



VOLTAMETRIA DE CHUMBO EM CORTIÇA

João Carlos Araújo de Carvalho Caldeira da Ponte e Sousa

Tese apresentada à Universidade de Évora
para obtenção do Grau de Doutor em Química

ORIENTAÇÃO: *António Manuel Neto Vaz*

ÉVORA, FEVEREIRO DE 2012



ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	X
RESUMO.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO.....	1
Objectivos.....	3
Contributos de estudos anteriores - especialidade.....	3
Discussão.....	7
Contributos de estudos anteriores – generalidade justificativa da escolha da voltametria.....	8
Contributos de estudos anteriores – generalidade justificativa da escolha do chumbo como analito com elevada relevância ambiental.....	13
Contributos do presente estudo – especialidade.....	13
Contributos do presente estudo – generalidade.....	15
Referências bibliográficas.....	16
CAPÍTULO II - CORK AND METALS: A REVIEW.....	21
Abstract.....	23
Introduction.....	24
Cork ashes.....	25
Cork mineral substances.....	31
Cork elemental analysis.....	32
Discussion.....	47
Conclusion.....	49
Acknowledgement.....	49
References.....	49
CAPÍTULO III - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	53
MATERIAL E MÉTODOS.....	55
Reagentes e soluções.....	55
Instrumentação.....	55
Eléctrodos e Célula.....	56

Condições voltamétricas	58
Outras características	58
Procedimento.....	58
CAPÍTULO IV - OPTIMISATION OF THE ANALYSIS OF LEAD IN CORK BY DIFFERENTIAL PULSE ANODIC STRIPPING VOLTAMMETRY	63
Abstract	66
Keywords	66
Introduction	66
Materials and methods.....	66
Reagents and solutions.....	66
Instrumentation	67
Preparation of cork samples.....	67
Voltammetric assays	67
Results and discussion	68
Acknowledgements.....	69
References	69
CAPÍTULO V - A NEW METHOD FOR THE IMPROVEMENT OF DATA PRODUCTION IN PHYTOCHEMICAL ANALYSIS	73
Abstract	75
Keywords	76
Introduction	76
Experimental.....	77
Standards and chemicals.....	77
Extraction and digestion of cork sample	77
DPASV analysis.....	78
Results and Discussion.....	79
Old algorithm: least squares equations	79
New algorithm	83
Acknowledgements.....	90
References	90

CAPÍTULO VI - A CORTIÇA COMO SONDA AMBIENTAL DE METAIS PESADOS – UM SERVIÇO SÓCIO-AMBIENTAL PRESTADO POR MONTADOS DE SOBRO E SOBREIRAIS.....	91
Resumo	93
Abstract	94
Introdução.....	95
Material e métodos	97
Reagentes e soluções.....	97
Instrumentação	97
Condições voltamétricas	97
Outras características	98
Procedimento.....	98
Resultados e discussão	98
Conclusões	101
Agradecimentos	102
Referências bibliográficas	102
CAPÍTULO VII - CONCLUSÕES.....	105
Conclusões gerais	107
Discussão e conclusões finais	110
CAPÍTULO VIII - BIBLIOGRAFIA.....	115
ANEXOS.....	123
Anexo I: Tratamento estatístico dos dados	125
Anexo II: Exclusão de valores desviantes	155

A tudo e a todos.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor António Manuel Neto Vaz pela orientação científica, confiança, apoio e amizade com que me honra.

Ao Professor Doutor Jorge Manuel Ginja Teixeira pelo inextinguível e incansável apoio dado na iniciação à utilização da instrumentação analítica usada.

Ao Professor Doutor José Luís Fontes da Costa Lima pelo apoio dado durante o período em que o presente trabalho foi financiado por uma bolsa de doutoramento da Fundação para a Ciência e a Tecnologia.

Ao Professor Doutor Carlos Alberto dos Santos Braumann pela correcção da língua inglesa e da linguagem matemática utilizada no artigo onde é publicado um novo método estatístico para análise de dados electroanalíticos.

Ao Professor Doutor Victor Manuel de Matos Lobo pelos conselhos proporcionados via telefone e correio electrónico, e por me ter recebido durante largas horas nas suas instalações na Universidade de Coimbra, bem como pela correcção da ortografia inglesa no artigo que demonstra a aplicação da voltametria à determinação do conteúdo em chumbo da cortiça.

Ao Professor Doutor Russell Gerardo Alpizar Jara pelas muitas horas de discussão em torno dos métodos estatísticos que validaram os resultados obtidos.

Ao Professor Doutor David L. Zellmer por, tendo como única motivação as minhas palavras enviadas por correio electrónico, ter podido discutir, desde o outro lado do oceano atlântico, o método da adição padrão, sem nunca desistir ou revelar qualquer incómodo.

Ao Professor Doutor Clinio Locatelli pelo envio de nove artigos sobre análise voltamétrica de metais pesados em várias matrizes, nomeadamente ambientais.

Ao Professor Doutor Gerd Wegener pela edição do artigo que faz a revisão do que se sabia sobre o teor metálico da cortiça à data da sua submissão.

Ao Doutor Barry Charlwood pela edição do artigo que faz a demonstração de um novo método para a melhoria da produção de dados da análise fitoquímica, com aplicação na análise voltamétrica de chumbo no felema de cortiça amadia.

Ao Professor Doutor Carlos Alberto de Jesus Alexandre pela edição do artigo sobre a cortiça como sonda ambiental de metais pesados – um serviço sócio-ambiental prestado por montados de sobro e sobreirais.

Ao Professor Doutor Miguel Freire de Albuquerque Ferreira Cabral por me ter recebido nas instalações do centro tecnológico da cortiça, no decurso de uma visita à corticeira Amorim.

Ao Professor Doutor Júlio Manuel da Cruz Morais, ao Professor Doutor José Maria dos Santos Arteiro, ao Professor Doutor José António Rodrigues e ao Professor Doutor Alexandre Moniz de Bettencourt pelo apoio, pontual, mas importante.

Ao Arq. Carlos Carvalho e ao Eng. Jorge Santos Garcia, pela compreensão de que tenho sido beneficiário na Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional do Alentejo, serviço do Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território.

À Universidade de Évora, nomeadamente ao seu Departamento de Química, pela utilização das suas instalações laboratoriais.

Aos amigos Carlos, Lena, Sara e Rui pelo tempo que me ofereceram.

Aos meus Pais.

À minha Mulher.

Aos meus Filhos.

Os trabalhos de investigação que precederam a redacção da presente tese foram apoiados financeiramente, durante o ano de 2007, pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia que atribuiu ao autor a bolsa de doutoramento SFRH/BD/31420/2006.

RESUMO

É mostrado o teor médio conhecido de cinzas e metais em cortiça amadia, bem como o desvio-padrão e o número de referências bibliográficas. Nomeadamente de: Ca, K, Al, P, Na, Fe, Mg, Mn, Cu, Zn, Pb, Cr e Cd. De destacar ($20\text{ppm}\pm 20\text{ppm}$; 5) para Pb.

Foi criado um novo método quimiométrico para análise de dados, aplicado à voltametria-de-redissolução-anódica-de-impulso-diferencial. O novo método produziu uma incerteza expandida de $\pm 0.3321\text{ppm}$ (ca. 1.42 %). A diferença entre os resultados do novo e do anterior método foi de 0.01ppm (23.41 e 23.40ppm). O limite-de-deteção mudou de aproximadamente 4.8 para 4ppm e o desvio-padrão-relativo aproximadamente de 9 para 6%.

A voltametria-de-redissolução-anódica-de-impulso-diferencial permitiu obter, para o chumbo, o resultado de $52.85\text{ppm}\pm 41.63\text{ppm}$ (77.36%) ou $32.00\text{ppm}\pm 12.16\text{ppm}$ (37.98%), estudadas duas amostras de cortiça. Foi feita a optimização paramétrica e comparação com a espectrometria de absorção atómica.

Voltammetry of lead in cork

ABSTRACT

It is shown the known average concentration of ashes and metals in reproduction cork, as well as the standard-deviation and the number of bibliographic references. Namely of: Ca, K, Al, P, Na, Fe, Mg, Mn, Cu, Zn, Pb, Cr and Cd. A remark is made to $(20\text{ppm} \pm 20\text{ppm}; 5)$ for Pb.

