



ADITIVOS DE MICROPLÁSTICOS E OUTROS CONTAMINANTES EM AMBIENTES TERRESTRES: UM DESAFIO EMERGENTE

ARIANE NORONHA DE CARVALHO PEREIRA

Outubro de 2022

INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DO PORTO
MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA
RAMO QUALIDADE



ADITIVOS DE MICROPLÁSTICOS E OUTROS CONTAMINANTES EM AMBIENTES TERRESTRES: UM DESAFIO EMERGENTE

Autora

Ariane Noronha de Carvalho Pereira

Orientadoras

Prof. Cristina Delerue-Matos, Professora Coordenadora Principal

Virgínia Cruz Fernandes, Investigadora de Pós-doutoramento

Diana Rede, Estudante de Doutoramento

Grupo de Reação e Análises Químicas (GRAQ)

**Dissertação submetida como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia
Química**

Área de especialização - Qualidade

Outubro de 2022

AGRADECIMENTOS

Sinto-me muito feliz ao olhar para a minha trajetória e perceber que consegui vencer todos os obstáculos que surgiram pelo caminho. Agradeço a Deus por ter-me dado forças para continuar quando tudo parecia muito difícil.

Agradeço ao meu esposo Maicon e ao meu filho Samuel, por serem os meus maiores motivadores, sem vocês esta caminhada teria sido muito mais difícil. Muito obrigada por estarem comigo quando eu mais precisei, pois nunca soltaram da minha mão.

Agradeço à minha mãe Leontina que apesar de não estar mais fisicamente presente, contribuiu para que eu chegasse até aqui. Ao meu pai Ricardo por sempre acreditar em mim. À minha irmã Ariadne e a minha amiga Mayara, que apesar da distância, estão sempre muito presentes na minha vida.

Agradeço à Professora Doutora Cristina Delerue-Matos, por acreditar no meu potencial e ter permitido que eu desenvolvesse o trabalho no GRAQ. Obrigada por aceitar orientar a minha tese de mestrado e ter permitido a realização deste trabalho nas instalações do laboratório.

Agradeço à Doutora Virgínia Cruz Fernandes, pela sua orientação, atenção e apoio, por ser muito paciente e disponível durante todas as fases deste trabalho.

Agradeço à Mestre Diana Rede, por orientar-me nas atividades do laboratório e na escrita, sempre muito bem disposta e acessível.

Para finalizar, um muito obrigada as colegas do GRAQ e do ISEP pela ajuda e apoio demonstrado.

Comunicações

Este trabalho foi apresentado no dia 4 de maio de 2022, no encontro de investigação jovem IJUP - Investigação Jovem da U.Porto, neste contexto foram abordados os principais objetivos do trabalho, os resultados obtidos até aquele momento e as perspetiva futuras.

RESUMO

A presença de microplásticos, pesticidas orgânicos persistentes e aditivos de plásticos em ambientes aquáticos e terrestres representa uma ameaça para o meio ambiente, e também para a saúde humana. O principal objetivo deste trabalho foi desenvolver e otimizar um método de extração e análise para avaliar a presença de diferentes contaminantes em 21 amostras de solo que foram recolhidas em locais distintos no Parque Natural de Montesinho (PNM), situado na Região de Trás-os-Montes.

As famílias de contaminantes pesticidas piretróides (Pyr) e organoclorados (OCP), éteres difenílicos polibromados (PBDE) e policlorobifenilos (PCB) foram estudadas e analisadas por extração QuEChERS e cromatografia gasosa com detetor de captura de eletrões (GC-ECD).

Todas as amostras foram caracterizadas físico-quimicamente. Os parâmetros analisados foram pH, humidade e matéria orgânica. Os valores de pH variaram entre 3,88 e 6,79, o teor de humidade variou entre 3,12 e 28,02% e o teor de matéria orgânica variou entre 0,67 e 3,01%. Dos 37 contaminantes estudados, 34 apresentaram um bom resultado para a taxa de recuperação que variou entre 70 a 120%, para o efeito matriz o valor variou entre 1,6 e 10,1%. Os desvios-padrão relativos dos estudos de repetibilidade e reprodutibilidade foram $\leq 15\%$ e $r^2 > 0,99$ para 35 dos compostos. Os limites de quantificação foram de 2,15 a 11,87 $\mu\text{g kg}^{-1}$, e os limites de deteção foram de 0,64 a 3,56 $\mu\text{g kg}^{-1}$, dependendo do composto. Os contaminantes, aldrina, p,p'-DDE, λ -cialotrina, cipermetrina, BDE 154, BDE 100 e PCB 101 foram quantificados nas amostras de solo.

Os resultados obtidos mostraram que as técnicas analíticas utilizadas apresentaram bom desempenho na análise simultânea de diversos contaminantes de diferentes famílias, no entanto, carece de otimizações para seguimento em trabalhos futuros, nomeadamente, otimizações no processo de extração e limpeza, e análise dos extratos de solo por GC acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS). Uma vez que o PNM tem uma grande diversidade de fauna e flora, é muito importante que mais estudos como este sejam feitos de modo a controlar a presença de contaminantes no solo, uma vez que estes causam vários riscos para a saúde humana e também para toda a biota do parque.

Palavras-chave: Microplásticos; Aditivos; Pesticidas; GC-ECD; Solos.

ABSTRACT

The presence of microplastics, persistent organic pesticides and plastic additives in aquatic and terrestrial environments represents a threat to the environment, and also to human health. The main goal of this work was to develop and optimize extraction and analysis methods to evaluate the presence of different contaminants in 21 soil samples that were collected in different locations in the Montesinho Natural Park (PNM), located in the Trás-os-Montes Region.

The Pyrethroids (Pyr), Polybrominated diphenyl ethers (PBDE), Polychlorinated biphenyls (PCB) and Organochlorine pesticide (OCP) families of contaminants were studied and analysed by QuEChERS extraction and Gas Chromatography - Electron Capture Detector (GC-ECD).

All samples were physiochemically characterized. The parameters analysed were pH, moisture and organic matter.

The pH values varied between 3.88 and 6.79, the moisture content varied between 3.12 and 28.02% and the organic matter content varied between 0.67% and 3.01%. From the 37 contaminants studied, 34 presented a good result for the recovery that varied between 70 and 120%, for the matrix effect the value range between 1.6 and 10.1.

The relative standard deviations from repeatability and reproducibility studies were $\leq 15\%$ and $r^2 > 0,99$ for 35 compounds. The limits of quantification were from 2.15 to 11.87 $\mu\text{g kg}^{-1}$, and the limits of detection were from 0.64 to 3.56 $\mu\text{g kg}^{-1}$. The contaminants, aldrin, p,p'-DDE, cyhalothrin, cypermethrin, BDE 154, BDE 100, PCB 101 were quantified in the soil samples.

The results obtained showed that the analytical techniques used presented good performance in the simultaneous analysis of several contaminants from different families, however, it lacks optimizations for follow-up in future works, specifically, optimizations in the extraction and clean-up process, and analysis of the soil extracts by Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS). Since PNM has a great diversity of fauna and flora, more research like this must be done in order to control the presence of contaminants in the soil, since they cause several hazards to human health and also to all the park's biota.

Keywords: Microplastics; Additives; Pesticides; GC-ECD; Soil.

ÍNDICE

1. Estado da Arte	1
1.1 Definição de plástico e evolução histórica	1
1.2 Resíduos e Processos de Degradação	6
1.3 Microplásticos, aditivos e outros compostos químicos	7
1.3.1 Microplásticos	7
1.3.2 Compostos químicos associados a plásticos: aditivos e outros contaminantes.	11
1.3.3 Toxicidade dos MPs e outros contaminantes para organismos vivos	19
1.3.4 Métodos de Extração e Análise de MPs	21
1.3.5 Métodos de extração e análise de aditivos de plásticos e outros contaminantes	24
2. Objetivo	27
3. Materiais e Reagentes	29
3.1 Equipamentos	31
4. Descrição Experimental	33
4.1 Amostragem	33
4.2 Pré-tratamento da amostra	35
4.3 Caracterização das amostras de solo recolhidas no PNM.	36
4.4 Desenvolvimento e otimização do método de extração e análise	37
4.4.1 Extração dos contaminantes presentes no solo	38
4.4.2 Procedimento para validação do método	41
4.5 Identificação e quantificação dos contaminantes presentes nas amostras de solo.	43
4.5.1 Análise dos extratos de solos	45
5. Resultados e Discussão	47
5.1 Caracterização das amostras de solo recolhidas no PNM	47
5.2 Método de extração e análise de contaminantes nas amostras de solo	48

5.3 Análise das amostras de solo recolhidas no PNM.....	58
6. Conclusões e Trabalho Futuro.....	63
Bibliografia	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1- Diferentes tipos de EDCs.	14
Figura 1.2- Principais grupos de pesticidas orgânicos	15
Figura 1.3 - Principais interações de MPs com outros contaminantes.	18
Figura 4.1 - Ilustração dos principais pontos do Parque Natural de Montesinho.	34
Figura 4.2 - Preparação inicial das amostras.	35
Figura 4.3 - Etapa inicial do processo de extração.	38
Figura 4.4 - Segunda e a última etapa do processo de extração.	39
Figura 4.5 - GC-ECD utilizado durante todo o trabalho experimental.	40
Figura 5.1 - Cromatograma obtido para a solução de $50 \mu\text{g.L}^{-1}$	49
Figura 5.2 - Sobreposição dos cromatogramas da solução padrão de $25 \mu\text{g.L}^{-1}$ e do <i>pre</i> e <i>post-spike</i>	52
Figura 5.3 - Sobreposição dos cromatogramas da solução padrão de $25 \mu\text{g.L}^{-1}$ e do <i>pre</i> e <i>post-spike</i>	53
Figura 5.4 - Identificação do pico do contaminante p,p'-DDD. a) Cromatograma da amostra SQ5. b) Sobreposição dos cromatogramas SQ5, padrão de $25 \mu\text{g.L}^{-1}$ e padrão de $50 \mu\text{g.L}^{-1}$	58

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1 - Lista de alguns exemplos de termoplásticos ou termoendurecíveis	2
Tabela 1.2 - Códigos ASTM e Principais aplicações dos diferentes tipos de plásticos.....	3
Tabela 1.3- Exemplo de imagem de microscópio de alguns plásticos.....	5
Tabela 1.4 - Categoria de plásticos consoante o tamanho.....	8
Tabela 1.5 - Abundância de MPs em diferentes solos e diferentes locais.	9
Tabela 1.6 - Principais aditivos plásticos e os seus objetivos	12
Tabela 1.7 - Meia vida estimada para os POPs	13
Tabela 1.8 - Classe e classificação toxicológica.	15
Tabela 1.9 - Influência dos MPs na capacidade de sorção de contaminantes orgânicos no solo..	16
Tabela 1.10 - Pesticidas e impactos para a saúde humana.	21
Tabela 1.11 - Líquidos pesados utilizados para criar soluções de alta densidade.....	22
Tabela 1.12 - Principais técnicas de identificação e quantificação de MPs	23
Tabela 3.1 - Informações dos contaminantes utilizados.	29
Tabela 3.2 - Composição do kit de QuEChERS e clean up utilizado.	31
Tabela 4.1 - Identificação das amostras de solo.....	34
Tabela 4.2 - Parâmetros utilizados no equipamento GC-ECD.....	40
Tabela 4.3 - Volumes utilizados para o preparo dos padrões para calibração em matriz.	43
Tabela 4.4 - Volumes utilizados para o preparo dos padrões para a curva de calibração em solvente.	44
Tabela 5. 1 - Caracterização físico-química das amostras de solo.....	47
Tabela 5. 2-Tempos de retenção dos contaminantes analisados nas soluções padrão de 25 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$	49

Tabela 5. 3-Valores do MF calculado através da razão dos declives obtidos nas calibrações.....	50
Tabela 5. 4-Valores determinados para a taxa de recuperação	53
Tabela 5. 5-Resultados obtidos para a calibração em matriz.	56
Tabela 5. 6-Valores obtidos para a e b através da calibração em solvente.	57
Tabela 5. 7-Valores determinados para os contaminantes quantificados nas amostras de solo....	59
Tabela 5. 8-Contaminantes identificados e as suas principais funções.	60
Tabela A.1 - Estrutura química dos contaminantes utilizados.	76
Tabela B.1 - Dados da colheita das amostras de solo.	79

LISTA DE ABREVIATURAS

ASTM- *American Society for Testing and Materials*

ABS- Acrilonitrila Butadieno Estireno

ATR - Attenuated total reflection

BDE - Éteres Difenil bromados

CR - Policloropreno (Neoprene)

DDE - Dicloro-difenil-dicloroetileno

DDT - Dicloro-difenil-tricloroetano

DIF - Diflubenzuron

DIFE - Difenconazol

dSPE - Extração dispersiva em fase sólida

EDCs- Compostos de desregulação endócrina

EPA - Agência de Proteção Ambiental dos EUA

EPS, XPS- Espumas de poliestireno (expandido ou extrudido)

ETAR - Estações de tratamento de águas residuais

FTIR - Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

GC – Cromatografia gasosa

GC-ECD - Cromatógrafo gasoso com detetor de captura de eletrão

GC-MS - Cromatografia gasosa de espectrometria de massa

HBCDs - Hexabromociclododecanos

HCB – Hexaclorobenzeno

HCH - Hexaclorocicloexano

HDPE- Polietileno de alta densidade

HOCs- Químicos orgânicos hidrofóbicos

HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência

LDPE- Polietileno de baixa densidade

LOD - Limite de detecção

LOQ - Limite de quantificação

MaPs -Macroplásticos

MPs- Microplásticos

MPSS- Separador de Sedimentos Microplásticos

NAFTA- Tratado Norte Americano de Livre Comércio é um acordo entre o Canadá, o México e os Estados Unidos da América.

NIR- Espectroscopia de infravermelho próximo

OCP - Pesticidas Organoclorados

PFAAs - Ácidos perfluoroalquílicos

RMN- Ressonância magnética nuclear

SC - Amostra de solo composta

SH - Amostra de solo apiário

SQ - Amostra do solo queimado

PA- Poliamida (Nylon)

PBDEs- Éteres difenílicos polibromados

PC- Policarbonato

PCBs – Policlorobifenilos

PE - Polietileno

PET- Polietileno tereftalato

PMA- Poli (metilmetacrilato)

PNM - Parque Natural de Montesinho

POP- Poluentes orgânicos persistentes

PP- Polipropileno

p,p'-DDD – Diclorodifenildicloroetano

PSA - Amina secundária primária

PS- Poliestireno

PTFE- Politetrafluoroetileno

PU - Poliuretano

PVC- Policloreto de polivinil

Pyr – Pesticidas Piretroides

QuEChERS - (*Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged, and Safe*)

%RE - Percentagem de recuperação

RSD (%) - Desvio padrão relativo

tr - tempo de retenção

% MO – Teor de matéria orgânica

%W – Teor de humidade

μ-FTIR- Micro-espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

1. Estado da Arte

A ação do homem sobre o meio ambiente é uma ameaça para o planeta terra e é responsável pela presença generalizada de plásticos, pesticidas e outros contaminantes em ambientes aquáticos e terrestres, colocando em risco muitas espécies da fauna e da flora, e também a saúde humana.

1.1 Definição de plástico e evolução histórica

O termo "plástico" foi utilizado pela primeira vez em 1630 para descrever uma substância que poderia ser moldada ou modelada. A palavra plástico deriva do grego *plastikos*, que significa algo que é adequado para moldagem, e do latim *plasticus* que se refere à moldagem ou modelagem. Atualmente esta palavra é utilizada muitas vezes de forma genérica para descrever uma vasta gama de materiais, tais como, sacos de plástico, tubos, embalagens, entre outros. Estes materiais descritos possuem algo em comum, pois possuem compostos formados por cadeias de grandes moléculas iguais, denominadas macromoléculas. As macromoléculas são formadas por uma sequência de moléculas menores, os monómeros. Uma substância com este tipo de arranjo molecular é denominada como polímero. Cada cadeia de um polímero é considerada uma unidade única e chamamos cada uma delas de monómero. A reação de formação de polímeros é denominada polimerização [1].

Atualmente, os plásticos podem ser considerados os materiais mais utilizados e versáteis que existem, devido a este facto estes substituíram materiais tradicionais, tais como madeira, vidro e metal. A principal razão pela qual estes materiais são muito utilizados pode ser atribuída às suas propriedades, e também ao custo de produção que muitas vezes é mais baixo quando comparado com outros materiais [2]. A produção global dos plásticos aumentou muito ao longo da História. No ano de 1950, a produção global anual foi de 1,5 milhões de toneladas. Entretanto, em 1973 houve uma quebra na produção devido à crise do petróleo. Em 2009, após a crise financeira no ano de 2007, a produção global de materiais plásticos aumentou para 250 milhões de toneladas. Em 2014, a taxa de produção global atingiu 311 milhões de toneladas por ano [3].

Os materiais plásticos são classificados em termoendurecíveis/termofixos e termoplásticos. Os termoendurecíveis são plásticos que adquirem uma forma rígida após a sua produção, não sendo suscetíveis de serem moldados novamente. Devido a este facto, estes materiais não podem ser reciclados. Os termoplásticos, são os mais abundantes, podem ser aquecidos até liquefação e, em seguida, podem ser arrefecidos e remodelados, permitindo assim que muitos deles sejam reciclados [3]. Na Tabela 1.1, encontram-se alguns exemplos dos diferentes tipos de plásticos que fazem parte das duas categorias descritas acima [4].

Tabela 1.1 - Lista de alguns exemplos de termoplásticos ou termoendurecíveis

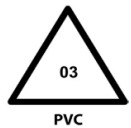
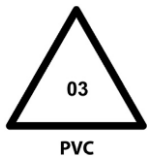
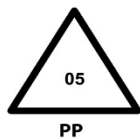
Termoplásticos	Termoendurecíveis
Polietileno	Poliéster insaturado
Polipropileno	Resinas epóxi
Policloreto de vinil	Resinas melamínicas
Politereftalato de etileno	Éster de vinil
Poliestireno	Silicone
Poliestireno expandido	Resinas fenólicas
Acrilonitrilo-butadieno-estireno	Resinas acrílicas
Poliamida	Ureia-formaldeído
Policarbonato	Poliuretano

Como resultado da sua natureza versátil, os plásticos são usados em muitas indústrias e possuem diversas aplicações. São comumente utilizados em embalagens, em produtos elétricos e eletrónicos, na construção civil, transporte aéreo e marítimo, na agricultura, em aplicações médicas e de saúde, e em equipamentos de desporto [3]. A escolha de um determinado tipo de plástico está relacionada com as suas propriedades físico-químicas, todavia a textura e a estética também são levadas em consideração. Estima-se que a nível mundial cerca de 30% do plástico produzido é consumido pelo setor das embalagens, 17% pelos setores da construção, 12% pelo setor dos transportes e 10% pelos setores dos bens institucionais e de consumo. A Ásia apresenta a maior produção global de plástico com 50,1%, sendo a China o maior produtor mundial com 29,4%, seguido da Europa com 18,5% e dos países signatários do Tratado Norte Americano de

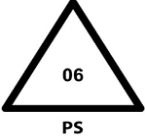
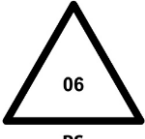
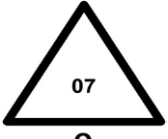
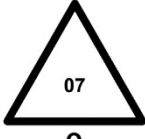
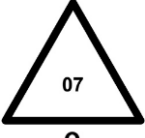
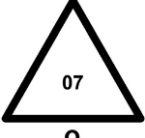
Livre Comércio (NAFTA)¹ com 17,7%. Segundo a *Plastic Europe* (2018), a indústria do plástico é responsável por criar aproximadamente 1,6 milhões de postos de trabalho, sendo considerada a 7ª maior indústria a nível europeu [4].

Para identificar os diferentes tipos de plásticos utiliza-se um sistema de códigos que é atualmente administrado pela *American Society for Testing and Materials* (ASTM). A tabela 1.2 apresenta os códigos designados e algumas das principais aplicações dos diferentes tipos de plásticos[3].

Tabela 1.2. Códigos ASTM e principais aplicações dos diferentes tipos de plásticos.

Código designado pela ASTM	Plástico	Abreviação	Aplicações
	Polietilenotereftalato	PET	Garrafas de bebida Filme e folhas Fibras Enchimento Recipientes
	Polietileno de alta densidade	HDPE	Garrafas de bebida Caixotes Baldes Tubos
	Policloreto de polivinil (rígido)	PVC	Contentores Tubos Calhas Molduras
	Policloreto de polivinil (plastificado)	PVC	Isolamento Mangueira Calçados Pisos Esteiras
	Polietileno de baixa densidade	LDPE	Embalagem Folhas de paletes Caixote de lixo Móveis para exterior
	Polipropileno	PP	Tampas Fita de embalagem Tubos Corda Componentes para automóveis Móveis de exterior

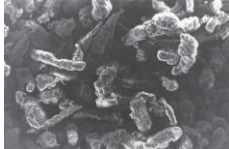
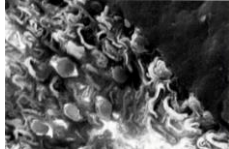
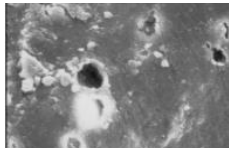
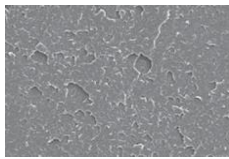
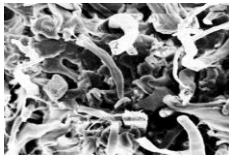
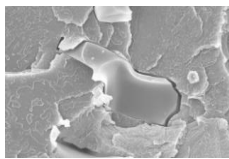
¹ Acordo entre Canadá, México e os Estados Unidos da América.

