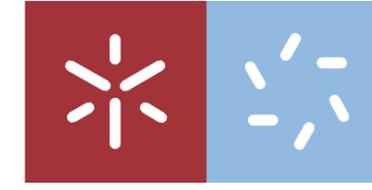




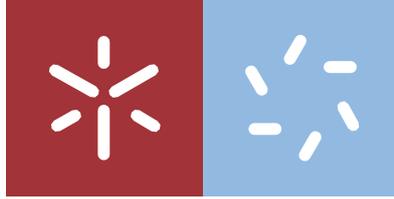
Diana Correia Lopes Ferreira

**Validação do método para a determinação de metais pesados em solos agrícolas e corretivos orgânicos utilizando a água régia**

Universidade do Minho  
Escola de Ciências







Universidade do Minho  
Escola de Ciências

Diana Correia Lopes Ferreira

**Validação do método para a determinação de metais pesados em solos agrícolas e corretivos orgânicos utilizando água régia**

**Dissertação de Mestrado**

Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química

Trabalho efetuado sob a orientação do(a)

**Doutor Alan Evans e da Professora Doutora Paula de Almada Faria de Bettencourt Estevão**

## DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.



**Atribuição-NãoComercial-SemDerivações**  
**CC BY-NC-ND**

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

## **AGRADECIMENTOS**

Quero especialmente agradecer ao laboratório A2 Análises químicas, em particular ao Dr. Alan e à Dr. Ângela pela oportunidade de desenvolver este projeto com todo o equipamento e material necessário à sua execução e ainda por toda a disponibilidade e conhecimento passado ao longo dos 9 meses de estágio.

Agradecer à minha orientadora, Professora Doutora Ana Paula Bettencourt, pela competência científica e acompanhamento, pela disponibilidade e generosidade revelada ao longo de todo o trabalho, assim como pelas críticas, correções e sugestões relevantes feitas durante a orientação.

A todas as colegas de trabalho, em especial à Joana, Beatriz, Sara e Catarina por disponibilizar do seu tempo para me ensinar, pela disponibilidade prestada sempre que necessário e ainda a companhia e carinho demonstrado.

Um agradecimento especial ao meu Pai e à minha Mãe, pelo apoio em todos os momentos, pelo incentivo e ajuda em alcançar os meus objetivos.

À minha irmã, pela ajuda, apoio e proteção incondicional. Obrigada por acreditares em mim e no meu trabalho. Não esquecendo o Artur por toda a companhia enquanto realizava este trabalho.

Ao Francisco, pelo carinho, por todo o apoio nos momentos mais difíceis, pela presença ao longo destes anos e não me deixar desistir dos meus sonhos, lutando comigo para os conseguir alcançar.

Por último, gostaria de agradecer os meus colegas de mestrado Colgate, Manel, Nuno, Guidinha, Paula, Diogo, e à família "Pullum" por tornarem esta jornada muito mais calorosa e feliz. Obrigada por todos os momentos e sorrisos partilhados.

A todos estes, e a todos aqueles que aqui não foram referidos, um grande obrigado.

## **DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE**

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

## RESUMO

Validação do método para a determinação de metais pesados em solos agrícolas e corretivos orgânicos utilizando água régia

A sociedade depende da terra para fornecer bens e matérias-primas essenciais para a sobrevivência e o desenvolvimento. A crescente contaminação dos solos com metais pesados representa um desafio ambiental importante. A poluição do solo por metais pesados é uma preocupação ambiental significativa devido aos efeitos prejudiciais que esses poluentes podem ter na saúde humana, na biodiversidade e no ecossistema.

O conhecimento das propriedades físico-químicas e a análise dos solos de modo a quantificar a concentração destes elementos torna-se uma necessidade devido à constante interação entre o Homem e o solo. O resultado obtido neste estudo indica o “total” de cada elemento analisado na amostra de solo ou corretivo agrícolas e deve ser comparado com a legislação nacional. Os valores dos limites máximos estipulados para os metais pesados no caso dos solos estão estabelecidos no Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro e no Decreto-Lei nº 185/2022 de 21 de julho no caso dos corretivos agrícolas.

O presente trabalho teve como objetivo a validação de um método de determinação de metais pesados em solos agrícolas e corretivos orgânicos implementado pela empresa A2 Análises Químicas, Lda baseado na norma ISO 12914:2012 para solos e na ISO:54321:2020 para corretivos orgânicos. O método utiliza a técnica de extração a digestão por micro-ondas com água régia e como técnica de quantificação a espectroscopia de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)

O método de análise para os metais em estudo, cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), níquel (Ni) e zinco (Zn) e apresenta um bom desempenho, alta seletividade, boa linearidade para amostras de solos e corretivos orgânicos. O método é preciso, em condições de repetibilidade (com coeficientes de variação entre 0,068 % e 13 %) e precisão intermédia (com coeficientes de variação entre 0,070 % e 13 %). É exato, obtendo-se recuperações entre 88 % e 98 % e nos ensaios interlaboratoriais o valor de Z-score é inferior a 3.

**Palavras-chave:** Água régia; corretivos orgânicos; digestão; ICP-OES; metais pesados; solo; validação do método

## **ABSTRACT**

Validation of the method for determining heavy metals in organic soils and organic amendments using aqua regia

Society depends on land to provide goods and raw materials essential for survival and development. The increasing contamination of soils with heavy metals represents an important environmental challenge. Soil pollution from heavy metals is a significant environmental concern due to the detrimental effects these harmful substances can have on human health, biodiversity and the ecosystem.

Knowledge of the physical-chemical properties and analysis of soils in order to quantify the concentration of these elements becomes a necessity due to the constant interaction between Man and the soil. The results obtained in this study indicate the “total” of each element analyzed in the soil sample or agricultural amendment and must be compared with national legislation. The values of the maximum limits stipulated for heavy metals in the case of soils are set out in Decree-Law No. 276/2009 of October 2nd and in Decree-Law No. 185/2022 of July 21st in the case of agricultural correctives.

The present work aimed to validate a method for determining heavy metals in organic soils and organic amendments committed by the company A2 Análises Químicas, Lda based on the ISO 12914:2012 standard for soils and ISO:54321:2020 for organic amendments. . The method uses the exhaustion technique, microwave digestion with aqua regia and as a quantification technique, inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES)

The analysis method for the metals under study, cadmium (Cd), lead (Pb), copper (Cu), chromium (Cr), nickel (Ni) and zinc (Zn) and presents good performance, high selectivity, good linearity for soil samples and organic amendments. The method is precise, under conditions of repeatability (with coefficients of variation between 0.068 % and 13 %) and intermediate precision (with coefficients of variation between 0.070 % and 13 %). That's right, we obtained recoveries between 88% and 98 % and in interlaboratory tests the Z-score value is less than 3.

**Keywords:** Aqua regia; digestion; ground; Heavy metals; ICP-OES; organic correctors; validation.

## **Índice**

<b>Agradecimentos.....</b>	<b>ii</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>v</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>vii</b>
<b>Índice de figuras .....</b>	<b>xiii</b>
<b>Índice de tabelas.....</b>	<b>xv</b>
<b>Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos .....</b>	<b>xix</b>
<b>Capitulo-1 Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. A2 Análises Químicas, Lda.....</b>	<b>3</b>
<b>Capitulo-2 Estado da arte.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Solos agrícolas .....</b>	<b>6</b>
<b>2.2. Fertilização das culturas.....</b>	<b>8</b>
<b>2.2.1. Corretivos orgânicos .....</b>	<b>9</b>
<b>2.4. Metais pesados .....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.1. Cádmio .....</b>	<b>15</b>
<b>2.4.2. Cobre .....</b>	<b>16</b>
<b>2.4.3. Chumbo .....</b>	<b>17</b>
<b>2.4.4. Cromo.....</b>	<b>18</b>
<b>2.4.5. Níquel .....</b>	<b>19</b>
<b>2.4.6. Zinco.....</b>	<b>20</b>
<b>2.5. Método de extração de metais pesados de solos e corretivos orgânicos .....</b>	<b>21</b>
<b>2.5.1. Digestão ácida realizada em frascos abertos.....</b>	<b>22</b>
<b>2.5.2. Digestão ácida realizada em frascos fechados.....</b>	<b>22</b>
<b>2.5.2.1. Extração por Micro-ondas .....</b>	<b>23</b>
<b>2.6. Métodos analíticos para quantificação de metais pesados de solos e corretivos orgânicos.....</b>	<b>27</b>

2.6.1. Princípios teóricos da ICP-OES .....	28
2.6.1.1. O plasma.....	30
2.6.1.2. Gerador de radiofrequências.....	32
2.6.1.3. Introdução da amostra .....	32
2.6.1.4. Camara de nebulização .....	33
2.6.1.5. Sistema de deteção e detetores .....	33
2.6.1.6. Interferências em ICP-OES.....	34
2.7. Validação do método analítico.....	35
2.7.1. Garantia de qualidade (QA) e Controlo de Qualidade (CQ) .....	36
Capitulo-3 Parte experimental .....	37
3.1. Material, Equipamento e Reagentes .....	38
3.2. Recolha das amostras de solo .....	40
3.3. Preparação das amostras.....	41
3.3.1. Secagem .....	41
3.3.2. Peneiramento/moagem .....	42
3.4. Extração dos metais pesados .....	43
3.4.1. Estudo para determinar a massa de amostra e o volume final a utilizar .....	45
3.4.2. Estudo para determinar a eficiência da digestão .....	46
3.5. Curva de calibração .....	46
3.5.1. Definição das condições de análise do método .....	47
3.5.2. Preparação dos padrões de calibração.....	47
3.5.3. Controlo da curva de calibração .....	49
3.5.4. Condições de operação do ICP-OES.....	50
3.6. Quantificação dos metais pesados .....	51
Capitulo-4 Resultados e discussão .....	52
4.1. Ensaios prévios .....	53

4.1.1. Estudo das massas e do volume final .....	53
4.1.2. Estudo para avaliar a totalidade da digestão .....	55
4.2. Validação do método.....	57
4.2.1. Curva de calibração .....	57
4.2.2. Linearidade .....	60
4.2.3. Sensibilidade.....	61
4.2.4. Limiares analíticos.....	62
4.2.5. Exatidão.....	64
4.2.5.1. Ensaio de Recuperação .....	64
4.2.5.2. Ensaio Interlaboratoriais.....	66
4.2.6. Precisão .....	68
4.2.6.1. Repetibilidade.....	69
4.2.6.2. Precisão intermédia .....	71
4.2.8. Incerteza do método .....	74
4.2.8.1. Incerteza associada à precisão.....	75
4.2.8.2. Incerteza associada à veracidade/justeza .....	76
4.2.8.3. Incerteza combinada e expandida .....	77
4.2.9. Controlo da qualidade.....	79
Capitulo-5 conclusão.....	82
Conclusão .....	83
Referencias Bibliografia .....	85
Anexos .....	89
Anexo I – Advertências de prudência e perigo .....	90
Anexo 2 – Regressão Ponderada .....	91
Anexo 3 - Equações utilizadas para a curva de calibração .....	92
Anexo 4 - Cartas de Controlo de indivíduos .....	93

<b>Anexo 5 A - Cartas de amplitudes para a amostras de corretivo orgânico (2023-187).....</b>	<b>97</b>
<b>Anexo 5 B - Cartas de amplitudes para a amostras de corretivo orgânico (2023-1181) ....</b>	<b>101</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Empresa A2 Análises Químicas, Lda. Adaptado de [1]. .....	3
<b>Figura 2</b> - Representação esquemática da composição média de um solo. Adaptado de [3]. ..	6
<b>Figura 3</b> - Representação gráfica da distribuição dos elementos químicos na crosta terrestre. Adaptado de [6] [7]. .....	7
<b>Figura 4</b> - Comportamento dos metais pesados no organismo sendo (a) metal essencial e (b) metal não essencial. Adaptado de [16]. .....	13
<b>Figura 5</b> - Ilustração da introdução de calor e distribuição de temperatura numa mistura de reação para a) aquecimento convencionar e b) aquecimento por micro-ondas. Adaptado de [28]. .....	23
<b>Figura 6</b> - Esquema do aquecimento dentro do equipamento de micro-ondas por polarização/rotação dipolar e por condução iónica. Adaptado de [28]. .....	25
<b>Figura 7</b> - Representação esquemática de um forno multimodo, mostrando frascos de decomposição em um rotor, sob ação de radiação micro-ondas espalhada por um refletor rotatório. Adaptado de [35]. .....	25
<b>Figura 8</b> - Representação dos processos de Emissão e Absorção. Na absorção atômica os átomos absorvem parte da luz da fonte e o restante atinge o detetor. Na emissão atômica a luz que atinge o detetor provém da luz que um átomo emite ao passar do estado excitado para o estado fundamental. Adaptado de [41]. .....	28
<b>Figura 9</b> - Esquema geral de um equipamento de ICP-OES e os seus diversos componentes. Adaptado de [42]. .....	29
<b>Figura 10</b> - Processo de formação do plasma na tocha. A) Entrada de argon, B) aplicação de uma corrente elétrica na bobina de radiofrequências (RF) formando o campo eletromagnético oscilante, C) Geração de elétrons livres (bobina tesla), D) efeito cascata e E) Plasma formado. Adaptado de [42]. .....	31
<b>Figura 11</b> - Esquema dos processos de atomização que ocorrem no plasma. Adaptado de [42]. .....	31
<b>Figura 12</b> - Nebulizador concêntrico associado a uma bomba peristáltica. Adaptado de [42]. .....	33

<b>Figura 13</b> - Na figura 13 (a) representação do processo de seleção e divisão em parcelas homogêneas da área de amostragem. Na figura 13 (b) Processo de recolha da amostra com a sonda de aço inoxidável, Adaptado de [53].	41
<b>Figura 14</b> - Representação do processo de preparação das amostras de corretivos orgânicos. (A) amostra devidamente identificada; (B) Processo de secagem das amostras a 105°C;	41
<b>Figura 15</b> - Representação da peneiração das amostras de solo.	42
<b>Figura 16</b> - Representação da preparação das amostras de corretivos orgânicos, processo de trituração das amostras.	43
<b>Figura 17</b> - Digestor micro-ondas utilizada para a extração dos analitos em estudo	43
<b>Figura 18</b> - Etapas do processo de extração dos metais pesados do solo.	44
<b>Figura 19</b> - Espectrofotómetro de emissão ótica com plasma indutivo acoplado utilizado como método de quantificação dos analitos em estudo.	46
<b>Figura 20</b> - Resultados das concentrações dos analitos em estudo em mg/L do material de referência certificado para diferentes comprimentos de onda fornecida pelo software do ICP-OES.	49
<b>Figura 21</b> - Representação gráfica dos espectros obtidos para um branco e os diferentes padrões de calibração do cádmio, para o comprimento de onda 214,4 nm.	50
<b>Figura 22</b> - Curvas de calibração da intensidade de luz emitida (SIR) em função da concentração do metal pesado obtidas por ICP-OES, para os diferentes comprimentos de onda para a) cádmio, b) chumbo, c) cromo, d) cobre, e) níquel e f) zinco.	58
<b>Figura 23</b> - Carta de controlo de amplitudes para amostra de corretivo orgânico (2023-187), para a análise do cádmio por ICP-OES, a 214,4 nm.	72
<b>Figura 24</b> - Carta de controlo de amplitudes para amostra de solo (2023-187), para a análise do cádmio a 214,4 nm.	74
<b>Figura 25</b> - Carta de controlo relativa à análise de um material de referência certificado MP.	80

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Exemplos de parâmetros avaliados na empresa A2 Análises Químicas. ....	3
<b>Tabela 2</b> - Definição de alguns exemplos de fertilizantes, descritos pelo Decreto-Lei n.º 185/2022 de 21 de julho. Adaptado de [8]. ....	8
<b>Tabela 3</b> - Valores limite de concentração de metais pesados nos solos em função do pH em mg/kg de matéria seca. Adaptado de [11]. ....	10
<b>Tabela 4</b> – Valores máximos admissíveis dos teores “totais” de metais pesados nos solos em que se pretenda aplicar a matéria fertilizante. Adaptado de [8]. ....	11
<b>Tabela 5</b> – Valores máximos admissíveis para os teores “totais” de metais pesados na matéria fertilizante com componentes orgânicos, por classe. Os valores são apresentados em mg/kg de matéria seca. Adaptada de [8]. ....	11
<b>Tabela 6</b> – Fontes naturais e antropogénicas de metais pesados para o ambiente. Adaptado de [13]. ....	14
<b>Tabela 7</b> - Ácidos mais utilizadas para a decomposição de amostras sólidas. Adaptado de [28] [29]. ....	21
<b>Tabela 8</b> - Métodos de quantificação de metais pesados descritos na literatura [39] [40] [29]. ....	27
<b>Tabela 9</b> - Materiais de referência certificados (CRM) utilizados para a realização deste trabalho, com as respetivas e marcas, concentração. ....	38
<b>Tabela 10</b> - Material de laboratório utilizado para a realização deste trabalho e respetivas incertezas. A incerteza apresentada para as micropipetas corresponde ao valor indicado pela entidade que fez a respetiva calibração. ....	39
<b>Tabela 11</b> - Equipamento utilizado para a realização do trabalho prático, como indicação das respetivas marcas, modelos e incertezas. ....	39
<b>Tabela 12</b> - Programa de aquecimento utilizado para a digestão por micro-ondas de amostras de solo e corretivos orgânicos. ....	45
<b>Tabela 13</b> - Condições de operação para o estudo das massas e dos volumes da amostra de solo número 2022-11422. ....	45
<b>Tabela 14</b> - Comprimentos de onda escolhidos para cada elemento em estudo. ....	47
<b>Tabela 15</b> – Concentrações das soluções padrão utilizadas para traçar as curvas de calibração. ....	48

<b>Tabela 16</b> – Volumes dos materiais de referência certificados, ácido nítrico e ácido clorídrico utilizadas na preparação da solução padrão 6.....	49
<b>Tabela 17</b> - Volumes da solução padrão 6 utilizada na preparação das soluções padrão 1, 2, 3, 4, e 5.....	49
<b>Tabela 18</b> – Concentração dos metais (em mg/L e mg/kg) obtidos por ICP-OES para a amostra de solo 2022-11422, após digestão com água régia, e a diferença (Dif) em percentagem da concentração para o estudo das massas de amostra (m) e dos volumes finais (V). .....	54
<b>Tabela 19</b> - Massa da amostra de corretivo orgânico (2023-187) utilizada na primeira extração e massa da amostra recuperada (não digerida) por centrifugação e filtração a vácuo utilizada na segunda extração para o estudo da determinação da totalidade da digestão. ....	55
<b>Tabela 20</b> – Concentração dos diferentes metais (em mg/kg) obtidos por ICP-OES para a amostra 2023-187, após a primeira e a segunda digestão com água régia, após recuperação das amostras por centrifugação e por filtração a vácuo.....	56
<b>Tabela 21</b> - Equações das retas de calibração ponderada e respectivos parâmetros ( $r$ , $S_{(y/x)_w}$ , $S_m$ , $CV_m$ ) efetuadas para cada um dos analitos por ICP-OES, aos diferentes comprimentos de onda.....	59
<b>Tabela 22</b> - Resultados do teste de significância (test t) para avaliar a correlação ( $r$ ) para um nível de significância de 0,05.....	61
<b>Tabela 23</b> - Valores de sensibilidade do método para análise dos 6 analitos por ICP-OES.....	62
<b>Tabela 24</b> - Limites de quantificação (LDD) e detecção (LDQ) estimados a partir das retas de calibração traçadas, para a determinação de cada um dos analitos por ICP-OES.....	63
<b>Tabela 25</b> - Resultados dos ensaios de recuperação, R (valores obtidos em cada réplica e valor médio), realizados em uma amostra de corretivo orgânico 2023-187 para os 6 analitos aos diferentes comprimentos de onda. ....	65
<b>Tabela 26</b> - Resultados dos ensaios de recuperação, R (valores obtidos em cada réplica e valor médio), realizados em uma amostra de solo 2023-1181 para os 6 analitos aos diferentes comprimentos de onda. ....	65
<b>Tabela 27</b> - Resultados obtidos nos ensaios interlaboratoriais efetuados para amostras de solo (1, 2, 3 e 4) para análise dos diferentes metais pesados, para avaliação da exatidão do método. ....	67

<b>Tabela 28</b> – Desvio padrão de repetibilidade (Sr), coeficiente de variação de repetibilidade (CVr) e limite de repetibilidade (r) para a análise de 6 réplicas de uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) por ICP-OES.....	69
<b>Tabela 29</b> - Valores do desvio padrão de repetibilidade (Sr), coeficiente de variação de repetibilidade (CVr) e limite de repetibilidade (r), para a análise de 6 réplicas de uma amostra de solo (2023-1181) por ICP-OES. ....	70
<b>Tabela 30</b> - Desvio padrão da precisão intermédia (SI), coeficiente de variação da precisão intermédia (CVI) e limite de precisão intermédia (I), para a análise de 6 analitos de uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) por ICP-OES.....	71
<b>Tabela 31</b> - Desvio padrão da precisão intermédia (SI), coeficiente de variação da precisão intermédia (CVI) e limite de precisão intermédia (I) para a análise de 6 analitos de uma amostra de corretivo orgânico (2023-1181) por ICP-OES.....	73
<b>Tabela 32</b> - Incerteza relativas associada à precisão estimada utilizando a amplitude médias de amostras de corretivo orgânico (2023-187) e de solo (2023-1181) .....	75
<b>Tabela 33</b> – Incerteza relativa associada à veracidade/justeza para uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) e uma amostra de solo (2023-1181) estimada utilizando dados de ensaios de recuperação.....	77
<b>Tabela 34</b> - Incerteza combinada para uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) e uma amostra de solo (2023-1181) estimada utilizando dados da incerteza da precisão (cartas de amplitudes) e dados da incerteza do bias (ensaios de recuperação) .....	78
<b>Tabela 35</b> - Incerteza expandida em percentagem para uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) e uma amostra de solo (2023-1181) estimada utilizando a incerteza combinada e um fator de expansão de 2. ....	79

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS

<b>AAS</b>	Espectroscopia de absorção atômica, do inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
<b>ANOVA</b>	Análise de variâncias
<b>CCD</b>	Carga acoplado, do inglês <i>Charge Coupled Devices</i>
<b>CID</b>	Injeção de carga, do inglês <i>Charge Injection Devices</i>
<b>CQ</b>	Controlo da qualidade
<b>CRM</b>	Materiais de referência certificados, do inglês <i>certified reference material</i>
<b>CVi</b>	Coeficiente de variação de precisão intermédia
<b>CVr</b>	Coeficiente de variação de repetibilidade
<b>ETAR</b>	Estações de tratamento de água residuais
<b>I</b>	Limite de precisão intermédia
<b>ICP-MS</b>	Espectroscopia de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês <i>inductively coupled plasma mass emission spectroscopy</i>
<b>ICP-OES</b>	Espectroscopia de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado, do inglês <i>inductively coupled plasma optical emission spectroscopy</i>
<b>IPAC</b>	Instituto português de acreditação
<b>ISO</b>	<i>International Organization for Standardization</i>
<b>LDD</b>	Limite de deteção
<b>LDQ</b>	Limite de quantificação
<b>MP</b>	Controlo da curva de calibração para metais pesados
<b>PDA</b>	Matriz de fotodiodos, do inglês <i>Photodiode Array</i>
<b>PFA</b>	Politetrafluoroetileno-co-perfluoropropil vinil éter
<b>QA</b>	Garantia da qualidade, do inglês <i>Quality Assurance</i>
<b>r</b>	Limite de repetibilidade ou coeficiente de correção
<b>RF</b>	Radiofrequências
<b><math>S_{(y/x)w}</math></b>	Dispersão dos valores de regressão linear ponderada
<b>Si</b>	Desvio padrão de precisão intermédia
<b>Sr</b>	Desvio padrão de repetibilidade
<b><math>t_{cal}</math></b>	Parâmetro t-Student calculado
<b><math>t_{tab}</math></b>	Parâmetro t-Student tabelado

$\lambda$

Comprimento de onda

**CAPITULO-1**  
**INTRODUÇÃO**

O estágio curricular intitulado como “Validação do método para a determinação de metais pesados em solos agrícolas e corretivos orgânicos utilizando água regia”, foi desenvolvido no contexto do Projeto individual do Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química, do Departamento de Química da Universidade do Minho, Braga, com um período de nove meses (outubro de 2022 a junho de 2023).

A realização do estágio foi na Empresa A2 Análise Químicas, Lda e teve como principal objetivo a validação de um método implementado pela empresa, para isso foi necessário a utilização de técnicas e métodos de extração e quantificação sendo a digestão por micro-ondas e a espectroscopia de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) respetivamente.

O estágio dividiu-se em 3 fases essenciais. Na primeira fase foi necessário um contexto literário e um planeamento para recolher informação e todas as normas relativas ao método utilizado pela empresa. A segunda fase foi a adaptação com as regras e o modo de trabalho dentro do laboratório. A última fase foi a realização do trabalho experimental apresentado no relatório.

O presente relatório está dividido em 5 capítulos principais onde se descreve todo o trabalho realizada. O primeiro capítulo engloba uma contextualização e o âmbito da tese. No segundo capítulo é apresentado o estado da arte onde se aborda os fundamentos teóricos associados ao estudo dos solos e dos corretivos orgânicos. A parte experimental é apresentada no capítulo três, onde se descreve os procedimentos e as técnicas analíticas utilizadas. O quarto capítulo reúne a análise e discussão dos resultados, onde são apresentados os resultados obtidos ao longo de todo o estudo, assim como compreensão dos mesmos. Por fim, o capítulo cinco resume as conclusões finais.

## 1.1. A2-ANÁLISES QUÍMICAS, LDA

O estágio curricular realizou-se na empresa A2 Análises Químicas, Lda [1]. Esta empresa foi constituída em março de 2007 e situa-se em Guimarães-Braga na rua Rod. de Covas, Figura 1.



Figura 1 - Empresa A2 Análises Químicas, Lda. Adaptado de [1].

A empresa realiza análises a vários parâmetros, para diferentes matrizes tais como solos, matéria vegetal, águas, frutos, adubos e substratos [1]. Os parâmetros em estudo variam de acordo com a matriz, na tabela 1 são apresentados alguns exemplos de parâmetros avaliados nesta empresa.

Tabela 1 – Exemplos de parâmetros avaliados na empresa A2 Análises Químicas.

	Solos	Águas	Adubos/ Substratos	Frutos	Matéria vegetal
P a r â m e t r o s	pH	pH	pH	Azoto total	Elementos totais
	Condutividade elétrica	Condutividade elétrica	Condutividade elétrica	Elementos extraíveis em H <sub>2</sub> O/HNO <sub>3</sub>	
	Necessidade de calcário	Cor	Humidade	Humidade	
	Matéria orgânica	Turvação	Azoto total	Metais pesados	
	Azoto total	Oxidabilidade	Carbono total		
	Elementos Assimiláveis	Amónio	Matéria orgânica		
	Textura	Nitratos	Elementos extraíveis em H <sub>2</sub> O/HNO <sub>3</sub>		
	Metais pesados	Cloretos	Metais pesados		

Através dos serviços fornecidos por esta empresa é possível fazer um controlo dos parâmetros no cultivo, promovendo uma melhor qualidade na produção e um meio ambiente mais cuidado.

De forma a servir empresas, associações, cooperativas, entidades de investigação, produtores particulares e técnicos, é possível solicitar a realização de análises químicas e físicas, sendo de extrema importância no setor agrícola [1].

O conhecimento e compreensão das características dos solos é um ponto importante para alcançar uma agricultura sustentável, na qual se pretende a melhoria da qualidade dos produtos e maior quantidade destes, obtendo um maior rendimento financeiro. Após o serviço prestado por esta empresa é possível antecipar e evitar o aparecimento de desequilíbrio nutricional, para além disso, permite prevenir o aparecimento de problemas por excesso ou défice de nutrientes ou elementos tóxicos.

O solo é algo indispensável para o Homem, sendo por isso, importante promover o aumento do rendimento das culturas e o planeamento de fertilização do solo, com base nas suas características. Desta forma, a aplicação de quantidade de nutrientes aconselhados ou a utilização de corretivos faz com que o agricultor obtenha produtos com melhor qualidade, a baixo custo e sem poluir o meio ambiente.

**CAPITULO-2**  
**ESTADO DA ARTE**

## 2.1. SOLOS AGRÍCOLAS

A crosta terrestre, parte da litosfera, é extremamente complexa, sendo constituída pela rocha e pelo solo. O solo é a parte que entra diretamente em contacto com o ser humano, sendo essencial na produção alimentar [2].

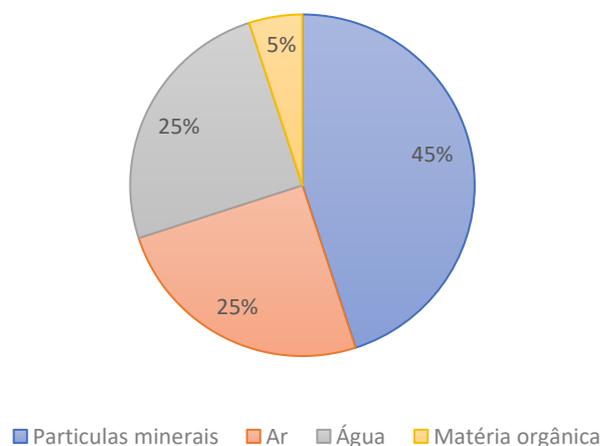
Desde os primórdios da história, a sociedade tem dependido da terra para fornecer alimento, fibra e outros recursos fundamentais para a sua sobrevivência e o seu desenvolvimento. Desta forma, o conhecimento das propriedades físico-químicas do solo tornou-se essencial para o Homem devido à constante interação para a produção de bens e matérias-primas [2] [3].

