

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



## **Estudo do Perfil de Macronutrientes em Espécies Vegetais Regadas com Águas Residuais Tratadas**

Joana Rita Pereira José

**Mestrado em Química**  
Especialização em Química

Dissertação orientada por:  
Doutora Cristina Maria Roque Ramiro de Oliveira  
Professor Doutor Manuel Matos

2024

# Agradecimentos

Gostaria de expressar o meu agradecimento a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho se tornasse possível. De entre eles um especial agradecimento para:

A Professora Cristina Oliveira e o Professor Manuel Matos pela orientação, dedicação, partilha de conhecimentos e pelas oportunidades de novas aprendizagens e divulgação do meu trabalho.

A Professora Ana Barreiros por toda a disponibilidade e ajuda nos ensaios de germinação e de crescimento das plantas.

O professor Hugo Silva pela transmissão de conhecimentos sobre a técnica de GFAAS.

O professor Nelson Nunes pela ajuda com o sistema Arduino.

A FCUL por me ter acolhido durante os últimos cinco anos e ter sido como uma segunda casa.

O ISEL pela utilização do laboratório e equipamentos.

A ETAR de Chelas por cederem água residual tratada para que este projeto fosse possível.

A minha família, em especial para a minha mãe, pai, irmão e avós pelo apoio e amor incondicionais, pela paciência, compreensão e incentivo. Por apoiarem as minhas decisões e acreditarem sempre em mim.

Ao João, por me apoiar, motivar e ajudar em tudo o que podia. Por me ouvir, aconselhar e animar, mesmo nos dias menos bons.

Aos meus amigos Margarida e Guedes por todo o apoio e incentivo.

A todos, o meu OBRIGADA.

# Resumo

Com o aumento das necessidades hídricas a nível mundial e da escassez de água em algumas regiões, surge a necessidade de encontrar mecanismos para superar esta carência, nomeadamente no setor agrícola. Uma das soluções passa pela utilização na rega de águas residuais tratadas (ART) que, devido à sua composição rica em nutrientes essenciais ao desenvolvimento de culturas, contribui para a diminuição da fertilização das mesmas. Contudo, devido à recuperação de águas residuais provenientes da indústria, as ART podem estar contaminadas com metais, tornando-se prejudiciais para o desenvolvimento de hortícolas e para a saúde pública.

Neste trabalho, estudou-se o efeito da utilização de ART tal como produzida pela ETAR e ART suplementada com os metais Cd, Cr, Ni e Pb, nas concentrações presentes no Decreto-Lei n.º 236/98, na germinação e no perfil de macronutrientes de cebolas e de cenouras já desenvolvidas. Tomou-se como referência a utilização de água da torneira.

Tanto para as cebolas como para as cenouras, não se observaram diferenças significativas na taxa de germinação e valores de biomassa e comprimento das plântulas entre sementes regadas com os diferentes tipos de água: água da torneira, ART e ART suplementada com metais.

No estudo da absorção de macronutrientes pelas cebolas, não se observaram diferenças devido à utilização de diferentes tipos de água. Para as cenouras, verificou-se que a rega com água da torneira resulta na menor absorção de cloreto, nitrato, fosfato e sulfato. Nas cenouras regadas com ART suplementada com metais tóxicos observa-se o maior teor de nutrientes. Em ambos os hortícolas não se observaram diferenças no teor de Pb absorvido pelos vegetais regados com os diferentes tipos de água.

Globalmente, a rega de cebolas e cenouras com ART, mesmo na presença dos metais estudados, apresenta viabilidade, podendo esta prática contribuir para o reaproveitamento das ART e, no caso das cenouras, para a diminuição da utilização de fertilizantes.

**Palavras-chave:** Água residual tratada; macronutrientes; vegetais; GFAAS, IC.

# Abstract

With the increase in water demand worldwide and the scarcity in some regions, there is a need to find different mechanisms to overcome this shortage, namely in the agricultural sector. One solution involves the use of treated wastewaters (TWW) for irrigation, which, due to its composition, rich of essential nutrients for crop development, contributes to reducing the need for fertilization. However, due to wastewater from industrial sources, TWW may be contaminated with heavy metals, becoming harmful for both crop development and public health.

In this study, the effect of using TWW like produced by the wastewater treatment plant and TWW supplemented with Cd, Cr, Ni, and Pb, at the concentrations specified in Decree-Law nr. 236/98, was investigated in the germination and macronutrient profile of developed onions and carrots. The use of tap water was considered as the reference.

For both onions and carrots, no significant differences were observed in the germination rate and values of biomass and length of seedlings when irrigated with different types of water: tap water, TWW, and TWW supplemented with metals.

In the study of macronutrient absorption by onions, no differences were observed due to the use of different types of water. For carrots, it was found that irrigation with tap water resulted in the lowest absorption of chloride, nitrate, phosphate and sulphate. Carrots irrigated with TWW supplemented with toxic metals exhibited the highest nutrient content. In both vegetables, no differences were observed in the lead content absorbed by plants irrigated with different types of water.

Overall, it is possible to irrigate onions and carrots with TWW, even in the presence of the toxic metals Cd, Cr, Ni, and Pb. This practice could contribute to the reuse of TWW and, in the case of carrots, reduce the use of fertilizers.

**Keywords:** Treated wastewater; macronutrients; vegetables; GFAAS; IC.

# Índice

Agradecimentos.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract .....	iv
Índice de figuras .....	viii
Índice de tabelas .....	xi
Lista de acrónimos e abreviaturas .....	xii
1. Introdução.....	1
1.1. Problemática e Objetivos.....	1
1.2. Reutilização das Águas Residuais Tratadas .....	2
1.2.1. Tratamento das águas residuais .....	2
1.2.2. Benefícios da reutilização de ART.....	3
1.2.3. Riscos da reutilização de ART .....	4
1.2.3.1. Riscos para a saúde pública.....	4
1.2.3.2. Riscos para o ambiente.....	5
1.2.4. Legislação.....	5
1.2.5. Exemplos da reutilização de ART.....	7
1.3. Metais tóxicos.....	8
1.3.1. Chumbo .....	8
1.3.2. Crómio.....	9
1.4. Macronutrientes.....	10
1.4.1. Nitrogénio.....	10
1.4.2. Fósforo.....	11
1.4.3. Enxofre .....	11
1.4.4. Cloro.....	11
1.5. Espécies estudadas .....	12
1.5.1. A cebola.....	12
1.5.2. A cenoura .....	12
1.6. Métodos Analíticos.....	13
1.6.1. Espectrometria de Absorção Atómica.....	13
1.6.2. Espectrometria de Absorção Atómica em Câmara de Grafite .....	15
1.6.3. Fundamentos da Cromatografia .....	17
1.6.4. Cromatografia iónica.....	18
1.7. Incerteza do resultado de medição .....	21
1.7.1. Incerteza associada a pesagens .....	21

1.7.2.	Incerteza associada a uma medição de volume .....	22
1.7.3.	Incerteza associada à diluição de uma solução.....	22
1.7.4.	Incerteza associada a resultados obtidos por métodos instrumentais .....	23
1.7.5.	Combinação das componentes da incerteza .....	23
1.7.6.	Incerteza expandida.....	24
2.	Parte Experimental .....	25
2.1.	Espécies estudadas .....	25
2.2.	Caracterização da água.....	25
2.2.1.	Água da torneia .....	25
2.2.2.	Água Residual Tratada .....	25
2.2.3.	ART com metais tóxicos (solução VLE).....	26
2.3.	Ensaio de germinação.....	26
2.4.	Ensaio de crescimento em ambiente controlado.....	28
2.4.1.	Caracterização e análise dos solos.....	30
2.4.1.1.	Amostragem e preparação das amostras.....	30
2.4.1.2.	Medição do pH .....	30
2.4.1.3.	Medição da condutividade elétrica .....	30
2.4.1.4.	Teores de humidade e de matéria orgânica .....	30
2.4.2.	Análise das cebolas e cenouras.....	31
2.4.2.1.	Amostragem e preparação das amostras.....	31
2.4.2.2.	Análise de Pb por GFAAS .....	32
2.4.2.3.	Determinação de aniões por IC .....	33
3.	Apresentação e discussão de resultados .....	35
3.1.	Resultados dos ensaios de germinação.....	35
3.1.1.	Taxa de germinação das sementes.....	35
3.1.2.	Biomassa das plântulas.....	37
3.1.3.	Comprimento das plântulas .....	38
3.2.	Resultados dos ensaios de crescimento dos hortícolas em ambiente controlado .....	41
3.2.1.	Sistema Arduino .....	41
3.2.2.	Caracterização dos solos.....	46
3.2.2.1.	Grau de acidez ou alcalinidade.....	46
3.2.2.2.	Condutividade elétrica.....	47
3.2.2.3.	Teores de humidade e de matéria orgânica .....	48
3.2.3.	Caracterização e análises das cebolas e cenouras.....	48
3.2.3.1.	Quantificação do teor de metais .....	49
3.2.3.2.	Quantificação do teor de macronutrientes .....	52

4. Conclusões .....	57
5. Referências bibliográficas .....	59
6. Anexos.....	66

# Índice de figuras

<b>Figura 1.1</b> - Representação esquemática de um espectrómetro de absorção atómica .....	13
<b>Figura 1.2</b> - Representação simplificada de uma lâmpada de cátodo oco .....	14
<b>Figura 1.3</b> - Representação simplificada de uma câmara de grafite .....	15
<b>Figura 1.4</b> - Representação esquemática de um sistema de IC .....	18
<b>Figura 1.5</b> - Representação simplificada de uma válvula de injeção .....	19
<b>Figura 1.6</b> - Representação esquemática do funcionamento de um supressor químico .....	20
<b>Figura 2.1</b> - Meio de germinação .....	26
<b>Figura 2.2</b> - Imagens das plântulas de cebola para análise no software Fiji ImageJ .....	28
<b>Figura 2.3</b> - Preparação das caixas para a plantação de cebolas e sementeira de cenouras.....	29
<b>Figura 2.4</b> - Esquema da disposição das cultivares de cebolas e cenouras regadas com diferentes tipos de água relativamente à exposição solar .....	29
<b>Figura 2.5</b> - Representação esquemática do processo de preparação dos calibradores .....	34
<b>Figura 3.1</b> - Taxa de germinação das cebolas nos dias 7, 14 e 21 após o início do ensaio .....	35
<b>Figura 3.2</b> - Taxa de germinação das cenouras nos dias 7, 14 e 21 após o início do ensaio .....	36
<b>Figura 3.3</b> - Variação da temperatura registada na sala de germinação durante todo o ensaio ....	36
<b>Figura 3.4</b> - Biomassa média de cada plântula de cebola ao fim de 12, 17 e 21 dias de sementeira, regadas com AT, ART ou solução VLE .....	37
<b>Figura 3.5</b> - Biomassa média de cada plântula de cenoura ao fim de 12, 17 e 21 dias de sementeira, regadas com AT, ART ou solução VLE .....	38
<b>Figura 3.6</b> - Comprimento médio da cada plântula de cebola regada com AT, ART e solução VLE, ao fim de 12, 17 e 21 dias .....	40
<b>Figura 3.7</b> - Comprimento médio da cada plântula de cenoura regada com AT, ART e solução VLE, ao fim de 12, 17 e 21 dias .....	40
<b>Figura 3.8</b> - Iluminância registada ao longo do ensaio de crescimento .....	42
<b>Figura 3.9</b> - Imagens da posição do sensor de luz (rodeado a vermelho) e da rama das cebolas, que impede a exposição direta do sensor ao sol .....	42
<b>Figura 3.10</b> - Variação diária da iluminância nos dias 6 de abril e 9 de junho de 2023 .....	42
<b>Figura 3.11</b> - Temperatura registada ao longo do tempo pelo sensor integrado no sistema Arduino .....	43

<b>Figura 3.12</b> - Temperatura registada pelo registador independente (Unit-T) no período equivalente ao registo pelo sistema Arduino .....	43
<b>Figura 3.13</b> - Humidade relativa registada ao longo do tempo pelo sensor integrado no sistema Arduino .....	44
<b>Figura 3.14</b> - Humidade relativa registada pelo registador independente (Unit-T) no período equivalente ao registo pelo sistema Arduino .....	44
<b>Figura 3.15</b> - Humidade relativa do solo de cada uma das cultivares, ao longo do tempo .....	45
<b>Figura 3.16</b> - Massa média de cada hortícola recolhido .....	49
<b>Figura 3.17</b> - Imagem do processo de digestão .....	49
<b>Figura 3.18</b> – Reta de calibração para os padrões de calibração (calibradores) de chumbo .....	50
<b>Figura 3.19</b> - Gráfico de residuais para os padrões de calibração (calibradores) de chumbo .....	50
<b>Figura 3.20</b> - Diagrama de causa/efeito relativo à incerteza dos resultados da medição do teor de Pb nas amostras de cebolas e cenouras .....	51
<b>Figura 3.21</b> - Teor de Pb nas amostras de cebolas e cenouras e respetiva incerteza expandida ( $k=2$ ) .....	52
<b>Figura 3.22</b> - Retas de calibração para os iões (A) cloreto; (B) nitrato; (C) fosfato; (D) sulfato	53
<b>Figura 3.23</b> - Diagrama de causa/efeito relativo à incerteza dos resultados da quantificação do teor de cada ião nas amostras de cebolas e de cenouras .....	54
<b>Figura 3.24</b> - Teor de ião cloreto nas amostras de cebolas e de cenouras e respetiva incerteza expandida ( $k=2$ ) .....	54
<b>Figura 3.25</b> - Teor de ião nitrato nas amostras de cebolas e de cenouras e respetiva incerteza expandida ( $k=2$ ) .....	55
<b>Figura 3.26</b> - Teor de ião fosfato nas amostras de cebolas e de cenouras e respetiva incerteza expandida ( $k=2$ ) .....	55
<b>Figura 3.27</b> - Teor de ião sulfato nas amostras de cebolas e de cenouras e respetiva incerteza expandida ( $k=2$ ) .....	56
<b>Figura 6.1</b> - Boletim da qualidade da água para consumo humano da rede de distribuição da cidade de Lisboa fornecida pela EPAL relativa ao 1º trimestre de 2023 .....	66
<b>Figura 6.2</b> - Boletim da qualidade da água para consumo humano da rede de distribuição da cidade de Lisboa fornecida pela EPAL relativa ao 1º trimestre de 2023 (continuação) .....	67
<b>Figura 6.3</b> - Boletim da qualidade da água para consumo humano da rede de distribuição da cidade de Lisboa fornecida pela EPAL relativa ao 2º trimestre de 2023 .....	68

<b>Figura 6.4</b> - Boletim da qualidade da água para consumo humano da rede de distribuição da cidade de Lisboa fornecida pela EPAL relativa ao 2º trimestre de 2023 (continuação) .....	69
<b>Figura 6.5</b> - Imagens da germinação das sementes de cebolas regadas com AT, ART e solução VLE ao fim de 7, 14 e 21 dias da sementeira .....	71
<b>Figura 6.6</b> - Imagens da germinação das sementes de cenouras regadas com AT, ART e solução VLE ao fim de 7, 14 e 21 dias da sementeira .....	72
<b>Figura 6.7</b> - Imagens do crescimento em ambiente controlado das cebolas regadas com AT, ART e solução VLE ao fim de 28 e 113 dias de plantação .....	74
<b>Figura 6.8</b> - Imagens do crescimento em ambiente controlado das cenouras regadas com AT, ART e solução VLE ao fim de 28 e 113 dias de plantação .....	75

# Índice de tabelas

<b>Tabela 1.1</b> - Valores limite de emissão (VLE) na descarga de águas residuais para Cd total, Pb total, Cr total e Ni total .....	7
<b>Tabela 2.1</b> - Volume de água adicionado a cada placa de Petri ao longo do ensaio de germinação .....	27
<b>Tabela 2.2</b> - Condições de funcionamento do espectrómetro de absorção atómica .....	33
<b>Tabela 2.3</b> - Condições de funcionamento do forno de grafite .....	33
<b>Tabela 3.1</b> - Comprimento das plântulas de cebolas e cenouras determinado com uma régua graduada e com recurso ao software Fiji ImageJ .....	39
<b>Tabela 3.2</b> - Valores médios de pH em solução de CaCl <sub>2</sub> , e respetivos desvios padrão, dos solos das várias cultivares, recolhidos no fim do ensaio .....	46
<b>Tabela 3.3</b> - Classificação dos solos segundo o valor do seu pH .....	46
<b>Tabela 3.4</b> - Valores médios de condutividade elétrica e respetivos desvios padrão dos solos das várias cultivares recolhidos no fim do ensaio .....	47
<b>Tabela 3.5</b> - Classificação dos solos segundo o valor de EC .....	47
<b>Tabela 3.6</b> - Valores médios dos teores de humidade e de matéria orgânica e respetivos desvios padrão dos solos das várias cultivares recolhidos no fim do ensaio .....	48
<b>Tabela 3.7</b> - Padrões de controlo analisados e respetivos erros relativos .....	51
<b>Tabela 3.8</b> - Limites de deteção e quantificação relativos à reta de calibração de cada ião .....	53
<b>Tabela 6.1</b> - Valores médios de condutividade elétrica, pH e temperatura de água da torneira (AT), água residual tratada (ART) e solução VLE (VLE) obtidos ao longo dos ensaios de germinação e crescimento.....	69
<b>Tabela 6.2</b> - Dados de Carência Química de Oxigénio (CQO), Sólidos Suspensos Totais (SST), Azoto Total e Fósforo Total, para a água residual tratada, fornecidos pela ETAR de Chelas.....	70
<b>Tabela 6.3</b> - Volume de água, em litros, adicionado a cada plantação ao longo do ensaio de crescimento .....	73

# Lista de acrónimos e abreviaturas

- A - Absorvância  
AC - *Allium cepa* (nome vulgar: cebola)  
APA - Agência Portuguesa do Ambiente  
AR - Água residual  
ART - Água residual tratada  
AT - Água da torneira  
ATSDR - Agência para o Registo de Substâncias Tóxicas e Doenças (do inglês *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*)  
b - Declive da reta de calibração  
c - Concentração atómica da espécie absorvente  
 $c_M$  - Concentração molar de soluto  
 $c_S$  - Concentração molar de soluto na fase estacionária  
CE - Comissão Europeia  
DC - *Daucus carota* (nome vulgar: cenoura)  
EC - Condutividade elétrica (do inglês *Electrical Conductivity*)  
EMA - Erro máximo admissível  
ETAR - Estação de Tratamento de Águas Residuais  
FAAS - Espectrometria de absorção atómica de chama (do inglês *Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)  
G - Condutância  
GFAAS - Espectrometria de absorção atómica em câmara de grafite (do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)  
H - Altura equivalente de um prato teórico  
HR - Humidade relativa  
IC - Cromatografia iónica (do inglês *Ion Chromatography*)  
ISO - Organização Internacional de Normalização (do inglês *International Organization for Standardization*)  
K - Coeficiente de distribuição entre duas fases  
k - Condutividade  
 $k_R$  - Fator de retenção  
L - Comprimento da coluna  
LD - Limite de deteção  
LQ - Limite de quantificação  
M - Número de leituras de padrões utilizados no traçado da curva de calibração  
n - Número de leituras utilizadas para determinar o teor da amostra  
N - Número de pratos teóricos  
OMS - Organização Mundial de Saúde  
PC - Padrões de controlo  
 $R^2$  - Coeficiente de determinação  
 $R_S$  - Resolução da coluna  
s - Desvio padrão  
 $s_y$  - Desvio padrão residual da curva de calibração  
 $t_M$  - Tempo morto

- $t_R$  - Tempo de retenção  
 $t_S$  - Tempo que o analito passa retido na fase estacionária  
 $t$  - Temperatura Celsius; teste  $t$ -student  
 UE - União Europeia  
 $u(c_{int})$  - Incerteza associada a resultados obtidos recorrendo a instrumentação analítica  
 $u_{C_{dil}}$  - Incerteza associada à solução diluída  
 $u_{Bal}^{Calib}$  - Incerteza associada à calibração da balança  
 $u_{Bal}^{Rep}$  - Incerteza associada à repetibilidade da balança  
 $u_{int}$  - Incerteza associada à interpolação do sinal da amostra na curva de calibração  
 $u_{std}$  - Incerteza padrão associada à concentração dos padrões de calibração  
 $u_y$  - Incerteza combinada  
 $u_V$  - Incerteza padrão associada ao volume  
 $u_V^{Calib}$  - Incerteza associada à calibração do material volumétrico  
 $u_V^{Rep}$  - Incerteza associada à repetibilidade da manipulação do material volumétrico  
 $u_V^{Temp}$  - Incerteza associada ao efeito da temperatura  
 $u_m$  - Incerteza associada a uma pesagem  
 $U_y$  - Incerteza expandida  
 $W$  - Largura da base do pico  
 $\bar{x}$  - Valor médio dos teores dos padrões de calibração  
 $x_i$  - Teor de cada um das  $M$  leituras dos padrões de calibração  
 $\bar{y}$  - Valor médio das  $M$  leituras dos padrões de calibração  
 $\hat{y}_i$  - Sinal estimado para o padrão  $i$   
 $\bar{y}_\alpha$  - Valor médio das  $n$  leituras da amostra  
 $\alpha_S$  - Fator de seletividade  
 $\varepsilon$  - Coeficiente de absorvidade molar

# 1. Introdução

## 1.1. Problemática e Objetivos

A água é um bem essencial à vida das espécies existentes no planeta Terra. No entanto, nos últimos anos, a pressão sobre os recursos hídricos tem vindo a aumentar devido ao consumo crescente de água para diferentes finalidades como o abastecimento público, a produção agrícola e pecuária, a produção industrial, utilização recreativa, entre outros, consequência do aumento exponencial da população mundial. O aumento do consumo de água traduz-se num desequilíbrio entre as necessidades e disponibilidades que podem atingir níveis graves em épocas de maior escassez de precipitação, uma vez que a disponibilidade dos recursos hídricos depende da sazonalidade climática (Monte & Albuquerque, 2010).

Em 2018, estimava-se que a necessidade de água a nível mundial era de cerca de 4600 km<sup>3</sup> por ano. Nos últimos 40 anos a necessidade hídrica tem aumentado cerca de 1 % anualmente, o que resultará num acréscimo de entre 20 e 30 % até 2050. Esta pressão sobre os recursos hídricos é impulsionada tanto pelo aumento da população como pelo desenvolvimento socioeconómico e mudança nos padrões de consumo (United Nations, 2018, 2023).

Com o aumento das necessidades hídricas a nível mundial e a escassez de água em algumas regiões, há que encontrar diferentes mecanismos para fazer face a essa procura. Para além da preocupação em dar resposta às exigências hídricas, surge também a preocupação ambiental por parte de países mais desenvolvidos. Assim, a reutilização da água começa a ser implementada de forma a contribuir para o uso sustentável dos recursos hídricos, permitindo a manutenção da água no ambiente e a preservação para usos futuros (Agência Portuguesa do Ambiente, 2019). Uma vez que o setor da agricultura é aquele com maior exigência hídrica, com a utilização de cerca de 72 % do total de água consumida mundialmente, é natural que a aposta na reutilização da água recaia, principalmente, neste setor (United Nations, 2023).

As águas residuais tratadas (ART) são ricas em nutrientes que podem ser benéficos para o desenvolvimento das plantas e, consequentemente, para a produtividade da atividade agrícola, promovendo a diminuição da utilização de fertilizantes (Monte & Albuquerque, 2010). No entanto, as águas residuais (AR) contêm diversos contaminantes que devem ser removidos antes da sua reutilização. A maior parte das estações de tratamento de águas residuais (ETAR) contempla a remoção dos principais contaminantes como a matéria orgânica e alguns microrganismos, ficando de fora, por exemplo, os metais tóxicos e poluentes emergentes, que podem representar um perigo para a saúde pública quando presentes na ART reutilizada na rega agrícola (Monte et al., 2016).

Neste trabalho utilizaram-se cebolas e cenouras para estudar a utilização de ART na rega agrícola, uma vez serem espécies largamente consumidas pela população mundial. Para verificar se a utilização de ART poderia colocar em risco a saúde pública, utilizaram-se três conjuntos de sementes e culturas. Um dos conjuntos foi regado com água da torneira (AT), tornando-se o conjunto de referência. O segundo conjunto foi regado com ART tal como foi fornecida pela ETAR de Chelas (Lisboa). Um terceiro conjunto foi regado com ART suplementada com metais (Cd, Cr, Ni e Pb) nas concentrações máximas permitidas para estes metais na descarga das ETAR (valor limite de emissão definido no Decreto-Lei n.º. 236/98) para o meio hídrico.

Assim, este trabalho teve como principais objetivos:

- Estudar os efeitos da ART e da ART suplementada com metais tóxicos na germinação de sementes de cebolas e cenouras e no crescimento das respetivas plântulas;
- Determinar o teor de chumbo e crómio nos produtos hortícolas regados com ART e ART suplementada com metais tóxicos através da técnica de espectrometria de absorção atómica em câmara de grafite (GFAAS);
- Determinar o teor dos macronutrientes das plantas regadas com ART e ART suplementada com metais sob a forma dos iões cloreto, nitrito, nitrato, fosfato e sulfato, através da técnica de cromatografia iónica (IC).

## 1.2. Reutilização das Águas Residuais Tratadas

A reutilização das águas residuais para irrigação agrícola é uma prática antiga que remonta às civilizações da Era do Bronze (3200-1100 a.C.) que usavam as águas residuais domésticas para irrigar as suas culturas. Só no século XIX é que a utilização das AR ganhou popularidade na Europa, nos Estados Unidos da América e na Austrália, onde começaram a surgir epidemias como a cólera e a febre tifoide, devido à falta de tratamento das AR utilizadas na rega agrícola. Atualmente, na maior parte dos países, a água residual é devidamente tratada antes de ser reutilizada na rega de pastagens e diversas culturas, nomeadamente frutas, vegetais, leguminosas e algodão. De facto, a reutilização de ART no setor da agricultura tem várias vantagens, quando aplicada corretamente, caso contrário pode provocar danos na saúde e no ambiente (Shoushtarian & Negahban-Azar, 2020).

É de notar que nem todos os países têm a mesma capacidade tecnológica e económica para o tratamento das águas residuais. Países menos desenvolvidos, que sofrem com a escassez de água, recorrem às águas residuais insuficientemente tratadas para regar as suas culturas hortícolas, causando contaminações nas colheitas que se tornam um perigo para a saúde pública (Abdoulkader et al., 2015). Assim, é importante que as ART destinadas à rega de culturas hortícolas satisfaçam, não só os requisitos agronómicos, como também os requisitos de proteção da saúde pública. Ainda assim, é de notar que a qualidade da ART para a rega não é o único fator a considerar, uma vez que o tipo de cultura a regar e o método de rega são também variáveis dependentes que permitem controlar os riscos para a saúde pública (Monte & Albuquerque, 2010). Para além disso, a viabilidade da implementação de um sistema de rega com ART depende fortemente dos custos das infraestruturas necessárias (condutas, reservatórios, estações elevatórias) que estão diretamente relacionados com a distância entre a ETAR produtora da ART e os campos agrícolas.

### 1.2.1. Tratamento das águas residuais

De acordo com o Decreto-Lei n.º 152/97 de 19 de junho, as águas residuais urbanas são definidas como as “águas residuais domésticas ou a mistura destas com águas residuais industriais e/ou com águas pluviais”. Neste Decreto-Lei, consideram-se águas residuais domésticas aquelas que provêm de “serviços e de instalações residenciais, essencialmente provenientes do metabolismo humano e de atividades domésticas”. Por sua vez, as águas residuais industriais são as “águas residuais provenientes de qualquer tipo de atividade que não possam ser classificadas como águas residuais domésticas nem sejam águas pluviais” (Decreto-Lei n.º 152/97, 1997).

As águas residuais urbanas, doravante designadas por águas residuais (AR), podem conter resíduos orgânicos e inorgânicos dissolvidos ou em suspensão. Apesar de todas as águas residuais apresentarem

semelhanças, a sua composição varia ligeiramente devido aos diferentes comportamentos e hábitos das comunidades, às condições climatéricas e ao tipo de sistema de drenagem.

Devido à presença destas substâncias e contaminantes nas águas residuais, estas têm de ser submetidas a processos de tratamento antes de serem reutilizadas ou devolvidas ao meio aquático. O tratamento de águas residuais envolve uma série de processos destinados à remoção de contaminantes (Cantinho et al., 2016).

No tratamento das águas residuais (fase líquida), são produzidos outros resíduos, como os gradados e lamas (fase sólida) e os gases gerados durante o processo (fase gasosa). Assim, para além do tratamento da fase líquida, as ETAR têm, por consequência, que tratar tanto a fase sólida como a fase gasosa. Segundo Monte et al. (2016), o tratamento da fase líquida divide-se em tratamento preliminar, primário, secundário e terciário.

No tratamento preliminar, são removidos os resíduos de maiores dimensões presentes nas águas residuais domésticas e industriais que chegam à ETAR, com o objetivo de proteger os equipamentos de tratamento subsequentes.

O tratamento primário consiste, essencialmente, na decantação primária (ou, mais raramente, na flotação), onde as partículas sólidas em suspensão, que são facilmente sedimentáveis, são eliminadas por ação da gravidade.

É na fase de tratamento secundário que há a redução da matéria orgânica biodegradável dissolvida ou em suspensão coloidal, que não foi removida nos níveis de tratamento anteriores. Nesta etapa, as águas residuais sofrem tratamento biológico, no qual as bactérias digerem a matéria orgânica existente. De seguida, as águas residuais passam pela decantação secundária, que permite o depósito das lamas resultantes da ação das bactérias.

Quando necessário, ocorre ainda o tratamento terciário das águas residuais que são submetidas a uma desinfecção (remoção de microrganismos) e/ou remoção de nutrientes (compostos de azoto e/ou fósforo) de forma a proteger o meio recetor.

Tendo em conta que para a reutilização da ART se considera uma abordagem *fit-for-purpose*, a ART pode ter ainda de ser submetida a um processo de tratamento avançado (remoção de poluentes), dependendo da qualidade requerida para a sua utilização. Por questões de saúde pública, independentemente do fim a que se destina, a remoção de microrganismos patogénicos nas ART para reutilização é obrigatória (Monte et al., 2016).

Após o tratamento terciário, a água pode ser reutilizada, por exemplo, na agricultura, na rega de campos de golfe e espaços verdes e na lavagem de pavimentos e ruas. A água que não é reutilizada é descarregada, ou seja, devolvida à natureza em condições ambientais seguras.

### **1.2.2. Benefícios da reutilização de ART**

A água residual tratada (ART) é uma alternativa à irrigação de culturas hortícolas, contribuindo significativamente para a diminuição da pressão sobre os recursos hídricos. Além disso, esta prática desempenha um papel fundamental no combate à fome, uma vez que permite o desenvolvimento de culturas em regiões áridas (Jaramillo & Restrepo, 2017).

Adicionalmente, os nutrientes naturalmente presentes nas águas residuais tratadas permitem a redução da utilização de fertilizantes nas culturas, promovendo, assim, a preservação do meio

ambiente. Na verdade, vários estudos têm mostrado que a irrigação com ART não só diminui a necessidade de fertilização como aumenta o rendimento da produção agrícola (Lal et al., 2013; Matheyarasu et al., 2016).

Ao dar uma nova utilidade à ART na rega, a descarga de efluentes da ETAR diminui, o que resulta na diminuição da poluição dos meios aquáticos de descarga. Ademais, esta ação permite recarregar aquíferos com água, diminuindo a sua probabilidade de seca, causada pela captação de água subterrânea (Jaramillo & Restrepo, 2017).

Do ponto de vista económico, a reutilização da água possibilita não só a comercialização da própria ART como também dos produtos resultantes da rega com esta água (Jaramillo & Restrepo, 2017). Além disso, a utilização de ART na irrigação de culturas hortícolas pode ser economicamente vantajosa para os produtores agrícolas, uma vez que permite reduzir os custos associados à utilização de fertilizantes e, simultaneamente, aumentar o rendimento da sua produção agrícola (Malki et al., 2017).

### **1.2.3. Riscos da reutilização de ART**

#### **1.2.3.1. Riscos para a saúde pública**

A reutilização de ART, particularmente na agricultura, acarreta riscos para a saúde pública e para o ambiente, devido aos microrganismos e outros contaminantes (metais pesados, poluentes orgânicos, etc.) eventualmente presentes na sua constituição, mesmo após tratamento.

Na verdade, os agentes patogénicos podem estar presentes na ART em grande quantidade, especialmente se, no plano de tratamento, não existir uma desinfeção ou o tratamento de filtração avançada como a filtração por membranas. Ainda assim, mesmo em águas que tenham sofrido um tratamento secundário, é possível detetar a presença de alguns microrganismos (Schlindwein et al. 2010).

A presença destes microrganismos em ART utilizadas para a rega pode levar a doenças crónicas ou agudas (como a hepatite, febre tifoide, gastroenterite e disenteria), devido ao contacto direto ou indireto dos agentes patogénicos com o ser humano (Jaramillo & Restrepo, 2017). As principais vias de entrada dos microrganismos e contaminantes no organismo humano são as vias respiratórias (por inalação de microgotículas) e a ingestão de alimentos contaminados. Os mais expostos a estes riscos são os agricultores e trabalhadores rurais, mas também o consumidor dos produtos hortícolas, quando em contacto com alimentos contaminados. Por esse motivo, devem ser tomadas medidas de forma a minimizar os riscos para a saúde. Por um lado, desaconselha-se a rega por aspersão e irrigação de superfície, com vista a diminuir o contacto da água com os alimentos. Por outro lado, encoraja-se a realização de um pré-tratamento dos alimentos regados com ART após a colheita, de forma a minimizar a exposição do consumidor a possíveis agentes patogénicos (Ofori et al., 2020).