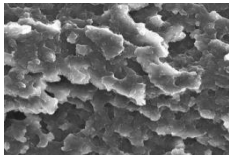
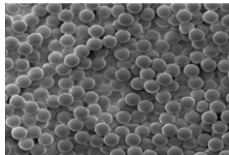
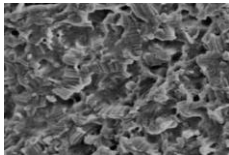
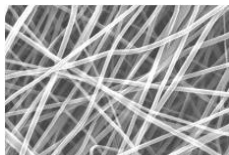
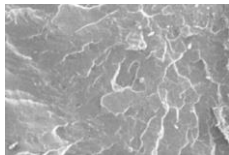
Continuação (Tabela 1.2)			
	Poliestireno (rígido)	PS	Talheres descartáveis Recipientes Produtos baixo custo que exige rigidez
	Espumas de poliestireno (expandido ou extrudido)	EPS, XPS	Embalagem descartável Espuma para embalagens Isolamento térmico
	Polycarbonato	PC	Lentes de semáforo Janelas de segurança Protetor ocular
	Polimetilmetacrilato	PMA	Montras Luz fluorescente Iluminação veicular Capas e lentes Lentes de contacto
	Politetrafluoroetileno	PTFE	Revestimentos antiaderentes Tecidos respiráveis Revestimentos Para automóveis
	Acrilonitrilo-butadieno-estireno	ABS	Equipamentos elétricos e eletrónicos Aplicações em automóveis Tubos
	Poliamida (Nylon)	PA	Fibras Rolamentos Aplicações em automóveis
	Policloropreno (Neoprene)	CR	Luvas e Calçados Roupa de mergulho Isolamento elétrico Balões meteorológicos

Diariamente, uma parte muito significativa dos plásticos da indústria, comércio e dos consumidores são libertados no ambiente. Uma vez no ambiente, os resíduos sofrem alterações que podem ser degradação mecânica (erosão, abrasão), química (foto-oxidação, temperatura, corrosão) e biológica (degradação por micro organismos). A fragmentação do plástico pode ocorrer por sucessivas quebras até ao nível molecular podendo levar à formação contínua de microplásticos (MPs) e até nano partículas de plástico (partículas com dimensão inferior a 1 μm)[5].

Na tabela 1.3 é possível verificar alguns exemplos de plásticos utilizados no quotidiano que deram origem a partículas de pequenas dimensões e cujas imagens de microscópio lhes estão associadas.

Tabela 1.3- Exemplo de imagem de microscópio de alguns plásticos.

PET		HDPE	
 Garrafa PET [6].	 PET depositados em aço carbono[7].	 Garrafas de produtos de limpeza[8].	 HDPE reciclado com Fibras de Piaçava [9].
PVC		LDPE	
 Tubos de PVC[10].	 PVC degradado coletado em aterro sanitário [11].	 Saco para embalar alimentos[12].	 LDPE 50 μm [13].
PP		PS	
 Tampas flip-top[14].	 PP reforçado com celulose de bagaço e palha de cana[15].	 Embalagens descartáveis[16].	 PS com celulose de bagaço de cana[17].
PC		PMA	

Continuação (Tabela 1.3)			
			
Cobertura externa [18].	PC/ABS com modificador de impacto[19].	Placa de acrílico[20].	PMA Linnea Safe®[21].
PTFE		ABS	
			
Frigideira antiaderente com revestimento PTFE[22].	Peças de PTFE moldadas por prensagem isostática[23].	Peças internas de automóvel[24].	Acrilonitrila-butadieno-estireno carregado com fibra de palmeira [25].
PA		CR	
			
Fio de Nylon[26].	PA orientada com nanotubos funcionalizado[27].	Roupa de mergulho [28].	Superfície de uma amostra de CR [29].

1.2 Resíduos e Processos de Degradação

Estima-se que em 2060 os resíduos plásticos globalmente produzidos poderão atingir as 270 milhões de toneladas. Calcula-se que existam 93 a 236 mil toneladas de MPs à deriva na superfície do oceano. Além disso, a produção anual de MPs em solos agrícolas varia de 44 a 300 mil toneladas na América do Norte e de 63 a 430 mil toneladas na Europa. Embora a maioria dos plásticos seja reciclável, a taxa de recuperação de plásticos é inferior a 5% [30]. Atualmente, a acumulação de plásticos cresce consideravelmente, devido à sua durabilidade, o descarte inadequado e ao seu uso generalizado. Os resíduos plásticos expostos ao ambiente natural podem

sofrer processos de intemperismo, como, por exemplo, a degradação, devido à ação coletiva de fatores físico-químicos e biológicos[5].

O processo de degradação pode ser definido como um processo que resulte na quebra de macromoléculas em monómeros. Este processo poderá ser biótico ou abiótico [2].

A degradação biótica está relacionada com a deterioração através de organismos biológicos que utilizam o carbono presente no plástico como fonte de energia. Todavia, para que um plástico seja capaz de se degradar neste processo, ele deverá passar por duas etapas, a degradação e a biodegradação. De início ocorre a degradação onde os fatores como, oxigénio, humidade, calor, luz ultravioleta ou enzimas microbianas quebram as ligações entre carbonos resultando na fragmentação do plástico. Posteriormente no processo de biodegradação, as cadeias mais curtas passam através das paredes das células microbianas. Deste modo, o carbono é utilizado como alimento e fonte de energia pelos micróbios, antes de ser convertida em biomassa, água, carbono, dióxido de carbono ou metano. Para um plástico biodegradável ser considerado adequado, o processo de degradação não deverá ter impacto negativo sobre o meio ambiente [2].

A degradação abiótica ocorre por fatores ambientais, tais como, força mecânica, temperatura, luz, gases e água. Existe uma grande variedade de plásticos duráveis e resistentes, infelizmente estas características são responsáveis pela persistência destes materiais no meio ambiente [2].

1.3 Microplásticos, aditivos e outros compostos químicos

1.3.1 Microplásticos

Nos últimos anos, as atividades antropogénicas são as principais responsáveis pela perda de biodiversidade e funções do ecossistema. A poluição provocada por plásticos pode gerar partículas de diferentes tamanhos. São comumente designadas de MPs os plásticos com dimensão menor que 5 mm [4]. Estes podem ser classificados em primários ou secundários. Os MPs primários são fabricados intencionalmente pela indústria para uso em cosméticos, produtos de higiene pessoal, esfoliantes e agentes de limpeza. Os MPs secundários são pedaços irregulares

de plástico que foram involuntariamente produzidos como resultado da degradação [31]. A tabela 1.4 apresenta 5 categorias de plásticos divididas pelo tamanho da partícula [3].

Tabela 1.4- Categoria de plásticos consoante o tamanho.

Categoria	Tamanho
Macroplástico	≥ 25 mm
Mesoplástico	< 25 –5 mm
Microplástico	< 5 –1 mm
Mini-Microplástico	< 1 mm–1 μ m
Nanoplástico	< 1 μ m

Os solos agrícolas possuem grandes depósitos de MPs, mas ainda são desconhecidos todos os impactos. Desta maneira é necessário que mais estudos sejam feitos sobre o tema [32]. A maioria do lixo plástico que chega aos oceanos foi produzido, usado e frequentemente descartado em terra, onde sofreu processos ambientais que afetaram o seu destino. Estima-se que a contaminação no solo possa ser de 4 a 23 vezes maior do que no oceano[5].

Existem diferentes maneiras dos MPs chegarem até ao solo, tais como, os filmes de plástico para cobertura de culturas agrícolas (*mulching*), resíduos de plástico incorretamente descartados, e água de irrigação. O *mulching* de plástico é conhecido por ser um método que auxilia no controlo de pragas, de humidade e de temperatura do solo; evita/reduz danos causados pelo clima; e impede o contato direto dos frutos com o solo. No entanto, esta prática pode contribuir substancialmente para a produção e acumulação de MPs em solos. Estima-se que mais de 12,9 milhões de hectares de solos agrícolas são cobertos com estes filmes em todo o mundo.[33].

O destino e a dispersão dos MPs no solo estão principalmente associados às características do solo, às práticas de cultivo e à biodiversidade do solo. Diversos fatores afetam a quantidade de deposição, retenção e transporte de MPs no solo, tais como, práticas de gestão de resíduos ineficientes, características físicas das partículas de plástico, condições climáticas e topografia [34].

A textura e a composição do solo são fatores importantes na degradação dos plásticos. Solos argilosos apresentaram maior quantidade de polímeros degradados em comparação com

solos arenosos, este facto poderá estar relacionado com a maior quantidade de matéria orgânica presente neste tipo de solo [34].

Relativamente aos fatores atmosféricos, as fibras têxteis sintéticas, o uso e desgaste de pneus de borracha sintética e a poeira urbana são as principais fontes de partículas de plástico. Tais partículas são dispersas pelo vento na forma de poluição atmosférica. Estima-se que entre 3 e 7% do material particulado na atmosfera é derivado do desgaste de pneus. Outras fontes de MPs em ambientes terrestres incluem resíduos domésticos, deposição em aterros e aplicação de produtos de higiene pessoal, tais como géis, sabonetes para as mãos, champô e produtos de limpeza facial [34].

As estações de tratamento de águas residuais (ETAR) também podem ser fontes de contaminação de MPs porque as águas residuais domésticas são ricas em microfibras de roupas e MPs de produtos cosméticos, entre outros. As lamas de depuração originadas nas ETAR, podem ser utilizadas em solos agrícolas como fertilizante, e este material poderá conter uma grande quantidade de MPs [35].

Os diferentes tipos de MPs encontrados no solo geralmente dependem das diferentes fontes de contaminação. A abundância de MPs em solos em diferentes locais é mostrada na tabela 1.5 [30].

Tabela1 5-Abundância de MPs em diferentes solos e diferentes locais.

Localização	Abundância
Lago Dian, Yunan, China	18.760 partículas.kg ⁻¹
Solo Agrícola, Loess Plateau, China	40–100 itens.kg ⁻¹
Solo de Pomar, Loess Plateau, China	120–320 itens.kg ⁻¹
Solo de Estufa, Loess Plateau, China	80–100 itens.kg ⁻¹
Solo de Praia, Shandong, China	1.3–14,712.5 itens.kg solo seco ⁻¹
Solo Agrícola, Xangai, China	Solo raso: 78,0 ± 12,9 itens.kg ⁻¹ Solo profundo: 62,50 ± 12,97 itens.kg ⁻¹
Solo de zona industrial, Sydney, Austrália	4191 mg.kg ⁻¹
Solos de Várzea, Suíça	5 mg.kg ⁻¹
Solo de Jardim Caseiro, Campeche, México	0,87 partículas.kg ⁻¹

A presença de MPs foi investigada nos solos de vinte campos de horticultura nos subúrbios de Xangai. Neste trabalho foram colhidas 3 amostras de solos a 0-3 cm de profundidade e 3-6 cm de profundidade. Os analitos foram extraídos usando métodos de extração por densidade e digestão com peróxido de hidrogénio (H_2O_2) (30%), e foi posteriormente feita a caracterização por micro-espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (μ -FTIR). Este estudo revelou contaminação das amostras por micro e mesoplásticos. Os principais MPs encontrados foram de PP e PE, na forma de fibras, fragmentos e filmes, com cor preta ou transparente. Além disso, os resultados revelaram que o solo superficial continha maiores concentrações e tamanhos maiores de MPs do que o solo profundo [36].

Recentemente um grupo de investigadores estudou os impactos das microfibras de plástico na presença ou ausência de diferentes quantidades de matéria orgânica através de uma experiência de incubação no solo. Avaliou-se a percentagem de agregados estáveis em água (WSA) e as atividades de quatro enzimas do solo (β -glicosidase, β -D-celulosidase, N-acetil-b-glucosaminidase e fosfatase). A adição de matéria orgânica aumentou a WSA e a atividade enzimática. As fibras microplásticas sem adição de matéria orgânica não tiveram efeito sobre a WSA e as atividades enzimáticas no solo, mas com adição de matéria orgânica diminuíram as atividades enzimáticas. Estes resultados sugerem riscos para a estabilidade do solo, associados à presença de MPs [37].

Zhao, Lozano e Rilling investigaram se características, tais como a forma e o tipo de polímero, podem afetar os impactos causados pela presença de MPs no solo. Foram avaliados doze tipos de MPs secundários em quatro formas, nomeadamente, fibras, filmes, espumas e fragmentos; e seis tipos de polímeros, PA, PC, LDPE, PET, PP, PS e PU. Os MPs foram misturados num solo arenoso (0,4% p/p) e armazenados a 25 °C por 31 dias. Os resultados mostraram que os MPs podem afetar o pH do solo, e as atividades enzimáticas, dependendo da forma e do tipo de polímero[38].

1.3.2 Compostos químicos associados a plásticos: aditivos e outros contaminantes.

Diversos poluentes, tais como, metais pesados, poluentes orgânicos, nomeadamente pesticidas, podem ser libertados em matrizes ambientais por processos de volatilização, lixiviação e abrasão, representando uma ameaça potencial para o ambiente [39]. Em ambientes terrestres, os MPs estão frequentemente presentes com outros contaminantes, resultando em efeitos combinados nos organismos do solo [40]. Além disso, os MPs podem adsorver e/ou absorver contaminantes ambientais com libertação subsequente para o ambiente [41], e também podem aumentar a biodisponibilidade e toxicidade destes poluentes no solo [42]. Plásticos que possuem aditivos quando chegam ao solo podem libertar estes compostos. Esta libertação relaciona-se com o tamanho do poro do polímero, com o tamanho da molécula do aditivo, com as propriedades físico-químicas dos aditivos e dos meios circundantes. Os aditivos alteram a estrutura dos polímeros e consequentemente, a capacidade de adsorção também é afetada [43].

1.3.2.1 Aditivos de plásticos

Para otimizar as suas propriedades, os materiais plásticos possuem diferentes produtos químicos, estes aditivos são utilizados para aumentar a resistência aos fatores ambientais e biológicos, aumentar estabilidade e durabilidade e também para facilitar os processos de fabrico. A tabela 1.6 apresenta alguns dos aditivos mais comuns e seus objetivos[2].

Existem muitos outros contaminantes, como poluentes orgânicos e metais pesados no meio ambiente com os quais os MPs interagem por adsorção/dessorção [30]. Então, apesar de os MPs serem muitas vezes definidos como partículas de polímeros, frequentemente eles misturam-se com metais, dioxinas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, o que os torna possíveis vetores de poluentes. Sendo assim, a toxicidade desses produtos químicos associados aos MPs deve ser avaliada cuidadosamente [44].

Tabela 1. 6- Principais aditivos plásticos e os seus objetivos.

Aditivo	Exemplo	Objetivo
Plastificantes	Bis (2-etilhexil) ftalato	Flexibilidade
Reforço	Fibras de carbono	Resistência a tração/flexão
Modificadores de impacto	Fibra de vidro	Resistência ao impacto
Corante	Dióxido de titânio	Pigmentos
Enchimento	Carbonato de cálcio	Aumentar a massa e/ou volume
Anti-estáticos	Ésteres etoxilados	Dissipar carga estática acumulada
Estabilizador de calor	Pó de metal	Dissipar calor
Estabilizador Oxidativo	Benzofuranonas	Proteção da exposição ao ar
Modificador de superfície	Estearatos de metal	Confere melhor acabamento
Retardador de chama	Trióxido de antimônio	Supressor de chama e fumo
Estabilizador de luz	Benzofenona	Absorção da radiação UV
Protetor biológico	Iões de prata	Proteção contra microrganismos e fungos
Agentes de expansão químicos	Azodicarbonamida	Libertar gás para expandir plásticos
Ativador de agente de expansão químico	Compostos de ureia e zinco	Ajustar a temperatura de decomposição do agente de expansão
Lubrificantes e deslizantes	Erucamida	Aumentar a fluidez e reduzir a dissipação de calor e viscosidade

Como já foi mencionado anteriormente, durante a produção e processamento de plásticos diversos produtos químicos e aditivos são utilizados para melhorar as suas propriedades. Quando os plásticos chegam ao meio ambiente, esses produtos químicos e aditivos também passam para o solo através de dessorção e degradação fotoquímica, causando efeitos negativos. Sendo assim, a toxicidade desses produtos químicos associados aos MPs deve ser avaliada cuidadosamente [34].

1.3.2.2 Pesticidas e Poluentes orgânicos persistentes

Os poluentes orgânicos persistentes (POPs) são compostos orgânicos com propriedades tóxicas, resistentes à decomposição, que se bioacumulam e podem ser transportados por ar, água e através de espécies migratórias. Possuem uma meia-vida de mais de 180 dias para substâncias no solo e sedimentos, 60 dias na água, e mais de 2 dias para substâncias no ar. Devido a estas características, os POPs são os poluentes de alto risco à saúde humana e ao ambiente. Na tabela 1.7 é possível verificar o tempo de meia-vida estimada para alguns tipos de POPs[45].

Tabela 1.7 - Meia vida estimada para os POPs

Pops	Tempo de meia vida (dias)			
	Ar	Água	Solo	Sedimentos
Aldrina	21	710	710	2300
Clordano	23	710	710	2300
DDT (dicloro-difenil-tricloroetano)	7,1	230	710	2300
Dieldrin	2,3	710	710	2300
HCB (hexaclorobenzeno)	710	2300	2300	2300

Relativamente às suas origens, os POPs podem ser de origem natural (dioxinas e dibenzofuranos, provenientes de atividade vulcânica e incêndios), de origem antropogénica, ou produzidos de forma não intencional (subprodutos de processos industriais), ou podem ser resultantes da combustão de certos materiais[45].

Os bifenilos policlorados (PCBs) são um grupo de hidrocarbonetos aromáticos clorados com estrutura do anel difenílico, com pelo menos um átomo de hidrogénio substituído por um átomo de cloro; existem 209 isómeros de PCBs. Os compostos bromados (BFRs) são POPs que apresentam na sua estrutura anéis aromáticos com substituintes de bromo, estes compostos possuem propriedades retardadoras de chama e são utilizados para materiais incombustíveis[45]. Em 2001, 12 substâncias químicas, incluindo PCBs, DDT, e HCB foram definidas como POPs na Convenção de Estocolmo. Desde então, alguns éteres difenílicos polibromados (PBDEs), hexabromociclododecanos (HBCDs), e ácidos perfluoroalquílicos (PFAAs) foram acrescentados à lista de POPs entre 2009 e 2020 [46].

Os produtos químicos desreguladores endócrinos (EDCs) são substâncias endógenas que interferem com o funcionamento normal do sistema endócrino por imitação ou bloqueio a ação

normal das hormonas nos seus recetores. Existem diferentes substâncias EDCs, como pode ser visto na figura 1.1[47]. Alguns desses compostos são os OCP, BFR e PCBs [48].

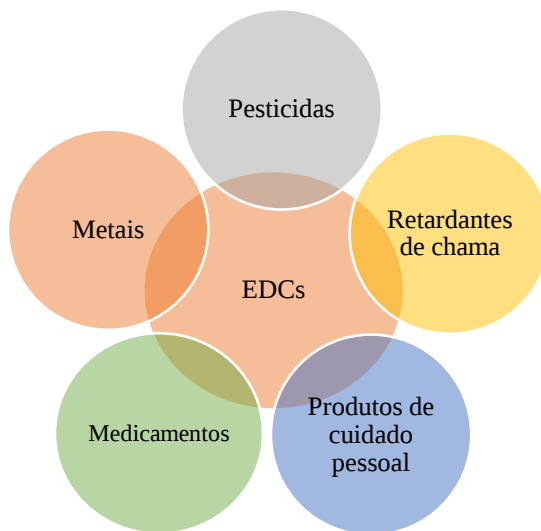


Figura 1.1- Diferentes tipos de EDCs.

A propagação de poluentes ambientais, tais como POPs sendo alguns deles considerados EDCs, tornou-se uma ameaça significativa para o ambiente e saúde humana. Alguns destes poluentes podem produzir outros poluentes tóxicos durante os processos metabólicos, o que pode ser um problema ainda mais grave para a saúde humana [39].

Pesticidas são substâncias ou mistura de substâncias que são utilizadas na prevenção, no controlo e destruição de pragas, infestantes, doenças ou animais indesejáveis que possam interferir na produção, transporte, armazenamento, distribuição e transformação de géneros alimentícios, produtos agrícolas, ou alimentos para animais[49].

Os pesticidas, na sua essência, são considerados como substâncias tóxicas devido aos perigos que constituem para o ser humano. Geralmente, o risco está diretamente relacionado com o potencial tóxico da substância ativa, o seu grau de contaminação, o tempo de duração da exposição e a via de exposição. As classificações toxicológicas fornecem informações sobre a toxicidade aguda dos pesticidas. Esta classificação é obtida com base nos resultados de ensaios laboratoriais que tentam estabelecer a dosagem letal do pesticida em 50 % dos animais testados (DL₅₀), consoante a via de administração. Além disso, a toxicidade aguda pode ainda ser expressa através da dose de ingestão diária admissível, que corresponde à dose que é administrada uma única vez num dia, ou distribuída por várias doses ao longo de 24 horas [50].

Tendo em conta o seu grau de toxicidade aguda, os pesticidas podem ser divididos em cinco classes, a tabela 1.8 apresenta a classificação toxicológica dos pesticidas consoante o LD₅₀[50].

Tabela1. 8-Classe e classificação toxicológica.