O solo pode ser definido como a camada superficial da crosta terrestre, sendo uma camada fina de material não consolidado, constituído por minerais, matéria orgânica, água, ar e ainda organismos vivos [3].

o solo está dividido em três fases, uma fase sólida, uma líquida e uma gasosa. A fase sólida é constituída pela matéria mineral e a matéria orgânica proveniente da decomposição vegetal ou animal. A fase líquida é a mistura de água com substâncias dissolvidas, podendo ser as substâncias orgânicas ou inorgânicas. A fase gasosa é composta essencialmente por nitrogénio ( $N_2$ ), oxigénio ( $O_2$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ), estes gases encontram-se nos poros do solo, variando com a produção e consumo das plantas e dos animais [3] [4] [5].

Na figura 2 está representada esquematicamente a composição média dos componentes de um solo.

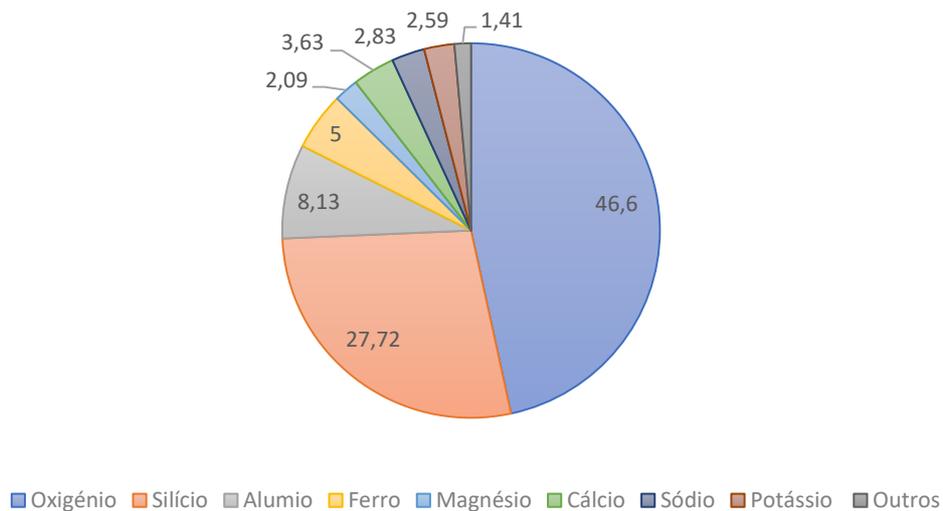
**Composição média de um solo**



**Figura 2-** Representação esquemática da composição média de um solo. Adaptado de [3].

Na figura 3 é apresentada a distribuição dos elementos químicos do solo sabendo que este apresenta uma grande variedade de elementos, os mais abundantes são o oxigénio (46,6 %), silício (27,72 %), alumínio (8,13 %), ferro (5,00 %), cálcio (3,63 %), sódio (2,83 %), potássio (2,59 %) e outros (1,41 %) [6].

### Distribuição dos elementos químicos na crosta terrestre



**Figura 3** - Representação gráfica da distribuição dos elementos químicos na crosta terrestre. Adaptado de [6] [7].

O solo é um recurso natural de interesse partilhado por diferentes setores económicos e sujeito a pressões ambientais. Todos os seres vivos dependem do solo para seu sustento e ao longo dos anos o solo tem sofrendo transformações. A química ajuda a compreender estas transformações ao mesmo tempo em que o conhecimento químico permite usufruir de recursos disponibilizados pelo solo. No entanto estes recursos trouxeram diversos problemas ambientais. Atualmente, as principais preocupações da sociedade giram em torno do meio ambiente. A exploração em demasia de minérios e o uso excessivo de corretivos agrícolas e fertilizantes químicos causam impactos no solo.

Para controlar esses impactos é necessário ter o conhecimento do solo, dos seus constituintes e tentar arranjar formas de conservá-lo, de garantir o seu sustento e a sobrevivência de futuras gerações [7].

## 2.2. FERTILIZAÇÃO DAS CULTURAS

Os fertilizantes são substâncias utilizadas com o objetivo de manter ou melhorar a fertilidade do solo, direta ou indiretamente, de modo a assegurar a nutrição adequada das culturas. Os fertilizantes dividem-se em vários grupos como por exemplo adubos, corretivos minerais ou orgânicos e compostos [5]. Na tabela 2 estão apresentadas as definições destes fertilizantes de acordo com o Decreto-Lei n.º 185/2022 de 21 de julho [8]. Para além destes é de realçar que muitos dos resíduos da agricultura, horticultura, aquacultura, silvicultura, caça e pesca, entre outros são amplamente utilizados como fertilizantes, como por exemplo os estrumes, lamas de estações de tratamento de água residuais (ETAR).

**Tabela 2** - Definição de alguns exemplos de fertilizantes, descritos pelo Decreto-Lei n.º 185/2022 de 21 de julho. Adaptado de [8].

<b>Fertilizante</b>	<b>Definição</b>
<b>Adubos</b>	Matéria fertilizante cuja principal função consiste em fornecer um ou mais nutrientes às plantas.
<b>Corretivos minerais</b>	Corretivo agrícola de origem mineral destinado, principalmente, a modificar o valor do pH do solo.
<b>Corretivos orgânicos</b>	Corretivo agrícola de origem vegetal, ou de origem vegetal e animal, utilizado principalmente com o objetivo de aumentar o nível de matéria orgânica do solo
<b>Compostos</b>	Produto higienizado e estabilizado, resultante da decomposição da matéria orgânica por compostagem, cujas características são de molde a beneficiar, direta ou indiretamente, o crescimento das plantas.

No presente trabalho pretende-se estudar os metais pesados em solos e corretivos orgânicos. Desta forma, considera-se importante apresentar com mais detalhe este tipo de fertilizante.

### **2.2.1. CORRETIVOS ORGÂNICOS**

Consideram-se corretivos orgânicos os produtos de origem animal e/ou vegetal que, para além de constituírem uma fonte de nutrientes para as culturas, apresentam na sua constituição um elevado valor de carbono orgânico podendo ser aplicados ao solo para melhorar ou conservar as suas características físicas, químicas e biológicas, criando condições favoráveis ao crescimento das plantas. O recurso à aplicação de corretivos orgânicos constitui uma prática essencial para o aumento/manutenção da sua riqueza em matéria orgânica, de ressaltar que o contributo para o aumento dos seus teores de matéria orgânica resulta em benefícios a vários níveis, entre os quais se salientam, o aumento da capacidade de retenção de água e de nutrientes; o aumento da resistência à seca; aumento da resistência às variações do grau de salinização, reação e compactação; melhoria da estrutura do solo através da formação de agregados e do aumento da sua estabilidade; aumento da capacidade de troca catiónica do solo e a redução da disponibilidade de alguns metais pesados e consequente redução do seu nível de toxicidade [5].

Dada a sua riqueza em nutrientes, os corretivos orgânicos devem ser considerados no plano de fertilização, a fim de tirar partido desta sua característica e, assim, diminuir o consumo de adubos minerais. É importante notar que o uso de corretivos orgânicos deve ser feito com cuidado e em quantidades adequadas, pois o excesso pode levar a desequilíbrios nutricionais no solo. Além disso, a escolha do tipo de corretivo orgânico depende das necessidades específicas do solo e das culturas a serem cultivadas [5].

De salientar que o uso destes corretivos deve sempre ser feito de acordo com recomendações de agrónomos ou de outros profissionais que tenham conhecimento sobre as propriedades do solo.

### **2.3. PROBLEMÁTICA DA CONTAMINAÇÃO DOS SOLOS/CORRETIVOS ORGÂNICOS POR METAIS PESADOS**

A crescente contaminação dos solos com metais pesados tem levado a preocupações relativamente às perturbações do equilíbrio ambiental. A preocupação crescente deve-se aos efeitos prejudiciais que esses poluentes podem ter na saúde humana, na biodiversidade e no ecossistema em geral, uma vez que estes têm a capacidade de acumular nos tecidos e

consequentemente provocar alterações cerebrais, cancro, anemia, problemas renais, entre outros [4].

Todos os solos contêm maiores ou menores concentrações de metais pesados, sendo que existe uma grande variedade de valores [9]. Em Portugal, têm sido identificadas situações preocupantes de degradação e contaminação do solo em consequência da atividade extrativa, industrial ou urbana para as quais é urgente uma resolução, tendo em conta que estes estão na origem de potenciais riscos para a saúde pública e dos ecossistemas [10].

Existe legislação em muitos países que regula os valores limites de concentração para os metais pesados no solo, para os metais pesados nos corretivos orgânicos e ainda nos no solo em que se pretende aplicar corretivos orgânicos.

Em Portugal, o Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro [11] regula os valores permitidos para a concentração de metais pesados nos solos, estes valores variam com o pH e estão presentes na tabela 3.

**Tabela 3** - Valores limite de concentração de metais pesados nos solos em função do pH em mg/kg de matéria seca. Adaptado de [11].

	Valores limite em solos (mg/kg)		
	pH ≤ 5,5	5,5 < pH ≤ 7,0	pH > 7,0
<b>Cd</b>	1	3	4
<b>Pb</b>	50	300	450
<b>Cu</b>	50	100	200
<b>Cr</b>	50	200	300
<b>Ni</b>	30	75	110
<b>Zn</b>	50	300	450

No que diz respeito aos corretivos orgânicos, de acordo com o Decreto-Lei nº 185/2022 de 21 de julho [8], A matéria fertilizante só pode ser incorporada no solo após o prévio conhecimento do pH e teor de metais pesados dos solos a que se destina, não podendo ser utilizada em solos cuja concentração, em qualquer dos elementos referidos, ultrapasse os valores indicados na tabela 4.

**Tabela 4** – Valores máximos admissíveis dos teores “totais” de metais pesados nos solos em que se pretenda aplicar a matéria fertilizante. Adaptado de [8].

	Valores máximos admissíveis no solo (mg/kg)		
	5,0 ≤ pH < 6,0	6,0 ≤ pH < 7,0	pH ≥ 7,0
<b>Cd</b>	0,5	1	1,5
<b>Pb</b>	50	70	100
<b>Cu</b>	20	50	100
<b>Cr</b>	30	60	100
<b>Ni</b>	15	50	70
<b>Zn</b>	60	150	200

Os corretivos orgânicos podem ainda ser divididos por classes, de acordo com o seu propósito e a sua constituição em metais pesados, como descrito na tabela 5 [8].

- Classe I e II - Agricultura
- Classe IIA – Culturas agrícolas arbóreas e arbustivas nomeadamente pomares, olivais e vinhas. Espécies silvícolas
- Classe III – Solos onde não se pretenda implantar culturas destinadas à alimentação humana e animal

**Tabela 5** – Valores máximos admissíveis para os teores “totais” de metais pesados na matéria fertilizante com componentes orgânicos, por classe. Os valores são apresentados em mg/kg de matéria seca. Adaptada de [8].

	Valores máximos admissíveis (mg/kg)			
	Matéria fertilizante			
	Classe I	Classe II	Classe II A	Classe III
<b>Cd</b>	0,7	1,5	3	5,0
<b>Pb</b>	100	150	300	500
<b>Cu</b>	100	200	400	600
<b>Cr</b>	100	150	300	400
<b>Ni</b>	50	100	200	200
<b>Zn</b>	200	500	1000	1500

As concentrações dos metais no solo podem ser divididas em concentrações totais e concentrações biodisponíveis. As concentrações biodisponíveis de determinado elemento dizem respeito à fração da concentração total que é potencialmente disponível para os organismos. As concentrações totais incluem todas as formas dos elementos no solo, como compostos iônicos ligados a cristais de minerais primários e secundários; compostos adsorvidos a minerais secundários como argilas, óxidos e carbonatos, compostos ligados à matéria orgânica e iões disponíveis e compostos orgânicos e inorgânicos [12].

Apesar das concentrações totais de determinado elemento no solo serem um fraco indicador da potencialidade de captação desse elemento pelas plantas e das concentrações biodisponíveis, as concentrações totais de metais pesados permitem averiguar se o solo se encontra contaminado por determinado elemento e/ou se existe um enriquecimento geoquímico natural, para além disto permitem verificar se existe um risco de toxicidade para as plantas, fauna e microrganismos [12].

#### **2.4. METAIS PESADOS**

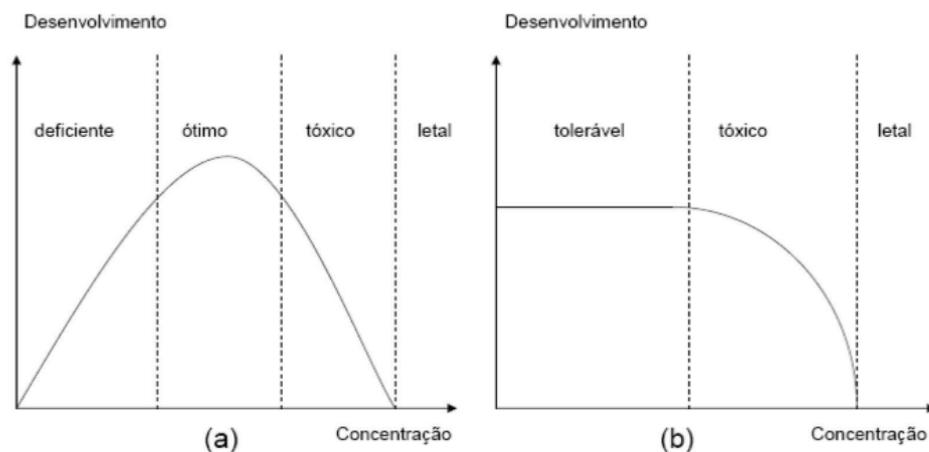
Os metais são um grupo de elementos químicos, sólidos no seu estado puro (com exceção do mercúrio, que é líquido), caracterizados pelo seu brilho, dureza, boa condutividade elétrica e térmica e por elevados pontos de fusão e ebulição. Dentro do grupo destes elementos existem alguns que apresentam uma densidade ainda mais elevada do que a dos demais, e, por isso são denominados metais pesados. Além da elevada densidade ( $>4,0 \text{ g/cm}^3$ ), os metais pesados também se caracterizam por apresentarem valores elevados de número atômico, densidade e massa atômica [13].

O termo metal pesado não é muito consensual sofrendo uma mistura de definições consoante a área de estudo.

As principais propriedades dos metais pesados, são os elevados níveis de reatividade e bioacumulação. Isto significa que estes elementos, além de serem capazes de desencadear diversas reações químicas não metabolizáveis (os organismos vivos não podem degradá-los), também têm a capacidade de serem cumulativos ao longo da cadeia alimentar, gerando efeito negativo para a saúde e o ambiente [14].

Embora não sejam metabolizados em grandes concentrações, alguns metais pesados participam (em pequenas concentrações) em determinadas atividades metabólicas. Os seres vivos necessitam de pequenas quantidades de alguns desses metais, que incluem o cobre (Cu), o cromo (Cr) e o zinco (Zn), para a realização de funções vitais no organismo. Contudo, metais pesados como o cádmio (Cd), mercúrio (Hg), níquel (Ni) e chumbo (Pb) não possuem nenhuma função dentro dos organismos e a sua acumulação pode provocar graves doenças, sobretudo nos mamíferos. Quando lançados como resíduos industriais, na água, no solo ou no ar, esses elementos podem ser absorvidos pelos vegetais e animais das proximidades, provocando graves intoxicações ao longo da cadeia alimentar [14] [15].

Os metais podem ser divididos em metais que desempenham um papel essencial nos processos bioquímicos, por exemplo Zn, Cu e Cr, e os que não são essenciais pela maioria dos organismos e não causam distúrbios em déficit, por exemplo Cd, Pb, Ni. Na figura 4 são apresentados os gráficos do comportamento dos metais pesados no organismo, sendo (a) essenciais e (b) não essenciais [16].



**Figura 4-** Comportamento dos metais pesados no organismo sendo (a) metal essencial e (b) metal não essencial. Adaptado de [16].

Como se pode ver na figura 4, quando expostos ou ingeridos em quantidades excessivas todos os metais pesados são tóxicos. No caso do Cu, Cr e Zn estes passam a ser tóxicos quando ultrapassam a faixa de concentração ótima. Os metais pesados geralmente formando complexos com compostos orgânicos, tornam-se tóxicos para os seres vivos. As moléculas modificadas perdem a capacidade de funcionar adequadamente, fazendo com que as células afetadas funcionem mal ou morram [15].

As concentrações de metais pesados presentes nos solos provêm não apenas das rochas originais, mas também resultam de diversas fontes antropogénicas, que na maior parte das vezes contêm metais pesados.

As fontes antropogénicas de metais pesados no solo incluem lodo de esgoto (quando espalhado na terra), fertilizantes fosfatados, esterco e precipitação atmosférica (de fundição ou queima de carvão e gasolina), lixiviação de materiais de construção, deposição de contaminantes, entre outros. As principais fontes antropogénicas são apresentados na tabela 6 [15] [17] [18] [19].

**Tabela 6** – Fontes naturais e antropogénicas de metais pesados para o ambiente. Adaptado de [13].

<b>Metal</b>	<b>Fontes naturais/minerais</b>	<b>Fontes Antropogénicas</b>	<b>Formas mais comuns nos resíduos</b>
<b>Cu</b>	Calcopirite, Sulfureto de cobre, metal de cobre livre, drenagem mineira.	Minas e fundição, equipamentos eletrónicos, tratamento de madeiras, aterros, pesticidas, sucatas, indústria metalúrgica.	Cu metálico, óxidos de Cu, Complexos de Cu, iões $Cu^{2+}$ , ligas de Cu.
<b>Pb</b>	Galena	Minas e fundição, indústria de ferro e aço, refinaria, sucatas, aterros, pesticidas, baterias, tintas, indústria automóvel, canalizações, esgotos.	Pb metálico, óxidos e carbonatos de Pb.
<b>Cr</b>	Cromite, óxido de cromo.	Acabamentos metálicos, indústria de plástico, tratamento de madeiras, aterros, indústria metalúrgica, sucatas.	Cr metálico, óxidos de Cr, complexos de $Cr^{3+}$ com compostos orgânicos e inorgânicos.
<b>Ni</b>	Minerais de ferro e manganês, sulfuretos de ferro.	Indústria de ferro e aço, minas e fundição, acabamentos metálicos, baterias, equipamentos elétricos.	Ni metálico, iões $Ni^{2+}$ , ligas de Ni.
<b>Zn</b>	Drenagem mineira, willemite, calamina.	Minas e de fundição, acabamentos metálicos, têxtil, aterros, pesticidas, esgotos, sucatas, equipamentos elétricos, indústria metalúrgica.	Zn metálico, iões $Zn^{2+}$ , ligas de Zn, óxidos e carbonatos de Zn.
<b>Cd</b>	Minérios de sulfureto e de carbonetos de zinco e carbonetos de cobre.	Minas e de fundição, acabamentos metálicos, indústria do plástico, equipamentos eletrónicos, baterias, esgotos, aterros, fertilizantes fosfatados.	Iões $Cd^{2+}$ , óxidos de Cd, complexos Cd-CN, lodos $Cd(OH)_2$ .

Vários metais pesados podem ser lixiviados nas águas superficiais ou subterrâneas, absorvidos pelas plantas, libertados como gases para a atmosfera ou ligados por componentes do solo (argila ou matéria orgânica), desta forma, foram considerados perigosos para o ser humano e o meio ambiente, quando em concentrações elevadas. Estes metais tem um peso muito significativo a nível ecológico devido à sua toxicidade e acumulação [20].

#### **2.4.1. CÁDMIO**

O Cd, é um elemento químico com o número atômico 48, massa atômica 112,41 g/mol, pertence ao grupo 12 da Tabela Periódica e tem uma densidade de 8650 g/cm<sup>3</sup> [12].

O Cd é um metal não essencial que está naturalmente presente em todos os solos como resultado do desgaste da rocha-mãe. As rochas sedimentares apresentam maior quantidade de Cd sendo encontrado em maiores concentrações em depósitos de solos com fosfato e xisto. O Cd está presente no solo como um catião divalente (Cd<sup>2+</sup>) e as suas concentrações variam normalmente entre 0,1 a 1,0 mg/kg [9].

O Cd pode afetar a função do ecossistema em níveis vestigiais devido à sua pronunciada toxicidade. Além disso, a toxicidade do Cd no solo é persistente, não só porque o seu tempo de residência excede décadas, mas também porque a sua biodisponibilidade não diminui a longo prazo. Os efeitos na saúde humana estão relacionados com a exposição através da cadeia alimentar[9]. A mais recente reavaliação do risco de Cd na cadeia alimentar definiu um valor de ingestão dietética mensal tolerável, sendo 25 mg/kg de peso corporal o que é apenas cerca de três a sete vezes o valor médio de ingestão da população em geral [9] [21].

O rim é o órgão que armazena mais Cd e é o órgão mais afetado pelos seus efeitos da toxicidade crónica no corpo humano. Com base em estudos em animais e em humanos, o Cd e os compostos de Cd são classificados como carcinogénicos para os humanos, afeta a densidade óssea e no sistema cardiovascular [22].

A adsorção do Cd no solo depende fortemente do valor de pH, sendo que a mobilidade deste metal diminui com o aumento da alcalinidade [17]. A quantidade de matéria orgânica, assim como a presença de óxidos de ferro e manganês também influencia a mobilidade do Cd [21].

### 2.4.2. COBRE

O Cu é um elemento químico com o número atômico 29, massa atômica 63,55 g/mol, pertence ao grupo 11 da Tabela Periódica e tem uma densidade de 8.93 g/cm<sup>3</sup> [12].

As concentrações Cu no solo dependem da geologia e normalmente variam entre 2 e 50 mg/kg. A utilização generalizada de Cu resultou em contribuições antropogênicas significativas, o Cu é utilizado para práticas agrícolas (fertilizantes, pesticidas, lamas de esgoto, etc.). O Cu ocorre principalmente no estado divalente (Cu<sup>2+</sup>) e possui alta afinidade para ligação à matéria orgânica [12].

A concentração de Cu nos solos varia de acordo com alguns fatores, nomeadamente o tipo de solo e as alterações que este sofre ao longo do tempo, a distância de fontes antropogênicas, a distância a minérios e a composição da rocha-mãe da qual provém o solo, entre outros [22].

O Cu é fortemente absorvido pelas partículas do solo e apresenta uma fraca mobilidade quando comparado com outros metais. Como resultado da fraca mobilidade, o Cu tende a acumular-se no solo [22].

Existem vários fatores que influenciam a disponibilidade do Cu no solo nomeadamente o pH, a presença de óxidos de ferro, manganês e alumínio, capacidade de troca de cátions e potencial de oxidação-redução. A capacidade do solo para absorver o Cu aumenta à medida que se verifica o aumento do pH. A capacidade de troca de cátions é influenciada pelo tipo e quantidade de argilas presentes no solo, da quantidade de matéria orgânica e do pH. Uma vez que o Cu tem tendência para se ligar à matéria orgânica, a mobilidade deste metal no solo fica condicionada [22].

O Cu é um elemento importante e essencial para todos os organismos vivos, as concentrações de cobre nos brotos das plantas normalmente variam entre 4 e 15 mg/kg de matéria seca e são bem reguladas em uma ampla faixa de concentração de Cu no solo. Concentrações elevadas de Cu no solo causam efeitos tóxicos que incluem anemia e distúrbios no sistema nervoso central e no sistema cardiovascular. A toxicidade do Cu depende em grande parte das propriedades do solo, que controlam a sua biodisponibilidade no solo através do seu efeito nos processos de precipitação, sorção e complexação [22] [12] [23].

### 2.4.3. CHUMBO

O Pb é um elemento químico com o número atômico 82, massa atômica de 207,20 g/mol e é um membro do grupo 14 da Tabela Periódica e tem uma densidade de 11,34 g/cm<sup>3</sup> [12].

O conteúdo médio de Pb em solos não contaminados em todo o mundo foi estimado em 17 mg/kg. Está entre os elementos mais utilizados pelo homem ao longo do tempo o que levou a uma extensa poluição. Dentro das fontes naturais encontram-se os vulcões, incêndios florestais e sal do mar, sendo responsáveis pelas emissões para a atmosfera deste metal. As fontes antropogênicas mais importantes para o ambiente são a combustão de gasolina (atualmente uma fonte secundária, mas durante várias décadas foi um dos principais contribuintes para a poluição por Pb), fábricas de baterias, combustão de carvão e incineração de resíduos. [13].

A libertação de Pb para a atmosfera a partir de vários processos de alta temperatura levou à contaminação da superfície terrestre em escala regional e até mesmo global. O Pb liga-se fortemente à matéria húmica em solos ricos em matéria orgânica e aos óxidos de ferro em solos minerais. É bastante imóvel no solo, a menos que esteja presente em concentrações muito elevadas [12].

O Pb nos solos existe predominantemente no estado de oxidação +2. Em solos que apresentem um pH básico aparece principalmente sob a forma de PbS insolúvel precipitado pelo sulfureto gerado pela redução do sulfato. Sob condições de pH ácido, existe como íão Pb<sup>2+</sup>, mas torna-se menos solúvel com o aumento do pH na solução do solo devido à complexação com matéria orgânica, sorção em minerais argilosos de óxido e silicato, ou precipitação como carbonato, sulfato ou fosfato [22].

O Pb é um metal que tem um elevado poder de concentrar-se cumulativamente nos seres humanos, afetando o sistema nervoso central e mesmo em exposição a baixos níveis pode causar dano nos fetos, no desenvolvimento cerebral de crianças e ainda o sistema reprodutor masculino [23].

#### 2.4.4. CROMO

O Cr é um elemento químico que possui número atômico de 24, massa atômica de 51,996 g/mol e é um membro do grupo 6 da Tabela Periódica [12].

Este está naturalmente presentes em todos os tipos de rocha, onde a concentração de Cr com valores médios variam entre 40 e 70 mg/kg, dependendo das áreas [12]. No entanto a concentração de Cr varia de acordo com a textura do solo, sendo que os solos mais argilosos apresentam maiores concentrações quando comparados com solos mais arenosos [22].

As espécies trivalentes de Cr e hexavalente Cr são as formas estáveis desse elemento, outros estados de oxidação podem existir transitoriamente nos organismos vivos [24].

O lodo utilizado na prática agrícola para alterar o solo causou um aumento impressionante nos níveis deste metal. Isso levou ao aumento da preocupação ambiental, pois, embora as quantidades relativamente baixas Cr sejam essenciais para plantas e outros organismos vivos, incluindo seres humanos, este elemento é tóxico para todos os organismos vivos se presentes em concentrações excessivas [12].

O Cr<sup>3+</sup> é essencial para os seres humanos e a deficiência de Cr pode ter efeitos prejudiciais no metabolismo da glucose e lípidos. Por outro lado, a ingestão de grandes quantidades de Cr<sup>3+</sup> pode causar problemas de saúde como cancro do pulmão. O Cr(VI) é tóxico para a biota sendo cancerígeno e pode causar morte a animais e seres humanos se ingerido em grandes doses [12] [23] [24].

O Cr(VI) é considerada a espécie mais tóxica e a mais facilmente mobilizada no solo, sendo que em solos com pH>6, normalmente predomina a espécie CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. A principal fonte de Cr(VI) no ambiente é a poluição antropogénica, uma vez que raramente ocorre naturalmente, devido à sua afinidade para reagir com a matéria orgânica. Já o Cr<sup>3+</sup> é muito menos móvel e adsorve-se mais fortemente às partículas, sendo que a sua solubilidade diminui para pH> 4 e acima de 5,5 ocorre a precipitação completa [12].

Para além do pH, a imobilização do Cr nos solos depende de vários outros fatores como o estado de oxidação, minerais de argilas, iões em competição e agentes complexantes. A imobilização do Cr<sup>3+</sup> nos solos pode ser explicada pela adsorção na matéria orgânica e óxidos de ferro, já que os ácidos húmicos têm uma forte afinidade por esta espécie [12].

#### 2.4.5. NÍQUEL

O Ni elementar é um metal que se encontra no grupo 10 da tabela periódica. Dez isótopos de Ni existem na natureza e o isótopo estável mais abundante tem número atômico 28 e massa atômica de 58,71 g/mol [25] [26].

O Ni está presente em todos os tipos de rocha, com uma abundância na crosta terrestre de 80 mg/kg. No entanto, a concentração variam com as áreas pesquisadas e com a textura do solo, com os solos argilosos sendo mais ricos em Ni do que os solos arenosos [12].

Normalmente, os estados de oxidação da Ni são 0 ou +2, embora os estados +1 e +3 possam existir sob certas condições. As espécies inorgânicas dominantes são  $Ni^{2+}$  em toda a faixa de pH [24].

O lodo como alteração do solo em solos agrícolas causou um aumento impressionante nos níveis deste metal. Isso levou ao aumento da preocupação ambiental, pois, embora as rações relativamente baixas de Ni sejam essenciais para plantas e outros organismos vivos, incluindo seres humanos, este elemento é tóxico para todos os organismos vivos se presentes em concentrações excessivas[12].

Embora a Ni seja essencial em certas bactérias, plantas e animais domésticos, para os seres humanos ainda não é muito claro uma vez que a toxicidade e carcinogenicidade de altas doses de Ni são bem documentadas e principalmente de seu potencial para danificar proteínas e ácidos nucleicos [12] [23].

