



Métodos e Monitorização de Microplásticos e Outros Contaminantes nos Solos Agrícolas

SOFIA MARIA DA SILVA ROCHA

Outubro de 2021



Métodos e Monitorização de Microplásticos e Outros Contaminantes nos Solos Agrícolas

SOFIA MARIA DA SILVA ROCHA

Outubro de 2021



Métodos e Monitorização de Microplásticos e Outros Contaminantes nos Solos Agrícolas

Dissertação Submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em
Engenharia Química, ramo opcional de Energia e Biorrefinaria

GRAQ & ISEP

Sofia Maria da Silva Rocha

Orientado por: Cristina Delerue - Matos
Diana Rede
Virgínia da Cruz Fernandes

Outubro de 2021

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço ao ISEP por me ter acolhido, não só ao longo da realização da minha dissertação de mestrado, mas também ao longo de todos estes anos de formação.

Quero manifestar o meu agradecimento ao GRAQ por me ter dado a oportunidade de realizar a minha dissertação de mestrado numa área em crescente evolução. Agradeço também às minhas orientadoras Cristina Delerue-Matos, Diana Rede e Virgínia da Cruz Fernandes por me terem orientado e ajudado durante a execução deste projeto.

Por fim, agradeço à minha família e amigos, pelo apoio que me deram ao longo destes meses. Ao Miguel, manifesto um agradecimento especial.

Resumo

O objetivo desta dissertação de mestrado consistiu em estudar as possíveis interações entre os microplásticos e outros contaminantes, em solos, ao longo do tempo.

Para tal, foram realizados vários ensaios experimentais com solo *standard*, microplásticos (polietileno de baixa densidade), e diferentes concentrações de retardante de chama (fosfato de trifênilo), pesticida, (malatião) e água. Um filme bastante utilizado na cultura de morangueiros é o polietileno e, por isso, os microplásticos deste polímero foram selecionados para estes estudos. Quanto ao fosfato de trifênilo, este foi selecionado por ser um aditivo de plástico muito utilizado na produção de polímeros. Relativamente ao pesticida, escolheu-se o pesticida organofosforado por ser comumente utilizado na cultura dos morangueiros e também porque a sua presença em morangos está reportada em alguns estudos. Por último, foi também estudada a presença da água com o objetivo de simular as condições reais, de rega e chuvas de um ambiente agrícola.

Conforme descrito anteriormente, foram estudadas 3 variáveis (em 3 níveis de concentração de retardante de chama, pesticida e água) simulando diferentes ambientes agrícolas na presença de solo e microplásticos. Para otimizar o desenho experimental e minimizar o tempo de experiências, recorreu-se ao *Design Expert 11.1.2.0*, que é um *software* de estatística que utiliza como ferramenta o planeamento fatorial.

De forma a estudar as interações entre as diferentes variáveis, ao longo do tempo foram realizadas 15 experiências (número determinado pelo *Design Expert 11.1.2.0*), com contaminações em diferentes proporções de retardante de chama, pesticida e água. Cada uma das experiências teve 5 pontos de amostragem, o que correspondeu a 5 frascos por experiência. As amostragens e subsequentes análises foram feitas aos dias 0, 7, 14, 21 e 28.

Após a preparação de todos os ensaios experimentais, estes foram colocados numa câmara de fitoclima, que simula o dia e a noite, operando em ciclos alternados de 16 h com luz (12000 lx; 24 ± 2 °C) e de 8 h sem luz (16 ± 2 °C). No tempo correspondente, os vasos foram analisados. Para tal, foi validada uma metodologia analítica para a realização de extrações sólido-líquido, pelo método de QuEChERS modificado, de forma a se extraírem os poluentes fosfato de trifênilo e malatião, dos solos com microplásticos. De seguida, estes foram separados e quantificados através de cromatografia gasosa. Paralelamente a este estudo, também se realizaram algumas experiências para a separação de microplásticos do

solo, utilizando soluções salinas de NaCl ($0,3 \text{ g/cm}^3$) e H_2O_2 (30%). Estes estudos de separação foram avaliados qualitativamente, recorrendo à microscopia ótica.

Neste estudo, os resultados demonstraram uma diminuição na concentração de malatião ao longo do tempo e formulou-se a hipótese de que o malatião apresenta uma forte afinidade com os microplásticos, devido ao carácter hidrofóbico de ambos, formando-se um complexo de adsorção. No entanto, outros fenómenos relacionados com as condições do meio (pH, percentagem de humidade) ou mesmo com as características do solo, podem ter levado a uma degradação do pesticida. A concentração do malatião sofreu uma diminuição significativa ao longo do tempo, sendo difícil ou impossível (por ter ocorrido a sua degradação por exemplo) de extrair dos vasos experimentais.

Relativamente aos resultados obtidos para o fosfato de trifenilo, formulou-se a hipótese de que a percentagem de humidade do solo possa favorecer a sua adsorção. Também se verificou que as ligações que estabelece com os microplásticos favorecem a sua dessorção. No entanto, outros fenómenos de degradação do fosfato de trifenilo podem ter ocorrido. A concentração deste aditivo de plástico sofreu um aumento significativo ao longo das experiências, uma vez que foi facilmente extraído dos vasos experimentais, no entanto, também se podem ter formado produtos de degradação. Este trabalho permitiu concluir que diversas interações entre microplásticos, aditivos de plásticos e pesticidas podem ocorrer nos sistemas agrícolas e que são precisos mais estudos para as interpretar e perceber.

Palavras Chaves: Microplásticos, aditivos de plástico, retardante de chama, pesticidas, ambiente, solos, sustentabilidade, cromatografia gasosa

Abstract

The aim of this master's thesis was to study the possible interactions between microplastics and other contaminants, in agricultural soils, over time.

For this purpose, several experiments were carried out in open pots with standard soil, with microplastics (low density polyethylene), and different concentrations of flame retardant (triphenyl phosphate), pesticide, (malathion) and water. Polyethylene is widely used in strawberry culture as mulch film and, therefore, it was the microplastic selected for these studies. Triphenyl phosphate was selected because it is a plastic additive widely used in polymer production. Regarding pesticide, the organophosphorus pesticide was chosen since it is commonly used in strawberry crops and because its presence in strawberries is reported in some studies. Finally, the presence of water was also studied to simulate the real conditions of an agricultural crop.

As described previously, 3 variables (at 3 concentration levels of flame retardant, pesticide, and water) were studied simulating different agricultural environments in the presence of soil and microplastics. To optimize the experimental design and minimize the experimental time, Design Expert 11.1.2.0 was used, which is a statistical software that uses factorial planning as a tool.

To study the interactions between the different variables, over time 15 experiments (number determined by Design Expert 11.1.2.0) were carried out, with contaminations at different proportions of flame retardant, pesticide, and water. Each of the experiments had 5 sampling points, corresponding to 5 vials per experiment. Sampling and subsequent analysis were done at days 0, 7, 14, 21 and 28.

The experimental pots were placed in a phytoclimatic chamber, which simulates day and night, operating on alternating cycles of 16 h of light (12000 lx; 24 ± 2 °C) and 8 h of darkness (16 ± 2 °C). At the corresponding time, the vessels were analyzed. To this end, an analytical methodology was validated to perform solid-liquid extractions by a modified QuEChERS method, to extract triphenyl phosphate and malathion, from the soils with microplastics. These were then separated and quantified by gas chromatography. Parallel to this study, some experiments for the separation of microplastics from soil, using saline solutions (0.3 g/cm^3) and H_2O_2 (30%) were also carried out. These separation studies were qualitatively evaluated using optical microscopy.

In this study, the results showed a decrease in malathion concentration over time. It was hypothesized that malathion shows a strong affinity with microplastics, due to the hydrophobic character of both, that leads to the formation of an adsorption complex. However, other phenomena may have occurred, since conditions of the medium such as pH, the percentage of moisture or even the characteristics of the soil, may have contributed to the pesticide's degradation. The concentration of malathion suffered a significant decrease throughout the experiments, being difficult or impossible (by degradation for example) to extract from the experimental pots.

Regarding the results obtained for triphenyl phosphate, it was hypothesized that the percentage of moisture in the soil may favor its adsorption. A weak interaction with microplastics was also found. However, other degradation phenomena of triphenyl phosphate may have occurred. The concentration of this plastic additive underwent a significant increase throughout the experiments, as it was easily extracted from the experimental vessels, however, degradation products may have also been formed. This work allowed the conclusion that several interactions between microplastics, plastics additives and pesticides can occur in agricultural systems and that more studies are needed to clarify them.

Keywords: Microplastics, plastic additives, flame retardant, pesticides, environment, soil, sustainability, gas chromatography

ÍNDICE

1. Introdução	1
1.1. Contextualização	1
1.2. Plástico	3
1.2.1. Petróleo: matéria-prima do plástico e processo de refinação.....	3
1.2.2. Reações de polimerização, propriedades dos polímeros, aditivos e processamento	4
1.2.3. Classificação dos polímeros, tipos de polímeros e as suas aplicações .	7
1.2.4. Impacto ambiental dos plásticos, gestão de resíduos, bioeconomia e bioplásticos.....	9
1.3. Microplásticos	13
1.4. Métodos Analíticos para a deteção dos microplásticos de outros contaminantes nos solos agrícolas	27
1.4.1. Amostragem de MP	27
1.4.2. Extração dos MP	29
1.4.3. Identificação e Quantificação de MP.....	32
1.4.4. Garantia de qualidade/ Controlo de qualidade.....	34
1.4.5. Deteção de contaminantes nos solos agrícolas	35
1.5. Planeamento fatorial	35
2. Material e Métodos	39
2.1. Validação da metodologia analítica e procedimento de extração sólido-líquido do MLT e TPhP dos solos, baseada no método QuEChERS modificado	39
2.2. Ensaio experimentais para a simulação de um ambiente agrícola .	41
2.3. Separação dos MP resultantes de LDPE da matriz do solo	43
3. Resultados e discussão	49
3.1. Resultados da validação da metodologia analítica para análise do TPhP e MLT	50
3.2. Extração sólido-líquido, baseado no método QuEChERS modificado	51
3.3.1. Estudos de avaliação da concentração extraída de MLT, nos ensaios experimentais.....	53
3.3.2. Estudos de avaliação da concentração extraída de TPhP, nos ensaios experimentais.....	56
3.3.3. Considerações finais sobre os ensaios experimentais de simulação do ambiente agrícola	59
3.4. Separação dos MP da matriz do solo	61
4. Conclusões e propostas de trabalhos futuros	65

Índice de Tabelas

Tabela 1- Diferenças entre a polimerização por adição e polimerização por condensação [7] (adaptado)	5
Tabela 2 - Aditivos adicionados aos polímeros e respectivas funções [3] (adaptado).....	6
Tabela 3 - Análise SWOT do plástico [9] (adaptado)	11
Tabela 4 - Análise SWOT dos bioplásticos [9] (adaptado)	12
Tabela 5- Interações dos poluentes com os MP e respectivos efeitos no meio ambiente [15] (adaptado).....	26
Tabela 6 - Códigos obtidos através do <i>Design Expert</i> 11.1.2.0 para a preparação das experiências.	42
Tabela 7 - Parâmetros de validação do método analítico para o MLT e para o TPhP.	51
Tabela A. 1 – Massas registadas, para ambos os ensaios A1 e A2, para massa, m, do solo seco, em gramas, g, massa do funil + filtro seco, massa do funil + filtro hidratado e a massa do funil +filtro+ solo + água.....	71
Tabela C. 1 - Massas pesadas de solo para cada ensaio de recuperação, em gramas, g; a contaminação de MLT aplicada a cada ensaio, $\mu\text{g/g}$; a área média dos picos obtidos por GC-FPD; e as respectivas concentrações e recuperações determinadas.	77
Tabela C. 2 - Massas pesadas de solo para cada ensaio de recuperação, em gramas, g; a contaminação de TPhP aplicada a cada ensaio, $\mu\text{g/g}$; a área média dos picos obtidos por GC-FPD; e as respectivas concentrações e recuperações determinadas.	77
Tabela C. 3 - Áreas dos picos das soluções padrão	78
Tabela D. 1- Códigos utilizados gerados pelo planeamento fatorial do <i>Design Expert</i> 11.1.2.0	79
Tabela D. 2 - Massas pesadas de solo e MP de LDPE, g, e os volumes de contaminação de TPhP e MLT, do grupo referente ao dia 0.	80
Tabela D. 3 - Massas pesadas de solo e MP de LDPE, g, e os volumes de contaminação de TPhP e MLT, do grupo referente ao dia 7.	80
Tabela D. 4 - Massas pesadas de solo e MP de LDPE, g, e os volumes de contaminação de TPhP e MLT, do grupo referente ao dia 14.	81
Tabela D. 5 - Massas pesadas de solo e MP de LDPE, g, e os volumes de contaminação de TPhP e MLT, do grupo referente ao dia 21.	81
Tabela D. 6 - Massas pesadas de solo e MP de LDPE, g, e os volumes de contaminação de TPhP e MLT, do grupo referente ao dia 28.	82
Tabela D. 7 - Resultados obtidos para a experiência 1	82
Tabela D. 8 - Resultados obtidos para a experiência 2.....	83
Tabela D. 9 - Resultados obtidos para a experiência 3.....	83
Tabela D. 10 - Resultados obtidos para a experiência 4.....	84

Tabela D. 11 - Resultados obtidos para a experiência 5.....	84
Tabela D. 12 - Resultados obtidos para a experiência 6.....	85
Tabela D. 13 - Resultados obtidos para a experiência 7.....	85
Tabela D. 14 - Resultados obtidos para a experiência 8.....	86
Tabela D. 15 - Resultados obtidos para a experiência 9.....	86
Tabela D. 16 - Resultados obtidos para a experiência 10.....	87
Tabela D. 17 - Resultados obtidos para a experiência 11.....	87
Tabela D. 18 - Resultados obtidos para a experiência 12.....	88
Tabela D. 19 - Resultados obtidos para a experiência 13.....	88
Tabela D. 20 - Resultados obtidos para a experiência 14.....	89
Tabela D. 21 - Resultados obtidos para a experiência 15.....	89

Índice de Figuras

Figura 1 - Classificação dos polímeros termoplásticos	8
Figura 2 - Principais polímeros, com as respetivas abreviaturas, fórmulas químicas, densidades, em g/cm ³ e principais aplicações.[40].....	8
Figura 3 - Cadeia do plástico [9] (adaptado).	9
Figura 4 – (a) MP primários presentes na pasta de dentes.; (b) Praia contaminada por MP secundários [13].....	14
Figura 5 – Fontes de contaminação por MP [2]. (adaptado)	15
Figura 6 - Fatores que influenciam a adsorção [28] (adaptado).	20
Figura 7 - Mecanismos de adsorção [28].	22
Figura 8 - Abordagens de amostragens [12].....	28
Figura 9 - Métodos de extração de MP [12].....	30
Figura 10 - Métodos de identificação e quantificação.....	32
Figura 11 - Superfície 3D para extração de TPhP ao fim de 7 dias. (a) Resultados para 0 mL de água; (b) resultados para 1,5 mL de água; (c) resultados para 3 mL de água.	37
Figura 12 - Contaminações dos estudos de recuperação.	40
Figura 13 - Condições do teste preliminar 1.	44
Figura 14 - Condições do teste preliminar 2.	45
Figura 15 - Condições do teste preliminar 3.	45
Figura 16 - Condições do teste preliminar 4.	46
Figura 17 – (a) Solução padrão de 37,5 µg/L de MLT e TPhP; (b) solo standard (Lufa 2.2, Lufa Speyer); (c) MP (LDPE em pó, partículas virgens ≤300µm, GoodFellow).	52
Figura 18 - Resultados obtidos, ao longo de 28 dias, das concentrações de extração do MLT, agrupados de acordo com volume de água desionizada adicionado a cada vaso no dia 0 (a): volume de água adicionado 0 mL; (b): volume de água adicionado 1,5mL; (c): volume de água adicionado 3 mL.....	54
Figura 19 - Resultados obtidos das concentrações de extração do TPhP, ao longo de 28 dias, de acordo com volume de água adicionado a cada vaso (a): volume de água adicionado 0 mL; (b): volume de água adicionado 1,5 mL; (c): volume de água adicionado 3 mL. Os gráficos de linhas ilustram o comportamento das concentrações extraídas ao longo dos dias. O gráfico circular apresenta o somatório das concentrações extraídas de todas as experiências, para cada dia.	57
Figura 20 - Extração dos poluentes cujas contaminações foram realizadas nas mesmas proporções, para os 3 níveis de contaminações.	59
Figura 21 - Resultado do teste preliminar 1.	61
Figura 22 - Formação de espuma, devido à digestão àcida realizada no teste preliminar 2	62
Figura 23 - Resultados obtidos após agitação na incubadora do teste preliminar 3.....	63
Figura 24 - Imagem do solo do teste preliminar 3 com ampliação de 200 vezes.	63

Figura 25 - Imagem do solo do teste preliminar 4, ao microscópio, com ampliação de 200 vezes.	64
Figura B. 1 - Ficha técnica da caracterização do solo.	73
Figura C. 1 - Curva de calibração do MLT	75
Figura C. 2 - Curva de calibração para o TPhP.....	75

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

Abreviaturas

BBP – Ftalato de butilbenzilo
DDT – diclorodifeniltricloroetano
DEP – Ftalato de dietilo
DEHO – Ftalato de bis (2-etil-hexilo)
DMP – Ftalato de dimetilo
DnBP – Ftalato de dibutilo
DnOP – Ftalato de di-n-octilo
LDPE – Polietileno de baixa densidade
HDPE – Polietileno de alta densidade
MT – Toneladas métricas
MP – Microplástico
NPE – Etoxilatos de nonifenol
OPE – Ésteres de fosfato
PA – Poliamidas
PAH – Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
PBDE – Éteres difenílicos polibromados
PBT – Politeraftalato de butileno
PC – Policarbonato
PET – Politeraftalato de etileno
PCB – Bifenilospoliclorados
PE – Polietileno
PEAD – Polietileno de alta densidade
PEBD – Polietileno de baixa densidade
POP – Poluentes orgânicos persistentes
PP – Polipropileno
PS – Poliestireno
PU – Poliuretano
UV – Radiação ultravioleta

Abreviaturas Compostos Químicos

MLT – Malatião
TPhP – Fosfato de trifênilo

Siglas

PNUMA – Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente

1. Introdução

1.1. Contextualização

As pesquisas de microplásticos (MP) têm sido, maioritariamente, direcionadas para o meio aquático. Estudos recentes revelaram que os reservatórios ambientais terrestres de MP são, possivelmente, bastante superiores aos reservatórios marinhos. A pesquisa de MP é uma área em rápida evolução, porém, ainda não existem métodos analíticos robustos capazes de detetar MP nos solos terrestres [1].

Estudos recentes, relativamente à presença de MP em ambiente terrestre, foram referentes aos mecanismos e comportamentos dos mesmos no ambiente do solo, à sua tendência de biomagnificação via cadeias alimentares e aos efeitos toxicológicos que estes representam [2]. Também tem sido objetivo de estudo, o desenvolvimento de métodos analíticos para a deteção de MP. No entanto, a pesquisa geral sobre a poluição destes compostos poliméricos em solos agrícolas ainda está num estágio embrionário e há muitas lacunas de conhecimento nesta área. Várias questões-chave, tais como: níveis de poluição, ameaças ecológicas, mecanismos de dispersão e desenvolvimento de tecnologias analíticas e de quantificação, ainda requerem bastantes estudos, tendo em vista a alta complexidade e heterogeneidade do ambiente do solo, em diferentes sistemas agrícolas [2].

Em suma, é urgente chamar a atenção dos responsáveis da área agrícola para esta temática, de forma que se possam obter recursos, para que seja possível desenvolver métodos analíticos autossuficientes e capazes de detetar MP nos solos, com eficácia e precisão [1,2].

Com o intuito de se alargar a investigação dos MP nos solos agrícolas, nesta dissertação de mestrado iniciou-se um estudo acerca das possíveis interações entre os MP e outros contaminantes, em solos, ao longo de 28 dias. Para tal, simulou-se um ambiente agrícola, realizando-se vários ensaios experimentais com um solo *standard*, MP de polietileno de baixa densidade (LDPE) e diferentes concentrações de um retardante de chama, o fosfato de trifênilo (TPhP), um pesticida, o malatião (MLT) e água. A escolha do polímero deveu-se ao facto do LDPE ser bastante utilizado na cultura de morangueiros como cobertura, e ser, portanto, expectável o aparecimento de produtos de degradação no solo de cultivo. A degradação do LDPE levará à

formação de MP e à libertação de aditivos, como os retardantes de chamas, para os solos agrícolas. O pesticida utilizado é comumente empregue na cultura dos morangueiros, podendo ser sorvido pelo solo e/ou pelo MP. Os estudos foram realizados na presença e na ausência de água de forma a simular períodos de chuva e regas.

As experiências foram planeadas através do software *Design Expert* 11.1.2.0 e foram preparadas em frascos de vidro, as quais foram colocadas numa câmara de fitoclima, o que proporcionou a simulação de dia e noite, ao permitir a variação, quer da temperatura quer da iluminação. Neste estudo, selecionaram-se 5 pontos de análise, sendo eles os dias 0, 7, 14, 21 e 28. Em cada um destes dias retirou-se da câmara de fitoclima 1 vaso de cada uma das experiências e procedeu-se à extração sólido-líquido, baseada no método *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* (QuEChERS) modificado, dos compostos em estudo (TPhP e MLT). Os extratos obtidos foram analisados por cromatografia gasosa com deteção por fotometria de chama (GC-FPD).

1.2. Plástico

As atividades antrópicas são consideradas como uma das principais causas da perda da biodiversidade e das funções do ecossistema. Um marcador típico da atividade humana consiste na grande quantidade de plásticos produzidos e utilizados diariamente por todo o mundo [2].

No início do século XX, desenvolveram-se novos tipos de materiais: os plásticos. Desde então, estes materiais têm sido bastante utilizados para se produzirem os mais variados tipos de objetos. Estes polímeros sintéticos são de origem petroquímica e revolucionaram o mercado, uma vez que, apresentam características físico-químicas apropriadas, longa durabilidade, resistência à degradação e, ainda, apresentam um baixo custo de produção. Deste modo, estes materiais têm vindo a provocar mudanças significativas no consumo e, como tal, no estilo de vida das pessoas [3, 4].

Quimicamente, o plástico pode ser definido como um material, cujo componente fundamental consiste num polímero, que é sólido na sua forma final e que numa determinada fase, aquando da sua produção, é transformado em fluido, de forma que a que possa ser moldado [3].

1.2.1. Petróleo: matéria-prima do plástico e processo de refinação

O petróleo, uma das matérias-primas do plástico, é um combustível fóssil, que consiste numa mistura complexa de hidrogénio e carbono e que também contém derivados de enxofre e de azoto, sais e alguma água. A formação desta mistura teve primórdio há centenas de milhões de anos, a partir de restos animais e vegetais e encontra-se depositada no solo a profundidades variáveis e, como tal, a sua composição varia de local para local. Em média, o petróleo é constituído, em percentagem mássica, por: 84% de carbono, 14% de hidrogénio, 1-3% de enxofre, < 1% de azoto, < 1% oxigénio e < 1% de metais [5].

Os hidrocarbonetos que constituem a maior percentagem do petróleo, podem ser:

- **Parafinas:** metano, etano, propano, butano, isobutano, pentano, n-octano;
- **Aromáticos:** benzeno, tolueno, xileno, naftaleno;
- **Cicloalcanos:** ciclopentano, metilciclopentano, ciclohexano;
- **Alquenos:** etileno, buteno, isobuteno [5].

Para que o petróleo bruto possa ser utilizado como matéria-prima, não só para o plástico, mas também para outros produtos (e.g. gasóleo, gasolina e fuelóleo), é necessário proceder-se à sua refinação [5]. Resumidamente, o processo de refinação consiste numa sucessão de destilações fracionadas, onde resultam várias frações (e.g. gases c1 a c4, nafta, gasolina, querosene), de acordo com as diferentes volatilidades que os vários constituintes do petróleo apresentam e, posteriormente, numa sucessão de processos de *cracking*, onde as moléculas mais longas são divididas em moléculas mais pequenas [5].

A fração da qual, se obtêm os monómeros, para a polimerização do plástico é a nafta, que corresponde, em média, a 20% dos produtos destilados. A nafta, é submetida ao processo de *cracking* e dá origem a várias substâncias, tais como, etileno, propileno, butadieno, buteno, que são denominados por monómeros. Estas substâncias, por sua vez, são transformadas em polímeros, tais como polietileno (PE), polipropileno (PP), policloreto de vinilo (PVC), entre outros [3].