A new chemometric method was created for data analysis, applied to differential-pulse-anodic-stripping-voltammetry. The new method produced an expanded uncertainty of $\pm 0.3321\text{ppm}$ (*ca.* 1.42 %). The difference between the new and old method results was 0.01ppm (23.41 and 23.40ppm). The limit-of-detection changed from approximately 4.8 for 4ppm and the relative-standard-deviation approximately from 9 to 6%.

The differential-pulse-anodic-stripping-voltammetry allowed to have, for lead, the result of $52.85\text{ppm} \pm 41.63\text{ppm}$ (77.36%) or $32.00\text{ppm} \pm 12.16\text{ppm}$ (37.98%), after the study of two cork samples. The parametric optimization was made and atomic absorption spectrometry was used for comparison.

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Objectivos

A aplicação de métodos electroquímicos de análise à determinação quantitativa do teor em metais pesados no felema da casca de *Quercus suber* L., nomeadamente o chumbo, carecia de ser inserida no contexto do conhecimento pré-existente da análise não-orgânica da cortiça, onde assume particular relevância devida ao interesse toxicológico desse metal. Também havia necessidade de uma cuidada apreciação estatística do procedimento utilizado para tratamento da informação que o método electroquímico de análise eleito (a voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial) fornece – a intensidade da corrente eléctrica, i . Havia, ainda, necessidade de comparar resultados electroquímicos obtidos por voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial, e estes com os espectrais, obtidos por espectrometria de absorção atómica. São estes os três grandes objectivos do presente texto. Subsidiariamente foi também um quarto objectivo, de cariz mais prático, que pretende demonstrar, se possível ao agricultor português, em linguagem mais acessível, numa lógica próxima do extensionismo rural, a mais-valia sócio-ambiental do sobreiro, quando entendido como fonte de conhecimento capaz de indicar a presença de chumbo determinável por via electroquímica no felema da sua casca. Também um quinto objectivo foi perseguido, no sentido de explicitar a optimização dos parâmetros instrumentais da análise.

Contributos de estudos anteriores - especialidade

Apesar da existência de trabalhos sobre o conteúdo não-orgânico da cortiça não ser muito frequente, a verdade é que algo havia já sido estudado sobre essa matéria. No que respeita ao chumbo o primeiro estudo quantitativo conhecido data de 1986 e apresenta um valor médio de 49.9 ppm para o teor em chumbo no felema da

cortiça, determinado por espectrometria de absorção atómica. Este estudo apresenta dois valores numéricos, cada um para uma medição executada, e é omissivo quanto a qualquer estudo estatístico (Marques *et al.*, 1986).

Em 1987 é publicado o valor de 7 ppm para o teor de chumbo em felema de cortiça por espectrometria de absorção atómica, com 5 amostras (Pereira, 1987).

Em 1993, no contexto de um estudo que visava a determinação em rolhas de cortiça, foi publicado o teor de chumbo de 0.054 ppm, medido por espectrometria de absorção atómica electrotérmica com plataforma de L'vov. Este é, de facto, o primeiro trabalho onde a componente estatística é apresentada: para adições de 2.5, 10 e 25 µg/l a uma amostra de cortiça, ensaiadas 6, 10 e 7 vezes, foram obtidas recuperações de 71 ± 5 , 96 ± 2 e 96 ± 2 %, respectivamente. E, para determinação da repetibilidade do método analítico, foram feitas 20 medições numa alíquota de digesto de rolha – desvio padrão relativo de 1.4% –, bem como, para determinação da repetibilidade do procedimento total, foi feita uma medição em cada uma de 20 alíquotas da mesma amostra de rolha de cortiça – desvio padrão relativo de 9.5%. O limite de detecção, correspondendo a 3 vezes o desvio padrão do ruído de fundo obtido em 20 determinações em HNO₃ 0,2%, foi 1.1 µg/l, e o intervalo de linearidade de 1.1 a 75 µg/l (Soares *et al.*, 1993).

Em 1996 é publicado um novo estudo que apresenta como teor de chumbo em cortiça cozida (sem costa nem barriga) 0.74 ± 0.66 ppm, após avaliação de 8 amostras. De acordo com os autores o cozimento da cortiça reduz o teor metálico (Ferreira *et al.*, 1996).

Em 2003 é publicado um estudo sobre a aplicação de um método electroquímico de análise à determinação do teor de chumbo em felema de cortiça amadia sem tratamento industrial. Neste trabalho o enfoque é na cortiça, como sai do sobreiro, e o tratamento do sinal analítico (intensidade de corrente eléctrica ao potencial de redissolução atingido no máximo da curva voltamétrica) é posto em evidência. O uso do método da adição padrão obriga a afectar o sinal analítico com um factor multiplicativo que fá-lo aumentar na mesma proporção que ele decresce em função da diluição devida à adição dos padrões. Esse factor é a soma de todos os volumes (presentes no momento da medição do sinal analítico) a dividir pela soma dos volumes presentes sem adição de nenhum padrão. Os voltamogramas publicados são

simétricos e o máximo da sua curva cresce proporcionalmente para adições de padrão que põem o chumbo na solução que sofre electrólise às concentrações de 0.000, 5.213, 10.38 e 15.49 sempre na grandeza de 10^{-8} M. Os potenciais de pico registados foram de -450 mV para a redissolução do chumbo (Pb a Pb (II)) na ausência de adição de padrão, e iguais após a primeira e a segunda adição de padrão, sempre com desvios padrão de 1 mV. Após a terceira adição padrão o potencial baixou para -404 mV e o respectivo desvio padrão tornou-se inferior a 1 mV. As medições foram feitas em triplicado. O ajuste, pelo método dos mínimos quadrados, de uma recta ao conjunto de pares ordenados composto pelo sinal analítico médio e a concentração de padrão que lhe deu origem, produziu um factor de correlação de 99.7 % (Sousa *et al.*, 2003).

A quantificação de chumbo do felema da cortiça, por voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial, publicada em 2003, acrescenta ao estudo anterior a determinação do teor no digesto de felema de cortiça amadia, bem como a determinação numa solução digesto sem cortiça – o branco amostral. Para tal havia que separar a contribuição do felema da cortiça, da contribuição dos reagentes. Isso foi conseguido através da análise do chumbo numa solução que, passando pelas mesmas fases preparativas que a amostra, não contivesse amostra. O teor em chumbo assim determinado foi subtraído ao obtido após análise da amostra. Assim foi calculada a concentração de 11.4×10^{-8} M na solução que continha amostra e 1.43×10^{-8} M na solução que não continha amostra. Portanto, concluiu-se que o chumbo proveniente do felema da cortiça se encontrava na concentração de 9.97×10^{-8} M. Por aplicação multiplicativa do inverso do factor de diluição utilizado na adição da solução do digesto à solução do electrólito de suporte em cujo seio aquela foi colocada, por aplicação multiplicativa do volume para o qual foi aferida a solução do digesto após a digestão que o produziu, por aplicação multiplicativa da massa molar do chumbo e, por fim, dividindo este produto pela massa de felema de cortiça amadia granulado utilizado, foi criado um factor capaz de transformar a concentração molar obtida em concentração mássica. O resultado final foi 24.1 ppm. O coeficiente de correlação da recta ajustada pelo método dos mínimos quadrados foi de 99.7 % para a solução contendo amostra e de 99.95 % para a solução sem amostra (Ponte-e-Sousa *et al.*, 2003).