Os fatores mais importantes que levam à distribuição e persistência do Ni no solo são o pH e a presença de materiais orgânicos como hidróxidos, minerais de argila e catiões. A maioria dos compostos de Ni são relativamente solúveis para valores de pH inferiores a 6,5, enquanto o Ni existe predominantemente como hidróxido insolúvel para valores de pH superiores a 6,7. O ião essencial é o  $Ni^{2+}$ , aumentando a sua solubilidade com a diminuição do pH. O teor em argila e concentração de óxidos de ferro e manganês presentes no solo são fatores de importância secundária. Este metal é um dos elementos de transição com menor capacidade para sofrer adsorção [24].

Sais solúveis de Ni e os sulfuretos e óxidos de Ni são cancerígenos para o Homem, podendo afetar o pulmão e os tecidos nasais. Devido ao seu potencial de toxicidade, o Ni pode ter como efeitos, bronquite crônica, asma, redução da capacidade vital e enfisema pulmonar [22].

#### 2.4.6. ZINCO

O Zn é um metal de transição com o número atômico 30, massa atômica 65,39 g/mol e pertencendo ao grupo 12 da Tabela Periódica [12].

O Zn está naturalmente presente em todos os solos, e a concentração natural depende da composição química do material original. A concentração média global de Zn no solo é de 55 mg/kg, mas as concentrações variam amplamente entre os solos. Em geral, os solos com alto teor de argila estarão associados a concentrações de Zn de base mais elevadas do que os solos arenosos devido à sua maior concentração de Zn nativo e à sua maior capacidade de adsorver e reter Zn [12].

O Zn é especificamente adsorvido como  $Zn^{2+}$  por matéria orgânica e inorgânica, dependendo do pH e, em altas concentrações, por reações de troca iônica em minerais argilosos. Em geral, as concentrações de Zn na solução do solo aumentam cinco vezes por unidade de diminuição do pH.

O Zn é um micronutriente para toda a biota, concentrações elevadas de Zn podem causar efeitos tóxicos nas plantas, nos organismos e estes efeitos ecotoxicológicos precedem os efeitos nos seres humanos. Não há nenhum caso conhecido de envenenamento crônico de Zn para humanos ou animais selvagens através da cadeia alimentar. Portanto, a avaliação dos riscos do Zn centra-se principalmente nos seus efeitos na biota e no funcionamento do solo [12].

O risco de toxicidade do Zn manifesta-se pelos efeitos nos organismos que vivem no solo, ou seja, plantas, invertebrados e microrganismos [23].

A deficiência dietética de Zn em humanos está frequentemente associada a solos que apresentem déficit de Zn e a biofortificação de Zn nas culturas é agora uma iniciativa global através da seleção de culturas eficientes ou de uma fertilização criteriosa. Estima-se que cerca de um terço das terras agrícolas e da população humana global apresente déficit de Zn devido ao baixo teor deste no solo e/ou à baixa biodisponibilidade [23].

O déficit de Zn causa uma variedade de efeitos adversos, como retardo de crescimento, atraso na maturação sexual e esquelética e efeitos comportamentais. A fertilização com Zn e a seleção de cultivares eficientes são hoje utilizadas para resolver este problema assim como o fornecimento de aditivos [12].

## 2.5. MÉTODO DE EXTRAÇÃO DE METAIS PESADOS DE SOLOS E CORRETIVOS ORGÂNICOS

A maioria das medidas analíticas é realizada em solução aquosa do analito. Nem todas as amostras se dissolvem prontamente em água para formar solução aquosas, desta forma, muitas vezes é necessário recorrer a processos de extração com a utilização de reagentes mais eficientes e um tratamento mais agressivo [27].

A escolha apropriada entre os vários reagentes e as técnicas para a decomposição e dissolução de amostras analíticas pode ser um passo crítico na análise. O processo de extração é considerado um passo crítico devido a possíveis erros associados, tais como a dissolução incompleta dos analitos, a perda do analito por volatilização, a introdução do analito como um contaminante do solvente ou ainda a introdução de contaminantes a partir da reação do solvente com as paredes do frasco [27].

Existem diversos métodos de extração para os metais pesados do solo sendo as digestões ácidas as mais utilizadas. Destas digestões ácidas temos a digestão em frascos abertos e a digestões em frascos fechados assistida por micro-ondas. A digestão ácida envolve o uso de ácidos minerais ou oxidantes e uma fonte de calor externa para decompor a matriz da amostra. A escolha de um ácido ou uma combinação de ácidos depende da matriz a ser digerida. Na tabela 7 são apresentados alguns dos ácidos mais utilizados para a digestão ácida, assim como algumas características destes [28].

**Tabela 7** - Ácidos mais utilizadas para a decomposição de amostras sólidas. Adaptado de [28] [29].

Ácidos	Características
Ácido Nítrico (HNO <sub>3</sub> )	Oxidante forte. Dissolve todos os metais comuns (exceto alumínio e cromo). É amplamente utilizado para a decomposição de metais
Ácido Clorídrico (HCl)	Bom solvente para amostras inorgânicas, mas tem limitações para decompor materiais orgânicos. Muito utilizado para dissolver muitos óxidos metálicos assim como metais mais facilmente oxidáveis que o hidrogénio
Ácido Sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Elimina compostos inorgânicos. Ataca muitos metais e ligas metálicas
Ácido perclórico (HClO <sub>4</sub> )	Poderoso agente oxidante. Ataca ligas de ferro e aços inoxidáveis. Tem natureza explosiva
Ácido fluorídrico (HF)	Associado à decomposição de rochas e minerais à base de silicatos. Extremamente tóxico. Não pode ser manuseado com materiais de vidro

Dentro dos ácidos referidos na tabela 7, o HCl, o HNO<sub>3</sub> e o HF são os reagentes mais utilizados para digerir amostras de solos. A maioria dos estudos enfatiza que para ter uma digestão completa das amostras, é necessário o uso de HF para quebrar os silicatos. No entanto, não é recomendado o uso de HF para análises de rotina uma vez que o processo de digestão é perigoso e difícil, para além destas características é necessário ter em atenção que para a sua utilização nenhum equipamentos de laboratório poderá ser de vidro [19] [30] [18].

Desta forma, a utilização de uma combinação dos ácidos HNO<sub>3</sub> e HCl na proporção de 3:1 mais conhecido como água régia para a digestão é o método apresentado como mais adequado [19] [30]. No entanto, de acordo com a norma 54321, [31] este método não solubiliza toda a matriz da amostra, mas consegue extrair quantidades de metais superiores às bio-disponíveis para organismos vivos.

#### **2.5.1. DIGESTÃO ÁCIDA REALIZADA EM FRASCOS ABERTOS**

Aa decomposição da amostra (digestão) pode ser realizada em frascos abertos. Esta consiste no fornecimento de calor a mistura reacional, com o objetivo de extrair os analitos em estudo.

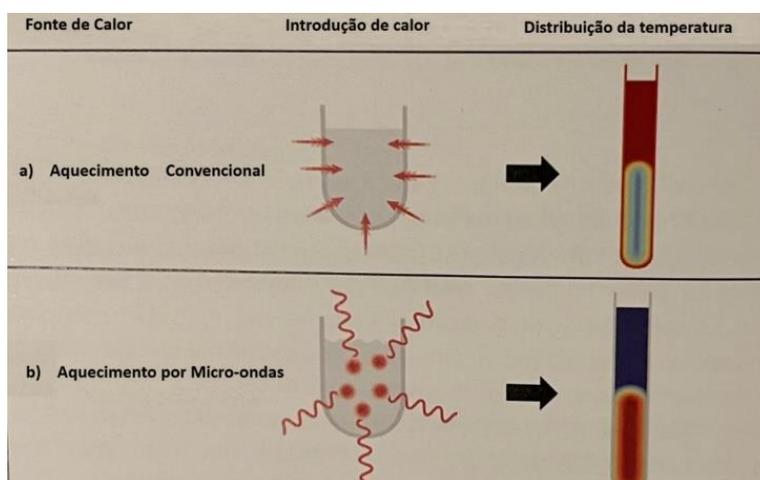
Nestas condições a digestão pode ser feita recorrendo à utilização de banhos termostatizados (com ou sem agitação), placas de aquecimento, bico de *Bunsen*, banho de areia e blocos digestores. As principais vantagens da utilização da digestão em frasco aberto são a aplicação a praticamente todos os tipos de amostras, à exceção aquelas que contêm compostos refratários, e a flexibilidade quanto à massa da amostra a ser utilizada. Entretanto, este procedimento exige supervisão constante do analista, consome grandes quantidades de reagentes (o que favorece a pré-concentração de impurezas), requer tempo elevado e favorece a perda de analitos voláteis [29].

#### **2.5.2. DIGESTÃO ÁCIDA REALIZADA EM FRASCOS FECHADOS**

A digestão em frasco fechado é realizada em Bombas de Alta Pressão empregando, geralmente, equipamentos que utilizam como fonte de calor energia micro-ondas. As principais características deste procedimento são a aplicação a todos os tipos de amostras, incluindo aquelas que possuem compostos refratários (com tempo inferior a 3 h), é adequada

à análise devido ao baixo consumo de reagentes (reduzindo assim contaminações), além das perdas de analitos voláteis serem geralmente desprezíveis. Porém, este tipo de digestão permite apenas a utilização de massas de amostras pequenas visto que todo o processo ocorre dentro de um frasco fechado, no qual podem formar-se altas pressões resultante do aquecimento e da decomposição dos materiais [29].

Na figura 5 é apresentada a introdução de calor distribuição de temperatura numa mistura de reação. No aquecimento convencional verifica-se que a mistura de reação em contacto com a parede do frasco é aquecida em primeiro lugar o que promove um aquecimento desigual na amostra. Já no aquecimento por micro-ondas, a temperatura aumenta simultaneamente em todo o volume da reação [28].



**Figura 5** - Ilustração da introdução de calor e distribuição de temperatura numa mistura de reação para a) aquecimento convencional e b) aquecimento por micro-ondas. Adaptado de [28].

De acordo com a literatura, o método com melhores resultados para a recuperação de metais pesados é o que utiliza a digestão com água régia em frascos fechados, sendo necessário recorrer a um equipamento de micro-ondas para aumentar a temperatura de ebulição dos ácidos sob condições de pressão superior à ambiente [32] [30].

### 2.5.2.1. EXTRAÇÃO POR MICRO-ONDAS

A chave para solubilizar amostras de solo é atingir altas temperaturas, o aquecimento com recurso a equipamentos de micro-ondas, como por exemplo o Ethos UP, permite o

aquecimento controlado e rápido da mistura de ácidos reduzindo assim o tempo necessário para a preparação das amostras [28].

As micro-ondas são ondas eletromagnéticas com componentes de campo elétrico e magnético. A irradiação de micro-ondas ocorre na faixa de frequência entre 0,3 a 300 GHz e comprimento de onda ( $\lambda$ ) variando entre 1 mm e 1 m [33].

Em 1975 começou-se a usar a química assistida por micro-ondas para digerir amostras biológicas em recipientes abertos, já no início da década de 1980 começou o uso de recipientes fechados para a digestão o que permitiu uma maior temperatura e pressão aumentando a velocidade de reação e diminuindo o tempo de reação [33].

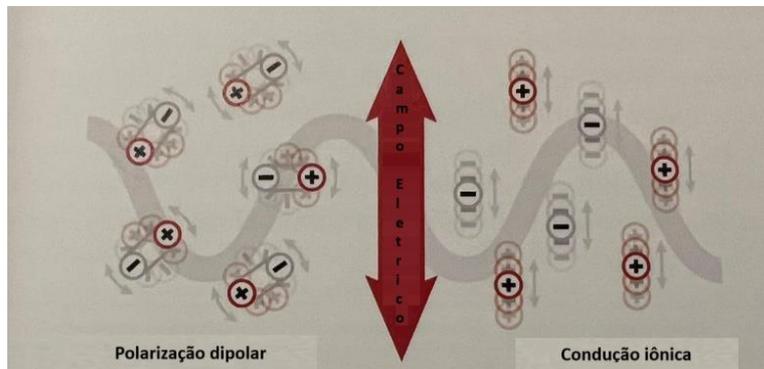
O controle de feedback de pressão para unidades de micro-ondas de laboratório foi introduzido em 1989 e o controle de feedback de temperatura em 1992. Com este controle o monitoramento de temperatura e pressão promoveu as digestões controladas e os estudos de mecanismos de digestão [33].

O aquecimento por micro-ondas realiza-se através da transferência da energia das micro-ondas diretamente para todas as moléculas da solução quase simultaneamente sem o aquecimento do frasco. Dessa forma, a temperatura de ebulição é alcançada em toda a solução muito rapidamente [33]. O aquecimento no equipamento pode ser feito por dois meios a polarização/rotação dipolar e a condução iônica. Na figura 6 está apresentado estes dois métodos de aquecimento [28].

Na polarização/rotação dipolar as moléculas polares (dipolos) alinham-se com os polos do campo elétrico alternado gerando pela radiação micro-ondas. Ao retirar o campo elétrico as moléculas retornam ao seu estado desordenado, a energia que foi absorvida durante a orientação dos dipolos é dissipada na forma de calor, aquecendo o meio. Este mecanismo é dependente da frequência do campo elétrico e do tempo necessário para que os dipolos retornem ao seu estado de desordem inicial (tempo de relaxamento). Se o dipolo não tiver tempo suficiente para realinhar ou reorientar rapidamente com o campo aplicado, o aquecimento não ocorre [28] [34].

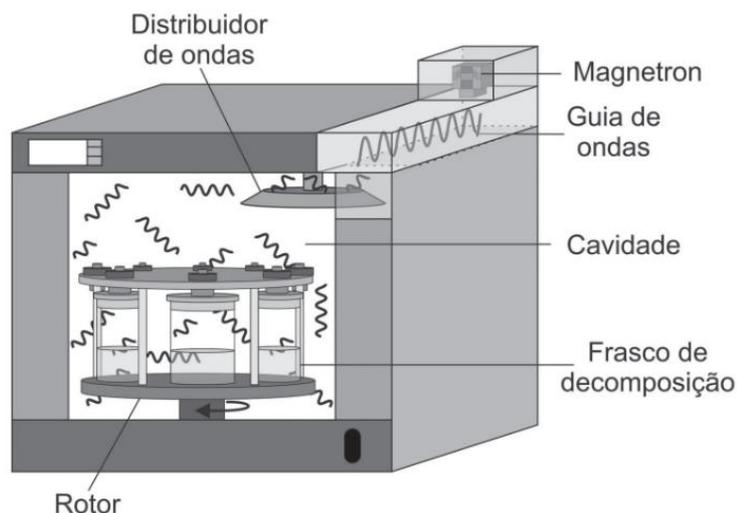
A condução iônica envolve a produção de calor por fricção, que ocorre através da migração dos íons que produz um fluxo de corrente. Os íons dissolvidos no interior de uma solução migram sob a ação de um campo eletromagnético e o movimento de outros íons no sentido oposto produz calor, aumentando a temperatura do meio. A produção de calor

depende do tamanho, da carga, da condutividade dos íões dissolvidos e interação destes últimos com o solvente empregado [28] [34].



**Figura 6-** Esquema do aquecimento dentro do equipamento de micro-ondas por polarização/rotação dipolar e por condução iônica. Adaptado de [28].

Existe uma variedade de equipamentos micro-ondas, os multimodos são os mais utilizados para fins analíticos e são constituídos, fundamentalmente, por seis componentes, como apresentada na figura 7: i. Magnetron ii. Guia de ondas iii. Distribuidor de ondas (refletor rotatório) iv. Cavity v. Frascos de decomposição vi. Rotor.



**Figura 7 -** Representação esquemática de um forno multimodo, mostrando frascos de decomposição em um rotor, sob ação de radiação micro-ondas espalhada por um refletor rotatório. Adaptado de [35].

Recentemente, foi desenvolvido um sistema multimodo assistido por radiação micro-ondas que é um equipado com a capacidade de se conectar à internet e fazer a monitorização

remota dos parâmetros reacionais do ciclo de aquecimento, empregando dispositivos móveis, sendo este o utilizado neste trabalho. O dispositivo permite acesso a uma biblioteca de aplicações, bem como suporte online para atender aos utilizadores. O sistema também conta com um dispositivo de segurança de abertura e fecho dos frascos que permite o alívio da pressão em excesso sem que ocorra projeção da amostra. Esse sistema atua paralelamente aos sensores de pressão e temperatura, sendo muito importante na decomposição de amostras que resultem em reações muito exotérmicas. Adicionalmente, esse sistema permite um arrefecimento rápido. Dois novos rotores foram projetados para uso com o Ethos UP possibilitando atingir elevada eficiência de digestão para grande número de amostras simultaneamente digeridas. Um desses rotores contém 15 frascos reacionais com volumes de 100 mL, sendo aplicável para todos os tipos de amostras. O outro rotor contém 44 frascos reacionais construídos com o mesmo material e mesmo volume, sendo preferencialmente aplicável para amostras ambientais e com alto conteúdo de compostos orgânicos [35].

Os frascos reacionais são equipados com dispositivos de alívio de pressão e autofechamento, o que proporciona alto nível de segurança. O Ethos UP é equipado com uma câmara no interior da cavidade e uma janela lateral transparente que possibilitam a visualização de eventual escape de gases durante o processo de digestão [35].

A digestão de micro-ondas em vaso fechado para a dissolução de amostras de solo com o intuito de dissolver metais e minerais é descrita na literatura por Ganzler e Salgo como o primeiro uso de micro-ondas para extrair compostos orgânicos de solo e plantas contaminados [36] [37] [38].

A decomposição com recurso a micro-ondas é um método de preparação de amostras rápido, eficiente e reprodutível. O facto de as soluções serem aquecidas de forma eficiente em curto espaço de tempo de forma controlada, torna este o melhor método de aquecimento [28].

## 2.6. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE METAIS PESADOS DE SOLOS E CORRETIVOS ORGÂNICOS

Na literatura são descritos diversos métodos analíticos para determinar a quantidade total de metais pesados no solo [39] [40] [29].

Dentro desses métodos os mais utilizados são a Espectroscopia de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES); a Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) e a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) [39] [40] [29]. Estas técnicas são precisas e sensíveis, no entanto requerem uma etapa de preparação das amostras. Na tabela 8 é apresentada a comparação entre estas técnicas com indicação das vantagens e desvantagens de cada uma [41].

**Tabela 8** - Métodos de quantificação de metais pesados descritos na literatura [39] [40] [29].

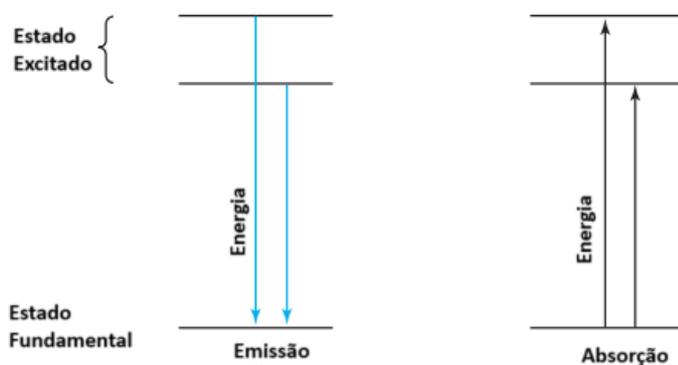
	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>ICP-OES</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Alta sensibilidade e precisão.</li><li>• Pode analisar vários elementos simultaneamente.</li><li>• Ampla faixa de detecção.</li><li>• Menos interferências espectrais em comparação com outros métodos.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Equipamento caro e complexo.</li><li>• Não é adequado para amostras com teor de humidade significativo.</li></ul>
<b>AAS</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Sensibilidade e precisão elevadas.</li><li>• Pode analisar elementos individuais sem haver interferências com outros analitos.</li><li>• Relativamente simples e rápido.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Menor capacidade de analisar vários elementos simultaneamente.</li><li>• Pode ser afetado por interferências espectrais.</li></ul>
<b>ICP-MS</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Sensibilidade extrema, pode detetar concentrações vestigiais de metais.</li><li>• Pode analisar uma ampla gama de elementos.</li><li>• Boa precisão e baixos limites de detecção.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Equipamento mais caro que o ICP-OES e altamente especializado.</li><li>• Preparação de amostra rigorosa e cuidadosa.</li><li>• Pode ser afetado por interferências isotópicas.</li></ul>

### 2.6.1. PRINCÍPIOS TEÓRICOS DA ICP-OES

A ICP-OES é uma técnica analítica utilizada para quantificar elementos em diferentes amostras, com recurso a espectros de emissão. Na espectroscopia de emissão atómica, os átomos do analito são excitados por uma fonte de energia (calor/elétrica).

A emissão atómica baseia-se no facto de que quando um átomo absorve energia ou por radiação eletromagnética ou por colisão com outra partícula pode haver o aumento da energia cinética do átomo ou a absorção da energia e conseqüentemente a excitação do átomo. Quando um átomo é excitado um eletrão é promovido de um estado menos energético para uma orbital de maior energia. Este fenómeno, denominado de absorção. Quando se dá o decaimento do eletrão de um nível de maior energia para um de mais baixa energia ocorre o fenómeno de emissão, ou seja, o átomo emite um fóton. Estes processos encontram-se representados na Figura 8 [41]

A diferença entre os níveis energéticos são específicos de cada elemento, permite assim estimar o  $\lambda$  da radiação emitida [42].

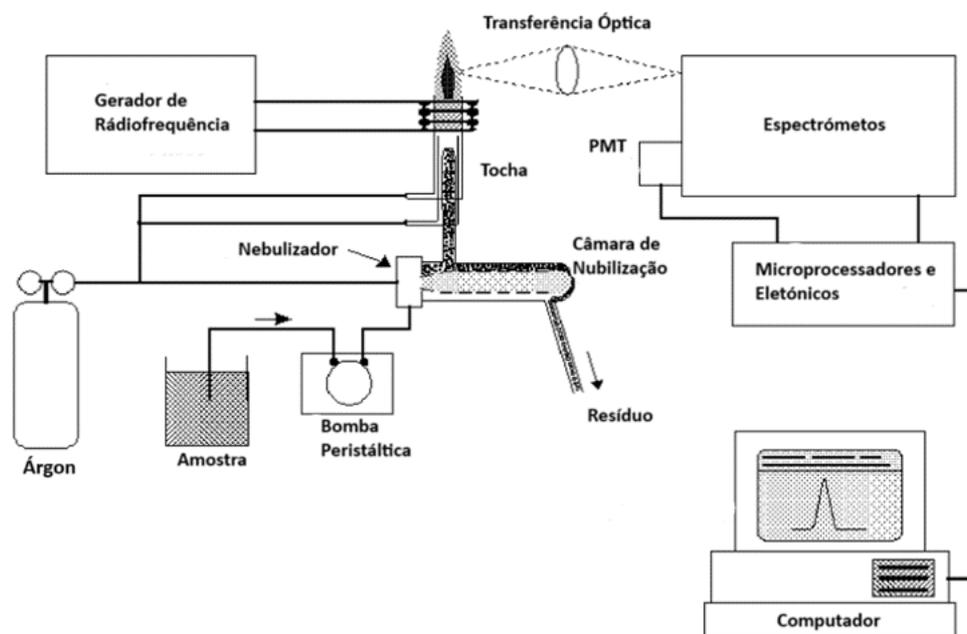


**Figura 8** - Representação dos processos de Emissão e Absorção. Na absorção atómica os átomos absorvem parte da luz da fonte e o restante atinge o detetor. Na emissão atómica a luz que atinge o detetor provém da luz que um átomo emite ao passar do estado excitado para o estado fundamental. Adaptado de [41].

A configuração geral de um equipamento de ICP-OES é ainda muito semelhante à descrita no início dos anos 70, dividindo-se no nebulizador, plasma e numa rede de difração associada a um detetor de radiação. Habitualmente os itens analisados encontram-se no estado líquido, sendo posteriormente nebulizados formando um aerossol dentro de uma

câmara de nebulização que depois é conduzido ao centro do plasma por um fluxo de árgon. Aqui ocorrem uma série de processos que resultam no fenómeno de emissão atómica ou iónica do elemento estudado. A radiação policromática obtida é conduzida à rede de difração, que a separa em diversos comprimentos de onda. A radiação isolada é transportada para um detetor, sendo criada uma corrente elétrica, cuja intensidade depende do número de fotões presentes na radiação emitida. Através do software do equipamento este sinal é transformado proporcionalmente num valor de concentração. A concentração obtida é em função da calibração prévia efetuada ao ICP-OES com soluções de concentração conhecida do elemento em análise, processo designado por calibração instrumental.

Na figura 9 é apresentado um esquema de um equipamento de ICP-OES onde se pode ver todos os seus componentes e a sequencia da técnica uma vez que primeiramente é necessário criar o plasma com o árgon, a tocha, o gerador de radiofrequências, posteriormente é necessário a introdução da amostra através do nebulizador pneumático, a bomba peristáltica, camara de nebulização por fim para obter a deteção do sinal recorre-se ao sistema de deteção e um dispositivo eletrónico no qual é processada toda esta informação [33].



**Figura 9** - Esquema geral de um equipamento de ICP-OES e os seus diversos componentes. Adaptado de [42].

As aplicações mais comuns deste equipamento são a determinação de metais a níveis vestigiais em amostras com relevância para a saúde pública e para a gestão da qualidade do meio ambiente, tais como água potável, alimento, águas residuais e águas naturais. É também usado na caracterização de matérias-primas e produtos da indústria, amostras geológicas, etc. [33].

#### **2.6.1.1. O PLASMA**

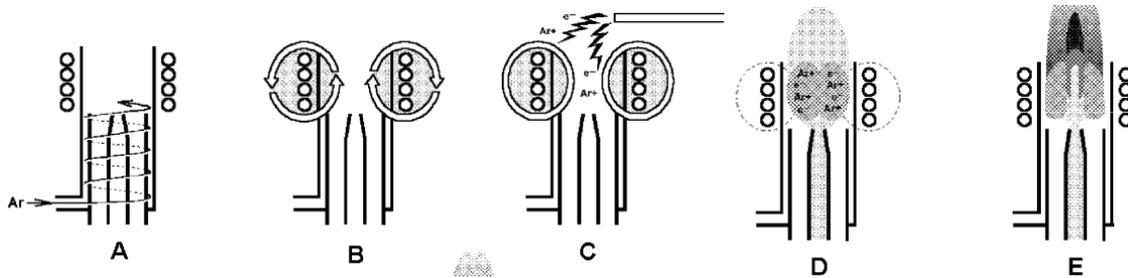
Por definição um plasma é uma mistura gasosa condutora que contém uma concentração significativa de iões e eletrões. No caso dos plasmas de árgon, utilizados no ICP-OES, os iões de árgon e os eletrões são as principais espécies condutoras [43].

Habitualmente os plasmas de árgon são iniciados por uma fonte de energia externa, tipicamente uma bobina de Tesla. Posteriormente, a energia de uma fonte de radiofrequências acelera os eletrões a energias cinéticas elevadas através do campo magnético gerado.

A temperatura pode atingir cerca de 10000 K. Esta energia é transferida para os outros átomos através de colisões produzindo mais iões e eletrões. O processo desenvolve-se em cadeia até a formação de um plasma estável [43].

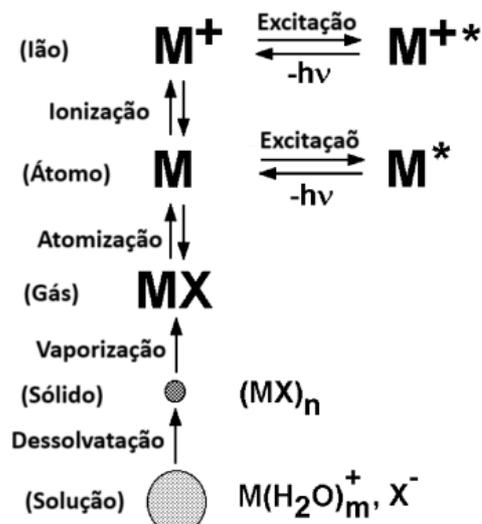
Na instrumentação ICP-OES com fins analíticos, o plasma é formado numa tocha, representada na Figura 10, que é constituída por três tubos de quartzo concêntricos. Na secção externa passa o maior fluxo de árgon (11-17 L/min). Na secção intermédia flui cerca de 1 L/min de árgon para estabilizar o plasma. Por sua vez, na secção interna passa o aerossol da amostra transportado num fluxo de árgon. À volta do tubo mais exterior encontra-se uma bobina de indução cuja fonte de energia é um gerador de radiofrequências. A resistência dos iões e eletrões ao fluxo de energia da bobina produz o aquecimento óhmico do plasma. A temperatura do plasma é tão alta que requer que este esteja termicamente isolado da tocha. Isto consegue-se com um fluxo de árgon à volta das paredes da tocha que também posiciona o plasma no centro da bobina de radiofrequências.

**Figura 10** - Processo de formação do plasma na tocha. A) Entrada de árgon, B) aplicação de uma corrente elétrica na bobina de radiofrequências (RF) formando o campo eletromagnético oscilante, C) Geração de elétrons livres (bobina tesla), D) efeito cascata e E) Plasma formado. Adaptado de [42].



A emissão do plasma pode ser observada de duas formas diferentes: A observação radial, visualizando o plasma num ângulo de 90° e a axial, visualizando o plasma ao longo do seu comprimento. A geometria radial permite a observação de uma emissão mais estável e precisa, enquanto a axial permite a observação de emissões mais intensas úteis para a determinação de limites de detecção mais baixos.

O plasma tem mais funções para além da atomização, ionização e excitação dos elementos. A primeira função é a de remover o solvente do aerossol, isto é, dessolvatar o aerossol. Em seguida decompõem-se as moléculas e compostos iónicos resultantes que são dissociados em átomos no processo designado como atomização. Em seguida os átomos excitados produzem iões no estado fundamental ou no estado excitados. Estes processos estão esquematizados na Figura 11 [42].