1.2.2. Reações de polimerização, propriedades dos polímeros, aditivos e processamento

Um polímero é um material que é constituído por 1000 a 1.000.000 de unidades de monómeros, unidos por ligações covalentes. Os polímeros podem ser classificados como homopolímeros, se derivarem de uma única espécie de monómeros ou por copolímeros se derivarem de mais de uma espécie de monómeros [3,6]. Os monómeros reagem quimicamente entre si e ligam-se, em cadeia, através de um processo denominado por polimerização. Deste modo, as macromoléculas apresentam um peso molecular muito elevado [6].

Nas reações de polimerização, podem-se formar, entre outros, três tipos principais de cadeias:

- **Cadeias lineares:** quando os átomos são encadeados numa única direção no espaço;
- **Cadeias ramificadas:** existem ramificações de moléculas que se ligam à cadeia principal;
- **Cadeias cruzadas ou reticulados:** quando cadeias poliméricas são ligadas entre si, em diferentes pontos das suas extremidades [3].

Carothers, em 1929, repartiu os polímeros em duas grandes classes, de acordo com o tipo de polimerização que sofrem, que podem ser: adição e condensação [6]. Os polímeros que são obtidos por polimerização por adição são aqueles cujos monómeros são adicionados uns aos outros, através da quebra das ligações duplas entre os átomos de carbono. Os polímeros obtidos por condensação são aqueles cujos monómeros se ligam em blocos. A formação dos polímeros, resulta da reação entre dois grupos funcionais reativos dos monómeros, havendo eliminação de moléculas que apresentam baixo peso molecular como a água, por exemplo [6].

Na **tabela 1**, encontram-se descritas as principais diferenças entre os dois tipos de polimerização mencionados.

Tabela 1- Diferenças entre a polimerização por adição e polimerização por condensação [7] (adaptado).

Polimerização por adição	Polimerização por condensação
Existe formação de polímeros com elevada massa molecular, logo nos instantes iniciais da reação.	Para que se obtenham polímeros de elevada massa molecular é essencial um elevado tempo de reação e que praticamente todos os monómeros tenham reagido.
O comprimento médio da cadeia polimérica não varia significativamente durante a polimerização.	O comprimento médio da cadeia polimérica aumenta gradualmente, ao longo da reação.
A velocidade da reação de polimerização é elevada.	A velocidade da reação de polimerização é baixa.

As propriedades peculiares dos polímeros devem-se, principalmente, à sua alta massa molecular. As propriedades como resistência mecânica, resistência térmica, estabilidade face a substâncias químicas, resistência elétrica, permeabilidade a gases, entre outras, permitem determinar qual será a aplicação do polímero [3].

A obtenção de polímeros com certas propriedades e características tecnológicas pode ser preestabelecida a partir das reações de polimerização. Todavia, uma prática bastante comum na indústria de polímeros consiste na adição de substâncias denominadas por aditivos, que têm como objetivo conferir propriedades desejáveis à resina polimérica [3].

Na **tabela 2**, encontra-se a listagem de alguns tipos de aditivos utilizados, assim como, as respectivas funções [3].

Tabela 2 - Aditivos adicionados aos polímeros e respectivas funções [3] (adaptado).

Aditivo	Função
Antioxidante	Prevenir ou minimizar a oxidação, devido ao oxigênio e ao azoto, presentes na atmosfera
Aromatizante	Conferir e mascarar odores
Biocida	Inibir a degradação causada por microrganismos
Carga	Aumentar a resistência ao desgaste do material
Estabilizador térmico	Evitar a decomposição do material, devido ao calor
Estabilizador UV	Evitar a decomposição do material, devido aos raios UV
Lubrificante	Reduzir a viscosidade
Pigmento	Conferir cor
Plastificante	Aumentar a flexibilidade
Retardante de Chama	Reduzir a inflamabilidade

A mistura composta pela resina polimérica e os diferentes aditivos que podem ser adicionados têm de ser moldados, para que possam adquirir a forma do produto final desejado. Na grande maioria dos processos de moldagem, ou processamento dos polímeros, a mistura é fundida pela ação do calor, com ou sem pressão. Dois dos processos mais comuns são a calandragem e a extrusão. A calandragem consiste na passagem da mistura por entre rolos sucessivos, que estão interligados e em rotação. Este processo é utilizado na produção de lâminas, folhas e filmes de espessura regular.

Por sua vez, na extrusão, a mistura polimérica passa por uma matriz, que tem o molde do objeto desejado. Seguidamente, a mistura é arrefecida e torna-se sólida. Este processo é utilizado para produzir tubos ou pastilhas [3].

1.2.3. Classificação dos polímeros, tipos de polímeros e as suas aplicações

A classificação dos polímeros pode ser bastante complexa, dada a diversidade das suas estruturas. Quanto à origem, os polímeros podem ser classificados como naturais, semi-sintéticos e sintéticos. Os polímeros naturais são aqueles que são obtidos diretamente da natureza, como borracha natural, celulose, proteínas, etc. Um exemplo de polímeros semi-sintéticos é a borracha vulcanizada. Os polímeros sintéticos são aqueles que são produzidos pelo homem e que sofrem processos de transformação. Estes, por sua vez, podem ser classificados de acordo com a sua resistência térmica em elastómeros, termoendurecíveis e termoplásticos [3,6].

Os **elastómeros** apresentam um elevado grau de elasticidade quando são sujeitos a uma tensão, porque se deformam reversivelmente. Estes polímeros apresentam uma estrutura macromolecular que é composta por longas cadeias, enroladas e torcidas entre si. Este facto, confere-lhes grande flexibilidade, como é o caso da borracha natural [3,6,8].

Os **termoendurecíveis** podem ser moldados e depois endurecidos, mas apenas, quando sofrem um único ciclo térmico pois, caso contrário, verifica-se a deterioração das suas propriedades. Como tal, estes materiais não são recicláveis. Relativamente a estes polímeros, os que apresentam maior destaque são os poliuretanos (PU) e os silicões [6,8].

Os **termoplásticos** são constituídos por cadeias lineares ou ligeiramente ramificadas, que são interligadas por forças de Van der Waals. Durante o aquecimento as ligações, uma vez que são fracas, são destruídas e o plástico funde. Porém, o estado sólido é restabelecido aquando do seu arrefecimento, dado que não houve quebra das ligações covalentes. Deste modo, cadeias poliméricas conseguem suportar vários ciclos térmicos. Assim, estes materiais podem ser recicláveis. A classificação dos polímeros termoplásticos, encontram-se na **figura 1** [6,8].

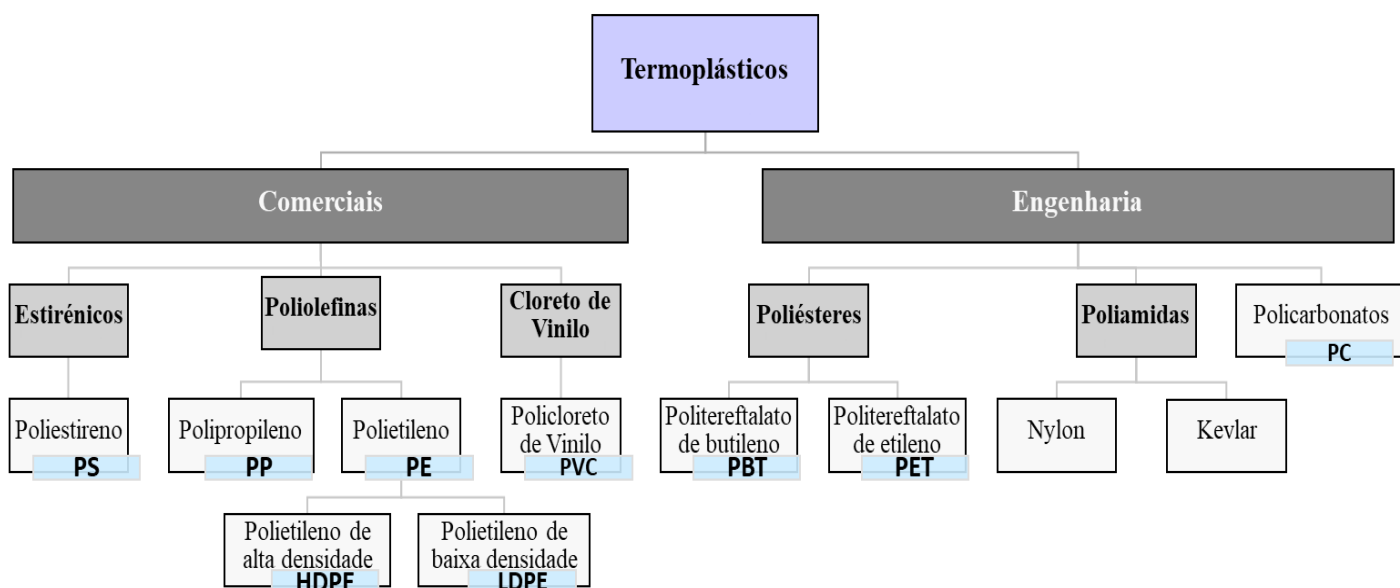


Figura 1 - Classificação dos polímeros termoplásticos.

Na **figura 2**, encontram-se os principais polímeros, com as respetivas abreviaturas, fórmulas químicas, densidades (g/cm^3) e principais aplicações.

Polietileno	PE	$\left[\text{CH}_2 - \text{CH}_2 \right]_n$	0,91 - 0,96	Sacos de plástico, película plástica, embalagens e redes
Polipropileno	PP	$\left[\text{CH}_2 - \underset{\text{CH}_3}{\text{CH}} \right]_n$	0,85 - 0,91	Cordas, tampas de garrafas, redes e amortecedores de automóveis
Poliestireno	PS	$\left[\text{CH}_2 - \underset{\text{C}_6\text{H}_5}{\text{CH}} \right]_n$	1,04 - 1,10	Utensílios de cozinha descartáveis e contentores de acondicionamento de alimentos
Policloreto de vinil	PVC	$\left[\text{CH}_2 - \underset{\text{Cl}}{\text{CH}} \right]_n$	1,16 - 1,58	Película plástica, embalagens e materiais médico-cirúrgicos
Polietileno tereftalato	PET	$\left[\text{O} - \text{C}(=\text{O}) - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{C}(=\text{O}) - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 \right]_n$	1,37 - 1,45	Garrafas de água e de sumos

Figura 2 - Principais polímeros, com as respetivas abreviaturas, fórmulas químicas, densidades, em g/cm^3 e principais aplicações.

1.2.4. Impacto ambiental dos plásticos, gestão de resíduos, bioeconomia e bioplásticos

Em 2016, 27,1 milhões de toneladas métricas (Mt) de resíduos plásticos foram recolhidos na União Europeia (UE), dos quais 31,1% foram reciclados, 41,6% foram utilizados para valorização energética e os restantes 27,3% foram eliminados em aterros. Estima-se que, mantendo os padrões atuais de produção e gestão destes resíduos, em 2050 existam 12.000 Mt de resíduos de plástico em aterros sanitários por todo o mundo [2]. A incorreta gestão dos resíduos de plástico pode levar a que estes sejam intencional ou acidentalmente descartados no meio ambiente, onde a sua degradação ocorre ao longo de vários anos [9].

Na **figura 3**, encontra-se um esquema resumo da cadeia do plástico.

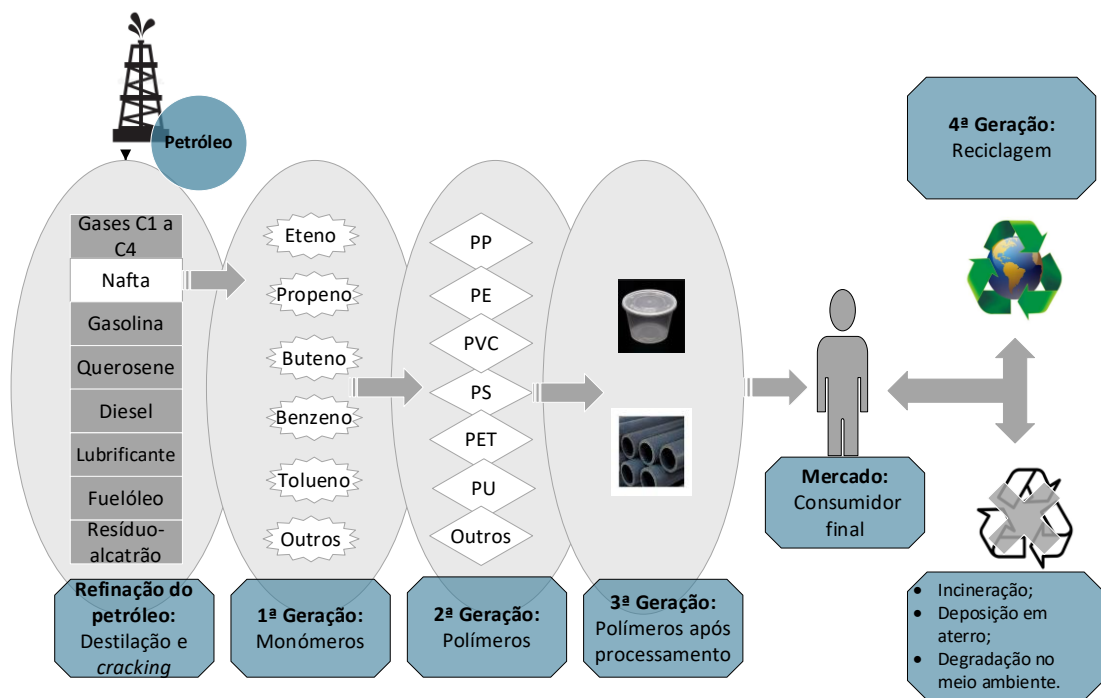


Figura 3 - Cadeia do plástico [9] (adaptado).

A reciclagem dos polímeros apresenta vários benefícios, entre os quais, o aumento da vida útil dos aterros sanitários, a redução de gastos com a limpeza e a saúde [9].

A deposição dos polímeros em aterros, deve-se a duas possíveis razões. A primeira, deve-se ao facto de estes materiais não terem sido devidamente separados, quer seja por descarte juntamente com o lixo indiferenciado, quer seja por descarte no ecoponto incorreto. A triagem dos resíduos nos ecocentros, é efetuada de forma manual pelos operadores e, dado ao volume de resíduos, torna-se muito complicado aproveitar grande parte dos polímeros, que poderiam ser devidamente reciclados. Uma outra razão, consiste no facto de alguns plásticos não poderem ser reciclados, dado que são constituídos por uma mistura de vários polímeros [9].

Alguns polímeros que são depositados em aterro e que apresentam valor energético, podem ser incinerados, de forma a se realizar aproveitamento energético. Na UE estas práticas obedecem a regulamentação de forma a minimizar os impactos na qualidade do ar. Porém, nos países onde não existe regulamentação ou controlo do processo de queima, emitem-se substâncias muito perigosas para o ar, tais como, metais pesados, poluentes orgânicos e resíduos de cinzas, constituindo uma grave perturbação ao meio ambiente. Estes poluentes, contribuem para o desenvolvimento de asma, distúrbios endócrinos, entre outros [9].

Por outro lado, se o plástico for descartado no meio ambiente, devido a más práticas civilizacionais, ou por outras razões, que serão explicadas na secção 1.3.1 das fontes de contaminação de MP, o plástico fica retido por muitos anos no meio ambiente, provocando graves perturbações [9].

Na **tabela 3**, encontra-se a análise SWOT para o plástico. Este tipo de análise visa visualizar sucintamente as ameaças, as fraquezas, as oportunidades e as forças, que determinados produtos apresentam.

Tabela 3 - Análise SWOT do plástico [9] (adaptado).

	Forças	Fraquezas
Fatores internos	<ul style="list-style-type: none"> • Versatilidade; • Consolidação no mercado; • Processo de fabrico otimizado; • Preços baixos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Dependência do petróleo; • Grande impacto ambiental devido ao descarte inapropriado, incineração e deposição em aterros.
	Oportunidades	Ameaças
Fatores externos	<ul style="list-style-type: none"> • Investimentos na indústria de reciclagem. 	<ul style="list-style-type: none"> • Políticas governamentais; • Surgimento de biopolímeros.

Tendo em conta os desafios associados à reciclagem, os efeitos negativos da incineração quando é mal realizada, os limites de espaço dos aterros, o descarte inapropriado dos polímeros, a dependência do petróleo, entre outros, a Bioeconomia apresenta-se como um novo conceito promissor e tem como uma das bases a implementação de bioplásticos [9].

O conceito de Bioeconomia consiste na exploração sustentável de recursos biológicos renováveis e apresenta três grandes pilares: produção de alimentos, produtos de base biológica e bioenergia. O grande objetivo da bioeconomia visa associar os avanços da biotecnologia à inovação, através da utilização de biomassas, bem como, bioprocessos inovadores, de forma que se produzam produtos sustentáveis, combatendo os desafios globais ambientais [9,10].

Os bioplásticos são materiais que possuem estruturas e características semelhantes aos plásticos de origem fóssil, no entanto, apresentam uma base biológica. Os materiais de base biológica derivam total ou parcialmente de fontes renováveis. No entanto, a biodegradação consiste num processo químico no qual microrganismos presentes no ambiente, conseguem converter os materiais em substâncias naturais, tal como água e o dióxido de carbono. Este processo depende das condições ambientais, bem como, do material [9].

A biodegradabilidade de um material depende da sua estrutura química. Deste modo, um material de base totalmente biológica não é necessariamente biodegradável. Como tal, existem bioplásticos que podem ser, ou não, biodegradáveis [9].

Na **tabela 4**, encontra-se a análise SWOT para os bioplásticos.

Tabela 4 - Análise SWOT dos bioplásticos [9] (adaptado).

	Forças	Fraquezas
Fatores internos	<ul style="list-style-type: none"> • Independência do petróleo; • Propriedades semelhantes aos polímeros petroquímicos; • Possibilidade de se produzirem bioplásticos biodegradáveis; • Possibilidade de se substituir diversos polímeros de origem fóssil. 	<ul style="list-style-type: none"> • Altos custos de produção e métodos ainda não consolidados; • Utilização de recursos naturais limitados, como área agrícola e água.
	Oportunidades	Ameaças
Fatores externos	<ul style="list-style-type: none"> • Desenvolvimentos de novos processos de polimerização e catalisadores, que podem reduzir os custos de produção. 	<ul style="list-style-type: none"> • Competição com o mercado de plásticos convencionais.

1.3. Microplásticos

Uma das grandes preocupações ambientais reside na contaminação dos ecossistemas com resíduos plásticos, que podem provocar graves efeitos no meio ambiente, nos seres humanos e nos animais [10].

No dia a dia, utilizam-se vários tipos de plásticos que, se por um lado facilitam a nossa vida do ponto de vista da praticidade, por outro lado, trazem repercussões negativas ao meio ambiente. Desde que se acorda, até que se deita, o ser humano contacta com vários polímeros ao longo do dia. A maioria dos alimentos são embalados com plástico: iogurtes, pão de forma, bolachas, frutas, leite, assim como, os cosméticos e as pastas de dentes. Roupas sintéticas e material escolar/escritório como canetas, marcadores, marcadores de página, capas de arquivo, capas de cadernos, também são exemplos de plásticos com que o ser humano contacta diariamente. Se os resíduos gerados não forem depositados corretamente nos locais apropriados, estes, podem entrar no meio ambiente.

Outro efeito negativo associado ao plástico, reside no facto de estes materiais serem complexos, uma vez que contêm aditivos que são tóxicos. Nas embalagens alimentares pode ocorrer a migração destas substâncias para os alimentos. O processo de migração pode constituir sérios riscos à saúde humana e é influenciado pelas interações entre embalagem e alimento, pela temperatura, pelo tempo de contacto e pela natureza dos produtos alimentares [11].

Entre os diversos resíduos produzidos a partir dos plásticos, os que apresentam uma maior importância são os MP [10]. Os MP definem-se como quaisquer sólidos sintéticos, como partículas ou matrizes poliméricas, que apresentam formato regular ou irregular, cujo tamanho pode variar entre 1 μm e 5 mm, embora ainda não exista consenso relativamente ao limite inferior, que são insolúveis em água e que podem resultar da degradação dos plásticos [12].

Os MP têm sido encontrados em diversos locais do meio ambiente. A Organização das Nações Unidas divulgou, em 2017, que existem 51 mil milhões de partículas de MP nos mares. Os MP que se encontram no mar podem ser ingeridos por animais marinhos e, como tal, acabarem nos humanos, através da cadeia alimentar [13].

Estes poluentes também já foram encontrados em alimentos e bebidas, como cerveja, vinho, mel, frutas e legumes e, como tal, foram recentemente detetados em

fezes humanas. Os MP também dão entrada nas nossas casas, através da água da torneira [13].

Dada a elevada quantidade de plásticos produzidos e a sua praticidade, dificilmente haverá uma solução para estes problemas, porém, uma vez que já se conhecem os riscos associados, a melhor estratégia a implementar consiste em reduzir os impactos inerentes, bem como, promover a educação ambiental, no que diz respeito à redução do uso de plásticos, assim como, incentivar à correta deposição destes polímeros, no final dos seus ciclos de vida [10].

1.3.1. Classificação, degradação, fontes e efeitos adversos dos microplásticos

Os MP podem ser classificados como primários ou secundários. Esta classificação difere no modo como estes detritos dão entrada no meio ambiente, ou seja, dependem das suas fontes [10].

Os MP primários são libertados diretamente para o ambiente, como pequenas partículas. Normalmente apresentam formato de pequenos grânulos ou esferas (*pellets*). Estas partículas são diretamente utilizadas no processo de fabrico de produtos de higiene pessoal como, por exemplo, cremes dentais e esfoliantes cosméticos. Estes fragmentos entram no ambiente, principalmente, através das descargas de águas residuais. Uma outra possibilidade, provém da lavagem de roupas sintéticas e ainda, pelo desgaste dos pneus, aquando da condução dos veículos [10,11].

Os MP secundários, provêm da degradação de objetos de plástico maiores, como sacos de plásticos, garrafas e outros objetos poliméricos [10, 11].

Na **figura 4**, encontra-se um exemplo de MP primários, presentes numa pasta de dentes e uma imagem que ilustra uma praia poluída por vários MP secundários

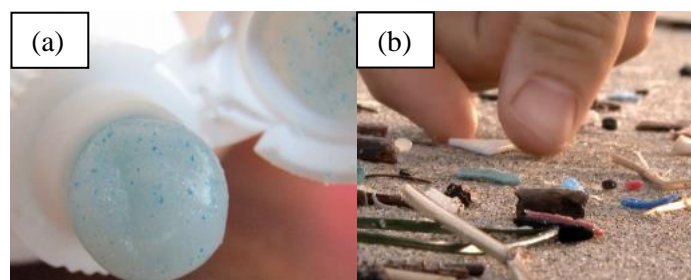


Figura 4 – (a) MP primários presentes na pasta de dentes.; (b) Praia contaminada por MP secundários [13].

A degradação dos plásticos pode ocorrer devido a vários fatores [12]. Um dos fatores refere-se à exposição solar direta a que estes materiais estão sujeitos. Este fenómeno provoca a foto-degradação, isto é, os raios ultravioleta que penetram nos polímeros, provocam a sua oxidação, proporcionando a quebra das moléculas presentes no material [10]. Outro fator consiste no facto das comunidades microbianas e dos organismos terrestres acelerarem a biodegradação de plásticos quebradiços. Uma outra possibilidade, consiste nos processos agrícolas, como a lavoura, uma vez que esta prática permite a fragmentação dos plásticos, em detritos de plástico [10].

Para além das fontes de contaminação de MP mencionadas, existem muitas outras fontes. As mais importantes, tais como, lavagem de roupas sintéticas, cuidados pessoais de cosmética, agricultura, ETAR, entre outras, estão representadas na **figura 5**.



Figura 5 – Fontes de contaminação por MP
[2] (adaptado).

As práticas agrícolas são consideradas como uma das atividades mais relevantes para a contaminação dos solos com MP. Supõe-se que, anualmente, entre 125 e 850 toneladas de MP, por milhão de habitantes, são adicionadas aos solos agrícolas na Europa [1]. As lamas de ETAR ou de depuração são utilizadas como um suplemento para os fertilizantes tradicionais na agricultura, para se promover o crescimento de frutas e vegetais. Porém, juntamente com as águas residuais, também chegam grandes quantidades de MP que são provenientes, por exemplo, de lavagens de roupas sintéticas e cosméticos, como já foi explicado na seção 1.3.1. A aplicação destas lamas não é regulamentada para os MP [14]. Outra razão que contribui para a presença de MP nos solos agrícolas, consiste na larga aplicação de filme de plástico para coberturas, que é posteriormente incorporado no solo, passando por vários processos, como esmagamento físico, envelhecimento químico e degradação, consequentemente, convertido em MP [15].