Classe	Classificação toxicológica dos pesticidas	LD ₅₀ rato (mg/kg peso corporal)	
		Oral	Cutânea
Ia	Extremamente tóxico	< 5	< 50
Ib	Altamente tóxico	5–50	50–200
II	Moderadamente tóxico	50–2000	200–2000
III	Pouco tóxico	≥ 2001	
U	Pouco provável de causar intoxicação aguda	≥ 5000	

Os pesticidas podem ser classificados segundo as suas propriedades químicas e físicas, as principais classes de pesticidas orgânicos estão apresentadas na figura 1.2[51].

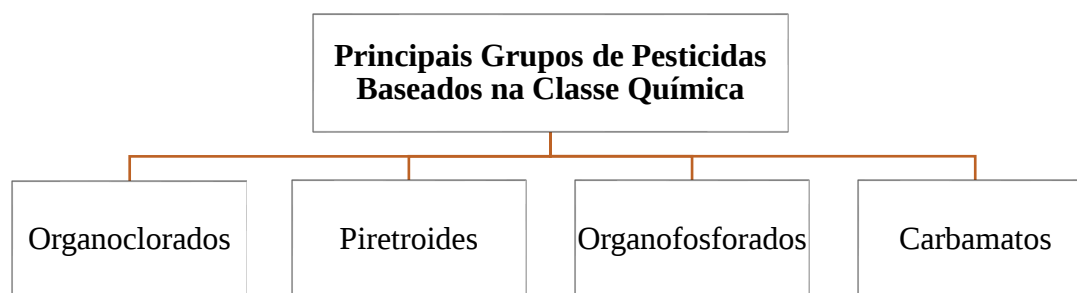


Figura 1.2- Principais grupos de pesticidas orgânicos

Os átomos de cloro presentes na estrutura química dos Organoclorados (OCPs) torna-os tóxicos e resistentes à degradação na natureza, e de difícil remoção do solo ou água., por serem lipofílicos estes compostos possuem o potencial de acumular-se em tecido adiposo. O tempo de meia-vida para alguns OCPs, tais como, o DDT, DDE e DDD é de 15 anos, enquanto para a aldrina é de 365 dias. Os pesticidas organofosforados são ésteres derivados do ácido fosfórico, a exposição a estes compostos poderá causar problemas neurológicos. Os carbamatos, são ésteres derivados do ácido carbâmico. Os Pyr são derivados sintéticos da piretrina, que provém de crisântemos (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). No entanto, as piretrinas são instáveis à luz, pelo que os químicos modificaram as suas estruturas para produzir pesticidas mais potentes e estáveis[51].

Nos anos 40, os OCPs foram lançados pela primeira vez e amplamente utilizados para o controle de pragas no campo da agricultura até que dados sobre a sua persistência e toxicidade levaram a restrições governamentais[52].

Ainda no início dos anos 2000, a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA) começou a eliminar gradualmente alguns OCPs devido à sua toxicidade. Como resultado ocorreu um aumento do uso de pesticidas Pyr. Os Pyr são utilizados na agricultura, lares, escolas, parques, apartamentos e locais de trabalho para exterminar pragas, também são utilizados no tratamento de piolhos, e em animais de estimação para controle de pulgas e carraças. Os Pyr são considerados menos tóxicos para a saúde humana quando comparados com os OCPs [53].

Devido à pequena dimensão, à grande área superficial e por serem hidrofóbicos, os MPs são portadores ideais de substâncias hidrofóbicas, tais como os pesticidas e outros poluentes [54]. A adsorção de compostos orgânicos em MPs irá depender das características físico-químicas do polímero, das características dos compostos orgânicos e também de fatores ambientais.

A presença de MPs no solo pode afetar a capacidade de sorção de diferentes contaminantes, como pode ser visto na tabela 1.9 [55,56].

Tabela 1.9 -Influência dos MPs na capacidade de sorção de contaminantes orgânicos no solo.

Tipo de MPs	Quantidade de MPs (%)	Poluente orgânico	Capacidade de sorção sem MPs (mg g⁻¹)	Capacidade de sorção com MPs (mg g⁻¹)
PE	50%	Triclosano	1,13	2,18
PS				2,83
PE	10%	Fenantreno	30	62,3
PS				52,8
PP				43,1

Foi estudado o processo de adsorção dos pesticidas, carbendazim, metrifonato, diclorvós, diflubenzurão (DIF), malatião e difenoconazol (DIFE), em MPs de PE. Como resultado, todos estes cinco pesticidas foram adsorvidos principalmente através de interações hidrofóbicas,

especialmente para DIF e DIFE. Estes resultados mostraram que os pesticidas e os MPs podem causar um risco combinado de poluição ambiental[54].

1.3.2.3 Interações químicas entre MPs, aditivos de plásticos e/ou outros contaminantes

Recentemente, alguns estudos relataram que os MPs podem adsorver e associar-se com poluentes orgânicos, tornando as concentrações de poluentes orgânicos em MPs centenas ou milhares de vezes maiores do que as concentrações de poluentes orgânicos no ambiente. Os mecanismos de adsorção entre MPs e poluentes orgânicos são mais complicados do que os mecanismos de adsorção entre MPs e metais pesados, devido a hidrofobicidade e aos grupos funcionais presentes nos compostos orgânicos [30].

Devido à sua natureza hidrofóbica, os MPs tendem a absorver PBDE, compostos de EDC, produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais, junto com outros POPs em meio aquoso, como, por exemplo, a aldrina e o HCB [57]. Esses poluentes podem eventualmente entrar na cadeia alimentar de um ecossistema se os MPs forem ingeridos por algum animal [58].

A capacidade de um produto químico se ligar a MPs geralmente expressa-se como o $\log K_{ow}$. Uma vez que os MPs são partículas hidrofóbicas, quanto maior o $\log K_{ow}$ maior probabilidade do poluente se ligar aos MPs. Um produto químico com um $\log K_{ow}$ alto terá maior solubilidade em água do que substâncias com menor $\log K_{ow}$, isto significa que este produto se ligará preferencialmente a partículas orgânicas em vez de permanecer na solução [59].

O processo de sorção consiste na transferência de produtos químicos de uma fase fluida, como o ar ou a água, até uma fase sólida. O conceito de sorção engloba tanto a adsorção como a absorção. Durante a absorção, as moléculas do contaminante químico penetram e ficam incrustadas na matriz da fase sólida, enquanto as moléculas do contaminante químico permanecem na interface entre o fluido e as fases sólidas num processo de adsorção [43].

A adsorção dos poluentes aos MPs relaciona-se com as características dos compostos, tais como o tamanho, as propriedades (e.g. hidrofobicidade) e os fatores ambientais (e.g. pH e matéria

orgânica). De forma geral, quanto menor o tamanho da partícula, maior a adsorção dos contaminantes orgânicos nos MPs [60].

A figura 1.3 apresenta os seis principais tipos de interação entre os MPs e diferentes contaminantes, a interação através dos poros, forças de Van der Waals, ligações por pontes de hidrogénio, interações π - π , interações eletrostáticas e interações hidrofóbicas[61]. Estas interações dependem das características físico-químicas do sorbente (MPs) e do sorbato (contaminante).

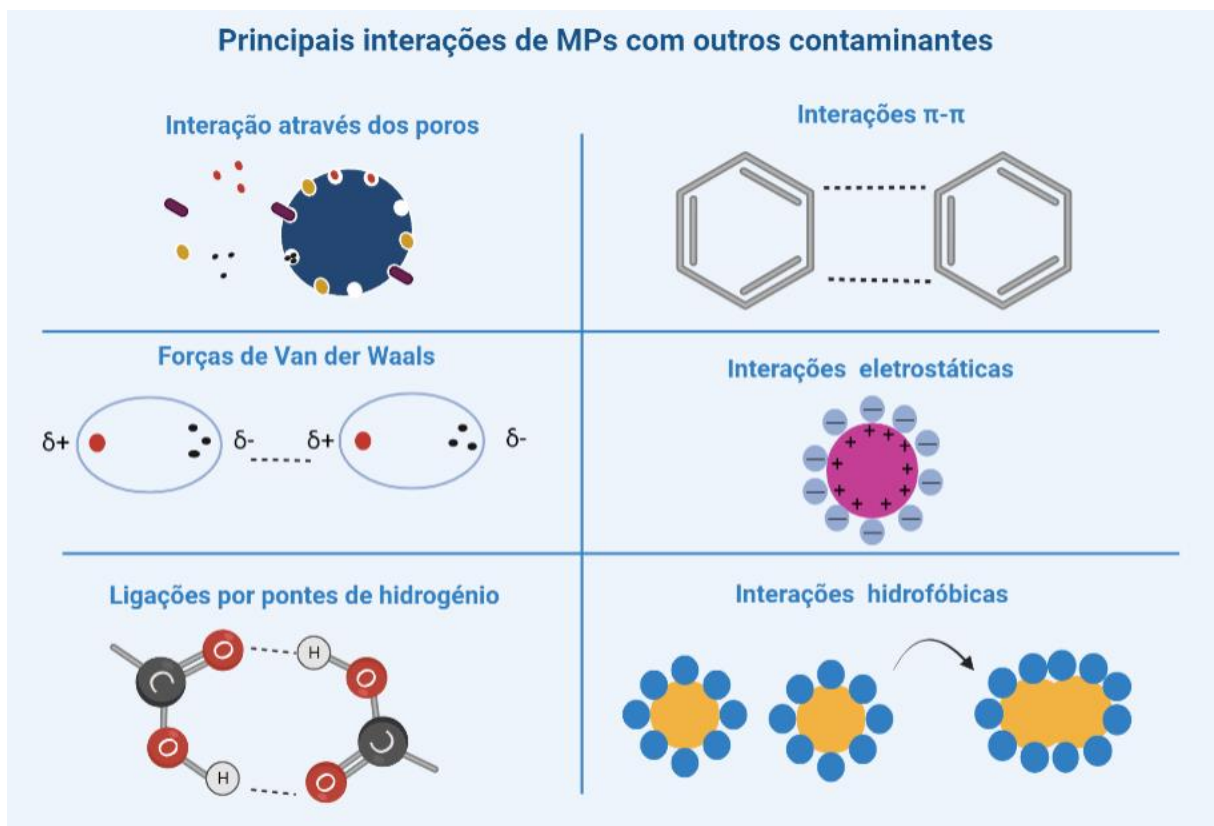


Figura 1.3 - Principais interações de MPs com outros contaminantes.

Interações hidrofóbicas são aquelas onde substâncias apolares se juntam, neste caso os contaminantes hidrofóbicos adsorvem à superfície dos MPs. Nas interações eletrostáticas, moléculas com cargas opostas atraem-se ou moléculas com cargas iguais repelem-se. A interação nos poros ocorre quando contaminantes entram e ficam presos nos poros da superfície dos MPs. As forças de Van der Waals são a soma de todas as forças de atração ou repulsão molecular, que não sejam provenientes das ligações covalentes ou da interação eletrostática de iões. Os polímeros aromáticos relacionam-se através das interações π - π . A ligação de hidrogénio pode estar envolvida

na adsorção de contaminantes químicos quando estão presentes grupos de doadores e aceptadores de hidrogénio [61].

1.3.3 Toxicidade dos MPs e outros contaminantes para organismos vivos

Existem muitos estudos relativos à presença de MPs no meio ambiente, todavia, é necessário entender o quão tóxicos estes poderão ser para os organismos vivos presentes no ecossistema. Existem muitos estudos sobre os efeitos MPs em organismos aquáticos, no entanto, os efeitos em ecossistemas terrestres têm recebido menos atenção [44].

Alguns organismos terrestres como as minhocas que são animais extremamente importantes para manutenção de um solo saudável, podem também ser considerados bioindicadores de qualidade ambiental [31]. Chen *et al.* investigaram os efeitos do LDPE em minhocas (*Eisenia fetida*). Os resultados mostraram que as minhocas foram afetadas pela presença de LDPE com concentração de 1,5 g/kg após a exposição de 28 dias. Neste estudo, verificou-se que as partículas de MPs de LDPE podem induzir o stresse oxidativo, ou seja, podem ter efeitos bioquímicos adversos sobre estes animais [44].

Uma vez que o potencial para associação de produtos químicos orgânicos hidrofóbicos (HOCs) com MPs foi reconhecido, aumentaram-se os estudos sobre o tema para verificar se essa associação tem algum efeito sobre a biodisponibilidade destes produtos e, portanto, a sua toxicidade para os organismos vivos [59].

Lei *et al.* (2018), estudaram um pequeno subconjunto de invertebrados, nomeadamente, isópoda, nematoda, collembola e oligochaeta para examinar os efeitos dos MPs sobre o crescimento, sobrevivência, metabolismo, microbioma intestinal, padrão de alimentação e reação inflamatória de animais do solo. Estas espécies terrestres foram expostas a diferentes tamanhos de partículas de PS (0,1, 0,5, 1,0, 2,0 e 5,0 mm) por 72 h. Como resultado, os invertebrados do filo nematoda demonstrou menor comprimento do corpo, baixa taxa de sobrevivência e menor longevidade, quando exposto a MP de 1,0 mm. Esses efeitos foram atribuídos à absorção imediata e alta acumulação de partículas de 1,0 mm no organismo dos nematoda. Tendo em conta o que foi

verificado, a concentração de MPs foi considerada como uma variável significativa e que afeta estes organismos [62].

Lwanga *et al.* (2017), investigaram a poluição por plásticos em jardins caseiros mexicanos, estes jardins apresentavam elevado índice de poluição devido à má gestão do lixo doméstico pelos proprietários destas hortas. O objetivo deste estudo foi verificar a transferência de resíduos plásticos de LDPE através da cadeia alimentar, examinando fezes e moelas de galinhas que viviam naquele ambiente. Verificou-se que as galinhas ingeriram principalmente macroplásticos (MaPs) presentes na superfície do solo, uma vez que foram encontrados detritos plásticos com tamanho maior que 5 mm nas fezes, no papo e nas moelas. Todavia, foram também encontrados MPs nas fezes e na moela, sendo assim, os autores do trabalho assumiram que os MPs podem resultar da transformação de MaPs em MPs durante a passagem pelo tubo digestivo. Este estudo permitiu concluir que o consumo da moela de frango poderá levar à acumulação de 840 partículas plásticas/pessoa/ano, pois no México o consumo de frango per capita é de cerca de 15 frangos por pessoa por ano [63].

A ingestão de MPs por humanos poderá ocorrer através de alimentos e água contaminados, após serem ingeridos, a mistura de MPs e contaminantes passará pelo esófago, estômago, e chegará ao intestino onde poderá influenciar a microbiota. Parte destes contaminantes ambientais adsorvidos nos MPs serão desorvidos e libertados no trato gastrointestinal, a outra parte dos contaminantes que não tenham sido desorvidos será excretada nas fezes [64].

Jing *et al* (2022), utilizaram células epiteliais gástricas como um modelo representativo de célula humana, para estudar o efeito de MPs de PS no organismo humano através da ingestão de água potável tratada com cloro. Através deste estudo foi possível demonstrar que a desinfecção com cloro pode alterar as características físicas e químicas dos MPs de PS, e agravar a citotoxicidade nas células epiteliais gástricas, causar alteração morfológica e danos na membrana celular, o que pode representar um risco para a saúde humana [65].

Além dos riscos associados a ingestão dos MPs, misturas contendo contaminantes adsorvidos nos MPs também podem ser ingeridas por organismos, assim os contaminantes adsorvidos podem ser libertos e bioacumulados na cadeia alimentar. Além disso, esta mistura poderá aumentar a biodisponibilidade e os efeitos negativos dos contaminantes[58]. A contaminação de organismos vivos poderá ocorrer através de dois mecanismos principais,

biomagnificação e bioconcentração. Biomagnificação é um fenômeno que ocorre quando há acumulação progressiva de substâncias, de um nível trófico para outro, ao longo da cadeia alimentar. Bioconcentração ocorre quando as substâncias são absorvidas pelos organismos a partir do meio circundante [51].

Estudos recentes mostram a capacidade que organismos filtradores e zooplâncton têm para ingerir partículas de plástico que variam de 1,7 a 30,6 µm. Os produtos tóxicos presentes nestas partículas podem ser transferidos ao longo da cadeia alimentar [58].

A tabela 1.10 apresenta alguns dos riscos para a saúde humana associados a pesticidas [66].

Tabela 1.10 - Pesticidas e impactos para a saúde humana.

Pesticida	Riscos para a saúde
HCH	Neurotóxico
HCB	Carcinógeno
DDT	Agente mutagênico EDC
Aldrina	Neurotóxico Carcinógeno
Dieldrina	Agente mutagênico Neurotóxico
Endosulfão	Agente mutagênico Neurotóxico

1.3.4 Métodos de Extração e Análise de MPs

Existem técnicas que são comumente utilizadas em laboratório para a separação de MPs de matéria orgânica e inorgânica, tais como, triagem visual, filtragem, peneiração, elutriação, flotação e digestão química [67].

A separação visual é uma etapa muito importante na análise de MPs, tanto em amostras de ambiente aquático quanto de ambiente terrestre. Esta etapa é necessária para a remoção de detritos, incluindo fragmentos orgânicos naturais, como algas marinhas, madeira, fragmentos de conchas, metais, tintas e resíduos de óleo. A detecção visual pode ser realizada a olho nu para MPs com tamanhos compreendidos entre <5 e 1 mm ou com o uso de microscopia ótica, ou microscopia de

fluorescência de alta resolução no caso de MPs com tamanho de <1 mm a $1\ \mu\text{m}$. Os potenciais MPs são detetados de acordo com o seu tamanho, forma, textura, cor e ausência de estruturas biológicas. Devido à acumulação de material orgânico na sua superfície ou como resultado da sua transparência, existe sempre o risco de que esta deteção não seja uma representação fidedigna. Este risco pode ser eliminado pelo uso subsequente de espectroscopia Raman para confirmação que as partículas seleccionadas são realmente MPs[67].

A peneiração de amostras é também um processo de separação aplicado na pesquisa de MPs. O peneiro captura fisicamente os MPs e permite, no caso de amostras com água, que a água seja separada da amostra. Em alguns casos devem ser utilizados peneiros de diferentes tamanhos. Para partículas com diâmetro muito reduzido aconselha-se a separação por densidade[67].

A flotação é uma técnica de separação por densidades que se baseia no uso de um líquido com uma densidade conhecida que permita remover os MPs de uma amostra. Esta técnica é muito utilizada e permite que MPs de diferentes densidades sejam extraídos. Após a mistura da amostra com os líquidos deve-se proceder à agitação, e posteriormente à filtração do sobrenadante. O filtro deve ser lavado com água destilada, e após a secagem, poderá ser utilizado um microscópio estereoscópico binocular para separar os potenciais MPs com uma pinça. Neste contexto a solução de NaCl ($1,202\ \text{g/cm}^3$) é a mais utilizada, entretanto, para a separação de MPs densos esta solução é inadequada. Uma forma de conseguir incluir MPs densos na quantificação de MPs é a utilização de líquidos pesados para criar soluções de alta densidade. A adição de água destilada a líquidos pesados pode produzir uma solução com a densidade pretendida. A Tabela 1.11 apresenta alguns líquidos pesados que foram usados com sucesso para criar soluções de alta densidade [67].

Tabela 1.11 - Líquidos pesados utilizados para criar soluções de alta densidade.

Solução Salina	Densidade (g/cm^3)
Politungstato de sódio	1.4
Cloreto de zinco	1.5–1.7
Metatungstato de lítio	1.6
Iodeto de sódio	1.8

É importante referir que estes líquidos pesados ajudam na melhor recuperação dos MPs, mas geralmente são muito caros e alguns são considerados tóxico para o meio ambiente. Tendo em conta este facto, muitas vezes não são utilizados em estudos de grande escala. Outros métodos

têm sido desenvolvidos para reduzir o volume de uma amostra, introduzindo uma etapa de redução antes da separação de densidade, denominada elutriação ou flotação de espuma. A elutriação é um processo no qual as partículas são separadas com base no seu tamanho, forma e densidade usando uma corrente de gás ou líquido fluindo numa direção oposta à direção da sedimentação. A flotação por espuma é um processo que separa seletivamente materiais que possuem diferentes interações com a água, sendo assim, as partículas hidrofóbicas aderem a bolhas de ar e são arrastadas para a superfície, os materiais hidrofílicos permanecem na fase líquida[67].

Uma nova técnica baseada na separação por densidade que utiliza uma solução de cloreto de zinco, é conhecida como *MicroPlastic Sediment Separator* (MPSS). Uma das suas principais vantagens é que apenas uma única etapa de extração é necessária, enquanto no método tradicional é necessário repetir várias vezes o procedimento. Entretanto, a desvantagem é que o MPSS é altamente especializado e não está amplamente disponível no momento [67].

Após a separação e extração dos MPs da amostra, é necessária a identificação e quantificação. A Tabela 1.12 resume a maioria das técnicas analíticas utilizadas [68].

Tabela1. 12 - Principais técnicas de identificação e quantificação de MPs.

Método	Tamanho da partícula
Microscópio	Até a faixa de micron (μm)
FTIR	Partícula >500 nm pode ser analisada por ATR-FTIR, partícula < 20 nm pode ser analisada por FTIR acoplado à microscopia.
Espectroscopia Raman	>1 μm
Espectrometria de massa	Não afetado pelo tamanho da partícula
Espectroscopia NIR	Não afetado pelo tamanho da partícula
Ressonância magnética nuclear (RMN)	Não afetado pelo tamanho da partícula
Imagem hiperespectral	Não afetado pelo tamanho da partícula

1.3.5 Métodos de extração e análise de aditivos de plásticos e outros contaminantes

A extração de contaminantes a partir de amostras de solo é uma etapa crítica, uma vez que as amostras de solo possuem diferentes tipos de compostos e as concentrações dos analitos de interesse são na maioria das vezes baixa. As análises de pesticidas e outros contaminantes em solos tradicionais são, extração de *soxhlet*, extração de solventes ultrassônicos, extração de líquidos pressurizados, microextração de gota única, extração assistida por micro-ondas, ou extração de fluido supercrítico. Por norma, posteriormente realiza-se uma etapa de limpeza com SPE ou microextração de fase sólida [69].