Para além dos microrganismos presentes na água, também os metais pesados suscitam preocupação no que diz respeito à utilização de ART na irrigação. Apesar da concentração dos metais pesados na ART ser geralmente baixa, a irrigação a longo prazo pode causar danos tanto para o ambiente como para o ser humano. As plantas regadas com ART contaminada com metais pesados podem absorver essas substâncias presentes na água, ficando contaminadas. Uma vez consumidos pelo ser humano, estes alimentos tornam-se perigosos para a saúde, podendo causar o aparecimento de cancro, assim como danos nos sistemas nervoso, circulatório, endócrino e imunitário. Os metais tóxicos apresentam

ainda o risco de terem um efeito sinérgico com outros contaminantes como os antibióticos (Jaramillo & Restrepo, 2017; Ofori et al., 2020).

Tanto os antibióticos como os analgésicos e outros tipos de fármacos, considerados contaminantes emergentes, têm vindo a ser encontrados nas águas residuais (especialmente municipais) em concentrações elevadas. Alguns destes contaminantes emergentes são definidos como desreguladores endócrinos, isto é, substâncias que podem interferir com o sistema endócrino dos seres vivos, produzindo efeitos nocivos (Jaramillo & Restrepo, 2017). Apesar de já existirem alguns estudos sobre a remoção dos desreguladores endócrinos das águas residuais (Mestre et al., 2022), estes ainda não são aplicados nas ETAR e, por isso, apresentam um elevado risco para a saúde de todos os seres vivos.

### **1.2.3.2. Riscos para o ambiente**

A utilização de ART para irrigação da agricultura traz também riscos para o ambiente, principalmente para o solo e recursos hídricos. Alguns estudos têm revelado alterações nos parâmetros físico-químicos (pH, matéria orgânica, nutrientes, salinidade e contaminantes) e aumento da atividade microbiana do solo, causada pela utilização de ART na rega de campos agrícolas (Becerra et al., 2015).

As alterações nos valores de pH do solo influenciam a textura, cobertura e retenção de água do solo (Becerra et al., 2015). Além disso, variações deste parâmetro alteram a disponibilidade de nutrientes e metais, a capacidade de troca catiónica do solo, mineralização da matéria orgânica e a presença de microrganismos no solo (Jaramillo & Restrepo, 2017).

Relativamente às possíveis alterações no teor de matéria orgânica do solo, estas podem afetar a capacidade de retenção de água no solo e aumentar a concentração de carbono orgânico total e nitrogénio, que favorecem o desenvolvimento de populações específicas de bactérias, diminuindo a biodiversidade deste meio. A elevada concentração de alguns nutrientes no solo (por exemplo, fósforo e nitrogénio) causada pela utilização de ART na rega pode também prejudicar os meios aquáticos envolventes devido, por exemplo, a processos de eutrofização (Jaramillo & Restrepo, 2017).

Vários estudos revelam um aumento da salinidade nos solos após irrigação com ART, que tem como consequência a diminuição da produtividade agrícola. Elevada salinidade nos solos causa stress osmótico, especialmente na raiz das plantas, limitando o seu potencial de absorção de água. Consequentemente há diminuição da taxa de crescimento das plantas e eventual toxicidade das mesmas (Djanaguiraman & Prasad, 2013; Jaramillo & Restrepo, 2017;).

### **1.2.4. Legislação**

De forma a diminuir os riscos causados pela utilização das ART e evitar incidentes como as epidemias do século XIX, foi necessário criar regulamentos e recomendações que garantam que os requisitos de saúde pública são assegurados.

Globalmente, existem várias entidades que não só promovem projetos de reutilização de água, como também desenvolvem regulamentos e recomendações para a aplicação correta destes projetos. A Organização Mundial da Saúde (OMS), a Organização Internacional da Normalização (ISO) e, a nível europeu, a Comissão Europeia (CE), são alguns exemplos destas entidades que pretendem uniformizar as normas relativas à reutilização de água, de forma a minimizar os riscos para a saúde e o ambiente associados à sua prática.

Na União Europeia, devido à multiplicação de situações de escassez de água e de episódios de seca, a Comissão Europeia referiu no Plano de Ação para a Economia Circular de 2020 (Comissão Europeia, 2020) que o novo Regulamento para a Reutilização da Água iria incentivar “a adoção de abordagens circulares para a reutilização da água na agricultura” e que favoreceria a “reutilização da água e a eficiência hídrica, incluindo nos processos industriais”. Este Regulamento de 2020, relativo aos requisitos mínimos para a reutilização da água, tem como objetivo estabelecer parâmetros harmonizados para garantir a segurança da reutilização de água na rega agrícola na União Europeia.

Em Portugal, apesar da pouca aplicação de projetos de reutilização da ART, já existe legislação referente a esta matéria.

Já em 2007, para promover a reutilização das águas residuais, no Decreto-Lei n.º 226-A/2007 de 31 de maio, que estabelecia o regime da utilização dos recursos hídricos e que complementava a Lei da Água (Lei n.º 58/2005, de 29 de dezembro, na sua redação atual), era enunciado que as águas residuais tratadas deveriam ser reutilizadas sempre que possível ou adequado, nomeadamente para a rega de jardins, espaços públicos e campos de golfe.

O Decreto-Lei n.º 119/2019 de 21 de agosto regula a produção e utilização de água para reutilização obtida a partir de água proveniente de estações de tratamento de águas residuais domésticas, urbanas e industriais, cujo destino seja compatível com a qualidade da mesma. Este Decreto-Lei aplica-se ainda à reutilização de água remanescente proveniente de certos tipos de cultura agrícola (como as culturas fora do solo) que, depois de recolhida, pode ser usada na rega de outro tipo de cultura. Ficam de fora deste Decreto-Lei regras relativas à reutilização de água para usos potáveis, uma vez que esta requer uma qualidade superior, compatível com o consumo humano.

De forma a complementar o Decreto-Lei n.º 119/2019 de 21 de agosto, a Agência Portuguesa do Ambiente (APA) criou um guia para a reutilização de água para usos não potáveis que “define os procedimentos envolvidos no licenciamento da produção e utilização das águas para reutilização, incluindo as linhas de orientação para o desenvolvimento do processo de avaliação do risco, bem como orientações para a seleção das medidas de gestão do risco a adotar decorrentes da mesma” (Agência Portuguesa do Ambiente, 2019).

Tanto no Decreto-Lei n.º 119/2019 de 21 de agosto como no guia criado pela APA, foi adotada uma abordagem de *fit-for-purpose* para a reutilização da água, isto é, adequar a qualidade da água ao fim a que se destina, sem colocar em causa a saúde humana e do ambiente. Depois de selecionado o uso da água, deve ser feita uma avaliação de risco, que se baseia na identificação dos perigos associados a um dado processo ou situação e na estimativa (qualitativa ou quantitativa) do risco associado a esses mesmos perigos. Tendo em conta essa avaliação, são aplicadas barreiras múltiplas de proteção dos potenciais recetores dos riscos, que podem ser os seres humanos, animais ou o ambiente. Estas barreiras podem ser físicas ou químicas e são aplicadas ao longo de todo o percurso das águas para reutilização, desde o momento do tratamento até à aplicação da água.

Assim, no Decreto-Lei n.º 119/2019 são apresentadas as normas de qualidade da água para reutilização para rega, de acordo com os seus possíveis usos (Quadro 1.a, Anexo I). São também apresentadas normas de qualidade de água para reutilização para rega para proteção das culturas agrícolas, florestais e solos (Quadro 1.b, Anexo I) que são menos restritas, quando comparadas com as normas de qualidade das águas destinadas à rega presentes no Anexo XVI do Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de agosto (Decreto-Lei n.º 236/98, 1998).

O Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de agosto estabelece normas, critérios e objetivos de qualidade com a finalidade de proteger o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos seus

principais usos. Neste Decreto-Lei constam, entre outros, valores limite de emissão (VLE) para as descargas de águas residuais no meio recetor, apresentados na tabela 1.1. Na verdade, estes valores representam as concentrações limite de contaminantes presente nas águas à saída da ETAR, uma vez que são depois descarregas no meio aquático recetor (Decreto-Lei n.º 236/98).

**Tabela 1.1.** Valores limite de emissão (VLE) na descarga de águas residuais para Cd total, Pb total, Cr total e Ni total. Fonte: Anexo XVII, Decreto-Lei n.º 236/98.

Parâmetro	VLE (mg/l)
Cádmio	0,2
Chumbo	1,0
Crómio	2,0
Níquel	2,0

### 1.2.5. Exemplos da reutilização de ART

Em todo o mundo existem exemplos da implementação da reutilização de ART, não só em regiões com recursos hídricos escassos, como também em zonas com recursos hídricos acessíveis, mas com uma elevada preocupação ambiental. O estado da Flórida, nos Estados Unidos da América, é um exemplo da implementação de sistemas de reutilização de água com vista à proteção ambiental, ambicionando reduzir a utilização das massas hídricas existentes e reduzir parcial ou totalmente as descargas das AR (Monte & Albuquerque, 2010).

A nível mundial, Israel e Austrália são dois exemplos de países que têm apostado na reutilização de ART como alternativa à água potável em algumas situações, de forma a diminuir a pressão sobre os recursos hídricos do país.

Desde cedo Israel reconheceu o valor das águas residuais tratadas como um recurso e tem sido um líder no que diz respeito à reutilização de águas residuais. De acordo com Fluence (2020), Israel reutiliza cerca de 90 % da água residual, principalmente na rega agrícola. Uma parte essencial deste sucesso é a ETAR de Shafdan que trata cerca de 370 mil m<sup>3</sup> por dia de efluente municipal proveniente de Tel Aviv e área circundante. É com água proveniente desta EATR que 60 % da agricultura do deserto de Negev é irrigada. Desde o início do século XXI, Israel já investiu cerca de 750 milhões de dólares na criação de infraestruturas adequadas para o tratamento de águas residuais e para a sua distribuição e pretende continuar o investimento de forma a reutilizar 100 % das suas águas residuais (Environmental Protection Agency, 2019).

A Austrália é um país com um elevado grau de variabilidade em termos de precipitação e temperatura, que se tem tornado mais evidente devido às alterações climáticas e aquecimento global. Uma das primeiras ações australianas foi a construção de barragens que permitissem o armazenamento de grandes quantidades de água, sendo, ainda hoje um dos países com maior capacidade de armazenamento de água do mundo (Radcliffe & Page, 2020).

Uma vez que a Austrália está separada em seis estados, a água é gerida pelos governos locais. Ainda assim, os governos dos vários estados juntaram-se para desenvolver o National Water Quality Management Strategy, de forma a gerirem a qualidade da água no país. Na primeira fase deste documento encontram-se recomendações acerca da reutilização de águas residuais tratadas. Apesar da criação deste documento, ainda existem diferenças no que diz respeito à reutilização de ART entre os diferentes estados do país, sendo a região do sul a que recicla maior volume de água. Uma das maiores

dificuldades do governo australiano em relação à reutilização das ART é a aceitação por parte da população. Ainda assim, a Water Corporation australiana tem como objetivo reciclar 30 % das ART até 2030 e aumentar esse valor para 60 % até 2060 (Environmental Protection Agency, 2019).

Na União Europeia apenas 2,4 % do total de águas residuais urbanas é reutilizada, sendo esta percentagem muito variável entre os vários Países Membro (Environment, 2023). Abaixo deste valor, encontra-se Portugal, em que no ano de 2021, apenas 1,2 % da água residual foi tratada para reutilização, sendo que apenas 0,15 % foi reutilizada fora das ETAR (Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos, 2023).

Em Portugal, uma das utilizações da ART produzida nas ETAR é a lavagem de ruas e rega paisagística, que já acontece na cidade de Lisboa. Em 2022 foi criado o projeto “água+”, numa parceria entre a empresa Águas do Tejo Atlântico e a Câmara Municipal de Lisboa, que permite a utilização da ART da ETAR de Beirolos nos espaços verdes da cidade como os parques e jardins do Parque das Nações Norte (Serra, 2022). Este projeto permitiu, em 2023, a rega do Parque Tejo-Trancão com cerca de 100 hectares, em preparação para as Jornadas Mundiais da Juventude (Águas do Tejo Atlântico, 2022). Desde 2010, a ART é também reutilizada no sistema de climatização da loja IKEA de Loures, que utiliza a ART da ETAR de Frielas, para este fim (SIMTEJO, 2010). Na região do Algarve, a utilização das ART recai, principalmente, na rega de campos de golfe, sendo, atualmente, utilizados cerca de 2 milhões de metros cúbicos para este fim, prevendo-se quadruplicar este valor até 2026 (Agência Lusa, 2023). Porém, são escassos os projetos e iniciativas para a utilização da ART no setor da agricultura que, segundo a Agência Portuguesa do Ambiente (2015), é responsável, juntamente com o setor pecuário, pelo consumo de cerca de 75 % do total de água utilizada no país.

### **1.3. Metais tóxicos**

Os metais são o grupo de elementos químicos mais abundante na crosta terrestre, estando presentes nos alimentos em baixas concentrações. Segundo Fraústo da Silva & Williams (2001), 25 elementos são considerados essenciais à vida, mas nem todos são necessários na mesma quantidade. Elementos como Ca, K, Mg e Na são necessários em maiores quantidades (macronutrientes), enquanto metais como Cu, Fe, Ni, Zn e Mn são precisos apenas em quantidades vestigiais (micronutrientes), tendo, ainda assim, um papel essencial em sistemas biológicos, uma vez que fazem parte de numerosos processos bioquímicos no organismo humano, contribuindo para a prevenção de doenças quando ingeridos adequadamente. No entanto, em elevadas concentrações, estes metais podem ter efeitos adversos. Existem outros metais como, por exemplo, o chumbo e o crómio, que são considerados como não essenciais e cuja presença, mesmo que em baixas concentrações, tem efeitos tóxicos (Fraústo da Silva & Williams, 2001; Shokri et al., 2022).

Este trabalho focou-se na determinação de chumbo e crómio nas cebolas e cenouras. De forma a perceber a importância destes metais, as suas principais características e propriedades estão sumarizadas nos parágrafos que se seguem.

#### **1.3.1. Chumbo**

O chumbo é um elemento químico pertencente ao grupo 14 da tabela periódica. Este elemento tornou-se um contaminante ambiental predominante, principalmente devido a atividades antrópicas como a fundição, a adição de chumbo à gasolina e a produção de produtos contendo chumbo.

O chumbo é utilizado em diversos produtos como baterias, tintas, tubagens e fertilizantes. No entanto, a maior fonte de chumbo no ambiente é a emissão deste metal para a atmosfera, resultante dos escapes dos veículos automóveis que utilizavam, durante o século XX, a gasolina aditivada com chumbo. O destino final do chumbo foi o solo, onde se acumulou, contaminando este meio de forma permanente e irreversível, devido ao facto da sua acumulação ser superior às perdas por lixiviação ou absorção pelas plantas. O chumbo existe no solo, maioritariamente, no estado de oxidação +2 ( $Pb^{2+}$ ) com teores na ordem das 15 a 20 mg/kg, sendo possível ocorrer também no estado de oxidação +4. Este metal encontra-se principalmente em horizontes superficiais, de preferência ricos em matéria orgânica, uma vez que esta contribui para a adsorção de Pb no solo (Kabata-Pendias, 2011).

Apesar da sua reduzida mobilidade, o chumbo é absorvido pelas plantas através das raízes, sendo o processo dependente de características não só da planta como também do solo. Alguns dos parâmetros biogeoquímicos que alteram a solubilidade, mobilidade e biodisponibilidade deste metal no solo, são: o pH, as condições de oxidação-redução, a capacidade de permuta catiónica, a mineralogia do solo, as condições biológicas e microbianas e o teor de matéria orgânica e inorgânica (Pourrut et al., 2011).

A absorção do chumbo pelas plantas ocorre principalmente através das raízes, via apoplástica ou via canais de iões de cálcio (Pourrut et al., 2011). A translocação de chumbo das raízes para o resto da planta é geralmente limitada, o que faz com que este metal se acumule nas raízes e, conseqüentemente, os tubérculos tenham maior conteúdo deste metal, comparativamente a hortícolas de folha verde (Kabata-Pendias, 2011).

O chumbo não tem função biológica conhecida nas plantas e como tal tem efeitos nocivos nestas. A sua acumulação excessiva no tecido das plantas é tóxica para a maioria das plantas, tendo como consequência a diminuição da taxa de germinação das sementes e comprimento das raízes, diminuição da biomassa, inibição da biossíntese de clorofila II, entre outros. A intensidade destes efeitos depende da duração de exposição, concentração de chumbo disponível e estado de desenvolvimento da planta (Pourrut et al., 2011).

No ser humano adulto apenas cerca de 10 % do chumbo ingerido é absorvido pelo organismo, sendo variável de acordo com o tipo de dieta. Por exemplo, numa dieta pobre em Fe, Ca e proteínas, a absorção de Pb é mais elevada. Uma vez absorvido, o chumbo é distribuído especialmente pelos ossos e dentes, visto que os transportadores não diferenciam o chumbo e o cálcio, transportando ambos os elementos. Cerca de 90 % do Pb absorvido pelo organismo é armazenado, causando vários efeitos adversos, tais como danos no sistema nervoso, problemas renais, anemia, entre outros (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007).

Para evitar os efeitos tóxicos do chumbo na saúde, o Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão Europeia, de 19 de dezembro de 2006 indica o teor máximo de chumbo para diversos alimentos. Mais tarde, em 2021, o referido regulamento foi alterado pelo Regulamento n.º 1371 (Regulamento 2021/1371) no que diz respeito aos teores máximos de chumbo em diversos géneros alimentícios, nomeadamente raízes, tubérculos e bolbos. Para estes alimentos, o teor máximo permitido fixa-se nos 0,1 mg/kg de massa fresca.

### 1.3.2. Crómio

O crómio foi originalmente identificado em 1797 como o componente do mineral crocoíte -  $PbCrO_4$ , utilizado como pigmento (Shahid et al., 2017). Este elemento está presente na natureza,

nomeadamente, na constituição das rochas e minerais que, através da sua deterioração, contaminam os lençóis de água e o solo. Para além das fontes naturais de crómio, também o ser humano contribui para a poluição do meio ambiente com este metal de transição, por exemplo, através da indústria de cimento, aço, curtumes, tintas e corantes (Ali et al, 2023). O Cr (III) e Cr (VI) são os estados de oxidação mais comuns e estáveis deste elemento, tendo propriedades físico-químicas muito diferentes. No solo, o Cr (VI) é reduzido a Cr (III) através de diversos microrganismos, como, por exemplo, as bactérias, que utilizam os enzimas Cr (VI) redutases (ChrR) neste processo (Shahid et al., 2017).

O Cr (III) é considerado um elemento vestigial para o funcionamento adequado dos seres vivos (por exemplo, para o metabolismo dos lípidos e açúcares), não desempenhando qualquer função conhecida nas plantas (Shahid et al., 2017). Já o Cr (VI) é considerado uma das 20 substâncias perigosas prioritárias pela Agência para o Registo de Substância Tóxicas e Doenças (ATSDR), podendo a exposição a este elemento causar problemas respiratórios, renais e digestivos, debilidade do sistema imunitário e até morte (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2023).

O Cr (III), que apresenta pouca mobilidade no solo (Varennes, 2003), é absorvido de forma passiva pelas plantas, ao passo que a absorção de Cr (VI) é realizada através de um processo ativo, geralmente via transportadores de fosfato ou sulfato. Uma vez absorvido pelas plantas, as espécies de crómio são retidas ao nível das raízes, o que contribui para a reduzida intoxicação dos animais pela ingestão de vegetais (Varennes, 2003). A acumulação de Cr (VI) nas plantas tem como consequência a diminuição da taxa de germinação das sementes e comprimento das raízes, caule e folhas (Shahid et al., 2017).

## 1.4. Macronutrientes

São 16 os elementos químicos considerados indispensáveis para o desenvolvimento das plantas. Alguns destes nutrientes são necessários em maiores quantidades (macronutrientes) e outros em menores quantidades (micronutrientes). Segundo Monte & Albuquerque (2010) os macronutrientes compreendem o nitrogénio (N), o fósforo (P), o potássio (K), o cálcio (Ca), o magnésio (Mg), o enxofre (S), o cloro (Cl) e o silício (Si). De um modo geral, o N, o P e o K, que são correntemente designados como macronutrientes principais, não existem no solo em quantidades suficientes para o desenvolvimento das culturas, pelo que é necessário que sejam adicionados ao solo através de fertilizantes.

Neste trabalho foram separados e determinados os aniões cloreto, nitrito, nitrato, fosfato e sulfato através da técnica de cromatografia iónica, pelo que apenas as características dos macronutrientes N, P, S e Cl serão descritas com maior detalhe nos parágrafos que se seguem.

### 1.4.1. Nitrogénio

As plantas absorvem nitrogénio através das raízes, nas suas formas inorgânicas, sob a forma de iões amónio, nitrito e nitrato ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$ ), sendo este último geralmente tóxico para as plantas. No entanto, nem todo o nitrogénio presente no solo está disponível na forma mineral ou orgânica: parte é perdido para a atmosfera, parte fica retido no solo e outra parte é arrastado por águas de infiltração, provenientes da chuva ou da rega.

No solo, o nitrogénio é retido principalmente na forma do ião  $\text{NH}_4^+$  que, por ser carregado positivamente, é facilmente retido pelo complexo coloidal do solo, cuja superfície é carregada negativamente. Já os iões nitrito e nitrato não são retidos pelo solo, devido à sua carga negativa e

reduzido tamanho. Estes iões são facilmente arrastados pela água percolada no solo e alcançam lençóis de água subterrâneos que, ao serem utilizados como fonte de água de consumo, podem apresentar risco para a saúde pública (Monte & Albuquerque, 2010).

As plantas têm diferentes necessidades de nitrogénio ao longo do seu desenvolvimento, sendo as fases iniciais aquelas com maior necessidade deste nutriente. Na fase de floração e crescimento de fruto, a planta precisa de menores quantidades deste nutriente, pelo que a sua presença em elevadas concentrações pode ser prejudicial e levar à redução de produção. Para além disso, a presença de elevadas concentrações de nitrogénio pode ter mais inconvenientes, tais como o desenvolvimento anormal de ervas espontâneas e o retardamento do amadurecimento das plantas. Estas consequências são de especial atenção quando os solos são regados com ART, uma vez que estas águas são ricas em nitrogénio, colocando as plantas em constante exposição a este elemento. De forma a diminuir o impacto que ele pode ter nas culturas, é recomendável que sejam selecionadas culturas pouco sensíveis ao nitrogénio, como o milho, ou que as culturas cultivadas num solo regado com ART sejam rotativas, de modo a utilizar o nitrogénio remanescente no solo depois do ciclo de rega de uma cultura (Monte & Albuquerque, 2010).

### **1.4.2. Fósforo**

O fósforo é um dos macronutrientes essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas, nomeadamente para a formação de compostos como DNA, RNA, intermediários para a glicólise, respiração, fotossíntese e na constituição de fosfolípidos constituintes das membranas celulares (Whang, 2021). As plantas utilizam principalmente o fósforo inorgânico como fonte deste nutriente, porém este é um dos elementos essenciais menos solúveis e disponíveis no solo, limitando o desenvolvimento das plantas. Por este motivo, a maior parte dos solos agrícolas são fertilizados com fósforo, preferencialmente na sua forma inorgânica, pronta para ser absorvida pelas cultivares (Mikkelsen, 2013). O pH do solo e a disponibilidade de catiões no solo e nas águas de rega são importantes fatores na formação de compostos fosforados. Em solos com pH inferior a 6 predominam os fosfatos de ferro e alumínio, enquanto para valores de pH superiores a 7, predominam os fosfatos de cálcio. Os solos com valores de pH perto da neutralidade são aqueles onde se encontram maiores teores de fosforo disponível (Monte & Albuquerque, 2010).

### **1.4.3. Enxofre**

O enxofre é um componente estrutural de alguns aminoácidos, vitaminas e cofatores, essenciais ao desenvolvimento das plantas, especialmente na fase vegetativa. A principal fonte de enxofre para as plantas é o ião  $\text{SO}_4^{2-}$  que está disponível no solo em pequena quantidade, sendo necessária fertilização deste com enxofre na forma  $\text{SO}_4^{2-}$ . Para ser absorvido pelas plantas, este ião é transportado através de transportadores específicos (Narayan et al., 2022).

### **1.4.4. Cloro**

As plantas absorvem cloro na forma aniónica ( $\text{Cl}^-$ ), no entanto, este ião raramente ocorre na natureza, dificultando a sua utilização por parte das plantas. O cloreto permite a ativação de enzimas e da fotossíntese, o transporte de outros nutrientes como o potássio, cálcio e magnésio, o movimento da água nas células e promove a atividade dos estomas nas plantas. A maior parte deste ião está presente na solução do solo, o que faz com que possa ser facilmente lixiviado da zona das raízes das

plantas, não permitindo a sua absorção. Estudos indicam que a fertilização dos solos com cloreto pode aumentar a produtividade agrícola até 8 %, desde que feita de forma adequada a cada tipo de cultura (The Fertilizer Institute, s.d.).

## 1.5. Espécies estudadas

Neste trabalho foram estudadas cebolas e cenouras, por serem dois hortícolas amplamente consumidos pelo ser humano.

### 1.5.1. A cebola

A cebola, como é comumente conhecida a espécie *Allium cepa*, é a principal hortaliça da família *Alliaceae*. Este vegetal é originário da Ásia Central onde começou a ser cultivada há, pelo menos, 5000 anos e a sua introdução na região Mediterrânica ocorreu antes de 2300 a.C. A cebola era consumida pelos hindus, gregos, romanos e egípcios da Antiguidade, tendo tido um papel fundamental na alimentação dos construtores das pirâmides do Egito. Só na Idade Média é que esta cultura se expandiu para o Norte da Europa (Almeida, 2015).

Para além do seu sabor e aroma característicos, as cebolas são boas fontes de hidratos de carbono e praticamente não têm gordura. São bolbos ricos em compostos sulfurados, flavonóides, vitaminas e outros minerais, que contribuem para a prevenção de doenças cardiovasculares, neoplásicas e diabetes (Almeida, 2015).

Por todas as suas características, a cebola é amplamente utilizada na culinária, podendo ser consumida em fresco (cebola de bolbo seco ou cebola verde com bolbo imaturo) ou após transformação industrial para produção de produtos desidratados ou congelados. Só no ano de 2021, foram produzidos cerca de 111 milhões de toneladas de cebolas de bolbo seco, cebolas verdes e chalotas dos quais, aproximadamente, 7,1 milhões de toneladas foram cultivadas na União Europeia. No mesmo ano, em Portugal, a produção de cebolas e chalotas atingiu as 66 mil toneladas, estimando-se um consumo destes produtos de cerca de 12 kg/capita/ano (FAOSTAT, s.d.).

### 1.5.2. A cenoura

A cenoura é uma hortícola da espécie *Daucus carota*, originária da Ásia Central, que pertence à família *Apiaceae*. Apesar de se acreditar que a cenoura já era conhecida na Grécia Antiga e em Roma durante a Antiguidade, o seu cultivo só começa a ser bem documentado a partir do século X. Na Península Ibérica, o cultivo de cenoura de raízes púrpuras ou amarelas começou durante o século XII, ao passo que as culturas de variantes de cenoura hoje mais populares (raiz cor de laranja ou branca) só surgem documentadas na Holanda entre os séculos XVI e XVII.

A cenoura é uma hortaliça forrageira e uma das raízes mais consumidas pelo ser humano, tanto crua, em saladas ou *snacks*, como cozinhada das mais variadas formas. Uma parte considerável de cenouras são processadas, principalmente para produzir enlatados, conservas ácidas (*pickles*), sumos e produtos congelados ou desidratados. A cenoura é ainda um dos ingredientes mais utilizados na preparação de comida para bebés (Almeida, 2015).

Em termos nutricionais, a cenoura é rica em fibra e hidratos de carbono e é uma fonte apreciável de carotenos (pró-vitamina A), tiamina e riboflavina. Tem como constituintes ativos as pectinas, carotenos, glúcidos e vitaminas C, B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>. As cenouras de raiz cor de laranja contêm quantidades apreciáveis de carotenóides, principalmente  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e  $\gamma$ -caroteno (Almeida, 2015).

Esta espécie hortícola é também utilizada para produzir preparações terapêuticas com ação diurética, vitamínica, obstipante, cicatrizante, entre outras. São normalmente utilizadas em inflamações gástricas, dermatoses e perturbações visuais (Almeida, 2015).

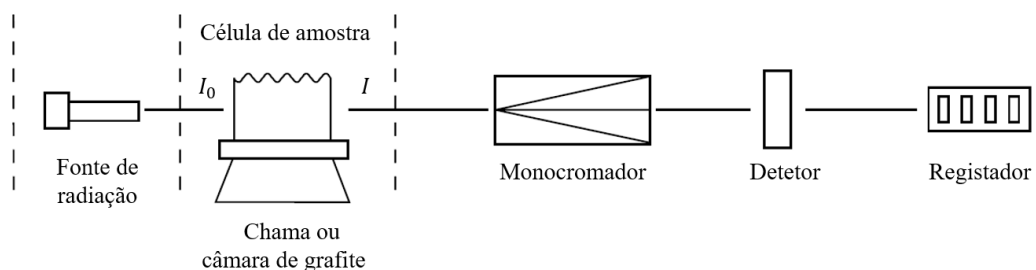
No ano de 2021 foram produzidas mundialmente cerca de 42 milhões de toneladas de cenouras e nabos, sendo que, aproximadamente 5,3 milhões de toneladas tiveram origem em países da União Europeia. Nesse mesmo ano, em Portugal, a produção de cenouras e nabos atingiu valores a rondar as 141 mil toneladas, tendo sido consumidos cerca de 12 kg/capita/ano destes produtos hortícolas (FAOSTAT, s.d).

## 1.6. Métodos Analíticos

### 1.6.1. Espetrometria de Absorção Atómica

A Espetrometria Atómica inclui um conjunto de métodos utilizados para determinar a composição elementar de um analito presente numa amostra através da sua decomposição em átomos numa chama, forno ou plasma. Cada elemento é medido pela absorção ou emissão de radiação ultravioleta ou visível pelos átomos gasosos. Existem várias técnicas analíticas disponíveis, por isso, seleccionar a mais apropriada é essencial para obter resultados precisos e fiáveis (Harris, 2010; PerkinElmer, 2013).

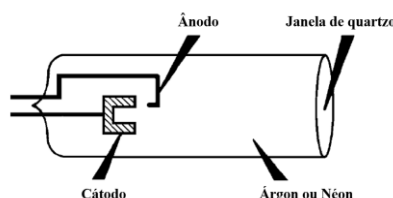
Na Espetrometria de Absorção Atómica (AAS), a amostra é atomizada, ou seja, convertida em átomos livres no estado fundamental na forma de vapor. Em seguida, um feixe de radiação eletromagnética, com o comprimento de onda do elemento a analisar, é passado através da amostra vaporizada. Parte dessa radiação é absorvida pelos átomos não excitados de um elemento no estado gasoso, o que provoca um enfraquecimento na intensidade da radiação transmitida que é função do número de fótons absorvidos na excitação dos átomos presentes. Um espectrómetro de absorção atómica (figura 1.1) requer três componentes essenciais: uma fonte de radiação, uma célula de amostra para produzir átomos gasosos e um meio de medir a luz específica absorvida (Levenson, 2002).



**Figura 1.1.** Representação esquemática de um espectrómetro de absorção atómica. Adaptado de Beaty & Kerber (1993).

Relativamente à fonte de luz, esta pode ser uma lâmpada de cátodo oco (Hallow Cathode Lamp, HCL) ou uma lâmpada de descarga sem elérodos (Electrodeless Discharge Lamp, EDL). Neste trabalho, foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco (figura 1.2) que são constituídas por um cátodo construído ou revestido do elemento a analisar (com elevada pureza), geralmente com a forma de um

cilindro fechado numa das extremidades, e um ânodo que é, normalmente, um fio metálico de tungsténio. Os eléctrodos, cátodo e ânodo, encontram-se hermeticamente fechados na lâmpada que contém um gás inerte, normalmente árgon ou néon. Quando se aplica uma diferença de potencial entre o ânodo e o cátodo o gás é ionizado e os iões positivos são acelerados em direção ao cátodo. A colisão faz com que os átomos metálicos que revestem o cátodo passem para a fase gasosa e que sejam posteriormente excitados por colisões com electrões de elevada energia. Quando regressam ao estado fundamental, os átomos do elemento constituinte do cátodo, emitem as suas radiações características. A intensidade da radiação é proporcional à corrente eléctrica aplicada na lâmpada (Harris, 2010).



**Figura 1.2.** Representação simplificada de uma lâmpada de cátodo oco. Adaptado de Beaty & Kerber, (1993).

Quando se analisam elementos mais voláteis onde a baixa intensidade e a curta vida útil da lâmpada de cátodo oco são um problema, recorre-se à lâmpada de descarga sem eléctrodos como fonte de radiação. Devido à maior intensidade e maior sensibilidade, estas lâmpadas oferecem melhor precisão e menores limites de deteção. Nestas lâmpadas uma pequena quantidade do metal do elemento em estudo está selada dentro de um tubo de quartzo. A envolver a lâmpada, encontra-se uma bobina geradora de radiofrequência e quando lhe é aplicada energia é gerado um campo de radiofrequências. Os átomos dentro do tubo são excitados, fazendo com que emitam o seu espectro característico. Como o próprio nome da lâmpada indica, esta não contém eléctrodos, sendo a energia fornecida pelo campo de radiações na zona das frequências rádio (Beaty & Kerber, 1993).

