.<sup>10</sup>

**Tabela 1.** Resultados obtidos para NIST SRM 955<sub>C</sub>, preparadas por micro-ondas e banho-maria com Rh (10 µg L<sup>-1</sup>), como padrão interno, e analisadas por ICP-MS (n = 7)

	Valor certificado (µg L <sup>-1</sup> )	Valor obtido (µg L <sup>-1</sup> )		Precisão (%)	
		Micro-ondas	Bloco Digestor	Micro-ondas	Bloco Digestor
As	78,8± 4,9	137,0 ± 9,0	87,0 ± 4,0	10,0	5,0
Cd	10,3± 0,1	6,6 ± 0,6	6,3 ± 0,5	10,0	8,0
Pb	455,3± 0,3	3,9 ± 0,2	4,2 ± 0,3	4,0	6,0
Hg	35,5± 2,0	54,0 ± 14,0	36,0 ± 4,0	26,0	10,0



**Figura 1.** Equação de correção de intensidade para As em relação ao volume de amostra adicionado

### 3.2.2. Linearidade, Limite de Detecção e Quantificação

A faixa de trabalho foi definida levando-se em consideração o mais alto LOQ obtido, que foi de  $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$  para o Pb. A linearidade foi comprovada com auxílio da planilha intitulada “Planilha para Avaliação de Premissas” elaborada por Bazilio *et al.* (2012). Além disso, o coeficiente de correlação linear próximo a 1 é um bom indicativo do quanto a reta pode ser considerada adequada ao modelo matemático estudado.<sup>10</sup> A Tabela 2 apresenta os parâmetros analíticos, faixa de trabalho, equação da reta e LOD e LOQ, do método estudado.

### 3.2.3. Precisão e Exatidão

Para avaliar a exatidão do método e a precisão foi utilizado Nist SRM 955<sub>C</sub> e estudo da recuperação por meio da análise de soluções-amostra com adição  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$  de Pb,

Cd, As e Hg.<sup>10</sup> A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos para a exatidão e a precisão (%RSD) do método obtidos usando amostra fortificada com padrão, respectivamente.

Os resultados obtidos para a exatidão do método estão dentro da faixa aceitável (40-120%), relacionada ao nível de concentração de trabalho<sup>10</sup> e através do teste-t de students com graus de confiança de 95%, podemos concluir que os valores certificados e os valores obtidos são estatisticamente iguais.

### 3.2.4. Incerteza do método

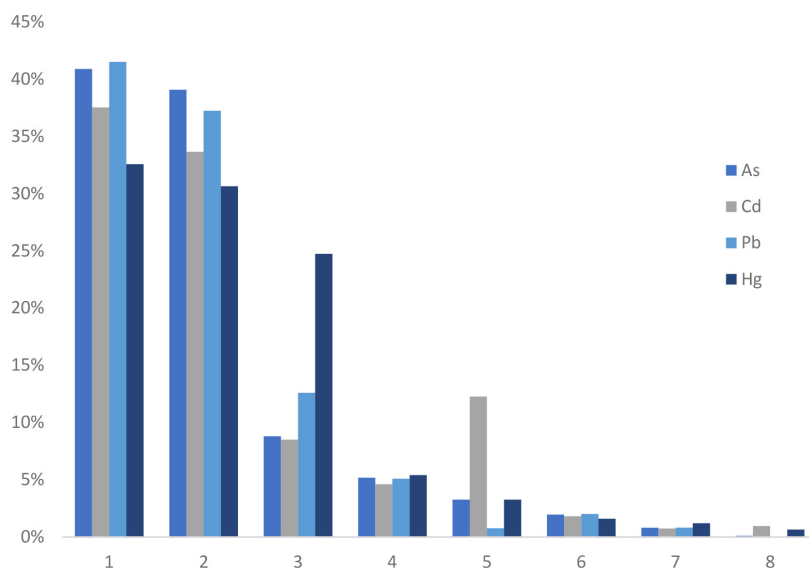
Observou-se que o fator que mais influencia o aumento do valor de incerteza é o preparo dos padrões  $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$  que contribui com 37% e o padrão  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  que contribui com 33%, seguida da curva de calibração (12%), repetitividade do processo (10%) e o preparo dos padrões  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$  (5%),

**Tabela 2.** Limite de detecção, limite de quantificação em  $\mu\text{g L}^{-1}$ , equação da reta e coeficiente de correlação linear obtidos na validação do método por ICP-MS