**Figura 11** - Esquema dos processos de atomização que ocorrem no plasma. Adaptado de [42].

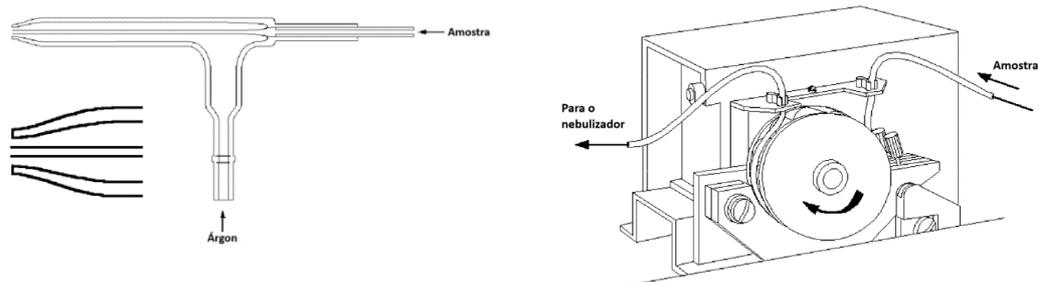
### 2.6.1.2. GERADOR DE RADIOFREQUÊNCIAS

O gerador de radiofrequências (RF) fornece a potência para gerar e manter o plasma. Geralmente são osciladores que fornecem corrente alternada a 11 frequências de 27,12 MHz ou 40,69 MHz. Relativamente à potência fornecida, esta varia geralmente de 700 W a 1500 W. A bobina é, de um modo geral, feita de cobre e arrefecida a água ou ar. Existem dois tipos diferentes de gerador de radiofrequências, os “*crystal-controlled*” e os “*free-running*” [42].

### 2.6.1.3. INTRODUÇÃO DA AMOSTRA

A maneira mais comum de se introduzir a amostra, tipicamente no estado líquido, é através de um nebulizador pneumático. Existem diversos nebulizadores pneumáticos para amostras líquidas. Para além do nebulizador concêntrico que é o mais utilizado, existem disponíveis ainda os nebulizadores de fluxo cruzado e o nebulizador de Babington [43].

Um nebulizador concêntrico é constituído por dois tubos finos, sendo um para o gás e outro para a amostra. A passagem do gás para a câmara de nebulização provoca um vácuo, por expansão brusca, que permite a aspiração da amostra, pelo princípio de Venturi. O gás a alta velocidade, por passagem de um fluxo de cerca de 1 L/min num estrangulamento físico, fragmenta o líquido em pequenas gotas de diferentes tamanhos, que constituem um aerossol, que é transportado para o plasma. A este nebulizador pode ser associado uma bomba peristáltica, como mostra a figura 12. O uso de uma bomba peristáltica assegura que o fluxo de amostra para o nebulizador seja constante e não dependente das características físicas da solução analisada, nomeadamente da sua viscosidade e tensão superficial. A independência das características físicas da solução é importante dado que os calibradores podem ter características diferentes das amostras analisadas. O estado da tubagem utilizada pela bomba peristáltica deve ser verificado diariamente visto que esta pode condicionar a repetibilidade da nebulização [43].



**Figura 12** - Nebulizador concêntrico associado a uma bomba peristáltica. Adaptado de [42].

#### **2.6.1.4. CAMARA DE NEBULIZAÇÃO**

A câmara de nebulização tem como função garantir que apenas gotas muito pequenas, geralmente com diâmetros abaixo de 10  $\mu\text{m}$ , possam ser introduzidas no plasma. Apesar desta ser a principal função da câmara de nebulização, ela permite ainda estabilizar o fluxo de amostra que pode chegar pulsado devido, por exemplo, à utilização de uma bomba peristáltica. As câmaras de nebulização conduzem apenas entre 1-5 % da amostra ao plasma [42].

#### **2.6.1.5. SISTEMA DE DETEÇÃO E DETETORES**

A radiação emitida pode ser visualizada em duas geometrias diferentes, a radial e a axial. Em qualquer delas a radiação é recolhida numa lente convexa ou um espelho côncavo. Posteriormente a radiação é focada num aparelho de dispersão dos comprimentos de onda. Esta separação é mais frequentemente realizada numa rede de difração ou numa rede de echelle, podendo ainda existir prismas, filtros e interferómetros [42].

No que respeita a detetores, foram desenvolvidos três tipos diferentes de equipamentos com alta sensibilidade e resolução; a matriz de fotodiodos (PDA), o dispositivo de injeção de carga (CID) e o dispositivo de carga acoplado (CCD). O CID e o CCD são baseados na sensibilidade à luz de silício no estado sólido e pertencem à classe dos dispositivos de transferência de carga. No caso de um CID, cada componente, chamado de pixel, é capaz de guardar a carga gerada pela absorção de luz pelo silício e essa carga pode ser medida no fim do tempo de exposição ou durante a integração, sem a destruição da carga. Por isso, este processo é conhecido como um modo de leitura não destrutivo. No entanto, o CID apresenta

algumas desvantagens, nomeadamente um nível de ruído superior ao de um CCD e requer que seja arrefecido até temperaturas muito baixas de modo a diminuir este nível de ruído [42].

#### 2.6.1.6. INTERFERÊNCIAS EM ICP-OES

Toda a técnicas estão sujeitas a efeitos de interferências, no caso do ICP-OES estas interferências são subdivididas em interferências espectral, físicas e químicas.

No entanto, o tipo de interferência mais comum em ICP-OES é a interferência espectral. Esta surge devido à natureza multielementar do plasma, visto que o ICP é capaz de excitar quase todos os elementos que são introduzidos, o que resulta num espectro de emissão altamente complexo. A solução mais usada para evitar estes problemas é o uso de um espectrómetro de alta resolução, no entanto, em alguns casos, continua a verificar-se sobreposição de riscas de emissão com comprimento de onda ( $\lambda$ ) próximos [42].

Existem quatro tipos diferentes de interferências espectrais: “desvio simples da linha de base”, “inclinação da linha de base”, “sobreposição espectral” e “desvio complexo da linha de base”. O “desvio simples da linha de base” é um deslocamento positivo ou negativo na linha de base, em qualquer um dos lados do comprimento de onda a medir. Pode ser corrigido fazendo uma correção do fundo, ou evitado usando um comprimento de onda diferente. A “inclinação da linha de base” pode ter um tratamento equivalente ao anterior e deve-se à sobreposição da risca de emissão com uma emissão próxima muito intensa. No caso de existir “sobreposição espectral”, que consiste na sobreposição de riscas de emissão de dois ou mais elementos, esta interferência pode ser corrigida por subtração da emissão interferente após o conhecimento da concentração do interferente e relação desta com o sinal de emissão. Existe um “desvio complexo da linha de base” quando se combinam diferentes interferências à volta do comprimento de onda de emissão do elemento. Aqui deve ser escolhido um comprimento de onda diferente [41].

Outros tipos de interferências são as denominadas não espectrais, geralmente físicas ou químicas. As interferências físicas resultam das alterações nas condições de transporte da amostra como as que alteram a capacidade de aspiração, nebulização ou desolvatação da solução analisada por comparação com o observado nos calibradores. Podem ser alterações

na viscosidade da solução, tensão superficial ou densidade. Estas interferências são causadas por diferenças nos teores de sólidos dissolvidos nas amostras e nos calibradores. Os níveis elevados de sólidos dissolvidos podem levar a deposição de sais no nebulizador o que afeta a velocidade do fluxo do aerossol. A presença de constituintes inflamáveis, como solventes orgânicos, na solução desconhecida pode alterar a temperatura no plasma e afetar a eficiência da atomização, ionização e excitação [41] [42].

As interferências químicas são geralmente diferentes para os diversos elementos. Estas afetam o processo de atomização ou ionização pela presença de elementos facilmente ionizáveis. A presença de elementos facilmente ionizáveis causa alterações na distribuição do estado do elemento a analisar com impacto na determinação das intensidades das respetivas emissões. Estas interferências podem ser corrigidas ou ultrapassadas com a diluição das soluções, o uso de padrões com uma matriz equivalente à das amostras ou a calibração pela técnica da adição de padrão [41].

## **2.7. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO**

Um requisito importante num laboratório químico é fornecer resultados de análise com qualidade adequada para uso futuro [44]. Desta forma, a validação é necessária em química analítica para demonstrar o desempenho do método e a confiabilidade e consistência dos resultados obtidos. O resultado obtido só pode ser considerado válido quando se uniformiza os critérios utilizados de modo a demonstrar que um método interno de ensaio tem as características adequadas para a obtenção de resultados com qualidade exigida [45] [46].

O laboratório deve dispor de meios e critérios específicos, de modo a demonstrar que os métodos internos de ensaio que executam, conduzem a resultados credíveis e adequados á qualidade pretendida [47]. Posto estes parâmetros o laboratório poderá vir a ser acreditado. Em Portugal o único instituto que pode acreditar um laboratório é o instituto Português de Acreditação (IPAC) pelo organismo de acreditação, que avalia as competências do mesmo na realização de ensaios e calibrações [48].

A validação é importante, não só para os laboratórios ou instituições, como para os clientes destes, na medida em que é fundamental saber selecionar o método que melhor se adapta a cada análise e assegure a qualidade dos resultados. Os requisitos mínimos para a

validação de métodos internos de ensaio dependem do tipo de método em causa e compreendem o estudo e conhecimento dos parâmetros de seletividade, gama de trabalho e linearidade, sensibilidade, limiares analíticos e finalmente precisão e veracidade [47].

### **2.7.1. GARANTIA DE QUALIDADE (QA) E CONTROLO DE QUALIDADE (CQ)**

De acordo com a ISO, a garantia de qualidade aborda as atividades que o laboratório realiza para fornecer confiança de que os requisitos de qualidade serão atendidos. Por outro lado, o controlo de qualidade descreve as medidas individuais que são usadas para realmente atender aos requisitos [45] [46].

O CQ é um conjunto de técnicas e atividades de carácter operacional utilizadas com vista a responder às exigências da qualidade com o objetivo de ter um sistema de deteção de erros baseados no controlo do processo analítico e identificar as causas de erros assim como eliminá-las [45].

A validação do método permite conhecer as capacidades e limitações de um método. Durante a etapa de validação, o método foi aplicado a amostras de conteúdo conhecido, uma vez que o método em uso rotineiro é usado para amostras de conteúdo desconhecido, o QC interno adequado pode ser aplicado a amostras de teste estáveis, permitindo assim determinar se o desempenho do método continua adequado. O CQ pode ser implementado apenas com meios do laboratório (CQ interno), ou dependendo da relação entre o laboratório e outros laboratórios (CQ externo) [45] [49].

## **CAPITULO-3**

### **PARTE EXPERIMENTAL**

No presente capítulo são apresentados os materiais e reagentes, assim como a descrição dos procedimentos e condições instrumentais das diferentes técnicas analíticas utilizadas para a análise de solos e corretivos orgânicos em uso no laboratório A2 Análises Químicas, Lda.

Em todo o trabalho experimental foi utilizada a água ultra-pura i obtida através de um sistema de purificação Millipore Milli-Q Gradient A10.

No anexo 1 encontram-se as frases de advertência de perigo e recomendações de prudência relativas aos reagentes apresentados.

### 3.1. MATERIAL, EQUIPAMENTO E REAGENTES

Na realização do processo analítico utilizou-se os reagentes apresentados na Tabela 9 e os diversos materiais de laboratório apresentado na Tabela 10 assim como os equipamentos indicados na Tabela 11. Para além do material de laboratório apresentado nestas tabelas utilizou-se material de uso comum de laboratório. Foi também utilizado ácido clorídrico (37 %) e ácido nítrico (65 %) da Fisher.

**Tabela 9** - Materiais de referência certificados (CRM) utilizados para a realização deste trabalho, com as respetivas e marcas, concentração.

Reagentes	Concentração (mg/L)	Marca
CRM Cadmio	10,001 ± 0,063	<i>Inorganic vestures</i>
CRM Chumbo	998,0 ± 4,0	<i>Inorganic vestures</i>
CRM Cobre	100,23 ± 0,33	<i>CAPchem</i>
CRM Cromo	1002,0 ± 4,0	<i>Inorganic vestures</i>
CRM Níquel	1000,0 ± 5,0	<i>Inorganic vestures</i>
CRM Zinco	1000,9 ± 2,6	<i>CPAchem</i>
<b>CRM MP</b>	Cr	2,5130 ± 0,0090
	Cu	2,4880 ± 0,0060
	Ni	2,0160 ± 0,0090
	Pb	4,992 ± 0,014
	Zn	4,964 ± 0,015
	Cd	0,04970 ± 0,00040

**Tabela 10** - Material de laboratório utilizado para a realização deste trabalho e respectivas incertezas. A incerteza apresentada para as micropipetas corresponde ao valor indicado pela entidade que fez a respetiva calibração.

<b>Material</b>	<b>Marca</b>	<b>Volume e incerteza (mL)</b>
<b>Almofariz de ágata</b>	<i>Merck</i>	-
<b>Micropipeta</b>	<i>Eppendorf</i>	1,0000 ± 0,0051 5,000 ± 0,049 10,00 ± 0,60
<b>Tubos de digestão</b>	<i>ETHOS UP</i>	-
<b>Balão volumétrico</b>	<i>Enzymatic</i>	25,000 ± 0,040 50,000 ± 0,060 100,00 ± 0,10
<b>Tubos de ICP</b>	<i>Normax</i>	-

**Tabela 11** - Equipamento utilizado para a realização do trabalho prático, como indicação das respetivas marcas, modelos e incertezas.

<b>Equipamento</b>	<b>Marca</b>	<b>Incerteza</b>
<b>Estufa 100L e 500L</b>	<i>Memmert UNB 500 e UFE 700</i>	1°C
<b>Triturador</b>	<i>BECKEN Moligrano</i>	-
<b>Balança Analítica</b>	<i>Mettler Toledo Classic Plus</i>	0,0001 g
<b>Digestor Micro-ondas</b>	<i>Milestone ETHOS UP</i>	-
<b>Espetrofotómetro de emissão ótica com plasma indutivo acoplado</b>	<i>ThermoScientific iCAP 6000 Series</i>	-
<b>Centrifuga</b>	<i>HERMLE Z206 A</i>	-
<b>Bomba de vácuo</b>	<i>Velp Scientifica</i>	-

Nas figuras 17 e 19 são apresentadas fotografias do digestor micro-ondas e do espectrofotómetro de emissão ótica com plasma indutivo acoplado utilizado neste trabalho.

### 3.2. RECOLHA DAS AMOSTRAS DE SOLO

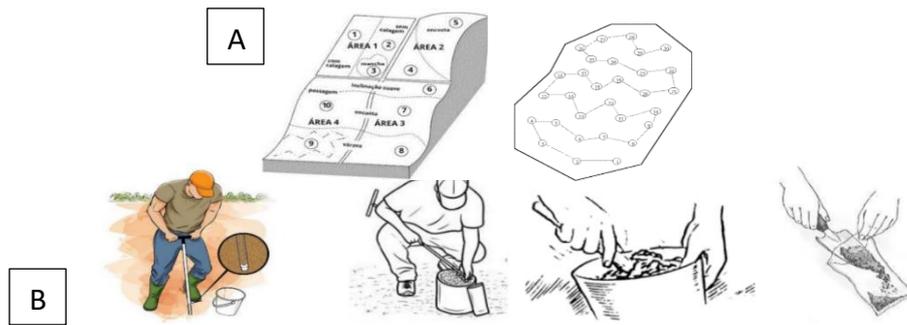
O primeiro passo no processo experimental é a obtenção da amostra. A amostragem é o processo de coletar uma quantidade de material suficientemente pequena em volume para ser transportado e manuseado convenientemente no laboratório, de modo que seja verdadeiramente representativa de todo o ambiente. Uma amostra é considerada representativa se refletir claramente as propriedades de interesse da população e manter intacta todas as características do sistema [27].

Quando se pretende analisar um solo a amostragem que mais se adequa é a amostragem composta, no entanto também é usual utilizar a amostragem sistemática.

Informa-se que de 80 % a 85 % do erro total nos resultados usados na recomendação de fertilizantes e corretivos pode ser atribuído à amostragem no campo [50]. Entretanto, Jorge relata em seu trabalho que a amostragem do solo é a etapa componente do programa de análise responsável por 98 % dos erros [51]. A amostragem mostra ser um dos passos críticos em uma análise química, o conhecer a quantidade de amostra que deve ser coletado e como subdividi-la, posteriormente, para se obter a amostra de laboratório, são vitais no processo analítico.

O processo de recolha da amostra pode ser realizado pelo cliente ou pelos técnicos do laboratório. O primeiro passo deve ser selecionar a área de amostragem, tendo em conta a topografia e o tipo de solo como fatores para determinar os limites de amostragem. Na figura 13 A) é apresentada a divisão do terreno em parcelas homogêneas e na figura 13 B) o procedimento de recolha de amostra utilizando uma sonda de aço inoxidável em ziguezague ao acaso, 15 a 25 pontos a uma profundidade de aproximadamente 30 cm, correspondendo a subamostras.

As subamostras, amostras simples, devem ser misturadas num recipiente de plástico limpo, dando origem a uma amostra composta. Após a homogeneização, recolhe-se aproximadamente 500 g de amostra composta, para um saco de plástico devidamente identificado [52] [53]. No caso dos solos, como se trata de amostras heterogêneas, é necessário recolher uma quantidade de amostra considerável, sendo que apenas uma parte desta será utilizada para a análise.



**Figura 13** - Na figura 13 (a) representação do processo de seleção e divisão em parcelas homogêneas da área de amostragem. Na figura 13 (b) Processo de recolha da amostra com a sonda de aço inoxidável, Adaptado de [53].

### 3.3. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras quando chegam ao laboratório são etiquetadas com um código específico para garantir a confidencialidade dos dados. As amostras, passam por um conjunto de processos, denominados de pré-tratamento. Este pré-tratamento depende do tipo de amostra, tipo de análise e ainda dos equipamentos utilizados.

No caso de amostras sólidas o pré-tratamento consiste na secagem, peneiramento e moagem. Para o estudo realizado utilizou-se para o pré-tratamento das amostras de solo e corretivos orgânicos.

#### 3.3.1. SECAGEM

Após homogeneização, é retirada uma porção de amostra para um recipiente de secagem também devidamente identificado, com o auxílio de uma colher de plástico, como apresentado na Figura 14.



**Figura 14** - Representação do processo de preparação das amostras de corretivos orgânicos. (A) amostra devidamente identificada; (B) Processo de secagem das amostras a 105°C;

A preparação das amostras seguiu o procedimento da norma ISO/DIS 12914 [54], onde a amostra é colocada numa estufa de secagem a 105°C, durante 4 h. O processo de secagem é muito comum em amostras sólidas que apresentem água em quantidades variáveis, que é o caso dos solos.

A secagem desempenha um papel crucial na análise química, uma vez que permite a preservação das amostras pela inibição da atividade microbiana e possibilita a expressão dos resultados em massa seca [55].

### 3.3.2. PENEIRAMENTO/MOAGEM

O processo de peneiramento/moagem ocorre após a secagem das amostras, se a amostra estiver totalmente seca, esta passa por um processo de peneiração de for um solo e se for um corretivo orgânico passa por um processo de trituração. Este procedimento tem como objetivo diminuir o tamanho das partículas, assim como tornar a amostra uniforme e homogénea. O facto de diminuir o tamanho das partículas faz com que haja um aumento da área superficial. Para proceder á moagem utiliza-se o recurso de peneiras ou moinhos. No caso dos solos o processo consiste na passagem do solo por uma peneira de inox com malha de 2 mm, enquanto são aplicados movimentos horizontais contínuos, durante alguns segundos, como apresentado na figura 15. O material suspenso na peneira é descartado, exceto se a massa da amostra peneirada não for suficiente para as análises a realizar. Nesse caso, o solo retido é macerado com auxílio de um martelo, e peneirado novamente.

Após o processo de peneiração, os solos são colocados em sacos de papel para serem utilizados nas análises.



**Figura 15** - Representação da peneiração das amostras de solo.

No caso dos corretivos orgânicos, as amostras são trituradas e só quando necessário peneiradas por uma peneira de 2 mm e colocadas novamente em sacos de papel devidamente rotulados. As etapas do processo estão apresentadas na figura 16.



**Figura 16** - Representação da preparação das amostras de corretivos orgânicos, processo de trituração das amostras.

Esta etapa, no entanto, pode constituir uma relevante fonte de erros sistemáticos e aleatórios. De modo a evitar contaminações da amostra durante o procedimento devem ser tomadas precauções tais como, o contacto direto das amostras com constituintes da peneira (aço inoxidável e bronze), a exposição do material durante o manuseio e a contaminação cruzada inerente ao uso de peneiras contaminadas [55].

### 3.4. EXTRAÇÃO DOS METAIS PESADOS

Para a quantificação de metais pesados em solos é necessário a utilização de um método de extração para que os metais possam ser libertados da matriz e fiquem em solução. A digestão das amostras utilizando água-régia em um forno micro-ondas foi o método de extração utilizado para a determinação de metais pesados e o procedimento para os solos baseou-se na norma ISO 12914: 2012 [54] e para os corretivos orgânicos baseou-se na ISO 54321:2020 [31]. Na figura 17 é apresentado o digestor micro-ondas utilizado.



**Figura 17** - Digestor micro-ondas utilizada para a extração dos analitos em estudo

Na figura 18 são apresentadas as etapas do processo de extração dos metais pesados, onde as amostras, antes de serem pesadas, foram trituradas, com a ajuda do almofariz. De seguida, pesaram-se 0,1 g de solo triturado para tubos de politetrafluoroetileno-co-perfluoropropil vinil éter (PFA), e adicionou-se 9 mL de HCl concentrado e 3 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado. Estes tubos foram fechados, colocados no rotor e submetidos a um programa de pressão e temperatura efetuando assim a digestão no micro-ondas. Depois do arrefecimento dos vasos, as amostras foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL, perfazendo-se o volume com água ultrapura. Por último as amostras são transferidas para em tubos de análise para ICP-OES.



**Figura 18** - Etapas do processo de extração dos metais pesados do solo.

Segundo as normas ISO 12914:2012 e ISO 54321:2020 a digestão utilizando água-régia e o forno micro-ondas tem de ter um programa de aquecimento de  $175 \pm 5^\circ\text{C}$  durante  $10 \text{ min} \pm 1 \text{ min}$  e de modo a garantir que a temperatura atinja os  $175^\circ\text{C}$  é aplicada uma potência entre 600-1400 W. O laboratório utiliza um programa de aquecimento e tempo diferente, assim como a potência exercida para atingir as condições indicadas, apresentado na Tabela 12.

O forno micro-ondas utilizado inclui um sensor de temperatura e de potencia, desta forma o equipamento regula a potência de modo a atingir as condições de temperatura definidas no programa.

**Tabela 12** - Programa de aquecimento utilizado para a digestão por micro-ondas de amostras de solo e corretivos orgânicos.

Etapa	Potência (W)	Temperatura (°C)	Tempo (min)
1	0-1800	0-180	20
2	1800	180	25

Inicialmente, realizou-se um estudo para determinar a massa de amostra a utilizar no ensaio, assim como o volume final da digestão após digestão, uma vez que na norma não era indicada essa massa. Para além deste estudo, e tendo em vista a informação apresentada nas normas indica que a digestão com água-régia por micro-ondas não é completa, decidiu-se efetuar um ensaio onde a amostra digerida era submetida a uma segunda digestão para verificar se realmente a digestão com água-régia era incompleta. Este estudo foi efetuado para uma amostra de solo.

### 3.4.1. ESTUDO PARA DETERMINAR A MASSA DE AMOSTRA E O VOLUME FINAL A UTILIZAR

Para este estudo utilizou-se uma amostras de solo e realizou-se o procedimento experimental referido anteriormente, no qual apenas se alterou a massa de amostra utilizada e o volume final da solução após a digestão. As massas utilizadas foram 0,5 g e 1,0 g e os volumes finais foram 50 mL e 100 mL, como é apresentado na tabela 13.

**Tabela 13** - Condições de operação para o estudo das massas e dos volumes da amostra de solo número 2022-11422.

	2022-11422	
massa (kg)	0,5000	1,0000
V (ml)	50	100

### 3.4.2. ESTUDO PARA DETERMINAR A EFICIÊNCIA DA DIGESTÃO

Neste estudo realizou-se a primeira digestão e após esta recolheu-se os resíduos que permaneceram no tubo para uma posterior (segunda) digestão.

No processo de recolha dos resíduos da primeira digestão foram utilizados dois métodos. O primeiro foi a filtração a vácuo, onde após a primeira digestão, a solução era filtrada a vaco e a filtro que continha o resíduo foi novamente seco. No segundo método a solução da primeira digestão foi centrifugada, após esta etapa o sobrenadante foi descartado e o condensado foi colocado num recipiente de vidro para secagem. Utilizando o resíduo de solo seco (obtido após a primeira digestão) foi realizada uma segunda digestão.

### 3.5. CURVA DE CALIBRAÇÃO

O método de quantificação de metais pesados utilizado no laboratório recorre ao equipamento ICP-OES. Na figura 19 é apresentado o equipamento utilizado para esta técnica.



**Figura 19** - Espectrofotómetro de emissão ótica com plasma indutivo acoplado utilizado como método de quantificação dos analitos em estudo.

Antes de proceder à quantificação dos metais pesados no solo é necessário proceder á realização das curvas de calibração. O procedimento para realizar as curvas de calibração pode ser dividido em 4 etapas, sendo a primeira a definição, no software, de análise do método onde se escolhe o analito e os comprimentos de onda para cada elemento, a segunda etapa a preparação dos padrões de calibração, a terceira etapa consiste na utilização de um

material de referência certificado, utilizado para controlo das curvas de calibração, e por fim as condições de operação do ICP-OES.

### 3.5.1. DEFINIÇÃO DAS CONDIÇÕES DE ANÁLISE DO MÉTODO

Primeiramente é definido no software do equipamento ICP-OES as condições de análise do método, onde se seleccionam os analitos em estudo e os comprimentos de onda da análise. A seleção dos comprimentos de onda é efetuada através da biblioteca disponíveis no equipamento ICP-OES sobre os diferentes comprimentos de onda disponíveis para os analitos em estudo e as possíveis interferências que este poderia sofrer.

Um fator importante na escolha dos comprimentos de onda é a matriz em estudo, sendo essencial ter noção dos constituintes e quais apresentam maior percentagem no solo e nos corretivos orgânicos que possam interferir na análise, de modo a minimizar as interferências espectrais.

Tendo em contra isto, os comprimentos escolhidos encontram-se apresentados na tabela 14, tendo mais que um comprimento de onda para analito.

**Tabela 14** - Comprimentos de onda escolhidos para cada elemento em estudo.

	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	<b>Cu</b>	<b>Cr</b>	<b>Ni</b>	<b>Zn</b>
<b><math>\lambda</math> (nm)</b>	214,4	216,9	217,8	267,7	216,5	206,2
	226,5	220,3	224,7	359,3	221,6	334,5
	228,8					

### 3.5.2. PREPARAÇÃO DOS PADRÕES DE CALIBRAÇÃO

O segundo passo foi a preparação e a análise dos padrões para a calibração. Na tabela 15 é apresentada a concentração de cada elemento nos diferentes padrões de calibração. Para esta escolha teve-se em consideração as concentrações apresentadas na legislação, Decreto-Lei nº 276/2009, para os solos [11] e Decreto-Lei nº 185/2022, para os corretivos orgânicos [8]. Na tabela 15 são apresentadas as concentrações de cada elemento em cada solução padrão.

**Tabela 15** – Concentrações das soluções padrão utilizadas para traçar as curvas de calibração.

	Concentração (mg/L)					
	Padrão 1	Padrão 2	Padrão 3	Padrão 4	Padrão 5	Padrão 6
<b>Cd</b>	0,004000 ± 0,000085	0,03300 ± 0,00054	0,0550 ± 0,0010	0,0860 ± 0,0084	0,2000 ± 0,0087	0,300 ± 0,004
<b>Pb</b>	0,286 ± 0,0057	2,222 ± 0,017	3,636 ± 0,060	5,71 ± 0,56	13,33 ± 0,57	20,00 ± 0,22
<b>Cu</b>	0,1860 ± 0,0037	1,444 ± 0,021	2,364 ± 0,040	3,71 ± 0,36	8,67 ± 0,37	13,00 ± 0,15
<b>Cr</b>	0,1860 ± 0,0038	1,444 ± 0,022	2,364 ± 0,041	3,71 ± 0,36	8,67 ± 0,38	13,00 ± 0,16
<b>Ni</b>	0,2000 ± 0,0042	1,556 ± 0,025	2,545 ± 0,046	4,00 ± 0,39	9,33 ± 0,41	14,00 ± 0,18
<b>Zn</b>	0,3290 ± 0,0060	2,556 ± 0,031	4,182 ± 0,062	6,57 ± 0,64	15,33 ± 0,65	23,00 ± 0,18

O procedimento de preparação dos padrões de calibração constitui na preparação da solução padrão 6 (mais concentrada) e sendo as restantes soluções padrão preparadas por diluição desta.

A preparação dos padrões de calibração foi efetuada utilizando materiais de referência certificados de cada elemento, apresentados na tabela 9. A todas as soluções padrão foi ácido nítrico e ácido clorídrico, nas mesmas quantidades que as utilizadas na preparação das amostras.