A técnica de extração, QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged, and Safe*) tem sido amplamente utilizada para a extração de resíduos de pesticidas e outros contaminantes em amostras de solo[70]. Esta técnica permite substituir muitas etapas analíticas complicadas habitualmente utilizadas nos métodos tradicionais, e fornece resultados de alta qualidade com um elevado rendimento da amostra, baixo consumo de solvente, fácil execução e baixo custo de análise por amostra. Este método tem sido amplamente utilizado na preparação de amostras de pesticidas no solo, com mais de 300 artigos publicados entre 2015 e 2022 [71]. A extração QuEChERS ocorre em duas etapas, primeiro uma extração com solvente, normalmente acetonitrilo, e por fim uma extração dispersiva em fase sólida (dSPE)[72]. Para eliminar interferentes na análise, por vezes, torna-se necessário uma etapa de limpeza posterior ao método QuEChERS[69]. As diferentes versões do método QuEChERS são, Original, AOAC e Norma Europeia EN 15662 [70]. A escolha do tipo de versão irá ser em função das características da matriz e dos contaminantes.

A cromatografia é uma das técnicas analíticas mais utilizadas na separação, identificação e quantificação de compostos químicos presentes em misturas complexas[73]. Existem diferentes tipos de cromatografia, tais como cromatografia gasosa (GC) quando a fase móvel é um gás e a fase estacionária pode ser líquida ou sólida; cromatografia líquida (LC) quando a fase móvel é um líquido e a fase estacionária sólida; cromatografia supercrítica quando a fase móvel é um fluido, e, cromatografia de camada fina quando a fase móvel é um líquido de baixa viscosidade e a fase estacionária sólida. A cromatografia líquida também pode ser dividida em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), de permuta iónica de permeação de gel e exclusão molecular dependendo do tipo de sólido que constitui a fase estacionária[73].

É comum a utilização da cromatografia gasosa de espectrometria de massa (GC/MS) para determinação de pesticidas e outros contaminantes, pois esta técnica proporciona, para além da quantificação, uma maior e mais precisa identificação das substâncias [73].

Cromatografia gasosa por captura de eletrão (GC-ECD)

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação de compostos baseada principalmente nas suas volatilidades, para maior sensibilidade pode ser combinada com detetores como, por exemplo, o de captura de eletrões (ECD). Este tipo de detetor é utilizado para detetar compostos com alta eletronegatividade, como os compostos halogenados[73]. A técnica GC-EDC é normalmente utilizada para a determinação de pesticidas organoclorados e piretróides[74]. Além disso, é uma técnica que permite a análise de matrizes complexas, tais como o solo, permitindo a separação, identificação, quantificação de contaminantes a níveis vestigiais [75]. Frequentemente após a análise por GC-ECD é feita a confirmação dos compostos por GC-MS, uma vez que através desta é possível determinar também a massa molecular dos compostos[75].

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho consiste no desenvolvimento, otimização e validação de um método de extração e análise, que permita avaliar a presença de aditivos de plásticos, e outros contaminantes em amostras de solo do Parque Natural de Montesinho (PNM).

Este trabalho foi realizado no âmbito do projeto MTS/SAS/0077/2020—Honey+—New reasons to care honey from the Natural Park of Montesinho: A bioindicator of environmental quality & its therapeutic potential, financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT)/Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (MCTES).

3. Materiais e Reagentes

Foram preparadas duas soluções padrão de concentração 25 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$, compostas por 7 BDEs, 11 pesticidas organoclorados e um total de 14 pesticidas Pyr que estão divididos por 7 Pyr e respectivos isômeros (numerados na tabela 3.1) e 5 PCBs. Estas soluções foram preparadas em n-hexano da marca Merck (Nova Jersey, EUA) a partir de 2 soluções mãe de 14 Pyr e 23 POP (OCP, PCB e BDE) de concentração 150 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (soluções previamente preparadas e armazenadas a -18 °C). A tabela 3.1 apresenta a lista de todos os contaminantes presentes das soluções padrão mistas de 25 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Tabela 3. 1- Informações dos contaminantes utilizados.

Contaminantes	Massa Molecular(g.mol ⁻¹)	Fórmula	Marca	
OCP	α -HCH	C ₆ H ₆ Cl ₆	ChemService (West Chester/USA)	
	β -HCH			290,83
	ζ -HCH			
	HCB	284,78		C ₆ Cl ₆
	Lindano	290,83		C ₆ H ₆ Cl ₆
	Aldrina	364,91		C ₁₂ H ₈ Cl ₆
	α - endossulfão	406,95		C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S
	p,p'-DDT	354,49		C ₁₄ H ₉ Cl ₅
	p,p'-DDE	318,03		C ₁₄ H ₈ Cl ₄
	Dieldrina	380,91		C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
p,p´-DDD	320,04	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄		
Pyr	Permetrina (isómero 1)	C ₂₁ H ₂ OCl ₂ O ₃	Sigma-Aldrich®	
	Permetrina (isómero 2)			391,28
	Cipermetrina	416,30		C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃
	Cialotrina (isómero 1)	C ₂₃ H ₁₉ ClF ₃ NO ₃		
	Cialotrina 2 (isómero 2)			449,86
	Fenvalerato (isómero 1)	C ₂₅ H ₂₂ ClNO ₃		
	Fenvalerato (isómero 2)			419,91

Continuação (Tabela 3.1)			
	Bifentrina	422,87	$C_{23}H_{22}ClF_3O_2$
	Ciflutrina (isômero 1)		
	Ciflutrina (isômero 2)		
	Ciflutrina (isômero 3)	434,29	$C_{22}H_{18}Cl_2FNO_3$
	Ciflutrina (isômero 4)		
	Deltametrina (isômero 1)		
	Deltametrina (isômero 2)	505,18	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$
BDE	BDE 47	485,80	$C_{12}H_6Br_4O$
	BDE 99	564,69	$C_{12}H_5Br_5O$
	BDE 153	643,58	$C_{12}H_4Br_6O$
	BDE 183	722,48	$C_{12}H_3Br_7O$
	BDE 100	564,69	$C_{12}H_5Br_5O$
	BDE 28	406,90	$C_{12}H_7Br_3O$
	BDE 154	643,58	$C_{12}H_4Br_6O$
PCB	PCB 118	326,43	$C_{12}H_5Cl_5$
	PCB 153	360,88	$C_{12}H_4Cl_6$
	PCB 180	395,32	$C_{12}H_3Cl_7$
	PCB 101	326,43	$C_{12}H_5Cl_5$
	PCB 28	257,54	$C_{12}H_7Cl_3$

ChemService
(West
Chester/USA)

ChemService
(West
Chester/USA)

Na tabela A.1 (anexo A) é possível verificar a estrutura química dos contaminantes utilizados na preparação das soluções padrão mistas 25 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Para extração dos contaminantes acima descritos foi utilizado acetronitrilo da marca VWR (Pensilvânia, EUA) como solvente. O kit de QuEChERS e *cleanup* estão apresentados na tabela 3.2 e foram adquiridos da marca Agilent technologies (Califórnia, EUA). Para a etapa de limpeza foram utilizados os reagentes, amina secundária primária (PSA), sulfato de magnésio (MgSO_4) e C18, todos da marca Agilent Technologies (Califórnia, EUA) (Tabela 3.2).

Tabela 3. 2-Composição do kit de QuEChERS e *cleanup* utilizado.

QuEChERS (EN)		
Sulfato de magnésio	MgSO ₄	4g
Cloreto de sódio	NaCl	1g
Citrato trissódico dihidratado	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ . 2 H ₂ O	1g
Hidrogenocitrato dissódico sesquihidratado	C ₆ H ₆ Na ₂ O ₇ .1,5H ₂ O	1g
Clean up		
Amina Secundária Primária	PSA	50 mg
Sulfato de magnésio	MgSO ₄	150 mg
Octadecilsilano	C18	50 g

A adição de sais ao extrato aquoso contendo acetonitrilo favorece a formação de um sistema bifásico (fase aquosa e fase orgânica), e também aumenta a força iônica da fase aquosa. Este efeito denominado *salting-out* promove a passagem dos contaminantes apolares para a fase orgânica [76]. Sendo assim, o MgSO₄ foi utilizado para remover a água da fase orgânica e para melhorar a recuperação dos analitos, o NaCl, foi também utilizado para reduzir a quantidade de interferentes polares presentes no extrato. O citrato trissódico desidratado e o hidrogenocitrato dissódico sesquihidratado foram utilizados com tampão. Usou-se o C18 na etapa de limpeza, pois este remove compostos de cadeia longa, esteróis e outras interferências apolares, e a PSA foi utilizada para remover açúcares, ácidos gordos, ácidos orgânicos, lípidos e alguns pigmentos[77].

3.1 Equipamentos

Para a etapa da caracterização dos solos do PNM foram utilizados, um agitador de peneiros modelo AS 200 da marca Retsch (Haan, Alemanha), um agitador magnético digital de 10 posições com placa de aquecimento (modelo MS-MP8 da marca Witeg Labortechnik (Wertheim, Alemanha)), um potenciômetro modelo microph 2002 da marca Crison (Barcelona, Espanha), uma mufla modelo LE/11 da marca Nabertherm (Corroios, Portugal) e uma estufa modelo Dryterm da marca JP Selecta (Barcelona, Espanha).

Para a extração dos contaminantes dos solos, foram utilizados um banho de ultrassons modelo Sonorex Digital 10P da marca Bandelin (Berlin, Germany), uma centrífuga modelo

Megafuge 16R da marca Thermo Fisher Scientific (Massachusetts, EUA) e um agitador vórtex modelo Reax top da marca Heidolph instruments (Schwabach, Alemanha).

Para análise cromatográfica utilizou-se GC-ECD modelo GC 2012 da marca Shimadzu (Quioto, Japão), o solvente utilizado foi n-hexano da marca Merck (Nova Jersey, EUA).

4. Descrição Experimental

Neste capítulo será feita a descrição experimental de todo trabalho desenvolvido no GRAQ-ISEP.

4.1 Amostragem

As amostras foram recolhidas no PNM que fica localizado no nordeste transmontano e faz fronteira com Espanha (Figura 4.1). O parque possui elevações arredondadas e vales, com altitudes que variam entre os 438 m e os 1486 m. As rochas predominantes são os xistos, entretanto também são encontrados granitos, rochas ultrabásicas e pequenas manchas calcárias. A vegetação é muito diversa, encontrando-se carvalhais, soutos, sardoais, bosques, ripícolas, giestais, urzais, estevais e lameiros. Devido aos aspetos geológicos e climáticos a flora é muito rica, destacam-se as plantas que ocorrem em solos provenientes de rochas ultrabásicas, onde se encontram espécies que são observadas apenas nesta região. Relativamente à fauna, o parque possui mais de 110 espécies de aves nidificantes, e estão referenciadas 70% das espécies de mamíferos terrestres existentes em Portugal. Em relação ao clima, o PNM apresenta características únicas devido à presença de um sistema montanhoso que se localiza distante do oceano, estes fatores favorecem o aparecimento de diversos microclimas locais [78].

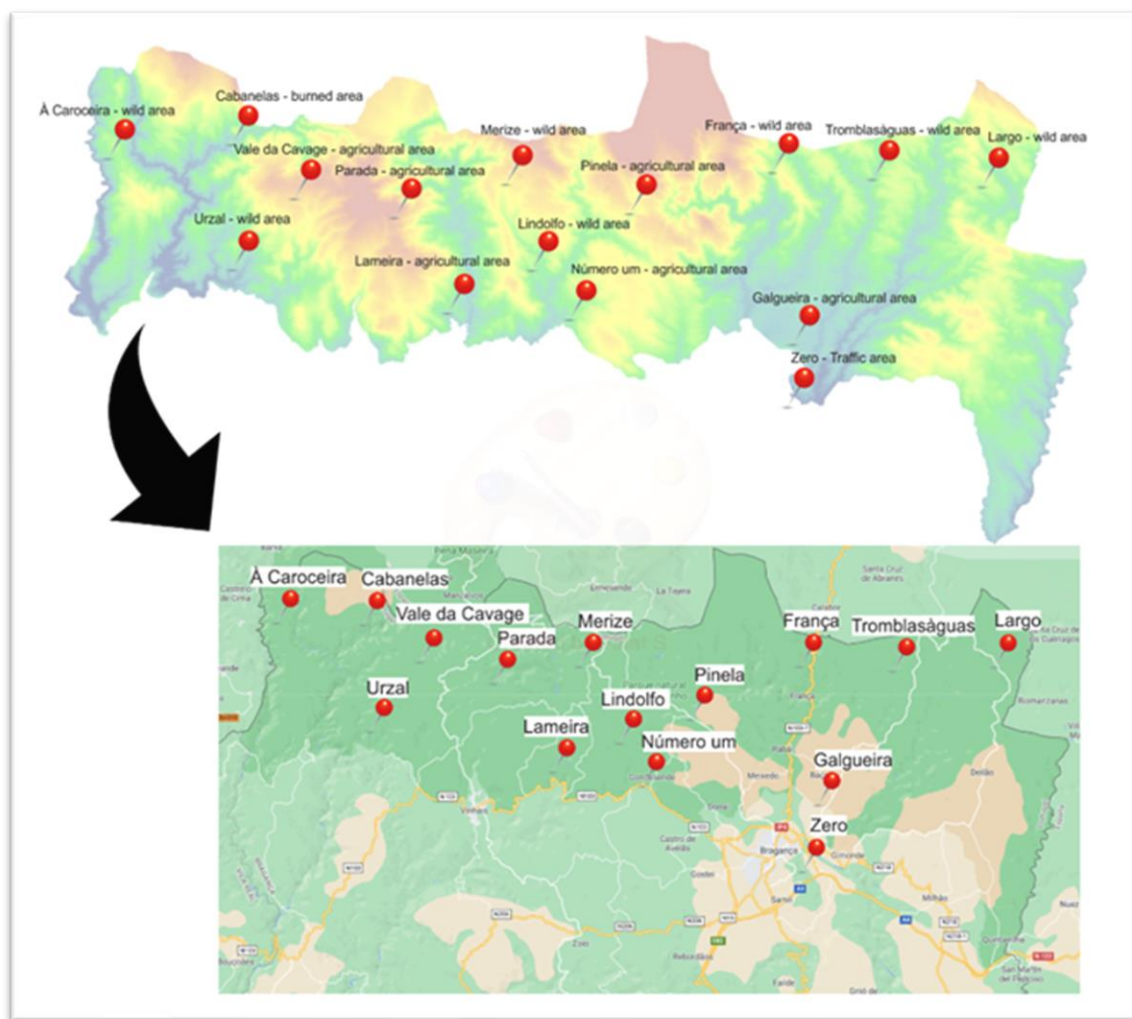


Figura 4. 1-Ilustração dos principais pontos do Parque Natural de Montesinho.

Foram recolhidas 21 amostras de solo em locais distintos do PNM, nos dias 14 e 15 de Novembro de 2021. Os dados da colheita das amostras estão disponíveis na tabela B1(anexo B).As amostras recolhidas foram identificadas conforme a tabela 4.1.

Tabela 4. 1-Identificação das amostras de solo.

Sigla	Amostra	Quantidade de amostras
SC	Amostra de solo composta	10
SH	Amostra de solo apiário	10
SQ	Amostra do solo queimado	1

As amostras de solo SH foram retiradas numa mesma área, localizada a cerca de 1 metro do apiário. As SC, são amostras compostas por várias amostras de solos que circundam a área do apiário e que foram colhidas nas zonas onde se encontravam as plantas polinizadoras. A amostra

SQ, é uma amostra de solo queimado que foi retirada numa mesma área onde havia ocorrido um incêndio, localizada a cerca de 1 metro do apiário. Todas as amostras de solo foram recolhidas numa profundidade de aproximadamente 3-5 cm.

4.2 Pré-tratamento da amostra

Inicialmente foi necessária uma etapa de preparação das amostras de solo SH, SC e SQ, para ser posteriormente realizada a caracterização destas amostras, e por fim a extração dos contaminantes presentes. Para preparação das amostras utilizou-se um agitador de peneiros (Figura 4.2 C). As amostras foram primeiramente peneiradas com um peneiro de 2 cm (Figura 4.2 A) e posteriormente por um de 1 cm (Figura 4.2 B). Após este procedimento, as amostras de solo foram identificadas, condicionadas em frascos de vidro e armazenadas ao abrigo da luz e calor.



Figura 4. 2- Preparação inicial das amostras.

4.3 Caracterização das amostras de solo recolhidas no PNM.

Três parâmetros foram analisados para caracterizar o solo, sendo eles: pH, teor de humidade (%W) e teor de matéria orgânica (%MO). Todos os ensaios foram feitos em triplicado.

Determinação pH

Os valores de pH foram determinados com base no método 9045D *Soil and Waste pH*, usando-se 10 g de amostra, à qual foram adicionados 25 mL de água desionizada. As suspensões foram agitadas por 5 min a 450 rpm, e deixadas em repouso por 1h [79]. Todas as determinações foram efetuadas pelo método eletrométrico.

Determinação do teor de humidade

Os valores de humidade (%W) foram determinados segundo a norma NP-84: 1965. Para esta determinação usaram-se 10 g de amostra, as quais foram levadas à estufa a 105 °C durante 24 h [80]. Para calcular o teor de humidade utilizou-se a equação 4.1:

$$\%W = \frac{m_2 - m_3}{m_3 - m_1} \times 100$$

Equação 4.1

Onde,

m1 é a massa do cadinho,

m2 é a massa do cadinho com a amostra antes da secagem,

m3 é a massa do cadinho com a amostra seca.

Os cadinhos foram previamente calcinados e deixados arrefecer no exsiccador.

Determinação da percentagem de matéria orgânica

Para determinação da percentagem de matéria orgânica (%MO), seguiu-se o método termogravimétrico. As amostras provenientes da determinação da %W foram levadas à mufla a 400 °C durante 4h, após a secagem foi realizada a pesagem das amostras [81]. O teor de matéria orgânica no solo foi determinado através da equação 4.2 [81].

$$\% \text{ MO} = \frac{W_{105} - W_{400}}{W_{105}} \times 100$$

Equação 4.2

Onde:

W105 é a massa do solo a 105 °C e W400 é a massa do solo a 400 °C.

4.4 Desenvolvimento e otimização do método de extração e análise

A extração de contaminantes de amostras de solo é uma etapa complexa, pois nestas amostras muitas vezes as concentrações dos contaminantes presentes são baixas. Além disso, devido à composição das amostras, poderão existir outros compostos que não são de interesse. Sendo assim, geralmente a extração de contaminantes do solo requer o uso de técnicas mais fortes, capazes de extrair estes analitos e eliminar interferentes. A preparação da amostra deve ser rápida, simples, económica, amiga do ambiente e fornecer extratos limpos. O método QuEChERS foi o selecionado para este trabalho por ser muito eficaz, pois fornece resultados de alta qualidade, alto rendimento, baixo consumo de solventes e pouco trabalho com baixo custo. Para eliminar interferentes na análise é necessário que após o método QuEChERS seja feita uma etapa de limpeza[69].

Neste trabalho as famílias de contaminantes pesticidas Pyr e OCPs, PBDEs e PCBs (Tabela 2.1) foram extraídos por QuEChERS e analisadas por GC-ECD. O método analítico foi validado em termos de linearidade, efeitos de matriz (MF), recuperações (%RE), limite de deteção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e precisão. O processo de extração foi todo realizado recorrendo a

materiais de vidro de forma a minimizar ao máximo a presença de plásticos e possíveis contaminações de compostos associados ao plástico, tais como os aditivos.

4.4.1 Extração dos contaminantes presentes no solo

Relativamente ao processo de extração, este foi realizado de acordo com o trabalho elaborado por Fernandes et al. (2012)[69]. Resumidamente, pesaram-se 5g da amostra de solo, de seguida, adicionaram-se 3 mL de água e 7 mL de acetonitrilo e levou-se esta mistura ao vortex. Seguidamente, adicionaram-se os sais QuEChERS e levou-se a mistura ao vortex por 1 minuto e, posteriormente, ao banho de ultrassons por 1 minuto. Por fim, centrifugou-se por 20 minutos a 2500 rpm numa centrífuga. A figura 4.3 apresenta uma ilustração desta etapa do processo.