Os MP presentes nos solos causam efeitos adversos nas plantas, nos microrganismos, nos animais e nos humanos [2]. Relativamente às plantas, existem duas preocupações principais, sendo elas: o facto de as plantas poderem acumular MP afetando os seres humanos através da cadeia alimentar e a forma como os MP afetam o crescimento das plantas, uma vez que estes, conseguem entrar nas células vegetais das plantas, através da endocitose [2].

As principais preocupações com os efeitos adversos que os MP provocam nos microrganismos do solo, estão relacionadas com os seus efeitos no transporte bacteriano, propagação de genes resistentes aos antibióticos e ao metabolismo [2].

Já com os efeitos adversos dos MP nos animais, as preocupações assentam no crescimento, sobrevivência, metabolismo, padrão de alimentação e reação inflamatória [2]. Um dos problemas mais graves causados pelo plástico no mundo animal consiste no facto de os animais confundirem resíduos de plástico com alimento, cujas consequências podem ser fatais. Grandes quantidades de MP foram detetadas nos estômagos de vários animais mortos. Outro problema reside no facto dos animais marinhos ficarem presos no lixo de plástico e, acabarem por morrer por inanição. Um outro caso são as minhocas, que podem ingerir grandes quantidades de MP, o que pode causar danos ao trato intestinal, reduzindo sua taxa de sobrevivência. Os MP de poliestireno (PS) podem causar danos no sistema nervoso das minhocas [15].

Relativamente aos seres humanos, segundo pesquisadores da Universidade *John Hopkins*, nos EUA, qualquer europeu que inclua, habitualmente, no seu cardápio frutos do mar, ingere cerca de 11.000 partículas de MP por ano. Um outro estudo realizado em 2018, pela *Greenpeace* e pela Universidade Nacional de *Incheon*, na Coreia do Sul, concluiu que 90% das marcas de sal, a nível mundial, contêm MP. Para além disso, sabe-se que a água da torneira é uma das fontes pelas quais os seres humanos também ingerem MP. A comunidade científica tem vindo a debruçar-se sobre os possíveis efeitos dos MP no organismo dos seres humanos. Os plásticos que são mais frequentemente encontrados são o polipropileno (PP) e o politeraftalato de etileno (PET), que, apesar de não se poder afirmar de onde provêm, são os principais constituintes das garrafas de plástico e das embalagens de leite e de sumos. Uma outra hipótese para o consumo de MP pode ser devido ao facto de a comida ser contaminada durante o seu processamento ou, ainda, ser resultado do seu embalamento. Até hoje, ainda não foram identificadas evidências que determinem que os MP constituem um risco para a saúde dos seres humanos, especialmente tratando-se de partículas com maiores dimensões, uma vez que, à partida são excretadas. Contudo, as partículas que apresentam menores dimensões apresentam um risco mais elevado, uma vez que se podem infiltrar na corrente sanguínea, no sistema linfático e, ainda, chegar ao fígado [16,17]. Um estudo realizado por *Jangsun Hwang et al.* [17], afirma que geralmente é aceite que os MP não sejam prejudiciais para a saúde humana ou então, que os riscos são mínimos. Porém, afirma que os MP podem provocar um possível efeito adverso a nível celular. Neste estudo, analisaram-se as partículas primárias de PS e concluiu-se que estas não eram tóxicas para as células humanas numa dose experimental de aproximadamente 500 µg/mL [17]. As partículas de PS com diâmetros de 10-100 µm não eram significativamente citotóxicas. No entanto, partículas de PS de menores dimensões com diâmetros entre 460 nm e 1 µm afetaram as hemácias [17]. A aderência de pequenas partículas de PS para as hemácias, foi reforçada por forças interativas fracas, tais como as forças Van der Waals, que levaram à hemólise [17]. Este estudo também concluiu que as partículas de PS não causaram um aumento da secreção histamínica, assim, não eram passíveis de induzir uma reação alérgica ou inflamatória [17]. Num estudo realizado por *Ragusa et al.* [18], analisaram-se seis placentas humanas, através de espectroscopia de *Raman*, que é uma técnica que permite saber, em pouco tempo, a informação química e estrutural de qualquer material orgânico ou inorgânico.

Neste estudo, detetaram-se doze fragmentos de MP, em quatro placentas, onde cinco dos fragmentos se encontravam no lado fetal, quatro do lado materno e três nas membranas corioamnióticas. Os MP podem atuar como disruptores endócrinos, que podem trazer consequências ao desenvolvimento do feto. Com a presença de MP no corpo, o sistema imunitário fica alterado e passa a reconhecer estes elementos como sendo parte natural do próprio [19]. *Dunzhu Li et al.* [20], investigaram a exposição dos bebés a MP, a partir da preparação de leite de fórmula e outros alimentos em biberões de PP. A esterilização de PP com água a alta temperatura, aumenta significativamente a libertação de MP. Concluiu-se que os biberões libertam mais de 16.200.000 partículas de MP por litro. Este estudo destaca a necessidade urgente de se avaliar a exposição dos bebés aos MP [20].

1.3.2. Associação dos microplásticos com aditivos e interações dos microplásticos dos solos com outros contaminantes

Os estudos centrados na deteção de aditivos em MP são limitados, porém, a recuperação dos aditivos químicos a partir de amostras de MP é uma indicação da sua persistência e suscetibilidade à lixiviação. A libertação de aditivos químicos depende do tamanho dos poros do polímero, do tamanho da molécula aditiva, das propriedades físico-químicas dos aditivos e dos meios circundantes [21]. Os aditivos plásticos mais comuns incluem: ftalatos, bisfenol, retardantes de chama bromados (e.g. éteres difenólicos polibromados (PBDE)) e fosforados, nonilfenóis e antioxidantes [21].

Os ftalatos são aditivos plastificantes, que têm como objetivo conferir maior maleabilidade aos polímeros e são, maioritariamente, utilizados na produção de PVC. A utilização de ftalatos em brinquedos e produtos de puericultura numa percentagem mássica superior a 0,1 foi proibida pela diretiva 2005/84/CE do Parlamento Europeu. Os ftalatos são classificados como desreguladores endócrinos e são tóxicos para o sistema renal, reprodutivo, cardiovascular e neurológico [21].

O bisfenol A é normalmente utilizado como plastificante ou antioxidante em polímeros como o PE, PP, e PVC, estando, como tal, habitualmente, presente em recipientes para acondicionamento de alimentos, garrafas de plástico e embalagens de comida [21]. O bisfenol A pode migrar para os alimentos, provocando alguns riscos para a saúde, tais como, a diminuição da produção de espermatozoides, desenvolvimento de quistos nos ovários e, até, malformações no embrião [22,23].

Apesar de, hoje em dia, a quantidade de bisfenol A utilizada na produção de embalagens plásticas ser controlada na União Europeia, ainda continuam a existir preocupações associadas [22, 23].

O nonilfenol é classificado como um disruptor endócrino, é persistente no ambiente e é utilizado como antioxidante e plastificante, em alguns plásticos [21].

Os tensioativos de nonilfenol, incluindo etoxilatos de nonilfenol (NPE), são também utilizados em produtos de limpeza doméstica, produtos de manutenção de relva, detergentes para roupa, tintas de látex, espermicidas e cosméticos [21]. Como resultado da sua utilização em produtos de limpeza doméstica, o nonilfenol e os seus tensioativos estão presentes em águas residuais em quantidades micromolares [22].

Os PBDE têm como objetivo reduzir a taxa de combustão e dispersar o fogo, através da libertação de radicais de bromo [21]. Os PBDE têm propriedades cancerígenas, bem como, toxicidade reprodutiva, hepática e neurotoxicidade em ratos [21]. Deste modo, estes têm vindo a ser substituídos por ésteres de ftalato (OPE), como por exemplo o fosfato de trifênilo (TPhP). O TPhP que é utilizado como retardante de chama nos polímeros, já foi detetado em vários meios ambientais, em concentrações crescentes [22]. Porém, os riscos ambientais, assim como, os riscos associados à saúde dos seres vivos, relativamente aos efeitos deste composto, têm chamado a atenção devido à sua toxicidade múltipla [22]. Um estudo realizado por *Zhongkun Du* et al. [23], publicado na biblioteca nacional de medicina, dos EUA, revela os efeitos tóxicos induzidos pelo TPhP no fígado do peixe-zebra e, ainda, demonstra que apenas baixas concentrações deste composto afetam o metabolismo normal e o ciclo celular, deste peixe [23]. Como tal, é evidente que tanto os plásticos como os MP presentes no ambiente, representem um elevado fator de risco, devido à possível lixiviação dos seus aditivos para os meios circundantes, podendo comprometer os seres vivos [21].

No entanto, os MP presentes no solo, para além de terem a capacidade de lixiviar os seus aditivos para os meios circundantes, também têm a capacidade de absorver e adsorver várias substâncias nocivas, provenientes de várias fontes antropogénicas, como pesticidas, poluentes orgânicos persistentes (POP), metais pesados e produtos farmacêuticos, como antibióticos e antidepressivos. Estas interações podem tornar os MP ainda mais nocivos a longo prazo [15].

O solo agrícola é, frequentemente, exposto a pesticidas através da sua aplicação direta, ou mesmo, através de derrames acidentais [24]. Um exemplo de um pesticida frequentemente utilizado é o malatião (MLT) [25]. O MLT é um pesticida e um inseticida utilizado em culturas agrícolas, em produtos armazenados, jardins domésticos, locais ao ar livre, onde árvores e arbustos são cultivados, assim como, para combater moscas e mosquitos presentes nas frutas mediterrânicas. Embora as doses aplicadas sejam baixas, o MLT pode ser ingerido através de alimentos ou mesmo por água contaminada [26,27].

Existem vários fatores que influenciam os mecanismos de adsorção, tais como, características físicas e químicas do adsorvente (MP), características químicas do adsorvato (poluente químico) e características químicas do meio, como se pode ver na **figura 6**.

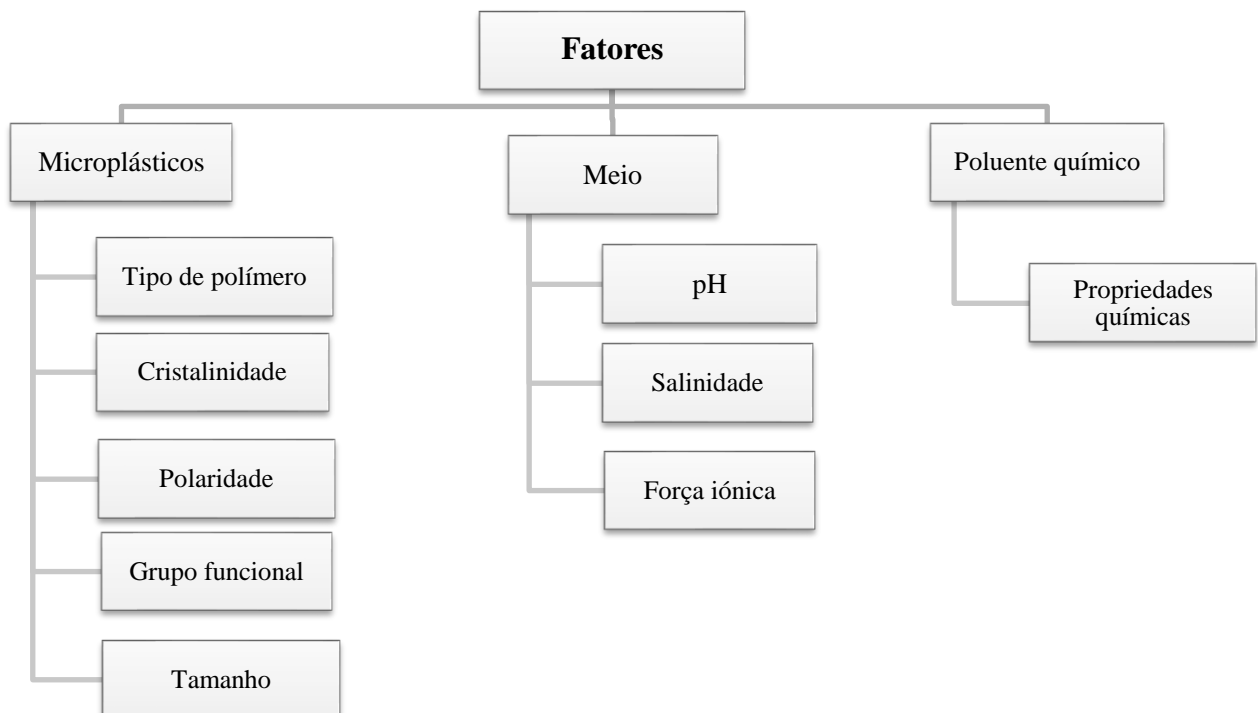


Figura 6 - Fatores que influenciam a adsorção [28] (adaptado).

As características dos MP afetam a adsorção de poluentes químicos de várias formas. O tipo de polímero desempenha um papel importante na determinação de vários fatores, tais como a polaridade, a cristalinidade, os grupos funcionais e o tamanho dos MP. O grau de cristalinidade é fundamental para determinar propriedades morfológicas, tais como resistência mecânica, densidade, permeabilidade, entre outras. Os grupos funcionais dos MP influenciam a capacidade de adsorção, na medida em que estes estão relacionados com os mecanismos de adsorção, que serão explicados mais à frente, nesta seção. Os MP no ambiente estão sujeitos às condições meteorológicas, as quais, podem provocar a formação de grupos funcionais de superfície, diminuindo a sua hidrofobicidade, o seu peso molecular e a sua densidade [28].

Relativamente às características químicas do meio ambiente, as alterações nas condições de pH do meio podem alterar, potencialmente, o destino e o comportamento de certos contaminantes, tais como alguns produtos farmacêuticos. Um pH mais alto, ou mais baixo, no meio, interfere na repulsão eletrostática criada por cargas iguais entre o adsorvato e o adsorvente. A contribuição da salinidade na capacidade de adsorção varia em função do poluente químico e dos mecanismos que se produzem. A salinidade elevada pode alterar a solubilidade aquosa dos compostos orgânicos, encorajando a sua adição às fases sólidas. Contudo, vários estudos sugerem que a salinidade tem pouco efeito na adsorção de diferentes contaminantes em MP [28].

As propriedades químicas do adsorvato também influenciam a capacidade de adsorção [28]. Estas características são, principalmente, a hidrofobicidade a força iónica e os grupos funcionais [28]. Em termos gerais, as propriedades químicas dos contaminantes afetam a sua capacidade de adsorção, de forma semelhante às propriedades do adsorvente [28].

Relativamente aos mecanismos de adsorção que descrevem as interações, as forças e as ligações envolvidas entre MP e contaminantes químicos, podem ser de seis tipos: interação hidrofóbica, interação eletrostática, preenchimento de poros, forças de Van der Waals, ligação por pontes de hidrogénio e interações π - π , tal como mostra a **figura 7**.

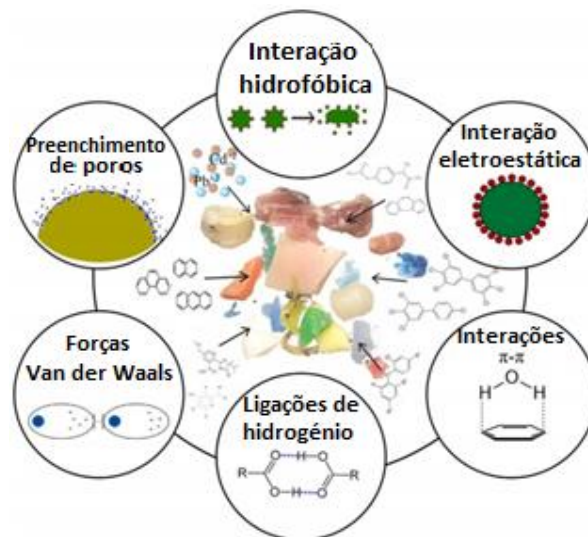


Figura 7 - Mecanismos de adsorção [28].

As interações hidrofóbicas descrevem a atração entre duas substâncias não polares que as fazem agregar ou aglomerar-se. Neste caso, os contaminantes hidrofóbicos são adsorvidos à superfície dos MP. Como a maioria das partículas de MP encontradas no ambiente (PS, PE, PP e PET) são hidrofóbicas, então, as interações hidrofóbicas são um dos mecanismos mais dominantes de adsorção, especialmente para os poluentes orgânicos hidrofóbicos [28].

Nas interações eletrostáticas, a atração entre as partículas ocorre por meio de moléculas com carga oposta ou repulsão por moléculas com a mesma carga. O aumento do pH da solução está geralmente associado a atrações eletrostáticas mais fortes, aumentando assim a capacidade de adsorção. A maioria dos plásticos, tais como PP, PS, e PE, têm um pH inferior ao pH da maioria dos meios aquáticos, o que aumenta a adsorção de produtos químicos com carga positiva. As interações eletrostáticas são um dos principais mecanismos de adsorção dos íons metálicos, Cu^{2+} , Pb^{2+} , e Cd^{2+} [28].

O mecanismo de enchimento de poros acontece quando os contaminantes ficam presos aos poros dos MP. Bakir *et al.* [28] indicam que o mecanismo de enchimento de poros pode aplicar-se a polímeros vítreos, que são polímeros amorfos com alta temperatura de transição vítrea. Este mecanismo foi observado no pesticida DDT e no fenantreno, com micropartículas de PVC e PE.

O mecanismo de ligação de pontes de hidrogénio pode estar envolvido na adsorção de contaminantes químicos quando estão presentes grupos de doadores e aceitadores de prótons [28].

As interações Van der Waals e π - π podem promover a adsorção de contaminantes químicos, dependendo do tipo de polímero. Os polímeros alifáticos, como o PE e o PVC, exibem interações Van der Waals, enquanto os polímeros aromáticos, como o PS, exibem interações π - π . Estas interações desempenham um papel menor, em comparação com as descritas anteriormente [28].

Relativamente aos POP, quando estes são adsorvidos por MP, ocorrem diferentes sequências de adsorção, havendo também o possível aparecimento de adsorção competitiva. Por exemplo, se alguns POP têm mais afinidade com uma espécie de MP, eles inibem a adsorção de outros compostos [15]. Alguns exemplos de poluentes orgânicos são: pesticidas (ex. DDT, aldrina e toxafeno, , deltametrina e glifosato), hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH) e bifenilos policlorados (PCB) [15].

Os MP são capazes de adsorver metais pesados na sua superfície. Devido às características químicas e físicas de cada material, como área de superfície e polaridade molecular, a taxa de adsorção de metais em MP pode diferir em grande medida. Outro fator que influencia é a degradação dos MP causada pela luz ultravioleta (UV). Um outro estudo que foi realizado por Brennecke *et al.* [15], mostrou que os resíduos do envelhecimento de PVC, acumularam mais Cu e Zn, sem atingir o equilíbrio, enquanto o PS atingiu uma concentração de cobre constante após 14 dias. Portanto, o envelhecimento dos MP pode causar maior adsorção de concentrações de metais pesados e, como tal, representar uma ameaça ecológica maior [15].

Os antibióticos são muito utilizados na criação de animais, para se prevenirem infecções de organismos causadores de doenças. Os antibióticos em excesso são excretados juntamente com os bio-sólidos e acumulam-se nos solos. Nas áreas rurais, a fertilização orgânica é realizada de forma a promover o crescimento de frutas e vegetais, que muitas vezes são plantados em estufas de plástico. Deste modo, a ampla aplicação de fertilizantes orgânicos, pode levar à poluição combinada de antibióticos com MP. Li *et al.* [15], estudou a adsorção de vários antibióticos (sulfadiazina, amoxicilina, tetraciclina e trimetoprim) em cinco tipos de microplásticos: PE, PS, PP, poliamidas (PA) e PVC e classificou a ordem de adsorção, onde se concluiu que o PA tem a maior capacidade de adsorver antibióticos. Li *et al.* [15] sugeriram que a estrutura dos poros e a formação de ligações de hidrogénio são dois mecanismos principais que podem explicar com sucesso o porquê de o PA apresentar maior capacidade de adsorver antibióticos [15].

Num estudo realizado por Bianying Zhoua *et al.* [26] analisaram-se sessenta amostras de solo coberto por filme plástico de LDPE, sessenta amostras de solos sem cobertura e quarenta e cinco amostras de água de irrigação, de solos agrícolas, na planície costeira da baía de *Hangzhou*, a leste da China. Os solos com cobertura, apresentaram maiores quantidades de MP, comparativamente com as amostras dos solos sem cobertura, apresentando, respetivamente, 571 e 263 MP por kg de solo. Os polímeros detetados foram PE, PP, poliéster, rayon, acrílico e PA. Os MP que foram detetados no solo, indicam que as contribuições da irrigação e de resíduos de plástico são fontes significativas, para além da cobertura de plástico [26].

Os pesticidas são muito utilizados na agricultura, com o objetivo de se controlarem os efeitos das pragas, porém, estes também contribuem para a degradação dos plásticos. Ting Wang *et al.* [27] estudaram o comportamento e o mecanismo de adsorção de cinco pesticidas (carbendazim, dipterex, diflubenzuron, malatião e difenoconazole), utilizados em campos agrícolas cobertos com filmes de PE. Os cinco pesticidas estudados, apesar de controlarem as pragas, apresentam potenciais riscos ambientais e de segurança humana. Os resultados sugeriram que todos os pesticidas podem adsorver em MP, cujas quantidades de adsorção seguem a ordem de diflubenzuron > difenoconazol > malatião > carbendazim > dipterex [27].

O estudo termodinâmico indica que a adsorção de todos estes pesticidas, constitui processos espontâneos e exotérmicos. Os resultados deste estudo também indicam que os MP provenientes das coberturas podem ser portadores de pesticidas nos campos agrícolas [27].

Como já foi referido, vários aditivos são adicionados aos plásticos e os filmes para cobertura não são exceção. Nos últimos anos, a ocorrência de ésteres de ftalatos nos solos tem aumentado consideravelmente, o que os torna nos poluentes orgânicos dos solos mais preocupantes. Uma vez que estes aditivos são cancerígenos e disruptores endócrinos, alguns destes, tais como, o ftalato de dimetilo (DMP), o ftalato de dietilo (DEP), o ftalato de dibutilo (DnBP), o ftalato de butilbenzilo (BBP), o ftalato de bis (2- etil-hexilo) (DEHP), e o ftalato de di-n-octilo (DnOP), foram classificados como poluentes prioritários de controlo, pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA. Num estudo realizado por Qinglan Li *et al.* [29], analisou-se a ocorrência de MP e ésteres de ftalatos em *Shouguang* e *Xuzhou*, que são duas áreas agrícolas da China, com anos de história de plantação de hortaliças em estufa. Foram recolhidas trinta e quatro amostras de solo cobertos por estufa e sem cobertura. Os resultados revelaram que os MP detetados foram cerca de 380 a 1093 e 1000 a 3786 MP por kg de solo, em solos sem e com estufas, respetivamente. Os tipos dominantes de MP detetados foram PP e PE, cujos tamanhos eram maioritariamente pequenos (20-100 μm). As concentrações de ésteres de ftalatos detetados foram cerca de 0,33 a 1,31 e 0,30 a 1,58 mg por kg de solo, em solos sem e com estufa, respetivamente. Os congêneres de ésteres de ftalatos detetados foram o DEHP com 66,7%, e DnBP, com 22,9%, em média. Foi observada uma correlação significativa entre os MP e os ésteres de ftalatos em *Xuzhou*, porém, o mesmo não foi observado na área de *Shouguang*, apesar de ter um historial mais longo de plantações em estufa. Os resultados sugerem que embora os filmes plásticos sejam a principal fonte tanto de MP, como de ésteres de ftalato, outras fontes de entrada, propriedades físico-químicas do solo, comunidade microbiana, devem ser considerados em estudos futuros [29].

Na **tabela 5**, encontram-se alguns exemplos das interações entre determinados tipos de MP com outros contaminantes.

Tabela 5- Interações dos poluentes com os MP e respetivos efeitos no meio ambiente [15] (adaptado).

Tipo de Poluente	MP com que interagem	Efeitos
Deltametrina	LDPE	Acumula mais pesticidas na sua superfície.
PAH e PCB	PP	As concentrações destes poluentes são reduzidas, devido à participação dos MP.
Arsénio	PVC	Provoca menor toxicidade para as minhocas.
Zinco	HDPE	Aumenta a biodisponibilidade do zinco.