Foi também preparado um branco de reagente para medir a resposta instrumental de impurezas ou espécies que possam interferir na calibração da curva prefereagentes. Este branco de reagente também foi utilizando para preparar as soluções padrão 1 a 5.

O procedimento de preparação destas soluções foi o seguinte:

- **Branco de reagente** - Para um balão volumétrico de 100 mL transfere-se 3 mL de HNO<sub>3</sub> e 9 mL de HCl e perfaz-se o volume com água ultra-pura.
- **Solução padrão 6** – Para um balão volumétrico de 50 mL foram medidos os volumes dos materiais de referência certificados apresentados na tabela 16.
- **Solução padrão 1, 2, 3, 4 e 5**– Para um balão volumétrico de 25 ml foram medidos os volumes, da solução 6, apresentados na tabela 17. Para perfazer o volume utilizou-se um branco previamente preparado.

**Tabela 16** – Volumes dos materiais de referência certificados, ácido nítrico e ácido clorídrico utilizadas na preparação da solução padrão 6.

	CRM Cd	CRM Pb	CRM Cu	CRM Cru	CRM Ni	CRM Zn	HNO <sub>3</sub>	HCl
<b>Volume (mL)</b>	1,5000 ± 0,0057	1,0000 ± 0,0061	0,6500 ± 0,0051	0,6500 ± 0,0051	0,7000 ± 0,0051	1,1500 ± 0,0057	1,5000 ± 0,0057	4,5000 ± 0,0487

**Tabela 17** - Volumes da solução padrão 6 utilizada na preparação das soluções padrão 1, 2, 3, 4, e 5.

	Padrão 1	Padrão 2	Padrão 3	Padrão 4	Padrão 5
<b>Volume de solução padrão 6 (mL)</b>	0,3570 ± 0,0051	2,778 ± 0,022	4,545 ± 0,049	7,14 ± 0,60	16,67 ± 0,60

### 3.5.3. CONTROLO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO

De forma a avaliar a precisão e exatidão do método, foi utilizado um material de referência certificado MP apresentado na tabela 3. O MP contém todos os analitos em estudo, assim como as mesmas quantidades de ácido nítrico e ácido clorídrico que as amostras. Foi introduzida a informação da concentração dos analitos presentes no MP no software do ICP-OES.

Na figura 20 é apresentada a informação formada pelo equipamento relativa à concentração obtida para os analitos em estudo utilizada para validar a curva de calibração.

QC: COMP	26/05/2023 12:48:31	CONC								
Elem	Cd2144	Cd2265	Cd2288	Cr2677	Cr3593	Cu2178	Cu2247	Cu3273	Hg1849	
Units	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	
Avg	.0453	.0450	.0475	2.428	2.402	2.438	2.350	2.542	F.0065	
Stddev	.0000	.0000	.0000	.000	.000	.000	.000	.000	.0000	
%RSD	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	
#1	.0453	.0450	.0475	2.428	2.402	2.438	2.350	2.542	.0065	
Check ?	Chk Pass	Chk Pass	Chk Pass	Chk Pass	Chk Pass	Chk Pass	Chk Pass	Chk Pass	Chk Fail	
Value									.0100	
Range									-25.00%	
Elem	Hg1942	Hg2536	Ni2165	Ni2216	Pb2169	Pb2203	Zn2062	Zn3345		
Units	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm		
Avg	F.0055	F-.0042	1.920	1.875	5.074	4.897	4.654	4.535		
Stddev	.0000	.0000	.000	.000	.000	.000	.000	.000		
%RSD	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000		
#1	.0055	-.0042	1.920	1.875	5.074	4.897	4.654	4.535		
Check ?	Chk Fail	Chk Fail	Chk Pass							
Value	.0100	.0100								
Range	-25.00%	-25.00%								

**Figura 20** - Resultados das concentrações dos analitos em estudo em mg/L do material de referência certificado para diferentes comprimentos de onda fornecida pelo software do ICP-OES.

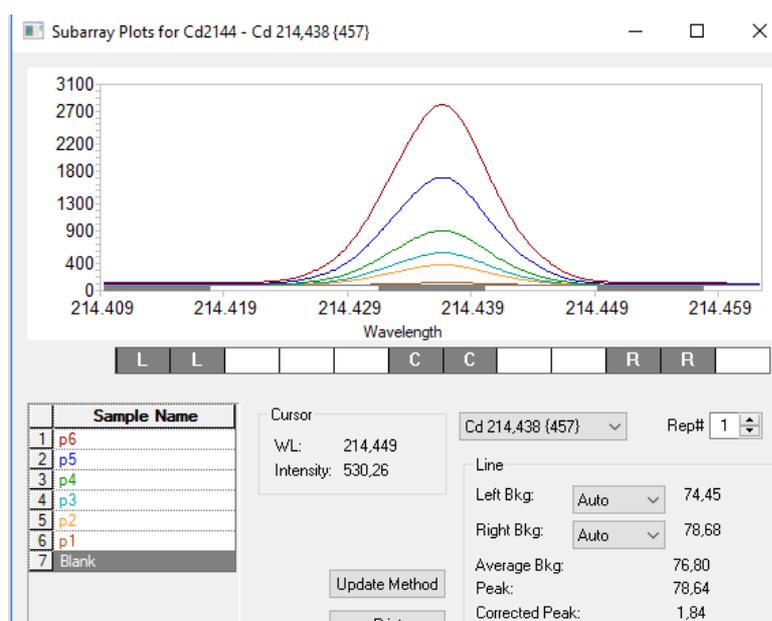
### 3.5.4. Condições de operação do ICP-OES

No ICP-OES a introdução das amostras como aerossóis é feita por um nebulizador SeaSpray Glass Expansion ARG-07-USS2. A potência do gerador de rádio utilizado foi de 750-1350 W. Na detecção utilizou-se um dispositivo de injeção de carga única, um detetor tipo CID (do inglês, Charge Injection Device). O software utilizado para o tratamento dos sinais eletrônicos foi o iTEVA da Thermo Scientific. Definiu-se as linhas espectrais para análise, tendo como base a interferência das linhas espectrais para cada elemento. Na Tabela 18 estão apresentadas as condições de operação do ICP-OES utilizadas [56].

**Tabela 18** - Condições de operação utilizadas no ICP-OES.

Condições de operação do ICP-OES	
Potência de RF	1150 W
Fluxo de argon no nebulizador	0,6 L/min ou 0,22 MPa
Gás auxiliar	0.5 L/min
Fluxo da bomba do nebulizador	100 rpm
Tempo de lavagem das amostras	5 s
Tempo de lavagem dos padrões	5 s

Os metais pesados foram determinados na vista radial e axial. Na figura 21, estão apresentados como exemplo os espectros de emissão obtidos para o cádmio nas soluções padrão.



**Figura 21** - Representação gráfica dos espectros obtidos para um branco e os diferentes padrões de calibração do cádmio, para o comprimento de onda 214,4 nm.

### **3.6. QUANTIFICAÇÃO DOS METAIS PESADOS**

Após a definição do método no software do equipamento ICP-OES, temos todas as condições necessárias para proceder à quantificação de metais pesados nas amostras de solo e corretivos orgânicos.

As amostras após a digestão com água régia são transferidas para tubos de ICP que posteriormente serão colocados num amostrador automático e o ICP-OES irá proceder à leitura das soluções padrão e posteriormente à leitura das amostras assim como do MP utilizado para controlo da curva.

**CAPITULO-4**  
**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No presente capítulo serão apresentados e discutidos os resultados obtidos no âmbito do trabalho realizado na A2-Análises Químicas. Inicialmente serão apresentados os resultados dos ensaios prévios para estabelecer as melhores condições para o método e em seguida os resultados da validação do método para amostras de solos assim como para corretivos orgânicos.

Os resultados são obtidos na calibração do método e das amostras a partir do software do ICP-OES em unidades relativas de intensidade de luz emitida ou em unidades de concentração (mg/L) que posteriormente são convertidos em unidade de concentração (mg/kg). Este equipamento faz uma correção automática dos resultados, sofrendo então uma regressão ponderada, onde os padrões de menor concentração têm um maior peso na curva de calibração, a correção exercida pelo equipamento está descrita no Anexo 2.

#### **4.1. ENSAIOS PRÉVIOS**

##### **4.1.1. ESTUDO DAS MASSAS E DO VOLUME FINAL**

De acordo com a norma ISO/DIS 12914 a massa da amostra a utilizar no ensaios deve ser entre 0,5 e 1,0 g com 0,001 g de precisão. Desta forma foi realizado um estudo para decidir a massas de amostra a utilizar, considerando que se pretendia a utilizar um volume final de solução (após digestão) de 100 mL para diminuir as perdas de analito na etapa de lavagem dos tubos após extração e transferência para o balão volumétrico.

O objetivo deste estudo foi comparar os resultados obtidos quando se efetua a extração utilizando 0,5 g de amostra para um volume final de 50 mL e 1,0 g de amostra para um volume final de 100 mL. A hipótese de utilizar 0,5 g para um volume final de 100 mL foi descartada logo no início, uma vez que a solução ficaria muito diluída e dificultaria a posterior análise por ICP-OES.

Os comprimentos de onda utilizados nos ensaios prévios eram os predefinidos pelo laboratório e os resultados são apresentados pelo ICP-OES em mg/L, sendo posteriormente convertidos em mg/kg para apresentação ao cliente e para comparação com os valores apresentados na legislação (Decreto-Lei nº 276/2009, para os solos [11] e Decreto-Lei nº 185/2022, para os corretivos orgânicos [8]).

Na tabela 18 são apresentados os resultados obtidos para a análise de uma amostra de solo, (2022-11411) de modo a estabelecer qual a massa de amostra e volume final que mais se adequa ao método. É ainda apresentada a variação dos resultados na forma de diferença (Dif) em percentagem, fazendo a diferença entre as concentrações obtidas nas diferentes condições a dividir pela média das concentrações obtidas. O laboratório definiu como aceitável um valor de diferença (Dif) inferior a 5 %.

**Tabela 18** – Concentração dos metais (em mg/L e mg/kg) obtidos por ICP-OES para a amostra de solo 2022-11422, após digestão com água régia, e a diferença (Dif) em percentagem da concentração para o estudo das massas de amostra (m) e dos volumes finais (V).

	$\lambda$ (nm)	Concentração (mg/L)		Concentração (mg/kg)		Dif. (%)
		m = 0,5017 g V = 50 mL	m = 1,001 g V = 100 mL	m = 0,5017 g V = 50 mL	m = 1,001 g V = 100 mL	
Cd	214,4	0,0024	0,0025	0,24	0,25	4,3
Pb	220,3	0,039	0,041	3,9	4,1	4,4
Cu	224,7	0,15	0,15	15	15	1,4
Cr	216,5	0,053	0,052	5,3	5,2	3,4
Ni	267,7	0,018	0,017	1,80	1,70	2,6
Zn	334,5	0,18	0,18	18,00	18,00	4,9

Analisando os resultados apresentados na tabela 18 é possível verificar que as concentrações obtidas nas duas situações são muito similares, com diferenças entre os resultados de 1,4 a 5 %, bastante inferiores a 15 %, o valor estipulado pelo laboratório, para os diferentes analitos. Este resultado mostra que existe uma baixa dispersão dos valores de concentração obtidos. Desta forma optou-se por usar 1,0 g de amostra e 100 mL de volume final, para facilitar a transferência da amostra digerida do tubo de digestão para o balão volumétrico e conseguir manter os tubos da digestão mais limpos.

#### 4.1.2. ESTUDO PARA AVALIAR A TOTALIDADE DA DIGESTÃO

Alguns autores referem que a digestão de amostras de solo com água régia não é completa, não são extraídos os metais pesados totais, no entanto a quantidade extraída é superior à bio disponíveis [18] [19] [30] [31] [54].

Com base nesta informação decidiu-se proceder a um estudo para avaliar se a digestão é completa onde, após a primeira digestão se recuperava a amostra que não tinha sido digerida, sendo esta recuperação feita por dois processos diferentes, por centrifugação e por filtração a vácuo. A amostra recuperada foi a utilizada posteriormente numa segunda digestão.

Este estudo teve como objetivo avaliar até que ponto a digestão de metais pesados utilizando água-régia poderia ser considerada como adequada para quantificar a totalidade de metais pesados no solo.

Na tabela 19 estão apresentadas as massas de amostra do corretivo orgânico (2023-187) utilizada para a primeira e segunda digestão, assim como a percentagem de massa recuperada após a primeira digestão com os dois métodos, centrifugação e filtração a vácuo.

**Tabela 19** - Massa da amostra de corretivo orgânico (2023-187) utilizada na primeira extração e massa da amostra recuperada (não digerida) por centrifugação e filtração a vácuo utilizada na segunda extração para o estudo da determinação da totalidade da digestão.

	Amostra 2023-187	
	Centrifugação	Filtração a vácuo
massa da amostra inicial (g) (usada na 1º digestão)	1,00300 ± 0,00010	1,00410 ± 0,00010
massa da amostra recuperada (g) (usada na 2º digestão)	0,43637 ± 0,00010	0,2868 ± 0,00010
Massa recuperada (%)	43,5	28,6

Os resultados apresentados na tabela 19 mostram que o processo de recuperação da amostra por centrifugação é um processo mais eficaz que a filtração a vácuo, conseguindo recuperar 43,5 % da massa de solo, ao contrário da filtração a vácuo que apenas recuperou 28,6 %.

Na tabela 20 são apresentadas as concentrações em mg/kg dos vários metais em estudo determinados por ICP-OES para a primeira e segunda digestão, assim como a média das concentrações obtidas.

**Tabela 20** – Concentração dos diferentes metais (em mg/kg) obtidos por ICP-OES para a amostra 2023-187, após a primeira e a segunda digestão com água régia, após recuperação das amostras por centrifugação e por filtração a vácuo.

	$\lambda$ (nm)	Concentração (mg/kg) Centrifugação			Concentração (mg/kg) Filtração a vácuo		
		1ª digestão	2ª digestão	Metal extraído na 2ª digestão (%)	1ª digestão	2ª digestão	Metal extraído na 2ª digestão (%)
Cd	214,4	4,04 ± 0,22	-0,01 ± 0,22	-0,34	3,72 ± 0,22	0,00 ± 0,22	-0,06
Pb	220,3	160,62 ± 0,16	1,83 ± 0,16	1,142	154,66 ± 0,16	1,40 ± 0,16	0,91
Cu	224,7	276,67 ± 0,13	2,45 ± 0,13	0,87	299,07 ± 0,13	2,45 ± 0,13	0,82
Cr	216,5	123,73 ± 0,12	2,68 ± 0,12	2,16	123,89 ± 0,12	2,12 ± 0,12	1,71
Ni	267,7	65,73 ± 0,20	3,58 ± 0,20	5,45	64,65 ± 0,20	2,02 ± 0,20	3,12
Zn	334,5	1428,7 ± 1,0	4,5 ± 1,0	0,3	1556,6 ± 1,0	5,8 ± 1,0	0,4

Comparando os resultados em mg/kg de ambas as digestões, tabela 20, é visível a existência de metais pesados na segunda digestão, o que leva a concluir que a primeira digestão não é completa, no entanto, os resultados são adequados ao método uma vez que a quantidade de metais pesados que se obtém na segunda digestão é muito pequena, inferior a 5 %, o que mostra que a primeira digestão extrai grandes percentagem dos diferentes metais. Verifica-se que a extração é mais eficiente para o Cd e Zn apresentando e menos eficiente para o Ni e para o Cr.

Este resultado era o esperado de acordo com a literatura e para fins analíticos os resultados de apenas uma digestão são apropriados, uma vez que o objetivo é quantificar os metais pesados existentes no solo que podem prejudicar os seres vivos [19] [30] [31].

## **4.2. VALIDAÇÃO DO MÉTODO**

A validação de um método requer a avaliação de parâmetros de desempenho do método. Neste estudo foram avaliados os seguintes parâmetros, seletividade, linearidade, sensibilidade, limiares analíticos, precisão e exatidão para o método de determinação de seis metais pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) em solos e corretivos orgânicos por ICP-OES após digestão com água régia. No decorrer deste capítulo serão apresentados os resultados obtidos para a validação de cada um dos parâmetros de desempenho.

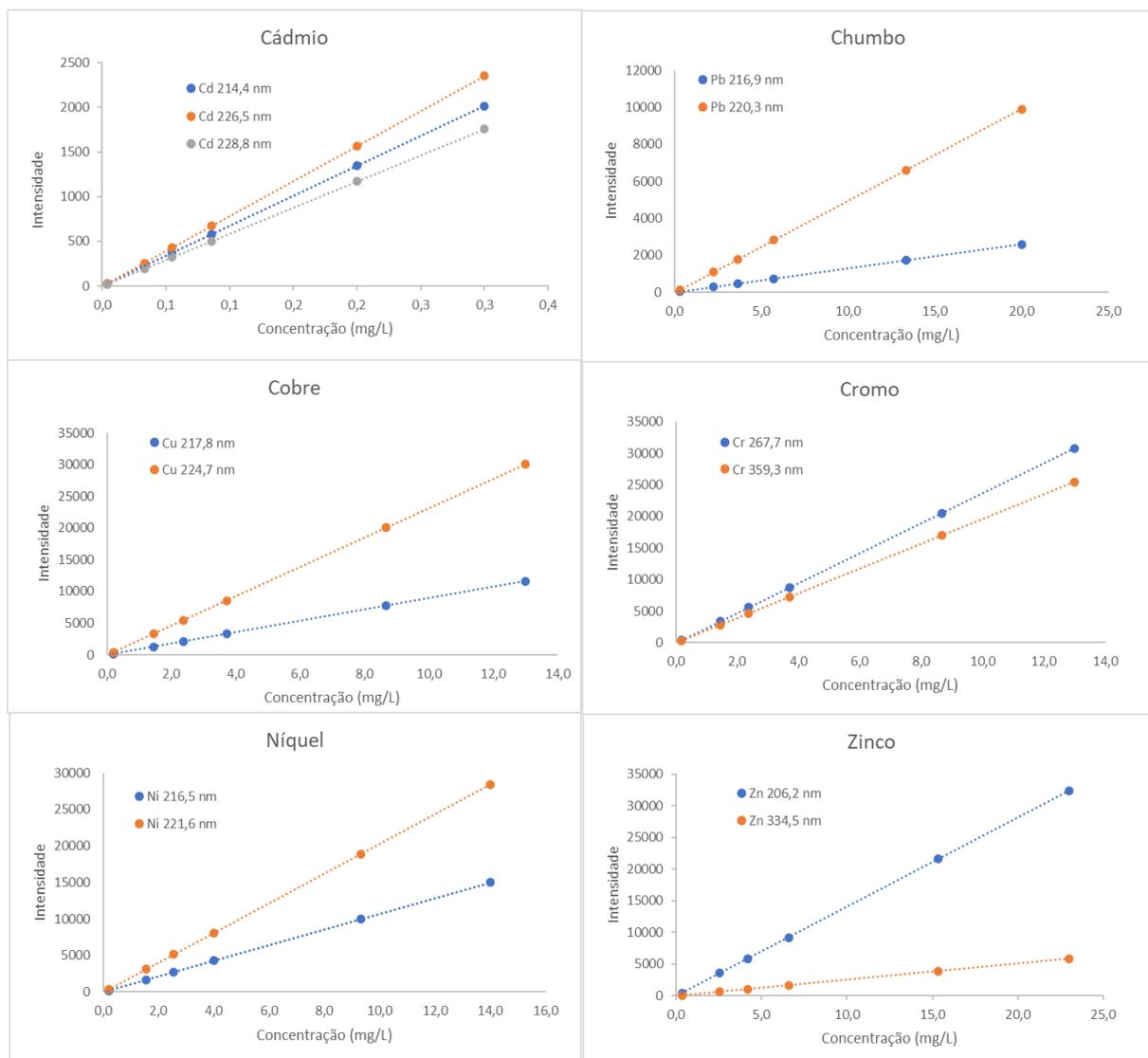
### **4.2.1. CURVA DE CALIBRAÇÃO**

O primeiro passo para a avaliação dos parâmetros de desempenho do método foi a construção das curvas de calibração, para os seis metais pesados, para isto foram utilizadas 6 soluções padrão como referido no capítulo 3. As concentrações das soluções padrão tiveram em consideração as quantidades de metais pesados que o Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro [11] e o Decreto-Lei nº 185/2022 de 21 de julho no caso dos corretivos agrícolas [8] estipularam com os admissíveis.

As curvas de calibração são obtidas a partir do software do ICP-OES, onde no eixo dos x temos a concentração do analito em mg/L e no eixo dos y temos a intensidade de luz emitida. O software deste equipamento faz uma correção automática dos resultados, utilizando uma regressão ponderada, onde os padrões de menor concentração têm um maior peso na definição da curva de calibração. O software do ICP-OES faz uma correção utilizando o inverso da concentração e está descrita no Anexo 2.

Na figura 22 estão apresentadas as curvas de calibração (regressão ponderada) traçada para os 6 metais pesados em estudo, obtidas em diferentes comprimentos de onda apresentados na tabela 14. Utilizam-se comprimentos de onda diferentes para o mesmo metal porque as amostras utilizadas apresentam diferente constituição e o risco de haver interferências espectrais é grande, podendo assim ser confirmadas ou desprezadas quando comparadas com os resultados obtidos noutra comprimento de onda.

**Figura 22-** Curvas de calibração da intensidade de luz emitida (SIR) em função da concentração do metal pesado obtidas por ICP-OES, para os diferentes comprimentos de onda para a) cádmio, b) chumbo, c) cromo, d) cobre, e) níquel e f) zinco.



As equações das retas de calibração, o coeficiente de correlação ( $r$ ), o desvio padrão que exprime a dispersão dos valores do sinal instrumental em torno da curva de calibração para regressão linear ponderada  $(S_{x/y})_w$ , o desvio padrão do método ( $S_m$ ) e o coeficiente de variação do método ( $CV_m$ ) estão apresentados na tabela 21. Os cálculos efetuados para obter as curvas de calibração, para a determinação do  $r$ , do  $S_{x/y}$ , do  $S_m$  e do  $CV_m$  encontram-se apresentados no Anexo 3.

**Tabela 21** - Equações das retas de calibração ponderada e respectivos parâmetros ( $r$ ,  $S_{(y/x)w}$ ,  $S_m$ ,  $CV_m$ ) efetuadas para cada um dos analitos por ICP-OES, aos diferentes comprimentos de onda.

	$\lambda$ (nm)	Equação	$r$	$S_{(y/x)w}$	$S_m$ (mg/L)	$CV_m$ (%)
Cd	214,4	$y = 6714,6x - 0,349$	0,9996	125,1	0,0036	3,2
	226,5	$y = 7848,1x - 2,9281$	0,9995	159,2	0,0041	3,6
	228,8	$y = 5863,6x - 1,7950$	0,9995	117,7	0,0041	3,6
Pb	216,9	$y = 129,04x - 1,1739$	0,9994	40,5	0,31	4,2
	220,3	$y = 495,39x - 14,884$	0,9995	129,4	0,26	3,5
Cu	217,8	$y = 895,47x - 15,365$	0,9994	176,1	0,20	4,0
	224,7	$y = 2317,1x - 43,31$	0,9996	348,8	0,15	3,1
Cr	267,7	$y = 2372,6x - 43,339$	0,9995	389,5	0,16	3,3
	359,3	$y = 1962,0x - 37,456$	0,99995	215,7	0,11	2,2
Ni	216,5	$y = 2033,9x - 38,124$	0,9996	173,2	0,16	3,0
	221,6	$y = 1074,4x - 20,671$	0,9995	379,5	0,19	3,5
Zn	206,2	$y = 1409,5x - 42,539$	0,9991	622,6	0,44	5,1
	334,5	$y = 255,58x - 8,2879$	0,9996	71,4	0,28	3,2

Observando os resultados apresentados na tabela 21, verifica-se que os valores de  $CV_m$  para os diferentes analitos e os diferentes comprimentos de onda são baixos, inferiores a 5 %, isto demonstra a qualidade das retas de regressão obtidas

#### 4.2.2. LINEARIDADE

A linearidade do método foi avaliada pela visualização dos gráficos obtidos e pelo coeficiente de correlação [57].

Pela análise visual dos gráficos apresentados na figura 22, verificamos que existe linearidade nos resultados obtidos.

Esta linearidade é ainda comprovada pelo valor de  $r$  para, de acordo com a tabela 21 verifica-se que todos resultados de  $r$  são superiores a 0,995 para todos os analitos, uma vez que são bastante superiores a 0,995, valor mínimo recomendado pelo guia relacre 13 [47], para o coeficiente de correlação de uma curva de calibração.

De modo a avaliar se a correlação  $r$  é significativa realizou-se também um teste de significância para os  $r$  obtidos para todos os analitos, para este teste calcula-se o  $t$  calculado ( $t_{cal.}$ ) equação 6 e compara-se com o  $t$  tabelado ( $t_{tab.}$ ). Neste teste se  $|t_{cal.}| > t_{tab.}$  significa que existe uma correlação entre  $x$  e  $y$ , caso  $|t_{cal.}| < t_{tab.}$  significa que não existe correlação entre  $x$  e  $y$ . Os resultados obtidos para este teste estão apresentados na tabela 22, para um nível de significância de 0,05 (95 % de probabilidade). Verifica-se que, para todos os metais,  $|t_{cal.}| > t_{tab}$  e concluímos que, para todas os analitos apresentam .uma correlação entre a concentração ( $x$ ) e o sinal ( $y$ ).

$$t_{cal} = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \quad \text{Equação 6}$$

**Tabela 22** - Resultados do teste de significância (test t) para avaliar a correlação (r) para um nível de significância de 0,05.

	$\lambda$ (nm)	t calculado	t tabelado
Cd	214,4	71,992	2,776
	226,5	64,051	2,776
	228,8	63,305	2,776
Pb	216,9	62,091	2,776
	220,3	65,044	2,776
Cu	217,8	57,673	2,776
	224,7	73,313	2,776
Cr	267,7	67,326	2,776
	359,3	201,647	2,776
Ni	216,5	74,094	2,776
	221,6	64,414	2,776
Zn	206,2	46,270	2,776
	334,5	69,997	2,776

#### 4.2.3. SENSIBILIDADE

A sensibilidade do método avalia a capacidade de um método ser capaz de distinguir pequenas diferenças de concentração de um analito. Este parâmetro é definido como sendo a derivada de primeira ordem da curva de calibração nestas zonas de concentrações [45]. Uma vez que temos somente equações de primeiro grau, a sensibilidade corresponde ao declive da reta de calibração. Na tabela 25 encontram-se os valores de sensibilidade do método para a análise dos diferentes analitos.

**Tabela 23** - Valores de sensibilidade do método para análise dos 6 analitos por ICP-OES

	$\lambda$ (nm)	Sensibilidade (mg/L) <sup>-1</sup>
Cd	214,4	6714,6
	226,5	7848,1
	228,8	5863,6
Pb	216,9	129,04
	220,3	495,39
Cu	217,8	895,47
	224,7	2317,1
Cr	267,7	2372,6
	359,3	1962,0
Ni	216,5	2033,9
	221,6	1074,4
Zn	206,2	1409,5
	334,5	255,58

Analisando os valores apresentados na tabela 23 verifica-se que a sensibilidade do método varia consoante o analito em estudo e o comprimento de onda escolhido para cada analito. O método é mais sensível para a análise de analitos como o cádmio e cromo. Para o cobre, níquel e zinco verifica-se que um dos comprimentos de onda destaca-se com maior sensibilidade sendo estes 224,7 nm, 221,6 nm e 206,2 nm respetivamente. Quando a amostra não apresenta interferentes deve ser utilizada a reta de calibração que apresente sensibilidade superior

#### 4.2.4. LIMIARES ANALÍTICOS

O limite de deteção (LDD) corresponde ao valor mínimo de concentração de um analito que o método é capaz de diferenciar do ruído com um determinado nível de confiança. O limite de quantificação (LDQ) é a menor concentração de analito que pode ser determinada com um determinado nível de precisão e exatidão [45]. Os limiares analíticos podem ser

calculados de diferentes modos, neste trabalho estes parâmetros foram estimados a partir dos parâmetros das retas de calibração dos metais em estudo utilizando as equações 7 e 8.

$$LDD = \frac{[3,3 \cdot s_{y/x}]}{b} \quad \text{Equação 7}$$

$$LDQ = 10 \cdot \frac{s_{y/x}}{b} \quad \text{Equação 8}$$

Na tabela 24 encontram-se detalhados os valores de LDD e LDQ do método em mg/L para os 6 analitos em estudo.

**Tabela 24** - Limites de quantificação (LDD) e detecção (LDQ) estimados a partir das retas de calibração traçadas, para a determinação de cada um dos analitos por ICP-OES.

	$\lambda$ (nm)	LDD (mg/L)	LDQ (mg/L)
Cd	214,4	0,012	0,04
	226,5	0,014	0,04
	228,8	0,014	0,04
Pb	216,9	1,0	3,1
	220,3	0,86	2,6
Cu	217,8	0,65	2,0
	224,7	0,50	1,5
Cr	267,7	0,54	1,6
	359,3	0,36	1,1
Ni	216,5	0,53	1,6
	221,6	0,62	1,9
Zn	206,2	1,5	4,5
	334,5	0,92	2,8

Através da análise dos valores apresentados na tabela 24 é possível verificar valores de limites de detecção são relativamente altos se tivermos em atenção o mínimo de concentração destes metais obtidos em amostras de solo e corretivos orgânicos. O mesmo acontece com os limites de quantificação. No entanto é importante lembrar que os LDD E LDQ

apresentados são os instrumentais, obtidos a partir dos parâmetros das retas de calibração pelo que, seria necessária uma nova avaliação destes limites.