A célula de amostra produz átomos gasosos na chama (atomizador com chama) ou na câmara de grafite (atomizador eletrotérmico). O primeiro método envolve aspiração da solução para a chama, que leva a perdas de amostra. Já na utilização de câmara de grafite a amostra é diretamente inserida na câmara e o tubo de grafite é aquecido eletricamente (Levenson, 2002).

Para detetar a luz específica absorvida é necessário um monocromador que seleciona o comprimento de onda específico da radiação que é absorvida pela amostra. A seleção do comprimento de onda específico permite a determinação do elemento selecionado, mesmo na presença de outros elementos.

A radiação, com comprimento de onda selecionado pelo monocromador, é direcionada para o detetor que é geralmente um tubo fotomultiplicador que produz um sinal eléctrico proporcional à intensidade da luz (Beaty & Kerber, 1993; Levenson, 2002). O sinal sentido pelo detetor é função da queda de energia, que é diretamente proporcional à transmitância. Os valores de transmitância são convertidos em absorvância por cálculo através da equação 1.1 (Alvarenga, 1997).

$$A = \log \left( \frac{I_0}{I} \right) \quad (1.1)$$

em que  $A$  é a absorvância,  $I_0$  é a intensidade da radiação monocromática emitida pela fonte de radiação e  $I$  é a intensidade de radiação após atravessar a amostra.

A AAS é um método relativo e não absoluto de análise, o que significa só é possível obter resultados quantitativos por comparação com soluções padrão (calibradores) de concentração conhecida. Neste

trabalho utilizou-se o método da reta de calibração, reta esta que foi estabelecida através da representação das leituras de absorvância de um grupo de padrões em função das suas concentrações. Este é um método de interpolação, pelo que os valores de absorvância das amostras devem estar compreendidas entre os valores de absorvância mais baixo e mais alto das soluções padrão. Padrões de controlo (PC) são analisados ao longo do tempo para garantir a aplicabilidade da reta de calibração.

Através da reta de calibração, da radiação detetada pelo detetor e convertida em absorvância e da Lei de Lambert-Beer (equação 1.2) é possível determinar a concentração do elemento analisado na amostra, uma vez que a absorvância é diretamente proporcional à concentração atómica da espécie absorvente (Alvarenga, 1997; Beaty & Kerber, 1993; Levenson, 2002).

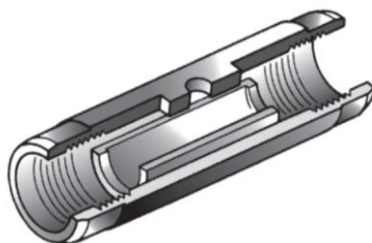
$$A = \varepsilon l c \quad (1.2)$$

em que  $\varepsilon$  é o coeficiente de absorvância molar,  $l$  é o percurso ótico da radiação e  $c$  é a concentração atómica da espécie absorvente.

### 1.6.2. Espectrometria de Absorção Atómica em Câmara de Grafite

A Espectrometria de Absorção Atómica com Câmara de Grafite (GFAAS) é um dos métodos adequados para determinar elementos vestigiais em amostras biológicas e de alimentos, devido às suas características tais como a celeridade, necessidade mínima de preparação de amostra, possibilidade de análise de amostras pequenas, possibilidade de automação, boa sensibilidade e baixo limite de deteção (Tüzen, 2003).

Em GFAAS, a amostra é introduzida diretamente numa câmara de grafite com dimensões típicas de 3 cm de comprimento e 8 mm de diâmetro (figura 1.3), que é posteriormente aquecida em várias etapas programadas para remover o solvente e os principais componentes da matriz e, por fim, atomizar a amostra remanescente (Butcher, 2023).



**Figura 1.3.** Representação simplificada de uma câmara de grafite. Adaptado de PerkinElmer (2012).

Na primeira etapa, a amostra com volume entre 5 e 50  $\mu\text{l}$  é injetada automaticamente na câmara de grafite. De seguida, dá-se a fase de secagem que consiste na evaporação do solvente, de forma a eliminar algum interferente. Na fase de calcinação, a temperatura aumenta gradualmente até atingir o valor de pirólise, isto é, a temperatura a que ocorre a eliminação dos constituintes mais voláteis, de modo que o elemento seja determinado sem interferências. Nesta fase a temperatura pode variar entre 350 e 1500  $^{\circ}\text{C}$ .

É na etapa de atomização que as espécies moleculares do analito se dissociam e se formam os átomos livres. A atomização ocorre devido à elevada temperatura na câmara de grafite que pode variar entre os 1000  $^{\circ}\text{C}$  (para o cádmio) e os 2500  $^{\circ}\text{C}$  (para o crómio) e que ocorre devido à corrente elétrica entre os dois eletrodos ligados às extremidades do tubo. Só nesta fase é medida a absorção de radiação pelo vapor atómico, a um comprimento de onda característico do analito.

Por fim, ocorre a fase de limpeza da câmara de grafite que permite a remoção de resíduos remanescentes da análise anterior que, caso não fossem eliminados, poderiam influenciar os valores de análises posteriores (efeito de memória). Assim, nesta fase são utilizadas temperaturas altas, entre 2500 °C e 2600 °C.

Após todas as fases do processo de análise, dá-se o arrefecimento da câmara de grafite. Para prevenir a oxidação do carbono da câmara, há passagem de um gás inerte (por exemplo, argon) na câmara durante as várias etapas, exceto na atomização, de forma a evitar a remoção do analito da câmara (Alvarenga, 1997; Filho et al., 2012; Harris, 2010).

A quantificação de metais por GFAAS em algumas amostras pode ser difícil, uma vez que a complexidade da matriz afeta os resultados analíticos. Pode existir, por exemplo, a formação de um composto volátil com o elemento a analisar, sendo este eliminado numa fase prematura de aquecimento, como durante a secagem ou calcinação. É o caso dos metais que formam compostos voláteis com o ião cloreto. Na presença de elevadas quantidades deste ião, metais como o chumbo, estanho ou zinco podem volatilizar antes da atomização do metal. Este efeito pode ser minimizado através da utilização de certos modificadores químicos. Por exemplo, o nitrato de amónio que reage com o ião cloreto formando cloreto de amónio, que volatiliza durante a fase de calcinação, permitindo a presença do analito na câmara de grafite até à fase de calcinação. Assim, os modificadores químicos podem ter diversas funções, sendo algumas (Agilent, 2018; Alvarenga, 1997; Beaty & Kerber, 1993):

- Formar compostos menos voláteis com o analito, permitindo a secagem e calcinação da amostra a temperaturas mais elevadas que removem, adequadamente, o material não-atómico antes da fase de atomização.
- Aumentar a volatilidade de interferentes da matriz de modo a serem removidos numa fase inicial, antes da atomização da amostra.

Preferencialmente, os modificadores químicos devem ser adicionados em excesso e previamente misturados com a amostra, principalmente quando se utiliza um pipetador automático ou, em alternativa, diretamente adicionados dentro da câmara de grafite, quando há o risco de formar algum tipo de precipitado com o elemento a modificar ou com a matriz. Um dos modificadores químicos mais utilizados é o ácido fosfórico, que forma compostos de baixa volatilidade com o chumbo, possibilitando a utilização de temperaturas de calcinação e atomização mais elevadas (Alvarenga, 1997).

As condições instrumentais e temperaturas utilizadas no forno de grafite para as fases de secagem, calcinação e atomização variam consoante o elemento a analisar e devem ser otimizadas. Para tal, um padrão com uma determinada concentração é analisado e as diversas temperaturas e tempos do forno de grafite são ajustados, de modo a que a amostra produza um sinal gaussiano com o valor de absorvância igual àquele indicado pelo fornecedor do equipamento, para o elemento em estudo.

Quando comparada com a Espectrometria de Absorção Atómica em Chama (FAAS), a GFAAS tem algumas vantagens, mas também desvantagens. Por um lado, e devido ao longo tempo de atomização das amostras analisadas em GFAAS, esta técnica tem maior sensibilidade e melhores limites de deteção comparativamente a sistemas de FAAS. Além disso, esta técnica permite analisar quantidades muito pequenas de amostra (na ordem dos microlitros) com limites de deteção geralmente 100 a 1000 vezes melhores do que em FAAS. Por outro lado, na técnica de GFAAS menos elementos podem ser determinados e é necessária maior capacidade do operador para definir as condições otimizadas para cada tipo de amostra (Alvarenga, 1997; Harris, 2010; PerkinElmer, 2013).

### 1.6.3. Fundamentos da Cromatografia

A cromatografia abrange um grupo de métodos que permitem a separação, identificação e determinação de componentes de uma mistura. Nas técnicas cromatográficas a separação só é possível devido à existência de uma fase estacionária e uma fase móvel. Os constituintes da amostra são transportados ao longo da fase estacionária através da fase móvel e, por isso, é necessário que os analitos a separar sejam solúveis na fase móvel e capazes de interagir com a fase estacionária por dissolução, adsorção ou reação química. Assim, os analitos de uma mistura são separados pelas diferentes velocidades de arrastamento na fase móvel, originadas pelas diferentes interações que cada constituinte da mistura tem com a fase estacionária. Componentes com maior afinidade para a fase estacionária deslocam-se mais lentamente ao longo da coluna, tendo por isso maior tempo de retenção que outros componentes com menor afinidade para a fase estacionária (Skoog et al., 2016).

Assim, para um dado componente da mistura existe um coeficiente de distribuição ( $K$ ) entre as fases estacionária e móvel (equação 1.3).

$$K = \frac{c_S}{c_M} \quad (1.3)$$

em que  $c_S$  é a concentração molar de soluto na fase estacionária e  $c_M$  é a concentração molar de soluto na fase móvel.

Um analito com um valor elevado de coeficiente de distribuição irá mover-se mais lentamente ao longo da coluna, uma vez que tem maior afinidade com a fase estacionária, resultando na separação de componentes com menor afinidade para a fase estacionária. Portanto, para que ocorra separação de componentes de uma mistura, estes devem ter diferentes coeficientes de distribuição, de forma a que tenham diferentes tempos de retenção. O tempo de retenção ( $t_R$ ) representa o tempo necessário para que o analito chegue ao detetor, após a injeção da amostra e é a soma do tempo morto ( $t_M$ ) com o tempo que o analito passa retido na fase estacionária ( $t_S$ ) (equação 1.4). O tempo morto é o tempo para as espécies não retidas na fase móvel chegarem ao detetor. O tempo de retenção serve para medir a velocidade de eluição das espécies separadas.

$$t_R = t_M + t_S \quad (1.4)$$

Para comparar as velocidades de eluição dos solutos numa coluna utiliza-se o fator de retenção,  $k_R$ . O fator de retenção é sempre o mesmo para um determinado soluto, fase móvel e fase estacionária, ou seja,  $k_R$  não depende da geometria da coluna ou do fluxo do eluente. Assim, para um dado soluto, o fator de retenção é calculado tendo em conta a equação 1.5.

$$k_R = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (1.5)$$

Idealmente a separação deve ser realizada em condições em que valor de retenção para os solutos da mistura estejam entre 1 e 10.

O fator de seletividade,  $\alpha_S$ , de uma coluna para dois solutos, A e B é dada pela equação 1.6.

$$\alpha_S = \frac{k_B}{k_A} \quad (1.6)$$

em que  $k_B$  e  $k_A$  são os fatores de retenção dos solutos B e A, respetivamente. Se o valor de  $\alpha_S$  for superior a 1, há separação dos analitos, caso contrário, os componentes da amostra foram co-eluídos.

Para avaliar a eficiência cromatográfica da coluna, são utilizados dois parâmetros: o número de pratos teóricos ( $N$ ) e a altura equivalente de um prato teórico ( $H$ ), que estão relacionados de acordo com a equação 1.7.

$$N = \frac{L}{H} \quad (1.7)$$

em que  $L$  é o comprimento da coluna. Estes termos surgiram com a Teoria dos Pratos Teóricos que considerava a coluna cromatográfica como uma coluna de destilação constituída por inúmeras camadas contínuas designadas pratos teóricos em que ocorre equilíbrio entre a fase estacionária e fase móvel.

Considerando que os picos cromatográficos têm uma distribuição Gaussiana, é possível obter o número de pratos teóricos através da equação 1.8.

$$N = 16 \left( \frac{t_R}{W} \right)^2 \quad (1.8)$$

em que  $W$  representa a largura da base do pico.

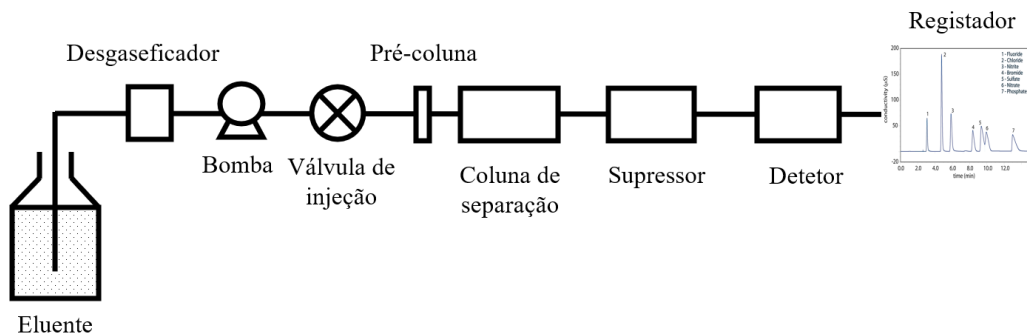
A resolução da coluna ( $R_S$ ) indica, de forma quantitativa (equação 1.9), a capacidade de uma coluna para separar dois analitos (A e B).

$$R_S = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B} = \frac{\sqrt{N}}{4} \left( \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left( \frac{k_B}{1 + k_B} \right) \quad (1.9)$$

Assim, a resolução depende de três fatores fundamentais: o fator de retenção ( $k$ ), a seletividade ( $\alpha$ ) e a eficiência ( $N$ ). Valores de resolução acima de 1,5 indicam a separação praticamente completa de dois analitos (Skoog et al., 2016).

#### 1.6.4. Cromatografia iónica

A cromatografia iónica baseia-se em equilíbrios de troca iónica entre os iões da fase móvel e os iões da fase estacionária (Skoog et al., 2016). O sistema de IC é constituído, essencialmente, por um eluente, uma bomba, uma válvula de injeção, uma pré-coluna, uma coluna analítica, um supressor e um detetor (figura 1.4).

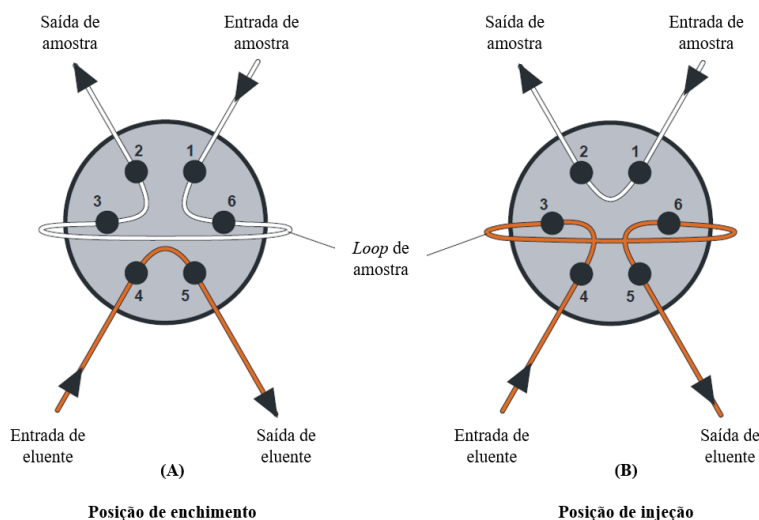


**Figura 1.4.** Representação esquemática de um sistema de IC.

O eluente é constituído por iões que têm como função competir com os iões da amostra pelos locais ativos da fase estacionária e separar os iões da mistura em bandas bem definidas. O ião de competição do eluente deverá ter um coeficiente de seletividade elevado para conseguir remover os iões da amostra retidos na fase estacionária.

A função da bomba é impulsionar o eluente pelo sistema a um fluxo constante, definido pelo operador. Caso a composição do eluente seja constante ao longo da análise, é utilizada uma bomba isocrática.

A válvula de injeção (figura 1.5) tem ligação a um *loop* que é escolhido de acordo com o volume de amostra a analisar. A utilização de um *loop* permite que o volume de amostra injetado seja constante em todas as análises, eliminando o erro do operador. A válvula de injeção funciona em duas posições: enchimento (*load*) e injeção (*inject*). Na posição de enchimento o eluente flui, diretamente, para a coluna, sem passar pelo *loop*, enquanto a amostra é introduzida neste. Na posição de injeção o eluente é impulsionado para o *loop*, arrastando a amostra para a pré-coluna (Fritz & Gjerde, 2009).



**Figura 1.5.** Representação simplificada de uma válvula de injeção. (A) posição de enchimento. (B) posição de injeção. Adaptado de Metrohm (2012)

A pré-coluna é uma coluna de pequenas dimensões com a mesma composição que a coluna analítica, de forma a não interferir na separação dos componentes da amostra. A pré-coluna tem como função reter eventuais contaminantes orgânicos e pequenas partículas que poderiam danificar a coluna analítica, prevenindo assim a sua contaminação e aumentando o seu tempo de vida (Fritz & Gjerde, 2009).

A coluna de separação, tal como o nome indica, tem como objetivo a separação dos componentes da amostra. Estas colunas consistem num tubo que acomoda a fase estacionária que, geralmente, é uma resina insolúvel que contém iões fixos de carga contrária aos iões analito. Os iões do eluente atuam como contra iões que, durante a análise, serão substituídos pelos iões a analisar. Durante a separação cromatográfica ocorrem sucessivos equilíbrios entre os iões da amostra e os iões da fase estacionária.

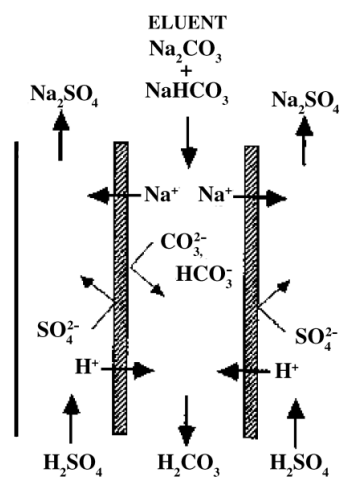
Por exemplo, numa coluna de troca aniónica, os iões fixos na matriz têm carga positiva ( $M^+$ ) e os contra iões (eluente) têm carga negativa ( $E^-$ ), ocorrendo a troca entre estes e os iões da amostra ( $A^-$ ) quando esta é injetada na coluna, tal como apresentado na equação 1.10.



A deteção é feita através da medição da condutividade, sendo necessário utilizar um supressor antes do módulo de deteção. O supressor tem como função minimizar a condutividade do eluente e converter as espécies iónicas da amostra numa única forma iónica com condutividade mais elevada. Esta ação

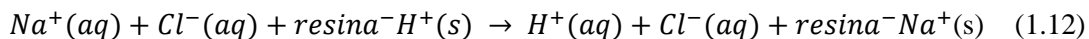
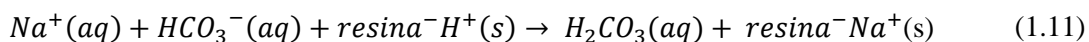
permite o aumento da sensibilidade de deteção desta técnica. Existem diferentes tipos de supressores: elétricos ou químicos. O cromatógrafo utilizado neste trabalho está equipado com um supressor químico que é constituído por três cartuchos de material permutador de iões. Enquanto o primeiro cartucho é utilizado para supressão, o segundo é regenerado com ácido diluído (geralmente ácido sulfúrico) e o terceiro é enxaguado com água ou eluente. Antes de cada análise o supressor é rodado 120° de modo que o cartucho regenerado e enxaguado esteja disponível para uma nova análise (Metrohm, 2022).

No processo de supressão química em que se utilize como eluente uma solução tampão de hidrogenocarbonato/carbonato, os iões hidrogenocarbonato e carbonato do eluente são convertidos em ácido carbónico (figura 1.6) cuja condutividade é baixa, levando à diminuição da condutividade de fundo do eluente. O analito a ser detetado também sofre troca do seu catião por H<sup>+</sup>, aumentando a condutividade da solução que será detetada (Metrohm, 2022; Skoog et al., 2016).



**Figura 1.6.** Representação esquemática do funcionamento de um supressor químico. Retirado de Haddad et al. (2003).

Para ilustrar as reações que ocorrem no supressor, tanto a nível do eluente (equação 1.11) como do analito (equação 1.12), consideremos o eluente hidrogenocarbonato de sódio e o analito Cl<sup>-</sup>.



Em IC podem ser utilizados diferentes tipos de detetor, UV-Vis e outros, sendo o mais comum o detetor de condutividade. Este modo de deteção é robusto e sensível e, como referido anteriormente, a sensibilidade do detetor pode ainda aumentar na presença de um supressor entre a coluna e o detetor. O detetor de condutividade deteta a condutância (*G*) da solução que por ele passa. A condutância medida é corrigida pela constante de célula (*K*), de forma a dar origem à condutância que seria medida numa célula com eléctrodos de 1 cm<sup>2</sup> de área e afastados entre si por 1 cm. Assim, através da equação 1.13, obtém-se a condutividade (*k*) expressa em S/cm (Fritz & Gjerde, 2009).

$$k = K \times G \quad (1.13)$$

O sinal medido no detetor é adquirido através de um software e registado num gráfico em função do tempo, designado cromatograma, onde se podem observar os picos ou bandas correspondentes aos

componentes e identificá-los tendo em conta o seu tempo de retenção. As áreas e alturas dos picos dão informação acerca da concentração de analito, uma vez que o sinal do detetor é proporcional à concentração do analito. No entanto, é necessário recorrer a calibradores de concentração conhecida para se poder fazer a análise quantitativa através de uma curva de calibração (Fritz & Gjerde, 2009).

## 1.7. Incerteza do resultado de medição

A incerteza é um “parâmetro não negativo que caracteriza a dispersão dos valores atribuídos a uma mensurada, com base nas informações utilizadas” (VIM, 2012). A apresentação de um resultado com incerteza permite que este seja objetivamente comparável com qualquer valor de referência ou outro resultado também expresso com incerteza. Assim, nenhum resultado de medição pode ser interpretado corretamente sem, pelo menos, algum conhecimento da incerteza associada, isto é, o utilizador precisa de conhecer a dimensão da incerteza de forma a determiná-la ou precisa de ter a garantia de que a incerteza associada é suficientemente pequena para ser desprezada para o seu propósito específico (EURACHEM, 2020).

Para a quantificação da incerteza, tem-se em conta tanto os erros aleatórios como os erros sistemáticos, existindo diversas metodologias para a sua determinação. Neste trabalho seguiu-se a abordagem *bottom-up* que contempla as seguintes etapas (RELACRE, 2018; EURACHEM, 2012):

- Identificação da mensurada;
- Identificação das fontes de incerteza;
- Quantificação das fontes de incerteza;
- Combinação das fontes de incerteza;
- Cálculo da incerteza expandida;
- Apresentação do resultado com incerteza expandida.

Consoante a mensurada, as fontes de incerteza variam. De seguida apresentam-se as formas de determinar as incertezas associadas às operações unitárias mais frequentes, o cálculo da incerteza combinada e da incerteza expandida.

### 1.7.1. Incerteza associada a pesagens

A incerteza associada à pesagem ( $u_m$ ) é a combinação da incerteza associada à calibração da balança ( $u_{\text{Bal}}^{\text{Calib}}$ ) e a incerteza da repetibilidade da balança ( $u_{\text{Bal}}^{\text{Rep}}$ ). No caso de uma pesagem por diferença, são contabilizadas as incertezas associadas à massa bruta e à tara, uma vez que  $m = m_{\text{bruta}} - m_{\text{tara}}$ . Visto que estas duas medições são independentes em termos de repetibilidade da balança, as componentes da incerteza têm de ser contabilizadas duas vezes, de acordo com a equação 1.14.

$$u_m = \sqrt{2(u_{\text{Bal}}^{\text{Calib}})^2 + 2(u_{\text{Bal}}^{\text{Rep}})^2} \quad (1.14)$$

A incerteza associada à calibração da balança pode ser calculada, caso não exista esta informação no certificado de calibração da mesma, dividindo o EMA por  $\sqrt{3}$ , isto é, considerando uma distribuição retangular uniforme que maximiza a incerteza. A incerteza associada à repetibilidade da balança é dada pelo desvio padrão associado a dez ensaios de pesagem. Assim, a incerteza associada à pesagem pode ser rescrita na forma da equação 1.15.

$$u_m = \sqrt{2 \left( \frac{\text{EMA}}{\sqrt{3}} \right)^2 + 2(u_{\text{Bal}}^{\text{Rep}})^2} \quad (1.15)$$

### 1.7.2. Incerteza associada a uma medição de volume

A incerteza associada à medição de um volume ( $u_V$ ) resulta da combinação da incerteza associada à calibração do material volumétrico ( $u_V^{\text{Calib}}$ ), incerteza associada à repetibilidade de manipulação do material volumétrico ( $u_V^{\text{Rep}}$ ) e à incerteza associada ao efeito da temperatura ( $u_V^{\text{Temp}}$ ), de acordo com a equação 1.16.

$$u_V = \sqrt{(u_V^{\text{Calib}})^2 + (u_V^{\text{Rep}})^2 + (u_V^{\text{Temp}})^2} \quad (1.16)$$

A incerteza associada à calibração do material volumétrico convencional é estimada através da tolerância associada ao valor nominal do seu volume fornecida pelo fabricante e considera-se uma distribuição retangular uniforme.

A incerteza associada à repetibilidade do material volumétrico é estimada pelo desvio padrão de medições de volume sucessivas. Este desvio padrão é equivalente ao desvio padrão das massas de água medidas pelo material volumétrico, considerando que a densidade da água à temperatura ambiente é aproximadamente 1 g/cm<sup>3</sup>.

A incerteza associada ao efeito da temperatura reflete o impacto da variação da temperatura do laboratório na medição. Normalmente, as medições de volume são referenciadas a 20 °C. Habitualmente, quando a temperatura varia num intervalo de  $\pm 4$  °C em relação à temperatura de referência considera-se que esta componente de incerteza é desprezável e, por isso, pode ser dispensado o seu cálculo, sendo, deste modo, a incerteza associada ao volume medido com o material volumétrico dada pela equação 1.17.

$$u_V = \sqrt{\left( \frac{\text{tolerância}}{\sqrt{3}} \right)^2 + (u_V^{\text{Rep}})^2} \quad (1.17)$$

### 1.7.3. Incerteza associada à diluição de uma solução

Considerando a diluição de uma solução com concentração  $C$ , diluindo um volume inicial ( $V_i$ ) para um volume final ( $V_f$ ), a incerteza ( $u_{C_{\text{dil}}}$ ) associada à concentração da solução diluída é calculada através da equação 1.18.

$$u_{C_{\text{dil}}} = C_{\text{dil}} \times \sqrt{\left( \frac{u_C}{C} \right)^2 + \left( \frac{u_{V_i}}{V_i} \right)^2 + \left( \frac{u_{V_f}}{V_f} \right)^2} \quad (1.18)$$

em que as incertezas-padrão associadas a  $V_i$  e  $V_f$ ,  $u_{V_i}$  e  $u_{V_f}$ , respetivamente, são calculadas de acordo com a equação 1.17, não considerando a componente da temperatura. O termo  $u_C$  corresponde à incerteza-padrão associada a  $u_C$ .

### 1.7.4. Incerteza associada a resultados obtidos por métodos instrumentais

A incerteza associada a resultados obtidos recorrendo a instrumentação analítica,  $u(c_{\text{int}})$ , é a combinação da incerteza associada à interpolação do sinal da amostra na curva de calibração ( $u_{\text{int}}$ ) e da incerteza associada à concentração dos padrões usados na calibração do método de análise ( $u_{\text{std}}$ ), sendo habitualmente considerada apenas a incerteza associada ao padrão menos concentrado da curva de calibração (equação 1.19).

$$u(c_{\text{int}}) = c_{\text{int}} \sqrt{\left(\frac{u_{\text{int}}}{c_{\text{int}}}\right)^2 + \left(\frac{u_{\text{std}}}{c_{\text{std}}}\right)^2} \quad (1.19)$$

em que  $c_{\text{int}}$  é o teor estimado pela interpolação na curva de calibração.

Quando a curva de calibração é obtida pelo método dos mínimos quadrados, a incerteza da interpolação é dada pela equação 1.20 (RELACRE, 2018).

$$u_{\text{int}} = \frac{s_y}{b} \sqrt{\frac{1}{M} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{y}_\alpha - \bar{y})^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad (1.20)$$

em que  $b$  é o declive da reta,  $M$  é o número de leituras dos padrões utilizados no traçado da curva de calibração,  $n$  é o número de leituras utilizadas para determinar o teor da amostra,  $\bar{y}_\alpha$  é o valor médio das  $n$  leituras da amostra,  $\bar{y}$  é o valor médio das  $M$  leituras dos padrões de calibração,  $x_i$  é o teor dos padrões de calibração obtido em cada uma das  $M$  leituras,  $\bar{x}$  é o valor médio dos teores dos padrões de calibração e  $s_y$  é o desvio padrão residual da curva de calibração, calculado a partir da equação 1.21.

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}} \quad (1.21)$$

em que  $y_i$  é o sinal da leitura do padrão  $i$ ,  $n$  é o número de padrões de calibração e  $\hat{y}_i$  é o valor do sinal estimado para o padrão  $i$ , a partir da reta de calibração.

### 1.7.5. Combinação das componentes da incerteza

Uma vez quantificadas todas as componentes de incerteza, deve ser calculada a incerteza padrão combinada ( $u_y$ ), que pode ser obtida, para variáveis de entrada independente, na forma absoluta, se o cálculo da mensuranda envolver apenas adições e/ou subtrações das variáveis de entrada (ex:  $y = p + q + r$ ), utilizando a equação 1.22. Se o cálculo da mensuranda envolver a multiplicação e/ou divisão das variáveis de entrada (ex:  $y = p \times q/r$ ), a incerteza padrão combinada é calculada na forma relativa, através da equação 1.23.

$$u_y = \sqrt{(u_p)^2 + (u_q)^2 + (u_r)^2} \quad (1.22)$$

$$u_y = y \times \sqrt{\left(\frac{u_p}{p}\right)^2 + \left(\frac{u_q}{q}\right)^2 + \left(\frac{u_r}{r}\right)^2} \quad (1.23)$$

### 1.7.6. Incerteza expandida

A incerteza expandida ( $U_y$ ) é obtida mediante a multiplicação da incerteza combinada ( $u_y$ ) por um fator de expansão ( $k$ ) escolhido de acordo com o nível de confiança pretendido (equação 1.24). Para um nível de confiança de, aproximadamente, 95 %,  $k=2$  e para um nível de confiança de, aproximadamente, 99 %,  $k=3$ .

$$U_y = k \times u_y \quad (1.24)$$

# 2. Parte Experimental

## 2.1. Espécies estudadas

Como anteriormente referido, neste trabalho estudaram-se as espécies *Allium cepa* e *Daucus carota*. Nos ensaios de germinação, os fornecedores das sementes de cebola e cenoura foram o Horto Sementes e Luso Sementes, respetivamente. No ensaio de crescimento em ambiente controlado plantaram-se rebentos de cebola obtidas numa loja de comércio de produtos hortícolas (Coelho Pereira Lda.) e semearam-se cenouras da marca Flora Lusitana.

## 2.2. Caracterização da água

Tanto nos ensaios de germinação como nos ensaios de crescimento em ambiente controlado foi utilizada, para a rega das espécies estudadas, água da torneira (AT), água residual tratada (ART) da ETAR de Chelas e solução de ART suplementada com os metais tóxicos Cd, Pb, Cr e Ni (doravante denominada solução VLE).

### 2.2.1. Água da torneira

A água da torneira utilizada nos ensaios de germinação foi retirada diretamente da torneira (rede pública de Lisboa com água fornecida por EPAL) e utilizada. No caso do ensaio de crescimento das espécies hortícolas, utilizou-se um reservatório para a água da torneira arejar antes de ser utilizada para a rega. Os valores de pH e de condutividade elétrica (EC) da água foram determinados no momento de recolha da água e encontram-se na tabela 6.1, em anexo. Os restantes parâmetros de análise podem ser consultados nos boletins de qualidade da água contantes em anexo (figuras 6.1 a 6.4).

### 2.2.2. Água Residual Tratada

A água residual tratada foi obtida na ETAR de Chelas em diferentes dias, consoante a necessidade de rega das sementes e plantas durante os ensaios de germinação e crescimento, respetivamente. A água recolhida e utilizada nestes ensaios é água que seria devolvida ao meio ambiente e, por isso, passou pelos processos de tratamento da ETAR, descritos no subcapítulo 1.2.1, não tendo, no entanto, adição de hipoclorito de sódio.