É efectuado um estudo, em 2004, que indica as condições paramétricas capazes de maximizar o sinal analítico durante a voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial do ião Pb (II) proveniente de uma digestão ácida a quente de felema de cortiça amadia granulado, usando como instrumentação analítica o potenciostato-galvanostato AutoLab PGstat 20 (Metrohm Autolab BV) associado a um eléctrodo de mercúrio de gota suspensa, a um eléctrodo auxiliar de vareta de carbono vítreo e a um eléctrodo de referência de Ag/AgCl/KCl 3M. Os resultados deste estudo foram: tempo de purga de 30 s, potencial de deposição de -0.650 V, tempo para o potencial de deposição de 30 s, tempo de equilíbrio de 30 s, tempo de duração do impulso de 0.05 s, intervalo de tempo de 0.25 s, potencial inicial de -0.650 V, potencial final de -0.100 V, salto de potencial de 0.003 V, amplitude do impulso de 0.100 V e, finalmente, é indicado que a velocidade de varrimento foi de 12 mV/s. O mesmo estudo, noutra capítulo, mostra o resultado de uma comparação feita entre os métodos usados na digestão pelos dois grupos que se dedicaram ao estudo de chumbo em cortiça. O grupo que usa espectrometria mediu chumbo em 20 amostras provenientes de 20 amostras de granulado de felema de cortiça amadia e em 20 amostras de digestos provenientes das 20 amostras de granulado de felema de cortiça amadia iniciais. Todas as amostras foram retiradas de uma porção de cortiça com cerca de 15 cm². A confrontação entre os resultados [da medição das soluções de digesto preparado pelo grupo que usa voltametria e os resultados da medição das soluções de digesto preparado pelo grupo que usa espectrometria, que fez as medições espectrométricas nas soluções de digestos de amostras de cortiça iguais e homogeneizadas (de cada uma das 20 amostras uma parte foi digerida por um método e outra por outro)] mostrou não haver qualquer relação entre eles, havendo uma dispersão em nuvem. Um conjunto de 20 amostras produziu o resultado de 0.1542 ppm ± 62.75 % e o outro conjunto de 20 amostras, produzido a partir do mesmo granulado de felema de cortiça amadia, produziu o resultado de 2.5814 ppm ± 63.04 %. O valor do desvio padrão relativo foi considerado determinante do efeito indiferente dos dois métodos de digestão na precisão dos resultados produzidos (Ponte-e-Sousa, 2004).

Discussão

Apesar da intercomparabilidade analítica não estar assegurada porque os procedimentos laboratoriais foram diferentes entre o primeiro estudo citado (Marques *et al.*, 1986) que anuncia 49.9 ppm de chumbo em felema de cortiça, o segundo (Pereira, 1987) 7 ppm de chumbo em felema de cortiça, o terceiro (Soares *et al.*, 1993) 0.054 ppm em rolhas de cortiça e o quarto (Ferreira *et al.*, 1996) 0.74 ± 0.66 ppm (número de amostras igual a 8) de chumbo em cortiça cozida (especialmente entre o conjunto composto pelo primeiro e o segundo e o conjunto composto pelo terceiro e o quarto) o que é certo é que há entre eles uma característica comum – a espectrometria de absorção atômica. Trata-se de felema de cortiça, de rolha e de cortiça cozida e observa-se que a concentração de chumbo varia da ordem das dezenas de ppm em felema de cortiça para menos de um ppm em cortiça cozida e para as cinquenta e quatro milésimas de ppm em rolha. De 45 ppm em cortiça para 0.054 ppm em rolhas há, portanto, uma redução de mais de 833 vezes.

Nos dois primeiros estudos (Marques *et al.*, 1986; Pereira, 1987) os resultados são apresentados sem que haja explicação sobre o tratamento dado à amostra ou o tratamento estatístico dado aos resultados da análise. Nos dois seguintes (Soares *et al.*, 1993; Ferreira *et al.*, 1996) a descrição da análise divide-se entre estudos que não usam apenas a matriz cortiça (usam também uma solução ácida dos metais em estudo, ainda que à concentração antes determinada a partir de uma rolha) e estudos onde os valores de concentração de chumbo são apresentados sem demonstração do tratamento dado aos sinais analíticos, e sem medida da incerteza associada. Em (Ferreira *et al.*, 1996) há uma medida de incerteza dada pelo desvio-padrão da medição do teor de chumbo em 8 amostras de cortiça cozida. Este desvio-padrão, quando relativo à média (0.74 ppm), foi superior a 89%.

Destaca-se o estudo analítico de (Soares *et al.*, 1993) por conter uma medida de repetibilidade e uma de reprodutibilidade, em termos de desvio-padrão relativo (1.4 e 9.5%), a primeira para vinte medições da mesma digestão de uma rolha de cortiça e a segunda para 20 medições feitas cada uma em uma de vinte digestões da mesma amostra de rolha, mas sem medida de centralidade associada. Isto é, apresenta apenas a medida da dispersão dos resultados. Nada informa sobre a grandeza de

cada estimativa, das vinte medidas efectuadas, que, sendo necessariamente médias em função do ajuste executado por via de curva de calibração, poderiam ser conhecidas como causas do desvio-padrão relativo publicado.

Em 2003 (Ponte-e-Sousa *et al.*, 2003) ao determinar 24.1 ppm por voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial, em felema de cortiça sem tratamento industrial, obtém um valor que se encontra entre os 7 ppm de (Pereira, 1987) e os 49.9 ppm de (Marques *et al.*, 1986), ambos em felema por espectrometria de absorção atómica. Em 2004 foram determinados 0.1542 ppm \pm 62.75 % (número de amostras igual a 20) de chumbo em granulado de felema de cortiça amadia (Ponte-e-Sousa, 2004) por método análogo ao usado em estudo anterior (Soares *et al.*, 1993). O valor anterior é possível de comparar com o de 0.74 ppm \pm 89.33 %, para 8 amostras de cortiça cozida. Esta comparação, contudo, não vai no sentido indicado como mais provável em estudo anterior (Ferreira *et al.*, 1996). Foi a cortiça cozida que revelou maior concentração de chumbo.

Contributos de estudos anteriores – generalidade justificativa da escolha da voltametria

O presente trabalho é beneficiário das anteriores teses realizadas com métodos voltamétricos na Universidade de Évora (Neto Vaz, 1997), (Ginja Teixeira, 2005).

Para além dos estudos citados no capítulo VI (Lukaszewski *et al.*, 1988), (Lukaszewski *et al.*, 1993), (Opydo & Lukaszewski, 1993), (Opydo, 1994), (Queirolo & Valenta, 1987), (Queirolo *et al.*, 1990), (Queirolo *et al.*, 1991) que se refere ao artigo sobre o contributo sócio-ambiental do presente tema, outros podem ser citados no intuito de estabelecer um referencial àcerca dos dois principais fundos presentes aqui: análise voltamétrica e chumbo. Os estudos indicados no capítulo referido são feitos com determinações voltamétricas de metais pesados em madeira de árvores do género *Quercus*.

No que respeita à análise voltamétrica de metais pesados destaca-se de sobremaneira o trabalho de Clínio Locatelli da Universidade de Bolonha, constante na primeira década do presente século. Em 2002 aquele autor faz a determinação simultânea de alumínio e ferro em matrizes com elevado conteúdo salino por voltametria de redissolução (com adsorção) de impulso diferencial e aplica o método a dois tipos de fluídos de diálise: fluído peritoneal e fluído de hemodiálise. As medições voltamétricas foram realizadas usando, como eléctrodo de trabalho, um eléctrodo de mercúrio estacionário, como eléctrodo auxiliar, um eléctrodo de platina e, como eléctrodo de referência, um eléctrodo $\text{Ag/AgCl/KCl}_{(\text{sat.})}$, empregando como electrólito de suporte soluções tampão acetato com diferentes pH. Foram usados agentes complexantes. A exactidão, expressa como percentagem de recuperação situou-se entre 94 e 105%, a precisão, enquanto repetibilidade expressa como desvio padrão relativo, foi menor que 6%, enquanto os limites de detecção estiveram na ordem dos $\mu\text{g/L}$. O procedimento analítico voltamétrico foi validado por comparação com adições feitas usando a espectrometria de absorção atómica electrotérmica (Locatelli, 2002).