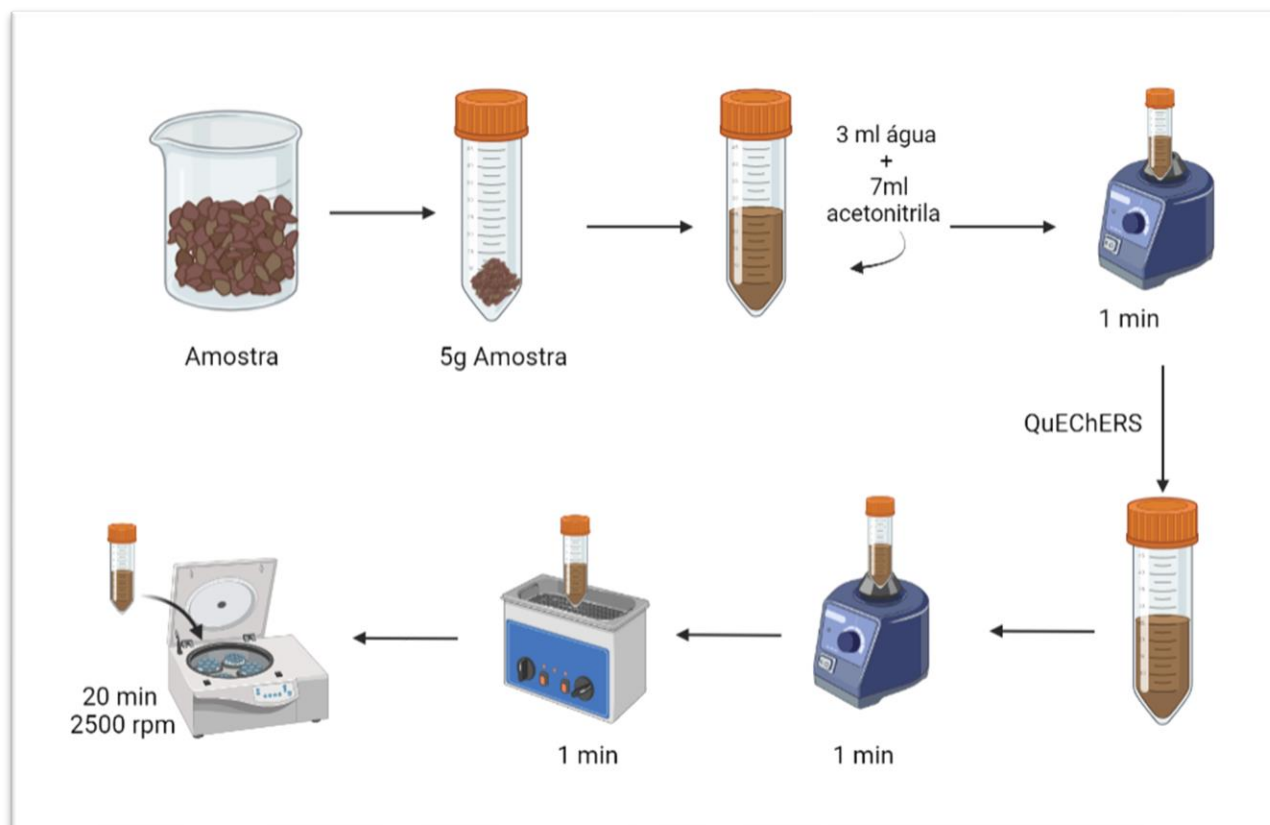


Figura 4. 3-Etapa inicial do processo de extração.

Numa segunda etapa (figura 4.4) foi realizada a limpeza do extrato obtido no primeiro passo da extração com QuEChERS. Esta é uma etapa muito importante devido à diversidade e complexidade das amostras e às baixas concentrações de analitos presentes. Inicialmente,

transferiu-se 2 mL do sobrenadante resultante da primeira etapa para um frasco de vidro de 4 mL contendo 50 mg PSA, 150 mg MgSO_4 e 50 g C18, para remover possíveis interferentes. O tubo foi agitado por 1 minuto e centrifugado por 5 minutos a 4500 rpm. Na última etapa, transferiu-se 1 mL do sobrenadante obtido após a segunda etapa para um frasco de vidro de 1,5 mL. A amostra foi seca expondo-a a um baixo fluxo de gás nitrogénio e retomada com n-hexano. Após a agitação, a amostra estava pronta para análise cromatográfica.

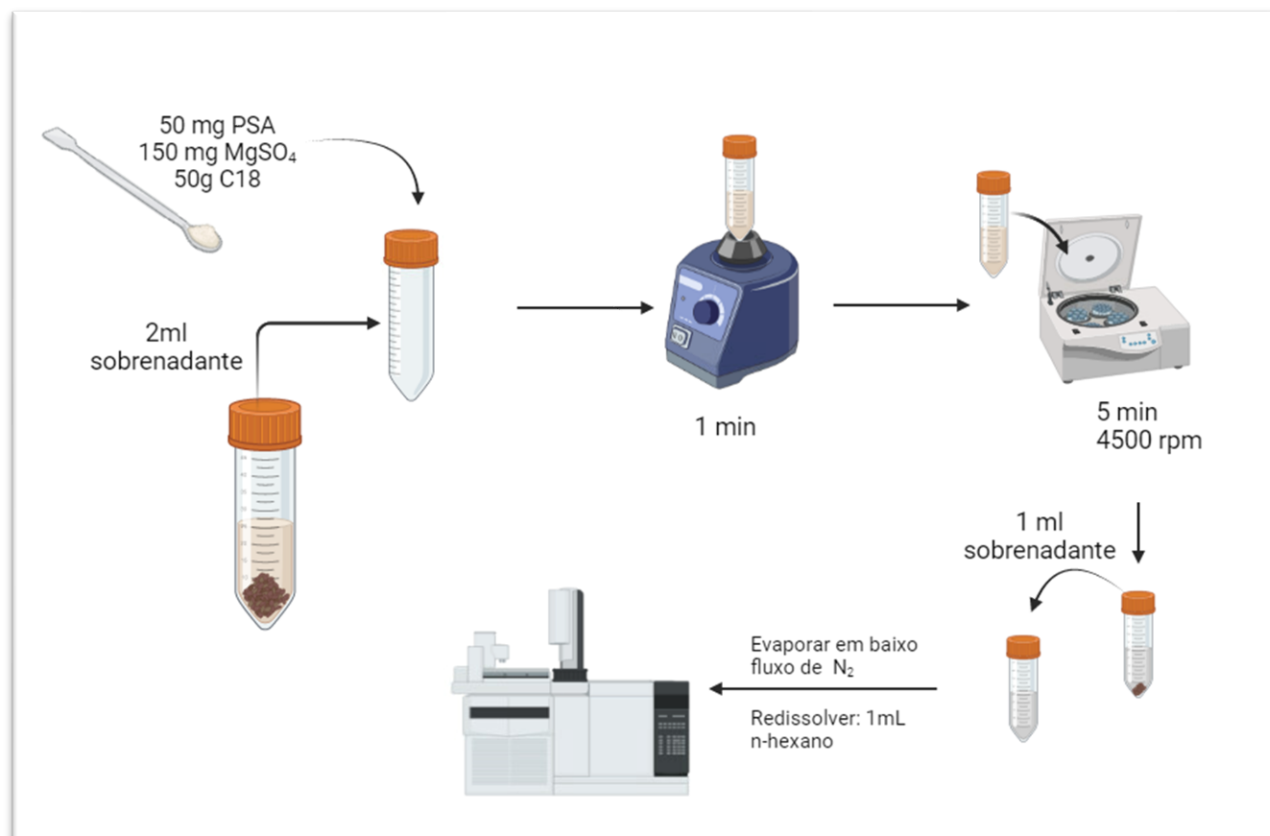


Figura 4. 4-Segunda e a última etapa do processo de extração.

Todos os extratos foram analisados com o auxílio do equipamento apresentado na Figura 4.5.



Figura 4. 5-GC-ECD utilizado durante todo o trabalho experimental.

Os extratos foram injetados no GC-ECD. Os parâmetros utilizados no equipamento estão apresentados a seguir na tabela 4.2:

Tabela 4. 2-Parâmetros utilizados no equipamento GC-ECD.

Parâmetros GC-ECD	
Pressão	85,9 kPa
Modo de injeção	<i>Splitless</i>
Volume de injeção	1 μ L
Temperatura do injetor	250 °C
Fluxo coluna	1,09 mL/min
Fluxo total	24,00 mL/min
Velocidade linear	26,6 cm/s

A análise cromatográfica foi realizada segundo o seguinte programa: a temperatura inicial da coluna foi de 40°C, esta temperatura foi mantida por 1 min e depois foi aumentada até 120°C a

uma taxa de 15°C/min, a temperatura de 120 °C foi mantida por 1 min. Posteriormente, aumentou-se para 150 °C a uma taxa de 10 °C/min, manteve-se por 1 min a temperatura de 150 °C. A seguir, a temperatura foi aumentada para 180 °C a uma taxa de variação de 5°C/min, a temperatura foi mantida por 1 min e depois foi aumentada para 200°C com a mesma taxa de variação. Ao atingir 200 °C manteve-se a temperatura por 1 min. Por fim, a temperatura foi aumentada para 290 °C novamente com uma taxa de variação de 5°C/min, e esta temperatura foi mantida por 20 min. Na análise e tratamento de dados foi utilizado o *software GC solution* e o *software Excel*.

4.4.2 Procedimento para validação do método

O processo de extração para o procedimento de validação do método foi o descrito no item 3.1, entretanto, preparou-se inicialmente uma amostra global que continha 1 g de cada amostra de solo, desta maneira foi possível obter uma matriz mais representativa das amostras em estudo. De seguida, pesaram-se 5 g da amostra global num tubo de centrífuga e seguiu-se com o procedimento apresentado anteriormente.

Para estudar a eficiência do método de extração foram realizados estudos de recuperação (RE). Para determinar a %RE foi necessário realizar dois procedimentos, *post-spike* e *pre-spike*. O *post-spike* consistiu na contaminação do extrato da matriz após todo o processo de extração. Para o *pre-spike* a contaminação foi realizada na matriz antes do processo de extração. Este processo foi realizado em dois níveis, 50 e 25 µg.L⁻¹ a partir de soluções padrão com os contaminantes apresentados na tabela 2.1. Estas duas etapas estão representadas na figura 4.6.

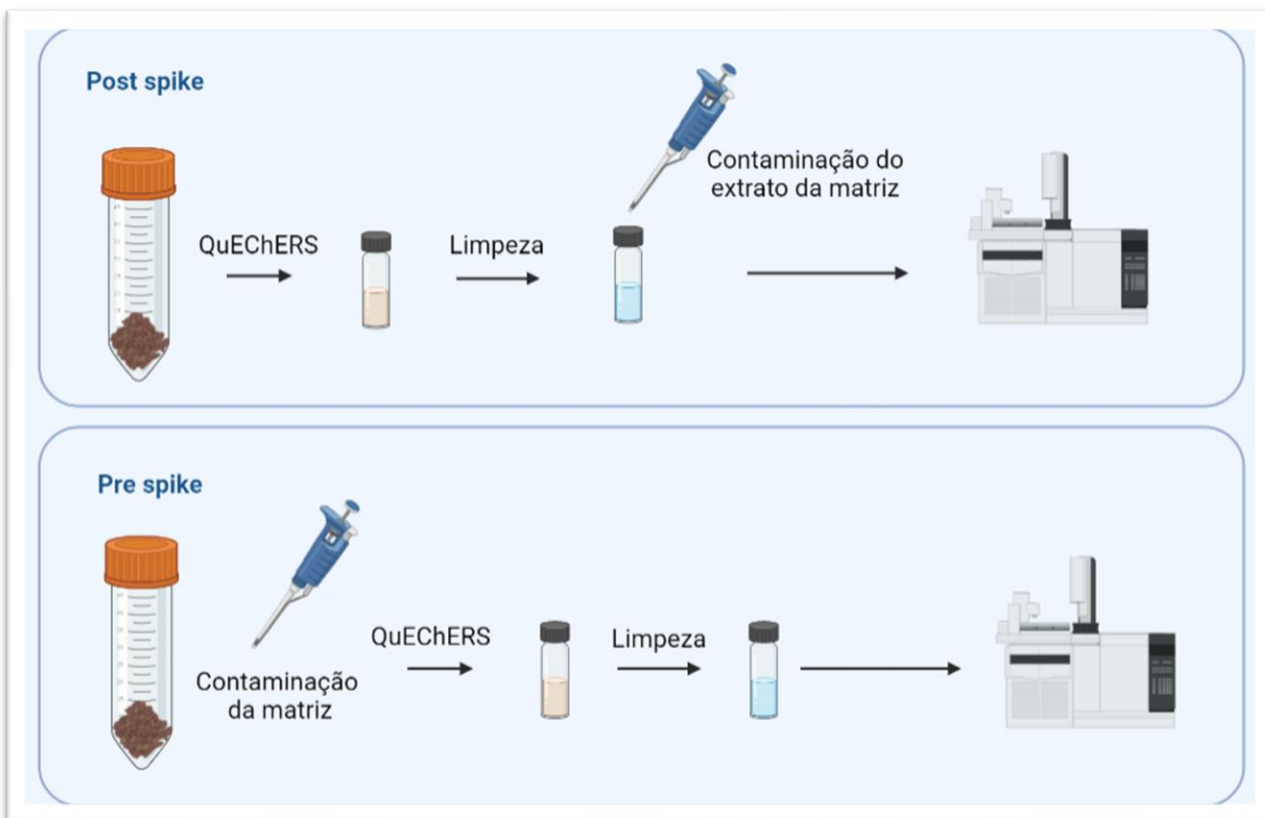


Figura 4. 6 -Procedimentos realizados para os estudos de recuperação (*post-spike* e *pre-spike*).

A %RE foi calculada a partir da comparação do sinal cromatográfico das amostras obtidas no *post* e *pre-spike*, através da equação 4.3:

$$\%RE = \frac{A1}{A2} \times 100$$

Equação 4.3

Em que,

A1 é a área obtida com a amostra *pre-spike*;

A2 é a área obtida com a amostra *post-spike*.

Os solos possuem diferentes tipos de compostos orgânicos e inorgânicos, devido a esta heterogeneidade o efeito da matriz (MF) da amostra sobre a resposta cromatográfica dos contaminantes é muito suscetível de ocorrer. A presença de diferentes compostos na matriz, poderá

interferir na adsorção ou degradação dos analitos durante a evaporação da amostra na entrada do cromatógrafo. Desta forma, o MF foi estudado para verificar qual a influência do solo nos contaminantes analisados. Os valores do MF foram calculados através da razão entre os declives da reta de calibração em matriz e da reta em solvente. O valor aceitável para o MF está entre 0,8-1,2 [69].

4.5 Identificação e quantificação dos contaminantes presentes nas amostras de solo.

Foram preparadas duas curvas de calibração para cada um dos 37 contaminantes, uma curva em matriz e outra em solvente.

Para preparar a curva de calibração em matriz foi necessário extrato do solo e duas soluções mãe de POPs e Pyr (Tabela 2.1) de concentração $150 \mu\text{g.L}^{-1}$ previamente preparadas. Os volumes utilizados para a preparação dos padrões são apresentados na tabela 3.3.

Tabela 4. 3-Volumes utilizados para a preparação dos padrões para calibração em matriz.

	V_{POP} (μL)	V_{Pyr}(μL)	V_{matriz} (μL)
P1	15	15	150
P2	25	25	150
P3	35	35	150
P4	50	50	150
P5	65	65	150
P6	80	80	150
P7	100	100	150
P8	120	120	150

Para preparar a curva de calibração em solvente foram utilizadas as mesmas soluções mãe de POP e Pyr, e como solvente foi utilizado n-hexano. Os volumes utilizados na preparação dos padrões estão apresentados na tabela 4.4.

Tabela 4. 4 - Volumes utilizados para o preparo dos padrões para a curva de calibração em solvente.

	V_{POP} (μL)	V_{Pyr} (μL)	V_{n-hexano} (μL)
P1	15	15	120
P2	25	25	100
P3	35	35	80
P4	50	50	50
P5	65	65	20
P6	80	80	70
P7	100	100	50
P8	120	120	30

A partir dos dados obtidos nas curvas de calibração, também foram calculados os limites, LOQ (Equação 4.4) e LOD (Equação 4.5), respetivamente.

$$LOD = 3 \times \frac{Sy/x}{declive}$$

Equação 4.4 - Limite de detecção

$$LOQ = 10 \times \frac{Sy/x}{declive}$$

Equação 4.5 – Limite de quantificação

A precisão do método foi avaliada através da avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade através do cálculo do desvio padrão relativo RSD (%) (Equação 4.6) das injeções em triplicado e das extrações em duplicado.

$$RSD (\%) = \frac{Desvio\ padrão\ A}{\bar{x}\ A}$$

Equação 4.6 – Desvio padrão relativo (RSD%)

Em que,

A é a área do pico obtida no cromatograma.

4.5.1 Análise dos extratos de solos

Os extratos foram analisados por GC-ECD. Para isso, realizou-se uma análise qualitativa dos cromatogramas registrados, onde os cromatogramas das soluções padrão de 25 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ foram comparados com os cromatogramas dos extratos das amostras de solo. Além disso, foram comparados os tempos de retenção (t_r) de cada composto obtido no extrato da matriz com os t_r das soluções padrão de 25 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

O t_r é o tempo que medeia entre o momento de injeção da amostra até que se tenha obtido o pico cromatográfico. Caso ocorra alguma modificação nas condições de operação, o t_r e a posição do pico irão sofrer alteração. Sendo assim, ao manter todas as condições operacionais, o pico cromatográfico de cada composto será obtido no mesmo t_r . Desta forma, a identificação dos picos poderá ser realizada através da comparação entre o t_r de uma solução padrão e o t_r da amostra. Devido ao MF, as concentrações dos analitos foram determinadas usando as equações da reta obtidas nas curvas de calibração em matriz.

5. Resultados e Discussão

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados obtidos na análise das 21 amostras recolhidas no PNM, tendo como finalidade responder ao objetivo proposto de desenvolver/otimizar e validar um método de extração e análise, para avaliar a presença de diferentes contaminantes, tais como, aditivos de plásticos, e outros poluentes associados aos MPs.

5.1 Caracterização das amostras de solo recolhidas no PNM

A quantidade de contaminante que é adsorvida ao solo pode variar conforme as características do solo, tais como, humidade, pH, textura e %MO. Sendo assim, é importante a caracterização do solo para perceber o quanto as suas características irão influenciar na sorção de diferentes contaminantes.

A %MO no solo é extremamente complexa devido à sua heterogeneidade, pois uma amostra de solo poderá apresentar, tecidos vegetais, microrganismos, compostos químicos orgânicos e inorgânicos. Quanto maior a %MO maior será a adsorção de pesticidas ao solo [77].

Os resultados da caracterização das amostras de solo encontram-se apresentados na tabela 5.1:

Tabela 5. 1 - Caracterização físico-química das amostras de solo.

Amostras	Teor de água (%)			Matéria orgânica (%)			pH		
	SC	SH	SQ	SC	SH	SQ	SC	SH	SQ
1	8,16	4,01		0,84	0,67		4,37	3,88	
2	9,72	9,98		1,09	1,32		4,00	4,05	
3	11,54	9,16		1,09	1,12		5,97	4,23	
4	16,72	15,25		1,40	1,23		5,72	5,43	
5	9,99	28,02	3,12	2,47	2,99	2,47	4,95	4,87	4,96
6	8,91	15,19		1,08	1,02		5,13	4,95	
7	5,15	10,26		1,02	0,90		6,34	6,79	
8	17,73	10,31		1,26	1,53		5,43	5,91	
9	16,15	24,70		3,01	2,70		4,37	4,28	
10	10,02	15,11		1,33	1,60		5,26	4,60	

Os valores de pH variaram entre 3,88 e 6,79, o teor de humidade variou entre 3,12 e 28,01% e o teor de matéria orgânica variou entre 0,67 e 3,01%. Os valores baixos de pH podem ser devido ao excesso de acidificação do solo causado por fertilizantes. A acidificação do solo resultante da utilização de fertilizantes comerciais é uma das principais razões para a deterioração dos solos a nível mundial [82].

Ariza-Tarazona, *et al.* (2020) estudaram o impacto da diminuição do pH e da temperatura sobre a degradação de MPs de HPDE, os resultados demonstraram que o baixo pH (pH =3) e a baixa temperatura (0 °C) possuem um efeito combinado na degradação dos MPs. O baixo pH incorpora iões H^+ ao sistema, facilitando a degradação dos plásticos [83].

A amostra de solo SQ apresentou o menor teor de humidade, uma vez que corresponde a um solo queimado, entretanto, a %W pode variar com a estação do ano e também com a temperatura. Uma vez que os MPs, os OCPs, os Pyrs, e outros contaminantes são compostos hidrofóbicos, o teor de água irá influenciar a adsorção de contaminantes a MPs, devido às interações hidrofóbicas [61]. Quanto maior o %W maior a probabilidade dos contaminantes se ligarem com os MPs através de interações hidrofóbicas.

5.2 Método de extração e análise de contaminantes nas amostras de solo

Uma vez que, as amostras de solo possuem uma grande quantidade de compostos, é provável que exista MF na quantificação dos analitos de interesse. A presença de grandes quantidades de elementos da matriz pode influenciar a adsorção ou degradação do analito durante a evaporação da amostra na entrada do cromatógrafo gasoso[69].

O MF para o método de extração foi estudado, para isso comparou-se a resposta do extrato da matriz enriquecido com os contaminantes descritos na tabela 3.2 com o sinal cromatográfico de duas soluções padrão de 25 e 50 $\mu g.L^{-1}$.