Em todos os lotes de água recolhidos na ETAR foi medido o pH (Crison micropH 2002) e a condutividade elétrica (inoLab Cond Level 1) que se apresentam também na tabela 6.1, em anexo. Os parâmetros de Carência Química de Oxigénio (CQO), Sólidos Suspensos Totais (SST) e Azoto Total foram disponibilizados pela ETAR de Chelas e encontram-se na tabela 6.2, em anexo.

### 2.2.3. ART com metais tóxicos (solução VLE)

A solução VLE é preparada com soluções padrão (1000 mg/l) dos metais Cd (Merck), Pb (Merck), Cr (VWR) e Ni (Merck) nas concentrações presentes no Anexo XVII do Decreto-Lei n.º 236/98 presentes na tabela 1.1, que definem os valores limite de emissão na descarga de águas residuais.

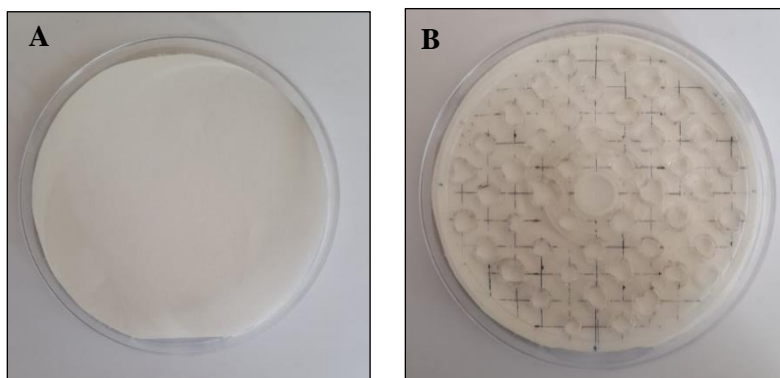
Para os ensaios de germinação foi preparada uma solução com volume final de um litro. Nos ensaios de crescimento a solução foi preparada consoante a necessidade de rega das plantas, sendo sempre preparada em lotes com volume final de 6 litros. Para cada lote foram sempre medidos o pH (Crison microPH 2002) e a condutividade elétrica (inoLab Cond Level 1) que estão registados na tabela 6.1, em anexo.

## 2.3. Ensaio de germinação

Foram realizados ensaios de germinação preliminares que tiveram como objetivo otimizar a experiência. Nesses dois ensaios utilizou-se como substrato o algodão cardado, que revelou ser pouco eficiente no que diz respeito à distribuição da água de rega. Para além disso, este substrato não formou uma superfície plana homogénea, que diminuiu o contacto das sementes com a superfície, dificultando a sua absorção de água. Assim, optou-se por reutilizar um substrato de tecido 100 % algodão que não só minimizou os problemas anteriores como também foi uma alternativa mais sustentável, relativamente à utilização de algodão cardado. Nestes ensaios preparativos otimizou-se a medição do comprimento das sementes com recurso ao *software* Fiji ImageJ (Schindelin et al., 2012) e o sistema de rega das placas de Petri.

Depois de realizados os estudos preparativos, foi realizado um ensaio (em duplicado) e, para tal, foram utilizadas 12 placas de Petri (13,5 cm de diâmetro), 6 delas para sementes de cebolas e outras 6 para as sementes de cenouras. Como meio de germinação utilizou-se uma camada uniforme de substrato de tecido 100 % algodão, que foi coberto por uma folha de papel de filtro (Whatman 42 *ashless*).

De modo a facilitar a rega durante o ensaio, foi criado, em todas as placas, um pequeno orifício no centro da folha de papel de filtro, que serviu de canal de rega. O substrato de algodão e a folha de papel de filtro foram ainda cortados de forma a criar um reservatório de água, tal como se mostra na figura 2.1. Este reservatório serviu para reservar a água que não era absorvida pelo substrato e como auxiliar na monitorização da necessidade de rega das sementes.



**Figura 2.1.** Meio de germinação. (A) Placa de Petri com substrato de algodão e folha de papel de filtro, com reservatório de água. (B) Grelha quadriculada utilizada para distribuir igualmente as 45 sementes pela placa de Petri.

Para a rega foram utilizados diferentes tipos de água: água da torneira (AT), água residual tratada da ETAR de Chelas (ART) e solução VLE.

Inicialmente as placas de Petri foram regadas com 40 ml de solução, de forma a deixar o substrato saturado e com água no reservatório. De seguida, já com o substrato e papel de filtro humedecidos, e com ajuda de uma grelha (figura 2.1), foram adicionadas 45 sementes a cada placa de Petri. As placas, devidamente etiquetadas, foram tapadas com as respetivas tampas e colocadas num local escuro à temperatura ambiente, que foi registada ao longo de todo o ensaio com um registador Uni-T 330A. No quinto dia do ensaio de germinação as tampas das caixas foram removidas e, a partir do sétimo dia, devido à baixa temperatura ambiente (aproximadamente 14 °C), o ambiente foi aquecido a 20 °C e mantido a temperatura constante até ao fim do ensaio.

O ensaio teve a duração de 21 dias, durante os quais se adicionou água às placas de Petri sempre que se deixou de observar a presença de água no reservatório, mantendo assim o substrato e papel de filtro húmidos (tabela 2.2). No total, foram utilizados 105 ml de água para cada placa.

**Tabela 2.1.** Volume de água adicionado a cada placa de Petri ao longo do ensaio de germinação. Em cada dia todas as placas foram regadas com o mesmo volume de água, variando apenas o tipo de água utilizada (AT, ART ou solução VLE).

<b>Dia de ensaio</b>	<b>Volume de água (ml)</b>
0	40
3	5
7	5
10	10
12	10
14	15
17	10
19	10
Total	105

De modo a estudar o efeito dos diferentes tipos de água no processo germinativo das cebolas e cenouras, foram realizadas medições de biomassa e do comprimento das plântulas, em três dias distintos: no dia 14, 17 e 21 após o início do ensaio de germinação. Nestes dias foram recolhidas, sempre que possível, 8 plântulas, de cada placa. Para facilitar o processo de amostragem as placas foram divididas em quatro quadrantes iguais, de acordo com um referencial cartesiano, dos quais foram retiradas, de forma aleatória, duas plântulas de cada um deles.

Para avaliar o crescimento inicial das plântulas através da biomassa, foi determinada a massa média de cada semente das duas espécies estudadas. Para tal, determinou-se a massa de uma amostra aleatória de sementes (AG204 Mettler Toledo) e, de seguida, as sementes foram contadas de modo a calcular a massa média de cada uma das sementes. Este procedimento foi repetido 3 vezes. Em cada dia de recolha de amostra, mediu-se a massa das plântulas de forma a determinar a biomassa média de cada plântula.

Para determinar o comprimento das plântulas ao longo do ensaio de germinação, as plântulas recolhidas de cada placa de Petri foram fotografadas em fundo preto e com régua (como escala), tal como exemplificado na figura 2.2. Para este estudo foi considerado todo o comprimento das plântulas,

isto é, desde que sai da semente até à extremidade livre. As imagens foram analisadas utilizando o *software* Fiji ImageJ (Schindelin et al., 2012).

Já com a imagem no *software* Fiji ImageJ, para cada uma das imagens, foi definida a escala, recorrendo à ferramenta “*straight line*”. De seguida, mediu-se o comprimento de cada uma das plântulas presentes na imagem. Para tal, utilizou-se a ferramenta “*freehand line*” que permitiu desenhar uma linha sobre cada plântula. Com o comando “*measure*” obteve-se o comprimento de cada plântula, em centímetros.

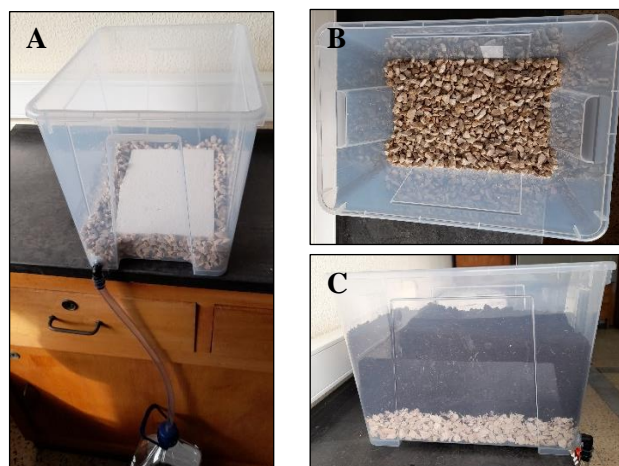


**Figura 2.2.** Imagens das plântulas de cebola para análise no *software* Fiji ImageJ (A) Sementes regadas com solução VLE (AC.VLE) no dia 12 de germinação. (B) Exemplo da medição do comprimento das plântulas com a ferramenta *freehand line* do Fiji ImageJ; linha a amarelo representa a linha desenhada pelo utilizador e que é utilizada no cálculo do comprimento da plântula feito pelo *software*.

## 2.4. Ensaio de crescimento em ambiente controlado

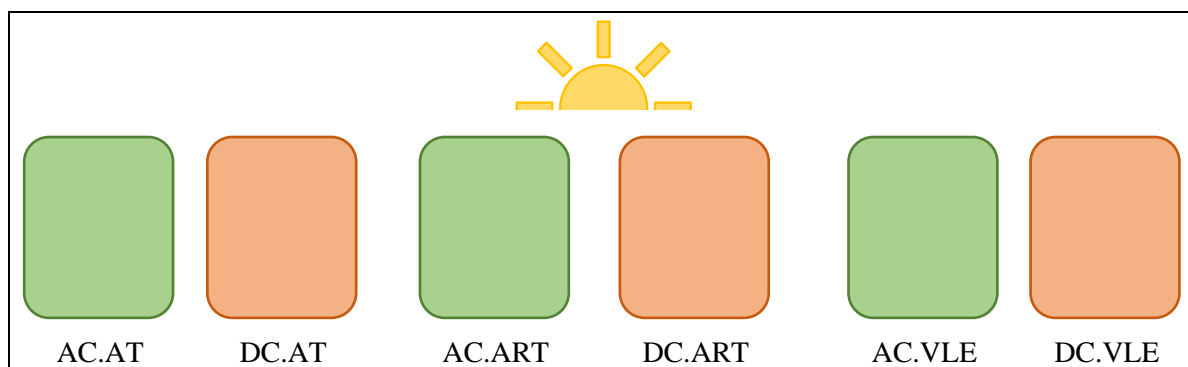
Para os ensaios de crescimento em ambiente controlado foram utilizadas 6 caixas de plástico (com dimensões 39x28x28 cm), das quais 3 foram utilizadas para plantar cebolas e outras 3 para semear cenouras.

No fundo das caixas foi colocada uma placa de esferovite com dimensões inferiores às da caixa (aproximadamente 27 cm x 17 cm), de modo a criar canais de drenagem, que foram preenchidos com brita calcária (Areipor). A placa de esferovite foi ainda coberta por uma camada da mesma brita utilizada para formar os canais de drenagem. Em todas as caixas foi utilizada a mesma quantidade de brita, que foi previamente lavada com água corrente até deixar de se observar turvação da água. Acima da brita (camada de aproximadamente 5 cm), foi adicionado substrato de cultivo da marca SIRO numa camada com aproximadamente 15 cm de altura. Cada caixa tinha ainda uma saída de água perto da sua base, que permitia a drenagem das águas lixiviadas para garrafões com capacidade de 6 litros. A figura 2.3 demonstra as diferentes etapas de preparação das cultivares.



**Figura 2.3.** Preparação das caixas para a plantação de cebolas e sementeira de cenouras. **(A)** Caixa com a placa de esferovite, brita, tubo de drenagem e garrafão coletor de águas lixiviadas. **(B)** Caixa com a camada de brita que permite a drenagem da água. **(C)** Caixa de cultivo em que se observa o substrato de drenagem e na camada superior, o substrato de cultivo.

As caixas foram colocadas numa sala com boa exposição solar (figura 2.4) e temperatura e humidade controladas (registados com Uni-T 331+). A temperatura do solo foi medida na caixa DC.AT, a uma profundidade de 5 cm (Mauser MUL025) ao longo de todo o ensaio. Para além disso, foi construído um sistema de sensores de temperatura e humidade ambiente (Seed studio 101020592), luz (Seed studio 101020089) e humidade do solo (Seed studio 101020008 e 101020614) utilizando o sistema Arduino, que foi programado para obter dados em intervalos de 20 minutos.



**Figura 2.4.** Esquema da disposição das cultivares de cebolas e cenouras regadas com diferentes tipos de água relativamente à exposição solar. **(AC.AT)** cebolas regadas com água da torneira; **(DC.AT)** cenouras regadas com água da torneira; **(AC.ART)** cebolas regadas com água residual tratada; **(DC.ART)** cenouras regadas com água residual tratada; **(AC.VLE)** cebolas regadas com solução VLE; **(DC.VLE)** cenouras regadas com solução VLE.

Em cada caixa de cebolas foram plantadas 13 cebolas e nas caixas de cenouras foram espalhadas algumas sementes e, de seguida, a terra foi ligeiramente mexida, de modo a deixar as sementes a uma profundidade entre 3 e 5 mm, como recomendado por Almeida (2015).

As culturas foram regadas durante todo o ensaio com AT, ART e solução VLE, de acordo com a tabela 6.3. em anexo (aproximadamente 30 litros de água em cada caixa de crescimento). Nas primeiras 3 semanas, as culturas VLE foram regadas com ART, para que as hortícolas se adaptassem ao novo ambiente. No fim desse período, foram removidas cerca de metade das cenouras germinadas,

para diminuir a densidade de plantas e, assim, potenciar o crescimento das restantes cenouras. O ensaio de crescimento teve a duração de 127 dias.

## **2.4.1. Caracterização e análise dos solos**

### **2.4.1.1. Amostragem e preparação das amostras**

No fim do ensaio de crescimento, e depois de recolhidas os vegetais, foi realizada a amostragem do solo. Para a recolha destas amostras foram utilizados tubos de PVC com 2 cm de diâmetro interno que permitiram recolher solo até 10 cm de profundidade. O tubo foi espetado no solo várias vezes, de forma aleatória, em toda a caixa, de modo a recolher, aproximadamente, 100 g de solo. As amostras compostas foram devidamente identificadas (exemplo: S.AC.AT, amostra de solo retirada da caixa de crescimento AC.AT) e colocadas em recipientes de polipropileno.

Na preparação das amostras, estas foram deixadas a secar ao ar e, de seguida, foram peneiradas com um crivo de 1 mm. A fração fina (inferior a 1 mm) foi utilizada para as medições de pH, condutividade elétrica, teor de humidade e teor de matéria orgânica.

### **2.4.1.2. Medição do pH**

Para a medição do pH dos solos utilizou-se o método potenciométrico de referência numa suspensão solo/ $\text{CaCl}_2$  (aq) de acordo com a ISO 10390 (2021). Numa balança Mettler Toledo PB602 pesaram-se 10 g do solo já seco e peneirado para um copo de precipitação de 50 ml. Adicionaram-se 25 ml da solução de  $\text{CaCl}_2$  0,01 mol/l previamente preparada a partir de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  da marca Merck. A mistura foi agitada durante 30 minutos e, de seguida, deixada em repouso durante 1 hora. A suspensão foi novamente agitada, tendo sido efetuadas seis leituras de pH (Crison micropH 2002) à temperatura ambiente. O eletrodo foi previamente calibrado com soluções tampão de pH  $7,00 \pm 0,02$  e  $4,00 \pm 0,02$  da Panreac.

### **2.4.1.3. Medição da condutividade elétrica**

Para determinação da condutividade elétrica do solo utilizou-se o método condutimétrico de referência numa suspensão solo/água (Silva, 2015). Para tal, pesaram-se 20 g de solo, previamente preparado, para um erlenmeyer de 250 ml ao qual se adicionaram 100 ml de água ultrapura. A mistura foi agitada durante 30 minutos e, de seguida, efetuadas as medições de condutividade (inoLab Cond Level 1), à temperatura ambiente. O condutivímetro foi previamente calibrado com soluções de KCl 0,001 mol/l e KCl 0,01 mol/l, preparadas a partir de uma solução eletrolítica de KCl de concentração 3 mol/l (Metrohm).

### **2.4.1.4. Teores de humidade e de matéria orgânica**

Para determinação dos teores de humidade e de matéria orgânica do solo foi utilizado o método gravimétrico descrito na ISO 11465 (1993). Os cadinhos de porcelana, devidamente identificados, foram colocados na mufla Heraeus Instruments a  $105^\circ\text{C}$ , até peso constante, de forma a obter a sua tara. De seguida, foram aquecidos a  $550^\circ\text{C}$ , para obtenção da tara a esta temperatura. Numa balança Mettler Toledo AG204 pesou-se, aproximadamente, 3 g de solo (fração fina) para os cadinhos.

Para determinar o teor de humidade, os cadinhos com solo foram colocados na mufla a 105 °C durante 1 hora e deixados arrefecer durante, aproximadamente, 45 minutos. Para determinar o teor de matéria orgânica os cadinhos foram colocados na mufla a 550 °C, de modo a calcinar a amostra de solo. Os ciclos de aquecimento e arrefecimento foram repetidos 3 vezes.

Para calcular a percentagem de água existente nas amostras de solo recolhidas, foi utilizada a equação 2.1 presente na ISO 11465 (1993).

$$\% H_{\text{existente na amostra}} = \frac{m_{c+s} - m_{c+s(105\text{ }^{\circ}\text{C})}}{m_s} \times 100 \quad (2.1)$$

Sendo:

$m_{c+s}$  – massa do cadinho a peso constante + massa de solo

$m_{c+s(105\text{ }^{\circ}\text{C})}$  – massa do cadinho + massa de solo a peso constante a 105 °C

$m_s$  – massa de solo

De acordo com o procedimento anterior, utilizou-se a equação 2.2 para o cálculo da percentagem de matéria orgânica nas amostras.

$$\% \text{ Matéria Orgânica} = \frac{m_{c+s(105\text{ }^{\circ}\text{C})} - m_{c+s(550\text{ }^{\circ}\text{C})}}{m_{c+s(105\text{ }^{\circ}\text{C})} - m_c(550\text{ }^{\circ}\text{C})} \times 100 \quad (2.2)$$

Sendo:

$m_{c+s(105\text{ }^{\circ}\text{C})}$  – massa do cadinho + massa de solo a peso constante a 105 °C

$m_{c+s(550\text{ }^{\circ}\text{C})}$  – massa do cadinho + massa de solo a peso constante a 550 °C

$m_c(550\text{ }^{\circ}\text{C})$  – massa do cadinho a peso constante a 550 °C

## 2.4.2. Análise das cebolas e cenouras

### 2.4.2.1. Amostragem e preparação das amostras

Para análise da parte comestível das cebolas e cenouras, foram recolhidas as amostras mais próximas da fonte de luz, uma vez que são essas as que melhor representam o crescimento das plantas nas culturas de produção agrícola. No caso das cebolas foram recolhidos seis exemplares. Relativamente às cenouras, foram amostradas treze cenouras.

Relativamente à preparação das amostras, as cebolas e as cenouras foram preparadas como se fossem ser confeccionadas para consumo humano. Começou-se por lavar as amostras com água da torneira. As cebolas foram descascadas e cortadas em quatro partes. As cenouras foram escovadas com uma escova de plástico e, de seguida, cortadas em palitos finos com uma faca de cerâmica, de modo a evitar contaminações com metais. As amostras já cortadas foram colocadas em recipientes de polipropileno e deixadas secar ao ar durante 24 horas. De seguida, foram secas na estufa a 65 °C durante 4 dias de forma a eliminar toda a água. As amostras foram ainda colocadas na mufla a 106 °C durante 1 hora e deixadas arrefecer durante 30 minutos. Por fim, efetuou-se a moagem num moinho de bolas de ágata (Retsch S100). As cebolas foram moídas durante 15 minutos a 420 rpm com 12 esferas de 2 cm de diâmetro num almofariz com 250 cm<sup>3</sup> de capacidade. Já as cenouras foram moídas durante 10 minutos a 420 rpm com 5 esferas de 3 cm de diâmetro. As amostras já moídas foram armazenadas em recipientes de vidro fechados e devidamente identificados.

#### 2.4.2.2. Análise de Pb por GFAAS

Para que seja possível a análise de metais pela técnica de GFAAS sem interferências de matéria orgânica presente na amostra é necessário eliminá-la através de uma digestão ácida. Este passo permite a oxidação do material orgânico, por intermédio de um ácido forte, e a mineralização dos metais presentes, ficando estes dissolvidos numa forma quimicamente adequada para a determinação analítica (Silva, 2015).

O processo de digestão ácida das amostras dos vegetais utilizado foi baseado no procedimento otimizado por Silva (2015) e teve como objetivo a destruição da matéria orgânica e mineralização dos metais presentes na amostra. Numa balança Mettler Toledo AG204 pesou-se, para um copo de precipitação, 2 g de amostra previamente seca e moída. Ao copo foram adicionados 20 ml de ácido nítrico 65 % (Merck). O copo foi coberto com um vidro de relógio e colocado num banho de areia (Gestigkeit Harry) a  $(120 \pm 10)$  °C e deixado em refluxo durante 2 horas. Após esse tempo, o vidro de relógio foi removido e a solução deixada no banho de areia aproximadamente 1 hora, até à secura. De seguida, voltaram a ser adicionados 20 ml de HNO<sub>3</sub> 65 % e o processo foi repetido até se obter a substância seca. Para terminar o processo de digestão, foram adicionados 20 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 % (Merck) aos resíduos da amostra, de forma a dissolvê-los totalmente. A mistura voltou a ficar em refluxo durante 2 horas e, posteriormente, levada à secura. Por fim, o resíduo da digestão sofreu uma dissolução quente com 20 ml de ácido nítrico 0,5 mol/l, que foi filtrado (filtro MN 615) para um balão volumétrico de 100 ml. Após arrefecimento, o balão foi aferido com água ultrapura.

A digestão de cada amostra foi realizada em triplicado e, de forma a evitar contaminações, amostras diferentes foram digeridas em dias diferentes, sempre acompanhadas de um branco. Para além dessas digestões, foram realizadas, separadamente, três digestões sem adição de amostra.

Depois do processo de digestão ácida, as amostras foram analisadas pela técnica de GFAAS (ThermoElemental SOLAAR série M5) com câmara de grafite GF95 e pipetador automático FS95. A programação e registo de dados do espectrómetro foram realizados utilizando o *software* SOLAAR (versão 11.02).

As condições instrumentais e temperaturas utilizadas no forno de grafite para as fases de secagem, calcinação e atomização variam consoante o elemento a analisar. Neste caso, as condições utilizadas para a análise de Cr e Pb foram previamente otimizadas por Silva (2015) e estão descritas nas tabelas 2.2 e 2.3. É de notar que para a análise de Pb foi necessária a adição do modificador de matriz H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 1 %, que permitiu o aumento da temperatura de calcinação, isto é, reduziu a volatilidade do analito, melhorando a sensibilidade analítica.

Para a preparação de padrões de calibração e, uma vez que estava disponível um pipetador automático, este foi utilizado na preparação de 7 calibradores a partir de uma solução padrão de elevada concentração (preparada através de solução padrão de Cr ou Pb 1000 mg/l da marca Merck). Assim, no carrossel foram colocadas cuvetes com a solução padrão de concentração 100 µg/l, o modificador, o branco e o branco de diluição (neste caso, ambos água do tipo I), tendo a preparação das soluções sido realizada pelo pipetador automático no momento anterior à análise, diminuindo eventuais erros do operador.

Foram ainda preparados padrões de controlo (com concentrações de 9, 18 e 27 µg/l) a partir da solução padrão do metal, seguindo o mesmo procedimento que foi utilizado na preparação dos padrões de calibração.

**Tabela 2.2.** Condições de funcionamento do espectrómetro de absorção atômica. Adaptado de Silva (2015).

	<b>Pb</b>	<b>Cr</b>
<b>Modo instrumental</b>	Absorvância (UA)	Absorvância (UA)
<b>Modo de medida</b>	Altura do pico	Altura do pico
<b>Corrente da lâmpada (mA)</b>	8,00 (80 %)	12,00 (100 %)
<b>Comprimento de onda (nm)</b>	283,3	357,9
<b>Largura da fenda (nm)</b>	0,5	0,5
<b>Correção de ruído de fundo</b>	D2	D2
<b>Volume de amostra (µl)</b>	20	20
<b>Modificador de matriz</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 1%	-
<b>Volume de modificador (µl)</b>	3	0

D2: lâmpada de deutério e  
UA: unidades de absorvância

**Tabela 2.3.** Condições de funcionamento do forno de grafite. Adaptado de Silva (2015).

	<b>Passo</b>	<b>Fase</b>	<b>Temp. (°C)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Rampa (°C/s)</b>	<b>Tipo de gás</b>	<b>Fluxo de gás</b>	<b>Comandos</b>
Pb	1	Secagem	140	40,0	2	Árgon	0,2	
	2	Secagem	450	10,0	50	Árgon	0,2	
	3	Calcinação	800	40,0	50	Árgon	0,2	
	4	Atomização	1900	1,8	0	Árgon	Off	RD e TC
	5	Limpeza	2200	2,0	0	Árgon	0,2	TC
Cr	1	Secagem	100	30	10	Árgon	0,2	
	2	Secagem	140	15	20	Árgon	0,2	
	3	Calcinação	1200	20	30	Árgon	0,2	
	4	Atomização	2500	8	0	Árgon	Off	RD e TC
	5	Limpeza	2600	3	0	Árgon	0,2	TC

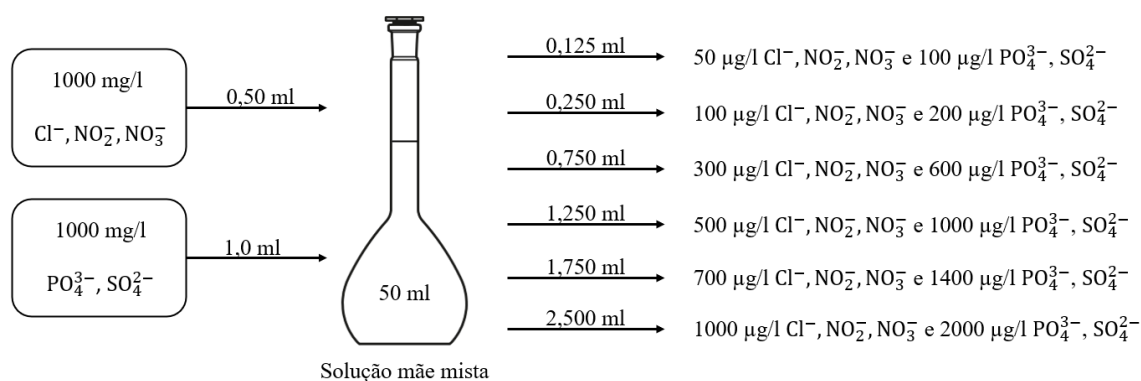
#### 2.4.2.3. Determinação de aniões por IC

O procedimento para a preparação da amostra para posterior análise cromatográfica baseou-se no trabalho de Rodrigues (2010). Num copo de 25 ml foram pesadas, numa balança Mettler Toledo XS205 DualRange, 10 mg de amostra previamente seca e moída e adicionada água do tipo I (Mili-Q Academic da Milipore®) até perfazer 10 ml. De seguida, as amostras sofreram um processo de extração com sonda de ultrassons (HD 2200 da Bandelin) durante 6 minutos com potência e ciclo de 40 %. Após a extração, os extratos foram colocados em tubos de centrífuga e centrifugados durante 15 minutos, a 3000 rpm numa centrífuga Ohaus Frontier FC5706. Por fim, o sobrenadante foi filtrado (filtros Whatman 41 pré-lavados). Foram realizadas diluições sempre que necessário, sendo que imediatamente antes da injeção, as amostras foram filtradas uma última vez (Whatman 1 µm). As amostras foram analisadas em triplicado.

Para a análise dos aniões foi utilizado um cromatógrafo 881 Compact IC Pro da Metrohm® com um detetor de condutividade elétrica e um supressor químico (ácido sulfúrico 100 mmol/l e água ultrapura). Utilizou-se uma pré-coluna aniônica, IonPac® AG14 4x50 mm, uma coluna aniônica, IonPac® AS14 4x250 mm e um *loop* de 100 µl. O eluente utilizado foi uma solução tampão de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

(3,5 mmol/l) e  $\text{NaHCO}_3$  (1,0 mmol/l). A programação do cromatógrafo e registo de dados do foram realizados através do *software* MagIC Net (versão 2.3).

De forma a diminuir os erros e incertezas associados à leitura de volumes, todas as soluções para a calibração foram preparadas por pesagem, considerando-se a densidade da água  $1 \text{ g/cm}^3$  para a temperatura ambiente. Inicialmente foi preparada uma solução mãe mista com diferentes concentrações para cada anião. A partir dessa solução mãe mista foram preparados seis calibradores, tal como esquematizado na figura 2.5.



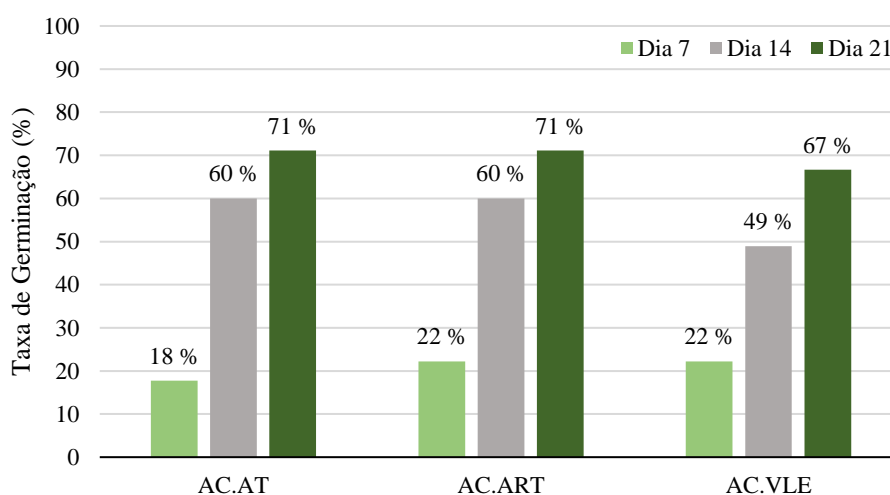
**Figura 2.5.** Representação esquemática do processo de preparação dos calibradores.

# 3. Apresentação e discussão de resultados

## 3.1. Resultados dos ensaios de germinação

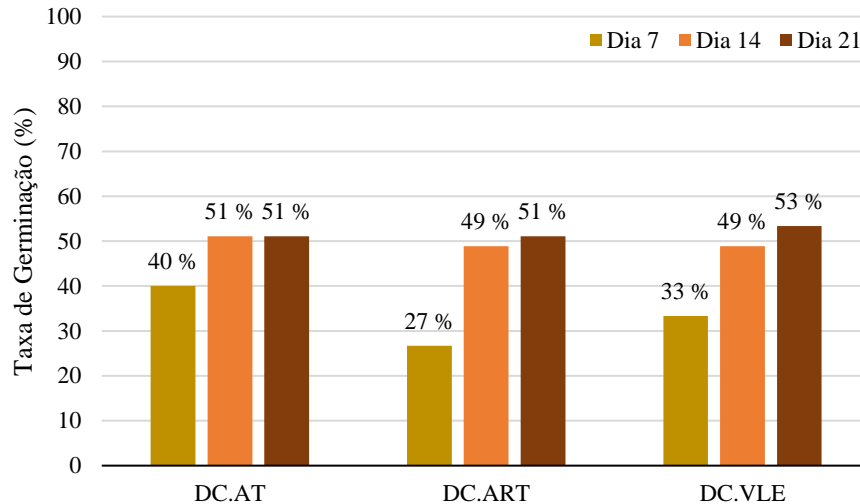
### 3.1.1. Taxa de germinação das sementes

Nos ensaios de germinação avaliou-se a taxa de germinação, isto é, a percentagem de sementes cuja radícula era macroscopicamente visível em cada placa de Petri (ver figuras 6.1 e 6.2, em anexo). Devido às baixas temperaturas (figura 3.3), a germinação das sementes, mesmo regadas com AT, foi lenta e, por isso, a taxa de germinação foi avaliada ao fim de 7, 14 e 21 dias do início do ensaio. Os resultados são apresentados em percentagem de sementes germinadas.



**Figura 3.1.** Taxa de germinação das cebolas 7, 14 e 21 dias após o início do ensaio.

Relativamente à taxa de germinação das sementes de cebola (figura 3.1), observa-se, como esperado, que esta aumenta ao longo do tempo, com um aumento mais acentuado nos primeiros 14 dias do ensaio. Quando comparadas as taxas de germinação das sementeiras regadas com AT, ART e VLE, observa-se que, nos últimos dias, esta é ligeiramente menor nas sementeiras VLE, não apresentando, no entanto, uma diferença significativa.