Elemento	LOD	LOQ	Faixa de trabalho	Equação da reta	r
As	0,003	0,01		$Y = 0,0072X + 0,004$	0,9996
Cd	0,002	0,006	$0,05 - 0,1 - 0,5 - 1 - 2,5$	$Y = 0,009X + 0,0002$	0,9995
Pb	0,016	0,05		$Y = 0,110X + 0,0056$	0,9996
Hg	0,007	0,02		$Y = 0,018X + 0,0005$	0,9980

**Tabela 3.** Exatidão e precisão do método expressas pelo ensaio com NIST SRM 955<sub>C</sub> e pelo ensaio de adição de padrão e desvio padrão relativo (%RSD) (n = 7)

		Valor certificado	Valor obtido ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) $\pm$	Recuperação	RSD
		( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio padrão	(%)	(%)
NIST SRM 955 <sub>C</sub>	As	78,8 $\pm$ 4,9	85,8 $\pm$ 4,3	109	5
	Cd	10,3 $\pm$ 0,1	6,4 $\pm$ 0,5	63	8
	Pb	455,3 $\pm$ 0,3	418,1 $\pm$ 20,0	92	6
	Hg	35,5 $\pm$ 2,0	34,4 $\pm$ 3,1	97	9
Amostra com adição		Valor adicionado	Valor obtido ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) $\pm$	Recuperação	RSD
		( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio padrão	(%)	(%)
	As	0,5	0,61 $\pm$ 0,02	119	3
	Cd	0,5	0,49 $\pm$ 0,03	98	6
	Pb	0,5	0,62 $\pm$ 0,09	120	15
Hg	0,5	0,623 $\pm$ 0,006	120	1	



**Figura 2.** Contribuição percentual das fontes de incerteza para o cálculo de estimativa de incerteza de cada elemento. Legenda: 1- Preparo do padrão; 2- Preparo do padrão; 3- Repetitividade do processo; 4- Preparo do padrão; 5- Curva analítica; 6- Preparo do padrão; 7- Preparo do padrão; 8- Preparo da amostra

$1 \mu\text{g L}^{-1}$  (1,2%),  $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$  (0,8%). Isto acontece devido ao valor de incerteza das pipetas automáticas e à concentração inicial dos padrões estoque utilizados, que torna necessária uma série de diluições, magnificando assim o erro da medida. À medida que a faixa de trabalho torna-se mais baixa, a dificuldade de medição aumenta, visto que os erros de medidas dos instrumentos passam a ter um peso maior, dessa forma, é comum encontrar valores de incerteza mais altos ao se trabalhar em níveis de  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Ulrich *et al.* (2006) estimaram a incerteza em amostras biológicas para As, Cd, Pb e Hg em 74, 58, 30 e 50 %, respectivamente.<sup>16</sup> A Incerteza padrão expandida calculada para as determinações de As, Cd, Pb e Hg foi respectivamente, 22%, 24%, 23% e 35%. A Figura 2 apresenta as influências de cada fonte de incerteza no cálculo da incerteza para cada elemento.

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

A metodologia analítica validada foi aplicada para analisar as amostras provenientes do projeto PIPA. Foram analisadas 118 amostras de sangue materno (gestante) e 123 amostras de sangue de cordão umbilical, totalizando 241 amostras, conforme descrito por Araujo (2019) e Figueiredo (2020).<sup>17,18</sup>

## 4. Conclusão

Pelo estudo realizado, o método de preparo de amostra de sangue por digestão ácida em bloco digestor mostrou-se eficiente e pode ser utilizado em substituição ao método convencional de preparo por micro-ondas, proporcionando um ganho em quantidade de amostras a serem preparadas em cada batelada.

A validação da metodologia abordou a avaliação da especificidade e seletividade, linearidade e faixa de trabalho, limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), exatidão, precisão e incerteza do método. O LOD e LOQ obtidos foram, respectivamente:  $0,003$  e  $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$  para o As,  $0,002$  e  $0,006 \mu\text{g L}^{-1}$  para o Cd,  $0,016$  e  $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$  para o Pb,  $0,007$  e  $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$  para o Hg. A faixa de trabalho definida para todos os elementos foi:  $0,05 - 0,1 - 0,5 - 1 - 2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ . O ensaio de exatidão utilizando material de referência certificado apresentou resultados satisfatórios, entre 92 e 120 %, com precisão inferior a 10 % para todos os analitos. A incerteza do método calculada como incerteza padrão expandida foi de 22% para o As, 24% para o Cd, 23% para o Pb e 35% para o Hg.