Comparando os LDD com as concentrações dos analitos presentes na solução padrão 1 e acima das restantes soluções padrão utilizadas para traçar a curva de calibração, verifica-se que este encontra-se acima de ambas as concentrações dos analitos. Por outro lado, comparando os valores limite e valores máximos admissíveis apresentados no Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro no caso dos solos [11] e no Decreto-Lei nº 185/2022 de 21 de julho no caso dos corretivos agrícolas [8] verifica-se que os valores apresentado são superiores ao LDD e LDQ o que significa que estes são adequados para o objetivo da análise.

#### **4.2.5. EXATIDÃO**

##### **4.2.5.1. ENSAIOS DE RECUPERAÇÃO**

De modo a avaliar os erros proveniente do efeito de matriz neste tipo de análise, procedeu-se à realização de ensaios de recuperação [45]. Os ensaios de recuperação consistem na fortificação das amostras com quantidades conhecidas do analito e posterior determinação da concentração de analito. A percentagem de recuperação (R) foi calculada para cada analito através da equação 9.

$$R\% = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \quad \text{Equação 9}$$

Onde,  $C_1$  é a concentração na amostra fortificada,  $C_2$  é a concentração na amostra e  $C_3$  é a concentração da fortificação.

Neste ensaio foram utilizadas duas amostras, sendo um corretivo orgânico (2023-01181) e um solo (2023-0187). A fortificação foi efetuada utilizando os volumes de preparação do padrão de calibração 6 (mais concentrado) num balão volumétrico de 25 mL. Foram realizadas em três réplicas deste ensaio.

Na tabela 25 e 26 estão apresentados os resultados obtidos para as recuperações nas duas matrizes analisadas três replicas, corretivo orgânico e solo respetivamente, assim como a média das percentagens de recuperação de ambas as amostras e o respetivo desvio padrão.

**Tabela 25** - Resultados dos ensaios de recuperação, R (valores obtidos em cada réplica e valor médio), realizados em uma amostra de corretivo orgânico 2023-187 para os 6 analitos aos diferentes comprimentos de onda.

	$\lambda$ (nm)	Fortificação (mg/L)	R (%)			R <sub>Média</sub> (%)
<b>Cd</b>	214,4	0,006000 ± 0,000077	90,00	88,33	89,17	89,17 ± 0,68
	226,5		95,00	93,33	88,33	92,2 ± 2,8
	228,8		88,33	90,00	90,00	89,44 ± 0,78
<b>Pb</b>	216,9	0,4000 ±	97,00	101,50	97,00	98,5 ± 2,1
	220,3	0,0036	95,50	92,75	92,25	93,5 ± 1,4
<b>Cu</b>	217,8	0,2600 ±	96,92	91,15	98,08	95,4 ± 3,0
	224,7	0,0020	97,31	101,54	97,31	98,7 ± 2,0
<b>Cr</b>	267,7	0,2600 ±	93,77	98,04	97,23	96,3 ± 1,8
	359,3	0,0023	93,18	91,00	97,15	93,8 ± 1,2
<b>Ni</b>	216,5	0,2800 ±	94,00	93,85	92,93	92,8 ± 1,0
	221,6	0,0093	92,28	97,86	97,11	95,7 ± 2,5
<b>Zn</b>	206,2	0,4600 ±	95,6	93,5	102,2	97,1 ± 3,7
	334,5	0,0061	93,5	95,6	95,7	94,9 ± 1,0

**Tabela 26** - Resultados dos ensaios de recuperação, R (valores obtidos em cada réplica e valor médio), realizados em uma amostra de solo 2023-1181 para os 6 analitos aos diferentes comprimentos de onda.

	$\lambda$ (nm)	Fortificação (mg/L)	Recuperação (%)			R <sub>Média</sub> (%)
<b>Cd</b>	214,4	0,006000 ± 0,000077	89,00	89,67	88,33	89,00 ± 0,54
	226,5		88,33	88,00	89,83	88,72 ± 0,80
	228,8		88,00	89,33	88,33	88,56 ± 0,57
<b>Pb</b>	216,9	0,4000 ±	91,25	93,94	93,44	92,9 ± 1,2
	220,3	0,0036	91,22	97,22	91,95	93,5 ± 2,7
<b>Cu</b>	217,8	0,2600 ±	98,19	97,0,0	95,58	96,9 ± 1,1
	224,7	0,0020	93,54	92,73	93,00	93,09 ± 0,33
<b>Cr</b>	267,7	0,2600 ±	97,53	98,73	98,72	98,33 ± 0,56
	359,3	0,0023	97,15	95,98	97,18	96,77 ± 0,56
<b>Ni</b>	216,5	0,2800 ±	98,4	98,9	95,7	97,7 ± 1,4
	221,6	0,0093	95,46	94,35	93,08	94,29 ± 0,97
<b>Zn</b>	206,2	0,4600 ±	90,91	95,36	95,24	93,8 ± 2,1
	334,5	0,0061	99,91	96,50	95,43	97,3 ± 1,9

Os valores médios de recuperação obtidos para as amostras de corretivos orgânicos, tabela 25, encontram-se entre 89 % e 98 %, sendo de ressaltar que o cádmio é o analito que apresenta uma menor recuperação, sendo também o que recebe uma menor fortificação.

Os valores médios de recuperação obtidos para amostras de solo, apresentados na tabela 26 encontram-se entre 88 % e 98 %, e á semelhança do observador para o corretivo organico o cádmio é o analito que apresenta uma menor recuperação.

Comparando os metais em estudo podemos concluir que o cádmio é o que apresenta uma menor recuperação nas duas matrizes, no entanto comparando valores de recuperação obtidos com os valores de recuperação esperados para estas concentrações de analito (80-110 %) verificamos que todos os valores estão incluídos neste intervalo, ou seja, o método não apresenta desvios nos resultados obtidos, o método é exato [58].

O facto de se obter valores mais baixos de recuperação para valores de concentração inferiores não é muito critico para o laboratório uma vez que quando o cliente pede uma análise deste tipo tem como intuito saber a quantidade de metais pesados no solo/corretivo orgânico se encontra acima do descrito no Decreto-Lei nº 185/2022 [8] e no e Decreto-Lei nº 276/2009 [11] de modo a corrigir, se os valores se encontrarem abaixo dos descritos no Decreto-Lei o solo/corretivo orgânico passa nos parâmetros indicados.

#### 4.2.5.2. ENSAIOS INTERLABORATORIAIS

A exatidão do método foi também avaliada através da participação num ensaio interlaboratorial, no qual todos os participantes analisaram a mesma amostra fornecida pela entidade organizadora WEPAL-QUASIMEME. Para avaliar os resultados procedeu-se ao cálculo do Z-score, equação 10 e o Erro Total, equação 11 que é a incerteza que é usada para avaliar os resultados dos laboratórios participantes.

$$Z - score = \frac{(X_i - X_{pt})}{Erro\ total} \quad \text{Equação 10}$$

$$Erro\ total = \sqrt{u_x^2 + s^2} \quad \text{Equação 11}$$

Sendo. Xi o valor obtido pelo laboratório, Xpt a média de todos os valores, e o Erro Total unidade de desvio definido pela entidade organizadora do ensaio interlaboratorial. Na equação 11, representa a incerteza padrão do valor atribuído e s é o desvio padrão calculado com o model NDA.

Na tabela 27 são apresentados os resultados obtidos no ensaio interlaboratorial, o erro total que é fornecido pela entidade organizadora do ensaio, a média dos resultados obtidos pelos vários laboratórios que participam e ainda o Z-score, equação 10.

**Tabela 27** - Resultados obtidos nos ensaios interlaboratoriais efetuados para amostras de solo (1, 2, 3 e 4) para análise dos diferentes metais pesados, para avaliação da exatidão do método.

	Amostra	Erro total (mg/kg)	Concentração Média dos Labs (mg/kg)	Concentração (mg/kg)	Z-score
Cd	1	0,11	1,32	1,40 ± 0,22	-0,74
	2	0,07	0,56	0,77 ± 0,22	-2,94*
	3	0,02	0,27	0,28 ± 0,22	-0,30
	4	0,05	0,30	0,31 ± 0,22	-0,24
Pb	1	23,90	240,00	233,07 ± 0,18	0,29
	2	5,29	36,00	31,42 ± 0,18	0,86
	3	1,80	14,30	12,64 ± 0,18	0,92
	4	9,35	44,20	45,46 ± 0,18	-0,13
Cu	1	6,38	48,70	60,92 ± 0,11	-1,9
	2	2,5	31,4	25,20 ± 0,11	2,5*
	3	1,0	12,4	10,10 ± 0,11	2,4*
	4	3,95	29,10	21,40 ± 0,11	1,94
Cr	1	5,03	35,70	36,40 ± 0,12	-0,14
	2	3,33	41,10	44,97 ± 0,12	-1,16
	3	3,88	22,60	26,32 ± 0,12	-0,96
	4	2,37	24,90	24,07 ± 0,12	0,35
Ni	1	1,65	17,20	17,77 ± 0,20	-0,35
	2	2,05	33,10	32,51 ± 0,20	0,29
	3	1,00	6,20	7,50 ± 0,20	-1,36
	4	2,37	24,90	24,07 ± 0,20	0,35
Zn	1	31,4	377,0	334,3 ± 1,0	1,4
	2	10,60	140,0	129,8 ± 1,0	0,96
	3	1,94	25,10	23,32 ± 1,0	0,91
	4	5,0	78,6	67,1 ± 1,0	2,3*

\* - Resultado questionável.

A avaliação dos resultados do ensaio interlaboratorial é feita recorrendo ao valor absoluto do Z-score. Os valores são questionáveis se  $2 < |Z| < 3$ , sendo representados na tabela 27 com um \*

Através da análise da tabela 27, conseguimos concluir que não foram obtidos resultados incorretos, o que mostra a exatidão do método implementado no laboratório para a determinação dos vários metais pesados. No entanto, temos alguns casos de aviso, o que significa que os resultados para estes analitos e naqueles comprimentos de onda são questionáveis e deverá ser avaliado a possibilidade de introduzir melhorias no procedimento/método de modo a obter resultados com desvios inferiores.

Comparando os resultados obtidos neste ensaio com o ensaio das recuperações, é de esperar os resultados questionáveis no Cd, sendo este o elemento que apresentou recuperações mais baixas, tanto o Cu como o Zn apresentam valores de recuperações bastante altos o que não vai de acordo com os resultados questionáveis apresentados neste ensaio.

#### 4.2.6. PRECISÃO

O parâmetro que avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas na mesma amostra é a precisão [45]. No presente estudo a precisão do método de análise foi verificada em condições de repetibilidade para amostras e de precisão intermedia em padrões e amostras. A avaliação de ambos os parâmetros será efetuada usando os coeficiente de variação (CV) obtidos utilizando as equações 12 e 13 [47].

$$CV_r = \frac{S_r}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{Equação 12}$$

$$CV_I = \frac{S_i}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{Equação 13}$$

Onde  $S_r$  é o desvio padrão da repetibilidade,  $S_i$  é o desvio padrão da precisão intermedia e  $\bar{x}$  é o valor médio dos valores obtidos.

#### 4.2.6.1. REPETIBILIDADE

Para avaliar a repetibilidade analisou-se, em condições de repetibilidade, 6 réplicas de uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) e de uma amostra de solo (2023-1181) durante 6 dias diferentes. Através da análise de variância (ANOVA) simples determinou-se o coeficiente de variação de repetibilidade CVr para ambos os analitos e os diferentes comprimentos de onda. O limite de repetibilidade,  $r$ , equação 14, é o valor abaixo do qual se deve situar, com uma probabilidade específica (normalmente 95%), a diferença absoluta entre dois resultados de ensaio,  $X_i, X_{i-1}$ .

$$r = 2,8. sr \quad \text{Equação 14}$$

Os resultados obtidos nos ensaios de avaliação da precisão em condições de repetibilidade estão apresentados na tabela 28 (amostra de corretivo orgânico) e na tabela 29 (amostra de solo)

**Tabela 28** – Desvio padrão de repetibilidade (Sr), coeficiente de variação de repetibilidade (CVr) e limite de repetibilidade (r) para a análise de 6 réplicas de uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) por ICP-OES.

	$\lambda$ (nm)	Sr (mg/kg)	CVr (%)	r (mg/kg)
Cd	214,4	0,0021	5,8	0,0076
	226,5	0,014	7,4	0,041
	228,8	0,00080	2,1	0,00261
Pb	216,9	0,088	5,0	0,285
	220,3	0,057	3,9	0,378
Cu	217,8	0,030	1,1	0,101
	224,7	0,18	7,7	0,50
Cr	267,7	0,0047	0,42	0,0137
	359,3	0,022	1,2	0,190
Ni	216,5	0,029	4,3	0,085
	221,6	0,018	3,0	0,120
Zn	206,2	0,20	2,3	0,57
	334,5	0,50	4,5	1,43

Os resultados apresentados na tabela 28 revelam que os valores de coeficiente de variação para a repetibilidade são inferiores ou iguais a 10 % para todos os analitos, e por isso encontram-se dentro dos parâmetros aceites pelo laboratório. Estes resultados mostram que o método é preciso, em condições de repetibilidade, para todos os metais analisados.

Os valores de r serão utilizados como controlo pelo laboratório para definir a diferença abaixo da qual devem haver diferenças entre dois resultados de ensaio.

**Tabela 29** - Valores do desvio padrão de repetibilidade (Sr), coeficiente de variação de repetibilidade (CVr) e limite de repetibilidade (r), para a análise de 6 réplicas de uma amostra de solo (2023-1181) por ICP-OES.

	$\lambda$ (nm)	Sr (mg/kg)	CVr (%)	r (mg/kg)
Cd	214,4	0,000087	6,1	0,00024
	226,5	0,00019	0,52	0,00052
	228,8	0,00010	6,8	0,00033
Pb	216,9	0,0020	2,6	0,0055
	220,3	0,0033	3,9	0,0092
Cu	217,8	0,00022	0,065	0,00062
	224,7	0,008	2,6	0,022
Cr	267,7	0,00022	0,068	0,00062
	359,3	0,00022	0,073	0,00062
Ni	216,5	0,015	8,5	0,042
	221,6	0,063	13	0,17
Zn	206,2	0,003	1,2	0,010
	334,5	0,019	5,4	0,055

Os resultados apresentados na tabela 29 revelam que os valores dos coeficientes de variação para a repetibilidade estão abaixo dos 10 % para todos os analitos e por isso estão a passar o limite para serem considerados aceites pelo laboratório.

Comparando as duas matrizes podemos verificar que para ambas o método se apresentou preciso em termos de repetibilidade, no entanto os resultados de repetibilidade do solo (2023-1181) apresentam valores superiores de CV do que a amostra de corretivo orgânico (2023-187).

#### 4.2.6.2. PRECISÃO INTERMÉDIA

Para avaliar a precisão intermédia analisou-se, em condições de repetibilidade,  $n = 6$  em 6 dias, a amostra 2023-187 e a amostra 2023-1181. Através da ANOVA simples determinou-se o coeficiente de variação da precisão intermédia CVi para ambos os analitos e os diferentes comprimentos de onda.

O limite de precisão intermédia,  $R$ , equação 15 é o valor abaixo do qual dois resultados de medida se devem situar, para uma dada probabilidade, em condições de reprodutibilidade.

$$I = 2,8 \cdot si$$

Equação 15

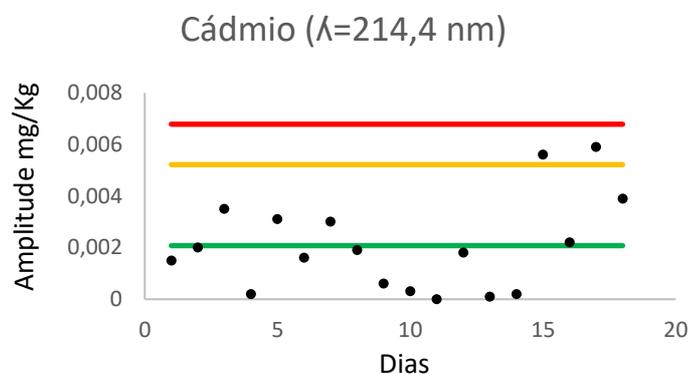
**Tabela 30** - Desvio padrão da precisão intermédia (SI), coeficiente de variação da precisão intermédia (CVI) e limite de precisão intermédia (I), para a análise de 6 analitos de uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) por ICP-OES.

	$\lambda$ (nm)	Si (mg/kg)	CVi (%)	I (mg/kg)
Cd	21,4	0,003	7,7	0,0076
	226,5	0,015	7,7	0,041
	228,8	0,0009	2,5	0,0026
Pb	216,9	0,10	5,8	0,28
	220,3	0,13	9,3	0,38
Cu	217,8	0,036	1,3	0,10
	224,7	0,18	7,8	0,50
Cr	267,7	0,005	0,43	0,014
	359,3	0,07	3,8	0,19
Zn	206,2	0,20	2,3	0,57
	334,5	0,5	4,6	1,4
Ni	216,5	0,030	4,5	0,085
	221,6	0,04	7,2	0,12

Observando a tabela 30 podemos verificar que para todos os analitos os coeficientes de variação de precisão intermédia são inferiores a 10 % e são aceites pelo laboratório ( $\leq 15$  %).

Uma outra forma de avaliar a precisão intermédia é recorrendo ao uso de cartas de controlo de Amplitudes. As cartas de controlo de Amplitudes foram construídas efetuando duplicados da análise e da amostra de corretivo orgânico (2023-187) e da amostra de solo (2023-1181) onde se calculou a amplitude média. O valor alvo corresponde à amplitude média de 18 amostras e os respetivos duplicados. limites de aviso e controlo encontram-se tabelados sendo o limite inferior de aviso (D3) e controlo (D'3) e igual a 0 respetivamente, o limite superior de controlo (D'4) é de 3,267 e o limite superior de aviso (D4) é de 2,512 [59].

Na figura 23 a carta de amplitude elaborada para a análise da amostra de corretivo orgânico para o cádmio a 214,4 nm. As restantes cartas de controlo para os restantes elementos e comprimentos de onda encontram-se apresentadas no anexo 5 A.



**Figura 23** - Carta de controlo de amplitudes para amostra de corretivo orgânico (2023-187), para a análise do cádmio por ICP-OES, a 214,4 nm.

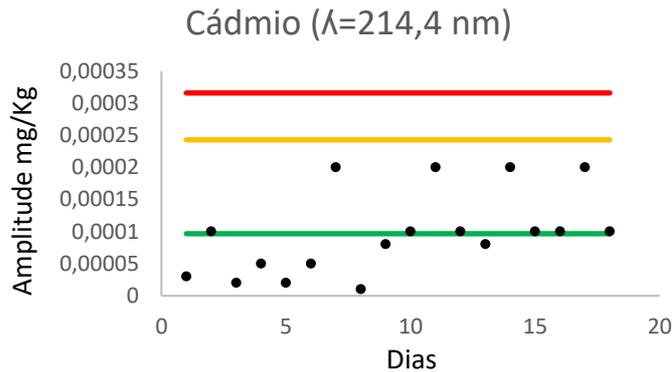
Como é possível observar pela figura 23 verificamos que todos os resultados se encontram abaixo do limite superior de controlo e apenas o cádmio apresenta dois resultados que ultrapassam o limite superior de aviso. Estes resultados mostram que o método é preciso em condições de precisão intermédia e estão de acordo com a informação relativa a este parâmetro obtido utilizando a ANOVA, comprovando que o método é preciso. As cartas de controlo obtidas para os restantes metais e comprimentos de onda (anexo 5A) são semelhantes à apresentada na figura 23 e permitem confirmar que o método é preciso para determinações dos restantes parâmetros.

**Tabela 31** - Desvio padrão da precisão intermédia (SI), coeficiente de variação da precisão intermédia (CVI) e limite de precisão intermédia (I) para a análise de 6 analitos de uma amostra de corretivo orgânico (2023-1181) por ICP-OES.

	$\lambda$ (nm)	Si (mg/kg)	CVi (%)	I (mg/kg)
Cd	21,4	0,000090	6,4	0,00025
	226,5	0,0005	1,5	0,0014
	228,8	0,000012	7,7	0,00029
Pb	216,9	0,0020	2,7	0,0056
	220,3	0,0033	3,9	0,0093
Cu	217,8	0,00023	0,067	0,00065
	224,7	0,008	2,7	0,023
Cr	267,7	0,00023	0,070	0,00065
	359,3	0,00023	0,076	0,00065
Ni	216,5	0,018	10	0,051
	221,6	0,063	13	0,17
Zn	206,2	0,009	3,2	0,026
	334,5	0,022	6,1	0,062

Semelhante à amostra de corretivo orgânico, também as amostras de solo apresentam na tabela 33 apresenta coeficientes de variação de precisão intermédia aceites pelo laboratório (>15 %). No entanto, é de ressaltar que o Ni 221,6 nm é o elemento que apresenta maiores valores de CV.

De modo semelhante ao efetuado para o corretivo orgânico, a precisão intermédia do método de análise para a matriz de solo foi avaliada recorrendo também a cartas de controlo. Na figura 17 temos um exemplo da carta de amplitude traçada para a amostra de solo para a análise do cadmio a 214,4 nm, as restantes cartas de controlo encontram-se apresentadas no anexo 5 B.



**Figura 24** - Carta de controlo de amplitudes para amostra de solo (2023-187), para a análise do cádmio a 214,4 nm.

Como é possível observar pela figura 24 e pelas figuras apresentadas no anexo 5B verificamos que todos os resultados se encontram abaixo do limite superior de controlo e nenhum ultrapassa o limite superior de aviso. Estes resultados encontram semelhantes com os obtidos pelo método da ANOVA, o que confirma assim a precisão do método em condições de precisão intermédia.

#### 4.2.8. INCERTEZA DO MÉTODO

De acordo com o guia relacre 31 [60], as abordagens mais usadas na quantificação da incerteza de medição são a abordagem de modelação, a abordagem "passo a passo"; a abordagem baseada em informação interlaboratorial e a abordagem baseada em dados de validação e/ou controlo da qualidade do ensaio recolhidas em âmbito interlaboratorial.

Neste estudo, utilizou-se a abordagem passo a passo para o cálculo da incerteza das soluções padrão utilizadas para a construção da curva de calibração e a abordagem baseada em dados de validação e/ou controlo de qualidade do ensaio recolhidas em âmbito interlaboratorial para a avaliação da incerteza do método. Esta abordagem envolve a combinação de duas componentes de incerteza principais que descrevem o desempenho do método analítico.

As componentes principais da incerteza são a incerteza padrão associada aos efeitos aleatórios (incerteza de precisão) e a incerteza padrão associada aos efeitos sistemáticos (incerteza de veracidade/justeza). Existem diversas métodos para a determinação das incertezas associadas à precisão e veracidade.

#### 4.2.8.1. INCERTEZA ASSOCIADA À PRECISÃO

Neste estudo, para determinar a incerteza associada à precisão utilizou-se a amplitude média dos duplicados de amostras de solo e de corretivo orgânico, como apresentado na equação 16 [60].

$$u_{\text{preci,amost}} = S_{\text{precisão}} = \frac{\bar{A}}{1,128} \quad \text{Equação 16}$$

Sendo a  $\bar{A}$  amplitude média dos duplicados de amostra extraídas da carta de controle de amplitudes.

Os valores obtidos para esta incerteza encontram-se apresentados na tabela 32, para ambas as matrizes.

**Tabela 32** - Incerteza relativas associada à precisão estimada utilizando a amplitude médias de amostras de corretivo orgânico (2023-187) e de solo (2023-1181)

	$\lambda$ (nm)	$u_{\text{preci,amost}}$	
		Corretivo orgânico 2023-187	Solo 2023-1181
Cd	21,4	0,0018	0,000086
	226,5	0,0051	0,0014
	228,8	0,00077	0,000095
Pb	216,9	0,084	0,0020
	220,3	0,048	0,0031
Cu	217,8	0,029	0,023
	224,7	0,050	0,0069
Cr	267,7	0,0049	0,028
	359,3	0,024	0,021
Ni	216,5	0,028	0,014
	221,6	0,062	0,13
Zn	206,2	0,22	0,014
	334,5	0,24	0,019

#### 4.2.8.2. INCERTEZA ASSOCIADA À VERACIDADE/JUSTEZA

Para a componente da veracidade/justeza a incerteza foi calculada com base na avaliação dos erros de medição observados em ensaios sobre amostras fortificadas.

Nos ensaios de recuperação é necessário a realização de réplicas e é importante considerar a diferença entre a recuperação observada e a completa (100 %) ou a diferença entre a recuperação observada e a recuperação média, quando os resultados do método são corrigidos com base na recuperação média e ainda a incerteza da concentração de analito adicionado.

A componente da incerteza associada ao *bias* do método e laboratório é então dada pela equação 17, onde  $b_{rms}$  é o valor quadrático médio dos desvios dos ensaios de recuperação e  $u_{add}$  a incerteza da concentração de analito adicionada. Por sua vez  $b_{rms}$  é dado pela equação 18 onde  $b_i$  é o desvio relativo à recuperação completa ou à média e  $n_\eta$  é o número de ensaios de recuperação efetuadas. Já o  $u_{add}$  é dada pela equação 19 onde  $u_V$  é a incerteza do volume adicionado e  $u_{conc}$  é a concentração da solução utilizada para fazer a fortificação.

$$ub = \sqrt{b_{rms}^2 + u_{add}^2} \quad \text{Equação 17}$$

$$b_{rms} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_\eta} b_i^2}{n_\eta}} \quad \text{Equação 18}$$

$$u_{add} = \sqrt{u_V^2 + u_{conc}^2} \quad \text{Equação 19}$$

As incertezas relativas associadas à veracidade/justeza estão apresentadas na tabela 33 para ambas as matrizes em estudo.

**Tabela 33** – Incerteza relativa associada à veracidade/justeza para uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) e uma amostra de solo (2023-1181) estimada utilizando dados de ensaios de recuperação.

		<i>u<sub>b</sub></i>	
		$\lambda$ (nm)	
		Corretivo orgânico 2023-187	Solo 2023-1181
Cd	214,4	0,11	0,11
	226,5	0,083	0,11
	228,8	0,10	0,11
Pb	216,9	0,026	0,072
	220,3	0,067	0,071
Cu	217,8	0,055	0,033
	224,7	0,024	0,069
Cr	267,7	0,058	0,11
	359,3	0,10	0,13
Ni	216,5	0,098	0,028
	221,6	0,078	0,058
Zn	206,2	0,047	0,065
	334,5	0,052	0,034

#### 4.2.8.3. INCERTEZA COMBINADA E EXPANDIDA

A incerteza combinada,  $u_c(y)$  é também denominada como incerteza global. Para obter a incerteza combinada utiliza-se a Lei da Propagação das incertezas, são consideradas as componentes relativas à precisão,  $u_{RW}$ , e ao *bias*,  $u_b$ .

$$u_c = \sqrt{u_{RW}^2 + u_b^2} \quad \text{Equação 20}$$

Para o cálculo da incerteza combinada foi necessário determinar a componente relativa à precisão utilizando cartas de amplitudes com 18 duplicados de amostra e a componente relativa ao *bias* utiliza ensaios de recuperação. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 34 para ambas as matrizes em estudo.

**Tabela 34** - Incerteza combinada para uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) e uma amostra de solo (2023-1181) estimada utilizando dados da incerteza da precisão (cartas de amplitudes) e dados da incerteza do bias (ensaios de recuperação)

		$u_c$	
		$\lambda$ (nm)	
		Corretivo orgânico 2023-187	Solo 2023-1181
Cd	214,4	0,11	0,11
	226,5	0,083	0,11
	228,8	0,10	0,11
Pb	216,9	0,088	0,072
	220,3	0,082	0,071
Zn	217,8	0,23	0,067
	224,7	0,51	0,038
Cu	267,7	0,062	0,17
	359,3	0,055	0,23
Ni	216,5	0,10	0,031
	221,6	0,099	0,14
Cr	206,2	0,058	0,12
	334,5	0,11	0,13

A incerteza expandida,  $U(y)$  obtida através da equação 21, corresponde a um intervalo em torno do resultado de uma medida que se espera que contenha uma grande fração dos valores que podem ser atribuídos a uma mensurada. É o produto da incerteza padrão combinada por um fator superior a 1, denominado fator de expansão ou de cobertura,  $k$ .

Para o cálculo da incerteza expandida utiliza a incerteza combinada determinada anteriormente e  $k$  é igual a 2. Os resultados obtidos são apresentados na tabela 35.

$$U(y) = k \cdot u_c$$

Equação 21

**Tabela 35** - Incerteza expandida em percentagem para uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) e uma amostra de solo (2023-1181) estimada utilizando a incerteza combinada e um fator de expansão de 2.

		<i>U</i> (%)	
	$\lambda$ (nm)	Corretivo orgânico 2023-187	Solo 2023-1181
Cd	214,4	22	22
	226,5	16	23
	228,8	21	23
Pb	216,9	18	14
	220,3	16	14
Zn	217,8	46	13
	224,7	49	7.7
Cu	267,7	12	35
	359,3	11	47
Ni	216,5	20	6,2
	221,6	20	28
Cr	206,2	12	24
	334,5	21	27

Analisando os valores obtidos para as incertezas do método, apresentados na tabela 35, verifica-se que, à exceção dos valores obtidos para o zinco no corretivo orgânico (46 a 49 %) e para o cobre no solo (35 a 47 %), as incertezas do método de determinação dos restantes metais nas duas matrizes são todas inferiores a 25 %.