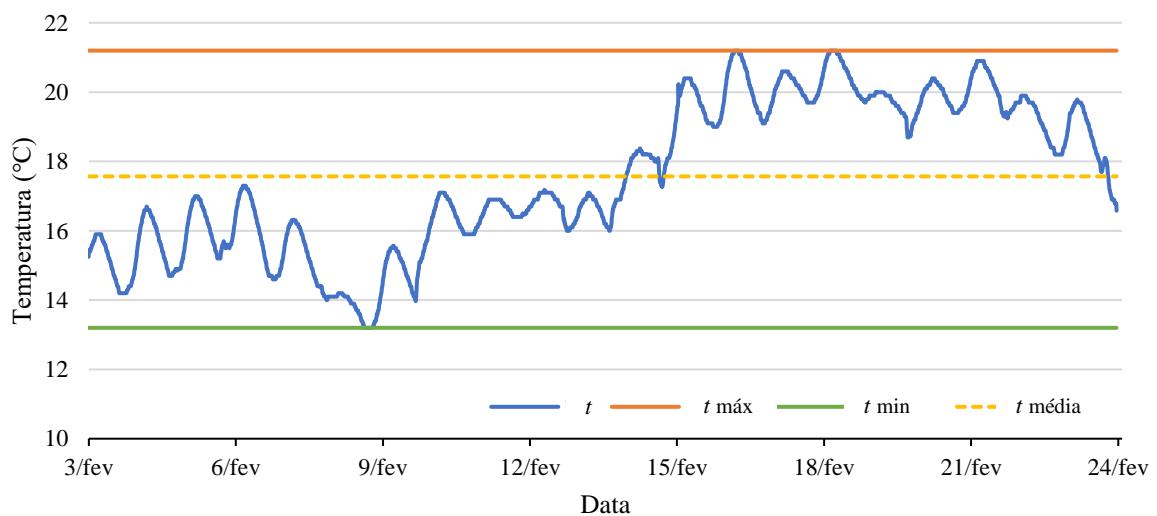


**Figura 3.2.** Taxa de germinação das cenouras 7, 14 e 21 dias após o início do ensaio.

No caso das sementes de cenoura (figura 3.2) observa-se uma menor variação da taxa de germinação ao longo do tempo nas sementeiras AT, comparativamente às sementeiras regadas com ART e VLE. A sementeira VLE apresenta maior valor de taxa de germinação no último dia de ensaio, apesar da diferença não ser significativa.

Neste ensaio, observou-se uma taxa de germinação das cebolas regadas com AT de 71 %, ao fim de 21 dias, que se encontra dentro do intervalo descrito por Almeida (2015). Contrariamente, as cenouras regadas com AT apresentaram uma taxa de germinação de 51 %, abaixo do intervalo normalmente observado de 65-85 % (Almeida, 2015).

Segundo Almeida (2015), a germinação das sementes de cebola ocorre entre 6 e 8 dias após a sementeira quando a temperatura ambiente é, aproximadamente, 20 °C. Já a temperatura ambiente ótima para a germinação das sementes de cenoura varia entre os 20 e 35 °C. Contudo, neste ensaio, a temperatura ambiente variou entre 13,2 e 21,2 °C, sendo a temperatura média 17,6 °C (figura 3.3), isto é, inferior aos valores ótimos para germinação tanto das sementes de cebola como de cenoura, o que poderá ter contribuído para uma taxa de germinação mais reduzida.



**Figura 3.3.** Variação da temperatura registada na sala de germinação durante todo o ensaio ( $t$ ). Temperatura máxima ( $t_{\text{máx}}$ ) de 21,2 °C, temperatura mínima ( $t_{\text{min}}$ ) de 13,2 °C e temperatura média ( $t_{\text{média}}$ ) de 17,6 °C.

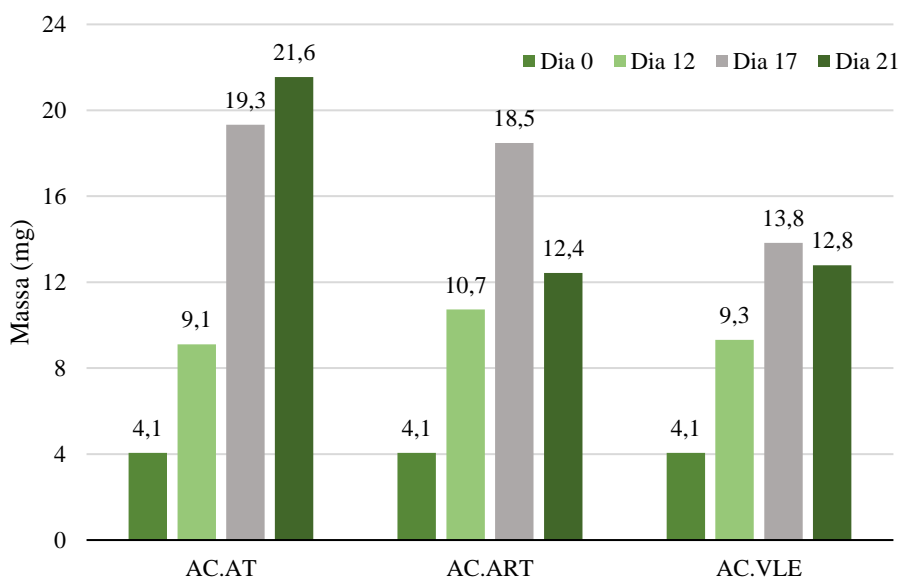
Para além da temperatura não ser ótima para a germinação, é importante ter em conta que, neste ensaio, o substrato de algodão utilizado não continha quaisquer nutrientes adicionados, sendo a água utilizada na rega e as próprias reservas da semente as únicas fontes de nutrientes. Assim, as baixas temperaturas que se observaram durante o período do ensaio e a escassez de nutrientes, podem, entre outros fatores, ter contribuído para o atraso da germinação das sementes e as baixas taxas de germinação, relativamente às descritas por Almeida (2015).

No caso das cenouras, é ainda de notar que o vigor e facultade germinativa das sementes é muito variável entre lotes, sendo que a maioria apresenta valores de facultade germinativa de aproximadamente 65 %. Esta variabilidade pode, em parte, ser explicada pela imaturidade e reduzido tamanho do embrião da semente de cenoura quando é colhida para ser armazenada e depois utilizada (Almeida, 2015). O fornecedor das sementes utilizadas neste trabalho não disponibiliza valores de facultade germinativa, não sendo possível quantificar o seu impacto na taxa de germinação observada durante este ensaio de germinação.

Em geral, tanto para as sementes de cebola como para as de cenoura, conclui-se que a utilização de diferentes tipos de água na rega parece não ter um impacto direto na taxa de germinação, deixando em aberto a possibilidade de utilização de ART ou ART na presença de Cd, Pb, Cr e Ni em alternativa à AT, sem que se observe um grande impacto na taxa de germinação das duas espécies estudadas.

### 3.1.2. Biomassa das plântulas

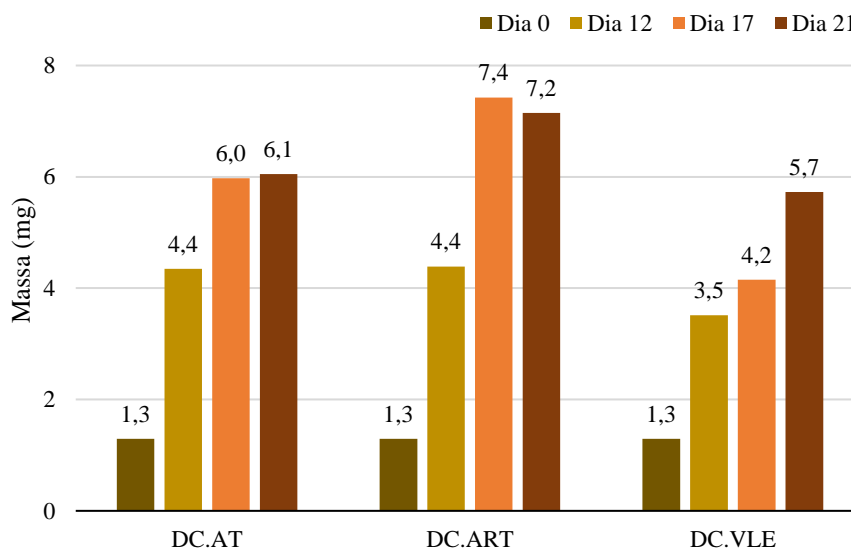
Nas figuras 3.4 e 3.5 encontram-se os valores de massa média de cada plântula de cebola e cenoura, respetivamente, ao longo do ensaio de germinação, que permitem avaliar o impacto da rega com diferentes tipos de água no desenvolvimento das plântulas.



**Figura 3.4.** Biomassa média de cada plântula de cebola ao fim de 12, 17 e 21 dias de sementeira, regadas com AT, ART ou solução VLE. A massa de dia 0 é a massa média inicial de cada semente.

Nas plântulas de cebola (figura 3.4), observa-se que o maior valor de biomassa média de cada plântula ocorreu na sementeira regada com AT, ao fim de 21 dias de sementeira (21,6 mg), sendo, por isso, as sementes regadas com AT as que mais se desenvolveram.

Nas sementeiras regadas com ART e solução VLE observa-se uma diminuição no valor de biomassa entre os dias 17 e 21. Esta diminuição pode, em parte, ser explicada pela amostragem. Tal como observado pelo aumento das taxas de germinação ao longo do tempo, nem todas as sementes germinaram no mesmo dia. Assim, é provável que nas duas primeiras amostragens tenham sido recolhidas plântulas num estágio de desenvolvimento mais avançado, deixando para colher na terceira amostragem, plântulas com menos dias de vida e, por isso, com menor valor de biomassa. Para além disso, na sementeira ART, nos dias 17 e 21 apenas foi possível colher 4 plântulas, fazendo com que, nestes dias, o valor médio de biomassa calculado seja menos realista.



**Figura 3.5.** Biomassa média de cada plântula de cenoura ao fim de 12, 17 e 21 dias de sementeira, regadas com AT, ART ou solução VLE. A massa de dia 0 é a massa média inicial de cada semente.

Nas plântulas de cenoura (figura 3.5), observa-se que são as sementeiras regadas com ART que apresentam maior valor de biomassa média de cada plântula (7,4 mg no dia 17). A ligeira diminuição de massa entre o dia 17 e 21 de DC.ART pode ter origem na amostragem, tal como explicado anteriormente para o caso das cebolas.

### 3.1.3. Comprimento das plântulas

As plântulas de cebola e cenoura regada com AT foram medidas manualmente e com o *software* Fiji ImageJ, ao fim do 12º dia de germinação. Foi aplicado o teste F para comparar a precisão dos métodos de medição com régua e com o *software*. Na tabela 3.1 encontram-se os valores do comprimento das plântulas de cebolas e de cenouras determinado com cada um dos métodos, assim como os respetivos valores do desvio padrão.

**Tabela 3.1.** Comprimento das plântulas de cebolas e cenouras determinado com uma régua graduada e com recurso ao *software* Fiji ImageJ; média e desvio padrão de cada método.

Plântula	Cebola		Cenoura	
	Régua (cm)	Fiji ImageJ (cm)	Régua (cm)	Fiji ImageJ (cm)
1	1,9	1,981	1,5	1,529
2	1,5	1,506	4,0	4,231
3	1,5	1,449	1,4	1,360
4	1,5	1,447	1,0	1,126
5	0,8	0,785	2,0	2,120
6	1,2	1,255	1,6	1,657
7	0,8	0,751	2,2	2,220
8	2,1	1,949	1,7	1,643
<b>Média</b>	1,4	1,390	1,925	1,986
<b>Desvio padrão, <i>s</i></b>	0,467	0,459	0,915	0,977

Calculou-se o valor de  $F$  tendo em conta as variâncias, de acordo com a equação 3.1.

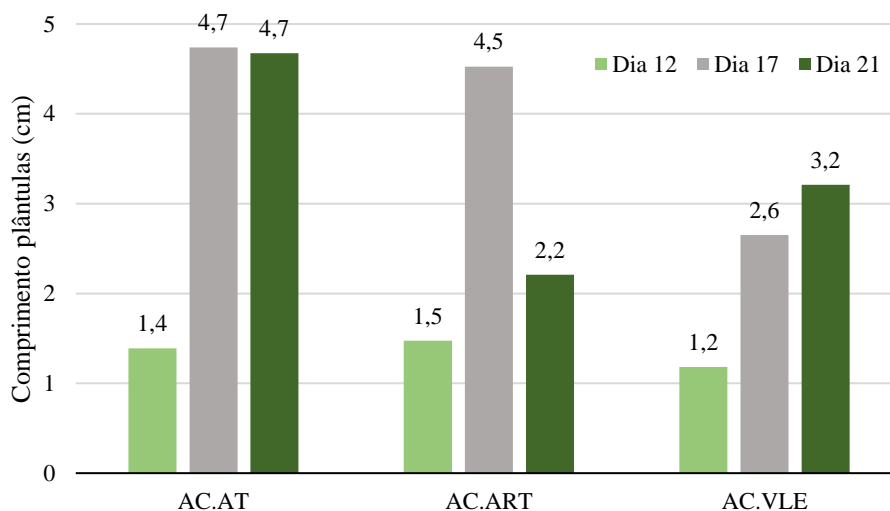
$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (3.1)$$

em que  $F$  é o valor  $F$  calculado,  $s_1^2$  e  $s_2^2$  correspondem ao quadrado dos desvios padrão dos métodos e  $s_1^2 > s_2^2$ .

Para as plântulas de cebola, obteve-se um valor de  $F$  de 1,04 que é menor que 3,79, valor de  $F$  tabelado para 7 graus de liberdade (para ambos os métodos) e um nível de confiança de 95 %, concluindo-se que a variância do método de medição com recurso ao *software* Fiji ImageJ não tem diferenças estatisticamente significativas relativamente à medição manual com a régua graduada. O mesmo se conclui para as plântulas de cenoura, em que o valor de  $F$  calculado foi de 1,14.

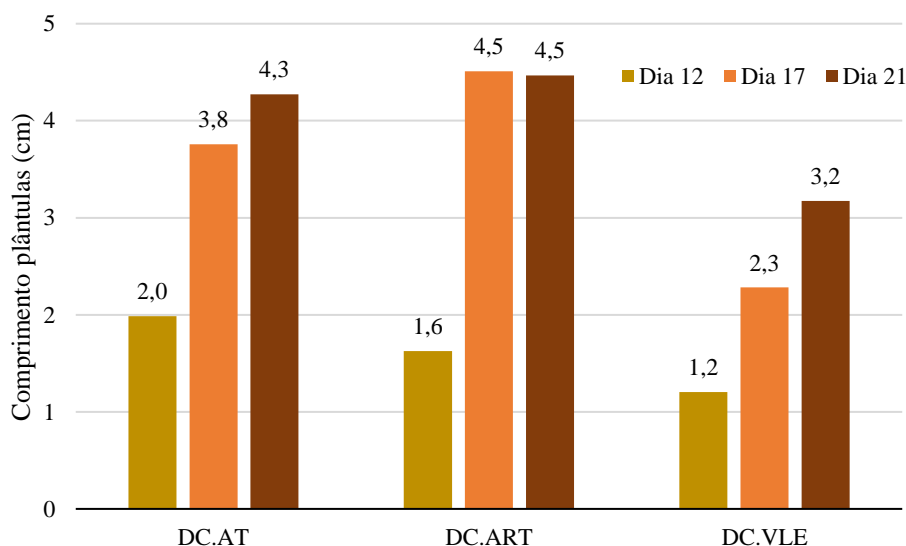
O método que utiliza o *software* Fiji ImageJ exige apenas a captação fotográfica das plântulas no local de germinação, o que permite que qualquer pessoa com acesso às imagens consiga determinar o comprimento das plântulas, sem necessidade de se deslocar ou aceder ao local de germinação. A medição do comprimento das plântulas com este *software* permite ainda a repetição da medição do comprimento das plântulas sempre que necessário, uma vez que fica registado, em formato de imagem, o comprimento das plântulas no exato momento de captura da imagem. Se o objetivo do ensaio for apenas avaliar o comprimento das plântulas (isto é, não se pretendendo avaliar a variação de biomassa), este método permite captar imagens sem remover as plântulas do seu meio de germinação e acompanhar o crescimento de sementes específicas ao longo do tempo.

Por apresentar todas estas vantagens e revelar uma precisão semelhante à do método tradicional, o método de medição com o *software* Fiji ImageJ foi o utilizado em todo o ensaio. Assim, nas figuras 3.6 e 3.7 encontram-se os valores médios de comprimento das plântulas de cebola e de cenoura, respetivamente, medidos com o *software* Fiji ImageJ.



**Figura 3.6.** Comprimento médio da cada plântula de cebola regada com AT, ART e solução VLE, ao fim de 12, 17 e 21 dias, medido com Fiji ImageJ.

Para as plântulas de cebola, observa-se que as regadas com AT são as que apresentam maior comprimento ao fim de 17 e 21 dias de sementeira (aproximadamente 4,7 cm). No dia 21, observa-se que as plântulas regadas com solução ART são as que apresentam menor comprimento (2,2 cm). Tal como esperado, as observações do comprimento das plântulas são concordantes com os valores de biomassa obtidos nos respetivos dias (figura 3.4). A diminuição do comprimento das plântulas de cebola do dia 17 para o dia 21 em AC.ART, provém, provavelmente, da forma de amostragem mencionada na análise da biomassa.



**Figura 3.7.** Comprimento médio da cada plântula de cenoura regada com AT, ART e solução VLE, ao fim de 12, 17 e 21 dias, medido com Fiji ImageJ.

Também nas plântulas de cenoura as observações da biomassa e comprimento são concordantes: as plântulas que apresentam maior comprimento são as que foram regadas com ART (4,5 cm), ao contrário das sementeiras VLE, que apresentam o menor valor de comprimento (3,2 cm), no 21º dia.

Tanto para as cebolas como para as cenouras, quando analisadas estatisticamente (teste *t*), não se observaram diferenças significativas entre os comprimentos das plântulas regadas com diferentes tipos de água, para o mesmo dia.

Conclui-se, assim, que apesar de os valores de comprimento e biomassa não serem iguais entre as sementeiras regadas com AT, ART ou solução VLE, não existem evidências estatisticamente significativas que comprovem a influência do tipo de água de rega no desenvolvimento germinativo das plântulas, deixando em aberto a possibilidade de rega destes vegetais com ART.

Ainda assim, e com o objetivo de melhorar o ensaio de germinação, poder-se-ia ter realizado a experiência em triplicado ou quadruplicado (2 caixas para determinação da taxa de germinação e 2 caixas de sacrifício), de forma a poder analisar estatisticamente a taxa de germinação e os valores de biomassa das plântulas. Desta forma, era eliminado o problema da falta de plântulas para recolha em cada amostragem, o que contribuiria para uma média de valores estatisticamente mais significativa.

## **3.2. Resultados dos ensaios de crescimento dos hortícolas em ambiente controlado**

### **3.2.1. Sistema Arduino**

Como referido anteriormente, nas caixas de crescimento, foi montado um sistema que permitiu a medição de diversos parâmetros físicos. A utilização deste sistema é vantajosa, uma vez que permite o registo e a monitorização, em tempo real, de diversos parâmetros que, de outra forma, teriam de ser registados com registadores individuais e independentes entre si. Como a construção deste sistema consiste na junção de diversos módulos, o preço total de um sistema Arduino acaba por ser inferior ao preço conjunto de vários registadores de um só parâmetro. A sua construção modular torna o sistema altamente personalizável, permitindo a adequação às necessidades do utilizador.

Neste trabalho, foram usados diversos sensores como os de luz, temperatura atmosférica, humidade atmosférica relativa e humidade relativa do solo.

Relativamente à luz, foi registada a quantidade de luz incidente numa superfície, isto é, a iluminância, cuja unidade de medida é lux (lúmens por metro quadrado). No gráfico da figura 3.8 observa-se uma tendência decrescente nos valores de iluminância ao longo do tempo, provavelmente causada pelo aumento da sombra provocada pela rama das cebolas que se desenvolveu durante o crescimento dos vegetais. Na figura 3.9 é possível observar a posição do sensor e a sombra causada pelas cebolas. Para além disso, observa-se, pela análise do gráfico da figura 3.10, que existe uma variação de iluminância diária normal, mesmo quando o sinal máximo de iluminância é menor, comprovando que o sensor manteve o seu normal funcionamento durante todo o período da experiência. Assim, conclui-se que este sensor deve estar diretamente exposto à luz solar de forma a obter uma medição correta da iluminância.

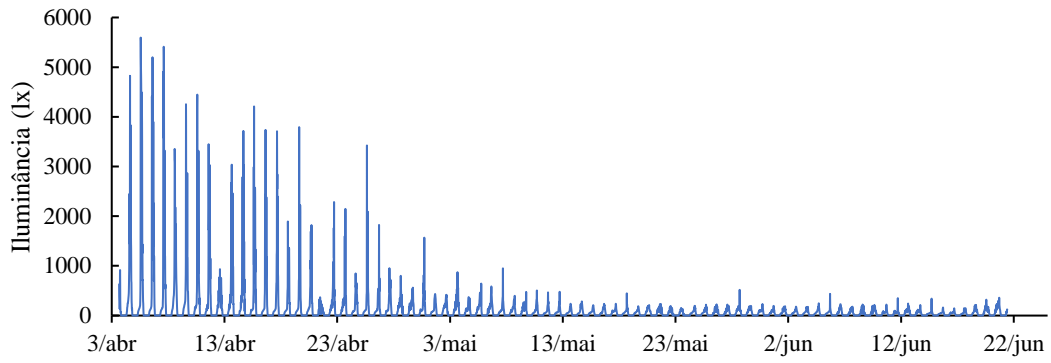


Figura 3.8. Iluminância (lx) registada ao longo do ensaio de crescimento.



Figura 3.9. Imagens da posição do sensor de luz (rodeado a vermelho) e da rama das cebolas, que impede a exposição direta do sensor ao sol.

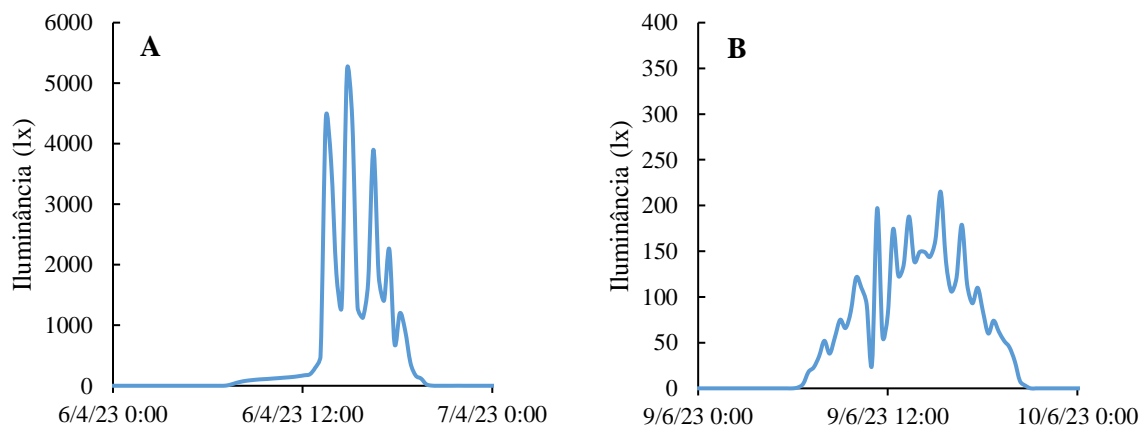
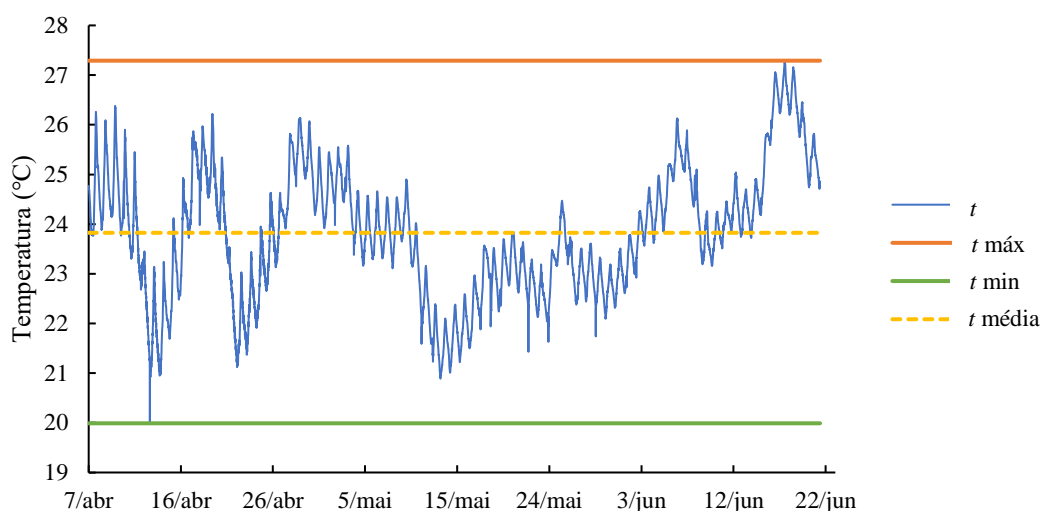
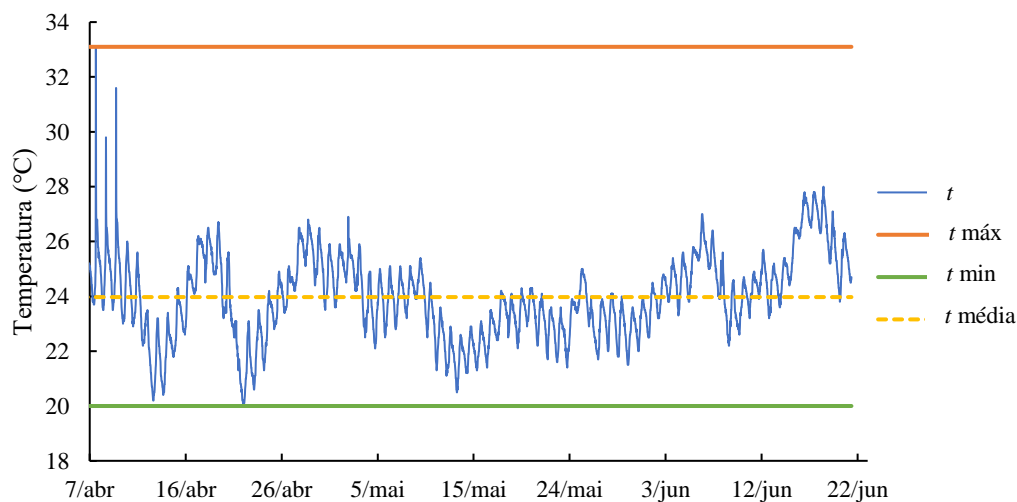


Figura 3.10. Variação diária da iluminância (lx) nos dias 6 de abril (A) e 9 de junho de 2023 (B).

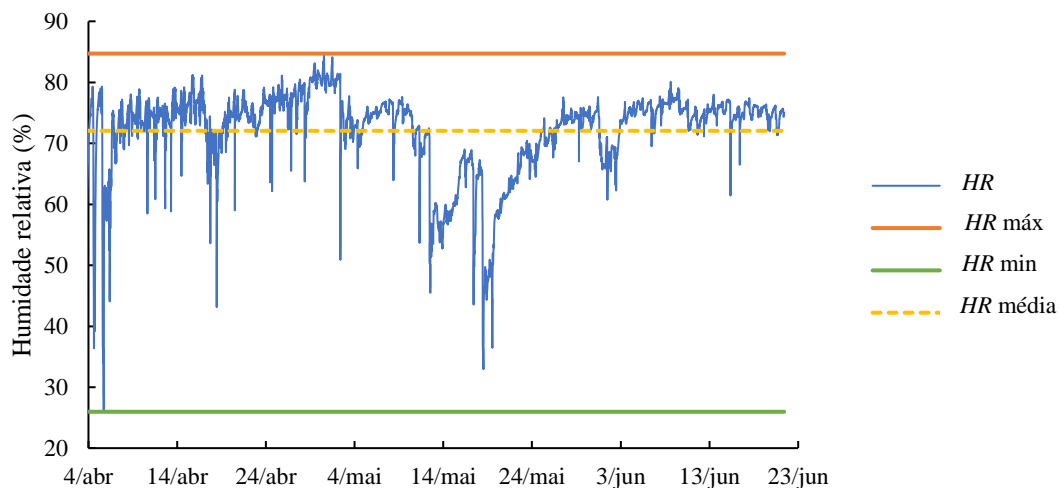
Para testar os módulos de medição da temperatura e da humidade relativa atmosférica, estas grandezas, para além de registadas pelos sensores integrantes do sistema Arduino, foram também medidas por um sensor independente (Unit-T 331+). Comparando os gráficos das figuras 3.11 e 3.12 (relativos à temperatura) e 3.13 e 3.15 (relativos à humidade), observam-se semelhanças no perfil de registo da temperatura e humidade. Além disso, os valores médios, máximos e mínimos variam de forma pouco significativa para ambos os parâmetros. Estes resultados mostram que a utilização dos sensores de temperatura e humidade relativa testados e integrantes do sistema Arduino são uma alternativa à utilização de sensores independentes.



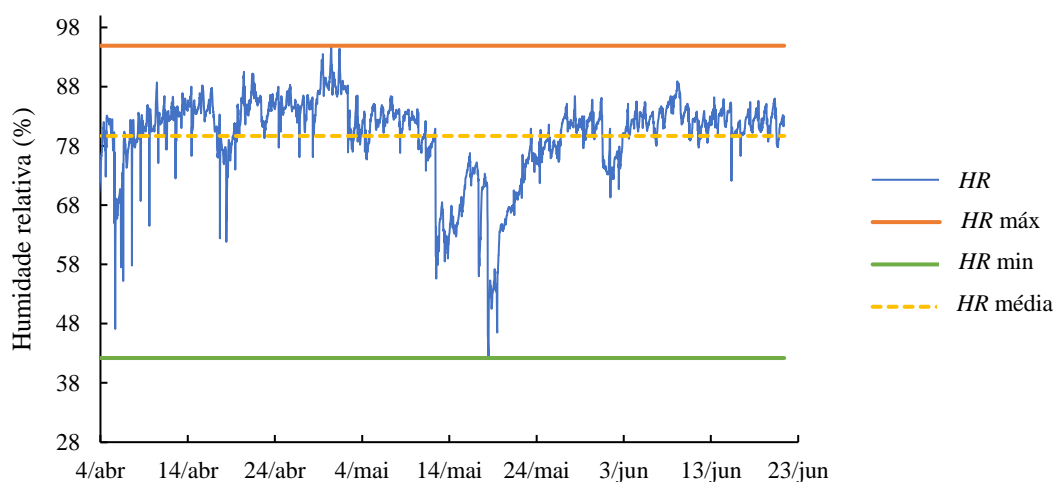
**Figura 3.11.** Temperatura (°C) registada ao longo do tempo pelo sensor integrado no sistema Arduino.



**Figura 3.12.** Temperatura (°C) registada pelo registor independente (Unit-T) no período equivalente ao registo pelo sistema Arduino.

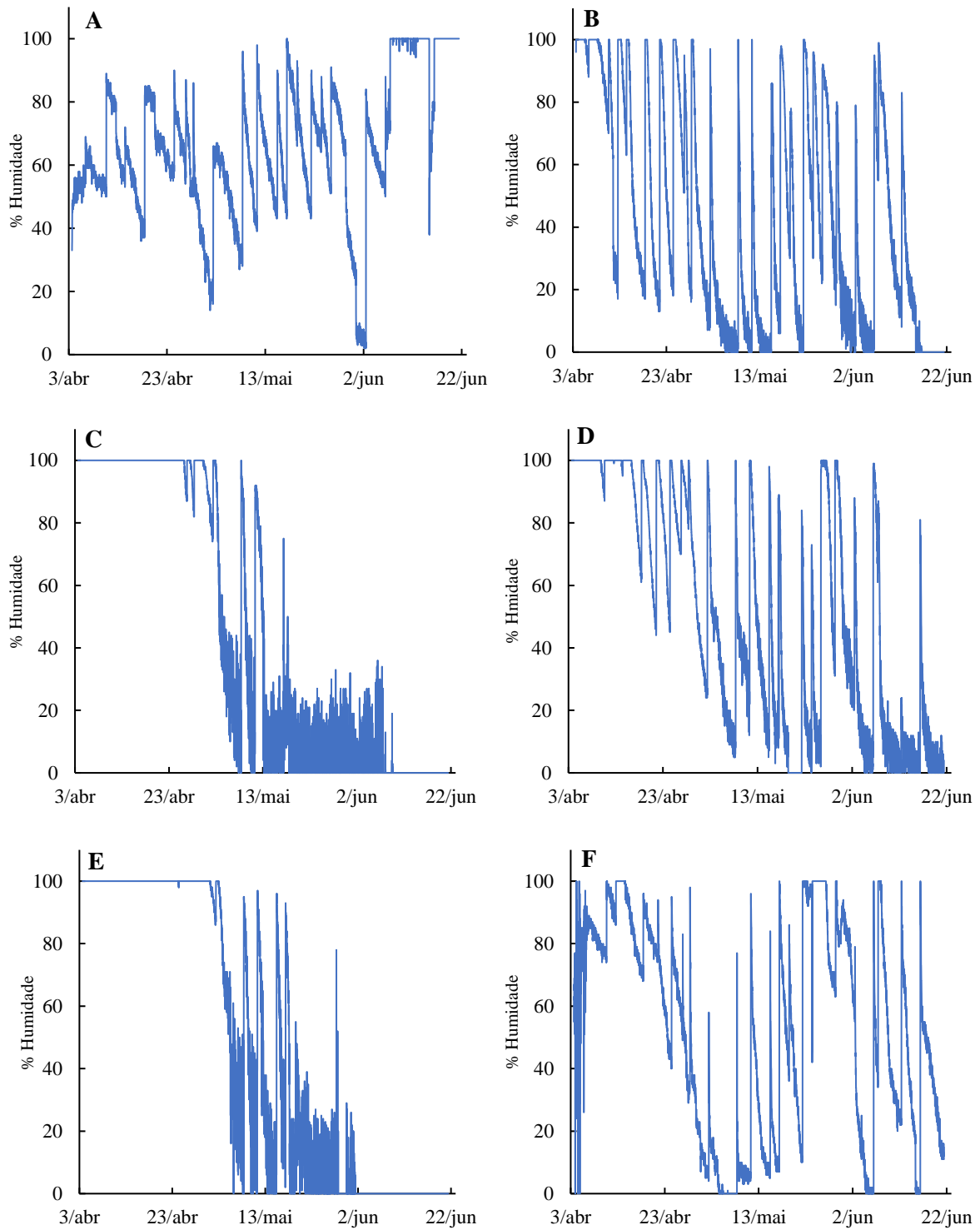


**Figura 3.13.** Humidade relativa (%) registada ao longo do tempo pelo sensor integrado no sistema Arduino.



**Figura 3.14.** Humidade relativa (%) registada pelo registador independente (Unit-T) no período equivalente ao registado pelo sistema Arduino.