A figura 5.1 apresenta o cromatograma da solução padrão de 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

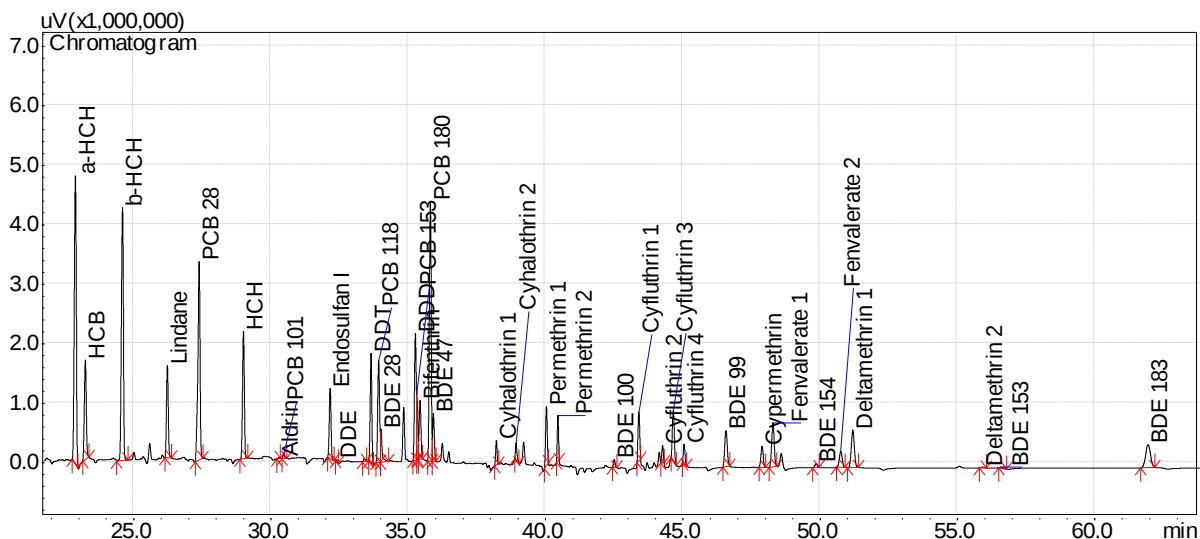


Figura 5. 1-Cromatograma obtido para a solução de 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$

Os tempos de retenção dos contaminantes analisados nas soluções padrão de 25 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ estão apresentados na tabela 5.2.

Tabela 5. 2-Tempos de retenção dos contaminantes analisados nas soluções padrão de 25 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Contaminantes	tr 25 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (min)	tr 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (min)
α -HCH	22,88	22,87
HCB	23,24	23,24
β -HCH	24,59	24,59
Lindano	26,23	26,22
PCB 28	27,38	27,38
HCH	29,00	29,00
Aldrina	30,28	30,28
PCB 101	30,47	30,46
α - Endosulfão	32,16	32,15
p,p'-DDE	32,4	32,39
Dieldrina	33,4	33,4
p,p'-DDT	33,64	33,64
PCB 118	33,92	33,92
BDE 28	34,00	34,00
p,p'-DDD	35,26	35,26
PCB 153	35,32	35,30
Bifentrina	35,43	35,43

Continuação (Tabela 5.2)		
PCB 180	35,80	35,80
BDE 47	35,91	35,92
Cialotrina (isómero 1)	38,21	38,21
Cialotrina (isómero 2)	39,21	38,92
Permetrina (isómero 1)	40,04	40,03
Permetrina (isómero 2)	40,45	40,45
BDE 100	42,51	42,50
Ciflutrina (isómero 1)	43,40	43,40
Ciflutrina (isómero 2)	44,27	44,26
Ciflutrina (isómero 3)	44,65	44,65
Ciflutrina (isómero 4)	45,05	45,04
BDE 99	46,57	46,57
Cipermetrina	47,89	47,88
Fenvalerato (isómero 1)	48,28	48,28
BDE 154	49,86	49,85
Fenvalerato (isómero 2)	50,76	50,75
Deltametrina (isómero 1)	51,20	51,19
Deltametrina (isómero 2)	55,93	55,92
BDE 153	56,60	56,59
BDE 183	61,95	61,94

A tabela 5.3 apresenta os valores do MF para as calibrações calculado através da razão entre os declives da reta em matriz e da reta em solvente.

Tabela 5. 3-Valores do MF calculado através da razão dos declives obtidos nas calibrações.

Contaminantes	MF
α -HCH	4,8
HCB	7,8
β -HCH	5,2
Lindano	5,0
PCB 28	5,1
HCH	4,8
Aldrina	3,6
PCB 101	2,9

Continuação (Tabela 5.3)	
α- Endosulfão	3,9
p,p'-DDE	2,3
Dieldrina	6,0
p,p'-DDT	5,0
PCB 118	4,7
BDE 28	2,9
p,p'-DDD	5,3
PCB 153	5,0
Bifentrina	3,9
PCB 180	3,9
BDE 47	1,6
Cialotrina (isómero 1)	4,9
Permetrina (isómero 1)	5,4
Permetrina (isómero 2)	10,1
BDE 100	4,4
Ciflutrina (isómero 1)	4,8
Ciflutrina (isómero 2)	5,8
Ciflutrina (isómero 3)	5,6
Ciflutrina (isómero 4)	6,7
BDE 99	4,1
Cipermetrina	5,0
Fenvalerato (isómero 1)	5,4
BDE 154	5,4
Fenvalerato (isómero 2)	4,7
Deltametrina (isómero 1)	5,1
Deltametrina (isómero 2)	4,7
BDE 153	3,3
BDE 183	4,5

Para o MF, os valores considerados aceitáveis estão entre 0,80 e 1,20 [84,85]. Valores acima do pretendido significam que as curvas de calibração obtidas utilizando as matrizes foram significativamente diferentes daquelas obtidas através da utilização de soluções padrão em solvente, resultando num MF para todos os compostos [77]. Entende-se por MF, a influência da matriz na resposta cromatográfica dos analitos, este efeito é muito suscetível de acontecer em amostras tais como solo, pois tais amostras possuem uma grande variedade de compostos que podem interferir no sinal analítico. Como é possível observar na tabela 4.2 todos os analitos apresentaram MF >1,20, ou seja, estes contaminantes apresentam uma maior resposta analítica quando estão presentes na matriz. Para minimizar a influência da matriz na quantificação dos analitos, deve-se utilizar a curva de calibração em matriz para determinar as concentrações dos contaminantes presentes na amostra [77].

Na figura 5.2 e 5.3, é possível observar a sobreposição dos cromatogramas das soluções padrão de 25 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respetivamente.

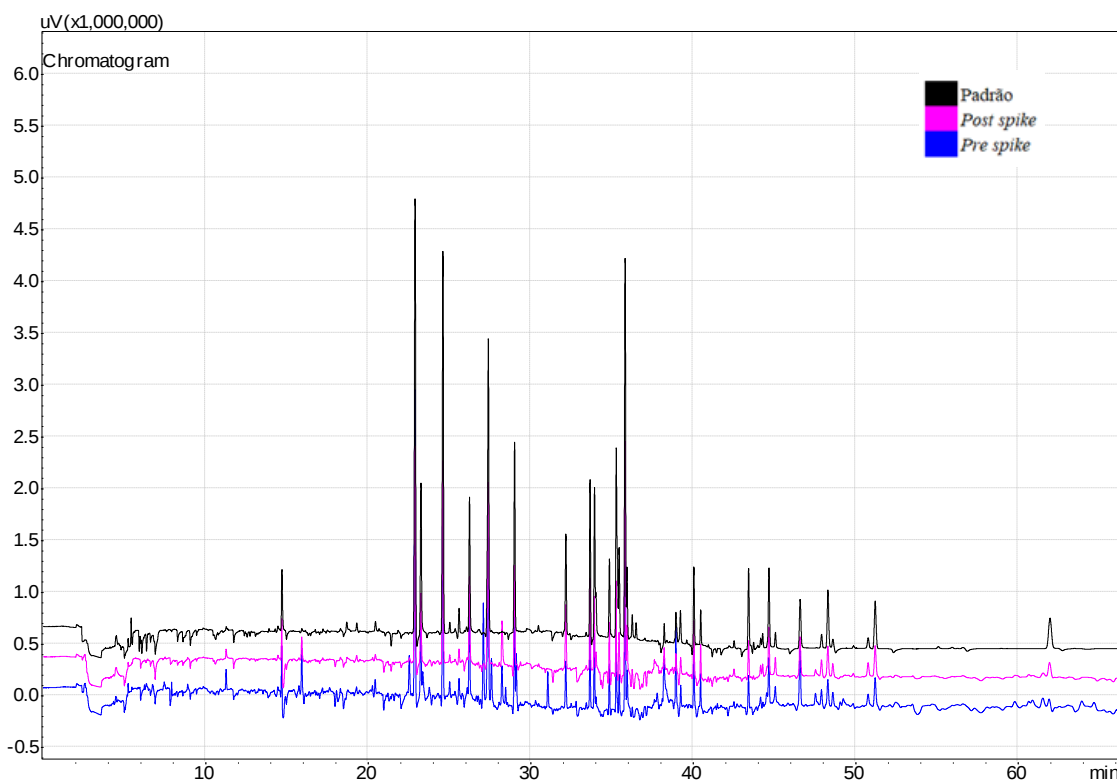


Figura 5. 2-Sobreposição dos cromatogramas da solução padrão de 25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e do *pre* e *post-spike*.

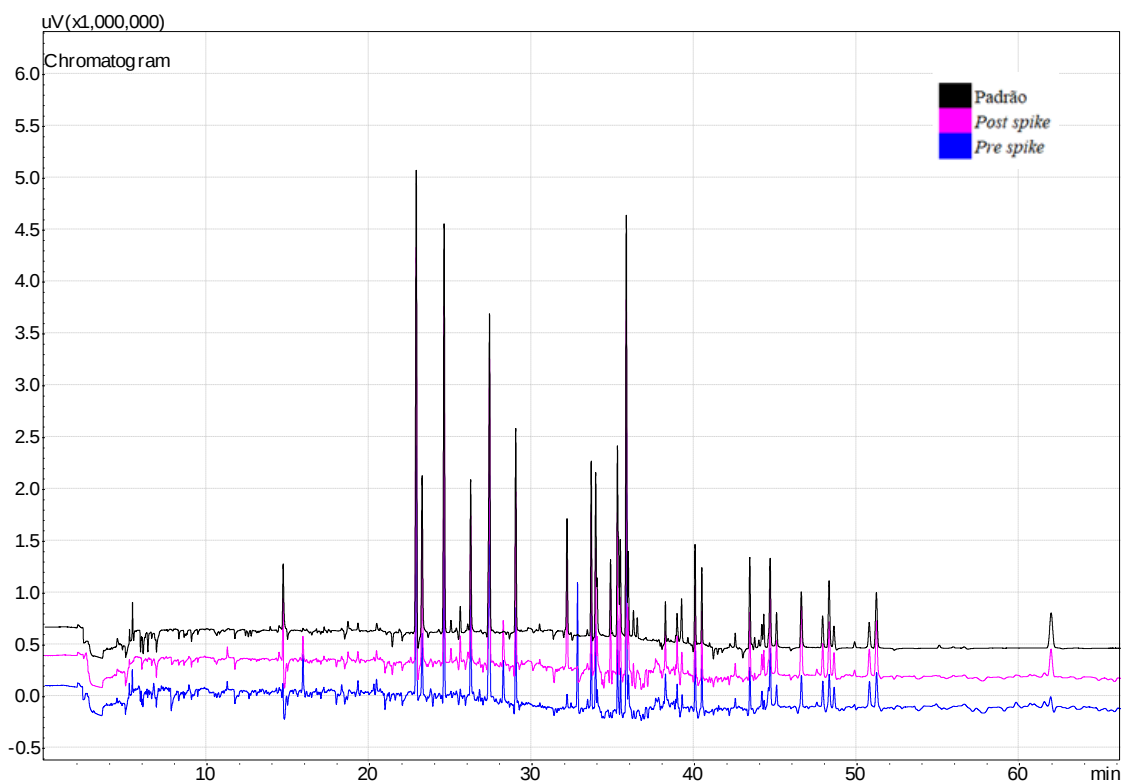


Figura 5. 3-Sobreposição dos cromatogramas da solução padrão de 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e do *pre* e *post-spike*.

As %RE foram determinadas comparando amostras de solo enriquecidas com os contaminantes antes e depois da extração (*pre* e *post-spike*). Os resultados estão apresentados na tabela 5.4.

Tabela 5. 4-Valores determinados para a taxa de recuperação ².

Contaminantes	RE(%)	RSD (%)	RE(%)	RSD(%)
	25 $\mu\text{g.L}^{-1}$	25 $\mu\text{g.L}^{-1}$	50 $\mu\text{g.L}^{-1}$	50 $\mu\text{g.L}^{-1}$
α -HCH	118	1	62	4
HCB	90	3	71	2
β -HCH	112	2	71	4
ζ -HCH	75	4	73	3
OCP	Lindano	4	70	3
	Aldrina	6	120	3
	α - Endosulfão	5	104	6
	p,p'-DDT	2	71	8
	p,p'-DDE	4	108	3

² Os valores de RE(%) <70% estão representados em vermelho, os valores entre 70-120% estão representados em verde, e os valores $\geq 121\%$ estão representados em azul.

Continuação (Tabela 5.4)					
	p,p'-DDD	108	5	70	4
	Dieldrina	117	9	120	9
Pyr	Permetrina (isómero 1)	106	5	78	3
	Permetrina (isómero 2)	86	5	75	3
	Cipermetrina	87	3	91	10
	Cialotrina (isómero 1)	113	6	91	5
	Cialotrina (isómero 2)	107	6	71	7
	Fenvalerato (isómero 1)	82	4	84	7
	Fenvalerato (isómero 2)	86	9	103	4
	Bifentrina	74	4	72	3
	Ciflutrina (isómero 1)	109	3	72	4
	Ciflutrina (isómero 2)	138	6	86	7
	Ciflutrina (isómero 3)	101	3	84	3
	Ciflutrina (isómero 4)	106	4	70	2
	Deltametrina (isómero 1)	96	4	70	1
	Deltametrina (isómero 2)	111	3	70	2
BDE	BDE 28	79	4	76	4
	BDE 47	87	6	81	15
	BDE 100	70	4	74	4
	BDE 99	143	6	74	10
	BDE 154	93	4	75	5
	BDE 153	108	5	87	3
	BDE 183	81	3	46	4
PCB	PCB 28	101	6	115	7
	PCB 101	100	6	73	7
	PCB 118	112	5	72	7

Continuação (Tabela 5.4)				
PCB 153	408	8	182	2
PCB 180	94	5	79	6

Tendo em conta que o critério de aceitação para a % RE é de 70-120 %, verifica-se que para as concentrações de 25 µg.L⁻¹ e 50 µg.L⁻¹ a maioria dos compostos apresentou boa taxa de recuperação, com valores de RSD% ≤ 15%. Além disso, é possível verificar nas figuras 4.4 e 4.5 que os picos das soluções *pre* e *pos-spike* estão iguais ou muito próximos dos picos da solução padrão. Os contaminantes α-HCH, ciflutrina (isómero 2) e BDE 99, não apresentaram os valores dentro do pretendido, mas o resultado da recuperação pode ser considerado aceitável tendo em conta o MF. Para os contaminantes PCB 153 e BDE 183, serão necessárias otimizações, uma vez que os valores já não são tão próximos do critério de aceitação. Contudo, não nos podemos esquecer que estamos a desenvolver um método multiresíduo o que obriga a encontrar condições de compromisso.

Os resultados obtidos sugerem que o método otimizado é eficaz para extração de contaminantes, uma vez que apenas três contaminantes para cada padrão tiveram o valor da %RE fora do pretendido. Futuramente será necessário otimizar a etapa de limpeza e extração visando diminuir o MF.

O desenvolvimento de métodos de quantificação de contaminantes no solo é atualmente um desafio, que se deve às propriedades tanto dos analitos quanto da matriz. O solo é considerado uma matriz complexa. Além disso, a composição, porosidade, os teores de matéria orgânica e inorgânica, água, sais e microbioma podem variar em cada amostra, e os analitos de interesse podem estar presentes em baixas concentrações, exigindo assim métodos altamente sensíveis para a sua determinação [71].

5.3 Determinação dos aditivos de plásticos, pesticidas e outros contaminantes.

Após a avaliação do efeito matriz e da eficiência do método de extração, o método foi validado. A tabela 5.5 apresenta os parâmetros estudados para a validação analítica (valores do r², a equação da reta e os limites LOD e LOQ, obtidos na calibração em matriz). Para determinar os

contaminantes presentes nas amostras de solo, utilizaram-se as calibrações em matriz. Desta forma, foi possível calcular, através da equação da reta, a concentração em $\mu\text{g.kg}^{-1}$ dos analitos em estudo. O LOD corresponde a menor concentração de analito que pode ser detetada, não sendo necessariamente quantificável neste valor. O LOQ corresponde à menor concentração que pode ser quantificada.

Tabela 5. 5-Resultados obtidos para a calibração em matriz.

Contaminantes	r^2	Área= a[contaminante] + b		LOD	LOQ
		a	b		
α -HCH	0,9972	3221036,27	-2711041,30	1,73	5,78
HCB	0,9971	701400,38	749488,93	2,02	6,72
β -HCH	0,9952	2965745,95	1430684,22	2,23	7,45
Lindano	0,9969	961779,19	2658210,23	2,06	6,87
PCB 28	0,9965	2509353,55	6124738,88	2,02	6,72
ζ -HCH	0,9996	722515,33	1389588,24	0,64	2,15
Aldrina	0,9974	7466,78	-6893,32	2,21	7,37
PCB 101	0,9980	25363,43	10362,94	1,57	5,23
α -Endossulfão	0,9972	97631,54	530326,12	2,00	6,68
p,p'-DDE	0,9958	8858,20	239651,33	1,78	5,92
Dieldrina	0,9977	651029,42	1239097,53	1,61	5,38
p,p'-DDT	0,9979	628639,73	836146,84	1,87	6,25
PCB 118	0,9960	728764,88	3945100,67	2,49	8,29
BDE 28	0,9966	275251,77	1100016,21	2,38	7,94
p,p'-DDD	0,9939	507107,71	-1038406,98	3,39	11,28
PCB 153	0,9959	323757,25	-2229637,38	1,60	5,34
Bifentrina	0,9951	430791,82	302033,66	1,85	6,18
PCB 180	0,9984	1487565,78	6855060,96	1,29	4,31
BDE 47	0,9970	298628,23	2772581,13	1,97	6,56
Cialotrina (isômero 1)	0,9985	146505,41	-25787,45	1,78	5,94
Permetrina (isômero 1)	0,9977	461731,54	554756,40	1,36	4,54
Permetrina (isômero 2)	0,9986	302852,20	-164772,65	1,51	5,04
BDE 100	0,9970	39541,89	15185,02	2,16	7,20
Ciflutrina (isômero 1)	0,9967	413525,01	984056,11	1,94	6,47
Ciflutrina (isômero 3)	0,9953	401799,58	607131,23	2,80	9,32
Ciflutrina 4	0,9913	122852,83	494919,88	3,56	11,87
BDE 99	0,9941	204100,83	-198727,47	3,50	11,66
Cipermetrina	0,9984	160060,41	-70435,41	1,71	5,69
Fenvalerato (isômero 1)	0,9958	341255,76	762570,73	2,20	7,33
BDE 154	0,9954	30736,00	-10861,37	2,40	7,99
Deltametrina (isômero 1)	0,9934	458415,16	456272,00	2,76	9,19
Deltametrina (isômero 2)	0,9929	20692,55	-27525,65	2,98	9,94

Continuação (Tabela 5.5)					
BDE 153	0,9970	12944,46	-27213,03	1,85	6,18
BDE 183	0,9984	510946,18	243981,72	1,65	5,49

Dos 37 contaminantes, 34 apresentaram boa linearidade, uma vez que $r^2 > 0,99$, as calibrações dos 3 contaminantes cialotrina (isômero 2), fenvalerato (isômero 2) e ciflutrina (isômero 2) com $r^2 < 0,99$ deverão ser repetidas para melhorar a linearidade do método.

Na tabela 5.6 é possível verificar os dados obtidos para a calibração em solvente. Segundo o que foi descrito no item 4.2, o MF foi calculado através da razão entre os declives da reta em matriz e da reta em solvente.

Tabela 5. 6-Valores obtidos para a e b através da calibração em solvente.