Como já foi referido, os MP que adsorvem outros contaminantes apresentam risco sanitário, embora ainda seja um assunto que não está totalmente esclarecido. De um modo geral, relativamente aos animais marinhos, a ingestão de MP tem sido relatada em organismos como zooplâncton, mexilhões, lombrigas, conchas de peixe, cetáceos, peixes, aves marinhas e grandes mamíferos marinhos [28]. Os fluidos digestivos promovem a lixiviação dos contaminantes adsorvidos em MP e, quanto mais tempo os MP ingeridos permanecerem no sistema digestivo dos organismos, maior é a probabilidade destes de se deslocarem até aos tecidos corporais. De acordo com os riscos para a saúde humana, embora existam provas científicas abundantes sobre a ocorrência de MP em alimentos consumidos pelos seres humanos e a capacidade dos MP para adsorver contaminantes nocivos, ainda não existe informação disponível sobre o destino dos MP no corpo humano, com base na ingestão de MP [28]. Contudo, a bioacumulação de MP e POP adsorvidos pode eventualmente ter impacto na saúde humana. O risco da exposição de seres humanos a MP aumenta quando os organismos marinhos são consumidos inteiros, comparativamente a quando as vias digestivas são removidas antes do consumo [28].

1.4. Métodos Analíticos para a deteção dos microplásticos de outros contaminantes nos solos agrícolas

A investigação sobre MP e outros contaminantes nos solos agrícolas ainda é incomum e as publicações existentes são, frequentemente, incomparáveis devido à utilização de diferentes métodos de amostragem, processamento e análise. Dada a natureza complexa dos solos, ainda não foi encontrado um método padronizado, adequado e eficiente, para a análise de MP em interação com outros contaminantes nos solos. Enquanto as grandes partículas de MP podem ser separadas manualmente e verificadas com análise química, a preparação de amostras para análises de MP, de menores dimensões, misturados com outros contaminantes presentes nos solos é, normalmente, mais difícil [12].

1.4.1. Amostragem de MP

É indiscutível que a amostragem representativa é um dos passos mais importantes durante a análise ambiental. A amostragem não representativa levará a dados não fiáveis, independentemente, da fiabilidade do processamento da análise da amostra. Naturalmente, cada etapa de amostragem deve ser adaptada ao respetivo propósito de investigação, especialmente, quando se trata de uma matriz não homogénea como o solo [12].

O historial do local em causa, como por exemplo, terras agrícolas onde foram aplicados filmes de plástico, locais onde se realizam piqueniques, solos onde existem estradas próximas, devem ser tidos em conta [12].

Na **figura 8**, encontram-se os vários tipos de abordagem de amostragens, utilizados.

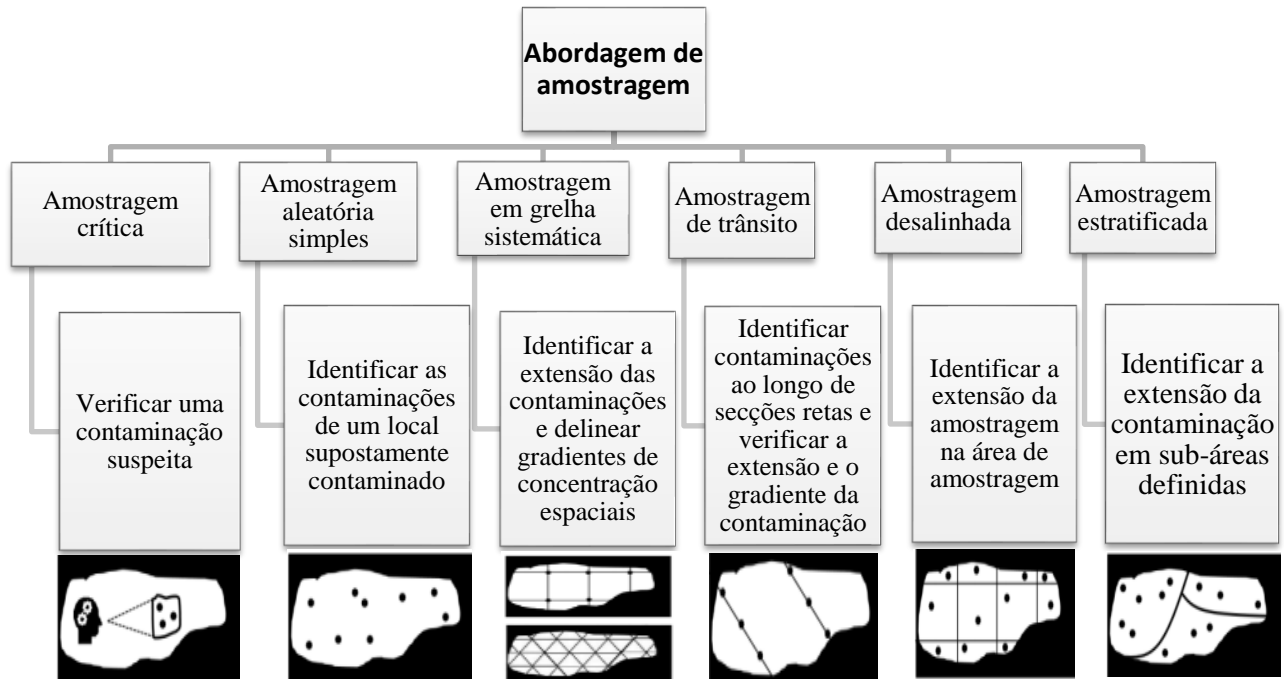


Figura 8 - Abordagens de amostragens [12].

Após a seleção de uma abordagem de amostragem adequada, de acordo com o respetivo objetivo de investigação, o número de pontos de amostragem em cada local, deve também ser abordado, ou seja, as amostras podem ser recolhidas como amostras de ponto único, ou amostras compostas, onde várias amostras de pontos discretos do mesmo tamanho, dentro de uma unidade espacial, são combinadas e homogeneizadas numa única amostra. Como os MP são partículas que variam no seu tamanho, então, é provável que a sua distribuição no interior do solo também varie, significativamente. Para ultrapassar esta heterogeneidade, a utilização de amostras compostas retiradas de subunidades definidas, dentro de um local de amostragem, pode revelar-se benéfica, para se obter uma imagem mais representativa da extensão da contaminação por MP, sem ser necessário transportar, armazenar e analisar demasiadas amostras. Como os solos são um meio tridimensional, a profundidade da

amostragem é da maior importância e deve ser sempre definida e documentada. Até à data, foi analisado, principalmente, a superfície do solo dentro dos 10 cm superiores, uma vez que esta é a faixa onde é mais provável que se encontre a maior parte destes contaminantes. Tal como a profundidade do solo analisado, a quantidade de amostra resultante (massa/volume), para cada ponto de amostragem, também deve ser definida e documentada. A quantidade de amostra para a quantificação deve ser superior à necessária, uma vez que são necessárias amostras para reserva e amostras para análise de recuperação [12].

1.4.2. Extração dos MP

Para a análise dos MP, é necessário isolar as micropartículas de plástico e remover as substâncias aderentes. Para amostras sólidas não homogêneas, tais como solos, o isolamento é um desafio. As partículas do solo podem formar agregados relativamente estáveis, que podem envolver os contaminantes. Assim, encontrar um método de dispersão de agregados do solo, sem que haja risco de destruição ou fragmentação artificial das partículas, é um primeiro passo importante para a análise. Existem vários métodos de extração, alguns exemplos, encontram-se na **figura 9** [12].



Figura 9 - Métodos de extração de MP [12].

O método da extração manual é o método mais simples de isolamento de MP e é efetuado por triagem manual e peneiração, utilizando um microscópio estéreo, para se excluir matéria mineral ou biológica. Contudo, a triagem manual e identificação visual é extremamente intensiva em termos de tempo e trabalho, restrita a tamanhos >500 μm e é altamente propensa a erros de identificação [12].

Uma metodologia bastante inovadora é a separação eletrostática, que consiste numa unidade de separação eletrostática, comumente utilizada na indústria da reciclagem, para isolar MP de amostras de areia e sedimentos. Contudo, o método não é adequado para amostras húmidas e a sua aplicação para amostras de solo é questionável devido à inevitável formação de agregados. Além disso, a sua aplicação para partículas muito pequenas deve ser verificada, uma vez que, pode haver perdas significativas da pequena fração de MP na amostra final [12].

Na remoção da matriz consecutiva da fração mineral, a extração de óleo, consiste numa abordagem simples, para a extração de MP de amostras sólidas, tirando partido das propriedades lipofílicas da superfície da maioria dos plásticos. As amostras de sedimentos secos são misturadas com água e óleo de canola, depois agitados cuidadosamente e deixados em repouso, até que o óleo, a água e as frações minerais sejam completamente separados. No método de separação por densidade, a separação de MP do sedimento, utilizam-se soluções de sal de alta densidade como meio de extração. Após agitação e sedimentação, o sobrenadante contendo plástico é aspirado para um frasco extra de onde é transferido para um sistema de filtragem. A separação de gradiente de densidade vertical é uma nova metodologia de separação de densidade, que utiliza um líquido contendo partículas ferromagnéticas coloidais. Um campo magnético em torno do líquido cria um gradiente de densidade vertical, sendo a densidade mais alta na parte inferior e a densidade mais baixa na parte superior do recipiente de líquido, podendo assim ser conseguida a separação de uma amostra em diferentes estratos de várias densidades. Este método pode ter potencial no que respeita ao isolamento de MP de amostras ambientais, contudo, ainda não foi realizada qualquer investigação neste campo, e os custos podem ser injustificadamente elevados [12].

Para a remoção da matriz consecutiva, da fração orgânica, a digestão ácida e alcalina, são métodos frequentemente relatados na literatura. Devido ao facto de os solos também conterem matéria orgânica, uma etapa digestiva é imperativa, uma vez que a matéria orgânica interfere na separação dos MP. No entanto, vários estudos afirmam que certos ácidos fortes podem destruir polímeros específicos, como o PE e a PA. A digestão alcalina é discutida de forma semelhante, especialmente para a digestão de tecido animal. A oxidação com peróxido de hidrogénio é um tratamento com peróxido de hidrogénio (30%) em ebulição e é normalmente utilizado na análise do solo, para remover a matéria orgânica [12].

Por fim, a digestão enzimática surge como uma alternativa para se remover a matéria orgânica dos solos, uma vez que, esta é uma das frações mais difíceis de se remover sem que se destrua as partículas de MP, porém é um processo mais moroso. Assim, uma digestão enzimática adaptada pode ser benéfica, no entanto, a maioria dos relatórios sobre procedimentos de digestão enzimática foram desenvolvidos para amostras aquáticas [12].

1.4.3. Identificação e Quantificação de MP

Desde que a ocorrência de MP no ambiente se tornou uma questão científica, têm-se vindo a desenvolver métodos para a análise qualitativa, quantitativa ou combinada de MP, em amostras ambientais. Alguns destes métodos podem ser bem aplicáveis a amostras de solo, se a purificação da amostra for adequada. Os métodos mais utilizados, estão indicados na **figura 10** [12].

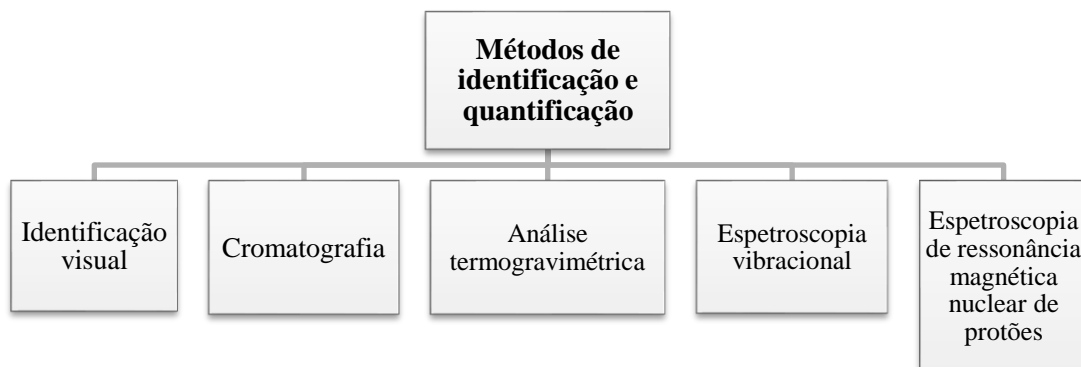


Figura 10 - Métodos de identificação e quantificação.

O método de identificação visual é o método mais antigo e mais simples de análise de MP, que é realizado através de um microscópio de luz, porém, é extremamente propenso a erros que variam entre 20 e 70% [12].

A cromatografia e a análise termogravimétrica suportam várias abordagens promissoras para uma rápida identificação quantitativa de MP nos solos e outras matrizes complexas. No entanto, são limitadas na medida em que as análises subsequentes são impossíveis devido à natureza destrutiva dos métodos [12]. A cromatografia gasosa de pirólise (PyGC), particularmente quando combinada com a espectrometria de massa (MS), é um método analítico rápido e poderoso para a caracterização de polímeros. Para além da deteção qualitativa e quantitativa de monómeros, também fornece informação adicional sobre aditivos e impurezas. Neste método de análise química, a amostra é, em primeiro lugar, pirolisada, ou seja, é rapidamente aquecida em ambiente inerte, para que seja decomposta em moléculas de menores dimensões. De seguida, as moléculas clivadas são separadas através de cromatografia gasosa e, posteriormente, detetadas por espectroscopia de massa [30].

A cromatografia consiste numa técnica de separação de componentes muito semelhantes, que estão inseridos numa mistura complexa. Nas separações cromatográficas, a amostra é transportada por fase móvel (líquida, gasosa ou fluido supercrítico), sendo neste caso um gás. A fase móvel é forçada através de uma fase estacionária, que é imiscível e que está fixa numa coluna ou numa superfície sólida. A fase móvel e a fase estacionária têm que ser devidamente escolhidas, de forma que a amostra se possa distribuir em ambas as fases, em diferentes graus. Os componentes da amostra que têm mais afinidade com a fase estacionária, ficam fortemente retidos nesta fase e movem-se muito lentamente na fase móvel e os outros componentes da amostra, que têm menos afinidade com a fase estacionária, movem-se rapidamente, com a fase móvel. A diferença de mobilidade dos vários componentes que constituem a amostra, permite que estes se separem em bandas e zonas discretas, que podem ser analisadas qualitativa e/ou quantitativamente. Na cromatografia gás-líquido (GC), a amostra é vaporizada pela fase móvel, que consiste num gás inerte, que não reage com o analito, ao contrário da maioria das outras técnicas de cromatografia. A fase estacionária é uma fase líquida immobilizada na superfície de um sólido inerte. Vários fabricantes deste tipo de equipamentos, oferecem equipamentos de cromatografia gasosa acoplados com uma interface direta com vários tipos de espectrómetros de massa [31].

A espectroscopia vibracional, como a espectroscopia de infravermelhos *Raman* ou *Fourier* (FTIR), são os métodos analíticos de ponta mais utilizados na investigação de MP, uma vez que, permitem a identificação precisa dos tipos de polímeros, a sua abundância, forma e tamanho [12].

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de prótons é uma abordagem completamente nova, no entanto, apesar do método ser rentável e rápido, aproximadamente 1 min por medição, existe o grave inconveniente de ter de se remover completamente qualquer matéria orgânica da amostra ambiental, para se evitar sobreposições de sinal. Dado que, neste momento, ainda não é possível remover 100% da matéria orgânica das amostras de solo, sem se destruir também o plástico, então, este método é considerado impróprio para a deteção de MP nas amostras de solo [12].

1.4.4. Garantia de qualidade/ Controlo de qualidade

O risco de contaminação de amostras ambientais durante a amostragem, processamento de amostras e análise de MP é muito elevado, por exemplo, por contaminação com partículas abrasivas de equipamentos plástico, fibras sintéticas de vestuário ou partículas e fibras de polímeros transportados pelo ar. Como tal, devem ser tomadas as precauções necessárias durante cada etapa do processamento. Os materiais de plástico utilizados em laboratório devem ser substituídos por materiais alternativos como metal ou vidro. No laboratório deve existir um número de limite de pessoas e, também, filtros de ar para se controlar o pó de fibra natural, de forma a reduzir-se a contaminação ambiental [12].

Para além da redução e monitorização de qualquer contaminação de amostras, outras práticas são necessárias como a validação abrangente de procedimentos e comparações interlaboratoriais de protocolos. Isto deve-se, principalmente, à falta de materiais de referência certificados, que são urgentemente necessários para tais procedimentos. Por conseguinte, estão atualmente a ser feitos esforços de investigação sobre este tópico, a nível nacional e internacional. Os processos de validação devem abordar partículas de MP padronizadas de diferentes tipos, tamanhos e formas de polímeros [12]. Esta é uma tarefa importante que, até à data, não tem sido abordada de forma apropriada [12].

1.4.5. Detecção de contaminantes nos solos agrícolas

A deteção de contaminantes nos solos agrícolas, como pesticidas, por exemplo, os quais estão misturados com MP, é um processo o qual ainda não está padronizado. No entanto, existem estudos que relatam a extração de contaminantes a partir dos solos agrícolas.

Um método possível consiste no método *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* (QuEChERS). Este método é baseado na extração sólido-líquido dos contaminantes com acetonitrilo, seguida de uma etapa de limpeza com extração em fase sólida dispersiva (dSPE), usando adsorventes, (PSA, MgSO₄ e C₁₈, entre outros). O objetivo da fase de limpeza consiste em purificar a fase extraída, a fim de se eliminarem interferentes. Após a aplicação do método de QuEChERS, a separação dos contaminantes é feita por cromatografia de gasosa, a qual permite a quantificação dos contaminantes [24].

1.5. Planeamento fatorial

De forma a se otimizar o tempo despendido nas experiências, utilizou-se o *Design Expert 11.1.2.0*, que é um software onde se aplica o planeamento fatorial de ensaios experimentais. Este programa tem como objetivo planear experiências que contenham multi-fatores, assim como, entender que tipo de interações ocorrem entre os fatores em estudo. Através do planeamento fatorial, e de forma a otimizar-se as condições experimentais, realizam-se várias experiências, onde cada uma difere da outra, na medida em que contêm proporções diferentes de cada componente. Com isto, pretende-se averiguar de que forma os componentes interagem entre si e como esse comportamento influencia a resposta final que se pretende obter através do estudo [32].

Para a aplicação deste método, em primeiro lugar, é necessário responder às seguintes questões:

- 1. Qual é o objetivo do estudo?** Para responder a esta questão é necessário pensar quais são as respostas que se pretendem obter após a análise do estudo [32].

2. Quais são as respostas que precisam de ser medidas? As respostas que precisam de ser medidas são aquelas que nos permitem responder ao objetivo. Para se analisarem posteriormente os resultados, deve-se ter em conta o que é um bom resultado e um mau resultado [32].

3. Quais são os efeitos de fator que devem ser examinados? Os fatores a serem examinados devem ser aqueles que em antemão se sabe que influenciam o processo. Para a escolha dos fatores também se deve ter em conta se estes são fáceis ou difíceis de controlar. Alguns fatores podem ser mantidos constantes [32].

4. Quantas experiências o orçamento permite? Cada estudo contém um conjunto de experiências, sendo que cada experiência apresenta uma combinação diferente de fatores. No *Design Expert 11.1.2.0* é possível adaptar-se o número de experiências que se pretendem realizar, de forma a garantir-se que se dispõe dos reagentes e materiais necessários [32].

Cada experiência é composta por uma mistura diferente de fatores, sendo que alguns deles podem ser mantidos constantes. Para se saber de que forma é que se misturam os fatores, em primeiro lugar, é necessário estipular um valor inferior, um valor intermédio e um valor superior (-1, 0 e 1), para cada fator. As unidades dos valores, dependem do que se esteja a introduzir no processo. Deste modo, os fatores são misturados em diferentes proporções de acordo com os códigos que o software indica, os quais dependem do objetivo e do número de corridas pretendidas [32].

Após o planeamento de todo o procedimento, ou seja, sabendo claramente qual o objetivo de estudo, quais os fatores que se pretendem estudar no processo e quais os códigos (que indicam de que maneira se pretendem misturar os fatores), prossegue-se para a parte laboratorial, onde todas as experiências devem ser executadas nas mesmas condições, para que se reduza ao máximo os interferentes que possam afetar as respostas [32].

No final da(s) experiência(s), dispendo-se das respostas, introduzem-se todos os valores no software e este devolve um conjunto de gráficos e interpretações que permitem analisar aquilo que dá respostas aos objetivos: de que maneira é que os fatores interagem entre si e de que maneira isso influencia a resposta final [32].

De todos os gráficos que o software nos devolve, o mais importante e intuitivo é a plotagem de superfície 3D, que consistem numa projeção colorida do comportamento de um ensaio, que ilustram de que forma é que as interações entre os vários fatores influenciam a resposta final [32].

Na **figura 11**, encontra-se um exemplo de superfície 3D. Esta figura, apresenta um resultado obtido numa experiência, relativamente à extração do TPhP ao fim de 7 dias, [TPhP], a partir de um solo contaminado com MLT, TPhP, MP e água. Nestes gráficos, quando se observam cores quentes, como o amarelo e o vermelho, significa que as condições referentes a essa área do gráfico, são as que proporcionam as melhores respostas [32].

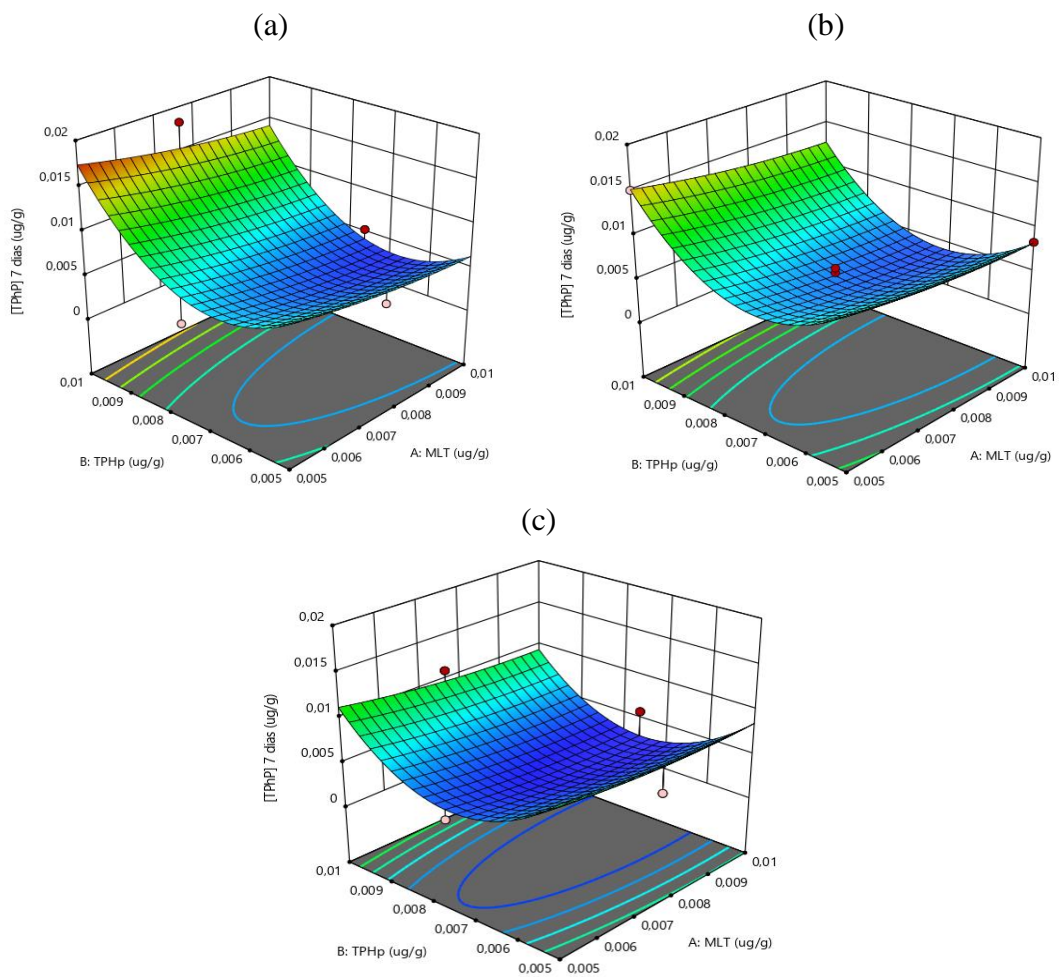


Figura 11 - Superfície 3D para extração de TPhP ao fim de 7 dias. (a) Resultados para 0 mL de água; (b) resultados para 1,5 mL de água; (c) resultados para 3 mL de água.