No que diz respeito à percentagem de humidade do solo, observam-se diferenças significativas na utilização de diferentes tipos de sensores (figura 3.15). Os sensores capacitivos (A, B, D e F) demonstraram maior durabilidade, com capacidade de registo da percentagem de humidade do solo durante todo o ensaio. Pelo contrário, os sensores não capacitivos (C e E), apresentam menor resistência à humidade, registando valores nulos nas últimas semanas de ensaio, mesmo após a rega do solo (ver tabela 6.3, em anexo, relativa aos dias de rega). É de notar que os sensores não capacitivos apresentaram sinais visíveis de corrosão mais cedo, relativamente aos sensores capacitivos.



**Figura 3.15.** Humidade relativa do solo (%) de cada uma das cultivares, ao longo do tempo. Sensores capacitivos: (A), (B), (D) e (F). Sensores não capacitivos: (C) e (E).

## 3.2.2. Caracterização dos solos

### 3.2.2.1. Grau de acidez ou alcalinidade

Os valores de pH do solo indicam o seu grau de acidez ou alcalinidade e dependem de vários fatores, nomeadamente, da matéria que deu origem ao solo, da vegetação, assim como das condições meteorológicas do local onde ele se encontra. A medição de pH é importante porque permite averiguar o estado de oxidação dos diferentes compostos presentes no solo, nomeadamente, dos metais (Monte & Albuquerque, 2010).

Para todos os valores de pH obtidos, foi aplicado o teste de Grubbs (Capítulo 6) para um nível de confiança de 95 % de forma a verificar a presença de valores aberrantes, tendo-se concluído que não existiam tais valores. Na tabela 3.2 encontram-se os valores médios de pH dos diferentes solos.

**Tabela 3.2.** Valores médios de pH em solução de CaCl<sub>2</sub>, e respetivos desvios padrão, dos solos das várias cultivares, recolhidos no fim do ensaio.

Amostra	S.AC.AT	S.AC.ART	S.AC.VLE	S.DC.AT	S.DC.ART	S.DC.VLE
Média±s	5,68±0,04	5,71±0,01	5,63±0,01	5,55±0,02	5,69±0,02	5,63±0,02

Alguns estudos indicam que o pH de solos regados com ART pode ser mais elevado do que aqueles regados com AT, devido, entre outros, ao elevado conteúdo de nutrientes e salinidade (Chen et al., 2015). No entanto, e tal como se observa na tabela 3.2, neste trabalho não foram encontradas diferenças significativas entre os valores de pH de solo regado com AT e ART (diferença de 0,03 para as cebolas e 0,14 para as cenouras).

Apesar da leitura dos valores de pH ter sido feita numa solução de CaCl<sub>2</sub> (por ser o método mais adequado, uma vez que diminui o efeito da camada difusa), a classificação dos solos de acordo com a sua acidez continua a ser baseada nos valores de pH em água conforme a tabela 3.3 (Varenes, 2003). De acordo com esta classificação, os solos analisados são considerados solos pouco ácidos, com o solo DC.AT no limiar entre um solo ácido e pouco ácido.

**Tabela 3.3.** Classificação dos solos segundo o valor do seu pH. Adaptado de Varenes (2003).

Intervalo de pH (em água)	Designação
< 4,5	Muito ácido
4,6 – 5,5	Ácido
5,6 – 6,5	Pouco ácido
6,6 – 7,5	Neutro
7,6 – 8,5	Pouco alcalino
8,6 – 9,5	Alcalino
> 9,5	Muito alcalino

### 3.2.2.2. Condutividade elétrica

A condutividade elétrica (EC) no solo é um processo eletrolítico que ocorre na água dos solos onde se encontram dissolvidos catiões e aniões que conduzem a corrente elétrica e permitem a determinação da condutividade elétrica do mesmo. Na agricultura, a condutividade elétrica é principalmente utilizada para a determinação da salinidade da água presente nos solos, sendo diretamente proporcional à concentração de iões na água. A condutividade elétrica é determinada através de uma célula de condutividade e expressa-se, geralmente, em dS/m (deciSiemen por metro) (Monte & Albuquerque, 2010; U.S. Department of Agriculture, 2011).

Para todas as medições de EC, foi aplicado o teste de Grubbs (para um nível de confiança de 95 %) que verificou a ausência de valores aberrantes. Assim, na tabela 3.4 encontram-se os valores médios de EC dos diferentes solos.

**Tabela 3.4.** Valores médios de condutividade elétrica, em  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , e respetivos desvios padrão dos solos das várias cultivares recolhidos no fim do ensaio.

Amostra	S.AC.AT	S.AC.ART	S.AC.VLE	S.DC.AT	S.DC.ART	S.DC.VLE
<b>Média<math>\pm</math>s</b>	785 $\pm$ 6	996 $\pm$ 2	1123 $\pm$ 10	957 $\pm$ 13	1044 $\pm$ 11	1132 $\pm$ 9

Segundo a classificação do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (U.S. Department of Agriculture, 2011), relativa à salinidade dos solos (tabela 3.5), todos os solos analisados neste trabalho se classificam como não salinos, observando-se, ainda assim, diferenças entre solos regados com diferentes tipos de água.

De acordo com Chen et al. (2015) e com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (U.S. Department of Agriculture, 2011), a rega com ART pode levar ao aumento da condutividade do solo, que se confirmou neste estudo, uma vez que tanto nas cultivares de cebolas como nas de cenouras, há aumento da condutividade elétrica em solos regados com ART relativamente àqueles regados com AT. Os valores de EC do solo são ainda concordantes com os valores de EC das águas utilizadas na rega (tabela 6.1, em anexo) indicando a influência da água de rega na salinidade do solo.

**Tabela 3.5.** Classificação dos solos segundo o valor de EC ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). Adaptado de U.S. Department of Agriculture (2011).

Intervalo de EC ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Designação
0 < 2000	Não salino
2000 – 4000	Muito pouco salino
4000 – 8000	Pouco salino
8000 – 16000	Moderadamente salino
> 16000	Muito salino

Tanto as cebolas como as cenouras têm valores de tolerância relativamente à acidez e salinidade do solo. Segundo Almeida (2015), a cebola tem uma tolerância reduzida à acidez e salinidade do solo, sendo o intervalo ótimo de pH de 6,0 a 7,0 e a salinidade máxima do solo sem que haja quebra de produção 1200  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Já a cenoura é moderadamente tolerante à acidez do solo, com um intervalo ótimo entre 6,0 e 6,8, e pouco tolerante à salinidade do solo, com valor máximo sem queda de produção de 1000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

Para ambas as hortícolas, o pH do solo foi superior ao adequado para um crescimento ótimo, podendo ter afetado o crescimento das mesmas. A salinidade do solo determinada é inferior ao valor máximo recomendado para as cebolas, sendo ligeiramente ultrapassado no caso das cenouras que, juntamente com o pH do solo, poderá ter inibido o desenvolvimento das cenouras.

### 3.2.2.3. Teores de humidade e de matéria orgânica

A determinação do teor de matéria orgânica nos solos é importante, pois pode influenciar a acumulação de metais nos solos devido à compactação. Para além disso, o elevado teor de matéria orgânica pode favorecer o crescimento de microrganismos, sendo que alguns deles podem ser responsáveis pela retenção de metais tóxicos nos solos (Silva, 2015).

Para todas as medições de teor de humidade e de matéria orgânica, foi aplicado o teste de Grubbs (para um nível de confiança de 95 %) que verificou a ausência de valores aberrantes. Assim, na tabela 3.6 encontram-se os valores médios dos teores de humidade e matéria orgânica dos diferentes solos.

**Tabela 3.6.** Valores médios dos teores de humidade e de matéria orgânica e respetivos desvios padrão, em percentagem, dos solos das várias cultivares recolhidos no fim do ensaio.

Amostra	S.AC.AT	S.AC.ART	S.AC.VLE	S.DC.AT	S.DC.ART	S.DC.VLE
<b>Humidade média<math>\pm</math>s</b>	12,1 $\pm$ 0,4	12,3 $\pm$ 0,4	12,0 $\pm$ 0,2	12,2 $\pm$ 0,9	12,7 $\pm$ 0,5	12,1 $\pm$ 0,2
<b>Matéria Orgânica média<math>\pm</math>s</b>	69,8 $\pm$ 1,2	68,5 $\pm$ 1,5	68,6 $\pm$ 1,3	67,2 $\pm$ 5,6	72,5 $\pm$ 3,8	69,8 $\pm$ 2,2

Tanto para o teor de humidade do solo como para o teor de matéria orgânica, não se observaram diferenças significativas entre solos regados com diferentes águas, para as cultivares de cebolas e de cenouras. Tais resultados estão de acordo com o observado por Chen et al. (2015) para as camadas superiores de solo (até 20 cm de profundidade).

### 3.2.3. Caracterização e análises das cebolas e cenouras

No fim do ensaio de crescimento, as amostras colhidas (ver figuras 6.3 e 6.4, em anexo) foram pesadas e os gráficos da figura 3.16 mostram os valores médios da massa de cada uma das plantas colhidas nas respetivas caixas de cultivo. Como se pode observar, a massa das cebolas regadas com ART é cerca de 47 % mais elevada do que aquelas regadas com água da torneira. Apesar de nas cenouras também se verificar o mesmo efeito, este é em menor escala, com uma diferença de apenas 4,4% entre vegetais regados com AT e ART. Estas observações indicam a influência positiva da rega com ART no crescimento das cebolas e cenouras, possivelmente devido à presença de maior quantidade de nutrientes nesta água comparativamente à AT.

Por outro lado, observa-se que os vegetais regados com ART suplementada com metais apresentam o menor valor de massa, sugerindo o efeito prejudicial dos metais no crescimento das plantas.

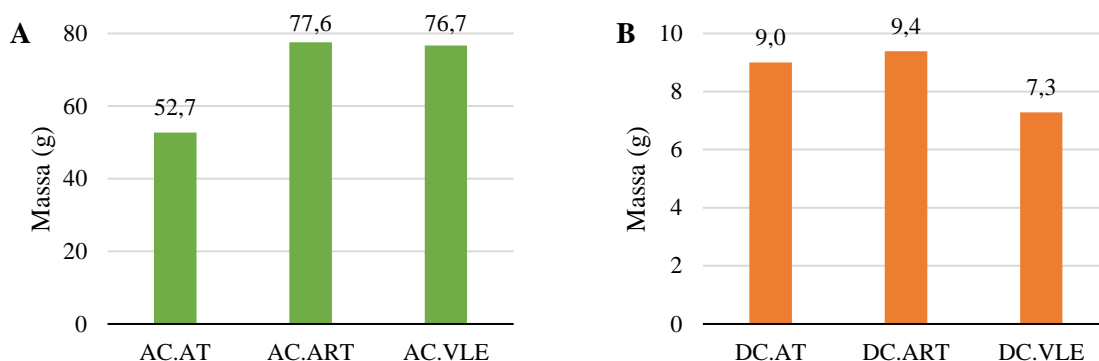


Figura 3.16. Massa média (g) de cada hortícola recolhido. (A) cebolas e (B) cenouras.

### 3.2.3.1. Quantificação do teor de metais

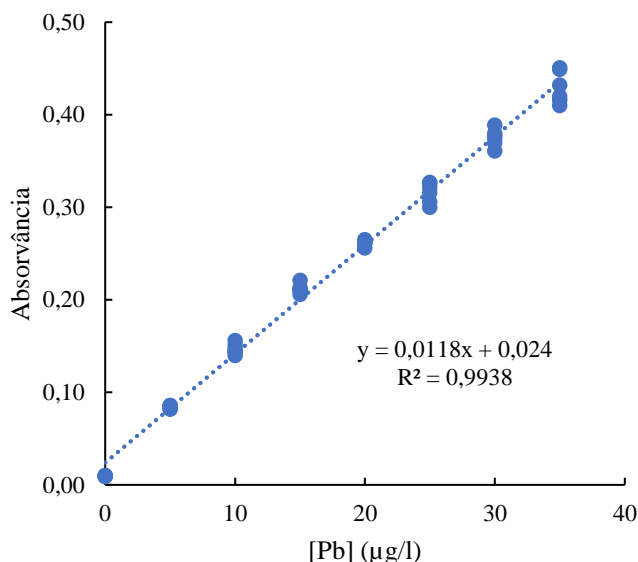
Neste estudo, para além da análise de chumbo, houve a tentativa de quantificar o teor de crómio nas amostras das hortícolas cultivadas. No entanto, aquando do controlo da reta de calibração com a análise de padrões de controlo, observaram-se erros que variavam entre os 15 e 50 %, inviabilizando a utilização da reta para determinação do metal. O passo seguinte seria repetir a análise dos calibradores, de forma a traçar uma nova reta de calibração, porém o espectrómetro utilizado sofreu uma avaria que impediu a sua utilização até ao momento de entrega desta dissertação. Assim, seguem-se os resultados e discussão da quantificação de apenas chumbo nas amostras.

Uma das principais dificuldades desta análise é a preparação das amostras, que envolve a sua digestão em meio ácido. Para além de moroso, este método tem como inconveniente a possibilidade de contaminação cruzada entre digestões que ocorram em simultâneo, isto é, no mesmo banho de areia. Tal como se observa na figura 3.17, os gases provenientes do processo de digestão com ácido nítrico, conseguem escapar pela abertura do copo e, mesmo com exaustão da *hotte*, é possível observar que esses gases nem sempre são removidos de forma eficiente, podendo levar a possíveis contaminações das digestões adjacentes. Esta contaminação é ainda mais provável de acontecer na fase de *secura*, em que o vidro de relógio é removido. Por este motivo, a realização de uma digestão sem adição de amostra (brancos) deve ser realizada num lote separado, de forma a evitar contaminações causadas pelas digestões vizinhas.

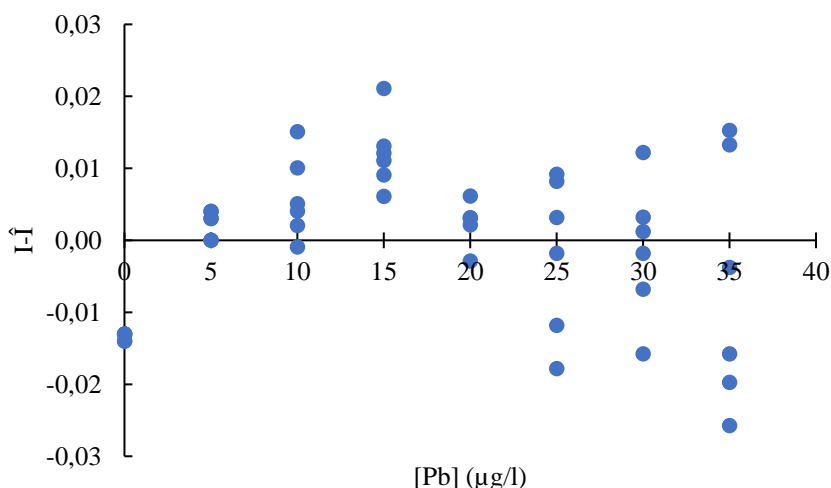


Figura 3.17. Imagem capturada após a primeira adição de ácido nítrico 65 % à amostra num banho de areia a 120 °C, em que se observam os gases resultantes da digestão a escapar do copo onde ocorre a referida digestão.

Para obtenção da curva de calibração (figura 3.18), cada calibrador foi analisado seis vezes. O teste estatístico de Grubbs (para um nível de confiança de 95 %) foi aplicado e os valores aberrantes eliminados. O valor do coeficiente de determinação ( $R^2=0,9938$ ), juntamente com o gráfico de resíduos (figura 3.19) permitem confirmar a linearidade da resposta instrumental (Silva, 2016).



**Figura 3.18.** Reta de calibração para os padrões de calibração (calibradores) de chumbo.



**Figura 3.19.** Gráfico de residuais para os padrões de calibração (calibradores) de chumbo.

Para controlo de qualidade da reta de calibração, foram analisados padrões de controlo (PC) de diferentes concentrações. Foram calculados os erros relativos à reta de calibração, que se encontram na tabela 3.7 e que mostram a manutenção da resposta instrumental, após a validação.

**Tabela 3.7.** Padrões de controlo analisados e respetivos erros relativos.

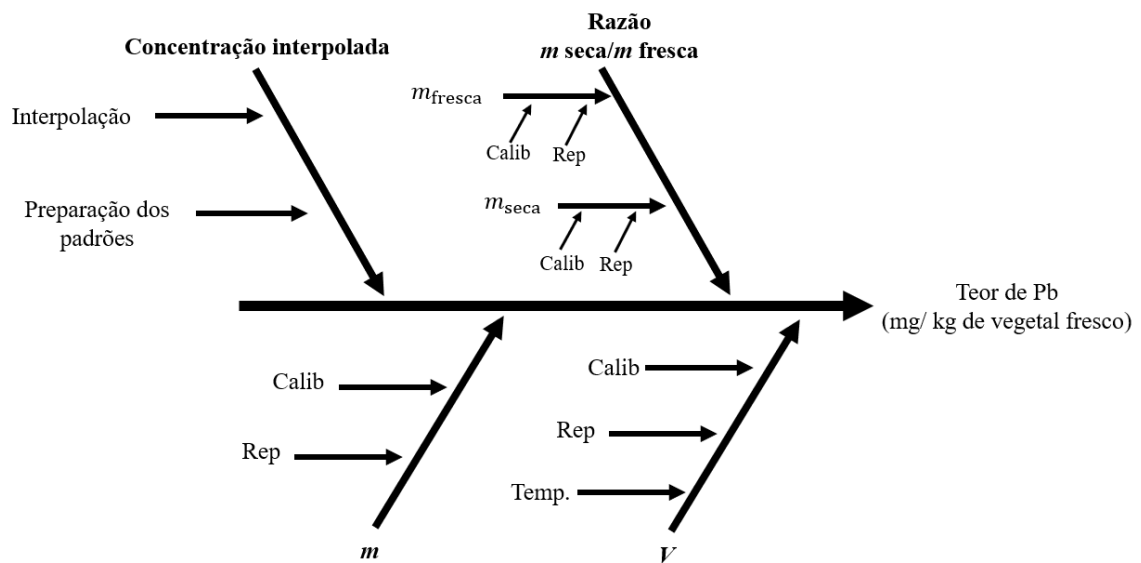
[Pb] µg/l	Erro relativo (%)
9	5,0
18	4,9
27	6,2

Os limites de deteção (LD) e quantificação (LQ) foram determinados, uma vez que a determinação do LD permite uma estimativa da concentração em que a deteção de um analito pode ser distinguida do ruído de fundo ou estatisticamente diferente do branco, de forma confiável e o LQ é definido como o limite inferior de medições quantitativas precisas (Miller & Miller, 2010).

Tendo em conta a análise de brancos, foram obtidos os valores 0,0142 e 0,0241 µg/l para o limite de deteção e quantificação, respetivamente, através das equações 6.2 e 6.3 em anexo.

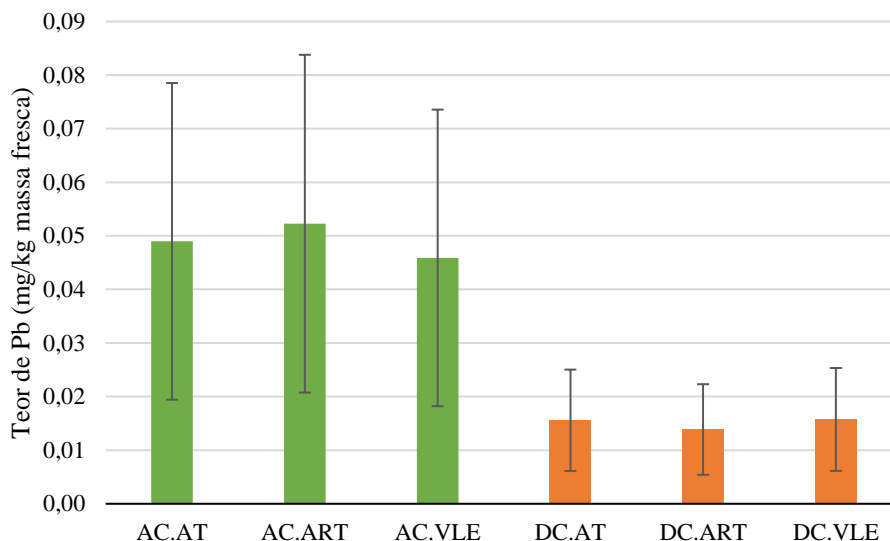
Para a determinação da concentração de Pb presente nas amostras digeridas e posterior cálculo do teor deste metal nas mesmas, foi calculada a média das absorvâncias registadas para cada amostra, à qual foi subtraída a média das absorvâncias dos brancos.

Para a determinação da incerteza do resultado da medição foi construído um diagrama de causa/efeito (figura 3.20), tendo sido utilizadas as equações 1.14 a 1.24 para o cálculo da incerteza.



**Figura 3.20.** Diagrama de causa/efeito relativo à incerteza dos resultados da medição do teor de Pb nas amostras de cebolas e cenouras.

No gráfico da figura 3.21 encontram-se os teores de Pb obtidos para cada amostra, com a respetiva incerteza expandida, para um nível de confiança de, aproximadamente, 95 % ( $k=2$ ).



**Figura 3.21.** Teor de Pb nas amostras de cebolas (verde) e cenouras (cor de laranja), em mg/kg de massa fresca. A barra de erro corresponde ao valor de incerteza expandida para  $k=2$ .

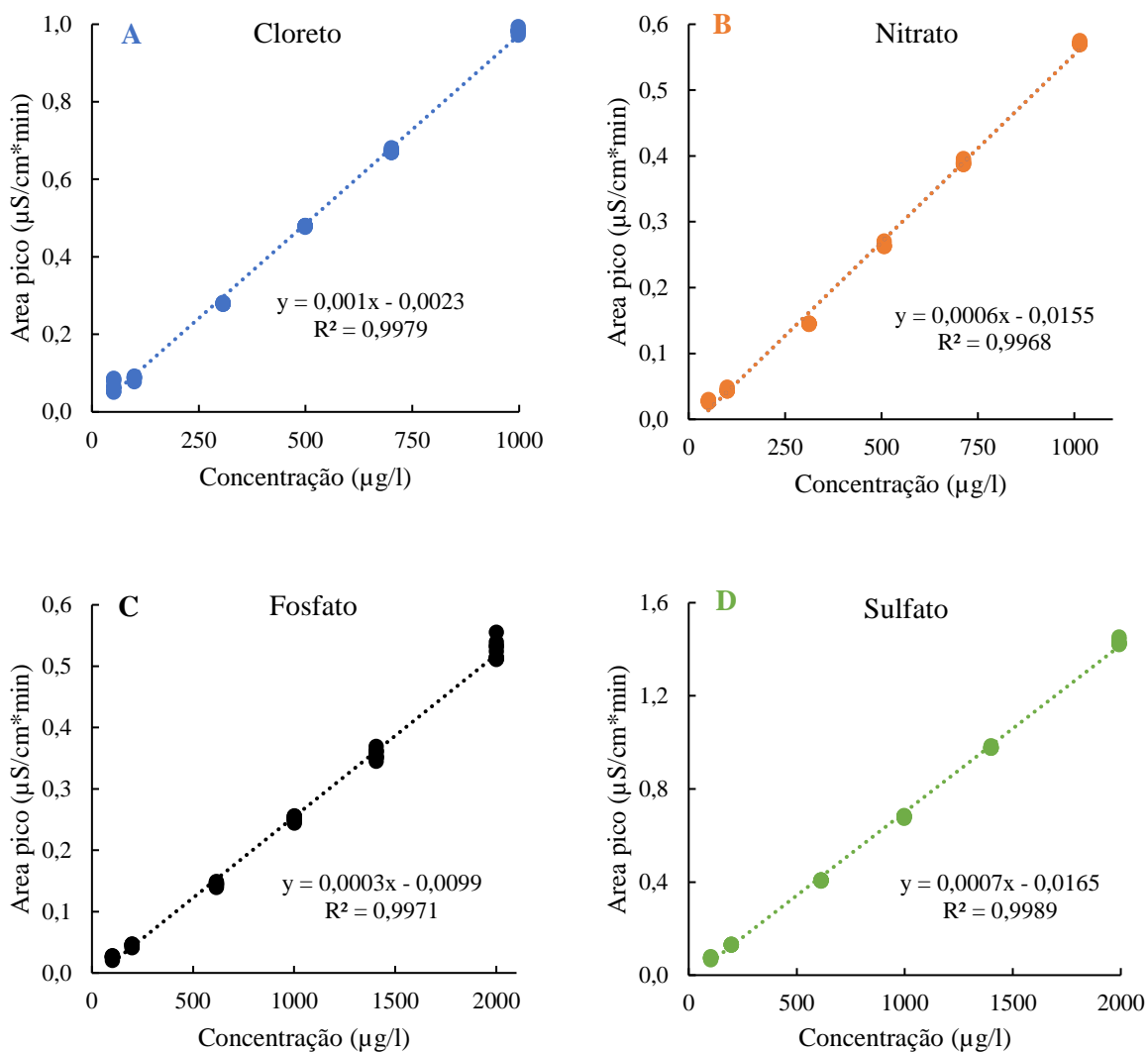
Pela análise do gráfico da figura 3.21, observa-se que o teor de Pb nas cebolas é mais elevado do que nas cenouras, ficando significativamente abaixo do limite máximo do teor de chumbo em raízes, tubérculos e bolbos do Regulamento n.º 1371 (Regulamento 2021/1371) que é de 0,1 mg de Pb/kg de massa fresca do vegetal.

Os resultados obtidos revelam que não existem diferenças no teor de Pb entre amostras do mesmo vegetal. Estes resultados podem indicar que, nas condições deste ensaio, a rega com água rica em Pb (solução VLE) não influencia a absorção deste metal por parte da planta.

Sabe-se que o chumbo é fortemente adsorvido pela matéria orgânica do solo, contribuindo para a sua imobilização no solo (Kushwaha et al., 2018). Ora, na análise dos solos de cultivo verificou-se uma percentagem de matéria orgânica nos solos cultivados à volta dos 70 % (tabela 3.6). Assim, é provável que em solos com teor de matéria orgânica semelhante ou superior ao desta experiência, o chumbo seja imobilizado pela matéria orgânica e não seja absorvido pela planta.

### 3.2.3.2. Quantificação do teor de macronutrientes

Para a obtenção da curva de calibração, as soluções calibradoras foram injetadas no cromatógrafo, de forma aleatória, realizando-se nove leituras para cada padrão. Para determinar a existência de valores aberrantes, todos os resultados foram submetidos ao teste estatístico de Grubbs (para um nível de confiança de 95 %). As curvas de calibração, para cada ião, foram traçadas a partir dos valores das áreas dos picos em função da concentração do ião (figura 3.22) e confirmam a linearidade do método.



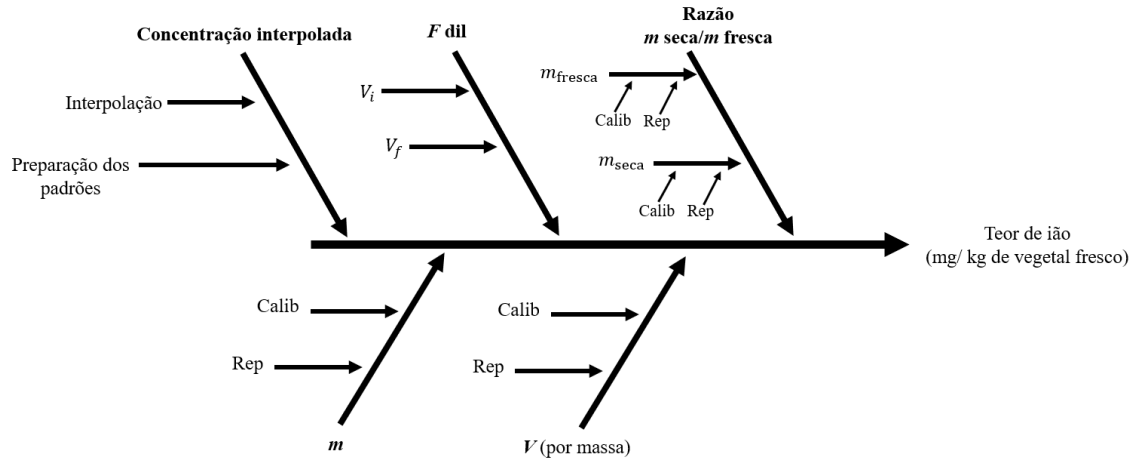
**Figura 3.22.** Retas de calibração para os iões (A) cloreto; (B) nitrato; (C) fosfato; (D) sulfato.

Os limites de deteção e quantificação foram determinados tendo em conta o declive das retas de calibração e o desvio padrão dos resíduos (de acordo com as equações 6.4 e 6.5, em anexo), tendo sido obtidos os valores apresentados na tabela 3.8.

**Tabela 3.8.** Limites de deteção (LD) e de quantificação (LQ) relativos à reta de calibração de cada ião.

Ião	LD ( $\mu\text{g}/\text{l}$ )	LQ ( $\mu\text{g}/\text{l}$ )
Cloreto	47,2	157,3
Nitrato	58,5	195,0
Fosfato	110,7	368,9
Sulfato	67,4	224,6

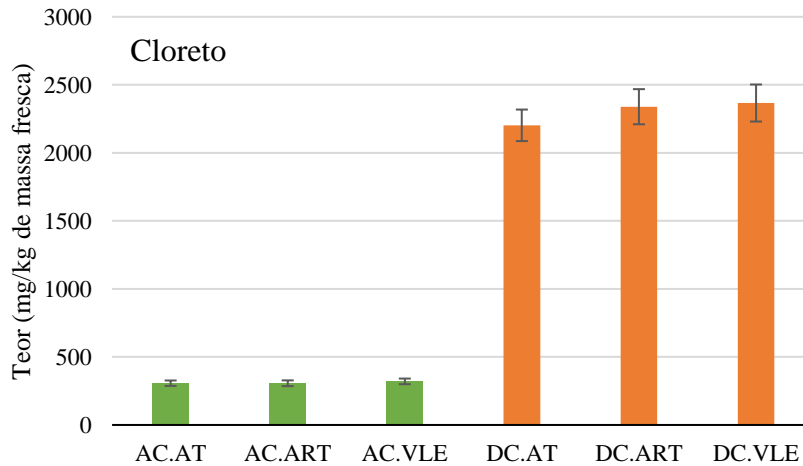
Para a determinação da incerteza do resultado da quantificação do teor de cada ião foi feito um diagrama de causa/efeito (figura 3.23) e posteriormente calculada a incerteza através das equações 1.14 a 1.24.



**Figura 3.23.** Diagrama de causa/efeito relativo à incerteza dos resultados da quantificação do teor de cada ião nas amostras de cebolas e de cenouras.

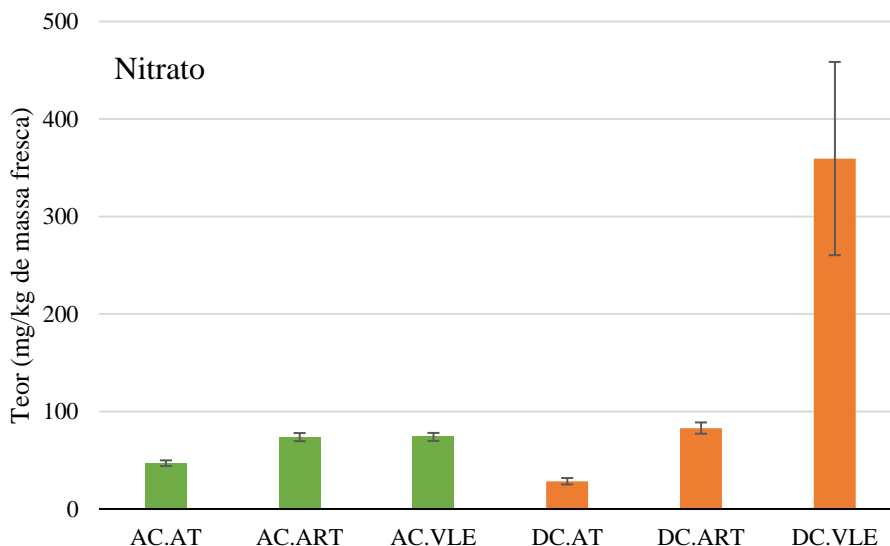
Os extratos das amostras foram diluídos quando necessário e analisados 3 vezes. Calculou-se a média das áreas dos picos e determinou-se a concentração de cada ião. Posteriormente, calculou-se o seu teor nas amostras, considerando, quando necessário o fator de diluição. Apesar de se ter realizado a análise de nitrito nas amostras, os sinais obtidos foram inferiores ao limite de deteção, não sendo, por isso, apresentados esses resultados.