#### 4.2.9. CONTROLO DA QUALIDADE

As cartas de controlo são frequentemente usadas para controlo de qualidade dos resultados, uma vez que não é traçado uma curva de calibração todas as vezes que se analisam novas amostras. Esta ferramenta serve para averiguar se existem anomalias que exijam revisão da curva de calibração, ou de outro parâmetro, que possa estar a influenciar os resultados.

As cartas de controlo foram construídas utilizando um material de referência certificado com concentração conhecida, posteriormente calculou-se a média dos resultados obtidos em 18 ensaios e o seu respetivo desvio padrão. Os limites de aviso e controlo foram calculados

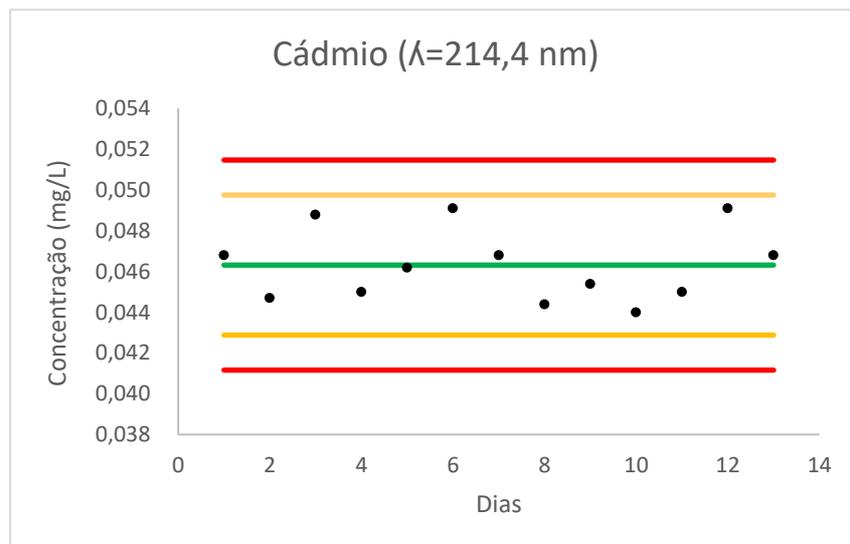
utilizando as equações 22 e 23, respetivamente, onde  $\bar{x}$  é a média dos resultados e  $s$  o desvio padrão dos resultados obtidos.

$$\text{Limite de Aviso} = \bar{x} \pm 2s \quad \text{Equação 22}$$

$$\text{Limite de Controlo} = \bar{x} \pm 3s \quad \text{Equação 23}$$

Este material de referência foi analisado em todos os ensaios de modo a verificar a validade da curva de calibração. Os resultados obtidos para este controlo são inseridos na carta de controlo, de maneira a verificar se o processo está sob controlo, ou seja, se estão dentro dos valores pretendidos, como é apresentado na figura 25.

**Figura 25** - Carta de controlo relativa à análise de um material de referência certificado MP.



Na figura 25 é apresentada a carta de controlo apenas para o cádmio para o comprimento de onda de 214,4 nm, no anexo 3 estão apresentadas as cartas de controlo obtidas para o cádmio aos outros dois comprimentos de onda e para os restantes analitos, aos diferentes comprimentos de onda. Como é possível observar pela figura 26, durante os 13 dias nenhum dos resultados ultrapassa os limites quer superiores, quer inferiores de controlo, demonstrando assim que não se observaram desvios significativos nos resultados obtidos ao longo dos dias e que a curva de calibração utilizada se manteve ao longo dos dias.

Para cartas obtidas com os resultados da análise dos restantes analitos verifica-se que, para maior parte dos metais, não existem situações fora de controlo que traduzam a ocorrência de anomalias. No entanto é de realçar que o gráfico do Pb 216,9 nm, Cu 224,7 nm, Zn 206,2 nm e ainda para o Cr 267,7 nm apresentam resultados que ultrapassam o limite superior de aviso, no entanto estes valores não chegam a ultrapassar o limite superior de controlo. A carta de controlo do Ni 216,5 nm está fora de controlo uma vez que os valores obtidos estão abaixo do valor alvo, ou seja, esta apresenta um desvio em todos os valores obtidos abaixo do valor alvo, desta forma será necessário reavaliar a estabilidade desta curva de calibração.

**CAPITULO-5**  
**CONCLUSÃO**

## CONCLUSÃO

No âmbito deste trabalho pretendia-se efetuar validação de um método de determinação de metais pesados, nomeadamente o Cd, Pb, Cu, Cr, Ni e Zn em solos agrícolas e corretivos orgânicos baseado na norma ISO 12914:2012 para solos e na ISO:54321:2020 para corretivos orgânicos. O método utiliza como técnica de extração a digestão por micro-ondas com água régia e como técnica de quantificação a espectroscopia de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)

Com os ensaios prévios, foi possível concluir que o método praticamente quantifica a totalidade dos metais pesados, uma vez que os resultados obtidos para a segunda extração no ensaio da totalidade da digestão é uma quantidade muito pequena. O método implementado e aqui descrito é simples de executar, no entanto envolve a necessidade de preparação das amostras (secagem, moagem). Este método mostrou-se eficiente para a extração e quantificação dos diferentes analitos em estudo.

A eficiência do método foi confirmada por meio da validação de vários parâmetros de desempenho, revelando uma ampla gama de trabalho e uma linearidade satisfatória para ambas as matrizes em estudo. Os limites de deteção e de quantificação determinados mostraram-se adequados para a quantificação dos analitos em estudo uma vez que no Decreto-Lei nº 276/2009 de 2 de outubro no caso dos solos e no Decreto-Lei nº 185/2022 de 21 de julho no caso dos corretivos agrícolas, os valores apresentados são bastante superiores a estes. Além disso, o método demonstrou uma repetibilidade (com coeficientes de variação entre 0,068 % e 13 %) e precisão intermediária (com coeficientes de variação entre 0,070 % e 13 %) satisfatórias para a análise de amostras de solo e amostras de corretivos orgânicos. Nos testes de recuperação conduzidos, as taxas de recuperação obtidas encontram-se entre 88 % e 98 %, estes valores situam-se dentro das faixas esperadas para as concentrações analisadas. Para além dos ensaios de recuperação também os ensaios interlaboratoriais comprovaram a exatidão do método para ambas as matrizes, uma vez que não se obtiveram valores de Z-score superiores a 3. Assim, conclui-se que o método pode ser facilmente aplicado em análises de rotina, particularmente no controlo de qualidade de solos e corretivos orgânicos.

De modo que se possa dar continuidade a este estudo uma vez que seria interessante encontrar uma matriz semelhante à da análise, sem os analitos em estudo. Desta forma seria possível submeter os padrões e os controlos utilizados na curva de calibração a todos os

processos da análise (processo de digestão). Esta matriz iria proporcionar o estudo dos parâmetros de validação com muito mais rigor, como por exemplo para os ensaios de recuperação e um estudo dos limites de detecção do método e não apenas instrumentais.

Os objetivos propostos neste trabalho foram atingidos e com resultados satisfatórios. Este projeto revelou-se altamente gratificante, uma vez que possibilitou a aplicação prática dos conhecimentos teóricos adquiridos durante a minha formação académica. A oportunidade de conduzi-lo em um contexto empresarial proporcionou-me experiência laboratorial, o desenvolvimento de autonomia e aprimoramento das habilidades de pesquisa.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFIA

- [1] A2 Análises Químicas Lda, «A2 Análises Químicas», página da empresa. Acedido: 10 de dezembro de 2022. [Em linha]. Disponível em: <https://www.a2analisesquimicas.com/>
- [2] J. E. Schoonover e J. F. Crim, «An Introduction to Soil Concepts and the Role of Soils in Watershed Management», *Journal of Contemporary Water Research & Education*, vol. 154, n.º 1, pp. 21–47, abr. 2015, doi: 10.1111/j.1936-704X.2015.03186.x.
- [3] F. M. Vezzani, *O solo como sistema*. Fabiane Machado Vezzani, 2008.
- [4] Plano Nacional de Acção Ambiente e Saúde – PNAAS, «EP Solos e Sedimentos», Relatório de Actividades da EP Solos e Sedimentos 2009/2011, 2012.
- [5] A. Veloso *et al.*, *Manual de fertilização das culturas*, 3ª Edição. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. - INIAV, 2022.
- [6] B. Mason e C. B. Moore, *Principles of geochemistry*, 4th ed. em Smith and Wyllie intermediate geology series. New York: Wiley, 1982.
- [7] N. C. Rodrigues, *A Química dos Solos: Uma perspectiva de Aprendizagem Ativa*. Campo Grande, MS: Fundação Universidade Federal De Mato Grosso Do Sul, 2022.
- [8] Diário da República, «Decreto-Lei nº 185/2022». 21 de julho de 2022. [Em linha]. Disponível em: <file:///C:/Users/Hp/Downloads/Portaria%20n.%C2%BA%20185-2022%20Valores%20de%20Refer%C3%Aancia%20%20Mat%C3%A9rias%20Fertilizantes%20N%C3%A3o%20Harmonizadas.pdf>
- [9] B. J. Alloway, Ed., *Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability*, vol. 22. em *Environmental Pollution*, vol. 22. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013. doi: 10.1007/978-94-007-4470-7.
- [10] EP Solos e Sedimentos, «Relatório de Actividades da EP Solos e Sedimentos 2009/2011», *Plano Nacional de Acção Ambiente e Saúde – PNAAS.*, p. 120p, 2012.
- [11] Diário da República n.º 118/2006, «Decreto-lei nº 276/2009». 2 de outubro de 2009. Disponível em: <https://files.diariodarepublica.pt/1s/2009/10/19200/0715407165.pdf>
- [12] B. J. Alloway, Ed., *Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability*, vol. 22. em *Environmental Pollution*, vol. 22. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013. doi: 10.1007/978-94-007-4470-7.
- [13] D. C. Adriano e D. C. Adriano, *Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals*, 2nd ed. New York: Springer, 2001.
- [14] *Medicina legal y toxicología*, 7ª edición. Barcelona, España: Elsevier, 2019.
- [15] M. van der Perk, *Soil and water contamination: from molecular to catchment scale*. London: Taylor & Francis, 2006.
- [16] V. Ferreira Lima e F. Merçon, *Metais Pesados no Ensino de Química*, vol. 33, 4 vols. 2011. Acedido: 7 de novembro de 2023. Disponível em: [http://qnesc.sbg.org.br/online/qnesc33\\_4/199-CCD-7510.pdf](http://qnesc.sbg.org.br/online/qnesc33_4/199-CCD-7510.pdf)
- [17] B. J. Alloway, Ed., *Heavy Metals in Soils*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1995. doi: 10.1007/978-94-011-1344-1.
- [18] Y. J. A. B. da Silva, C. W. A. do Nascimento, e C. M. Biondi, «Comparison of USEPA

- digestion methods to heavy metals in soil samples», *Environ Monit Assess*, vol. 186, n.º 1, pp. 47–53, jan. 2014, doi: 10.1007/s10661-013-3354-5.
- [19] K. Shahbazi e M. Beheshti, «Comparison of three methods for measuring heavy metals in calcareous soils of Iran», *SN Appl. Sci.*, vol. 1, n.º 12, p. 1541, dez. 2019, doi: 10.1007/s42452-019-1578-x.
- [20] A. K. Krishna e P. K. Govil, «Heavy metal contamination of soil around Pali Industrial Area, Rajasthan, India», *Env Geol*, vol. 47, n.º 1, pp. 38–44, dez. 2004, doi: 10.1007/s00254-004-1124-y.
- [21] Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR], «Toxicological profile for cadmium. Atlanta: US Department of Health and Human Services», p. 487p.
- [22] *Contaminants in soil: collation of toxicological data and intake values for humans*. Almondsbury: Environment Agency, 2002.
- [23] agência portuguesa do ambiente, «Metais pesados», agência portuguesa do ambiente. [Em linha]. Disponível em: <https://apambiente.pt/ar-e-ruído/metais-pesados>
- [24] Canadian Council of Ministers of the Environment, Ed., *Canadian environmental quality guidelines*. Winnipeg, Manitoba, 1999.
- [25] Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR], *Toxicological Profile for Nickel*. 2005. Acedido: 28 de setembro de 2023. [Em linha]. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp15.pdf>
- [26] McGrath, S. P. and Smith, S., *Heavy metals in soils*. Ed. B.J. Alloway. Blackie & Sons, Glasgow, 1990.
- [27] D. A. Skoog, West, D. M., Holler, F. J., e Crouch, S. R., *Fundamentos de química analítica*. São Paulo: Cengage Learning, 2009.
- [28] M. Michaelis e A. Stardler, *A Chemist's Guide to Sample Preparation*, 2.ª ed. 2021.
- [29] B. B. Kebbekus, «Preparation of Samples for Metals Analysis», em *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*, 1.ª ed., S. Mitra, Ed., Wiley, 2003, pp. 227–270. doi: 10.1002/0471457817.ch5.
- [30] D. GÜVEN e G. Akinci, «Comparison of acid digestion techniques to determine heavy metals in sediment and soil samples», *Gazi University Journal of Science*, vol. 24, n.º 1, pp. 29–34, 2011.
- [31] «Soil, treated biowaste, sludge and waste — Digestion of aqua regia soluble fractions of elements». agosto de 2022. Disponível em: <https://cdn.standards.iteh.ai/samples/75441/cf65d2ce8bc54b5aa2e373cca2737b2f/ISO-54321-2020.pdf>
- [32] Y. J. A. B. da Silva, C. W. A. do Nascimento, e C. M. Biondi, «Comparison of USEPA digestion methods to heavy metals in soil samples», *Environ Monit Assess*, vol. 186, n.º 1, pp. 47–53, jan. 2014, doi: 10.1007/s10661-013-3354-5.
- [33] R. C. Richter, D. Link, e H. M. «Skip» Kingston, «Peer Reviewed: Microwave-Enhanced Chemistry», *Anal. Chem.*, vol. 73, n.º 1, p. 30 A-37 A, jan. 2001, doi: 10.1021/ac0123781.
- [34] A. Tsukui e C. M. Rezende, «Microwave Assisted Extraction and Green Chemistry», *Revista Virtual de Química*, vol. 6, n.º 6, 2014, doi: 10.5935/1984-6835.20140111.

- [35] *Métodos de preparo de amostras para análise elementar*. Sdq, 2019.
- [36] N. Schwenzer, «[Staged informing of the patient in oro-maxillo-facial surgery]», *Fortschr Kiefer Gesichtschir*, vol. 30, pp. 11–15, 1985.
- [37] H. M. Kingston, D. J. Cronin, e M. S. Epstein, «Investigation of a precise static leach test for the testing of simulated nuclear waste materials», *Nuclear and Chemical Waste Management*, vol. 5, n.º 1, pp. 3–15, jan. 1984, doi: 10.1016/0191-815X(84)90003-2.
- [38] K. Ganzler, A. Salgó, e K. Valkó, «Microwave extraction», *Journal of Chromatography A*, vol. 371, pp. 299–306, dez. 1986, doi: 10.1016/S0021-9673(01)94714-4.
- [39] C. Bendicho, I. De La Calle, F. Pena, M. Costas, N. Cabaleiro, e I. Lavilla, «Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry», *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 31, pp. 50–60, jan. 2012, doi: 10.1016/j.trac.2011.06.018.
- [40] B. Draszawka-Bolzan, «Heavy Metals in Soils», *World News of Natural Sciences*, vol. 2, 2015. Disponível em: file:///C:/Users/Hp/Downloads/Heavy\_Metals\_in\_Soils.pdf
- [41] D. C. Harris, *Quantitative chemical analysis*, 8th ed. New York: W.H. Freeman and Co, 2010.
- [42] C. B. Boss e K. J. Fredeen, *Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, 2.ª ed. PERKIN ELMER, 1997. Acedido: 5 de outubro de 2023. Disponível em: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4306641/mod\\_resource/content/1/ICP-Perkin%20Elmer.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4306641/mod_resource/content/1/ICP-Perkin%20Elmer.pdf)
- [43] Maria Fernanda Giné, «ESSPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA ACOPLADO INDUTIVAMENTE.» Acedido: 5 de outubro de 2023. Disponível em: <https://www.ufjf.br/baccan/files/2011/05/Livro-ICP-OES.pdf>
- [44] Grupo De Trabalho GT02, *Guia Relacre 3 - Validação de Resultados em Laboratórios Químicos*, RELACRE. 1996.
- [45] *The fitness for purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation and related topics*, 2nd ed. Teddington: Eurachem, 2014.
- [46] (:Unkn) Unknown, «Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd Edition.», 2012, doi: 10.25607/OBP-952.
- [47] Grupo de Trabalho GT3, *Guia Relacre 13 - Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química*, RELACRE. 2000.
- [48] «IPAC - Regulamento geral de acreditação». IPAC acreditação, 6 de outubro de 2022.
- [49] D. Harvey, *Modern analytical chemistry*. Boston: McGraw-Hill, 2000.
- [50] J. Orlando Filho, «Absorção dos macronutrientes pela cana-de-açúcar (>i/< spp) variedade CB41-76, em três grandes grupos de solos no Estado de São Paulo», Doutorado Direto em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1978. doi: 10.11606/T.11.1978.tde-20210104-175850.
- [51] J. H. D., *Amostragem de solo para análise química*. em (EMBRAPA-UEPAE Porto Velho. Circular Técnica, 8). 1986. [Em linha]. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/23975/1/08-maio86.pdf>

- [52] A. Análises Químicas, «Colheita - Amostras de Solos». Análises Químicas. [Em linha]. Disponível em: [https://www.a2analisesquimicas.com/wp-content/uploads/2021/01/DG\\_6-2-Procedimento-de-colheita-Amostras-de-SOLO.pdf](https://www.a2analisesquimicas.com/wp-content/uploads/2021/01/DG_6-2-Procedimento-de-colheita-Amostras-de-SOLO.pdf)
- [53] F. C. da Silva, *Manual De Análises Químicas De Solos, Plantas E Fertilizantes*. Embrapa Informação Tecnológica, 2008.
- [54] «Soil quality — Microwave-assisted extraction of the aqua regia soluble fraction for the determination of elements». 1 de fevereiro de 2012. [Em linha]. Disponível em: <https://cdn.standards.iteh.ai/samples/52171/81b163026f1c41bc9385ca2d105d0e05/ISO-12914-2012.pdf>
- [55] Francisco Krung e F. Rocha, *Livro Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar*, 2<sup>o</sup> Edição. EditSBO, 2019.
- [56] K. Hoffman, S. Thermo Fisher, Cambridge, e UK, «Robust single method determination of major and trace elements in foodstuffs using the Thermo Scientific iCAP 6000 Series ICP-OES». Thermo scientufuc. Acedido: 5 de outubro de 2023. [Em linha]. Disponível em: <file:///C:/Users/Hp/Downloads/AN40755-determination-of-major-and-trace-elements-in-foodstuffs-using-microwave-digestion-and-the-icap-6000-series-icap-612C-EN.pdf>
- [57] J. N. Miller, J. C. Miller, e R. D. Miller, *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*, Seventh edition. Harlow, United Kingdom: Pearson Education Limited, 2018.
- [58] G. W. Latimer Jr. e G. W. Latimer Jr., Eds., «AF-1 Guidelines for Standard Method Performance Requirements», em *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*, Oxford University Press, 2023, p. 0. doi: 10.1093/9780197610145.005.006.
- [59] GRUPO DE TRABALHO GT02, *Guia Relacre 9 - Alguns exemplos de cartas de controlo em laboratório de análise química*, RELACRE. Disponível em: <https://www.relacre.pt/assets/relacreassets/files/commissionsandpublications/Guia%20RELACRE%209.pdf>
- [60] Grupo de Trabalho GT3, *Guia Relacre 31 - Quantificação da Incerteza de Medição em Ensaios Químicos e Físico-Químicos*, RELACRE. 2018.

# **ANEXOS**

## ANEXO I – ADVERTÊNCIAS DE PRUDÊNCIA E PERIGO

Reagentes	Advertência de perigo (H)	Advertência de prudência (P)	Pictograma
Ácido Clorídrico (HCl)	H290 H314 H335	P280 P303+P361+P353 P304+P340 P305+P351+P338 P310	
Ácido Nítrico (HNO <sub>3</sub> )	H290 H314 H332	P260 P280	

## ANEXO 2 – REGRESSÃO PONDERADA

Exemplo do cálculo efetuado para determinar a regressão ponderada para uma amostra de corretivo orgânico (2023-187) para um comprimento de onda de 214,4 nm. Na tabela apresentada x representa a concentração dos padrões de calibração em mg/L, y representa a intensidade de luz emitida e o  $w_i$  é o fator de ponderação.

Padrões de Calibração	x	y	1/x	$w_i$	$w_i \cdot x$	$w_i \cdot y$	$w_i \cdot x \cdot y$	$w_i \cdot x^2$
1	0,004	30,5	250,00000	0,785062	0,00314	23,91704593	0,095668184	1,2561E-05
2	0,033	207,2	30,30303	0,095159	0,00314	19,71642114	0,650641898	0,000103628
3	0,055	374,1	18,18182	0,057095	0,00314	21,35991612	1,174795386	0,000172714
4	0,086	581,1	11,62791	0,036515	0,00314	21,2179734	1,824745712	0,000270061
5	0,200	1377,1	5,00000	0,015701	0,00314	21,62269266	4,324538531	0,00062805
6	0,300	1984,6	3,33333	0,010467	0,00314	20,77415856	6,232247569	0,000942075
Média	0,11300	759,10315	53,07435	0,16667	0,00314	21,43470	2,38377	0,00035
Soma	0,67800	4554,61890	318,44609	1,00000	0,01884	128,60821	14,30264	0,00213

$x_w$	0,00314025
$y_w$	21,4347013

$b_w$	6714,63791
$a_w$	0,34906658

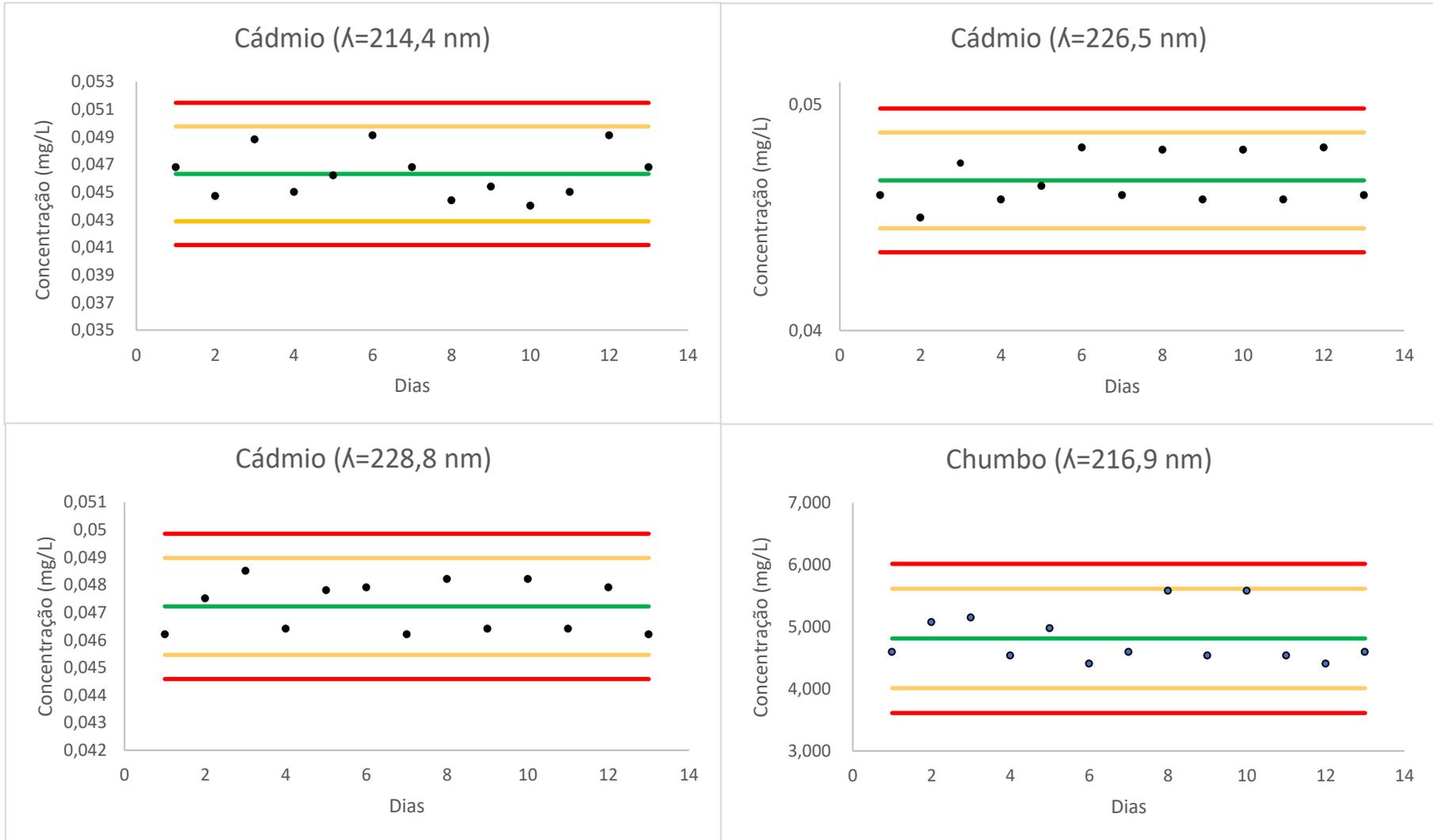
x	$y_w$
0,00400	27,20762
0,03300	221,93212
0,05500	369,65415
0,08600	577,80793
0,20000	1343,27665
0,30000	2014,74044

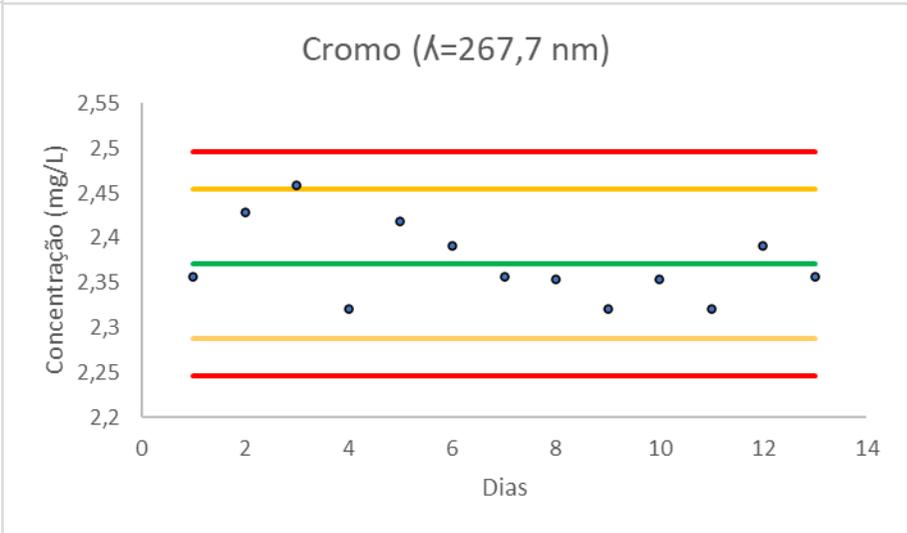
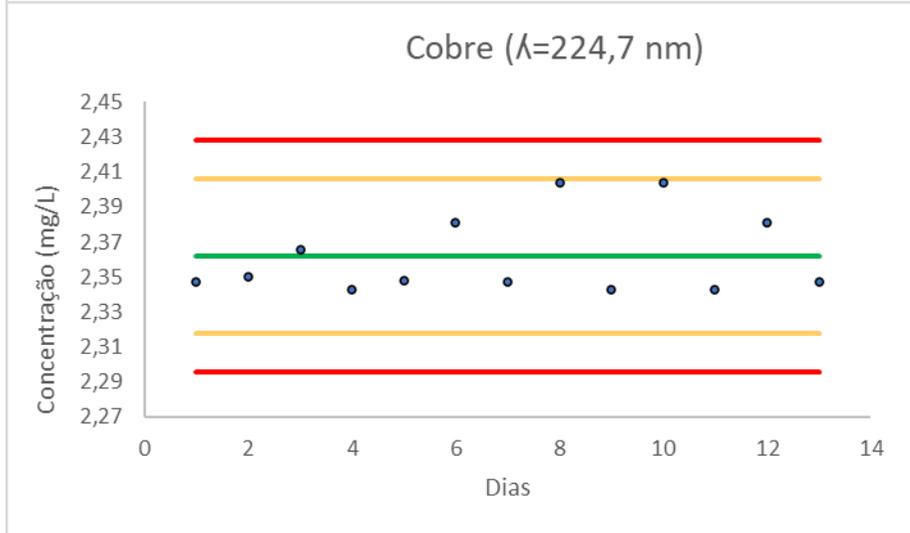
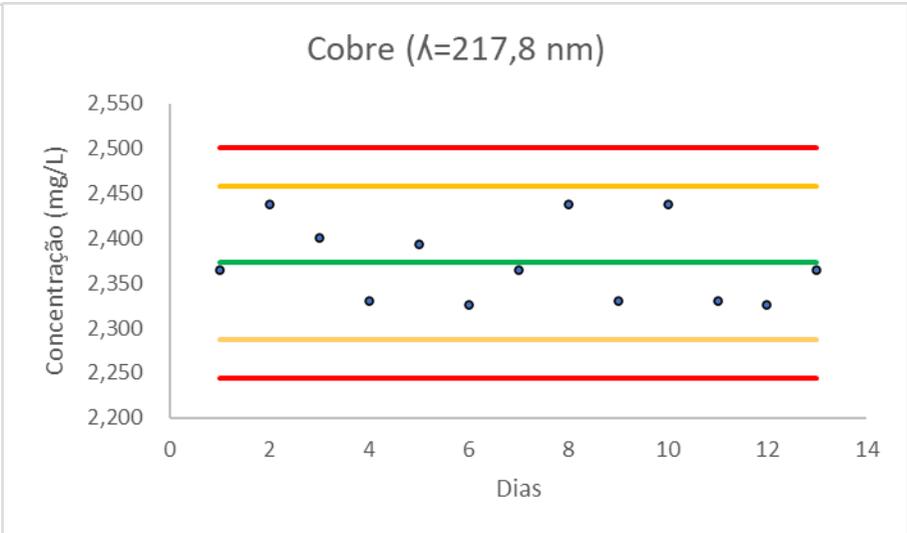
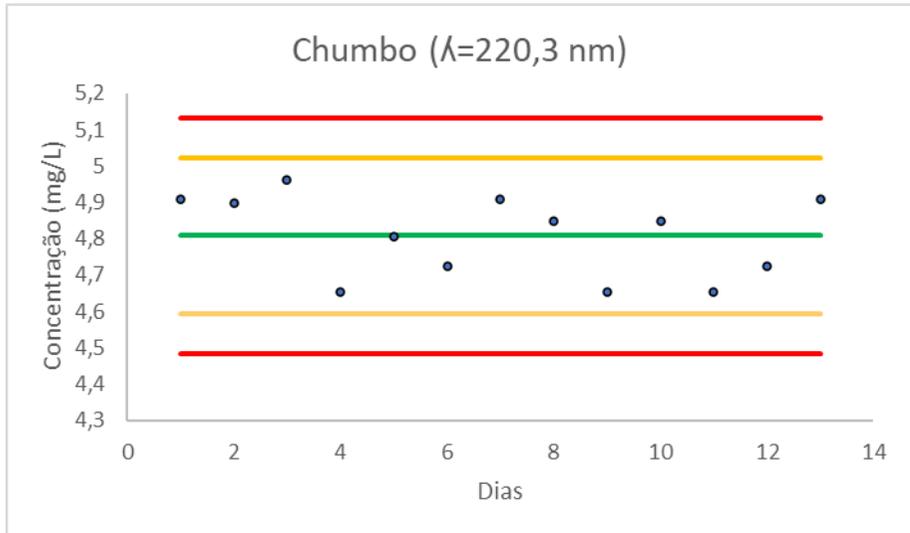
### ANEXO 3 - EQUAÇÕES UTILIZADAS PARA A CURVA DE CALIBRAÇÃO