2. Material e Métodos

2.1. Validação da metodologia analítica e procedimento de extração sólido-líquido do MLT e TPhP dos solos, baseada no método QuEChERS modificado

Para a validação da metodologia analítica, em primeiro lugar, prepararam-se soluções-padrão mistas de TPhP ($C_{18}H_{15}O_4P$, Sigma-Aldrich) e MLT ($C_{10}H_{19}O_6PS_2$, Sigma-Aldrich), com concentrações compreendidas entre 25 e 125 $\mu\text{g/L}$, que foram utilizadas para a preparação das curvas de calibração para cada composto. As soluções foram preparadas em viais de 1,5 mL com *insert*, usando n-hexano UniSolv[®] da Merck.

Os compostos foram separados e quantificados por cromatografia gasosa usando-se o cromatógrafo com detetor fotométrico de chama (GC-FPD) GC-2010 *plus* da Shimadzu, equipado com injetor automático AOC-20i e coluna capilar ZB-XLB (30,0m x 0,25mm x 0,25 μm) da Phenomenex. Todas as injeções foram realizadas em duplicado. O gás de arraste, o hélio (Nippon), fluiu com um caudal de 1,5 mL/min com uma velocidade linear de 25,4 cm/s e uma pressão de 92,2 kPa. As amostras foram injetadas (1 μL) no modo *splitless*, com temperatura do injetor de 250 °C. O programa de temperatura do forno do GC (método não publicado) usado foi o seguinte: 100 °C durante 1 minuto, seguido de uma rampa de aquecimento de 20 °C/min, até 150 °C. De seguida, após 1 minuto, utilizou-se uma rampa de aquecimento de 2 °C/min até 180 °C. Após 2 minutos nesta temperatura, utilizou-se, por fim, uma rampa de aquecimento de 20 °C/min até 290 °C. Esta temperatura foi mantida por 10 minutos. O programa durou 32 min (tempo de retenção do MLT e TPhP de 16,2 e 25,3 min, respetivamente) e o sistema foi operado pelo Shimadzu GC Solution.

Relativamente à deteção e quantificação de MLT e TPhP nos solos, foi desenvolvido um método baseado na extração QuEChERS (descrito na seção 2.2, abaixo). A eficiência de extração da metodologia analítica adotada foi avaliada através de estudos de recuperação. Para tal, fizeram-se fortificações em 5 g de solo

standard (Lufa 2.2, Lufa Speyer, características no Anexo B) com 3 níveis de concentração (0,05, 0,075 e 0,1 µg/g) de cada um dos compostos, tal como esquematizado na **figura 12**.

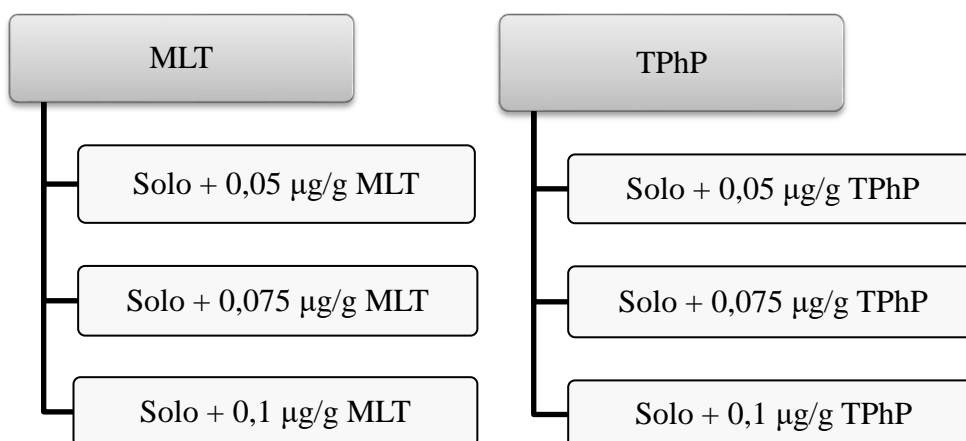


Figura 12 - Contaminações dos estudos de recuperação.

Desta forma foi possível avaliar as percentagens de recuperação do método aplicando a seguinte equação:

$$\% \text{ recuperação} = \frac{\text{Area Fotificado} - \text{Area Branco}}{\text{Area Padrão}} \quad \text{(Equação 1)}$$

Na extração sólido-líquido, começou-se por contaminar 5 g de solo, cuja ficha técnica de caracterização encontra-se no anexo B, com a concentração de contaminante correspondente, num total de 6 frascos de vidro, conforme os ensaios referidos na **figura 12**. A cada um dos frascos foram adicionados 5 mL de acetonitrilo (ACN) da Carlo Erba. De seguida, cada frasco foi agitado durante 1 minuto no vórtex (VWR, Analog Vortex Mixer) e centrifugado a 1500 rpm, durante 5 minutos, na centrifugadora (Heraus Megafuge 16R). Cada sobrenadante foi retirado para um frasco de âmbar de 12 mL, devidamente identificado. De seguida, adicionaram-se 2,5 mL de ACN a cada frasco, que foi depois agitado por mais 1 minuto e novamente centrifugado. Cada sobrenadante foi recolhido para o frasco correspondente.

Adicionaram-se mais 2,5 mL de ACN a cada frasco de vidro e repetiu-se o procedimento de agitação, centrifugação e recolha de sobrenadante.

Numa segunda fase procedeu-se à limpeza dos sobrenadantes através de extração em fase sólida dispersiva (dSPE) com uma mistura de adsorventes constituída por 50 mg PSA (Agilent Technologies), 50 mg C₁₈ (Agilent Technologies), 150 mg MgSO₄ (Scharlab S. L.). Cada uma das misturas foi pesada para um frasco de vidro de 4 mL. Transferiu-se 1 mL de cada sobrenadante para o respetivo frasco de dSPE, devidamente identificado. Agitou-se durante 1 minuto no vórtex e centrifugou-se a 4500 rpm, durante 5 minutos.

A seguir, retirou-se o máximo de sobrenadante de cada frasco de dSPE para viais de 1,5 mL, devidamente identificados, e registou-se, cuidadosamente, cada volume. Os viais foram colocados num evaporador, com o objetivo de se evaporar o ACN, com uma corrente de azoto. Os extratos foram reconstituídos com n-hexano e agitados no vórtex durante 1 minuto. De seguida, transferiram-se, de cada vial, 150 µL de extrato para novos viais com *inserts*. Por fim, todos os extratos se injetaram em duplicado no GC-FPD.

O método de extração e quantificação foi também aplicado à matriz solo e à matriz de MP de LDPE, isoladamente, de forma a perceber se estes continham, ou não, os contaminantes (MLT e TPhP) em estudo.

2.2. Ensaios experimentais para a simulação de um ambiente agrícola

2.2.1. Planeamento experimental utilizando solo, LDPE e diferentes concentrações de água, TPhP e MLT

O desenho experimental foi realizado recorrendo ao software *Design Expert* 11.1.2.0 (Stat-Ease Inc., Minneapolis) que através do planeamento fatorial, assegurou uma economia de recursos, permitindo a obtenção de dados com maior precisão e de modo mais esclarecido, em simultâneo com a realização do número mínimo de experiências para se confirmar estatisticamente as informações desejadas. As respostas estudadas (as variáveis dependentes) foram as concentrações de água, TPhP e MLT. O efeito, das três variáveis, foi estudado variando-se cada uma em três níveis. Por motivos matemáticos, o planeamento fatorial prevê a codificação dos níveis das variáveis, de modo que o valor mínimo assuma sempre o valor -1, o valor

máximo +1 e o valor intermédio 0, tal como se exemplifica na **tabela 6**. As combinações utilizadas para estes vasos experimentais encontram-se na **tabela 6**, sendo que os códigos -1, 0 e 1 correspondem, respetivamente, a 0,05 µg/g, 0,075 µg/g e 0,1 µg/g, de MLT ou TPhP. Relativamente à água, os códigos -1, 0 e 1 correspondem 0 mL, 1,5 mL (de acordo com capacidade de retenção de água, ver Anexo A) e 3 mL, respetivamente. Foram realizadas 15 experiências, cada uma com 5 pontos de amostragem, o que correspondeu a 5 frascos por experiência, num total de 75 frascos.

Tabela 6 - Códigos obtidos através do *Design Expert 11.1.2.0* para a preparação das experiências.

Experiências	MLT	TPhP	Água
1	-1	-1	0
2	-1	1	0
3	1	-1	0
4	1	1	0
5	0	-1	-1
6	0	1	-1
7	0	-1	1
8	0	1	1
9	-1	0	-1
10	1	0	-1
11	-1	0	1
12	1	0	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

Relativamente à preparação das experiências, em primeiro lugar, procedeu-se à lavagem adequada de 75 vasos de vidro. De seguida, adicionaram-se 5 g de solo e 0,05 g de LDPE em pó (partículas virgens $\leq 300\mu\text{m}$, GoodFellow) a cada um. As massas de solo *standard* e de MP de LDPE) foram mantidas constantes em todos os ensaios.

Nos anexos C, encontram-se os valores pesados para cada vaso, assim como as contaminações efetuadas em cada um, de acordo com os códigos obtidos através do *Design Expert 11.1.2.0*, tal como informa **tabela 6**.

Após a preparação das experiências, todos os vasos, à exceção dos correspondentes ao $t=0$, foram colocados na camara de fitoclima KBWF 240 da

BINDER, que simula o dia e a noite, operando em ciclos alternados de 16 h com luz (12000 lx; 24 ± 2 °C) e de 8 h sem luz (16 ± 2 °C). A cada 7 dias retirou-se um vaso de cada uma das 15 experiências, até se terem completado os 28 dias do teste.

Para análise do teor de MLT e TPhP de cada vaso aplicou-se o método de extração e quantificação descrito em 2.1. As análises foram feitas aos dias 0, 7, 14, 21 e 28.

Preparam-se 3 soluções padrão em solvente, contendo MLT e TPhP ($25 \mu\text{g/L}$, $37,5 \mu\text{g/L}$ e $50 \mu\text{g/L}$), respetivamente, os quais foram colocados na camara de fitoclima, juntamente com os frascos com solos contaminados. Em cada dia de amostragem, recolheram-se alíquotas de cada solução padrão e estas foram injetadas no GC para controlo analítico e verificação da concentração ao longo do tempo. A não alteração das concentrações das soluções padrão permitem provar a estabilidade dos compostos nas condições de ensaio.

Com este desenho experimental pretendeu-se simular um compartimento ambiental terrestre (ex. solo agrícola) na presença de diferentes concentrações de múltiplos contaminantes (LDPE, TPhP e MLT), na presença de diferentes condições de humidade, ao longo de 28 dias.

2.3. Separação dos MP resultantes de LDPE da matriz do solo

O objetivo desta etapa do trabalho experimental consistiu em desenvolver um procedimento adequado para separar os MP, resultantes da adição de MP de LDPE, na matriz do solo. Para este estudo, e uma vez que ainda não existem dados suficientes na bibliografia, realizaram-se testes preliminares, num total de 4 testes. Nestes testes, utilizou-se material de vidro, de forma a diminuir, tanto quanto possível, contaminações de material de plástico. Assim, pesaram-se aproximadamente 5 g de solo e 0,05 g de LDPE para frascos de vidro. Em todos os testes preliminares utilizou-se areia como controlo, visto não ter matéria orgânica. A avaliação dos testes de separação foi feita visualmente e em caso de sucesso, recorreu-se ao microscópio ótico (ECLIPSE Ti combinado com a software de aquisição e análise NIS-Elements da Nikon), com ampliação de objetiva (10x) e ocular (10x), para a visualização dos filtros com os MP retidos após a realização de filtração a vácuo.

Teste preliminar 1

O primeiro teste preliminar, para separação dos MP da matriz do solo, baseou-se no procedimento proposto por *Qinglan Li et al.* [29]. As condições utilizadas neste procedimento encontram-se na **figura 13**.

<ul style="list-style-type: none">• Solo: 4,986 g;• LDPE: 0,050 g;• NaCl: 0,3 g/cm³.	<ul style="list-style-type: none">• Areia: 4,910 g;• LDPE: 0,052 g;• NaCl: 0,3 g/cm³.
---	--

Figura 13 - Condições do teste preliminar 1.

Aos frascos contendo solo mais LDPE ou areia mais LDPE, adicionaram-se 20 mL de NaCl 0,3 g/cm³. De seguida, agitaram-se as soluções numa incubadora com agitação (*Lovibond, LIEBHERR*), durante 1h, a 20°C. O objetivo nesta etapa consistiu em realizar-se uma separação por densidade, sendo que os MP, que são mais leves, ficam no topo. Posteriormente, adicionaram-se mais 10 mL de solução salina e agitaram-se os frascos, novamente, na incubadora, por mais 30 min. Por fim, realizou-se uma filtração por vácuo, de forma a tentar-se reter os MP num filtro.

Uma vez que a separação não foi realizada de forma satisfatória (ver discussão de resultados na seção 3.3), então não se prosseguiu para a visualização dos filtros através do microscópio ótico.

Teste preliminar 2

No teste preliminar 2, tentou-se testar um novo procedimento para separação dos MP de LDPE. Neste teste, antes do processo de separação dos MP de LDPE, realizou-se uma digestão ácida com 6 mL de H₂O₂ (30%). Esta etapa teve como objetivo dissolver a matéria orgânica presente na matriz do solo, uma vez que no teste preliminar 1 verificou-se que estes componentes interferem no processo de separação. A explicação deste fenómeno encontra-se na seção 3.3.

Com este fim, a solução de H₂O₂ (30%) foi adicionada em pequenos incrementos à matriz do solo. Os frascos foram agitados gradualmente no vortéx

e, de seguida, foram colocados num banho termostático (*Ovan, BSC127E*) até 70 °C. As condições do teste preliminar 2 estão mencionadas na **figura 14**.

<ul style="list-style-type: none">• Solo: 5,052 g;• LDPE: 0,053g;• H₂O₂ (30%)	<ul style="list-style-type: none">• Solo: 5,007g;• LDPE 0,052g;• H₂O₂ (30%)
---	---

Figura 14 - Condições do teste preliminar 2.

Após a digestão ácida da matéria orgânica, não foi possível avançar com a separação dos MP de LDPE da matriz do solo, devido ao insucesso do procedimento adotado, tal como se encontra explicado na seção 3.3.

Teste preliminar 3

De forma a testar-se novamente a digestão ácida da matriz do solo com H₂O₂ (30%), realizou-se um novo teste, porém, com ligeiras alterações no procedimento experimental, relativamente ao teste 2. Neste teste, as condições utilizadas estão apresentadas na **figura 15**.

<ul style="list-style-type: none">• Solo: 5,015 g;• LDPE: 0,053g;• NaCl: 0,3 g/cm³;• H₂O₂ (30%).	<ul style="list-style-type: none">• Solo: 5,015 g;• LDPE: 0,053g;• NaCl: 0,3 g/cm³;• H₂O₂ (30%).
--	--

Figura 15 - Condições do teste preliminar 3.

O procedimento utilizado consistiu em pesar 5 g de solo/areia e 0,05 g de LDPE, para os respetivos frascos. A cada frasco, adicionaram-se 6 mL de H₂O₂ (30%), em pequenos incrementos. Os frascos foram colocados no banho termostático, com agitação, até se ter atingido 70 °C. De vez em quando, iam-se retirando os frascos do banho, agitando-se manualmente, cada um deles, de forma que a espuma se depositasse. Os frascos ficaram em repouso durante a noite.

No dia seguinte, colocaram-se cerca de 10 mL de NaCl 0,3 g/cm³, em cada frasco e, de seguida, estes foram colocados na incubadora com agitação, durante uma hora. Posteriormente, adicionaram-se mais 5 mL de NaCl 0,3 g/cm³ em cada um dos frascos, os quais foram, novamente, colocados na incubadora por mais 30 min.

De seguida, centrifugaram-se os frascos durante 10 min, a 1000 rpm. No dia seguinte, após os frascos terem ficado em repouso durante a noite, realizou-se uma filtração a vácuo para cada um. Para uma melhor extração dos MP de LDPE, repetiu-se o processo de separação, adicionando-se mais solução de NaCl 0,3 g/cm³ e colocando-os novamente na centrifugadora.

Uma vez que o processo de extração foi realizado de forma satisfatória, então, prosseguiu-se para a visualização do filtro que continha os MP extraídos a partir do solo, ao microscópio ótico, a uma ampliação de 200 vezes. Os resultados obtidos encontram-se na seção 3.3.

Teste preliminar 4

Uma vez que o H₂O₂ (30%) é um oxidante forte, de forma a tentar-se encontrar um procedimento mais verde para a extração dos MP de LDPE, realizou-se novamente o teste preliminar 1, no entanto, com ligeiras diferenças (**figura 16**). O método consistiu em pesar solo/areia e LDPE, para os respetivos frascos. De seguida, colocaram-se cerca de 10 mL de uma solução 0,3 g/cm³ NaCl, em cada frasco. Posteriormente, estes foram introduzidos na incubadora com agitação, à temperatura ambiente, durante uma hora. De seguida, colocaram-se mais 5 mL da solução de NaCl, em cada frasco, e estes foram novamente agitados por mais 30 min. Posteriormente, centrifugaram-se as soluções durante 5 min, a 1000 rpm. Os frascos ficaram em repouso durante a noite. No dia seguinte, realizou-se filtração a vácuo. Para uma melhor extração, após a filtração, adicionou-se mais solução de NaCl e repetiu-se o processo de centrifugação.

- Solo: 5,015 g;
- LDPE: 0,053g;
- NaCl: 0,3 g/cm³;

- Solo: 5,015 g;
- LDPE: 0,053g;
- NaCl: 0,3 g/cm³;

Figura 16 - Condições do teste preliminar 4.

Neste teste, a separação dos MP foi realizada de forma satisfatória e, como tal, prosseguiu-se para a visualização do filtro, correspondente à separação dos MP partir da matriz do solo, ao microscópio ótico, com uma ampliação de 200 vezes. Os resultados obtidos encontram-se na seção 3.3.

3. Resultados e discussão

Nesta dissertação foram realizados vários ensaios experimentais, de forma a simular-se um ambiente agrícola, mais especificamente solos de cultivo de morangueiro. Neste estudo, simularam-se diferentes condições, nomeadamente a exposição do solo e LDPE a diferentes concentrações de TPhP, MLT e água. As diferentes proporções de água foram adicionadas no início dos ensaios experimentais (dia 0), para se simular um período de chuva ou rega, ao longo de 28 dias. A recolha das amostras foi realizada a cada 7 dias. O comportamento de TPhP e MLT foi avaliado por análise de GC-FPD.

Relativamente ao polímero do estudo, o LDPE foi selecionado por ser amplamente usado como cobertura (*mulching*) no cultivo de morango [33]. O LDPE, em termos de estrutura química apresenta uma boa estabilidade química. A temperaturas inferiores a 60 °C, é praticamente insolúvel em água, sendo fortemente hidrofóbico. Este polímero não é atacado por ácidos, por bases, nem por soluções de sais. Quanto à sua cristalinidade, é um polímero semi-cristalino [34]. As pequenas partículas de LDPE, ou as que possam ter resultado dos ensaios, designaram-se por MP. Quanto ao TPhP, este foi selecionado por ser um aditivo de plástico muito utilizado na produção de polímeros. No entanto, o TPhP também pode aparecer no ambiente, através de outras fontes, tal como é relatado na Introdução. Relativamente ao pesticida, escolheu-se o MLT, uma vez que este é comumente utilizado na cultura dos morangueiros e também porque está reportada a sua presença em morangos. Por último, foi também estudada a influência da presença da água com o objetivo de se simular as condições reais de uma cultura agrícola.

3.1. Resultados da validação da metodologia analítica para análise do TPhP e MLT

Os ensaios experimentais foram controlados ao longo dos 28 dias, avaliando-se a concentração do TPhP e MLT dos solos contaminados, por GC-FPD. As condições de extração e análise foram otimizadas e o método analítico validado. Após a identificação picos cromatográficos do TPhP e MLT no cromatograma, realizaram-se as curvas de calibração em solvente (ver anexo C) tanto para o MLT, como para o TPhP, de acordo com o procedimento indicado no capítulo 2.

Após a execução das curvas de calibração para ambos os compostos entre 25 e 125 µg/L, realizaram-se ensaios de recuperação a 3 níveis de concentração para cada composto nos solos. Estes estudos de recuperação foram realizados para avaliar a eficiência do método de extração dos compostos em estudo. Na **tabela 7**, apresentam-se os parâmetros analíticos obtidos, os quais são: o declive da reta, m , a ordenada na origem, b , o coeficiente de correlação, r , os parâmetros referentes aos limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) e ainda a percentagem de recuperação média (% Rec). O coeficiente de correlação pode variar entre -1 e 1 e quanto maior for o valor em módulo, maior será a relação linear entre as variáveis. O LOD indica a concentração a partir da qual o equipamento deteta o analito e o LOQ a concentração de analito quantificável com o método desenvolvido.

Relativamente às percentagens de recuperação para os compostos MLT e TPhP, estas foram variando de acordo com as gamas de concentração em estudo. As Rec médias obtidas foram de 83 % para o MLT e 55 % para o TPhP. Os cálculos referentes aos parâmetros analíticos podem ser consultados no Anexo C.

No geral, e tratando-se de um estudo preliminar, o método de extração apresentou resultados satisfatórios. No entanto, a extração de TPhP deveria ser otimizada, uma vez que os resultados obtidos são um pouco abaixo do expectável. Uma forma de melhorar as recuperações poderia passar por avaliar métodos de extração diferentes como a extração assistida por ultrassons ou mesmo alterar algumas condições experimentais utilizadas [35]. No entanto, por falta de tempo não foram realizadas mais otimizações e o trabalho avançou para a etapa seguinte, tendo em consideração os resultados obtidos.

Tabela 7 - Parâmetros de validação do método analítico para o MLT e para o TPhP.

Compostos	tr (min)	Parâmetros de validação					
		m	b	r	LOD (µg/g)	LOQ (µg/g)	% Rec
MLT	16,2	9022,65	5489,41	0,9949	0,025	0,0037	83
TPhP	25,3	8316,97	63980,5	0,9999	0,077	0,0111	55

3.2. Extração sólido-líquido, baseado no método QuEChERS modificado

O método de extração validado foi aplicado aos solos e LDPE em estudo de forma a avaliar a presença dos contaminantes selecionados (TPhP e MLT). Este estudo foi realizado preparando 2 ensaios experimentais, (1) extração por método QuEChERS do solo em estudo (sem adição de LDPE, TPhP e MLP) e (2) extração por método QuEChERS do LDPE em estudo (sem adição de TPhP e MLT). Os resultados obtidos mostraram que o cromatograma não apresentavam nenhum dos compostos em estudo, como se pode verificar na **figura 17**. Isto significa que tanto o solo, como o os MP de LDPE, não apresentam na sua matriz nem MLT nem TPhP, que deste modo, pudessem interferir na análise em estudo.

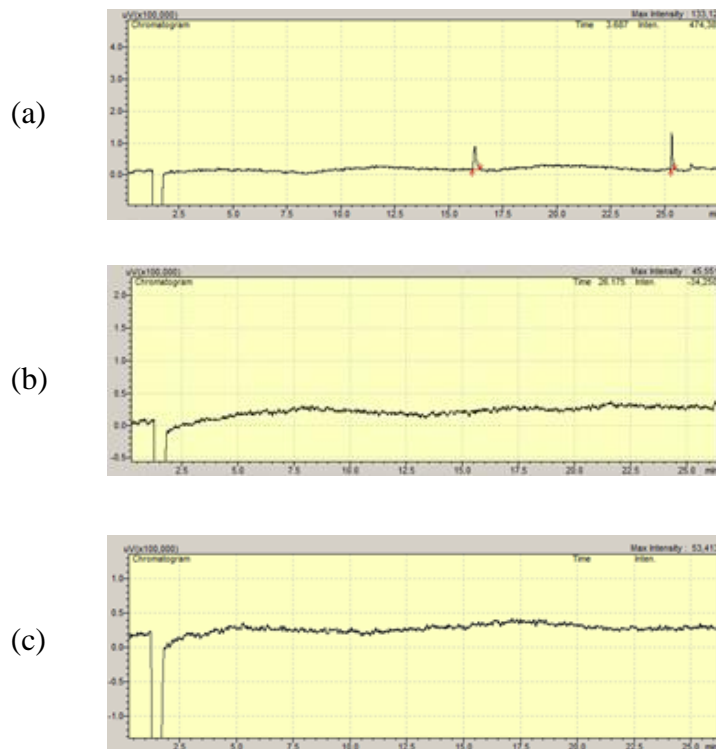


Figura 17 – (a) Solução padrão de 37,5 µg/L de MLT e TPhP; (b) solo standard (Lufa 2.2, Lufa Speyer); (c) MP (LDPE em pó, partículas virgens $\leq 300\mu\text{m}$, GoodFellow).