Em 2004 o mesmo autor publica um estudo sobre a determinação sequencial de Cu(II) , Pb(II) , Cd(II) , Zn(II) por voltametria de redissolução anódica de onda quadrada, As(III) , Se(IV) por voltametria de redissolução catódica de onda quadrada, e Mn(II) , Fe(III) por voltametria de onda quadrada em matrizes envolvidas em alimentos e cadeias alimentares, como o milho e o trigo. Foi montado um método analítico e foram estudados interferentes bem como a possibilidade de reduzir o limite de detecção usando a área do pico como sinal analítico. O procedimento analítico foi verificado recorrendo a materiais de referência. A precisão, enquanto repetibilidade, e a exactidão, expressas como desvio padrão relativo e erro relativo, respectivamente, foram inferiores a 6%. O método da adição padrão melhorou a resolução na presença de interferentes. O método foi depois aplicado a alimentos comercializados. Foi feita comparação espectrométrica (Locatelli, 2004). Também em 2004 é descrito um procedimento analítico para determinação simultânea de Crómio (VI), Chumbo (II), Estanho (II), Antimónio (III), Cobre (II) e Zinco (II) por voltametria de redissolução anódica de onda quadrada em matrizes envolvidas em alimentos e cadeias alimentares, como trigo e milho. A digestão de cada matriz foi feita com mistura concentrada dos ácidos clorídrico, nítrico e sulfúrico. O electrólito de suporte foi uma

solução tampão de citrato de amónio pH 6,5. As medições voltamétricas foram realizadas usando, como eléctrodo de trabalho, um eléctrodo de mercúrio de gota suspensa, como eléctrodo auxiliar, um eléctrodo de platina e, como eléctrodo de referência, um eléctrodo $\text{Ag/AgCl/KCl}_{(\text{sat.})}$. O procedimento analítico foi verificado recorrendo a materiais de referência, nomeadamente, farinha de trigo NIST-SRM1567a. Para todos os elementos na matriz certificada a precisão, enquanto repetibilidade, expressa como desvio padrão relativo foi de 3 a 5%. A exactidão, expressa como erro relativo, foi de 3 a 6% enquanto os limites de detecção foram inferiores a 0,123 $\mu\text{g/g}$. O método foi depois aplicado a alimentos comercializados. Foi feita comparação espectrométrica (Locatelli & Torsi, 2004). Em 2005 foi feita a determinação de Pt(II), Rh(III) por voltametria de redissolução (com adsorção) de onda quadrada, Pd(II) por voltametria de onda quadrada e Pb(II) por voltametria de redissolução anódica de onda quadrada. A área sob o pico reduz o limite de detecção. Foi usado um electrólito de suporte ácido e um electrólito de suporte básico. O procedimento analítico foi verificado através da análise de materiais de referência. A precisão e a exactidão, expressas como desvio padrão relativo e erro relativo, respectivamente, foram inferiores a 6%. O método foi depois aplicado a água superficial próxima da auto-estrada e a água colhida na foz do rio Pó. Foi feita comparação espectrométrica. Foi encontrado mais chumbo na foz do rio, longe de estradas, do que na proximidade de uma auto-estrada, em água superficial, e nestas mais do que no mesmo rio junto à estrada (Locatelli, 2005a). Também em 2005 Clínio Locatelli reporta a determinação de Cu (II), Sn(II), Sb(III), Tl(I) e Pb(II) por voltametria de redissolução anódica de onda quadrada e Cr(VI) por voltametria de redissolução (com adsorção) de onda quadrada, para a determinação em alimentos e amostras ambientais ainda que na presença de interferentes. O electrólito de suporte foi citrato de amónio pH 6,3 ou 8,2. As medições voltamétricas foram realizadas usando, como eléctrodo de trabalho, um eléctrodo de mercúrio de gota suspensa, como eléctrodo auxiliar, um eléctrodo de platina e, como eléctrodo de referência, um eléctrodo $\text{Ag/AgCl/KCl}_{(\text{sat.})}$. O procedimento analítico foi verificado através da análise de materiais de referência: farinha de trigo NIST-SRM 1567a, farinha de arroz NIST-SRM 1568a, sedimento estuarino BCR-CRM 277, sedimento de rio BCR-CRM 320 com traços moderadamente elevados NIST-SRM 2711. A precisão e a exactidão,

expressas como desvio padrão relativo e erro relativo, respectivamente, foram inferiores a 6%. Os limites de detecção para cada elemento foram inferiores a 0,069 µg/g. O método da adição padrão melhorou a resolução na presença de interferentes, mesmo para rácios de concentração muito elevados. O método foi depois aplicado a alimentos comercializados e amostras de solo agrícola. Foi feita comparação espectrométrica com absorção atómica electrotérmica (Locatelli, 2005b). Ainda em 2005 Locatelli *et al.* informam sobre a determinação voltamétrica sequencial de Pt(II), Pd(II) e Rh(III) por voltametria de redissolução (com adsorção) de onda quadrada e Pb(II) por voltametria de redissolução anódica de onda quadrada em matrizes vegetais ambientais. O procedimento analítico foi verificado através da análise de materiais de referência: folhas de oliveira BCR-CRM 062 e folhas de tomateiro NIST-SRM 1573a. A precisão e a exactidão, expressas como desvio padrão relativo e erro relativo, respectivamente, foram inferiores a 6%. Os limites de detecção para cada elemento foram inferiores a 0,096 µg/g. O método foi depois aplicado a folhas de loureiro junto a auto-estrada e na área da foz do Pó (Locatelli *et al.*, 2005). Em 2006 Clínio Locatelli propõe dois objectivos: um novo método para a determinação simultânea de Pd(II) e Rh(III) por voltametria de redissolução (com adsorção) de onda quadrada usando dimetilgloxima como agente complexante e um novo procedimento analítico para a determinação sequencial de Pt(II), Rh(III), Pd(II) por voltametria de redissolução (com adsorção) de onda quadrada e Pb(II) por voltametria de redissolução de onda quadrada em águas superficiais. A área do pico baixa o limite de detecção, se usada como um sinal analítico. O procedimento analítico foi verificado através da análise de materiais de referência: água do mar BCR-CRM e água doce NIST-SRM 1643d. A precisão e a exactidão, expressas como desvio padrão relativo e erro relativo, respectivamente, foram inferiores a 6%. O método foi depois aplicado a água superficial próxima de auto-estrada e da foz do rio Pó. Foi feita comparação espectrométrica (Locatelli, 2006a). Também em 2006 Locatelli descreve a determinação sequencial de Pd(II), Pt(II), Rh(III) por voltametria de redissolução (com adsorção) de onda quadrada e Pb(II) por voltametria de redissolução de onda quadrada em matrizes ambientais (sedimentos, solos e água superficial) na presença de altas concentrações interferentes. Foram usados vários electrólitos de suporte como, por exemplo, ácido clorídrico 0,1 mol/L. As medições voltamétricas foram

realizadas usando, como eléctrodo de trabalho, um eléctrodo de mercúrio de gota suspensa, como eléctrodo auxiliar, um eléctrodo de platina e, como eléctrodo de referência, um eléctrodo $\text{Ag/AgCl/KCl}_{(\text{sat.})}$. O procedimento analítico foi verificado através da análise de materiais de referência: CCRMP-CANMET-TDB-1 e CCRMP-CANMET-UMT-1 (solos rochosos), água do mar BCR-CRM 403 e água doce NIST-SRM 1643d. No caso da água às soluções foram adicionadas concentrações conhecidas para determinação da percentagem de recuperação. O método da adição padrão melhorou a resolução na presença de interferentes. O método foi depois aplicado a sedimentos, solos e águas superficiais da proximidade da auto-estrada e da foz do rio Pó. Foi feita comparação espectrométrica (Locatelli, 2006b). Em 2007 o mesmo autor mostra a determinação sequencial de Cobre (II), Crómio (VI), Tálho (I), Chumbo (II), Estanho (II), Antimónio (III) e Zinco (II) por voltametria de redissolução anódica usando três matrizes interdependentes envolvidas em alimentos e cadeias alimentares como refeições, cereais e solos. A digestão de cada matriz foi feita com $\text{HCl-HNO}_3\text{-H}_2\text{SO}_4$ para os dois primeiros e HCl-HNO_3 para o solo. O electrólito de suporte usado foi citrato de amónio (0,1 mol/L, pH 6,2 ou 8,3). As medições voltamétricas foram realizadas usando, como eléctrodo de trabalho, um eléctrodo de mercúrio de gota suspensa, como eléctrodo auxiliar, um eléctrodo de platina e, como eléctrodo de referência, um eléctrodo $\text{Ag/AgCl/KCl}_{(\text{sat.})}$. O procedimento analítico foi verificado através da análise de materiais de referência: farinha de trigo NIST-SRM 1567a, folhas de tomateiro NIST-SRM 1573a. A precisão expressa como desvio padrão relativo foi de 3 a 5%, e a exactidão, expressa como erro relativo, foi de 3 a 7%. Os limites de detecção para cada elemento foram de 0,011 a 0,103 $\mu\text{g/g}$. O método foi depois aplicado a amostras de alimentos, de cereais e de solos colhidas em locais agrícolas. Foi feita comparação espectrométrica (Locatelli, 2007).