Contaminantes	Área= a[contaminante] + b		LOD	LOQ
	a	b		
α -HCH	675351,01	16159422,50	19,86	66,22
HCB	89814,66	13958354,43	24,32	81,06
β -HCH	572175,25	13127263,29	23,75	79,17
Lindano	193705,77	4928434,37	11,31	37,70
PCB 28	487559,35	12576283,26	17,29	57,64
ζ-HCH	150975,94	3554818,29	20,59	68,63
Aldrina	2090,83	-2609,50	7,18	23,92
PCB 101	8853,38	32974,70	23,08	76,94
α-Endossulfão	24882,87	-64646,51	11,17	37,24
p,p'-DDE	3877,75	-28593,26	11,22	37,40
Dieldrina	108270,06	3353462,48	12,78	42,61
DDT	125908,16	1730885,84	33,49	111,64
PCB 118	153783,70	5462215,60	31,92	106,39
BDE 28	93362,46	2363763,24	25,73	25,73
p,p'-DDD	95524,36	-1588305,66	19,50	19,50
PCB 153	65229,28	-309410,01	20,89	20,89
Bifentrina	110635,35	2118165,02	12,21	12,21
PCB 180	377090,78	-1114569,16	16,60	16,60
BDE 47	188056,56	5468325,84	9,38	9,38
Cialotrina (isômero 1)	29677,95	238149,83	32,33	32,33
Cialotrina (isômero 2)	13531,03	-124988,54	30,36	30,36
Permetrina (isômero 1)	84796,75	950619,79	16,00	16,00
Permetrina (isômero 2)	29887,45	1294910,68	32,09	32,09
BDE 100	9028,48	-53475,83	13,91	13,91
Ciflutrina (isômero 1)	86586,17	1347534,43	14,68	14,68

Continuação (Tabela 5.6)				
Ciflutrina (isômero 2)	34318,23	-79710,21	26,06	26,06
Ciflutrina (isômero 3)	72286,21	2703584,67	18,32	61,06
Ciflutrina (isômero 4)	18389,47	898766,59	14,50	48,34
BDE 99	49855,67	-34040,87	20,86	69,53
Cipermetrina	31911,76	-217498,62	17,13	57,11
Fenvalerato (isômero 1)	63249,95	1835578,24	10,51	35,03
BDE 154	5663,29	40888,45	15,87	52,90
Fenvalerato (isômero 2)	35771,07	-301355,75	28,87	96,22
Deltametrina (isômero 1)	89960,79	1895989,60	13,36	44,55
Deltametrina (isômero 2)	4378,02	12364,97	22,43	74,76
BDE 153	3952,38	-11420,13	14,55	48,49
BDE 183	114804,02	1776098,83	26,07	86,90

5.3 Análise das amostras de solo recolhidas no PNM

O método de extração utilizado para análise dos 37 contaminantes em amostras de solo está descrito no item 3.1. Na figura 5.4 é possível verificar, a título de exemplo, o cromatograma do extrato de solo SQ5. A identificação do pico do contaminante p,p'-DDD foi feita através da comparação dos tr, ou seja, este pico foi detetado, pois apresentava o mesmo tr dos picos do contaminante p,p'-DDD das soluções padrão de 25 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

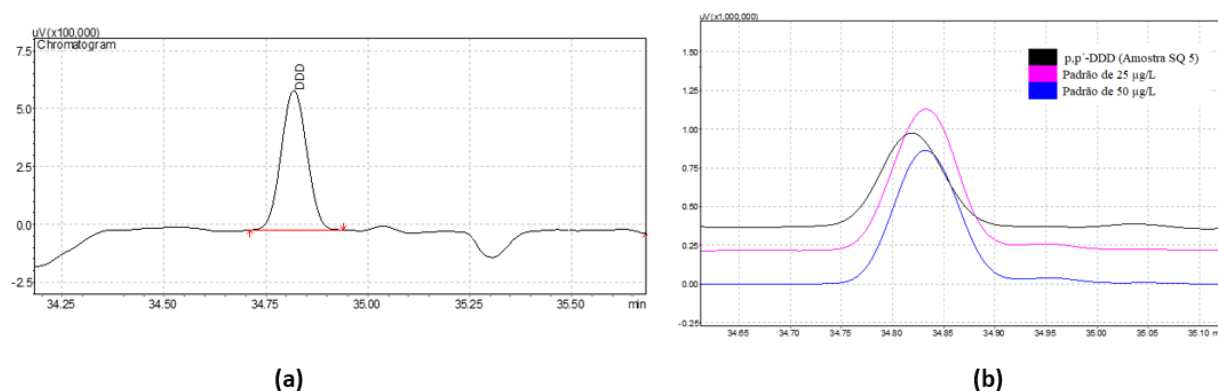


Figura 5. 4 -Identificação do pico do contaminante p,p'-DDD. a) Cromatograma da amostra SQ5. b) Sobreposição dos cromatogramas SQ5, padrão de 25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e padrão de 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

A tabela 5.7 apresenta as concentrações dos analitos quantificados nas amostras de solo através da curva de calibração em matriz..

Tabela 5. 7-Valores determinados para os contaminantes quantificados nas amostras de solo.

Amostra	Contaminantes	[analito] µg.kg ⁻¹	LOD	LOQ	RSD(%)
SQ5	Cipermetrina	7,06	1,71	5,69	4
	p,p'-DDD	<LOQ			3
SH1	PCB 101	20,26	1,57	5,23	3
SH2	Aldrina	26,62	2,21	7,37	13
SH3	Cipermetrina	2,29	1,71	5,69	6
SH6	p,p'-DDE	65,54	1,78	5,92	2
	BDE100	8,33	2,16	7,20	6
	Cialotrina (isómero 1)	<LOQ			14
	Aldrina	<LOQ			4
SH7	Dieldrina	<LOQ			2
	Cialotrina (isómero 1)	<LOQ			7
SH8	Cialotrina (isómero 1)	<LOQ			4
SH9	Cialotrina (isómero 1)	<LOQ			4
	Cipermetrina	10,41	1,71	5,69	15
	Cialotrina (isómero 1)	<LOQ			18
SH10	Cialotrina (isómero 1)	3,48	1,78	5,94	10
	BDE 154	3,30	2,40	7,99	7
SC4	PCB 101	13,88	1,57	5,23	3
	Cialotrina (isómero 1)	9,50	1,78	5,94	2
SC5	Cialotrina (isómero 1)	<LOQ			3
SC8	Cialotrina (isómero 1)	<LOQ			3
SC9	Cipermetrina	12,65	1,71	5,69	7
	BDE 154	24,41	2,40	7,99	6
SC10	Cipermetrina	<LOQ			5
SC10	Deltametrina (isómero 2)	<LOQ			3

Das 22 amostras de solo, em 15 amostras foram identificados contaminantes, como é possível verificar na tabela 5.7. Para algumas identificações não foi possível determinar as concentrações, pois nestes casos os valores das concentrações estavam acima do LOD e abaixo do LOQ, sendo assim estes compostos podem ser detetados, mas não quantificados. Os poluentes

encontrados nas amostras de solo estão relacionados, na tabela 5.8, com a sua classe e a sua principal função.

Tabela 5. 8-Contaminantes identificados e as suas principais funções.

	Contaminante	Função
OCP	p,p'-DDD	Pesticida
	Dieldrina	Pesticida
	Aldrina	Pesticida
	p,p'-DDE	Pesticida
Pyr	Deltametrina (isómero 2)	Pesticida
	Cialotrina (isómero 1)	Pesticida
	Cipermetrina	Pesticida
BDE	BDE 154	Retardante de chama
	BDE100	Retardante de chama
PCB	PCB 101	Estabilidade e resistência

Nos anos 80, conforme o Decreto-Lei no 347/88 e a Portaria no 660/88 os OCPs foram proibidos em Portugal, exceto o lindano, o metoxicloro e endossulfão, que foram proibidos pela UE em 2002, 2003, 2007, respetivamente. Apesar de serem proibidos estes contaminantes ainda são encontrados no solo. Os OCPs persistem nos solos porque não são lixiviados devido à sua lipofilicidade e forte afinidade com a matéria orgânica presente no solo[77].

Os pesticidas p,p'-DDE e aldrina foram quantificados com 65,54 e 26,62 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ respetivamente nas amostras de solo SH2 e SH6 (Tabela 5.7). Verifica-se na tabela 5.1 que os solos SH2 e SH6 apresentam 9,98 e 15,19% de %W, respetivamente, uma vez que os pesticidas referidos são hidrofóbicos, a adsorção e persistência no solo será facilitada através das interações hidrofóbicas[61].

González *et al.* (2022), estudaram 14 amostras de solo de vinha nas ilhas Canárias, o método utilizado foi baseado na extração QuEChERS para determinar 218 pesticidas e 49 POPs. Como resultado foram quantificados 63 pesticidas diferentes que ocorreram 189 vezes nas 14 amostras de solos de vinha, com uma média global de 5,8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Os pesticidas mais frequentes foram PCB 28, folpete e o p,p'-DDE[86].

Binter *et al.* (2022), investigaram qual efeito cognitivo seria causado em crianças e adolescente expostas ao p,p'-DDT e ao p,p'-DDE. Foram estudados 95 adolescentes de famílias de origem mexicana, moradores de uma comunidade agrícola de *Salinas Valley* na Califórnia. Com este trabalho foi possível concluir que a exposição infantil ao p,p'-DDT e p,p'-DDE pode ter impacto negativo, contribuindo para uma função cognitiva mais deficiente[87].

Relativamente aos compostos Pyr identificados, a deltametrina é um pesticida amplamente utilizado na agricultura e no controlo de pulgas em animais [88]. A cialotrina é um dos pesticidas mais utilizados no mundo, pois possui vantagens tais como: largo espectro inseticida, alta atividade inseticida, baixa persistência ambiental e baixa toxicidade para humanos e animais [89]. A cipermetrina é um pesticida apolar, facilmente adsorvido e fixado pelo solo, motivo pelo qual este contaminante está presente em ambientes terrestres. É importante a monitorização deste pesticida no solo, uma vez que este possui potencial efeito de desregulação endócrina [90]. Lu (2010), estudou amostras de solo e de água numa região produtora de vegetais nas Filipinas, através deste estudo também foi possível quantificar $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de cialotrina e cipermetrina nos solos[91].

Os POPs, tais como PCBs e PBDEs têm sido amplamente detetados em vários meios ambientais. Resíduos de materiais eletrónicos, do inglês *e-waste*, são uma ameaça para o planeta, uma vez que além da poluição por plásticos ainda irá poluir o solo com os aditivos presentes nestes materiais. Estudos mostram que o solo é um dos meios onde existe a maior incidência de PCBs, entretanto, também são encontrados no ar, águas subterrâneas e águas superficiais [69]. Estes poluentes podem ser bioacumulados nos seres humanos através de cadeias alimentares e causar efeitos adversos. Investigadores analisaram todos os congêneres do PCB nos solos agrícolas recolhidos em toda a China em 2016, como resultado as concentrações de $\Sigma_{209}\text{PCBs}$ nos solos variaram de 64,3 a 4358 pg.g^{-1} (média: 427 pg.g^{-1}) [92]. O aditivo PCB 101 foi quantificado nas amostras SH1 (20,26 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) e SC5 (13,88 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). Conforme a tabela 5.1 os solos SH1 e SC5 apresentaram pH ácido, 3,88 e 4,87, respetivamente, consoante a literatura quanto mais ácido o solo, maior será a degradação dos plásticos, a degradação dos plásticos irá favorecer a sorção deste aditivo no solo[83].

O BDE 154 é normalmente utilizado como aditivo retardador de chama em espumas de poliuretano, plásticos e utensílios domésticos [93]. Geralmente, todos os PBDEs estão associados a efeitos negativos na saúde de animais, incluindo neurotoxicidade, toxicidade reprodutiva e

carcinogenicidade. Estes contaminantes passam por bioacumulação para os animais quando estes entram em contacto com lixo eletrónico, plástico, têxteis, etc.[92]. Conforme a tabela 5.7, a amostra SC9 apresenta 24,41 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de BDE 154, quanto maior a quantidade de água no solo maior a probabilidade de aditivos relacionados a MPs adsorverem devido às interações hidrofóbicas, o solo SC9 apresenta 16,15%W o que irá favorecer a adsorção deste contaminante.

6. Conclusões e Trabalho Futuro

Os parâmetros físico químicos analisados foram pH, humidade e matéria orgânica. Os valores de pH determinados variaram entre 3,88 e 6,79, o teor de humidade variou entre 3,12 e 28,02% e o teor de matéria orgânica variou entre 0,67% e 3,01%.

Para validação do método de extração foram estudados 37 compostos de quatro famílias de contaminantes Pyr, PBDE, PCB e OCP. A extração foi feita pelo método QuEChERS e a deteção por GC-ECD. Todos os contaminantes apresentaram MF, desta forma para determinar as concentrações dos analitos nas amostras de solo utilizou-se a curva de calibração em matriz. Relativamente aos valores de %RE, 34 contaminantes apresentaram o valor pretendido (70-120%), os resultados variaram entre 62 e 143%, os valores de 62, 138 e 143% foram considerados aceitáveis, uma vez que se encontram muito próximos do valor mínimo e máximo da referência e podem ter sido influenciados pela matriz. Será necessário num trabalho futuro otimizar a etapa de extração e limpeza visando minimizar o MF e obter melhores resultados de %RE para os contaminantes BDE 99, PCB 153 e PCB 183, pois estes apresentaram os valores fora do intervalo recomendado.

Os LOQs variaram entre 2,15 e 11,87 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e os LODs variaram entre 0,64 e 3,56 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. O pesticida cipermetrina foi detetado na amostra SC10 e quantificado nas amostras SQ5, SH3, SH10 e SC9, as concentrações foram de 7,06, 2,29, 10,41 e 12,65 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, respetivamente. O pesticida p,p'-DDD foi detetado na amostra SQ5. O aditivo PCB 101 foi quantificado nas amostras SH1 e SC5, as concentrações foram de 20,26 e 13,88 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, respetivamente. O OCP aldrina foi detetado na amostra SH7, sendo quantificado na amostra SH2 com uma concentração de 26,62 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. O pesticida cialotrina foi detetado nas amostras SH6, SH8, SH9, SH10 e SC8 e quantificado nas amostras SC4 e SC5 com concentrações de 3,48 e 9,50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, respetivamente. O retardador de chama BDE 154 foi quantificado nas amostras SC4 e SC9, as concentrações foram de 3,30 e 24,41 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, respetivamente. O OCP p,p'-DDE foi quantificado na amostra SH6 com a concentração de 65,54 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. O retardador de chama BDE 100 foi quantificado na amostra SH6 com a concentração de 8,33 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. O pesticida dieldrina foi detetado na amostra SH7 e o deltametrina foi detetado na amostra SC10. Com o intuito de confirmar a presença destes contaminantes nas amostras de solo sugere-se como trabalho futuro a análise por GC-MS.

Após este estudo, conclui-se que o solo analisado possui diferentes contaminantes, dentre eles, OCPs, Pys, BDEs e PCBs. A contaminação do solo por aditivos de plásticos, tais como BDEs e PCBs, está diretamente relacionada com a poluição por plásticos, uma vez que através da degradação e mecanismos de sorção é possível que estes contaminantes passem dos MPs para o solo. A presença dos OCPs no solo do PNM, reforça o que já está descrito na literatura relativamente a persistência destes poluentes no meio ambiente. A proibição dos OCPs, trouxe uma maior utilização dos Pys, como consequência, foi possível também determinar pesticidas desta classe nos solos analisados.

Os resultados obtidos mostraram que as técnicas analíticas utilizadas apresentaram bom desempenho na análise simultânea de diversos contaminantes de diferentes famílias. A ocorrência dos MPs, aditivos e outros contaminantes em ambientes terrestres ainda é pouco explorado, entretanto é, sem dúvida, necessário alocar esforços com o objetivo de minimizar os impactos destes poluentes no solo.

Bibliografia

- [1] C. B. Crawford, B. Quinn, The emergence of plastics, em *Microplastic Pollutants*, Elsevier, 2017, pp. 1–17. doi: 10.1016/B978-0-12-809406-8.00001-3.
- [2] C. B. Crawford, B. Quinn, Physiochemical properties and degradation, em *Microplastic Pollutants*, Elsevier, 2017, pp. 57–100. doi: 10.1016/B978-0-12-809406-8.00004-9.
- [3] C. B. Crawford, B. Quinn, Plastic production, waste and legislation, em *Microplastic Pollutants*, Elsevier, 2017, pp. 39–56. doi: 10.1016/B978-0-12-809406-8.00003-7.
- [4] Plastic Europe, Plastics -The facts 2018, Plastics Europe, pp. 1–57, 2018.
- [5] M. Kumar *et al.*, Microplastics as pollutants in agricultural soils, *Environmental Pollution*, vol. 265. Elsevier Ltd, 2020, pp. 1-11. doi: 10.1016/j.envpol.2020.114980.
- [6] Imagem comercial de garrafas PETs. <https://br.depositphotos.com/stock-photos/tereftalato-de-polietileno.html>. Acedido em: 15 de janeiro de 2022.
- [7] G. R. Duarte, Recobrimentos de poli (tereftalato de etileno) depositados em aço por aspersão térmica a partir de pós obtidos em diferentes condições de moagem, vol. 13, pp. 198–204, 2003.
- [8] Imagem comercial de polietileno-de-alta densidade <https://www.lopesneto.ind.br/produtos/polietileno-de-alta-densidade-pead/>. Acedido em: 15 de janeiro de 2022.
- [9] C. M. C. Bonelli, Polietileno de alta densidade Comportamento Térmico, Mecânico e Morfológico de Compósitos de Polietileno de Alta Densidade Reciclado com Fibra de Piaçava, *Mano Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 15, pp. 256–260, 2005.
- [10] Imagem comercial PVC. <http://blog.plastolandia.com.br/conheca-as-caracteristicas-individuais-do-tubo-de-pvc-industrial-e-suas-aplicacoes/> Acedido em: 15 de janeiro de 2022.
- [11] M.C. Ana, P. K. Alan. Valiação da degradação do poli (cloreto de vinila) (pvc) no meio ambiente. (versão PDF do documento descarregada em 15 de janeiro de 2002).

- [12] Imagem comercial Polietileno de baixa densidade. <http://www.premiumpack.com.br/filmes-em-polietileno-de-baixa-densidade>. Acedido em: 15 de janeiro de 2022.
- [13] E. Hillig, S. Iwakiri, M. Z. Andrade, e A. J. Zattera, Caracterização de compósitos produzidos com polietileno de alta densidade (HDPE) e serragem da indústria moveleira, *Revista Árvore*, vol. 32, n. 2, pp. 299–310, 2008, doi: 10.1590/S0100-67622008000200013.
- [14] Imagem comercial Tampas Flip-top [.http://file.abiplast.org.br/download/links/links%202014/materiais_plasticos_para_site_vf_2.pdf](http://file.abiplast.org.br/download/links/links%202014/materiais_plasticos_para_site_vf_2.pdf). Acedido em: 15 de janeiro de 2022.
- [15] S. M. Luz, A. R. Gonçalves, e A. P. Del’Arco Jr, Microestrutura e propriedades mecânicas de compósitos de polipropileno reforçado com celulose de bagaço e palha de cana, *Matéria (Rio de Janeiro)*, vol. 11, n. 2, pp. 101–110, 2006, doi: 10.1590/S1517-70762006000200004.
- [16] Imagem comercial Poliestireno. <http://metalesnoferrososyplasticos.blogspot.com/2014/06/poliestireno-ps.html>. Acedido em: 15 de janeiro de 2022.
- [17] L. Jesus, R. Zattera, A. Amico. Propriedades mecânicas de compósitos de poliestireno reforçado com celulose de bagaço de cana. *Revista Interdisciplinar de Pesquisa em Engenharia*. 24 (3), vol. 24, 2015.
- [18] Imagem comercial policarbonato-compacto. <https://maxicril.webnode.pt/produtos/policarbonato-compacto/> Acedido em: 15 de janeiro de 2021.
- [19] Cavalcante S., Barbosa J. D. V., J. Caracterização térmica, mecânica e morfológica da blenda pc/abs com modificador de impacto. (versão PDF do documento descarregada em 15 de janeiro de 2002).
- [20] Imagem comercial acrílico. <http://acrilsul.com/acrilico-cast/> Acedido em: 15 de janeiro de 2021.

- [21] E. L. Costa, A. C. Milhomem, R. M. de Moura Filho, e R. S. Lino Júnior, Polymethyl methacrylate (Linnea Safe) causes local inflammatory response after intramuscular implant in BALB/c mice but it is not observed in distant organs, *J Bras Patol Med Lab*, 2016, doi: 10.5935/1676-2444.20160058.
- [22] Imagem comercial revestimento teflon. <https://www.greelane.com/pt/ci%c3%aancia-tecnologia-matem%c3%a1tica/ci%c3%aancia/how-teflon-sticks-to-nonstick-pans-608925/> Acedido em:15 de janeiro de 2022.
- [23] P. G. Strabelli, V. F. Sciuti, F. S. Montilha, L. B. Canto, e R. B. Canto, Influência de variáveis de sinterização na microestrutura de peças de PTFE moldadas por prensagem isostática, *Polímeros*, vol. 24, n. 5, pp. 612–619, 2014, doi: 10.1590/0104-1428.1660.
- [24] Imagem comercial ABS. <http://www.maispolimeros.com.br/2018/09/24/plastico-abs-e-suas-principais-caracteristicas-e-aplicacoes/> Acedido em:15 de janeiro de 2022.
- [25] J. G. M. A. Pedote, Avaliação das propriedades do compósito de acrilonitrila-butadieno-estireno carregado com fibra de palmeira real australiana. Tese de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2020.
- [26] Imagem comercial fio de Nylon. <https://www.oceanob2b.com/fio-de-nylon-0-60-mm-com-100-metros-p1007276> Acedido em:15 de janeiro de 2022.
- [27] A. G. Vitor, J. B. S. Lívio, C. B. Márcia, E. S. B. Rosario. Compósitos de poliéster com nanofibras de nanocompositos de poliamida 66/nanotubos de carbono multicamada.
- [28] Imagem comercial roupa de mergulho. <http://www.worubber.com/7448-2/>(versão PDF do documento descarregada em 15 de janeiro de 2002).
- [29] B. D. A. Napolitano, A. F. Martins, L. L. Y. Visconte, R. C. R. Nunes, J. Carlos, e M. Suarez, Compósitos de Borracha Natural ou Policloropreno e Celulose II: Influência do Tamanho de Partícula, 2004.
- [30] Y. Xiang *et al.*, Microplastics and environmental pollutants: Key interaction and toxicology in aquatic and soil environments, *J Hazard Mater*, vol. 422, p. 126843, 2022, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.126843.