3.3. Ensaios experimentais para a simulação de um ambiente agrícola

3.3.1. Planeamento experimental utilizando solo, LDPE e diferentes concentrações de água, TPhP e MLT

Recorrendo ao software Designe Expert 11.1.2.0, foram realizados 75 ensaios experimentais ao longo de 28 dias. O modelo usado está descrito na seção 2.3 do material e métodos.

O planeamento fatorial utilizado permitiu a simulação de um ambiente terrestre agrícola estudando o comportamento de diferentes concentrações de contaminantes (TPhP e MLT), presentes em solos contendo LDPE na ausência e na presença de água. Portanto, resumidamente, foram estudadas 2 variáveis dependentes (concentração extraída de TPhP e MLT) em 3 níveis de concentração diferentes (ver anexo D).

3.3.1. Estudos de avaliação da concentração extraída de MLT, nos ensaios experimentais

Os resultados obtidos, relativamente à extração do MLT dos ensaios experimentais realizados ao longo de 28 dias, encontram-se representados na **figura 18**. Os resultados estão apresentados sob a forma de gráficos de linhas, que ilustram a concentração extraída de MLT nos diferentes ensaios experimentais, nos dias 0, 7, 14, 21 e 28. As experiências foram agrupadas de acordo com o volume de água desionizada adicionada (0, 1,5 e 3 mL), aos vasos no dia 0.

Ao dia 0, detetou-se a presença de MLT em todos os ensaios experimentais. No entanto, ao longo do estudo, a quantidade de pesticida extraído diminuiu e os valores detetados por GC-FPD foram nulos ou abaixo dos limites de deteção e quantificação do método analítico. Avaliando-se o comportamento da concentração extraída de MLT ao longo dos dias 7, 14, 21 e 28, foi possível verificar que o pesticida ou não foi extraído ou, então, que se degradou ao longo do ensaio. Apenas foi possível quantificar a sua presença na Exp 9, no dia 14, que foi realizada na ausência de água.

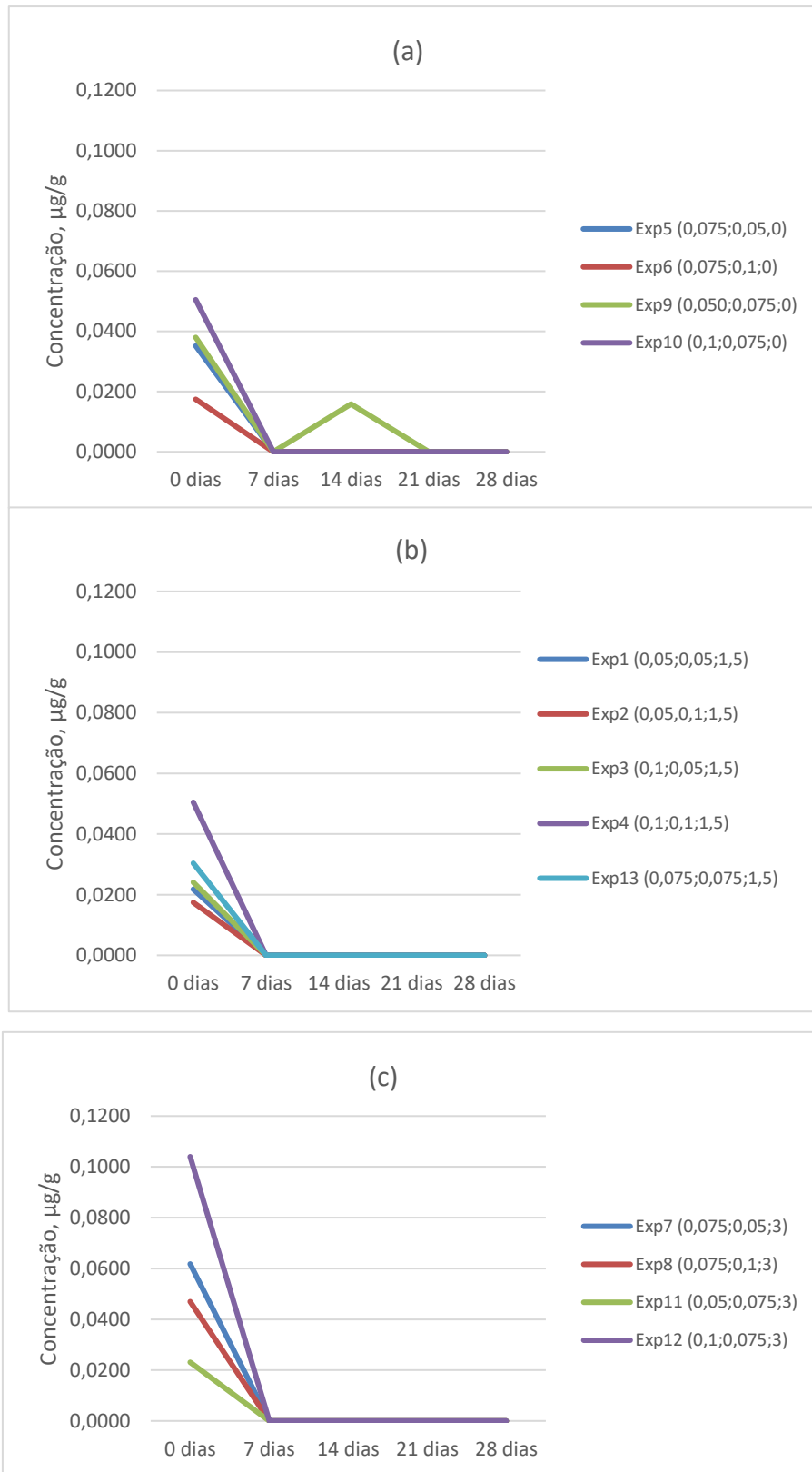


Figura 18 - Resultados obtidos, ao longo de 28 dias, das concentrações de extração do MLT, agrupados de acordo com volume de água desionizada adicionado a cada vaso no dia 0 (a): volume de água adicionado 0 mL; (b): volume de água adicionado 1,5mL; (c): volume de água adicionado 3 mL.

Nota: Exp 7 (0,075; 0,05;3) significa que o vaso foi contaminado com 0,075 µg/g de MLT, 0,05 µg/g de TPhP e com 3 mL de água. As outras experiências seguem a mesma lógica.

Na literatura ainda são muito poucos os estudos que reportam o comportamento dos contaminantes na presença de MP. Não foram encontrados estudos que reportem o comportamento dos MP em solos na presença de pesticidas e aditivos de plásticos em simultâneo.

O estudo realizado por *Ting Wang* et al. [27] mostrou o comportamento do MLT na presença de MP de LDPE. Segundo *Ting Wang* et al. [27], os MP de LDPE, apresentam pequenas dimensões e superfícies lisas com dobras e saliências e, ainda, são hidrofóbicos. Devido às suas características de hidrofobicidade, os autores afirmam que os locais de adsorção dos MP podem ser ocupados por pesticidas na presença de água. Neste mesmo estudo, relata-se que a capacidade de adsorção do MLT aumenta acentuadamente nos primeiros 120 min, mantendo-se relativamente estável, após este tempo [27].

Sabe-se que o tempo que o MLT demora a degradar-se no solo, até metade da sua quantidade original, são cerca de 17 dias, dependendo do tipo de solo. Porém, na presença de água e dependendo da temperatura esta degradação pode variar entre 2 e 18 dias. Caso o pH da água seja superior a 7, o MLT pode-se mesmo degradar em poucas horas[36,37].

Em suma, existem dois cenários que podem explicar a não deteção de MLT após o dia 0: i) o facto dos MP apresentarem um forte carácter hidrofóbico faz com que o MLT, também hidrofóbico, fique adsorvido aos MP e, como tal, fique difícil de ser extraído; ii) ocorrer a degradação do MLT, influenciada pela temperatura, pH, humidade do meio e tipo de solo.

O facto dos MP serem vetores de pesticidas, faz com que a poluição seja persistente e mais facilmente transferida no ecossistema. Através da ação do fluxo, migração e difusão da água, os efeitos ambientais poderão ser complexos e graves. Além disso, uma vez que estes MP estão presentes em terrenos agrícolas, estão mais próximos dos seres humanos do que os MP marinhos, podendo ser mais nocivos [27].

3.3.2. Estudos de avaliação da concentração extraída de TPhP, nos ensaios experimentais

Na **figura 19**, encontram-se os resultados relativamente à concentração extraída de TPhP nos ensaios experimentais. Os resultados estão descritos sob a forma de gráficos de linhas, assim como, gráficos circulares. Os gráficos de linhas ilustram o comportamento das concentrações extraídas de TPhP ao longo dos dias 7, 14, 21 e 28, enquanto os gráficos circulares apresentam o somatório total das concentrações extraídas de todas as experiências, para cada dia. Os resultados foram separados em 3 grupos, tal como para o MLT, onde cada grupo tem em comum o mesmo volume de água. Assim, no grupo (a) agruparam-se as experiências às quais não se adicionou água desionizada; no grupo (b) as experiências às quais se adicionaram 1,5 mL de água desionizada; e no grupo (c) as experiências às quais se adicionaram 3 mL.

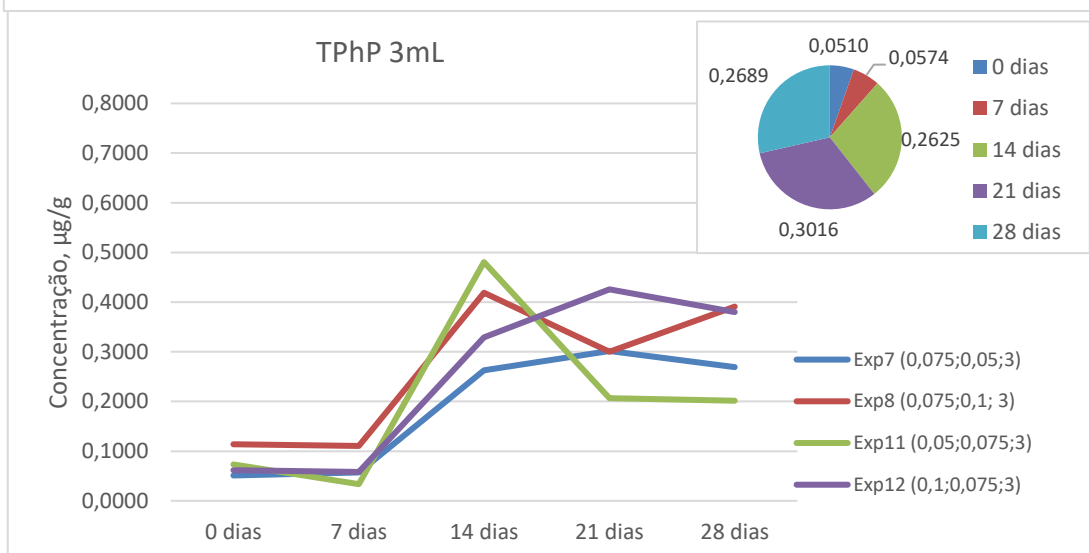
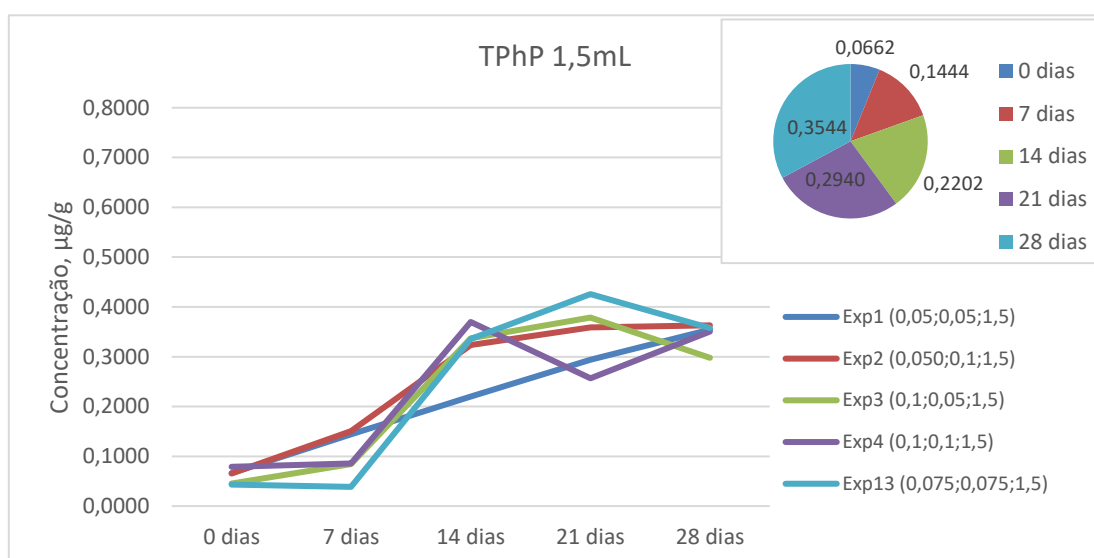
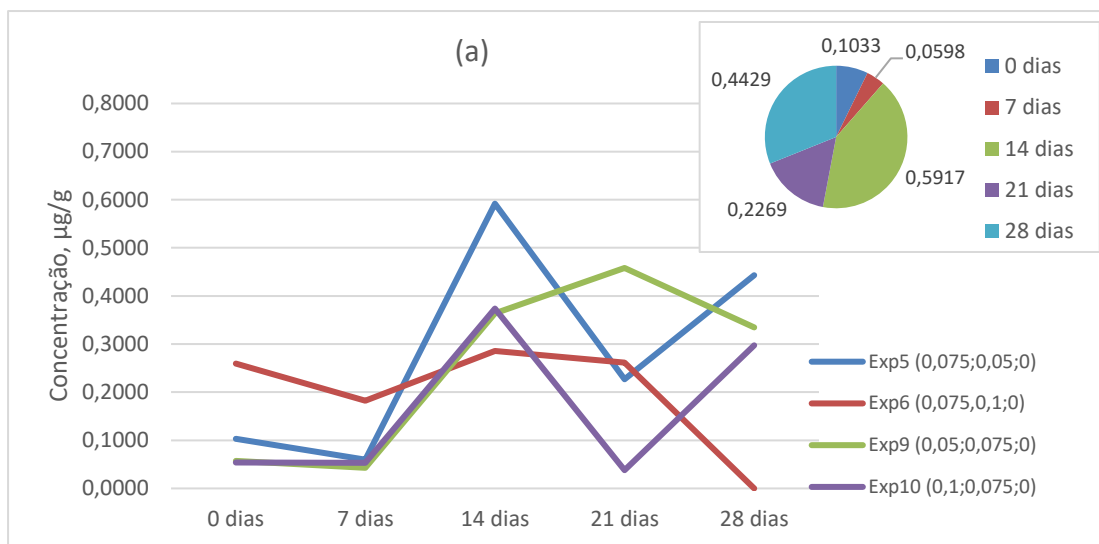


Figura 19 - Resultados obtidos das concentrações de extração do TPhP, ao longo de 28 dias, de acordo com volume de água adicionado a cada vaso (a): volume de água adicionado 0 mL; (b): volume de água adicionado 1,5 mL; (c): volume de água adicionado 3 mL. Os gráficos de linhas ilustram o comportamento das concentrações extraídas ao longo dos dias. O gráfico circular apresenta o somatório das concentrações extraídas de todas as experiências, para cada dia.

Nota: Exemplo para a legenda do gráfico de linhas: Exp 7 (0,075; 0,05;3) significa que o vaso foi contaminado com 0,075 µg/g de MLT, 0,05 µg/g de TPhP e com 3 mL de água. As outras experiências seguem a mesma lógica.

Relativamente à **figura 19**, comparando-se apenas as concentrações extraídas de TPhP no dia 0, verifica-se que a concentração do TPhP foi superior na ausência de água no solo (figura 20 (a)). O somatório das concentrações extraídas ao dia 0, tal como se pode visualizar a partir dos gráficos circulares, foram, respetivamente, para o grupo (a), (b) e (c): 0,1033, 0,0662 e 0,0510 $\mu\text{g/g}$. Com estes dados, concluiu-se que, à medida que o volume de água aumentou ocorreu uma diminuição da concentração extraída do TPhP. Apesar do limite de solubilidade do TPhP, a 20 °C, em água destilada, corresponder a 1,9 mg/L, um estudo publicado por *Hefa Cheng et al.* [38] relata, que a lixiviação dos retardantes de chama a partir dos MP em meio aquático, provoca a sua subsequente adsorção em partículas de matéria orgânica. Fazendo-se um paralelismo com o presente estudo, verifica-se que quanto maior for o volume de água presente no solo (estudos apresentados na figura 20 (b) e (c), maior afinidade o TPhP poderá ter com o solo e a sua matéria orgânica.

Um estudo publicado pela *OECD Publications* [39], onde são realizadas várias experiências estudando o comportamento do TPhP em solo esterilizado, mostra que cerca de 85 % de TPhP foi recuperado após 101 dias de incubação, sendo que o fosfato de difenilo foi detetado como um produto de degradação (7,1 % após 13 dias; 1,4 % após 101 dias). Através deste resultado, pode-se constatar que na ausência de água, o TPhP tem baixa afinidade para o solo e que é possível extraí-lo, apesar de também ser possível a ocorrência de alguma degradação do mesmo.

No grupo (a), onde os ensaios experimentais foram realizados na ausência de água, verificou-se que se obteve um comportamento diferente relativamente aos 2 restantes grupos que foram realizados na presença de água. Nos dias 0 e 7, foi difícil de se realizarem as extrações, o que tal pode indicar que neste período o TPhP apresentava uma afinidade com o solo. Porém, ao dia 14, houve um pico nas concentrações extraídas, o que poderá significar que o TPhP tenha desorvido do solo. Nos restantes dias, dependendo das experiências, observaram-se comportamentos diferentes.

Para se realizar a análise ao longo dos dias, relativamente ao grupo (b) e (c), consultou-se um estudo publicado pelo *OECD Publications* [39], que indica que o TPhP pode ser hidrolisado a fosfato de difenilo e fenol, de acordo com o pH da água, e ainda que o tempo de meia vida do TPhP a um pH 5,7, a 25 °C, são 28 dias. Como tal, à partida, seria de esperar que o sinal referente à extração do TPhP diminuísse ao longo dos dias, porém, não foi o que se verificou. No entanto, este facto pode ser explicado através da degradação do TPhP e a formação dos produtos de degradação. Para se verificar a veracidade desta hipótese, pode-se usar, em trabalhos futuros, a cromatografia gasosa com espectrofotómetro de massa e identificar os possíveis produtos de degradação recorrendo à biblioteca.

Em suma, relativamente ao TPhP, pode-se formular a hipótese de que o TPhP na presença de água, apresenta uma maior afinidade com o solo e MP, do que propriamente com a água, apesar de este apresentar um limite de solubilidade de 1,9 mg/L em água destilada. Porém, com o passar do tempo, a presença da água faz com que o TPhP se degrade mais rapidamente.

3.3.3. Considerações finais sobre os ensaios experimentais de simulação do ambiente agrícola

Na **figura 20**, apresentam-se os resultados obtidos para as extrações do MLT e do TPhP, cujas contaminações nos solos foram realizadas em proporções de 1:1, para os 3 níveis de contaminação: 0,05, 0,075 e 0,1 µg/L, para 1,5 mL de água.

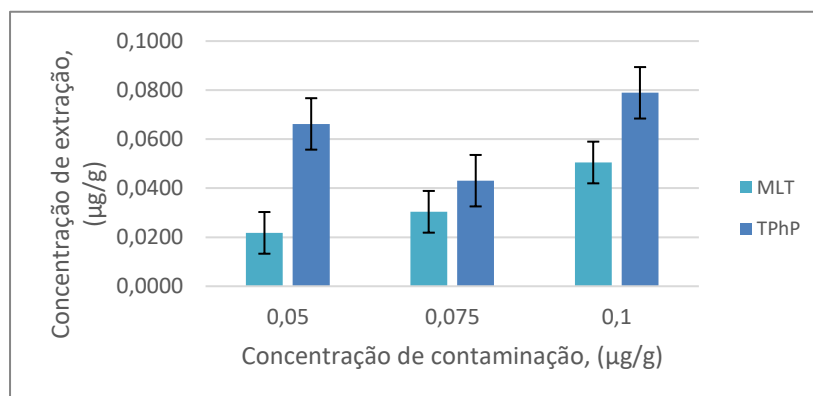


Figura 20 - Extração dos poluentes cujas contaminações foram realizadas nas mesmas proporções, para os 3 níveis de contaminações.

Através da **figura 20**, verifica-se que a concentração extraída do TPhP ao longo dos ensaios experimentais foi superior quando comparada com a concentração extraída de MLT, nos 3 níveis de contaminação estudados para cada contaminante. Tal pode indicar que a força de ligação responsável pela adsorção do MLT aos MP/solo é superior à força de ligação da adsorção do TPhP. Como hipótese podemos dizer que as interações destes compostos com o MP/solo têm comportamentos opostos sendo as interações mais fortes observadas no MLT.

No entanto, como foi referido anteriormente, a água da chuva, cheias e regas, faz com que o TPhP fique, em momentos iniciais, mais agregado à matéria orgânica e, conseqüentemente, ao solo. Porém, a longo prazo, a água tem a capacidade de degradar o TPhP. *Hefa Cheng et al.* [38], afirmam que uma exposição prolongada do TPhP à humidade pode causar a sua oxidação e cujos ácidos formados podem corroer superfície dos MP. Uma vez que que o MLT se adsorve à superfície dos MP, então, os produtos de degradação do TPhP podem destruir as superfícies dos mesmo e, conseqüentemente, destruir a ligação responsável pela adsorção do MLT aos MP. Como tal, o MLT poderá ficar novamente livre no ambiente, caso este ainda não tenha sido degradado pela água ou mesmo pelo solo.

O facto de as regas ou chuvas passageiras potenciarem a adsorção do TPhP à matéria orgânica, não constitui um fenómeno muito favorável. O retardante de chama apresenta efeitos tóxicos e, ao estar presente no solo agrícola, pode entrar em contacto com os alimentos, podendo mesmo acabar por ser ingerido não só pela fauna circundante, mas também pelos seres humanos.

Por sua vez, o MLT, que tem tendência a adsorver-se aos MP, potencia o aumento da toxicidade dos MP, dado que os pequenos fragmentos de plástico podem alcançar as células vegetais das plantas, através da endocitose, acabando por afetar os seres humanos e os animais, através da cadeia alimentar [2].

Porém, se a chuva for intensificada ou mesmo se as regas forem periódicas, a longo prazo, a água poderá contribuir para a degradação tanto do MLT como do TPhP, onde os produtos da degradação do TPhP, poderão contribuir para a degradação dos MP. Porém, seria necessário estudar se os produtos de degradação tanto do MLT como do TPhP representam, ou não, uma maior toxicidade para o ambiente.

3.4. Separação dos MP da matriz do solo

Com o objetivo de separar os MP dos solos realizaram-se testes, para posterior análise dos MP por microscopia ótica com ampliação de objetiva (10x) e ocular (10x) e no FTIR. Porém, as análises de FTIR não foram possíveis de se realizarem, devido à falta de tempo, pelo que se sugere a continuação deste procedimento em trabalhos futuros.

O teste preliminar 1 teve como objetivo separar os MP da matriz solo, devido à diferença de densidades de ambos os componentes, conforme descrito na seção 2.3. Para este fim, adicionou-se uma solução salina de NaCl ($0,3 \text{ g/cm}^3$) aos frascos, os quais foram agitados na incubadora, à temperatura ambiente. Porém, este teste não funcionou, uma vez que os MP aderiram às paredes dos frascos após a agitação dos mesmos na incubadora. Como alternativa, poder-se-ia ter adicionado surfactantes, de forma a se impedir a aderência dos MP às paredes dos frascos, porém, iria ser mais um composto a adicionar, que poderia interferir com a matriz do solo. Outro aspeto que impediu a remoção dos MP foi o facto de grande parte deles ainda terem permanecido dispersos no solo. Por último, o facto da presença de alguma matéria orgânica, que se encontrava no solo, ter ficado suspensa juntamente com os MP no topo dos frascos, devido à sua baixa densidade, também dificultou o processo de separação dos MP. Deste modo, na filtração a vácuo, para além de não se ter conseguido filtrar grande parte dos MP, acabou-se por filtrar grande parte da matéria orgânica, o que não é desejável. Na **figura 21**, encontra-se uma fotografia com o resultado obtido após a agitação dos frascos na incubadora, à temperatura ambiente.