Contributos de estudos anteriores – generalidade justificativa da escolha do chumbo como analito com elevada relevância ambiental

Do chumbo, enquanto poluente, sabe-se muito. Contudo, destacam-se os trabalhos de (Brännvall *et al.*, 2001a), (Brännvall *et al.*, 2001b), (Renberg *et al.*, 2001) e (Bindler *et al.*, 1999) por pretenderem fazer uma correlação entre concentrações de chumbo em várias matrizes e chumbo ambiental. São estudos sobre a concentração natural de chumbo em solos florestais boreais antigos (Bindler *et al.*, 1999), sobre a distribuição vertical de chumbo proveniente de poluição atmosférica em solos florestais boreais suecos (Brännvall *et al.*, 2001a), sobre o papel da poluição versus fontes naturais geológicas no enriquecimento do chumbo em sedimentos lacustres recentes e solos florestais superficiais (Brännvall *et al.*, 2001b) e sobre o uso do registo da deposição de chumbo proveniente da atmosfera como marcador cronológico em depósitos de sedimentos na Europa (Renberg *et al.*, 2001). É neste último (Renberg *et al.*, 2001) que se encontra uma referência ao chumbo como indicador de poluição que tem ligação directa a um dos vectores a que a presente tese se dirige: a possibilidade de, no futuro, poder ser feita uma análise camada-a-camada em felema de cortiça amadia usando uma lógica semelhante à dendrocronológica.

Contributos do presente estudo – especialidade

É especial contributo do presente estudo, enquanto proponente da aplicação da electroquímica à determinação de metais pesados em cortiça, particularmente do chumbo, a caracterização da análise Química em termos derivados da relação entre a concentração do analito e a intensidade do sinal analítico por ela gerado. A estimativa da concentração do analito na matriz, seja ela qual fôr, pode ser feita por interpolação numa curva de calibração, se fôr possível a produção de padrões que possuam características físico-químicas capazes de simular a matriz em cujo seio se encontra o analito, ou por extrapolação, após ajuste de uma função adequada ao conjunto dos pares ordenados criados pela relação entre a concentração do analito e o sinal

analítico – tal acontece no método da adição padrão, ideal caso a produção de padrões com características semelhantes à matriz seja considerada improvável. Portanto, com a ferramenta matemática mais frequentemente usada (o método dos mínimos quadrados) a interpolação, ou a extrapolação, são, de maneira conhecida, capazes de dar todos os parâmetros analíticos para cada medição efectuada. Isto é, a determinação do desvio padrão amostral, após ter sido estimada a concentração do analito, é dada por equações do método dos mínimos quadrados. Sendo certo que quantas mais amostras forem medidas, retiradas todas elas duma porção homogeneizada da matriz, mais rigorosa é a estimativa da concentração em que o analito se encontra nessa matriz, também é certo que não é só o conhecimento da média das várias repetições, e seu desvio-padrão, que informa da precisão da determinação. Há um passo prévio, muitas vezes omitido nos estudos, e também naqueles que precederam o presente no que respeita à matriz felema de cortiça – a determinação da precisão uni-amostral, isto é, da estimativa da concentração do analito numa só amostra. A este respeito (Miller & Miller, 1988) e (Ehrlich & Gerbatsch, 1965) são citados.

Portanto, se, por um lado, o tratamento dos pares ordenados (concentração do analito, sinal analítico) constitui uma originalidade no que respeita ao número de trabalhos publicados contendo estimativas da concentração de chumbo em felema de cortiça sem tratamento industrial 49.9 ppm (Marques *et al.*, 1986) e 7 ppm (Pereira, 1987), por outro lado é agora dada uma outra contribuição por haver na aplicação electroquímica publicada a informação da sensibilidade do método, omissa naquele que, até à data daquela publicação, era o único trabalho de análise Química sobre cortiça e metais pesados (Soares *et al.*, 1993). O principal factor do novo método para a melhoria da produção de dados em análises fitoquímicas é a não necessidade de usar a equação para a estimativa do desvio-padrão da estimativa da concentração do analito, equação essa que envolve uma simplificação de interpretação nem sempre acessível ao operador Químico e que, agora, através do método proposto, exaustivo mas exclusivamente aritmético (ver anexo I), pode ser alternativamente entendida, quanto à sua justificação teórica, e também aplicada. Acresce tratar-se de um método que produz uma significativa melhoria dos resultados analíticos, nomeadamente através da redução do desvio-padrão e do limite de detecção, com uma diferença

mínima (0.01 ppm, no caso aplicado) na média final da concentração do analito, passando, também, a ser possível calcular a incerteza uni-amostral, e respectivo coeficiente de variação, bem como ter um coeficiente de correlação (R^2) médio e desvio-padrão associado.

Contributos do presente estudo – generalidade

Permitir estabelecer um referencial fundado em todas as fontes bibliográficas disponíveis, desde o século XVIII, capazes de informar sobre o conhecimento existente acerca do teor metálico da cortiça, até à actualidade, e oferecer esses resultados em termos de médias, desvios-padrão e número de referências por descritor, é o primeiro contributo dado pelo presente estudo no sentido de dar uma vista geral do problema – o teor metálico da cortiça. Sem esta vista geral do problema seria impossível ter um critério que permitisse escolher um, ou vários, metais pesados para desenvolvimento e validação de um método electroquímico de análise capaz de medir a sua concentração no felema de cortiça amadia. É no felema da cortiça amadia que existe a mais-valia material que permite a sua exploração economicamente viável e é, portanto, aí, que convém concentrar o máximo da atenção para que, assim, seja possível definir rigorosamente todos os conhecimentos que, no seu conjunto, alojam a possibilidade de fazer um uso adequado das suas características.

Foi o facto de o chumbo ser, de todos os metais pesados conhecidos na cortiça, aquele cuja vocação toxicológica é mais esperada, muito particularmente porque se trata de um metal com distribuição mundial máxima dado o uso que tem tido, nas mais variadas actividades, especialmente desde a revolução industrial, que fez dele o protagonista do presente trabalho, ainda que reduzido à condição de analito, portanto, apenas alvo de curiosidade quanto à sua concentração determinável.

A escolha da voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial de entre as técnicas electroanalíticas disponíveis, resultou de estudo (Ponte-e-Sousa, 2004) onde esta se revelou capaz de produzir uma muito maior estabilidade e repetibilidade do sinal analítico, para além de intensificá-lo e resolvê-lo bastante

melhor do que a seguidamente referida, não obstante ter também sido dado como certo que a velocidade de análise da voltametria de redissolução anódica de onda quadrada é muito maior.

A utilização do eléctrodo de mercúrio de gota suspensa justifica-se pela capacidade de renovar a superfície do eléctrodo após cada electrólise, o que se entendeu como indispensável à manutenção de uma elevada probabilidade de sucesso na aplicação do método electroquímico interfacial dinâmico, com pré-concentração prévia, escolhido.

O uso do método da adição padrão foi imposto pela especificidade da matriz. A realização de padrões seria de todo muito complicada e desaconselhada. A procura da utilização de um digesto que não mascarasse as características originais da cortiça, nomeadamente através do uso de diluições que aproximassem a solução a analisar de água, fez com que a garantia de uma matriz complexa na sua composição fosse um dado a considerar como interessante. A obtenção de sinais analíticos comprovadamente repetíveis, como é observável pela simetria e coerência a que o potencial de redissolução se manteve por maior que fosse a adição de padrão, dentro do intervalo considerado, indicou que a correlação entre a presença de chumbo e a produção de sinal foi comprovada. Aqui reside a importância integral do método.

Referências bibliográficas

Bindler, R., Brännvall, M. L., Renberg, I. (1999) *Natural Lead Concentrations in Pristine Boreal Forest Soils and Past Pollution Trends: A reference for critical load models*, Environmental, Science & Technology, American Chemical Society, 33: 3362-3367.

Brännvall, M. L., Bindler, R., Emteryd, O., Renberg, I. (2001a) *Vertical distribution of atmospheric pollution lead in Swedish boreal forest soils*, Water, Air and Soil Pollution, Kluwer Academic Publishers, 1: 357-370.

Brännvall, M. L., Kurkkio, H., Bindler, R., Emteryd, O., Renberg, I. (2001b) *The role of pollution versus natural geological sources for lead enrichment in recent lake sediments and surface forest soils*, Environmental Geology, Springer-Verlag, 40: 1057-1065.

Ehrlich, G., & Gerbatsch, R. (1965) *Untersuchungen zur Anwendung des Eichzusatzverfahrens*, Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, Springer Berlin / Heidelberg.

Ferreira MA, Soares ME, Bastos ML, Leal Ferreira JM (1996) *Evaluation of Iron, Copper, Aluminium, Lead and Cadmium content of cork from Portugal, Spain and Morocco by Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry*. CTCOR Mag 1, 55.