Sendo assim, a metodologia otimizada e validada no presente trabalho mostrou-se apta para determinar As, Cd, Pb e Hg em sangue por Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado, possibilitando sua aplicação a diferentes estudos de biomonitorização humana de modo a apoiar política na área de saúde e ambiente.

## Agradecimentos

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

## Referências bibliográficas

1. Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil 2018/2019. São Paulo, 2019. Disponível em: <<http://abrelpe.org.br/panorama/>>. Acesso em: 4 janeiro 2021.

2. Pruss-ustun, A.; Corvalan, C.; Preventing disease through health environments: towards an estimate of the environmental burden of disease. Disponível em: <[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204585/9789241565196\\_eng.pdf;jsessionid=3C773FB739C445860D8802405C657B9F?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204585/9789241565196_eng.pdf;jsessionid=3C773FB739C445860D8802405C657B9F?sequence=1)>. Acesso em: 4 janeiro 2021.
3. Juruena, M. F. P.; Exposição ao chumbo: consequências neuropsiquiátricas e comportamentais. *Medicina* **2009**, 28, 296. [CrossRef]
4. Sítio da Agency for Toxic Substances and Disease Registry (U.S.A.). U.S. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/>>. Acesso em: 4 janeiro 2021.
5. Deschamps, E.; Maschullat, J.; *Arsênio antropogênico e natural: um estudo em regiões do quadrilátero ferrífero*, Fundação Estadual do Meio Ambiente: Belo Horizonte, **2007**.
6. Kuno, R.; *Tese de Doutorado*, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2009. [CrossRef]
7. Taylor, H. E.; *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. Practices and Techniques*. Academic Press, **2001**.
8. Santos, L. M. G.; Iozzi, G. M.; Vicentini Neto, S. A.; Jacob, S. C. Evaluation of the Elemental Impurities of the Drug Captopril Marketed Commercialized in Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Virtual de Química* **2018**, 10, 698. [CrossRef]
9. Soldá, N.; *Dissertação de Mestrado*, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 2011. [CrossRef]
10. Sítio do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Disponível em: <[http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc\\_organismos.asp?torganismo=calibensaios](http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?torganismo=calibensaios)>. Acesso em: 4 janeiro 2021.
11. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR ISO/IEC 17025; Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibrações. Rio de Janeiro, Brasil; **2017**.
12. Bazilio, F. S.; Bomfim, M. V. J.; Almeida, R. J.; Abrantes, S. M. P.; Uso de planilha eletrônica na verificação da adequação de curva analítica ao modelo linear. *Revista Analytica* **2012**, 59, 60. [Link]
13. Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C.; Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. *Química Nova* **2004**, 27, 771. [CrossRef]
14. Magnusson, B.; Örnemark, U.; Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Disponível em: <<https://eurachem.org/index.php/publications/guides/mv>>. Acesso em: 4 janeiro 2021.
15. La Cruz, M. H. C.; Rodrigues, J. M.; Couto, P. R. G.; da Cunha, V. S.; Estimativa da incerteza de medição em análise cromatográfica: abordagem sobre a quantificação de carbamato de etila em cachaça. *Química Nova* **2010**, 33, 1578. [CrossRef]
16. Ulrich, J. C.; Sarkis, J. E. De S.; Kakazu, M. H.; Nascimento, R. M. L.; Estimativa de Incerteza Associada à Determinação Simultânea de As, Cd, Hg, Pb em Amostras de Urina Usando HRICP-MS. Disponível em: <<https://www.ipen.br/biblioteca/variosanos/17772>>. Acesso em: 4 janeiro 2021.
17. Araujo, M. S. De A.; Figueiredo, N. D.; Camara, V. M.; Asmus, C. I. R. F. Maternal-child exposure to metals during pregnancy in Rio de Janeiro city, Brazil: The Rio Birth Cohort Study of Environmental Exposure and childhood Development (PIPA Project). *Environmental Research* **2020**, 183, 109155. [CrossRef] [PubMed]
18. de Figueiredo, N. D.; Araújo, M. S.; Luiz, R. R.; Câmara, V. M.; Jacob, S. C.; Santos, L. M. G.; Vicentini, S. A.; Asmus, C. I. R. F.; Metal mixtures in pregnant women and umbilical cord blood at urban populations—Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Science and Pollution Research* **2020**, 27, 40210. [CrossRef]