Figura 21 - Resultado do teste preliminar 1.

Uma das razões pelas quais para o teste preliminar 1 não ter resultado, deveu-se ao facto da presença da matéria orgânica, que acabou por ficar suspensa no topo dos frascos, juntamente com os MP. Deste modo, realizou-se o teste preliminar 2, onde se efetuou uma digestão ácida com H_2O_2 (30%), com o objetivo de se dissolver a matéria orgânica presente, de forma a facilitar-se o processo de separação. Neste procedimento adicionou-se o forte oxidante a ambos os frascos, em pequenos incrementos, os quais foram sendo agitados gradualmente no vortéx. De seguida, os frascos foram colocados no banho termostático até $70\text{ }^\circ\text{C}$, com agitação. No entanto, este procedimento não resultou pois ocorreu formação de espuma. A espuma formada transbordou de ambos os frascos, o que provocou a perda de amostra. Na **figura 22**, encontra-se uma fotografia da espuma formada.

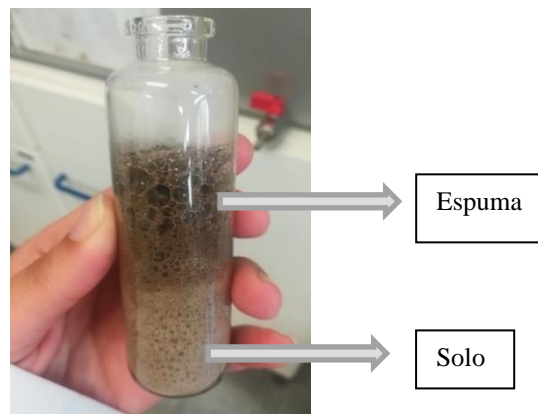


Figura 22 - Formação de espuma, devido à digestão ácida realizada no teste preliminar 2.

Dado o insucesso do teste preliminar 2, devido à formação de espuma que provocou a perda de amostra, realizou-se o teste preliminar 3, onde se tentou controlar a formação de espuma. Neste teste, realizou-se novamente uma digestão ácida da matéria orgânica presente no solo, com H_2O_2 (30%), no entanto, adotou-se um procedimento ligeiramente diferente. Neste teste, foram-se retirando os frascos do banho termostático, agitando-os manualmente, de forma a arrefecer os frascos, para que a espuma se depositasse no fundo dos frascos. Deste modo, ia-se impedindo que a espuma transbordasse. Os resultados obtidos após a agitação dos frascos no banho termostático até $70\text{ }^\circ\text{C}$, encontram-se na **figura 23**.



Figura 23 - Resultados obtidos após agitação na incubadora do teste preliminar 3.

Após a digestão ácida, realizou-se a separação dos MP da matriz do solo, através da separação por diferença de densidades, com a adição da solução salina NaCl ($0,3 \text{ g/cm}^3$), tal como está descrito na seção 2.3. Neste teste, o solo e a areia ficaram bastante compactos na parte inferior dos frascos o que permitiu uma melhor separação dos componentes. O facto de a matéria orgânica ter sido parcialmente removida, a filtração a vácuo dos MP foi facilitada. Para se remover os MP agarrados às paredes, basta repetir o processo de separação dos componentes por diferença de densidades, através da adição de solução de NaCl, com posterior centrifugação, quantas vezes forem necessárias.

O filtro referente à filtração dos MP a partir da matriz do solo, foi analisado no microscópio ótico. Na **figura 24** apresenta-se uma imagem com uma ampliação de 200 vezes.



Figura 24 - Imagem do solo do teste preliminar 3 com ampliação de 200 vezes.

No entanto, o H_2O_2 é um oxidante forte e, como tal, o teste preliminar 3 não é vantajoso, uma vez que os procedimentos devem ser o mais verde possíveis. Por este motivo, testou-se um novo procedimento, o teste preliminar 4, o qual se encontra descrito na seção 2.3. Neste teste, testou-se uma nova variação do teste preliminar 1, onde apenas se adicionou solução de NaCl, de forma a permitir-se a separação dos MP da matriz do solo, através da diferença de densidades. Neste teste, após a agitação dos frascos na incubadora, recorreu-se à centrifuga. Com este método, os MP foram bem separados, porém, como não se realizou a digestão ácida, na filtração a vácuo também se acabou por filtrar a matéria orgânica.

O resultado obtido no microscópio ótico, para o filtro referente à filtração dos MP a partir do solo, com uma ampliação de 200 vezes, encontra-se na **figura 25**.

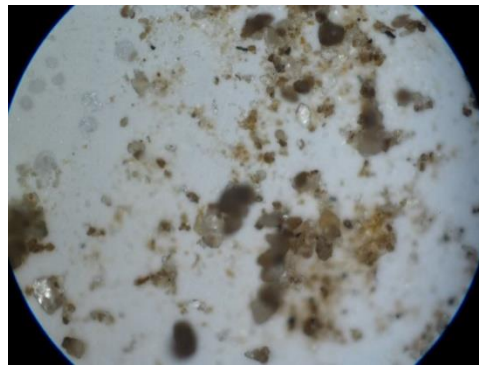


Figura 25 - Imagem do solo do teste preliminar 4, ao microscópio, com ampliação de 200 vezes.

Uma vez que, tanto o teste preliminar 3, como o teste preliminar 4, resultaram, a nível de separação dos MP, então, para realmente se verificar qual o melhor método, observaram-se os filtros ao microscópio. Através das imagens obtidas, não foi possível identificar com clareza os MP presentes. Como tal, o próximo passo consistiria em filtrar isoladamente NaCl e MP, bem como, fazer uma preparação de solo e outra de areia, para funcionarem como imagens padrões, de forma que fosse possível identificar os vários grupos. No entanto, este passo não foi concretizável, devido à falta de tempo. Sugere-se em trabalhos futuros a continuação do estudo deste método.

4. Conclusões e propostas de trabalhos futuros

O objetivo desta dissertação de mestrado consistiu em estudar as possíveis interações entre MP e outros contaminantes, em solos agrícolas, ao longo do tempo.

Para este fim, prepararam-se vasos abertos com solo standard, MP de LDPE, TPhP, MLT e, por fim, água, de forma a se simular os períodos de chuva e regas.

Neste estudo, formulou-se a hipótese de que o MLT apresenta uma forte afinidade com os MP, devido ao carácter hidrofóbico de ambos, formando-se um complexo de adsorção. No entanto, as condições do meio como água, o pH, a humidade ou mesmo as características do solo, podem degradar o MLT. O complexo formado entre os MP e o MLT não é favorável, uma vez que este fenómeno aumenta a toxicidade dos MP, que podem entrar nas células vegetais, através da endocitose.

Relativamente aos resultados obtidos para o TPhP, formulou-se a hipótese de que água, que representa a chuva ou as regas, faz com que, em momentos iniciais, o TPhP adsorva na matéria orgânica presente nos solos. Este fenómeno também não é muito favorável, dado que existe contacto entre estes componentes e os alimentos, nos solos agrícolas. No entanto, a longo prazo, a água tem a aptidão de degradar o TPhP, cujos produtos de oxidação apresentam capacidade de corroer os MP.

Estes resultados embora preliminares constituem um avanço no estudo da presença de MP em solos agrícolas e sua relação com a presença de contaminantes.

Como propostas de trabalhos no futuro próximo, aconselha-se a realizar a análise dos MP após a extração dos contaminantes nos solos, através de visualizações ao microscópio, assim como, fazer uma análise no FTIR, de forma a confirmar se o MLT ficou agregado a estes. Também se sugere utilizar o método de cromatografia gasosa acoplado a espectrofotómetro de massa, para separação e quantificação dos extratos, de forma a verificar se a evolução dos sinais referentes à extração do TPhP ao longo dos dias, será fruto dos seus produtos de degradação em fosfato de difenilo e fenol, cujos tempos de retenção podem ser os mesmos, havendo, deste modo, uma interferência de sinal.

Neste domínio, muitos outros desafios se colocam à investigação científica, dada a complexidade do estudo decorrente, da variabilidade de possíveis plásticos presentes no ambiente e consequente presença dos respectivos MP associados a um conjunto elevado de contaminantes ambientais. Os plásticos são materiais cuja composição não é simples. A não existência de um método analítico de referência obrigará a um maior esforço por parte das equipas de investigação no sentido de partilha de conhecimentos e de resultados. Com os equipamentos existentes no mercado, pensa-se que só o recurso a diferentes metodologias e a ensaios interlaboratoriais permitirão avançar no conhecimento da presença de MP no ambiente.

Bibliografia

- [1] Hurley, R. R. and Nizzetto, L. (2018). Fate and occurrence of micro (nano) plastics in soils : Knowledge gaps and possible risks. *Curr. Opin. Environ. Sci. Heal.*, vol. 1, pp. 6–11, doi: 10.1016/j.coesh.2017.10.006.
- [2] Kumar, M. *et al.* (2020). Microplastics as pollutants in agricultural soils. *Environ. Pollut.*, vol. 265, p. 114980, doi: 10.1016/j.envpol.2020.114980.
- [3] Piatti, T. M. and Rodrigues, R. A. F. (2005). Plásticos: características, usos, produção e impactos ambientais - *Série Conversando sobre ciências em alagoas*, p. 51.
- [4] Teixeira, R. (2011). Produção de Bioplásticos por Culturas Mistas. Tese de mestrado, departamento de química, Universidade de Aveiro.
- [5] Martins, P. (2009). Recuperação do Isopentano da Gasolina Leve. Tese de mestrado, departamento de engenharia química, ISEP.
- [6] Almeida, P. (2012). Reciclagem de Polímeros – Uma Abordagem em Contexto Escolar. Tese de mestrado, Universidade do Minho.
- [7] Polímeros e Materiais Poliméricos Índice. Ficheiro PDF descarregado a 14 de Março.
- [8] Santos, L. (2009). Avaliação da Eficiência da Separação de Plásticos de Resíduos Sólidos Urbanos por Métodos de Dissolução Selectiva. pp. 1–150.
- [9] Fortuna, A. (2020) Impactos ambientais dos plásticos : biopolímeros como alternativa para a redução do acúmulo de embalagens flexíveis de Polipropileno no meio ambiente. Monografia em Engenharia química- U.F. Rio de Janeiro.
- [10] Franco, T. (2017). Microplásticos: um programa de educação ambiental envolvendo diferentes grupos da sociedade. Tese de mestrado, departamento de Biologia, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- [11] Dias, D. (2016). Migração de contaminantes de materiais de embalagem. Tese de mestrado, Ciências Farmacêuticas, Instituto superior de ciências da saúde Egas Moniz.
- [12] Mo, J. N., Der, M. G, Lo, J., and Laforsch, C. (2020). Finding Microplastics in Soils: A Review of Analytical Methods. doi: 10.1021/acs.est.9b04618.
- [13] Parlamento Europeu (2021) Atualidade Microplásticos : origens , efeitos e soluções. pp. 2–4.
- [14] The unit planet (2016) Microplásticos também estão nos solos. PDF descarregado a 26 de Maio.
- [15] Wang, J. *et al.* (2019) Science of the Total Environment Microplastics as contaminants in the soil environment : A mini-review. *Sci. Total Environ.*, vol. 691, pp. 848–857, doi: 10.1016/j.scitotenv.

- [16] Microplásticos. <https://www.iberdrola.com/meio-ambiente/microplasticos-ameaca-a-saude>. Visitado a 26 de Maio 2021.
- [17] Hwang, J., Choi, D., Han, S., Jung, S. Y., Choi J., and Hong, J. (2020). Potential toxicity of polystyrene microplastic particles,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–12, doi: 10.1038/s41598-020-64464-9.
- [18] Ragusa, A. *et al.* (2021). Plasticenta : First evidence of microplastics in human placenta. *Environ. Int.*, vol. 146, p. 106274, doi: 10.1016/j.envint.2020.106274.
- [19] Microplásticos em placentas humanas. www.visao.sapo.pt/visao_verde/ambiente/2020-12-12-detetados-pela-primeira-vez-microplasticos-em-placentas-humanas/. Visitado a 26 de Maio.
- [20] Li, D. *et al.* (2020). Microplastic release from the degradation of polypropylene feeding bottles during infant formula preparation. *Nat. Food*, vol. 1, no. 11, pp. 746–754, doi: 10.1038/s43016-020-00171-y.
- [21] Fred-Ahmadu, O. H., Bhagwat, G., Oluyoye, I., Benson, N. U., Ayejuyo, O. O., and Palanisami, T. (2020). Interaction of chemical contaminants with microplastics: Principles and perspectives. *Sci. Total Environ.*, vol. 706, p. 135978, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135978.
- [22] Bisfenol A. <https://www.tuasaude.com/bisfenol-a/>. Visitado a 15 de Maio.
- [23] PhP exposure disturbs carbohydrate metabolism, lipid metabolism, and the DNA damage repair system in zebrafish liver. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4761896/>, visitado a 25 de setembro
- [24] Fernandes V. C, Domingues, V. F., Mateus, N. and Delerue-Matos C. (2013) Multiresidue pesticides analysis in soils using modified QuEChERS with disposable pipette extraction and dispersive solid-phase extraction. *J. Sep. Sci.*, vol. 36, no. 2, pp. 376–382, doi: 10.1002/jssc.201200673.
- [25] Agency for Toxic Substances and Disease. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=522&tid=92>. Visitado a 23 de Setembro 2021
- [26] Zhou, B. *et al* (2019). Microplastics in agricultural soils on the coastal plain of Hangzhou Bay, east China: Multiple sources other than plastic mulching film,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 388, p. 121814, doi: 10.1016/j.jhazmat.2019.121814.
- [27] Wang, T., Yu, C., Chu, Q., Wang, F., Lan, T., and Wang, J. (2020). Chemosphere Adsorption behavior and mechanism of five pesticides on microplastics from agricultural polyethylene films. vol. 244, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125491.
- [28] Torres, F. G., Dioses-Salinas, D. C., Pizarro-Ortega, C. I., and De-la-Torre, G. E. (2021). Sorption of chemical contaminants on degradable and non-degradable

- microplastics: Recent progress and research trends,” *Sci. Total Environ.*, vol. 757, p. 143875, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143875.
- [29] Li ,Q., Zeng, A., Jiang, X., and Gu, X. (2020) Are microplastics correlated to phthalates in facility agriculture soil ? *J. Hazard. Mater.*, vol. 412, p. 125164, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125164.
- [30] Ikan, R., and Crammer, B. (2003). Pyrolysis Gas Chromatography Organic Chemistry , Compound Detec- tion FORENSIC SCIENCES | Questioned Documents.
- [31] P. Alegre, D.A.Skoog,F.J.Holler,T.a.Nieman (1998). Princípios de Análise Experimental, 5ª Ed., Bookman, Porto Alegre.
- [32] Especialista em Design. file:///C:/Program Files/Stat-Ease/Design-Expert 11/help/index.html, visitado a 8 de Setembro.
- [33] Huang, Y., Liu ,Q., Jia, W., Yan,C., and Wang,J. (2020). Agricultural plastic mulching as a source of microplastics in the terrestrial environment. *Environ. Pollut.*, vol. 260, p. 114096, doi: 10.1016/j.envpol.2020.114096.
- [34] Torres, A. (2007). Envelhecimento Físico Químico De Tubulações De Polietileno De Alta Densidade Empregadas Em Redes De Distribuição De Derivados De Petróleo. *Plast. Eng.*, vol. 38, pp. 49–55.
- [35] Fernandes, V. C., Luts, W., Delerue-Matos, C., and Domingues, V. F. (2020). Improved QuEChERS for Analysis of Polybrominated Diphenyl Ethers and Novel Brominated Flame Retardants in Capsicum Cultivars Using Gas Chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 68, no. 10, pp. 3260–3266, 2 doi: 10.1021/acs.jafc.9b07041.
- [36] S. Univar Iberia (2012) Ficha de dados de segurança. <http://www.mdpi.com/1422-0067/9/9/1621/htm>, visitado a 20 de Setembro 2021.
- [37] Landscape IPM. <https://landscapeipm.tamu.edu/types-of-pest-control/chemical-control/storing-and-using-pesticides/>. Visitado a 7 de setembro 2021.
- [38] Cheng, H., Luo, H., Hu, Y., and Tao, S. (2020). Release kinetics as a key linkage between the occurrence of flame retardants in microplastics and their risk to the environment and ecosystem: A critical review,” *Water Res.*, vol. 185, p. 116253, doi: 10.1016/j.watres.2020.116253.
- [39] Environment Agency, OECD publications. Introduction Triphenyl Phosphate. Cas N^o: 115-86-6, *History*.

Anexo A – Determinação da capacidade de retenção da água no solo

Para a realização deste estudo, em primeiro lugar, foi necessário determinar a capacidade de retenção da água no solo, de forma a saber-se qual o teor máximo de água que se poderia colocar no solo. Para tal, realizou-se o seguinte procedimento, em duplicado: Pesaram-se cerca de 100 g de solo seco e transferiu-se para um gobelé de 200 mL, de seguida, com a ajuda de uma proveta, adicionaram-se 100 mL de H₂O ultrapura ao gobelé e agitou-se a solução com uma vareta. Pesou-se o conjunto (funil + filtro de papel). Com a ajuda de um esguicho com H₂O pura, hidratou-se o filtro que está no funil. De seguida, pesou-se o conjunto (funil + filtro) hidratado. O filtro e o funil foram colocados num matraz de 500 mL. Posteriormente, transferiu-se a solução (água + solo) para o filtro e cobriu-se com papel de alumínio. Deixou-se o solo secar, durante 3h, à temperatura ambiente. No final, pesou-se o conjunto (filtro + funil + solo).

Na **tabela A.1**, encontram-se todas as massas registadas, para ambos os ensaios

Tabela A. 1 – Massas registadas, para ambos os ensaios A1 e A2, para massa, m, do solo seco, em gramas, g, massa do funil + filtro seco, massa do funil + filtro hidratado e a massa do funil + filtro + solo + água.

Amostras em duplicado	A1	A2
m solo seco, g	100,81	100,44
m (funil + filtro) seco, g	55,57	72,79
M (funil + filtro) hidratado, g	59,08	75,90
M (funil+filtro+solo+H ₂ O) ao fim de 3h, g	201,00	209,00

Para se determinar a capacidade de retenção de água no solo, assim como a respetiva água a adicionar-se ao solo, para se simular as condições de humidade nas amostras, utilizaram-se as equações A.1, A.2, A.3 e A.4.

$$CRA = \frac{(F-I)}{D} \times 100 \quad (\text{equação A.1})$$

CRA - Capacidade de retenção de água, g

F - Soma (massa papel de (filtro + funil hidratado + massa solo húmido), g

I - Massa (funil + papel filtro) hidratado + sólido seco, g

D - Massa de sólido seco, g

$$t_h = \frac{(w-D)}{D} \times 100 \quad (\text{equação A.2})$$

th - Teor humidade, %

w - Massa húmida do substrato, que foi submetida a secagem, g

$$PA = \left(CRA \times \frac{PCRA}{100} \right) - t_h \quad (\text{equação A.3})$$

PA - % de água a adicionar-se ao solo

PCRA - % pretendida de capacidade de retenção da água

$$VA = PA \times \frac{M}{100} \quad (\text{equação A.4})$$

VA - Volume de água a adicionar-se ao solo, mL

M - Massa de solo requerido, expressa em base seca para se realizarem os ensaios (5g)

A título de exemplo de cálculo utilizou-se o ensaio A1.

$$CRA = \frac{(201-59,081-100,81)}{100,81} \times 100 = 40,78$$

$$t_h = \frac{((201-59,081)-100,812)}{100,812} = 0,408$$

$$PA = \left(40,78 \times \frac{70}{100} \right) - 0,408 = 28,14 \%$$

$$VA = 24,06 \times \frac{5}{100} = 1,41 \text{ mL}$$

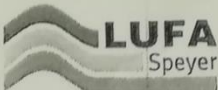
Pelo mesmo procedimento, determinou-se o volume de água a adicionar-se ao solo, em mL, no ensaio A2, onde se obteve 1,12 mL. A média obtida para os dois ensaios foi de 1,26 mL. Como tal, utilizou-se como valor central de água 1,5 mL, uma vez que comete um erro menor na pipetagem.

Anexo B – Caracterização do Solo

A ficha técnica da caracterização do solo standard encontra-se na **figura B.1**.

Chemical and physical characteristics of standard soils according to GLP

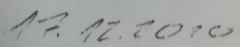
LUFA Speyer
Obere Langgasse 40
67346 Speyer
Tel.: 0 62 32/136-0
Fax: 0 62 32/136-110
Mail: info@lufa-speyer.de

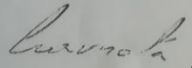


LUFA Speyer is an agricultural institution of Bezirksverband Pfalz

(Mean values of different batch analyses +- standard deviation. All values refer to dry matter.)						
Standard soil type no.	2.1	2.2	2.3	2.4	5M	6S
Batch No. (Sp=stored; F= field fresh)		Sp. 2 4520				
Sampling date		05. 11. 20				
Organic carbon (% C)	0.63+- 0.07	1.61 +- 0.44	0.65 +- 0.08	1.95 - 0.25	0.89 +- 0.19	1.70 +- 0.17
Nitrogen (% N)	0.05 +- 0.01	0.18 +- 0.04	0.07 +- 0.02	0.22 +- 0.02	0.11 +- 0.03	0.18 +- 0.01
pH value (0.01 M CaCl ₂)	4.7+- 0.1	5.6 +- 0.4	6.1 +- 0.4	7.4 +- 0.1	7.4 +- 0.1	7.3 +- 0.1
Cation exchange capacity (meq/100g)	3.7 +- 0.7	8.5 +- 12.1	6.8 +- 1.4	21.2 +- 15.1	12.7 +- 5.7	23.2 +- 6.2
Particle size distribution (mm) according to German DIN (%):						
<0.002	4.1 +- 0.6	8.9 +- 0.8	7.3 +- 0.9	29.9 +- 1.1	11.4 +- 1.0	41.2 +- 1.0
0.002 - 0.006	1.5 +- 0.5	3.0 +- 0.8	5.1 +- 0.9	8.0 +- 0.5	4.9 +- 1.6	9.8 +- 1.0
0.006 - 0.02	3.2 +- 0.4	4.9 +- 0.4	11.2 +- 0.8	14.9 +- 1.1	9.6 +- 0.7	12.1 +- 1.0
0.02 - 0.063	5.9 +- 0.6	7.1 +- 1.0	18.9 +- 1.2	24.2 +- 2.0	21.5 +- 2.0	15.0 +- 1.0
0.063 - 0.2	28.6 +- 1.4	33.2 +- 4.8	25.6 +- 1.0	20.0 +- 0.7	38.6 +- 3.3	9.8 +- 0.7
0.2 - 0.63	54.1 +- 2.1	42.0 +- 2.9	29.4 +- 1.3	5.3 +- 0.6	12.8 +- 1.1	9.8 +- 0.5
0.63 - 2.0	2.6 +- 0.4	0.8 +- 0.2	2.6 +- 0.5	1.6 +- 0.3	1.2 +- 0.4	2.3 +- 0.3
Soil type	silty sand (uS)	loamy sand (IS)	silty sand (uS)	clayey loam (tL)	loamy sand (IS)	clayey loam (tL)
Particle size distribution (mm) according to USDA (%):						
<0.002	4.1 +- 0.6	8.9 +- 0.8	7.3 +- 0.9	25.9 +- 1.1	11.4 +- 1.0	41.2 +- 1.0
0.002 - 0.05	9.3 +- 1.0	13.9 +- 1.3	33.3 +- 0.6	42.0 +- 2.2	31.3 +- 3.4	35.5 +- 0.4
0.05 - 2.0	86.6 +- 0.8	77.2 +- 1.9	59.4 +- 0.7	32.0 +- 1.7	57.3 +- 4.0	23.3 +- 1.1
Soil type	loamy sand	sandy loam	sandy loam	loam	sandy loam	clay
Maximum water holding capacity (g/100g)	31.8 +- 2.0	43.3 +- 5.1	35.2+- 1.8	45.8 +- 2.7	40.8 +- 3.6	42.4 +- 0.9
Weight per volume (g/1000ml)	1426 +- 41	1232 +- 93,8	1301 +- 37	1214+- 57	1226 +- 80	1298,8 +- 44

(M. Prigge - Phone: +49 (0) 6232 136 125; email: prigge@lufa-speyer.de)

By order of: 

Date, signature: 

Version 2.D12-18
29.07.2019

Figura B. 1 - Ficha técnica da caracterização do solo.