Ginja Teixeira, J. (2005). *Influência dos catiões de amónio e de fosfónio tetra-N-butílicos no comportamento electroquímico do par Tl(I)/Tl(Hg) em meio aquoso*, Tese de Doutoramento em Química, Universidade de Évora.

Locatelli, C. (2007) *Voltammetric methods for the simultaneous determination of trace metals in foods plant tissues and soils*. Journal of the Science of Food and Agriculture 87, 305-312.

Locatelli, C. (2006a) *Simultaneous square wave stripping voltammetric determination of platinum group metals and lead at trace and ultratrace concentration level – application to surface water*. Analytica Chimica Acta 557, 70-77.

Locatelli, C. (2006b) *Possible interference in the sequential voltammetric determination at trace and ultratrace concentration level of platinum group metals and lead. Application to environmental matrices*. Electrochimica Acta 52, 614-622.

Locatelli, C. (2005a) *Platinum, Rhodium, Palladium and Lead: elements linked to vehicle emissions. Their simultaneous voltammetric determination in superficial water*. Electroanalysis 17, 2.

Locatelli, C. (2005b) *Overlapping voltammetric peaks – an analytical procedure for simultaneous determination of trace metals. Application to food and environmental matrices.* Analytical and Bioanalytical Chemistry 381, 1073-1081.

Locatelli, C. (2004) *Heavy metals in matrices of food interest: sequential voltammetric determination at trace and ultratrace level of Copper, Lead, Cadmium, Zinc, Arsenic, Selenium, Manganese and Iron in meals.* Electroanalysis 16, 18.

Locatelli, C. (2002) *Simultaneous determination of Aluminum and Iron in high salt content matrices by adsorptive stripping voltammetry. Application to dialysis fluids.* Electroanalysis 15, 17.

Locatelli, C., Melucci, D., Torsi, G. (2005) *Determination of platinum-group metals and lead in vegetable environmental bio-monitors by voltammetric and spectroscopic techniques: critical comparison.* Analytical and Bioanalytical Chemistry 382, 1567-1573.

Locatelli, C. & Torsi, G. (2004) *Simultaneous square wave anodic stripping voltammetric determination of Cr, Pb, Sn, Sb, Cu, Zn in presence of reciprocal interference: application to meal matrices.* Microchemical Journal 78, 175-180.

Lukaszewski, Z., Siwecki, R., Opydo, J. & Zembrzuski, W. (1988). *The effect of industrial pollution on zinc, cadmium and copper concentration in the xylem rings Scot's pine (Pinus sylvestris L.) and in the soil,* Trees Structure and Function 2: 1-6.

Lukaszewski, Z., Siwecki, R., Opydo, J. & Zembrzuski, W. (1993). *The effect of industrial pollution on copper, lead, zinc and cadmium concentration in xylem rings of resistant (Populus marilandica) and sensitive (P. balsamifera) species of poplar,* Trees Structure and Function 7: 169-174.

Marques V, Mata F, Pereira H (1986) *Mineral chemical composition of cork debris from granulation industry*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais—Cortiça 574, 233.

Miller J, & Miller J. (1988) *Statistics for Analytical Chemistry*. Ellis Horwood: Chichester.

Neto Vaz, A. (1997). *Influência de sais de tetra-alquilamónio na polarografia de cationes metálicos*, Tese de Doutoramento em Química, Universidade de Évora.

Opydo, J. & Lukaszewski, Z. (1993). *Determination of Cd, Pb, Cu and Zn in wood by differential pulse anodic stripping voltammetry*. Chem. Anal. (Warsaw), **38**: 823-827.

Opydo, J., (1994). *Estimation of oak stand pollution heavy metal on the Krotoszyn Plateau*, Acta societatis botanicorum poloniae, **1**: 83-86.

Pereira H. (1987) *Chemical composition of Cork-Oak bark outer layer from amadia production cork pieces*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais—Cortiça 587, 231.

Ponte-e-Sousa J. (2004) *Determinação do chumbo presente na cortiça de Quercus suber (Sobreiro) por voltametria de redissolução anódica*, Universidade de Évora, Évora.

Ponte-e-Sousa J.C.A.C., Teixeira J.M.G., Vaz A.M.N. (2003) *The importance of cork (bark) of Quercus suber in the environmental monitoring of heavy metals*, EJEAFChe 2, 2. [314-319], ISSN 1579-4377, http://ejeafche.uvigo.es/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=180&Itemid=33.

Queirolo, F. & Valenta, P. (1987). *Trace determination of Cd, Cu, Pb and Zn in annual growth rings by differential pulse anodic stripping voltammetry*, Fresenius Z Anal Chem., **328**:93-98.

Queirolo, F., Valenta, P., Stengen, S. & Breckle, S. (1990). *Heavy metal concentrations in oak wood growth rings from the Taunus (Federal Republic of Germany) and the Valdivia (Chile) regions*. *Trees Structure and Function* **4**:81-87.

Queirolo, F., Valenta, P., Stengen, S. & Sanchez, A.M. (1991). *Study of the radial and axial distribution of heavy metals in oak growth rings by stripping voltammetry*. *Electroanalysis*, **3**: 325- 329.

Renberg, I., Bindler, R., Brännvall, M. L. (2001) *Using the historical atmospheric lead-deposition record as a chronological marker in sediment deposits in Europe, The Holocene*, *Arnold*, 11,5: 511-516.

Soares ME, Bastos ML, Ferreira MA (1993) *Determination of copper, iron, aluminium, lead, and cadmium in cork stoppers by electrothermal atomic absorption spectrometry*. *J Anal At Spectrom* 8:656.

Sousa, J.C.A.C. Ponte e, Teixeira, J.M. Ginja e Vaz, A.M. Neto (2003). *Electroanalysis of Heavy Metals in the Cork of Quercus Suber Tree. Preliminary Study: Electroanalyticity of Pb(II)*. *Port. Electrochim. Acta*, vol.21, no.1, p.79-84. ISSN 0872-1904. <http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0872-19042003000100006&lng=pt&nrm=iso>.

CAPÍTULO II-CORK AND METALS: A REVIEW

Cork and metals: a review

João Carlos A. de C. C. da Ponte-e-Sousa •

António Manuel Neto-Vaz

Department of Chemistry, University of Évora, Rua Romão Ramalho no. 59, 7000

Évora, Portugal

e-mail: jcps@uevora.pt

Received: 4 March 2009

_ Springer-Verlag 2009

Wood Science and Technology

DOI 10.1007/s00226-009-0288-8

Published online: 14 November 2009

Abstract

All published results available regarding ash content and 21 chemical elements were chronologically compiled. The evolution of analytical methodologies, the rising interest in the knowledge of certain elements at a certain time, and the relation between concentrations and time, are among the gathered information within a period of 221 years, starting with the first published study from the year 1787. Rather than establish a correlation between the inorganic content of cork and its quality, the aim of this data collection is to remove all doubts regarding what is already known on the inorganic content of cork.

Introduction

Cork is the bark of *Quercus suber* tree. This bark, namely its phellem, has an amazing number of possible uses, particularly for the production of cork stoppers. Cork phellem is no more than the tissue between the outer bark layers. The quality of cork extracted from a tree used for the second time is superior to cork extracted from a once-used tree and to a never-used tree. Therefore, the authors are certain that a 40 to 50-year-old cork-producing tree produces “amadia” cork with a phellem whose annual layers are extremely well defined, allowing correlation of chemical marks in a layer with the life experience of that tree. Together with this informative, almost “journalistic” ability, cork phellem allows for a universe of industrial and commercial relations to grow day after day. Cork oak alone produces phellem for an exorbitant number of natural cork stoppers, thus being able to add value to something that, in its natural form, is no more than the cork-oak outfit, easily extracted with an axe in the summer every 9 years in accordance with Portuguese law.

Cork industry has only one big name: Amorim. This Portuguese man owns an imperial dominance in the cork world market. When visiting his cork factories a world of luxury and wealth based on the bark of *Quercus suber* tree can be seen. In fact he is one of the richest men in the world. One of his quality controls is the metal detector.