- [31] C. B. Crawford, B. Quinn, Microplastics, standardisation and spatial distribution, em *Microplastic Pollutants*, Elsevier, 2017, pp. 101–130. doi: 10.1016/b978-0-12-809406-8.00005-0.
- [32] B. Boots, C. W. Russell, e D. S. Green, Effects of Microplastics in Soil Ecosystems: Above and below Ground», *Environ Sci Technol*, vol. 53, n. 19, pp. 11496–11506, 2019, doi: 10.1021/acs.est.9b03304.
- [33] B. Zhou *et al.*, 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, 2020, doi: 10.1016/j.jhazmat.2019.121814.
- [34] M. Kumar *et al.*, Microplastics as pollutants in agricultural soils, *Environmental Pollution*, vol. 265. Elsevier Ltd, 2020. doi: 10.1016/j.envpol.2020.114980.
- [35] A. A. S. Machado, W. Kloas, C. Zarfl, S. Hempel, M. C. Rillig, Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems, *Global Change Biology*, vol. 24, n. 4. Blackwell Publishing Ltd, pp. 1405–1416, 2018. doi: 10.1111/gcb.14020.
- [36] M. Liu *et al.*, Microplastic and mesoplastic pollution in farmland soils in suburbs of Shanghai, China, *Environmental Pollution*, vol. 242, pp. 855–862, 2018, doi: 10.1016/j.envpol.2018.07.051.
- [37] Y. Liang, A. Lehmann, G. Yang, E. F. Leifheit, e M. C. Rillig, Effects of Microplastic Fibers on Soil Aggregation and Enzyme Activities Are Organic Matter Dependent, *Front Environ Sci*, vol. 9, 2021, pp. 1-12. doi: 10.3389/fenvs.2021.650155.
- [38] T. Zhao, Y. M. Lozano, e M. C. Rillig, Microplastics Increase Soil pH and Decrease Microbial Activities as a Function of Microplastic Shape, Polymer Type, and Exposure Time, *Front Environ Sci*, vol. 9, 2021, pp. 1-15-doi: 10.3389/fenvs.2021.675803.
- [39] Y. Yu *et al.*, A review of the reproductive toxicity of environmental contaminants in *Caenorhabditis elegans*, *Hygiene and Environmental Health Advances*, vol. 3, p. 100007, Set. 2022, doi: 10.1016/j.heha.2022.100007.
- [40] M. Zhang *et al.*, Combined effects of microplastics and other contaminants on earthworms: A critical review, *Applied Soil Ecology*, vol. 180, 2022, doi: 10.1016/j.apsoil.2022.104626.

- [41] R. Sührling *et al.*, Co-contaminants of microplastics in two seabird species from the Canadian Arctic, *Environmental Science and Ecotechnology*, vol. 12, 2022, pp. 1-10. doi: 10.1016/j.esse.2022.100189.
- [42] J. Chang *et al.*, A critical review on interaction of microplastics with organic contaminants in soil and their ecological risks on soil organisms, *Chemosphere*, vol. 306, Nov. 2022, pp. 1-12. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.135573.
- [43] O. H. Fred-Ahmadu, G. Bhagwat, I. Oluyoye, N. U. Benson, O. O. Ayejuyo, e T. Palanisami, Interaction of chemical contaminants with microplastics: Principles and perspectives, *Science of the Total Environment*, vol. 706. Elsevier B.V., 2020, pp 1-10. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135978.
- [44] Y. Chen, X. Liu, Y. Leng, e J. Wang, Defense responses in earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to low-density polyethylene microplastics in soils, *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 187, 2020, pp. 1-12. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.109788.
- [45] A. Bănăduc, J. L. Lyche, V. Berg, e A. Burcea, Assessment and monitoring of persistent organic pollutants in lotic ecosystems methodological guide Pollution in the Subarctic View project Parasitology View project, 2016, pp. 15-20.
- [46] M. Jang *et al.*, Spatial distribution and temporal trends of classical and emerging persistent organic pollutants (POPs) in black-tailed gull (*Larus crassirostris*) eggs from Korea, *Science of the Total Environment*, vol. 845, 2022, pp.1-10. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.157244.
- [47] G. Saini, S. Pant, T. Alam, A. A. Kazmi, Occurrence and fate of endocrine disrupting chemicals in ASP based sewage treatment plant in Hardwar, *Water Science and Technology*, vol. 74, n. 5, pp. 1039–1050, Set. 2016, doi: 10.2166/wst.2016.238.
- [48] A. Ismanto, T. Hadibarata, R. A. Kristanti, L. Maslukah, N. Safinatunnajah, W. Kusumastuti, Endocrine disrupting chemicals (EDCs) in environmental matrices: Occurrence, fate, health impact, physio-chemical and bioremediation technology, *Environmental Pollution*, vol. 302,2022, doi: 10.1016/j.envpol.2022.119061.
- [49] Food and agriculture organization, FAO. World health organization, WHO, International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides Guidelines on Developing a

- Reporting System for Health and Environmental Incidents Resulting from Exposure to Pesticide, 2009, pp. 6-10.
- [50] World health organization, WHO. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, 2019, pp. 1-6.
- [51] M. A. Hassaan e A. el Nemr, Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques, *Egyptian Journal of Aquatic Research*, vol. 46, n. 3. National Institute of Oceanography and Fisheries, pp. 207–220, 2020. doi: 10.1016/j.ejar.2020.08.007.
- [52] G. M. M. A. Hasan, A. K. Das, e M. A. Satter, «Multi residue analysis of organochlorine pesticides in fish, milk, egg and their feed by GC-MS/MS and their impact assessment on consumers health in Bangladesh», *NFS Journal*, vol. 27, pp. 28–35, 2022, doi: 10.1016/j.nfs.2022.03.003.
- [53] E. M. Pitzer, M. T. Williams, e C. Vorhees, Effects of pyrethroids on brain development and behavior: Deltamethrin, *Neurotoxicology and Teratology*, vol. 87. Elsevier Inc., Set. 01, 2021, pp. 1-10. doi: 10.1016/j.ntt.2021.106983.
- [54] T. Wang, C. Yu, Q. Chu, F. Wang, T. Lan, e J. Wang, Adsorption behavior and mechanism of five pesticides on microplastics from agricultural polyethylene films, *Chemosphere*, vol. 244, 2020, pp. 1-10. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125491.
- [55] X. Chen, X. Gu, L. Bao, S. Ma, e Y. Mu, Comparison of adsorption and desorption of triclosan between microplastics and soil particles, *Chemosphere*, vol. 263, 2021, pp. 1-10. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127947.
- [56] B. Xu *et al.*, Contrasting effects of microplastics on sorption of diazepam and phenanthrene in soil», *J Hazard Mater*, vol. 406, 2021, pp. 1-11. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.124312.
- [57] S. A. Carr, J. Liu, e A. G. Tesoro, Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants, *Water Res*, vol. 91, pp. 174–182, 2016, doi: 10.1016/j.watres.2016.01.002.
- [58] J. P. G. L. Frias, V. Otero, e P. Sobral, Evidence of microplastics in samples of zooplankton from Portuguese coastal waters, *Mar Environ Res*, vol. 95, pp. 89–95, 2014, doi: 10.1016/j.marenvres.2014.01.001.

- [59] A. A. Horton *et al.*, Acute toxicity of organic pesticides to *Daphnia magna* is unchanged by co-exposure to polystyrene microplastics, *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 166, pp. 26–34, 2018, doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.09.052.
- [60] Y. Yu, W. Y. Mo, e T. Luukkonen, Adsorption behaviour and interaction of organic micropollutants with nano and microplastics – A review, *Science of the Total Environment*, vol. 797. Elsevier B.V., Nov. 25, 2021, pp. 1-10. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.149140.
- [61] F. G. Torres, D. C. Dioses-Salinas, C. I. Pizarro-Ortega, e G. E. De-la-Torre, Sorption of chemical contaminants on degradable and non-degradable microplastics: Recent progress and research trends, *Science of the Total Environment*, vol. 757. Elsevier, 2021, pp. 1-10. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143875.
- [62] L. Lei *et al.*, Polystyrene (nano)microplastics cause size-dependent neurotoxicity, oxidative damage and other adverse effects in *Caenorhabditis elegans*, *Environ Sci Nano*, vol. 5, n. 8, pp. 2009–2020, 2018, doi: 10.1039/c8en00412a.
- [63] E. H. H. Lwanga *et al.*, Field evidence for transfer of plastic debris along a terrestrial food chain», *Sci Rep*, vol. 7, n. 1, 2017, pp. 1-10. doi: 10.1038/s41598-017-14588-2.
- [64] L. Hu, Y. Zhao, e H. Xu, Trojan horse in the intestine: A review on the biotoxicity of microplastics combined environmental contaminants, *Journal of Hazardous Materials*, vol. 439. Elsevier, 2022, pp. 1-10. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.129652.
- [65] J. Qin, P. F. Xia, X. Z. Yuan, e S. G. Wang, Chlorine disinfection elevates the toxicity of polystyrene microplastics to human cells by inducing mitochondria-dependent apoptosis, *J Hazard Mater*, vol. 425, 2022, pp.1-15. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127842.
- [66] L. Correia Sá, V. C. Fernandes, C. Calhau, V. Fernandes Domingues, e C. D. Matos, Determination of organochlorine pesticides in agricultural soils applying quechers, c-eed and gc-ms/ms determinação de pesticidas organoclorados em solos agrícolas utilizando a metodologia QuEChERS, GC-ECD e GC-MS, 2012, pp.1-8.
- [67] C. B. Crawford, B. Quinn, Microplastic separation techniques, em *Microplastic Pollutants*, Elsevier, 2017, pp. 203–218. doi: 10.1016/b978-0-12-809406-8.00009-8.

- [68] L. Yang, Y. Zhang, S. Kang, Z. Wang, e C. Wu, Microplastics in soil: A review on methods, occurrence, sources, and potential risk, *Science of the Total Environment*, vol. 780. Elsevier B.V., 2021, pp 1-10. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.146546.
- [69] V. C. Fernandes, V. F. Domingues, N. Mateus, e C. Delerue-Matos, Multiresidue pesticides analysis in soils using modified QuEChERS with disposable pipette extraction and dispersive solid-phase extraction, *J Sep Sci*, vol. 36, n. 2, pp. 376–382, 2013, doi: 10.1002/jssc.201200673.
- [70] V. C. Fernandes, W. Luts, C. Delerue-Matos, e V. F. Domingues, 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, n. 10, pp. 3260–3266, 2020, doi: 10.1021/acs.jafc.9b07041.
- [71] D. Orazbayeva, A. Muratuly, M. Bektassov, A. Zhakupbekova, e B. Kenessov, Chromatographic determination of pesticides in soil: Current trends in analysis and sample preparation, *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, vol. 35. Elsevier, 2022, pp. 1-17. doi: 10.1016/j.teac.2022.e00174.
- [72] A. R. Godfrey *et al.*, Use of QuEChERS as a manual and automated high-throughput protocol for investigating environmental matrices, *Chemosphere*, vol. 308, 2022, pp. 1-10 doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.136313.
- [73] B. Jin, L. Xie, Y. Guo, e G. Pang, Multi-residue detection of pesticides in juice and fruit wine: A review of extraction and detection methods, *Food Research International*, vol. 46, n. 1. pp. 399–409, 2012. doi: 10.1016/j.foodres.2011.12.003.
- [74] Q. Miao, W. Kong, S. Yang, e M. Yang, Rapid analysis of multi-pesticide residues in lotus seeds by a modified QuEChERS-based extraction and GC-ECD, *Chemosphere*, vol. 91, n. 7, pp. 955–962, 2013, doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.01.104.
- [75] H. Liu, W. Kong, B. Gong, Q. Miao, Y. Qi, e M. Yang, Rapid analysis of multi-pesticides in *Morinda officinalis* by GC-ECD with accelerated solvent extraction assisted matrix solid phase dispersion and positive confirmation by GC-MS, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, vol. 974, pp. 65–74, 2015, doi: 10.1016/j.jchromb.2014.10.017.

- [76] I. M. Valente, L. M. Gonçalves, e J. A. Rodrigues, Another glimpse over the salting-out assisted liquid-liquid extraction in acetonitrile/water mixtures, *J Chromatogr A*, vol. 1308, pp. 58–62, 2013, doi: 10.1016/j.chroma.2013.08.014.
- [77] L. Correia-Sá, V. C. Fernandes, M. Carvalho, C. Calhau, V. M. F. Domingues, e C. Delerue-Matos, Optimization of QuEChERS method for the analysis of organochlorine pesticides in soils with diverse organic matter, *J Sep Sci*, vol. 35, n. 12, pp. 1521–1530, 2012, doi: 10.1002/jssc.201200087.
- [78] Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas. Parque Natural de Montesinho. (versão PDF do documento descarregada em 04 de abril de 2022).
- [79] USEPA, Method 9045D Soil and Waste pH in Test Methods for Evaluating Solid Waste, SW846, vol. 4, 2004, pp 1-5.
- [80] NP 84: 1965. Solos. Determinação do teor de água.
- [81] B. J. Jones, Laboratory Guide for Conducting Soil Tests and Plant Analysis.
- [82] A. Wallace, Soil acidification from use of too much fertilizer, *Commun Soil Sci Plant Anal*, vol. 25, n. 1–2, pp. 87–92, Jan. 1994, doi: 10.1080/00103629409369010.
- [83] M. C. Ariza-Tarazona *et al.*, Microplastic pollution reduction by a carbon and nitrogen-doped TiO₂: Effect of pH and temperature in the photocatalytic degradation process, *J Hazard Mater*, vol. 395, 2020, pp. 1-11 doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122632.
- [84] T. Pihlström *et al.*, Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed SANTE 11312, 2021.
- [85] Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (versão PDF do documento descarregada em 1 de outubro de 2002), 2014.
- [86] P. A. González, E. P. Dans, A. C. A. Dacal, M. Z. Peña, e O. P. Luzardo, Differences in the levels of sulphites and pesticide residues in soils and wines and under organic and conventional production methods, *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 112, 2022, pp. 1-10, doi: 10.1016/j.jfca.2022.104714.

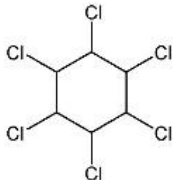
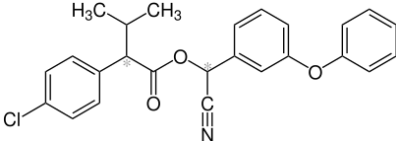
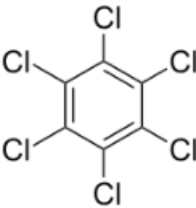
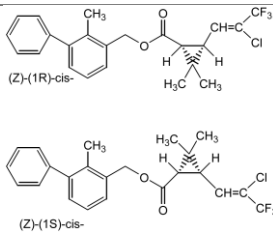
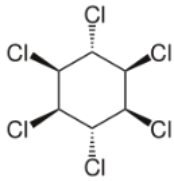
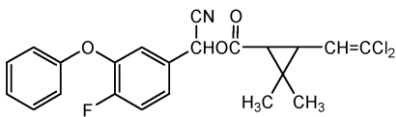
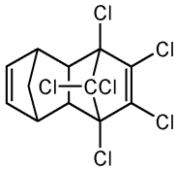
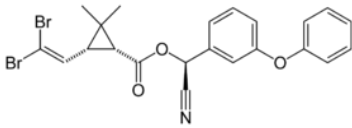
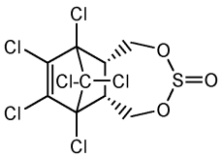
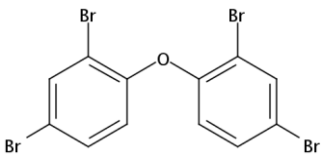
- [87] A. C. Binter *et al.*, Exposure to DDT and DDE and functional neuroimaging in adolescents from the CHAMACOS cohort, *Environ Res*, vol. 212, 2022, pp 1-10, doi: 10.1016/j.envres.2022.113461.
- [88] C. Sams e K. Jones, Biological monitoring for exposure to deltamethrin: A human oral dosing study and background levels in the UK general population, *Toxicol Lett*, vol. 213, n. 1, pp. 35–38, 2012, doi: 10.1016/j.toxlet.2011.04.014.
- [89] D. Bian *et al.*, Evaluation of tolerance to λ -cyhalothrin and response of detoxification enzymes in silkworms reared on artificial diet, *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 232, 2022, pp. 1-11. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113232.
- [90] X. Z. Zhu *et al.*, Analysis of reproductive damage in earthworms (*Amyntas corticis*) exposed to cypermethrin, *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 244, 2022, pp. 1-10. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.114038.
- [91] J. L. D. P. Lu, Multipesticide residue assessment of agricultural soil and water in major farming areas in Benguet, Philippines, *Arch Environ Contam Toxicol*, vol. 59, n. 2, pp. 175–181, 2010, doi: 10.1007/s00244-010-9478-5.
- [92] S. Mao *et al.*, The occurrence and sources of polychlorinated biphenyls (PCBs) in agricultural soils across China with an emphasis on unintentionally produced PCBs, *Environmental Pollution*, vol. 271, 2021, doi: 10.1016/j.envpol.2020.116171.
- [93] F. R. Abe, A. Á. S. de Oliveira, R. V. Marino, T. C. R. Rialto, D. P. Oliveira, D. J. Dorta, A comparison of developmental toxicity of brominated and halogen-free flame retardant on zebrafish, *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 208, 2021, doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.111745.

ANEXOS

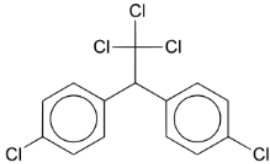
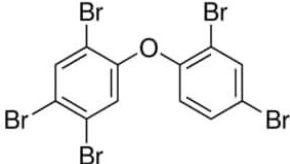
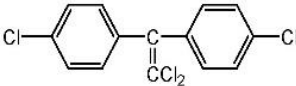
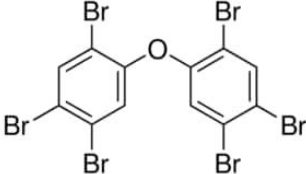
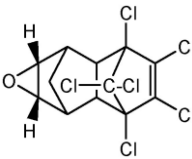
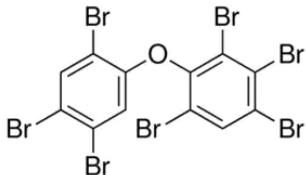
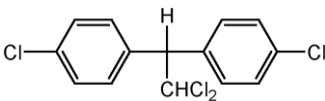
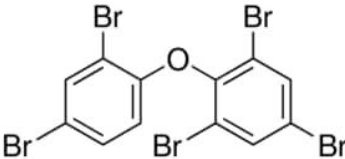
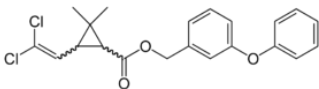
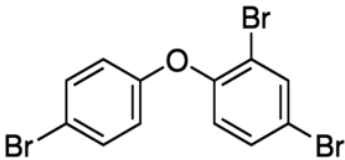
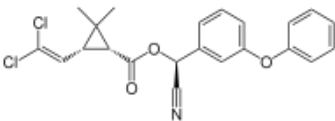
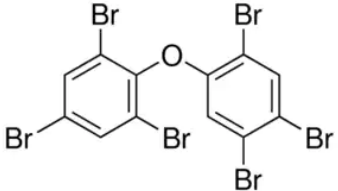
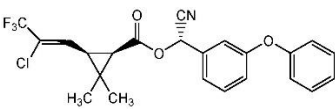
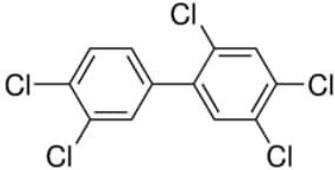
Anexo A

A tabela A.1 apresenta as estruturas de todos os contaminantes utilizados para preparar as soluções padrão de 25 e 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$

Tabela A. 1-Estrutura química dos contaminantes utilizados.

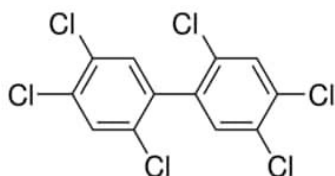
HCH		Fenvalerato	
HCB		Bifentrina	
Lindano		Ciflutrina	
Aldrina		Deltametrina	
α - endossulfão		BDE 47	

Continuação (Tabela A.1)

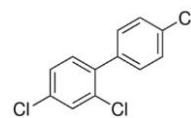
p,p'-DDT		BDE 99	
p,p'-DDE		BDE 153	
Dieldrina		BDE 183	
p,p'-DDD		BDE 100	
Permetrina		BDE 28	
Cipermetrina		BDE 154	
Cialotrina		PCB 118	

Continuação (Tabela A.1)

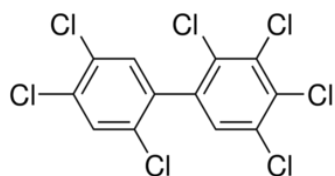
PCB 153



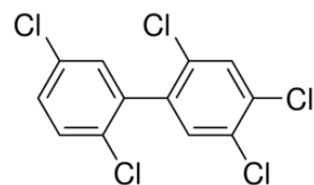
PCB 28



PCB 180



PCB 101



Anexo B

A Tabela B.1 apresenta todos os dados relativos a colheita das amostras.

Tabela B. 1-Dados da colheita das amostras de solo.

Amostra	Data	Local	Coordenadas de GPS *
1SC/1SH	14/10/2021	Sabariz	41°47'50,5"N 6°43'41,4"W
2SC/2SH	14/10/2021	Lindolfo	41° 50' 37,9"N 6°55' 44,9"W
3SC/3SH	14/10/2021	Pinela- zona mista	41° 53' 21,1"N 6°49' 43,1"W
4SC/4H	14/10/2021	Merize	-
5SC/5SH/5SQ	14/10/2021	Cabanclas	-
6SC/6SH	14/10/2021	Vale de cavage	41°50'34,9"N; 6°57'18,6"W
7SC/7SH	14/10/2021	Nuzedo de cima	-
8SC/8SH	14/10/2021	Aldeia quiraz	-
9SC/9SH	15/10/2021	Montesinho	41°56'54,2"N; 6°46'16,5"W
10SC/10SH	15/10/2021	Guadramil	-

*Para algumas das amostras não foi possível obter as coordenadas GPS.