Anexo C – Validação da metodologia analítica e ensaios de recuperação

Para a validação do método analítico, prepararam-se soluções-padrão mistas de TPhP e MLT com concentrações compreendidas entre 25 e 150 $\mu\text{g/L}$ em n-hexano. Os compostos foram separados e quantificados por GC-FPD.

As curvas de calibração obtidas para o MLT e para o TPhP, encontram-se, respetivamente, nas **figuras C.1 e C.2**.

Os parâmetros analíticos determinados para a curva do MLT foram o declive da reta, m , a ordenada na origem, b , o coeficiente de correlação, r , o erro da reta, Sy/x , e os parâmetros referentes aos limites de deteção (LOD) e quantificação (LOQ).

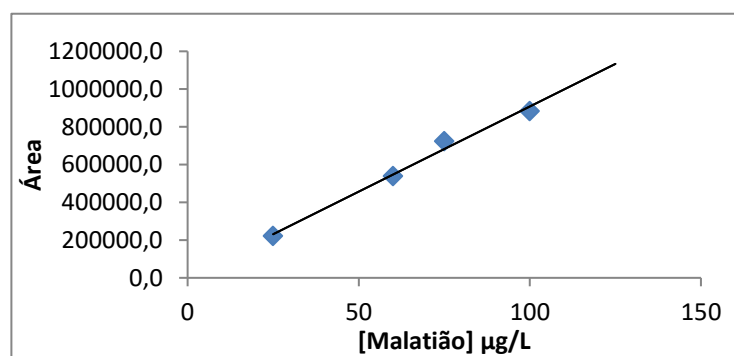


Figura C. 1 - Curva de calibração do MLT.

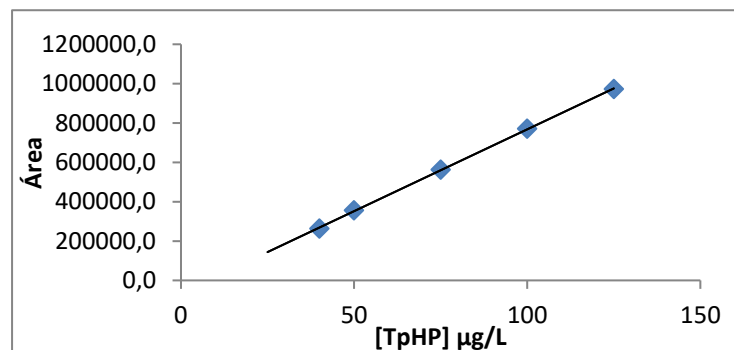


Figura C. 2 - Curva de calibração para o TPhP.

O m foi determinado pelo declive da reta, o b , através da interceção da reta com a ordenada na origem. O m determinado para o MLT e para o TPhP foram, respetivamente, 9022,654 e 8316,968, por sua vez, o b determinado foi, respetivamente, 5489,406 e -63980,5. O LOQ foi determinado da seguinte forma:

$$\text{LOD } \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} = 3,3 \times \frac{S_{\frac{y}{x}}}{m} \quad \text{(Equação C.1)}$$

O LOQ, foi determinado pela seguinte equação:

$$\text{LOQ } \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} = 10 \times \frac{S_{\frac{y}{x}}}{m} \quad \text{(Equação C.2)}$$

A título de exemplo, apresenta-se o cálculo para o LOD do MLT em $\mu\text{g/L}$:

$$\begin{aligned} \text{LOD } \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} &= 3,3 \times \frac{S_{\frac{y}{x}}}{m} \Leftrightarrow \\ \text{LOD } \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} &= 3,3 \times \frac{34798,6}{9022,654} \Leftrightarrow \\ &\Leftrightarrow \text{LOD } \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} = 12,73 \end{aligned}$$

Para se converterem as unidades para $\mu\text{g/g}$, utiliza-se a seguinte equação:

$$\begin{aligned} \text{LOD } \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} &= \frac{\text{LOD } \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \times 10 * 10^{-3}}{\text{massa solo}} \\ \Leftrightarrow \text{LOD } \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} &= \frac{12,73 \times 10 * 10^{-3}}{5} \Leftrightarrow \\ &\Leftrightarrow \text{LOD } \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} = 0,025 \end{aligned}$$

Para e extrair o TPhP e MLT nos solos foi desenvolvido um método baseado na extração QuEChERS. Para avaliar a eficiência de extração da metodologia analítica adotada foram realizados estudos de recuperação. Para tal, fizeram-se fortificações de 5 g de solo standard com 3 níveis de concentração de cada um dos compostos.

Na **tabela C.1** encontram-se os dados relativos a: massas pesadas do solo, os níveis de contaminação aplicados, a área média dos picos referente a cada estudo de recuperação, assim como, as concentrações obtidas e respectivas recuperações, para o MLT. Na **tabela C.2**, encontram-se os mesmos dados para o TPhP.

Tabela C. 1 - Massas pesadas de solo para cada ensaio de recuperação, em gramas, g; a contaminação de MLT aplicada a cada ensaio, $\mu\text{g/g}$; a área média dos picos obtidos por GC-FPD; e as respectivas concentrações e recuperações determinadas.

Ensaio de recuperação	Solo	Contaminação MLT $\mu\text{g/g}$	A média U. A	Concentração de extração $\mu\text{g/L}$	Concentração de extração $\mu\text{g/g}$	% Rec
1	4,983	0,05	174889	18,775	0,038	79
2	5,095	0,075	321360	35,009	0,069	47
3	5,321	0,01	346237	37,766	0,071	124

Tabela C. 2 - Massas pesadas de solo para cada ensaio de recuperação, em gramas, g; a contaminação de TPhP aplicada a cada ensaio, $\mu\text{g/g}$; a área média dos picos obtidos por GC-FPD; e as respectivas concentrações e recuperações determinadas.

Ensaio de recuperação	Solo	Contaminação TPhP $\mu\text{g/g}$	A média U. A.	Concentração de extração $\mu\text{g/L}$	Concentração de extração $\mu\text{g/g}$	% Rec
1	5,521	0,05	84323,35	17,831	0,032	81
2	5,316	0,075	162010,2	27,172	0,051	35
3	5,157	0,1	171435,5	28,306	0,055	48

A título de exemplo de cálculo, mostra-se a concentração de extração obtida em $\mu\text{g/L}$, a partir dos parâmetros analíticos da curva de calibração, para o ensaio de recuperação 1, do MLT, sabendo que a equação da reta é:

$$\text{Área} = 9022,65 [\text{concentração extraída}] \mu\text{g/L} - 5\,489,41 \quad (\text{Equação C.4})$$

Deste modo, substituindo-se o valor da área obtida para o ensaio de recuperação 1, 174889 U.A., obteve-se uma concentração extraída em $\mu\text{g/L}$ de 18,775.

Para se determinarem as % recuperação, foi necessário determinar-se as áreas de soluções padrão, para cada concentração de contaminação utilizada. As áreas padrões encontram-se na **tabela C.3**.

Tabela C. 3 - Áreas dos picos das soluções padrão.

Solução padrão $\mu\text{g/g}$	Área média MLT	Área média TPhP
0,05	221486,1	103606,8
0,075	689094,1	468619,55
0,1	279205,2	355998,35

A título de exemplo, apresenta-se o cálculo para a % Rec, para o ensaio de recuperação 1 do TPhP. Para se determinar a % de recuperação, utilizou-se a **equação C.5**, sabendo que o Área fortificado representa a área do pico obtido da experiência em causa e a área do branco corresponde à área obtida referente à extração do solo sem contaminantes, que é nula.

$$\% \text{ recuperação} = \frac{\text{Área Fortificado} - \text{Área Branco}}{\text{Área Padrão}} \times 100 \quad (\text{Equação C.5})$$

$$\Leftrightarrow \% \text{ recuperação} = \frac{84323,35 - 0}{103606,8} \times 100 \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow \% \text{ recuperação} = 81$$

Anexo D – Ensaios Experimentais

Nos ensaios experimentais, foi necessário preparar-se 75 vasos, os quais foram separados em 5 grupos de 15. Cada grupo de ensaios foi realizado de igual forma.

Na tabela D.1, encontra-se o planeamento fatorial utilizado, através do software *Design Expert* 11.1.2.0, sendo que para o TPhP e para o MLT, o **-1** corresponde a uma concentração de 0,050µg/g, **0** a 0,075 µg/g e **1** a 0,1 µg/g. Relativamente, à água, o **-1** corresponde a 0 mL, o **0** a 1,5 mL e o **1** a 3 mL.

Tabela D. 1- Códigos utilizados gerados pelo planeamento fatorial do Design Expert 11.1.2.0.

Vasos	MLT	TPhP	Água
1	-1	-1	0
2	-1	1	0
3	1	-1	0
4	1	1	0
5	0	-1	-1
6	0	1	-1
7	0	-1	1
8	0	1	1
9	-1	0	-1
10	1	0	-1
11	-1	0	1
12	1	0	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

De seguida, apresentam-se as tabelas **D.2**, **D.3**, **D.4**, **D.5** e **D.6**, onde se encontram os volumes de contaminação aplicados a cada vaso, bem como, as massas pesadas de MP e solo, para os grupos correspondentes à análise dos dias 0, 7, 14, 21 e 28, respetivamente.

Tabela D. 2 - Massas pesadas de solo e MP de LDPE, g, e os volumes de contaminação de TPhP e MLT, do grupo referente ao dia 0.

Vasos	Solo (g)	MP (g)	V (µL) MLT	V(µL) TPhP	V água
A	4,982	0,052	125	125	1,5
B	5,415	0,054	125	250	1,5
C	5,058	0,051	250	125	1,5
D	4,995	0,052	250	250	1,5
E	5,232	0,052	187,5	125	0
F	5,473	0,049	187,5	250	0
G	4,943	0,052	187,5	125	3
H	5,151	0,052	187,5	250	3
I	5,503	0,052	125	187,5	0
J	5,053	0,053	250	187,5	0
K	5,505	0,051	125	187,5	3
L	5,096	0,054	250	187,5	3
M	5,056	0,054	187,5	187,5	1,5
N	5,215	0,054	187,5	187,5	1,5
O	4,901	0,051	187,5	187,5	1,5

Tabela D. 3 - Massas pesadas de solo e MP de LDPE, g, e os volumes de contaminação de TPhP e MLT, do grupo referente ao dia 7.

Vasos	Solo (g)	MP (g)	V (µL) MLT	V(µL) TPhP	V água
1	5,119	0,055	125	125	1,5
2	4,981	0,051	125	250	1,5
3	5,231	0,052	250	125	1,5
4	5,426	0,054	250	250	1,5
5	5,378	0,054	187,5	125	0
6	5,002	0,053	187,5	250	0
7	5,422	0,051	187,5	125	3
8	5,116	0,05	187,5	250	3
9	5,423	0,053	125	187,5	0
10	5,115	0,05	250	187,5	0
11	5,278	0,053	125	187,5	3
12	5,052	0,051	250	187,5	3
13	5,489	0,054	187,5	187,5	1,5
14	5,381	0,055	187,5	187,5	1,5
15	5,442	0,052	187,5	187,5	1,5

Tabela D. 4 - Massas pesadas de solo e MP de LDPE, g, e os volumes de contaminação de TPhP e MLT, do grupo referente ao dia 14.

Vasos	Solo (g)	MP (g)	V (μL) MLT	V(μL) TPhP	V água
16	5,345	0,054	125	125	1,5
17	5,107	0,052	125	250	1,5
18	4,915	0,048	250	125	1,5
19	5,214	0,049	250	250	1,5
20	4,988	0,051	187,5	125	0
21	5,013	0,051	187,5	250	0
22	5,192	0,051	187,5	125	3
23	5,447	0,055	187,5	250	3
24	5,166	0,055	125	187,5	0
25	5,084	0,05	250	187,5	0
26	5,018	0,048	125	187,5	3
27	5,135	0,05	250	187,5	3
28	4,959	0,05	187,5	187,5	1,5
29	5,215	0,05	187,5	187,5	1,5
30	5,284	0,051	187,5	187,5	1,5

Tabela D. 5 - Massas pesadas de solo e MP de LDPE, g, e os volumes de contaminação de TPhP e MLT, do grupo referente ao dia 21.

Vasos	Solo (g)	MP (g)	V (μL) MLT	V(μL) TPhP	V água
31	5,441	0,05	125	125	1,5
32	5,036	0,05	125	250	1,5
33	5,098	0,051	250	125	1,5
34	5,089	0,05	250	250	1,5
35	5,223	0,052	187,5	125	0
36	5,066	0,051	187,5	250	0
37	5,131	0,051	187,5	125	3
38	5,378	0,054	187,5	250	3
39	5,387	0,048	125	187,5	0
40	5,009	0,05	250	187,5	0
41	5,471	0,052	125	187,5	3
42	5,022	0,054	250	187,5	3
43	5,293	0,052	187,5	187,5	1,5
44	5,032	0,049	187,5	187,5	1,5
45	5,419	0,052	187,5	187,5	1,5

Tabela D. 6 - Massas pesadas de solo e MP de LDPE, g, e os volumes de contaminação de TPhP e MLT, do grupo referente ao dia 28.

Vasos	Solo (g)	MP (g)	V (µL) MLT	V(µL) TPhP	V água
46	5,131	0,051	125	125	1,5
47	5,027	0,05	125	250	1,5
48	5,016	0,053	250	125	1,5
49	4,963	0,049	250	250	1,5
50	4,998	0,049	187,5	125	0
51	5,165	0,051	187,5	250	0
52	5,263	0,054	187,5	125	3
53	5,292	0,048	187,5	250	3
54	5,367	0,054	125	187,5	0
55	5,136	0,052	250	187,5	0
56	5,057	0,054	125	187,5	3
57	0,051	0,051	250	187,5	3
58	5,059	0,052	187,5	187,5	1,5
59	4,981	0,054	187,5	187,5	1,5
60	4,941	0,053	187,5	187,5	1,5

Os resultados obtidos após as extrações sólido-líquido dos contaminante e análise no GC, obtiveram-se os seguintes resultados presentes nas seguintes **tabelas D.7, D.8, D.9, D.10, D.11, D.12, D.13, D.14, D.15, D.16, D.17, D.18, D.19, D.20 e D.21.**

Tabela D. 7 - Resultados obtidos para a experiência 1.

Experiência 1: MLT 0,05 µg/g, TPhP 0,05 µg/g, água 1,5 mL (-1 -1 0)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
A (0 dias)	4,982	11,5	90617,60	9,435	0,0218	174614,60	28,688	0,0662
1 (7dias)	5,11	10	0,00	-	-	549770,40	73,795	0,1444
16 (14 dias)	5,345	10	0,00	-	-	914874,75	117,694	0,2202
31 (21 dias)	5,444	10	0,00	-	-	1267032,15	160,036	0,2940
46 (28 dias)	5,131	10	0,00	-	-	1448313,85	181,832	0,3544

Tabela D. 8 - Resultados obtidos para a experiência 2.

Experiência 2: MLT 0,05 µg/g, TPhP 0,1 µg/g, água 1,5 mL (-1 1 0)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
B (0 dias)	5,41	11,5	79482,05	8,201	0,0174	192254,35	30,809	0,0655
2 (7 dias)	5,543	10	-	-	-	560679,05	75,107	0,1508
17 (14 dias)	4,981	10	-	-	-	1310031,35	165,206	0,3235
32 (21 dias)	5,107	10	-	-	-	1439564,90	180,780	0,3590
47 (28 dias)	5,036	10	-	-	-	1453731,35	182,484	0,3630

Tabela D. 9 - Resultados obtidos para a experiência 3

Experiência 3: MLT 0,1 µg/g, TPhP 0,05 µg/g, água 1,5 mL (1 -1 0)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
C (0 dias)	5,058	11,5	101045,45	10,591	0,0241	101707,90	19,922	0,0453
3 (7 dias)	5,213	10	-	-	-	0,0084	43,808	0,0840
18 (14 dias)	4,91	10	-	-	-	0,0337	165,361	0,3368
33 (21 dias)	5,098	10	-	-	-	0,0379	193,028	0,3786
48 (28 dias)	5,016	10	-	-	-	0,0298	149,386	0,2978

Tabela D. 10 - Resultados obtidos para a experiência 4.

Experiência 4: MLT 0,1 µg/g, TPhP 0,1 µg/g, água 1,5 mL (1 1 0)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
D (0 dias)	4,995	11,5	203327,05	21,927	0,0505	221070,15	34,273	0,0789
4 (7 dias)	5,426	10	-	-	-	323630,95	46,605	0,0859
19 (14 dias)	5,21	10	-	-	-	1538205,35	192,641	0,3698
34 (21 dias)	5,089	10	-	-	-	1021882,70	130,560	0,2566
49 (28 dias)	4,963	10	-	-	-	1382935,95	173,972	0,3505

Tabela D. 11 - Resultados obtidos para a experiência 5.

Experiência 5: Malatião 0,075 µg/g, TPhP 0,05 µg/g, água 0 mL (0 -1 -1)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
E (0 dias)	5,232	10	171467,85	18,396	0,0352	385467,15	54,040	0,1033
5 (7 dias)	5,378	10	20107,55	1,620	-	203634,90	32,177	0,0598
20 (14 dias)	4,988	10	47175,25	4,620	-	2390882,00	295,163	0,5917
35 (21 dias)	5,22	10	56047,75	5,603	-	920939,90	118,423	0,2269
50 (28 dias)	5,232	10	45216,20	4,403	-	1776880,70	221,338	0,4429

Tabela D. 12 - Resultados obtidos para a experiência 6.

Experiência 6: MLT 0,075 µg/g, TPhP 0,1 µg/g, água 0 mL (0 1 -1)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
F (0 dias)	5,473	10	195130,00	21,0183	0,0384	1115676,20	141,837	0,2592
6 (7 dias)	5,002	10	47554,70	4,6622	-	695559,25	91,324	0,1826
21 (14 dias)	5,013	10	0,00	-0,6084	-	1127183,50	143,221	0,2857
36 (21 dias)	5,066	10	135206,65	14,3768	-	1038562,25	132,565	0,2617
51 (28 dias)	5,165	10	33407,85	3,0943	-	1096479,70	139,529	0,2701

Tabela D. 13 - Resultados obtidos para a experiência 7.

Experiência 7: MLT 0,075 µg/g, TPhP 0,05 µg/g, água 3 mL (0 -1 1)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
G (0 dias)	4,943	13	217471,65	23,494	0,0618	97347,80	19,397	0,0510
7 (7 dias)	5,422	10	-	-	-	194981,65	31,137	0,0574
22 (14 dias)	5,192	10	-	-	-	1069442,45	136,278	0,2625
37 (21 dias)	5,131	10	-	-	-	1223007,15	154,742	0,3016
52 (28 dias)	5,263	10	-	-	-	1113203,85	141,540	0,2689

Tabela D. 14 - Resultados obtidos para a experiência 8.

Experiência8: MLT 0,075 µg/g, TPhP 0,10 µg/g, água 3 mL (0 1 1)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
H (0 dias)	5,057	13	170336,90	18,270	0,0470	304297,90	44,280	0,1138
8 (7dias)	5,116	10	-	-	-	406148,25	56,526	0,1105
23 (14 dias)	5,442	10	-	-	-	1831996,60	227,965	0,4189
38 (21 dias)	5,378	10	-	-	-	1277087,45	161,245	0,2998
53 (28 dias)	5,29	10	-	-	-	1654909,65	206,673	0,3907

Tabela D. 15 - Resultados obtidos para a experiência 9.

Experiência 9: MLT 0,05 µg/g, TPhP 0,075 µg/g, água 0 mL (-1 0 -1)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
I (0 dias)	5,503	10	194041,45	20,898	0,0380	199249,15	31,650	0,0575
9 (7dias)	5,423	10	31116,80	2,840	-	129287,40	23,238	0,0429
24 (14 dias)	5,05	10	77541,45	7,986	0,0016	1464069,20	183,727	0,3638
39 (21 dias)	5,387	10	31405,10	2,872	-	1988577,45	246,792	0,4581
54 (28 dias)	5,367	10	21820,65	1,810	-	1429441,15	179,563	0,3346

Tabela D. 16 - Resultados obtidos para a experiência 10.

Experiência 10: MLT 0,1 µg/g, TPhP 0,075 µg/g, água 0 mL (1 0 -1)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
J (0 dias)	5,503	10	194041,45	25,035	0,0495	199249,15	27,193	0,0538
10 (7dias)	5,423	10	31116,80	2,840	-	129287,40	27,309	0,0534
25 (14 dias)	5,05	10	77541,45	7,986	0,0016	1464069,20	190,013	0,3737
40 (21 dias)	5,387	10	31405,10	2,872	-	1988577,45	18,989	0,0379
55 (28 dias)	5,367	10	21820,65	1,810	-	1429441,15	152,870	0,2976

Tabela D. 17 - Resultados obtidos para a experiência 11.

Experiência 11: MLT 0,05 µg/g, TPhP 0,075 µg/g, água 3 mL (-1 0 1)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
K (0 dias)	5,051	13	86455,70	8,974	0,0231	172515,25	28,435	0,0732
11 (7dias)	5,278	10	-	-	-	83300,35	17,708	0,0336
26 (14 dias)	5,018	10	-	-	-	1941624,30	241,146	0,4806
41 (21 dias)	5,971	10	-	-	-	960851,95	123,222	0,2064
56 (28 dias)	5,097	10	-	-	-	790908,80	102,789	0,2017

Tabela D. 18 - Resultados obtidos para a experiência 12.

Experiência 12: MLT 0,1 µg/g, TPhP 0,075 µg/g, água 3 mL (1 0 1)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
L (0 dias)	5,096	13	373354,35	40,771	0,1040	137415,95	24,215	0,0618
12 (7 dias)	5,052	10	34875,60	-	-	180441,35	29,388	0,0582
27 (14 dias)	5,135	10	0,00	-	-	1342425,75	169,101	0,3293
42 (21 dias)	5,012	10	0,00	-	-	1710622,10	213,371	0,4257
57 (28 dias)	5,041	10	0,00	-	-	1528118,90	191,428	0,3797

Tabela D. 19- Resultados obtidos para a experiência 13.

Experiência 13: MLT 0,075 µg/g, TPhP 0,075 µg/g, água 1,5 mL (0 0 0)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
M (0 dias)	4,901	11,5	80177,55	13,351	0,0304	115054,65	18,932	0,0431
13 (7 dias)	5,442	10	0	-	-	177670,05	21,166	0,0386
28 (14 dias)	5,284	10	0	-	-	1225104,75	166,462	0,3357
43 (21 dias)	5,419	10	0	-	-	1182927,55	119,164	0,2253
58 (28 dias)	4,94	10	0	-	-	1483353,75	181,018	0,3578

Tabela D. 20 - Resultados obtidos para a experiência 14.

Experiência 14: MLT 0,075 µg/g, TPhP 0,075 µg/g, água 1,5 mL (0 0 0)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
N (0 dias)	5,215	11,5	85734,25	8,894	0,0196	144128,30	25,022	0,0032
14 (7 dias)	5,381	10	-	-	-	199197,70	31,644	0,0059
29 (14 dias)	5,215	10	-	-	-	1481476,60	185,820	0,0356
44 (21 dias)	5,032	10	-	-	-	1983130,60	246,137	0,0489
59 (28 dias)	4,981	10	-	-	-	850344,50	109,935	0,0221

Tabela D. 21 - Resultados obtidos para a experiência 15.

Experiência 15: MLT 0,075 µg/g, TPhP 0,075 µg/g, água 1,5 mL (0 0 0)								
Amostra	massa solo (g)	V extração (mL)	Área m. MLT	[MLT] µg/L	[MLT] µg/g	Área m. TPhP	[TPhP] µg/L	[TPhP] µg/g
0 (0 dias)	4,901	11,5	80177,55	8,278	0,0194	115054,65	21,526	0,0505
15 (7 dias)	5,442	10	0	-	-	177670,05	29,055	0,0534
30 (14 dias)	5,284	10	0	-	-	1225104,75	154,995	0,2933
45 (21 dias)	5,419	10	0	-	-	1182927,55	149,923	0,2767
60 (28 dias)	4,94	10	0	-	-	1483353,75	186,045	0,3766