Macroscopic metals in cork have a number of origins, because any piece of nail can easily enter cork and because cork-oak stands are frequently located in hunting areas, where they are susceptible to rifle shots, namely with lead as projectile. Albino de Carvalho, on page 142 of an AIEC publication from 1993 entitled “Qualificação de amadias preparadas” (Qualification of prepared “amadias”), written within a PEDIP Project, very clearly stated that one of the defects of cork is the presence of lead—(leaded cork) (Carvalho 1993), because a single lead grain in a piece of cork is enough to damage it for commercial purposes, increasing the deterioration speed of the blades used in the cork granulation industry.

The metallic, or inorganic, content of cork is, therefore, an issue in itself, even though very little is known. General literature on bark and wood chemistry does exist (Fengel and Wegener 1989).

Nevertheless, after more than 200 years of inorganic study on cork, several data have been obtained, (strictly speaking 243 data (Ponte-e-Sousa 2004)). Many of them originate from scientific artefacts, in the sense that they are anthropogenic. Others are solely related to the fluctuation of metallic elements' natural concentration and are not related to human action.

Also the analytical methodology and its advances for cork analysis can be seen from a scientific point of view throughout these two centuries.

Indeed, an amazing amount of information has independently been produced throughout 221 years, which the authors want to gather and compile for present researchers of the inorganic part of cork.

Rather than establish a correlation between the inorganic content of cork and its quality, the aim of this data collection is to end with all doubts regarding what is already known on the inorganic content of cork.

Cork ashes

Ashes are the number one indicator of the non-organic content of a material, and this also applies to cork. A list of known information on this indicator follows.

Qualitative analysis of cork ash content

Total cork

Cork non-organic analytical studies date as far back as Brugnatelli's statement that cork produces few ashes (Gonçalves 1954a). This old Brugnatelli publication can be found in Brugnatelli, D., *Elementi de chimica*, Tomo II, 1787 (Fortes *et al.* 2004).

It took 97 years until a new qualitative determination of ashes was made by Kügler in 1884 (Pes and Lissia 1976) stating that cork produces ashes—this being a rather short scientific observation.

In the course of time and with the development of chemical analysis, a point was reached where more precise and deeper studies were carried out. After 49 years, in 1949, Guillemonat said that cork ashes contain an unsaponifiable part that has some mineral constituents identified in cork ashes. He was confirmed by Ribas in 1952 and Jensen in 1954, who stated exactly the same thing (Crabbé 1956).

Also in 1954, Gonçalves determined cork ashes after calcination in an electric muffle furnace at a temperature between 550 and 600°C until constant weight was reached (Gonçalves 1954c).

But it was not until 1957 that the first important qualitative statement on the nonorganic content of cork could be found, namely when Dugelay stated that cork ash analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, etc. to observe a maximum of calcium and potassium and manganese, iron, magnesium, aluminium, sodium, barium, strontium, copper, lithium, chromium and titanium (Dugelay 1957) content.

Those are the known qualitative references regarding the non-organic content of total cork, meaning cork from which the outer sides of the bark were not removed.

Some cork fractions

In 1957, Segura wrote that the dust within the cork micro channels, known as lenticels, produced more ashes than the suberous mass (Gil 1998) that is the phellem, which is the bark without outer faces. Carvalho in 1968 and Gil in 1986 stated that there is a great amount of ashes from industrial residues (Gil 1998); and Caldas, Ferreira and Borges, in 1985, and Gil in 1986 asserted that cork industrial dust produces ashes (Gil 1998).

These are the known qualitative references regarding the non-organic content of some cork fractions.

Quantitative analysis of cork ash content

Quantitative analysis of the bark of *Quercus suber* tree as a whole or some of its fractions for cork ash content was done. In the following paragraphs, known results

are shown for several cork classes found in texts ranging from total cork (Table 1) to many of its fractions of interest (Table 2).

Total cork ashes were studied from 1884 to 1987 and the amount varied from 0.2 to 6.9%. The first reference to quantification of ashes in total cork was made by Kügler in 1884, who says 0.5% (Gonçalves 1954b, 1954d; Crabbé 1956; Lanuza 1965). Also, Gil (1998) reports that Crabbé in 1956, Dugelay in 1957, Duhamel in 1963, Gonçalves in 1954a, Graça in 1990b, Guillemonat in 1942, Lanuza in 1964, Pes and Lissia in 1976 and Ribas-Marques in 1942, 1951 and 1952 referenced to the same 0.5% given by Kügler in 1884. Giustiniani in 1900 measured 0.64% (Gonçalves 1954d), Zemplén in 1913 found 4.12% (Gonçalves 1954b, 1954d), Barceló in 1939 assessed 2.5% (Crabbé 1956), Contreira in 1943 observed 0.72% (Gonçalves 1954d) and Cooke in 1949 reported 0.2% (Gonçalves 1954d).

Table 1 Summary of total cork elemental concentration data from 1965 to 2003

Weight (%)	Calcium	Potassium	Manganese	Iron	Aluminium	Magnesium	Sodium	Copper	Chromium	Lead	Cadmium	Phosphorus	Zinc
1965			0.0505	0.00735		0.012	0.055						
1985	0.5012	0.0448	0.0032	0.0142		0.025	0.0102	0.0008			0.00013		0.0037
1986	0.649	0.21	0.005715	0.0099		0.022	0.0233	0.001215		0.0046		0.02825	0.001215
1987	0.351	0.351	0.00361	0.011		0.017	0.012	0.0045	0.00034	0.0007		0.0075	0.00275
1988	0.45 and 0.3315	0.045 and 0.1215	0.031	0.015		0.025	0.01	0.001					0.003
1993				0.0513	0.034			0.00064		0.0000054	0.0000054		
1996				0.016	0.01895			0.00078		0.000074	0.00000323		
1998				0.0365	0.0285	0.0155	0.016	0.016				0.03	0.003
2003										0.00241			

Table 2 Summary of cork fraction ash concentration data, numerical values are average or maxima published from 1984 to 1993

Cork fraction	“Entrecasco”	“Raspa”	Boiled “amadia costa”	Amadia	Raw “amadia” garbage	Black agglomerate	Raw granulate	Boiled granulate	Virgin cork	Falca virgin cork	Virgin cork from dried cork oaks
Ash concentration (weight %)	5	9.8	2.2	3	1.6	1.8	1.97	2	1.5	1.1	1.2

Gonçalves in 1954 stated that the cork ash content is 1.08%, as given by 17 representative samples of several exploration regimens and several continental ecological conditions in Portugal for cork dried at 100–105°C, indicating also the probable catalytic function of some mineral elements in the suberification phenomenon (Gonçalves 1954d). Silva Carvalho in 1968 determined a cork ash content of 6.9% (Silva Carvalho 1968). Marques in 1986 determined the ash content using Atomic Absorption Spectrometry for phellem, with a dried weight of 0.545% as an average of two samples (Marques *et al.* 1986).

Gil in 1986 stated that ashes from several types of powder from industry had ash content ranging from 0.85 to 5.97% with standard deviations between 0.23 and 1.22%, respectively (Gil *et al.* 1986). Pereira (1987) determined 1.3% ashes in cork. For “entrecasco” (vegetal tissue between bark and wood) Marques *et al.* (1986) determined 5% average dried weight ash concentration in “entrecasco” by means of Atomic Absorption Spectrometry. Pereira (1987) as well as Prates in 1993 (Gil 1998) determined an average of 9.8% ash in “raspa” (bark outer layer). Ferreira in 1986 and Prates in 1993 determined 2.2% dried weight for boiled “amadia (third or older extraction cork) costa (also bark outer layer)” (Gil 1998). Pereira in 1984a, 1988 and 1993b, Rosa in 1989, Graça in 1990b, and ICTM in 1990 found that the ash content of “amadia” varied from 0.6 to 3% (Gil 1998). Marques in 1986 determined dry weight ash content between 1.220 and 3.700% in “amadia” by means of Atomic Absorption Spectrometry (Marques *et al.* 1986). Ferreira in 1986 and Prates in 1993 maintained that the raw “amadia” garbage dried weight ash content was 1.6% (Gil 1998). Ferreira in 1986 and Prates in 1993 discovered that the black agglomerate (expanded cork granules, by force of water steam) dried weight ash content was 1.8% (Gil 1998). In 1985, Caldas determined an average dried weight raw granulate ash content of 1.97% by means of Atomic Absorption Spectrometry (Caldas *et al.* 1985). Also in 1985, Caldas determined an average dried weight boiled granulate ash content of 2.00% by means of Atomic Absorption Spectrometry (Caldas *et al.* 1985). Pereira in 1984a, 1988 and 1993b, Rosa in 1989, Graça in 1990b, and ICTM in 1990 published their findings that the ash content of virgin cork (first extraction cork) varied from 0.7 to 1.5% (Gil 1998). Ferreira in 1986 and Prates in 1993 announced that the dried weight ash content of “Falca” virgin cork (virgin cork from the upper branches, usually extracted

after their cut) was 1.1% (Gil 1998). Ferreira in 1986 and Prates in 1993 stated that the dried weight ash content of virgin cork from dried cork oaks was 1.2% (Gil 1998).