Nas figuras 3.24 a 3.27 encontram-se os gráficos com os teores de iões solúveis em água em amostras de cebola e de cenoura.



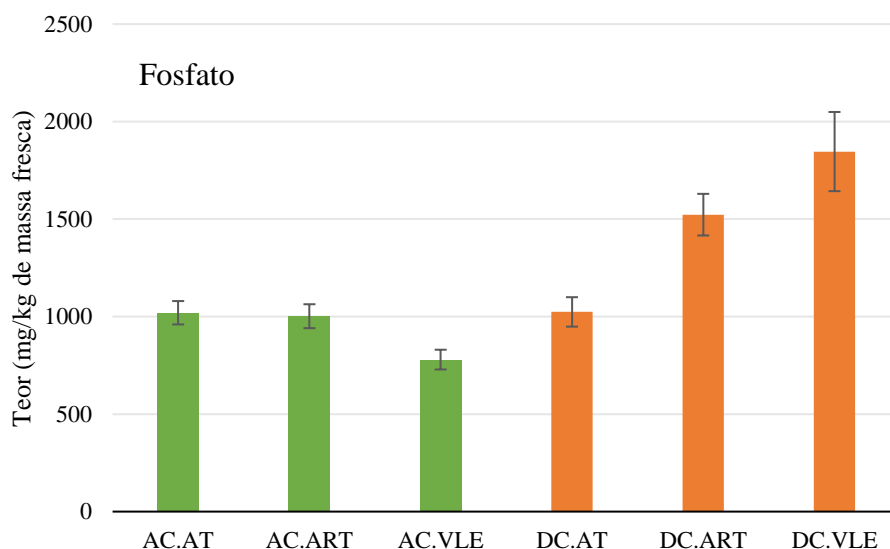
**Figura 3.24.** Teor de ião cloreto nas amostras de cebolas (verde) e de cenouras (cor de laranja), em mg/kg de massa fresca. A barra de erro corresponde ao valor de incerteza expandida para  $k=2$ .

Relativamente ao cloreto (figura 3.24), tanto para cenouras como para cebolas, não se observam diferenças no teor do ião em amostras regadas com AT, ART ou solução de ART com metais, não indicando qualquer efeito causado pela utilização de ART ou da presença dos metais Cd, Cr, Ni e Pb. É ainda evidente o elevado teor de cloreto nas cenouras.

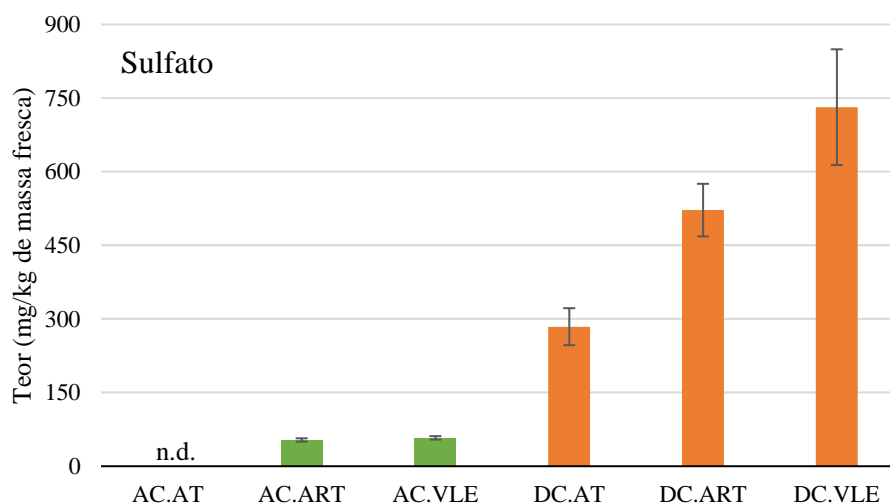


**Figura 3.25.** Teor de íão nitrato nas amostras de cebolas (verde) e de cenouras (cor de laranja), em mg/kg de massa fresca. A barra de erro corresponde ao valor de incerteza expandida para  $k=2$ .

Pela análise do gráfico da figura 3.25, observa-se que vegetais regados com ART e VLE têm teores de nitrato superiores àqueles regados com AT. No caso das cebolas, a presença de metais na ART (solução VLE) não afetou a absorção de nitrato pela planta. Já no caso das cenouras, é notória a influência da presença dos metais na ART, que levou a um aumento de cerca de 340 % do teor de nitrato no vegetal, relativamente à rega com ART.



**Figura 3.26.** Teor de íão fosfato nas amostras de cebolas (verde) e de cenouras (cor de laranja), em mg/kg de massa fresca. A barra de erro corresponde ao valor de incerteza expandida para  $k=2$ .



**Figura 3.27.** Teor de ião sulfato nas amostras de cebolas (verde) e de cenouras (cor de laranja), em mg/kg de massa fresca. Na amostra AC.AT não foi detetada a presença de ião sulfato. A barra de erro corresponde ao valor de incerteza expandida para  $k=2$ .

Pela análise do gráfico da figura 3.27 verifica-se que para as cebolas regadas com AT não foi detetada a presença de sulfato e não se observam diferenças do teor deste ião entre as cebolas regadas com ART e solução VLE.

Nas cenouras, tal como se observa para o ião nitrato, o teor de fosfato (figura 3.26) e sulfato (figura 3.27) é superior na rega com ART e ainda mais elevado na rega com solução VLE. Estes teores mais elevados podem ser explicados pela competição entre estes iões e os metais adicionados à água de rega (nomeadamente Cr na solução VLE) pelos transportadores presentes nas raízes das plantas.

Em geral, observam-se menores teores de nutrientes na cebola do que na cenoura o que, em parte, pode ser justificado pelo reduzido desenvolvimento radicular da cebola, que a torna menos eficiente na extração de nutrientes do solo (Almeida, 2015). Além disso, é possível que o teor de Pb mais elevado nas cebolas do que nas cenouras, contribua para a menor absorção de nutrientes pela cebola, uma vez que poderá haver agregação entre o metal e os nutrientes e, ainda, competição destes dois pelos mesmos transportadores.

Segundo Almeida (2015), as cebolas têm teores de enxofre mais elevados do que a maioria das culturas hortícolas, chegando a representar 5 a 10 % do conteúdo celular da cebola, maioritariamente acumulado nos vacúolos. No entanto, na presença de outros nutrientes como cálcio e cloreto, a absorção de enxofre diminui, devido à competição por transportadores celulares. Assim, neste estudo, a presença do ião cloreto pode ter competido com o ião sulfato, diminuindo a sua absorção por parte da planta.

Sendo o nitrogénio um dos principais nutrientes necessários ao desenvolvimento das plantas (Almeida, 2015), seria expectável que o teor de  $\text{NO}_3^-$  fosse o mais elevado em ambos os hortícolas. No entanto, tal não se observou, possivelmente porque a maior parte do nitrogénio absorvido está sob a forma de  $\text{NH}_4^+$ , não analisado neste trabalho. Tal como observado por Muhaidat et al. (2019), a biodisponibilidade e absorção de  $\text{NO}_3^-$  pelas plantas é reduzida se o pH do solo é ácido, devido à diminuição do processo de nitrificação. Ora, concluiu-se, através da análise de pH que os solos utilizados nestes ensaios eram ácidos, podendo este facto ter contribuído para o baixo teor de nitrato nas plantas.

## 4. Conclusões

Com a realização deste trabalho avaliou-se a possibilidade de utilização de ART, mesmo na presença de Cd, Cr, Ni e Pb nas concentrações máximas permitidas nas descargas da ART na rega de cebolas e de cenouras. Este estudo avaliou os efeitos da utilização destas águas na germinação das sementes de cebola e de cenoura e, posteriormente, no crescimento em ambiente controlado destes hortícolas.

Relativamente à germinação e crescimento inicial das sementes de cebola e de cenouras, concluiu-se que não existem evidências que comprovem a influência do tipo de água de rega (AT, ART e ART suplementada com Cd, Cr, Ni e Pb) na taxa de germinação e no desenvolvimento germinativo das plântulas (biomassa e comprimento da plântula), deixando em aberto a possibilidade de rega destes vegetais com ART.

No que diz respeito aos efeitos da ART e ART suplementada com metais no crescimento de cebolas e de cenouras ao longo de 127 dias, concluiu-se que não há diferenças na absorção de chumbo, dentro da mesma espécie, sendo o seu teor mais elevado nas cebolas do que nas cenouras.

No estudo do perfil de macronutrientes das cenouras, observou-se o efeito da rega com ART e ART suplementada com metais para alguns dos aniões analisados: nitrato, fosfato e sulfato. O teor destes iões foi elevado nas culturas regadas com ART e ainda superior naquelas cuja rega foi realizada utilizando a solução com ART e metais tóxicos, sugerindo um efeito positivo da utilização de ART para a rega deste produto hortícola, mesmo que na presença de Cd, Cr, Ni e Pb nas concentrações limite permitidas por lei. Estes resultados sugerem que através da utilização deste tipo de águas é possível diminuir a fertilização dos solos com fertilizantes artificiais prejudiciais ao solo e às águas subterrâneas. Já no caso das cebolas, não se observou um efeito positivo da utilização de ART na rega da cultura, não tendo, ainda assim, revelado um efeito negativo. Isto é, a rega com ART e ART com metais adicionados não beneficia nem prejudica a absorção dos iões cloreto, nitrato, fosfato e sulfato pela planta.

Para a determinação dos parâmetros anteriormente referidos é necessária preparação da amostra e extração dos compostos a analisar. Este processo é moroso, sendo, por isso, futuramente, necessária a sua otimização, nomeadamente do passo da digestão em meio ácido das amostras vegetais.

Para trabalhos futuros, fica também por analisar o teor de metais nos solos, de forma a calcular a percentagem de absorção de metais pelas plantas e, ainda, o teor de metais nas águas lixiviadas, para determinar a percentagem de metais arrastados pela água que, numa plantação real, contaminariam os lençóis freáticos.

Para além disso, e de modo a completar o estudo do perfil de macronutrientes, devia ser determinado o teor de cations como  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  nas cebolas e cenouras. Poderia também ser interessante estudar o teor dos aniões e cations no solo e nas águas utilizadas, de forma a estabelecer a relação entre elas.

No futuro seria igualmente interessante determinar a atividade antioxidante das espécies vegetais regadas com diferentes tipos de água. Esta análise permitiria estudar a resposta global destas plantas ao stress induzido pela contaminação das águas de rega com os metais Cd, Cr, Ni e Pb.

A longo prazo, os objetivos podem passar pelo aumento do período de crescimento das plantas ou a realização do estudo numa plantação, de forma a aproximar as condições de crescimento à realidade de uma produção agrícola.

## 5. Referências bibliográficas

- Abdoulkader, B. A., Mohamed, B., Nabil, M., Alaoui-Sossé, B., Eric, C., & Aleya, L. (2015). Wastewater use in agriculture in Djibouti: Effectiveness of sand filtration treatments and impact of wastewater irrigation on growth and yield of *Panicum maximum*. *Ecological Engineering*, 84, 607-614. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.09.065>.
- Agência Lusa. (2023, setembro, 5). *Seca. Reutilização de águas residuais vai permitir regar metade dos campos de golfe do Algarve*. Observador. <https://observador.pt/2023/09/05/seca-reutilizacao-de-aguas-residuais-vai-permitir-regar-metade-dos-campos-de-golfe-do-algarve/>, acessado em 20 de dezembro de 2023.
- Agilent. (2018). The Role of Chemical Modifiers in Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. [https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5991-9155EN\\_modifiers\\_gfaas\\_techoverview.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5991-9155EN_modifiers_gfaas_techoverview.pdf).
- Águas do Tejo Atlântico. (2022, março, 29). *Parque das Nações regado com água+*. Grupo Águas de Portugal. <https://www.aguasdotejoatlantico.adp.pt/noticias/parque-das-nacoes-regado-com-agua>, acessado em 13 de dezembro de 2023.
- Ali, S., Mir, R.A., Tygai, A., Manzar, N., Kashyap, A.S., Mushtaq, M., Raina, A., Park, S., Sharma, S., Mir, Z.A., Lone, S.A., Bhat, A.A., Baba, U., Mahmoudi, H. & Bae, H. (2023). Chromium Toxicity in Plants: Signaling, Mitigation, and Future Perspectives. *Plants* 12(7). 10.3390/plants12071502.
- Almeida, D. (2015). *Manual de Culturas Hortícolas* (3ª ed.). Editorial Presença: Lisboa.
- Alvarenga, P. M. L. F. (1997). *Estudo da transferência de metais no sistema solo-planta na zona mineira de Aljustrel aplicados à Esteva (Citrus ladanifer L.)*. [Tese de Mestrado em Química Analítica Aplicada a Processos Bioquímicos e Biotecnológicos]. Repositório da Universidade de Évora. <http://rdpc.uevora.pt/handle/10174/13144>, acessado em 19 de outubro de 2023.
- Angelakis, A., Monte, H. M., Bontoux L. & Asano, T. (1999). The status of wastewater reuse practice in the Mediterranean basin: need for guidelines. *Water Research*, 33(10), 2201-2217. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00465-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00465-5).
- Agência Portuguesa do Ambiente. (2015). *Plano Nacional da Água - Relatório Nº 2: Análise dos Principais Problemas, Diagnóstico, Objetivos e Medidas*. [https://apambiente.pt/sites/default/files/\\_SNIAMB\\_Agua/DRH/PlaneamentoOrdenamento/PNA/2015/PNA2015\\_Relatorio\\_2.pdf](https://apambiente.pt/sites/default/files/_SNIAMB_Agua/DRH/PlaneamentoOrdenamento/PNA/2015/PNA2015_Relatorio_2.pdf), acessado em 30 de março de 2023.
- Agência Portuguesa do Ambiente. (2019). *Guia para a Reutilização da Água para Usos Não Potáveis*. [https://www.apambiente.pt/sites/default/files/\\_Agua/DRH/Licenciamento/ApR/APA\\_Guia\\_Reutilizacao\\_v1.pdf](https://www.apambiente.pt/sites/default/files/_Agua/DRH/Licenciamento/ApR/APA_Guia_Reutilizacao_v1.pdf), acessado em 7 de setembro de 2023.

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2023, outubro, 18). *ATSDR's Substance Priority List*. <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html>, acessado em 25 de outubro de 2023.
- Beatty, R. D. & Kerber, J.D. (1993). *Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry* (2<sup>a</sup> ed.). Perkin-Elmer Corporation: Norwalk, CT.
- Becerra, C., Lopes, A., Vaz, I., Silva, E., Manaia, C. & Nunes, O. (2015). Wastewater reuse in irrigation: A microbiological perspective on implications in soil fertility and human and environmental health. *Environ. Int.*, 75, 117–135. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.11.001>.
- Butcher, D. J. (2023). Innovations and developments in graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS). *Applied Spectroscopy Reviews*, 58:1, 65-82, DOI: 10.1080/05704928.2021.1919896.
- Cantinho, P., Matos, M., Trancoso, M.A. & Correia dos Santos, M.M. (2016). Behaviour and fate of metals in urban wastewater treatment plants: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology* 13, 359-386. DOI 10.1007/s13762-015-0887-x.
- Chen, W., Lu, S., Pan, N., Wang, Y. & Wu, L. (2015). Impact of reclaimed water irrigation on soil health in urban green areas. *Chemosphere* 119, 654-661. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.07.
- Comissão Europeia. (2020). *Plano de Ação para a Economia Circular- Para uma Europa mais limpa e competitiva*. DOI: 10.2779/460528.
- Costa, J. B. (2011). *Caracterização e Constituição do Solo* (6<sup>a</sup> ed.). Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa.
- Decreto-Lei n.º 119/2019 de 21 de agosto. (2019). Diário da República 1<sup>a</sup> Série, n.º 159 de 2019-08-21.
- Decreto-Lei n.º 152/97 de 19 de junho. (1997). Diário da República I Série-A, n.º 139 de 1997-06-19.
- Decreto-Lei n.º 226-A/2007 de 31 de maio. (2007). Diário da República 1<sup>a</sup> série, n.º 105 de 2007-05-31.
- Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de agosto. (1998). Diário da República I Série-A, n.º 176 de 1998-08-01.
- Djanaguiraman, M. & Prasad, P.V.V. (2013). Effects of salinity on ion transport, water relations and oxidative damage. In: Ahmad, P., Azooz, M., Prasad, M. (Eds.), *Ecophysiology and Responses of Plants Under Salt Stress* (pp. 89–114). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4747-4\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4747-4_3).
- Environment, EU. (2023, junho, 26). *Water reuse: New EU rules to improve access to safe irrigation* EU Environment newsletter. [https://environment.ec.europa.eu/news/water-reuse-new-eu-rules-improve-access-safe-irrigation-2023-06-26\\_en](https://environment.ec.europa.eu/news/water-reuse-new-eu-rules-improve-access-safe-irrigation-2023-06-26_en), acessado em 15 de dezembro de 2023.

- Environmental Protection Agency. (2019). Appendix G: Selected International Profiles. *National Water Reuse Action Plan*.
- Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos. (2023). *Relatório Anual dos Serviços de Águas e Resíduos em Portugal - 2022: Vol. 1. Caracterização do Setor de Águas e Resíduos*.
- EURACHEM. (2012). *Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement* (3<sup>a</sup> ed.).
- EURACHEM. (2020, março, 03). *Measurement Uncertainty - Background*. <https://www.eurachem.org/index.php/tskmu>, acessado em 17 de dezembro de 2023.
- FAOSTAT (s.d.). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>, acessado em 4 de janeiro de 2023.
- Filho, H. J., Salazar, R. F., Capri, M., Alcântara, M. A. K. & Peixoto, A. L. (2012). State-of-the-Art and Trends in Atomic Absorption Spectrometry. *InTech*. doi:10.5772/26076.
- Fluence. (2020, julho, 20). *Israel Leads World in Water Recycling*. <https://www.fluencecorp.com/israel-leads-world-in-water-recycling/>, acessado em 5 de setembro de 2023.
- Fraústo da Silva & Williams. (2001). *The biological chemistry of the elements: The inorganic chemistry of life*. Oxford University Press: New York.
- Fritz, J. S. & Gjerde, D. T. (2009). *Ion Chromatography* (4<sup>a</sup> ed.). WILEY-VCH: Weinheim.
- Haddad, P.R., Jackson, P.E. & Shaw, M.J. (2003). Developments in suppressor technology for inorganic ion analysis by ion chromatography using conductivity detection. *Journal of Chromatography A*, 1000, 725-742. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01999-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01999-4).
- Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8<sup>a</sup> ed.). W. H. Freeman and Company: New York.
- ISO. (1993). *Soil quality – Determination of dry matter and water content on a mass basis – Gravimetric method* (ISO 11465:1993). ISO.
- ISO. (2021). *Soil, treated biowaste and sludge – Determination of pH* (ISO 10390:2021). ISO.
- Jaramillo, M. F. & Restrepo, I. (2017). Wastewater Reuse in Agriculture: A Review about Its Limitations and Benefits. *Sustainability*, 9(10), 1734. <https://doi.org/10.3390/su9101734>.
- Kabata-Pendias, A. & Mukherjee, A. B. (2007). *Trace Elements from Soil to Human*. Springer: Berlim.
- Kabata-Pendias, A. (2011). *Trace Elements in Soils and Plants* (4<sup>a</sup> ed.). Taylor & Francis: Florida.
- Kushwaha, A., Hans, N., Kumar, S. & Rani, R. (2018). A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 147, 1035-1045. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.049>.

- Lal, K., Yadav, R., Kaur, R., Bundela, D., Khan, M.I., Chaudhary, M., Meena, R., Dar, S. & Singh, G. (2013). Productivity, essential oil yield, and heavy metal accumulation in lemon grass (*Cymbopogon flexuosus*) under varied wastewater-groundwater irrigation regimes. *Industrial Crops and Products*, 45, 270–27. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.004>.
- Levenson, R. (2002). *More Modern Chemical Techniques* (1ª ed.). Royal Society of Chemistry: Londres.
- Malki, M., Bouchaou, L., Mansir I., Benlouali H., Nghira A. & Choukr-Allah R. (2017). Wastewater treatment and reuse for irrigation as alternative resource for water safeguarding in Souss-Massa region, Morocco. *European Water* 59, 365-371. [https://ewra.net/ew/pdf/EW\\_2017\\_59\\_50.pdf](https://ewra.net/ew/pdf/EW_2017_59_50.pdf).
- Matheyarasu, R., Seshadri, B., Bolan, N.S. & Naidu, R. (2016). Abattoir wastewater irrigation increases the availability of nutrients and influences on plant growth and development. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227 (253). <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2947-3>.
- Mestre, A. S., Campinas, M., Viegas, R. M. C., Mesquita, E., Carvalho, A. P. & Rosa, M. J. (2022). Chapter 17 – Activated carbons in full-scale advanced wastewater treatment. In Giannakoudakis, D., Meili, L. & Anastopoulos, I. (Eds), *Advanced Materials for Sustainable Environmental Remediation* (pp. 433-475). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90485-8.00001-1>.
- Metrohm. (2022). Suppression in anion chromatography- More sensitive analysis of anions and organic acids. <https://www.metrohm.com/en/products/8/0005/80005134.html>, acedido em 3 de novembro de 2023.
- Mikkelsen, R. (2013). A Closer Look at Phosphorous Uptake by Plants. *International Plant Nutrition Institute*. [http://www.ipni.net/publication/insights-na.nsf/0/324D239E9065F43385257CD800765F01/\\$FILE/INSIGHTS-NA-2013-07.pdf](http://www.ipni.net/publication/insights-na.nsf/0/324D239E9065F43385257CD800765F01/$FILE/INSIGHTS-NA-2013-07.pdf).
- Miller, J. & Miller, J. (2010). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* (6ª ed.). Pearson Education Limited: Harlow, England.
- Monte, H. M. do, & Albuquerque, A. (2010). *Guia Técnico 14 - Reutilização de Águas Residuais*. ERSAR. ISBN: 978-989-8360-01-4.
- Monte, H. M. do, Santos, M. T., Barreiros, A. M., & Albuquerque, A. (2016). *Curso Técnico 5 - Tratamento de águas residuais: Operações e Processos de Tratamento Físico e Químico*. ERSAR. ISBN: 978-989-8360-32-8.
- Muhaidat, R., Al-Qudah, K., Al-Taani, A. & AlJammal, S. (2019). Assessment of nitrate and nitrite levels in treated wastewater, soil, and vegetable crops at the upper reach of Zarqa River in Jordan. *Environmental Monitoring and Assessment* 191 (153). <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7292-8>.
- Narayan, O.P., Kumar, P., Yadav, B., Dua, M. & Johri, A.K. (2022). Sulfur nutrition and its role in plant growth and development. *Plant Signaling & Behavior*. <https://doi.org/10.1080/15592324.2022.2030082>.

- Ofori, S., Puškáčová, A., Ružičková, I. & Wanner, J. (2020). Treated wastewater reuse for irrigation: Pros and cons. *Science of the Total Environment*, 760, 144026. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144026>.
- PerkinElmer. (2012). Atomic Absorption – Product Note. [https://resources.perkinelmer.com/corporate/cmsresources/images/46-74676prd\\_hga900graphitefurnace.pdf](https://resources.perkinelmer.com/corporate/cmsresources/images/46-74676prd_hga900graphitefurnace.pdf), acedido em 19 de outubro de 2023.
- PerkinElmer. (2013). Atomic Spectroscopy - A Guide to Selecting the Appropriate Technique and System. [https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/bro\\_worldleaderaaicpmsicpms.pdf](https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/bro_worldleaderaaicpmsicpms.pdf), acedido em 17 de outubro de 2023.
- Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton & P., Pinelli, E. (2011). Lead Uptake, Toxicity, and Detoxification in Plants. *Rev Environmental Contam Toxicol*. DOI: 10.1007/978-1-4419-9860-6\_4.
- Radcliffe, J. C. & Page, D. (2020). Water reuse and recycling in Australia — history, current situation and future perspectives. *Water Cycle*, 1, 19-40. <https://doi.org/10.1016/j.watcyc.2020.05.005>.
- Regulamento 1881/2006. *Regulamento (CE) 1881/2006 da Comissão Europeia de 19 de dezembro de 2006 relativo teores máximos de certos contaminantes presentes em géneros alimentícios*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=celex%3A32006R1881>.
- Regulamento 2020/741. *Regulamento (UE) 2020/741 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de maio de 2020 relativo aos requisitos mínimos para a reutilização da água*. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2020/741/oj>.
- Regulamento 2021/1317. *Regulamento (CE) 2021/1317 da Comissão Europeia de 9 de agosto de 2021 relativo aos teores máximos de chumbo em certos géneros alimentícios*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1317>.
- RELACRE. (2018). Guia RELACRE 31: Quantificação da Incerteza de Medição em Ensaios Físico-Químicos. [https://www.relacre.pt/assets/relacreassets/files/commissionsandpublications/GuiaRELACRE%2031\\_%20Publicacao%20oficial.pdf](https://www.relacre.pt/assets/relacreassets/files/commissionsandpublications/GuiaRELACRE%2031_%20Publicacao%20oficial.pdf).
- Rodrigues, J. (2010). *Optimização de métodos de extração e determinação de ião nitrato em alfaces* [Relatório de Projeto Tecnológico I da Licenciatura de Química Tecnológica]. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P. & Cardona, A. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 676–682. DOI: 10.1038/nmeth.2019.

- Sch lindwein, A.D., Rigotto, C., Simões, C.M.O. & Barardi, C.R.M. (2010). Detection of enteric viruses in sewage sludge and treated wastewater effluent. *Water Sci. Technol.*, 61 (2), 537–544. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.845>.
- Serra, A. (2022, outubro, 20). *Água+, uma alternativa sustentável*. Dinheiro Vivo. <https://www.dinheirovivo.pt/opiniao/agua-uma-alternativa-sustentavel-15273676.html>, acessado em 9 de novembro de 2023.
- Shahid, M., Shamshad, S., Rafiq, M., Khalid, S., Bibi, I., Niazi, N.K., Dumat, C. & Rashid, M.I. (2017). Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review. *Chemosphere* 178, 513-533. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.074>.
- Shokri, S., Abdoli, N., Sadighara, P., Mahvi A. H., Esrafil, A., Gholami, M., Jannat, B. & Yousefi, M. (2022). Risk assessment of heavy metals consumption through onion on human health in Iran. *Food Chemistry: X*, 14. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100283>.
- Shoushtarian, F. & Negahban-Azar, M. (2020). Worldwide Regulations and Guidelines for Agricultural water Reuse: A Critical Review. *Water*, 12(4), 971. DOI: 10.3390/w12040971.
- Silva, H. F. (2015). *Avaliação integrada da poluição por metais tóxicos na cidade de Lisboa*. [Tese de Doutoramento]. Universidade de Lisboa. <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/22972>, acessado a 26 de outubro de 2023.
- Silva, R. B. (2016). Spreadsheet for designing valid least-squares calibrations: A tutorial. *Talanta* 148, 177-190. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.072>.
- SIMTEJO. (2010). *Saneamento Integrado dos Municípios do Tejo e Trancão, S. A. - Relatório e Contas 2010*.
- Skoog, D.A., Holler, F.J. & Crouch, S.R. (2016). *Principles of Instrumental Analysis* (7ª ed.). Cengage Learning: Boston, MA.
- The Fertilizer Institute. (s.d.). Essential Elements: Chloride. <https://www.tfi.org/wp-content/uploads/2024/01/tfi-chloride.pdf>, acessado em 7 de dezembro de 2023.
- Tüzen, M. (2003). Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 80 (1), 119-123. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00264-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00264-9).
- United Nations, World Water Assessment Programme. (2018). *The United Nations World Water Development Report 2018: Nature-Based Solutions for Water*. UNESCO.
- United Nations, World Water Assessment Programme. (2023). *The United Nations World Water Development Report 2023: Partnerships and Cooperation for Water*. UNESCO.
- U.S. Department of Agriculture. (2011). Soil Quality Indicators- Soil Electrical Conductivity. *USDA Natural Resources Conservation Service*.

Varenes, A. (2003). *Produtividade dos Solos e Ambiente*. Escolar Editora: Lisboa.

VIM. (2012). Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos fundamentais e gerais e termos associados (1ª ed.). Rio de Janeiro.

# 6. Anexos

## 6.1. Caracterização das águas de rega



### QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO



Rede de Distribuição da Cidade de Lisboa  
Torreiras do Consumidor

PERÍODO DE COLHEITA: 1º TRIMESTRE / 2023

Parâmetros	N.º Amostras PCQA			Valor determinado		Valor Paramétrico (Decreto-lei n.º 152/2017)	N.º Amostras > Valor Paramétrico	% Cumprimento Valor Paramétrico
	Previstas	Realizadas	% Cumprimento	Máximo	Mínimo			
<b>Parâmetros Controlo de Rotina R1</b>	<b>1 092</b>	<b>1 092</b>	<b>100,00%</b>				<b>10</b>	
Cloro residual disponível (mg/L Cl <sub>2</sub> )	364	364	100,00%	0,85	<0,15	---	-	-
Coliformes totais (ufc/100 mL)	364	364	100,00%	>80	0	0	10	97,25%
E. coli (ufc/100 mL)	364	364	100,00%	0	0	0	0	100,00%
<b>Parâmetros Controlo de Rotina R2</b>	<b>1 170</b>	<b>1 170</b>	<b>100,00%</b>				<b>0</b>	
Cheiro a 25 °C (Fator dil.)	130	130	100,00%	<1		3	0	100,00%
Condutividade (µS/cm 20°C)	130	130	100,00%	477	136,6	2500	0	100,00%
Cor (mg/L Pt)	130	130	100,00%	3	<2	20	0	100,00%
Estreptococos fecais (ufc/100 mL)	130	130	100,00%	0		0	0	100,00%
Germes aeróbios totais a 22 °C (ufc/mL)	130	130	100,00%	11	0	S/ alteração anormal	-	-
Germes aeróbios totais a 37 °C (ufc/mL)	130	130	100,00%	22	0	S/ alteração anormal	-	-
pH (E.Sørensen)	130	130	100,00%	8,71 (a 19,6°C)	7,76 (a 20,4°C)	≥6,5 e ≤9,5	0	100,00%
Sabor a 25 °C (Fator dil.)	130	130	100,00%	<1		3	0	100,00%
Turvação (UNT)	130	130	100,00%	4,4	<0,30	4	0	100,00%
<b>Parâmetros Controlo de Inspeção</b>	<b>842</b>	<b>842</b>	<b>100,00%</b>				<b>1</b>	
1,2 - Diclometano (µg/L)	6	6	100,00%	<0,10		3,0	0	100,00%
Alumínio (µg/L)	130	130	100,00%	49,1	<20,0	200	0	100,00%
Antimónio (µg/L)	6	6	100,00%	<0,50		5,0	0	100,00%
Arsénio (µg/L)	6	6	100,00%	1,04	<0,50	10	0	100,00%
Atividade alfa-total (Bq/L)	6	6	100,00%	0,06	<0,025	---	-	-
Azoto amoniacal (mg NH <sub>4</sub> /L)	6	6	100,00%	<0,070		0,50	0	100,00%
Benzeno (µg/L)	6	6	100,00%	<0,30		1,0	0	100,00%
Benzo (a) Pireno (µg/L)	6	6	100,00%	<0,0016		0,010	0	100,00%
Boro (µg/L)	6	6	100,00%	56,7	<20,0	1000	0	100,00%
Bromatos (µg/L)	6	6	100,00%	<3,00		10	0	100,00%
Cádmio (µg/L)	6	6	100,00%	<0,50		5,0	0	100,00%
Cálcio (mg/L)	6	6	100,00%	30,1	16,3	---	-	-
Carbono orgânico total (mg C/L)	6	6	100,00%	1,66	0,63	S/ alteração anormal	-	-
Chumbo (µg/L)	6	6	100,00%	<0,50		10	0	100,00%
Cianetos (µg/L)	6	6	100,00%	<5,00		50	0	100,00%
Cloretos (mg/L)	6	6	100,00%	45,9	12,2	250	0	100,00%
Clostridium perfringens (inclui esporos) (ufc/100 mL)	130	130	100,00%	0		0	0	100,00%
Cobre (µg/L)	6	6	100,00%	5,9	1,18	2000	0	100,00%
Crómio (µg/L)	6	6	100,00%	<1,00		50	0	100,00%
Dose indicativa total (mSv/ano)	6	6	100,00%	<0,1		0,10	0	100,00%
Dureza total (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	6	6	100,00%	98,6	52,2	---	-	-
Ferro (µg/L)	130	130	100,00%	571	<20,0	200	1	99,23%
Fluoretos (µg/L)	6	6	100,00%	201	<100	1500	0	100,00%
Hid. Arom. Polin. Total (soma espécies+) (µg/L)	6	6	100,00%	<0,025		0,10	0	100,00%
Benzo (b) Fluoranteno + (µg/L)	6	6	100,00%	<0,004		---	-	-
Benzo (g,h,i) Perileno + (µg/L)	6	6	100,00%	<0,012		---	-	-
Benzo (k) Fluoranteno + (µg/L)	6	6	100,00%	<0,0015		---	-	-
Indeno (1,2,3-cd) Pireno + (µg/L)	6	6	100,00%	<0,025		---	-	-
Magnésio (mg/L)	6	6	100,00%	5,69	2,79	---	-	-
Manganés (µg/L)	130	130	100,00%	5,31	<5,00	50	0	100,00%
Mercurio (µg/L)	6	6	100,00%	<0,200		1,0	0	100,00%
Níquel (µg/L)	6	6	100,00%	4,26	<1,00	20	0	100,00%
Nitratos (mg/L)	6	6	100,00%	2,64	1,87	50	0	100,00%
Nitritos (mg/L)	6	6	100,00%	<0,0050		0,50	0	100,00%
Oxidabilidade (mg O <sub>2</sub> /L)	124	124	100,00%	1,74	<0,80	5,0	0	100,00%
Pesticidas total (µg/L)	6	6	100,00%	< maior dos L.Q.		0,50	0	100,00%
Alacloro (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Atrazina (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Bentazona (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Clorpirifos (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Desetilatraxina (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Desetilsimazina (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Desetilterbutilazina (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Dimetenamida-P (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Dimetoato (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%

Fig. 1 de 2, 05/02/2023

**Figura 6.1.** Boletim da qualidade da água para consumo humano da rede de distribuição da cidade de Lisboa fornecida pela EPAL relativa ao 1º trimestre de 2023. Retirado de www.epal.pt.



QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO



Rede de Distribuição da Cidade de Lisboa  
Torneiras do Consumidor

PERÍODO DE COLHEITA: 1º TRIMESTRE / 2023

Parâmetros	N.º Amostras PCQA			Valor determinado		Valor Paramétrico (Decreto-Lei n.º 152/2017)	N.º Amostras > Valor Paramétrico	% Cumprimento Valor Paramétrico
	Previstas	Realizadas	% Cumprimento	Máximo	Mínimo			
Diurão (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Imidaclopride (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Isoproturão (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Linurão (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
MCPA (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Metaxil-M (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
S-Metolaclo (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Metribuzina (µg/L)	6	6	100,00%	<0,03		0,10	0	100,00%
Ometoato (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Oxamill (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Simazina (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Terbutilazina (µg/L)	6	6	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Radão-222 (Ba/L)	6	6	100,00%	<10,0		500	0	100,00%
Selénio (µg/L)	6	6	100,00%	<2,00		10	0	100,00%
Sódio (mg/L)	6	6	100,00%	53,7	9,82	200	0	100,00%
Soma Tricloroeteno e Tetracloroeteno (µg/L)	6	6	100,00%	<1,0		10	0	100,00%
Tetracloroeteno (µg/L)	6	6	100,00%	<0,10		---	-	-
Tricloroeteno (µg/L)	6	6	100,00%	<1,0		---	-	-
Sulfatos (mg/L)	6	6	100,00%	35,9	16,6	250	0	100,00%
Trihalometanos - Total (µg/L)	6	6	100,00%	51	40	100	0	100,00%
Bromodiorometano (µg/L)	6	6	100,00%	14	9	---	-	-
Bromofórmio (µg/L)	6	6	100,00%	11	<1,0	---	-	-
Clorofórmio (µg/L)	6	6	100,00%	33	10	---	-	-
Dibromodiorometano (µg/L)	6	6	100,00%	12	3,6	---	-	-

**Avaliação:** O valor paramétrico refere-se ao Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei n.º 92/2010, de 26 de julho e pelo Decreto-Lei n.º 152/2017, de 7 de dezembro. Os resultados analíticos apresentados evidenciam que a água distribuída está em conformidade com as normas de qualidade estabelecidas no Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto. Com exceção de dois incumprimentos (de Bactérias coliformes), com origem em intervenções efetuadas no Sistema de Abastecimento da EPAL, não foram identificadas anomalias no sistema de distribuição, nomeadamente no que diz respeito a alterações na exploração do sistema, nem foram registadas outras intervenções potencialmente relacionadas as ocorrências detetadas, pelo que se considerou que os restantes valores não conformes poderão ter tido como origem uma eventual falta de manutenção das respetivas redes prediais. Com base nos resultados das contra-análises efetuadas, considerou-se que as situações anómalas detetadas estavam normalizadas, sendo que a repetição da amostragem e respetivas análises de verificação confirmaram, ainda, a inexistência de qualquer problema com significado para a saúde pública.

Figura 6.2. Boletim da qualidade da água para consumo humano da rede de distribuição da cidade de Lisboa fornecida pela EPAL relativa ao 1º trimestre de 2023 (continuação). Retirado de www.epal.pt.



QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO



Rede de Distribuição da Cidade de Lisboa  
Torneiras do Consumidor

PERÍODO DE COLHEITA: 2º TRIMESTRE / 2023

Parâmetros	N.º Amostras PCQA			Valor determinado		Valor Paramétrico (Decreto-lei n.º 152/2017)	N.º Amostras > Valor Paramétrico	% Cumprimento Valor Paramétrico
	Previstas	Realizadas	% Cumprimento	Máximo	Mínimo			
<b>Parâmetros Controlo de Rotina R1</b>	<b>1 092</b>	<b>1 092</b>	<b>100,00%</b>				<b>5</b>	
Cloro residual disponível (mg/L Cl <sub>2</sub> )	364	364	100,00%	0,86	<0,15	---	-	-
Coliformes totais (ufc/100 mL)	364	364	100,00%	>80	0	0	5	98,63%
E. coli (ufc/100 mL)	364	364	100,00%	0		0	0	100,00%
<b>Parâmetros Controlo de Rotina R2</b>	<b>1 161</b>	<b>1 161</b>	<b>100,00%</b>				<b>0</b>	
Cheiro a 25 °C (Fator dil.)	129	129	100,00%	<1		3	0	100,00%
Condutividade (µS/cm 20°C)	129	129	100,00%	482	<20,0	2500	0	100,00%
Cor (mg/L Pt)	129	129	100,00%	3	<2	20	0	100,00%
Estreptococos fecais (ufc/100 mL)	129	129	100,00%	0		0	0	100,00%
Germes aeróbios totais a 22 °C (ufc/mL)	129	129	100,00%	148	0	S/ alteração anormal	-	-
Germes aeróbios totais a 37 °C (ufc/mL)	129	129	100,00%	42	0	S/ alteração anormal	-	-
pH (E.Sørensen)	129	129	100,00%	9,20 (a 21,3°C)	7,83 (a 21,5°C)	≥6,5 e ≤9,5	0	100,00%
Sabor a 25 °C (Fator dil.)	129	129	100,00%	<1		3	0	100,00%
Turvação (UNT)	129	129	100,00%	2,2	<0,30	4	0	100,00%
<b>Parâmetros Controlo de Inspeção</b>	<b>805</b>	<b>805</b>	<b>100,00%</b>				<b>4</b>	
1,2 - Dicloroetano (µg/L)	5	5	100,00%	<0,10		3,0	0	100,00%
Alumínio (µg/L)	129	129	100,00%	58,8	<20,0	200	0	100,00%
Antimónio (µg/L)	5	5	100,00%	<0,50		5,0	0	100,00%
Arsénio (µg/L)	5	5	100,00%	1,29	<0,50	10	0	100,00%
Atividade alfa-total (Bq/L)	5	5	100,00%	<0,04		---	-	-
Azoto amoniacal (mg NH <sub>4</sub> /L)	5	5	100,00%	<0,070		0,50	0	100,00%
Benzeno (µg/L)	5	5	100,00%	<0,30		1,0	0	100,00%
Benzo (a) Pireno (µg/L)	5	5	100,00%	<0,0016		0,010	0	100,00%
Boro (µg/L)	5	5	100,00%	65,0	<20,0	1000	0	100,00%
Bromatos (µg/L)	5	5	100,00%	<3,00		10	0	100,00%
Cádmio (µg/L)	5	5	100,00%	<0,500		5,0	0	100,00%
Cálcio (mg/L)	5	5	100,00%	22,4	17,6	---	-	-
Carbono orgânico total (mg C/L)	5	5	100,00%	1,35	1,02	S/ alteração anormal	-	-
Chumbo (µg/L)	5	5	100,00%	0,76	<0,50	10	0	100,00%
Cianetos (µg/L)	5	5	100,00%	<5,00		50	0	100,00%
Cloretos (mg/L)	5	5	100,00%	62,5	<7,50	250	0	100,00%
Clostridium perfringens (inclui esporos) (ufc/100 mL)	129	129	100,00%	0		0	0	100,00%
Cobre (µg/L)	5	5	100,00%	3,19	1,69	2000	0	100,00%
Crómio (µg/L)	5	5	100,00%	<1,00		50	0	100,00%
Dose indicativa total (mSv/ano)	5	5	100,00%	<0,10		0,10	0	100,00%
Dureza total (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	5	5	100,00%	81,2	57,5	---	-	-
Ferro (µg/L)	129	129	100,00%	431	<20,0	200	4	96,90%
Fluoretos (µg/L)	5	5	100,00%	211	<100	1500	0	100,00%
Hid. Arom. Polin. Total (soma espécies+) (µg/L)	5	5	100,00%	<0,025		0,10	0	100,00%
Benzo (b) Fluoranteno + (µg/L)	5	5	100,00%	<0,004		---	-	-
Benzo (g,h,i) Perileno + (µg/L)	5	5	100,00%	<0,012		---	-	-
Benzo (k) Fluoranteno + (µg/L)	5	5	100,00%	<0,0015		---	-	-
Índeno (1,2,3-cd) Pireno + (µg/L)	5	5	100,00%	<0,025		---	-	-
Magnésio (mg/L)	5	5	100,00%	6,13	3,09	---	-	-
Manganés (µg/L)	129	129	100,00%	22,5	<5,00	50	0	100,00%
Mercurio (µg/L)	5	5	100,00%	<0,200		1,0	0	100,00%
Níquel (µg/L)	5	5	100,00%	1,71	<1,00	20	0	100,00%
Nitratos (mg/L)	5	5	100,00%	2,57	1,60	50	0	100,00%
Nitritos (mg/L)	5	5	100,00%	<0,0050		0,50	0	100,00%
Oxidabilidade (mg O <sub>2</sub> /L)	124	124	100,00%	1,48	<0,80	5,0	0	100,00%
Pesticidas total (µg/L)	5	5	100,00%	< maior dos L.Q.		0,50	0	100,00%
Alacloro (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Atrazina (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Bentazona (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Clorpirifos (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Desetilatrazina (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Desetilsimazina (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Desetilterbutilazina (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Dimetenamida-P (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Dimetoato (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%

Pág. 1 de 2, 23/07/2023

Figura 6.3. Boletim da qualidade da água para consumo humano da rede de distribuição da cidade de Lisboa fornecida pela EPAL relativa ao 2º trimestre de 2023. Retirado de www.epal.pt.



QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO



Rede de Distribuição da Cidade de Lisboa  
Torneiras do Consumidor

PERÍODO DE COLHEITA: 2º TRIMESTRE / 2023

Parâmetros	N.º Amostras PCQA			Valor determinado		Valor Paramétrico (Decreto-Lei n.º 152/2017)	N.º Amostras > Valor Paramétrico	% Cumprimento Valor Paramétrico
	Previstas	Realizadas	% Cumprimento	Máximo	Mínimo			
Diurão (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Imidaclopride (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Isoproturão (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Linurão (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
MCPA (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Metatxil-M (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
S-Metolaclo (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Metribuzina (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Ometoato (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Oxamfil (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Simazina (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Terbutilazina (µg/L)	5	5	100,00%	<0,030		0,10	0	100,00%
Radão-222 (Bq/L)	5	5	100,00%	<10,0		500	0	100,00%
Selénio (µg/L)	5	5	100,00%	<2,00		10	0	100,00%
Sódio (mg/L)	5	5	100,00%	76,8	12,1	200	0	100,00%
Soma Tricloroeteno e Tetracloroeteno (µg/L)	5	5	100,00%	<1,0		10	0	100,00%
Tetracloroeteno (µg/L)	5	5	100,00%	<0,10		---	-	-
Tricloroeteno (µg/L)	5	5	100,00%	<1,0		---	-	-
Sulfatos (mg/L)	5	5	100,00%	55,3	<10,0	250	0	100,00%
Trihalometanos - Total (µg/L)	5	5	100,00%	55	46	100	0	100,00%
Bromodiorometano (µg/L)	5	5	100,00%	15	10	---	-	-
Bromofórmio (µg/L)	5	5	100,00%	11	<1,0	---	-	-
Clorofórmio (µg/L)	5	5	100,00%	36	14,0	---	-	-
Dibromodiorometano (µg/L)	5	5	100,00%	12	4,4	---	-	-

**Avaliação:** O valor paramétrico refere-se ao Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei n.º 92/2010, de 26 de julho e pelo Decreto-Lei n.º 152/2017, de 7 de dezembro. Os resultados analíticos apresentados evidenciam que a água distribuída está em conformidade com as normas de qualidade estabelecidas no Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto. Com exceção de um incumprimento de Bactérias coliformes/Coliformes totais, com origem numa intervenção efetuada no Sistema de Abastecimento da EPAL, não foram identificadas anomalias no sistema de distribuição, nomeadamente no que diz respeito a alterações na exploração do sistema, nem foram registadas outras intervenções potencialmente relacionadas das ocorrências detetadas, pelo que se considerou que os restantes valores não conformes poderão ter tido como origem uma eventual falta de manutenção das respetivas redes prediais. Com base nos resultados das contra-análises efetuadas, considerou-se que as situações anómalas detetadas estavam normalizadas, sendo que a repetição da amostragem e respetivas análises de verificação confirmaram, ainda, a inexistência de qualquer problema com significado para a saúde pública.

Figura 6.4. Boletim da qualidade da água para consumo humano da rede de distribuição da cidade de Lisboa fornecida pela EPAL relativa ao 2º trimestre de 2023 (continuação). Retirado de www.epal.pt.

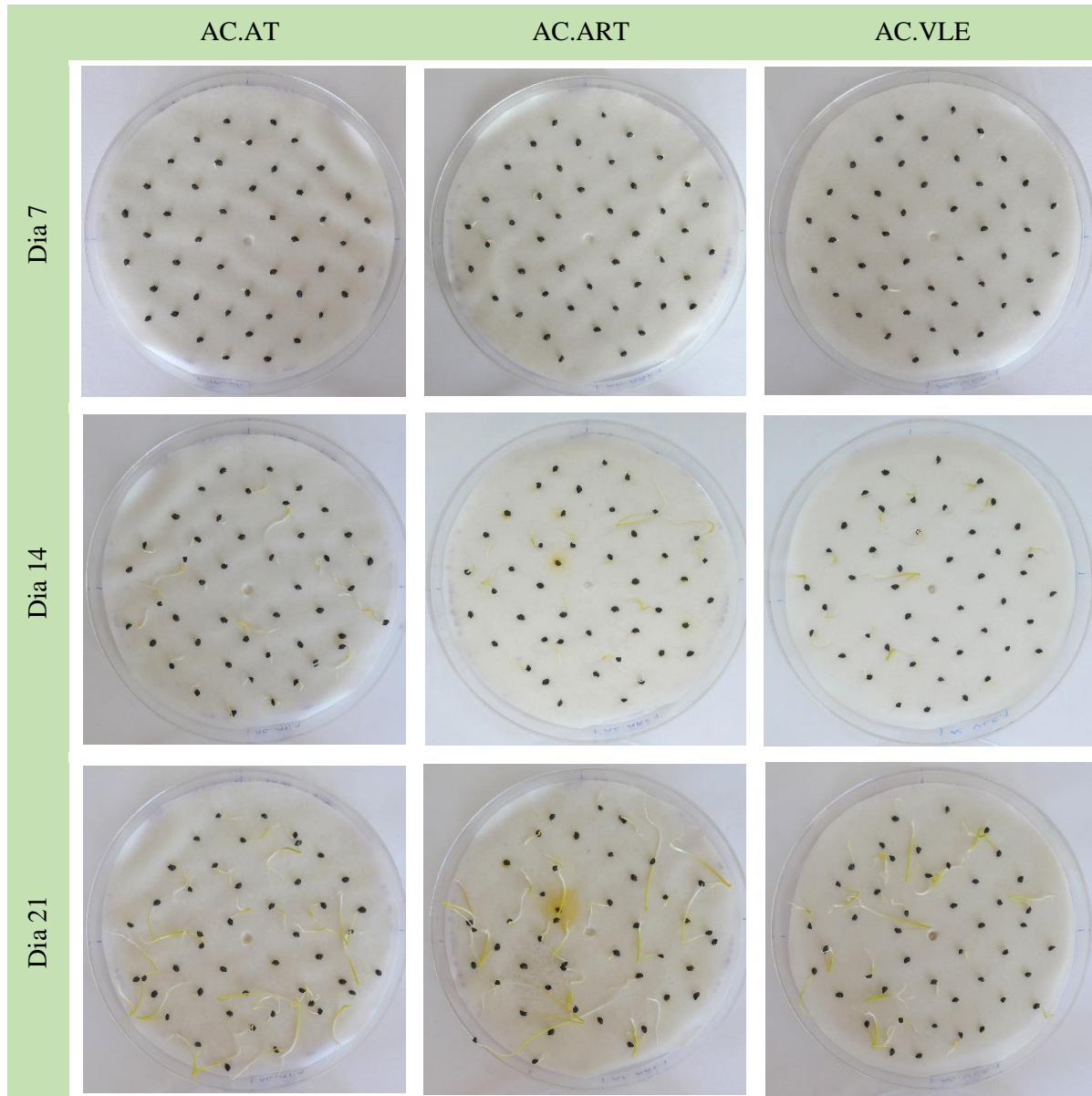
Tabela 6.1. Valores médios de condutividade elétrica, pH e temperatura da água da torneira (AT), água residual tratada (ART) e solução VLE (VLE), obtidos ao longo dos ensaios de germinação e crescimento.

Tipo água	Data	EC (µS/cm)	pH	T (°C)
AT	03/02/2023	165	7,59	14,3
	03/02/2023	616	7,08	14,5
ART	20/02/2023	655	7,01	17,4
	03/03/2023	605	7,15	16,1
	06/04/2023	570	6,58	22,7
VLE	03/02/2023	678	6	14,6
	03/03/2023	859	3,33	16,1
	24/03/2023	806	3,27	21,5
	31/03/2023	856	3,21	21,9
	12/04/2023	783	3,36	22,5
	04/05/2023	776	3,36	24,8

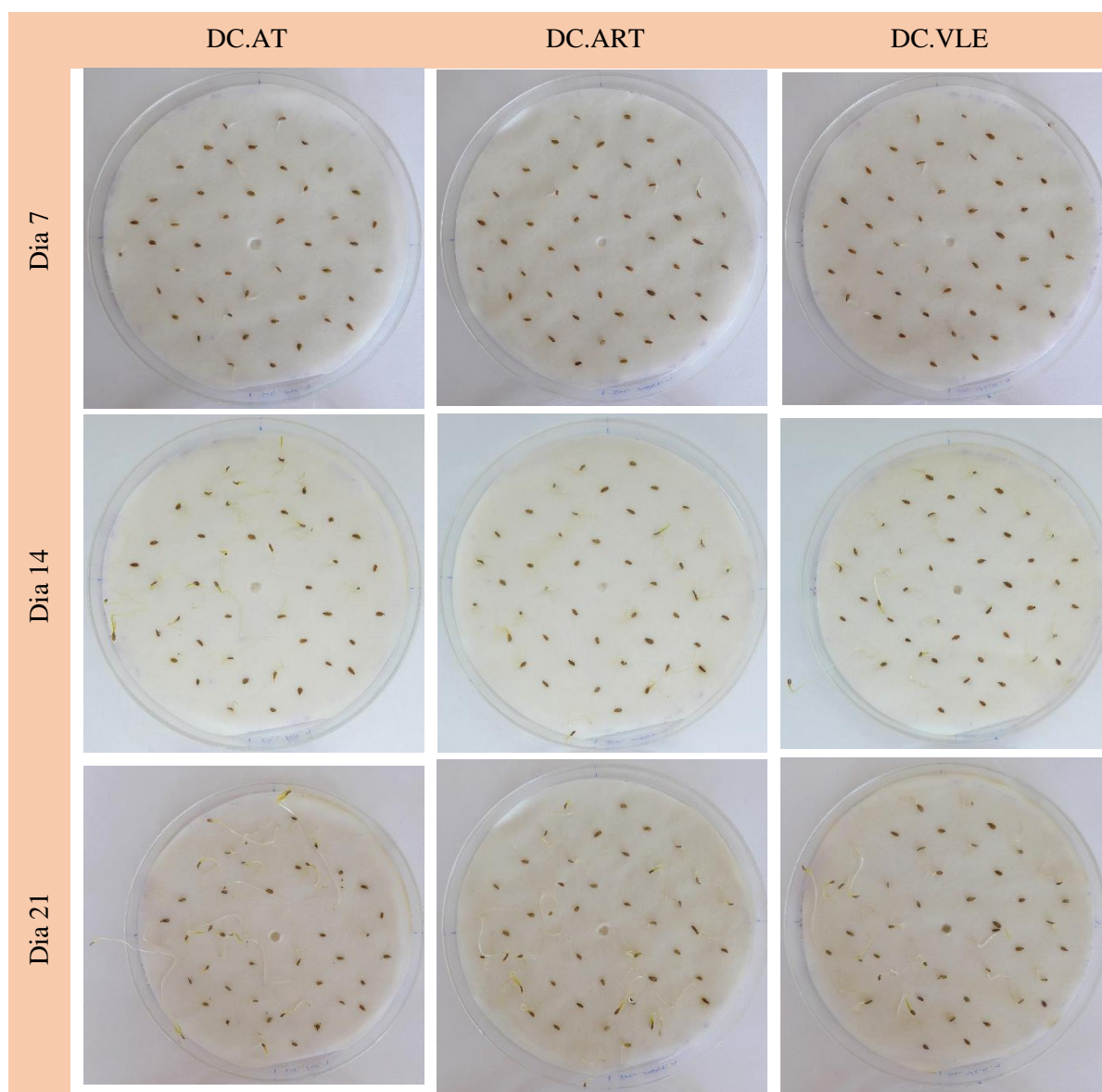
**Tabela 6.2.** Dados de Carência Química de Oxigênio (CQO), Sólidos Suspensos Totais (SST), Azoto Total e Fósforo Total, para a água residual tratada, fornecidos pela ETAR de Chelas.

Data	CQO (mg/l)	SST (mg/l)	Azoto Total (mg/l)	Fósforo Total (mg/l)
07/02/2023	33,50	7,00	-	-
14/02/2023	36,40	3,67	-	-
21/02/2023	30,00	3,00	11,00	2,90
28/02/2023	32,60	4,90	-	-
07/03/2023	30,00	5,45	-	-
14/03/2023	40,10	3,25	-	-
21/03/2023	27,17	5,33	30,00	2,39
28/03/2023	27,92	8,80	-	-

## 6.2. Germinação das cebolas e das cenouras



**Figura 6.5.** Imagens da germinação das sementes de cebolas (AC) regadas com AT (AC.AT), ART (AC.ART) e solução VLE (AC.VLE) ao fim de 7, 14 e 21 dias da sementeira.

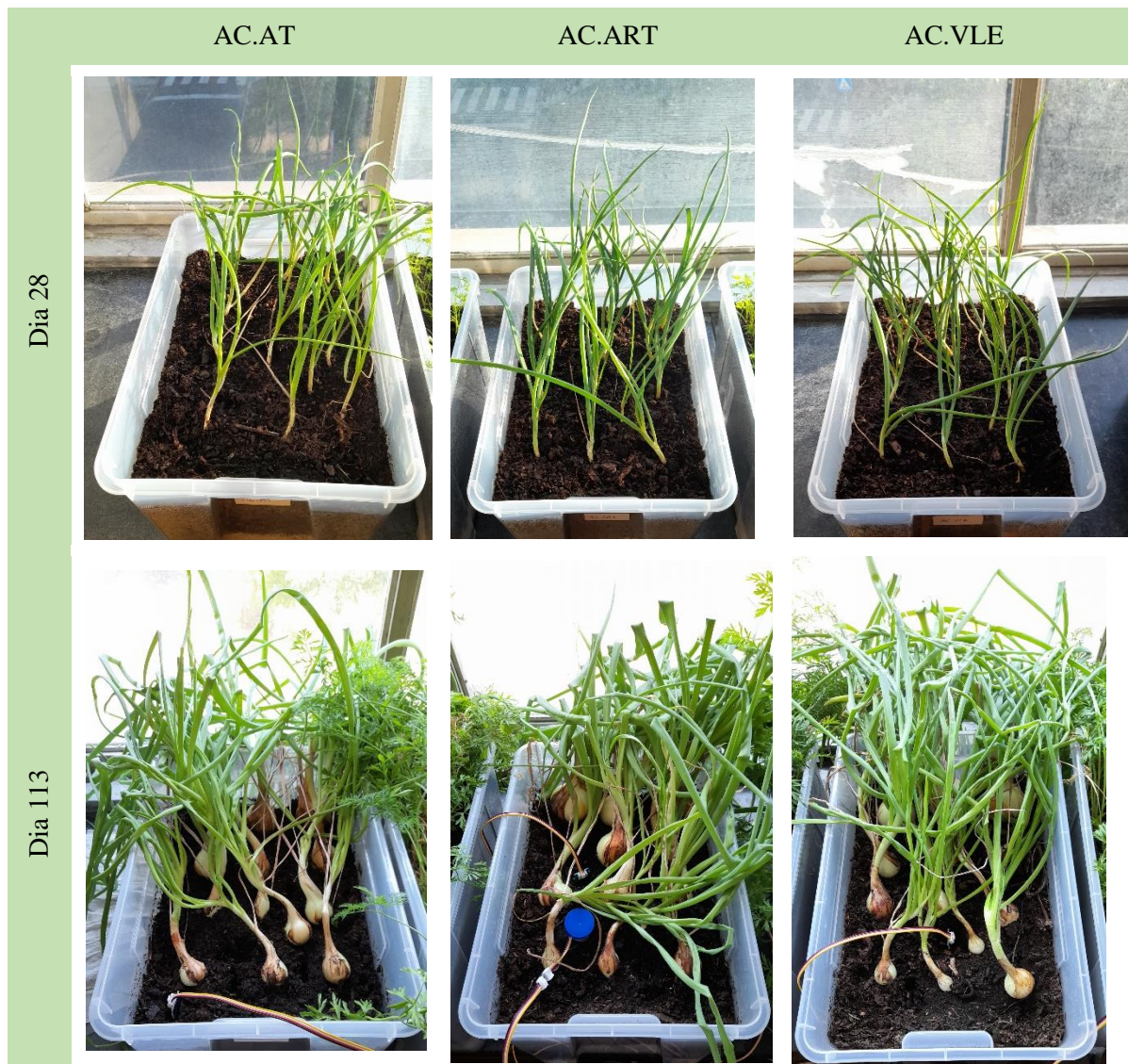


**Figura 6.6.** Imagens da germinação das sementes de cenouras (DC) regadas com AT (DC.AT), ART (DC.ART) e solução VLE (DC.VLE) ao fim de 7, 14 e 21 dias da sementeira.

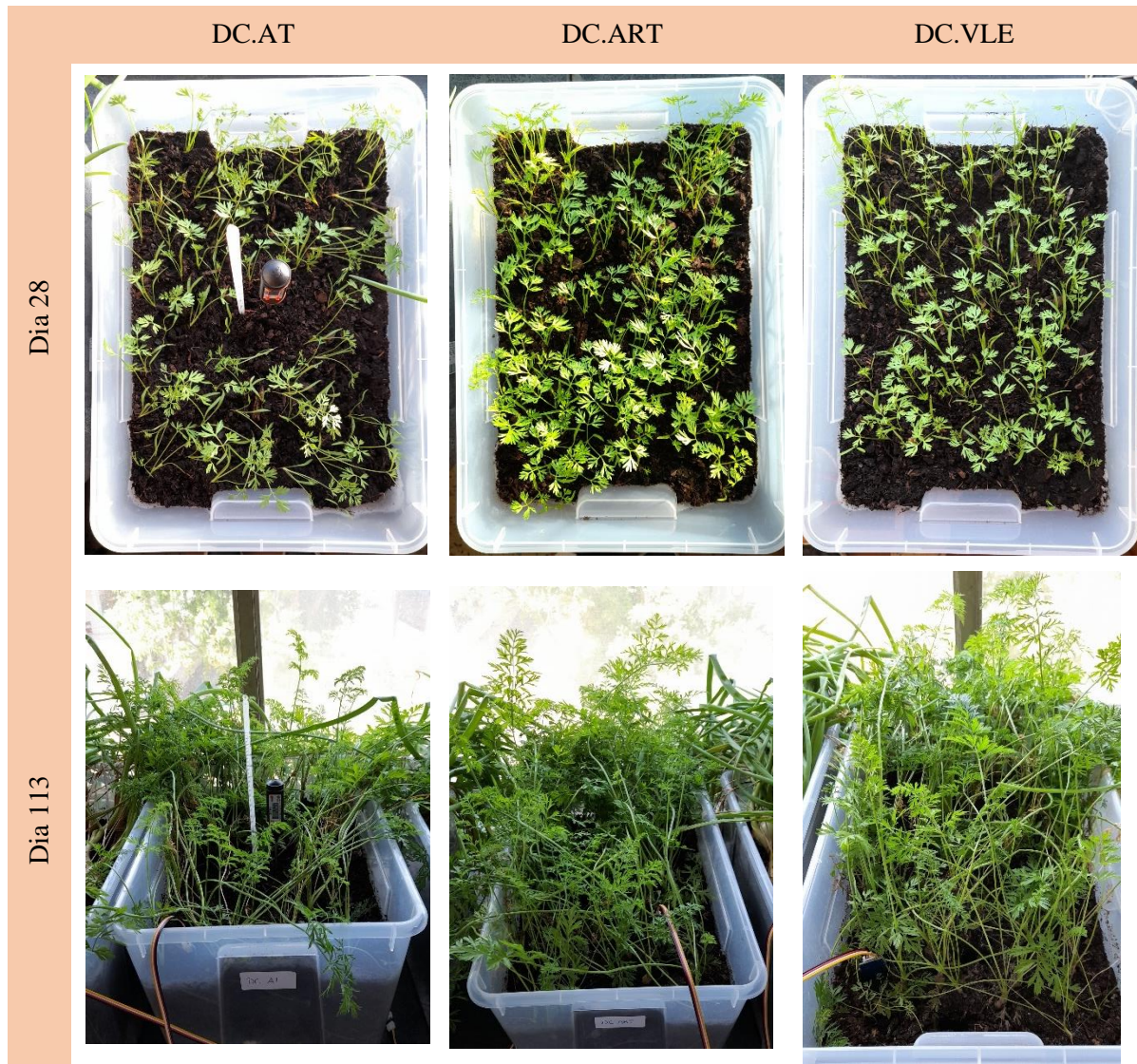
### 6.3. Ensaio de crescimento das cebolas e das cenouras

**Tabela 6.3.** Volume de água, em litros, adicionado a cada plantação ao longo do ensaio de crescimento.

<b>Dia</b>	<b>AC.AT</b>	<b>DC.AT</b>	<b>AC.ART</b>	<b>DC.ART</b>	<b>AC.VLE</b>	<b>DC.VLE</b>
1	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
4	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
11	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
16	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
23	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
31	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
37	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
40	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
44	1,0	-	1,0	-	1,0	-
46	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
50	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
53	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
57	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
59	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
61	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
63	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
66	-	0,5	-	0,5	-	0,5
69	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
71	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
73	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
77	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
83	0,5	1,0	0,5	1,0	0,5	1,0
86	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
90	0,5	1,0	0,5	1,0	0,5	1,0
92	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
94	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
97	0,5	1,0	0,5	1,0	0,5	1,0
99	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
101	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
104	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
108	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
112	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
113	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
118	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
122	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
<b>Total</b>	<b>29,5</b>	<b>30,5</b>	<b>29,5</b>	<b>30,5</b>	<b>29,5</b>	<b>30,5</b>



**Figura 6.7.** Imagens do crescimento em ambiente controlado das cebolas (AC) regadas com AT (AC.AT), ART (AC.ART) e solução VLE (AC.VLE) ao fim de 28 e 113 dias de plantação.



**Figura 6.8.** Imagens do crescimento em ambiente controlado das cenouras (DC) regadas com AT (DC.AT), ART (DC.ART) e solução VLE (DC.VLE) ao fim de 28 e 113 dias de plantação.

## 6.4. Quantificação do limite de deteção e quantificação

Para a análise de metais recorrendo a GFAAS, o limite de deteção e limite de quantificação foram determinados considerando a análise de brancos e de acordo com as equações 6.2 e 6.3 (Miller & Miller, 2010).

$$LD = y_{br} + k_d \times s_{br} \quad (6.1)$$

$$LQ = y_{br} + k_q \times s_{br} \quad (6.2)$$

em que  $y_{br}$  é a média dos sinais de branco,  $s_{br}$  é o desvio padrão de pelo menos 10 leituras de branco da amostra,  $k_d$  é uma constante igual a 3 e  $k_q$  uma constante igual a 10.

Por outro lado, para a determinação dos valores de LD e LQ para o método de IC foram utilizadas as equações 6.4 e 6.5.

$$LD = \frac{k_d \times s_{y/x}}{b} \quad (6.3)$$

$$LQ = \frac{k_q \times s_{y/x}}{b} \quad (6.4)$$

em que  $b$  é o declive da reta de calibração,  $s_{y/x}$  é o desvio padrão dos resíduos,  $k_d$  é uma constante igual a 3 e  $k_q$  uma constante igual a 10.