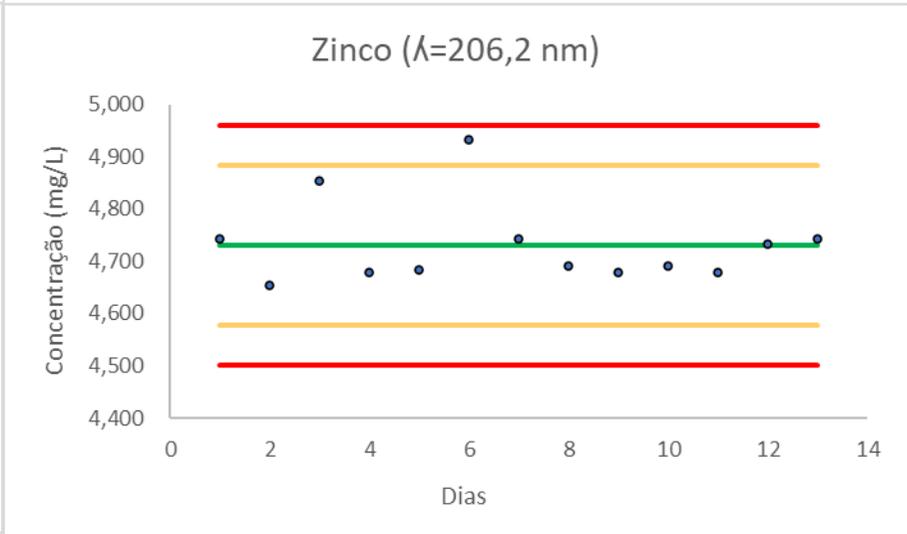
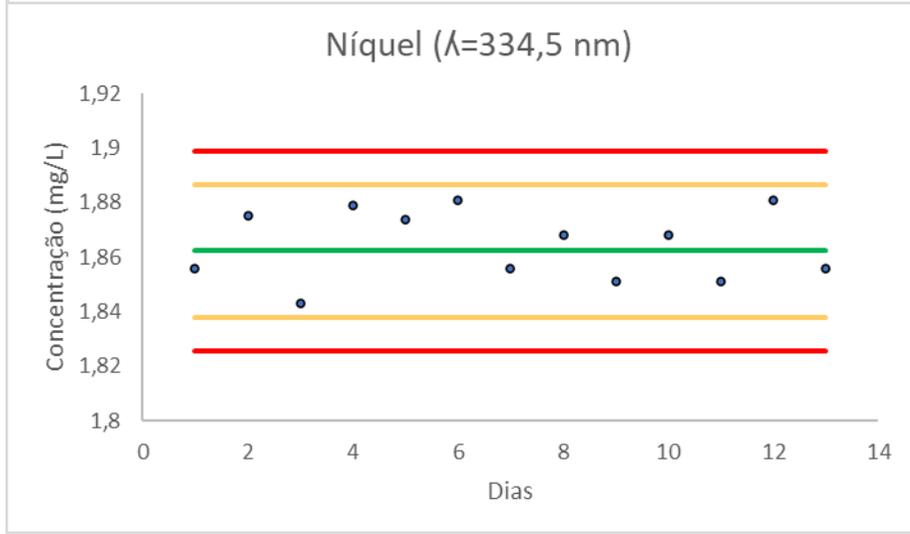
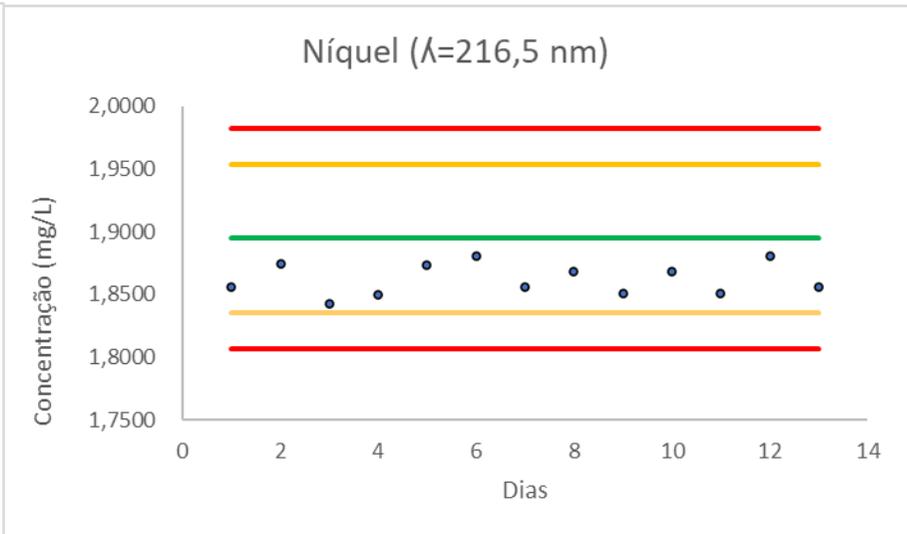
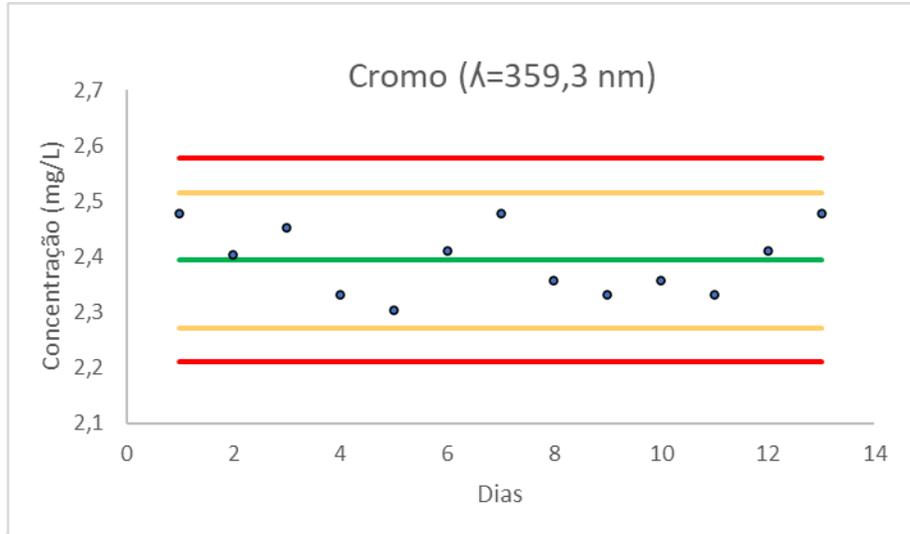
Definição	Equações		Nº
Formula algébrica da equação da reta	$y = b_w + a_w x$	Onde: y resposta, b <sub>w</sub> o declive ponderado, x o valor da concentração e a <sub>w</sub> ordenada na origem ponderada.	1
Coeficiente de correlação	$r = \frac{\sum_{i=1}^N \{(xi - \bar{x}) \cdot (yi - \bar{y})\}}{\sqrt{[\sum_{i=1}^N (xi - \bar{x})^2 \cdot \{\sum_{i=1}^N (yi - \bar{y})^2\}]}}$	Onde: n- Número de padrões de calibração xi- Valores iniciais do logaritmo das concentrações	2
Desvio padrão residual da curva de calibração linear ponderada	$S_{(y/x)_w} = \sqrt{\frac{\sum_i w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$	$\bar{x}$ - Valor médio do logaritmo da concentração yi- Valor da resposta para cada xi $\bar{y}$ - Valor médio da resposta	3
Desvio padrão do método	$s_m = \frac{S_{(y/x)_w}}{b_w}$	$\hat{y}_i$ - Valor de y estimado, tendo em conta a equação da reta	4
Coeficiente de variação do método	$cv_m = \frac{s_m}{\bar{x}}$	b <sub>w</sub> - o declive ponderado a <sub>w</sub> - ordenada na origem ponderada wi - representa o fator de ponderação	5

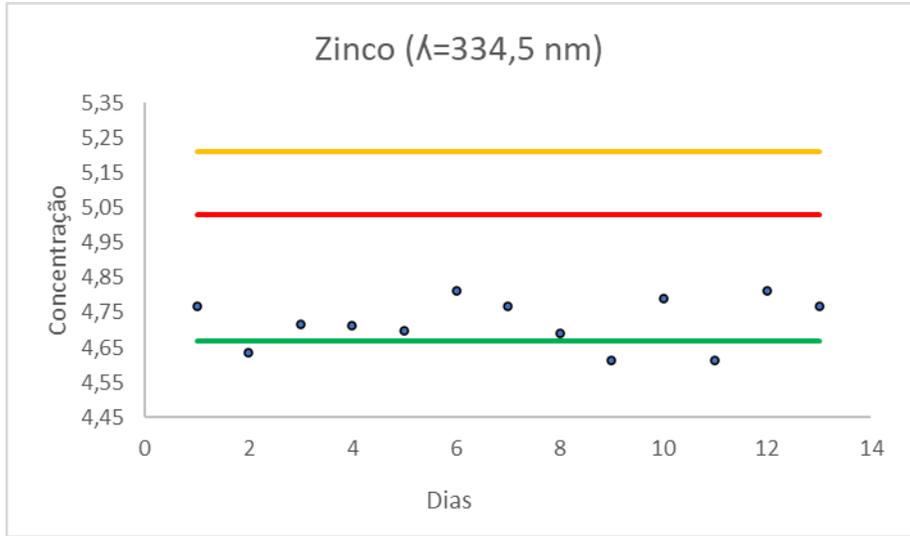
#### ANEXO 4 - CARTAS DE CONTROLO DE INDIVÍDUOS

Cartas de controlo de indivíduos, obtida através da análise de treze ensaios, utilizando um material de referência certificado (MP) expressas em unidade de concentração (mg/L).



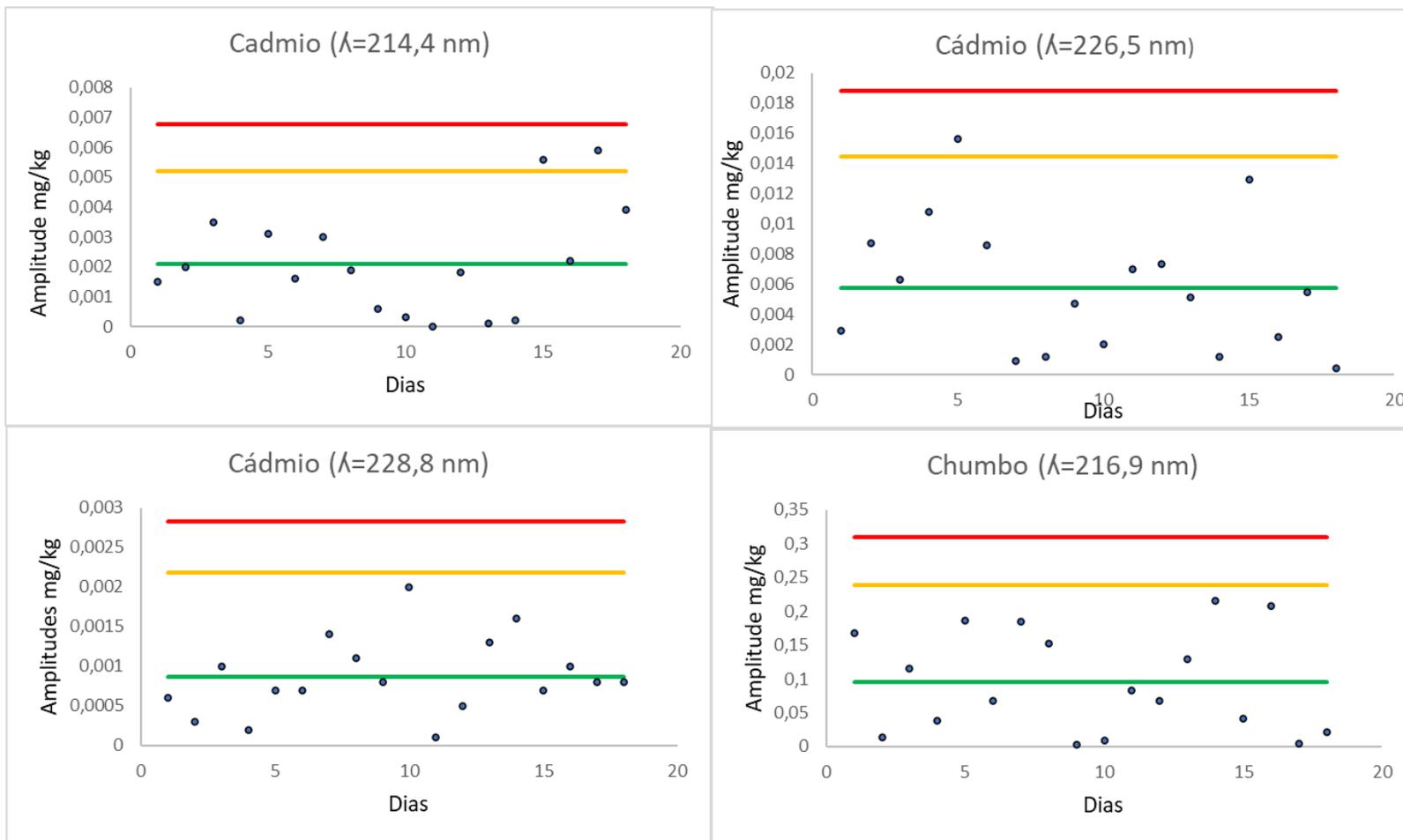


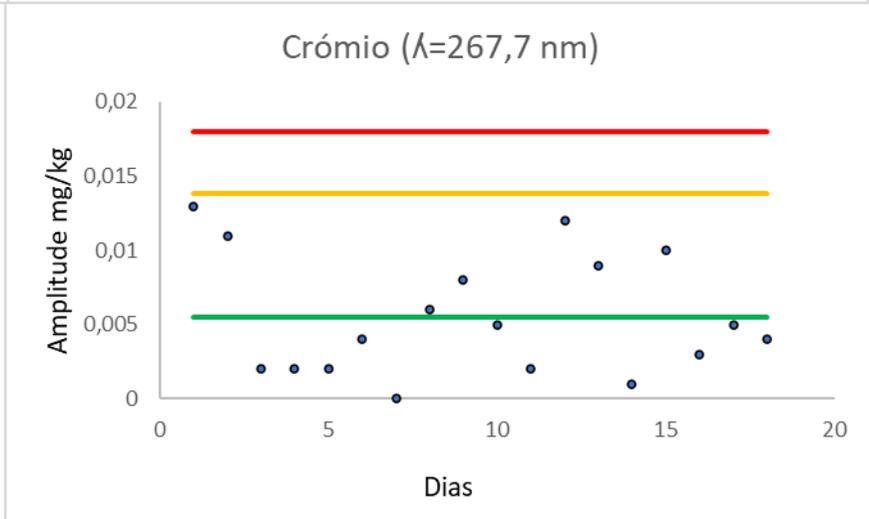
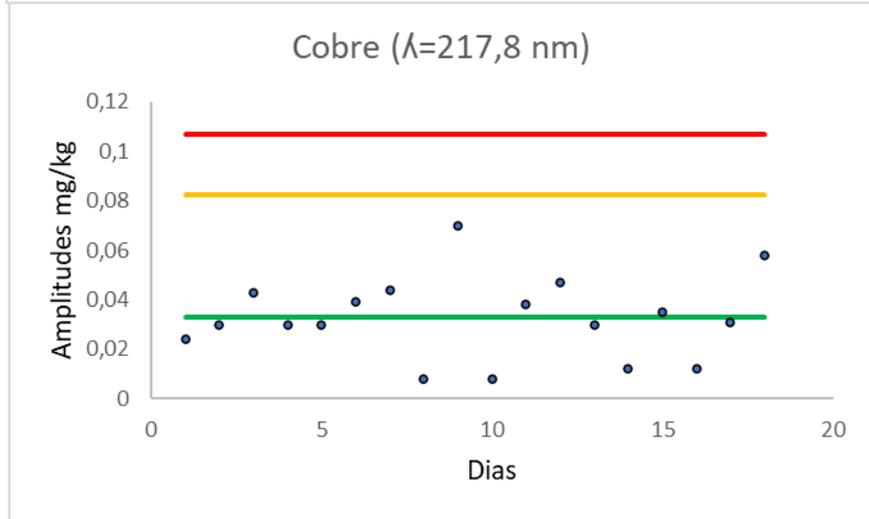
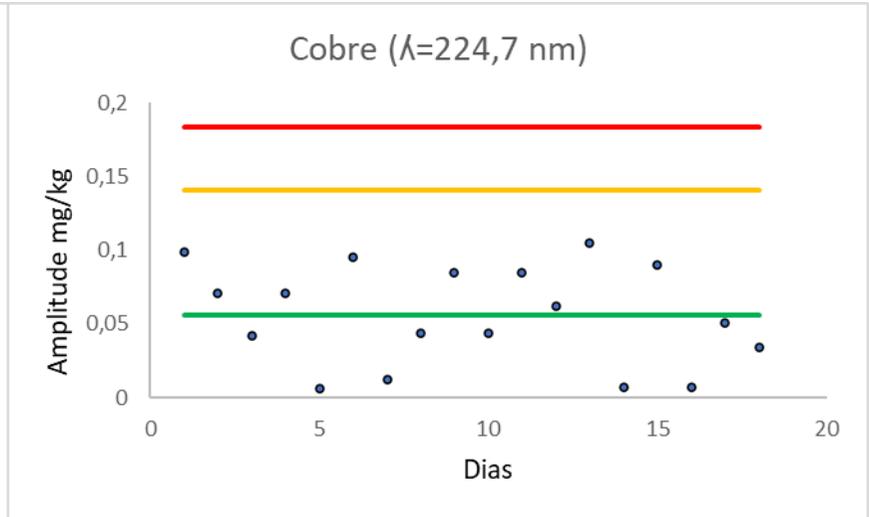
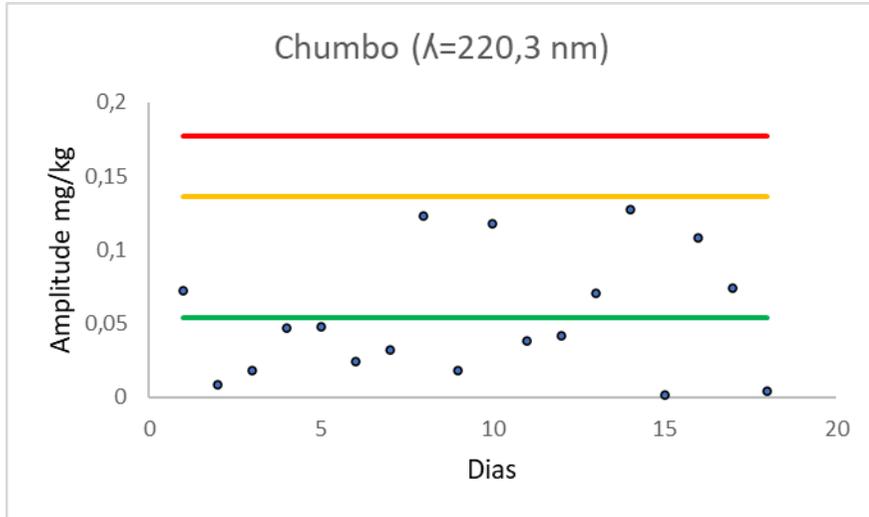


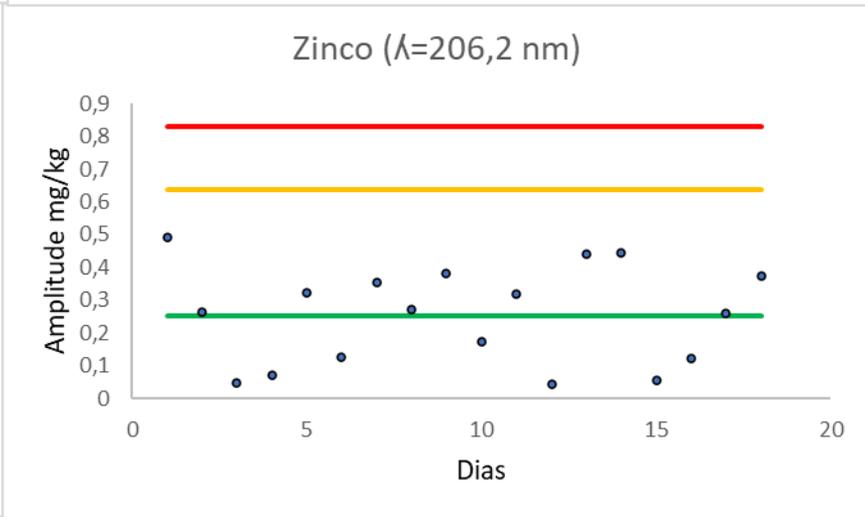
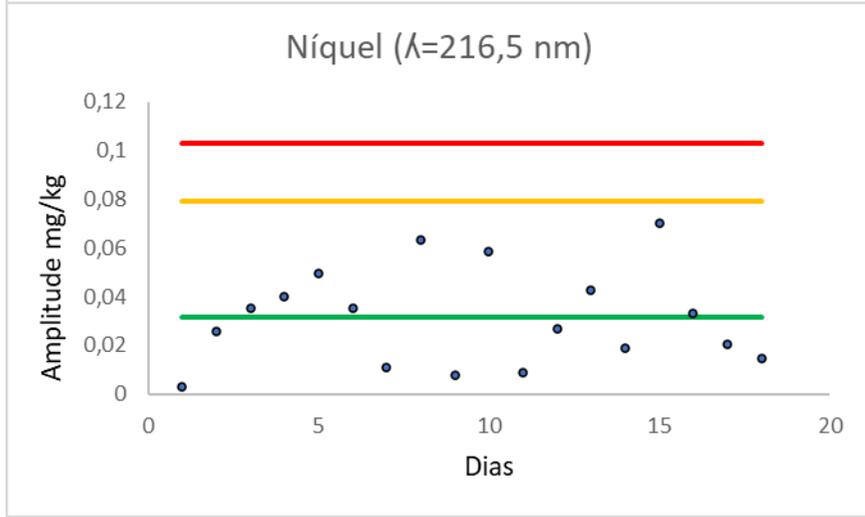
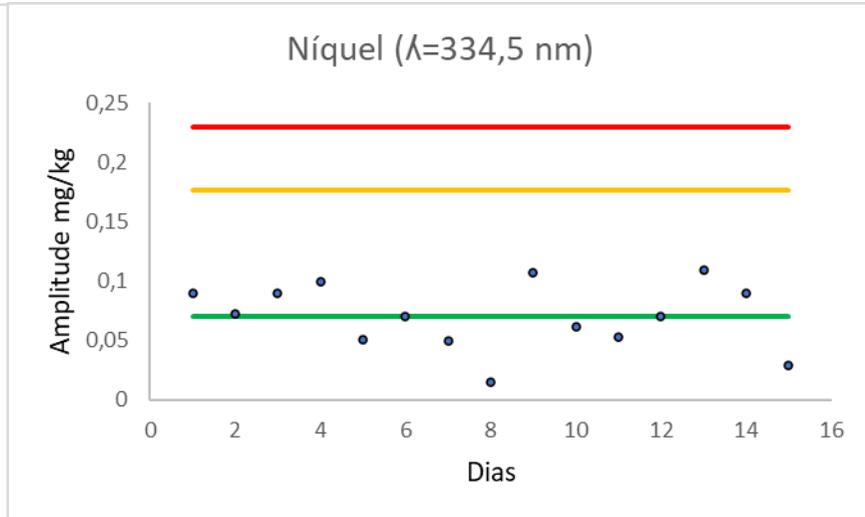
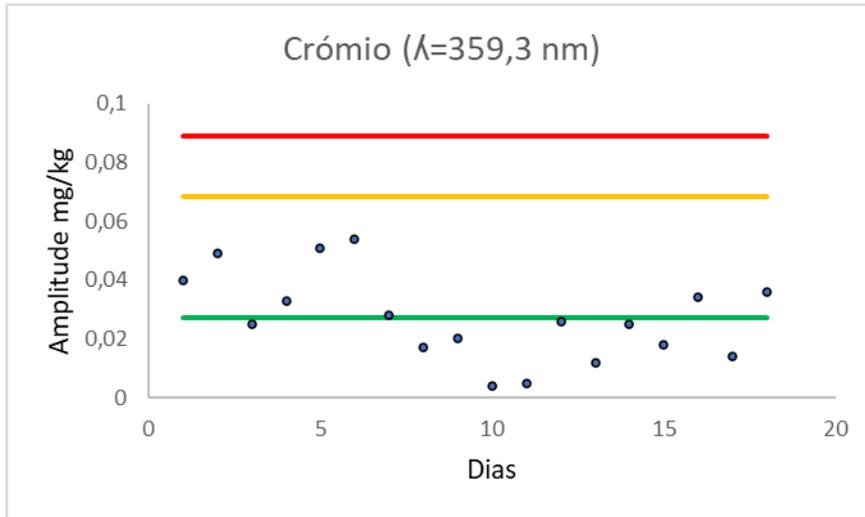


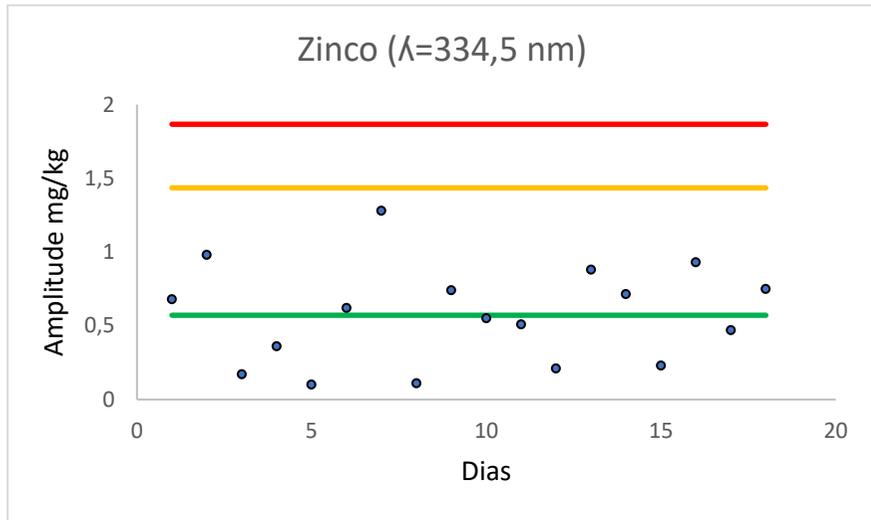
## ANEXO 5 A - CARTAS DE AMPLITUDES PARA A AMOSTRAS DE CORRETIVO ORGÂNICO (2023-187)

Cartas de controle de amplitudes para duplicados de 18 amostras de corretivo orgânico, expressas em unidades de concentração (mg/L).









## ANEXO 5 B - CARTAS DE AMPLITUDES PARA A AMOSTRAS DE CORRETIVO ORGÂNICO (2023-1181)

Cartas de controle de amplitudes para 18 duplicados de amostras de solo, expressas em unidades de concentração (mg/L).