Quantitative analysis of cork ash, water, indoses and other substances' content

Besides already presented matters, Guillemonat in 1957 stated that water, ashes and indoses represent 10% of cork mass (Dugelay 1957) and that water, ashes and other substances represent the same 10% of cork mass (Pes and Lissia 1976).

Cork mineral substances

The publication of scientific matter regarding cork mineral substances marked a passage from the announcement of ashes “tout cour” to the study of chemical elements that follows. Either qualitative or quantitatively, cork mineral substances were described in a rather exquisite way (certainly because of the age of some of these studies) and were published by Brugnatelli, D., *Elementi de chimica*, Tomo II, 1787 (Fortes *et al.* 2004).

Qualitative analysis of cork mineral substances content

Some studies reflected qualitative listing regarding the cork mineral substance content. Giustiniani in 1900 (who was the first to identify some mineral substances in virgin and “amadia” cork, according to Gonçalves (1954a, 1954b)) reported about the existence of mineral substances in cork (Pes and Lissia 1976).

Barceló in 1939 identified some metals spectroscopically (Pes and Lissia 1976), and Guillemonat in 1960 proposed the inorganic content yet more cited (Gil 1998). Caldas in 1985 stated that the mineral composition of cork is constant among corks qualities (Gil 1998).

Regarding the mineral composition of cork “raspa”, Mastbaum in 1905 (Gil 1998) (referred as being a Portuguese man), and regarding the identification of mineral elements in defective cork by Rodrigues in 1987 (Gil 1998) it was also possible to come across more references.

This short listing shows the value these authors attribute to this matter. The quantitative analysis, that follows, was substantially shared.

Quantitative analysis of cork mineral substance content

Quantitative analysis of the mineral substance content of cork was made by great adepts: Brugnatelli in 1787 (Dugelay 1957) being always the first, Chevreuil in 1817 (Dugelay 1957), Bouillon-Lagrange, Bussy, Boussingault, in the midnineteenth century, Kügler in 1884 (Dugelay 1957), Tasseli published by Giustiniani in 1900 (Gonçalves 1954b), Klauber in 1920 (Dugelay 1957) and Graça in 1990 (Gil 1998). In 1787, Brugnatelli observed 8% of tanines, colouring matters and mineral salts (Dugelay 1957). In 1817, Chevreuil pointed to 8% of tanines, colouring matters and mineral salts (Dugelay 1957). In the mid nineteenth century, Bouillon-Lagrange, Bussy, and Boussingault reported on 8% of tanines, colouring matters and mineral salts (Dugelay 1957). In 1884 Kügler announced 1% of vanillin, fenolic acid, tannic acid, diacrilic, etc. (Dugelay 1957). 1900 was the year when Giustiniani published the work of Tasseli on cork dried at 105 °C, in virgin, with 0.643% of mineral matters, 0.124% of silicilic acid, 0.085% of fosforic acid, 0.095% of potassium oxide, 0.080% of calcium oxide, and 0.127% of iron and aluminium oxide. Giustiniani also published the work of Tasseli on cork dried at 105 °C, in “amadia”, 1.375% of mineral matters, 1.375% of silicilic acid, 0.096% of fosforic acid, 0.220% of potassium oxide, 0.414% of calcium oxide, and 0.098% of iron and aluminium oxide (Gonçalves 1954c). In 1920, Klauber measured 1% mineral substance in vanillin, fenolic acid, tannic acid, diacrilic, etc. (Dugelay 1957). In 1990, Graça showed 2% inorganic and azo materials (Gil 1998).

Cork elemental analysis

Exactly 21 elements were found between 1815 and 2003. Within these 188 years scientific reports have shown, both qualitatively as well as quantitatively, that cork has the following constitution (Table 1): calcium, potassium, manganese, iron, aluminium, magnesium, sodium, barium, strontium, copper, lithium, chromium, titanium, lead, cadmium, phosphorus, zinc, sulphur, silicon, boron and bismuth.

Calcium

The most concentrated of all inorganic constituents of cork (Fortes *et al.* 2004) is calcium which is also the one most referred to. In 1815, Chevreul obtained combinations of calcium, iron and magnesium (Gonçalves 1954a). In 1939, Barceló was invited by Ribas to spectroscopically analyse cork metals, and in three samples he detected 13 elements, including calcium (Gonçalves 1954b). In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, one among which is calcium (Crabbé 1956). In 1957, Dugelay stated that cork ashes analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, etc., to list 13 metals, including calcium (Dugelay 1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals, one among which is calcium (Lanuza 1965).

The first straightforward measurement of calcium was given in 1985 by Caldas, who determined calcium by means of Atomic Absorption Spectrometry, in dried weight percentage, as an average of 0.5012% for first-, third- and fifth-class cork (Caldas *et al.* 1985).

In 1986, Mata applied Atomic Absorption Spectrometry to minerals in cork and transformation debris and tested the influence of granulometry, confirming that there is more calcium in the “entrecasco” than in the phellem, and that there is more calcium in “amadia” than in black agglomerate (Gil 1998). The values are 0.625% in “amadia” and 0.394% in black agglomerate (Mata *et al.* 1986).

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Marques in 1986 determined the following averages for calcium: 0.672% in “amadia”, 0.824% in “entrecasco”, 0.375% in phellem, 0.784% in industrial debris, 0.669% in “raspa”, 0.417% in dust and 0.384% in granulates (0.5–7 mm) (Marques *et al.* 1986). Therefore, on average, 0.649% of calcium was measured in “amadia” in 1986.

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Martins Rodrigues in 1987 determined, amounts of calcium, in dry weight percentage of 0.221% in “amadia” and 0.159% in “secundeira” (second extraction cork, 9 years after the first one) (Martins Rodrigues 1987). By means of Atomic Absorption Spectrometry, Pereira in 1987

determined amounts of calcium, in dry weight percentage, of 5.700% in “raspa” and 0.480% in cork (Pereira 1987). Therefore, in 1987, on average, 0.351% of calcium was determined in cork.

In 1988, the University of “Trás-os-Montes e Alto Douro” published a book where calcium concentration in cork is given as 0.45% (Borges *et al.* 1988).

Gil stated that calcium concentration in cork is known to be between 0.038 and 0.625% (Gil 1998). Therefore, the mean value is 0.3315%.

Potassium

In 1939, Barceló was invited by Ribas to spectroscopically analyse cork metals, and in three samples he detected 13 elements, including potassium (Gonçalves 1954b). In 1957, Dugelay stated that cork ash analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, etc., to list 13 metals, including potassium (Dugelay 1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals, one among which is potassium (Lanuza 1965).

The first straightforward measurement of potassium was given in 1985 by Caldas who determined calcium, by means of Atomic Absorption Spectrometry, in dried weight percentage, as an average of 0.0448% for first-, third- and fifth-class cork (Caldas *et al.* 1985).

In 1986, Mata applied Atomic Absorption Spectrometry to minerals in cork and transformation debris and tested the influence of granulometry, verifying that there is more potassium in “amadia” than in black agglomerate (Gil 1998). The values are 0.231% in “amadia” and 0.151% in black agglomerate (Mata *et al.* 1986).

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Marques in 1986 determined averages for potassium of 0.188% in “amadia”, 0.107% in “entrecasco”, 0.197% in phellem, 0.264% in industrial debris, 0.294% in “raspa”, 0.409% in dust and 0.208% in granulates (0.5–7 mm) (Marques *et al.* 1986). Therefore, on average 0.210% of potassium was measured in “amadia” in 1986.

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Martins Rodrigues in 1987 determined 0.029% of potassium in dry weight percentage in “amadia” and 0.0957% in “secundeira” (second extraction cork, this is 9 years after the first one) (Martins

Rodrigues 1987). By means of Atomic Absorption Spectrometry, Pereira in 1987 determined 0.220% potassium, in dry weight percentage, in “raspa” and 0.068% in cork (Pereira 1987). Therefore, in 1987, on average 0.351% of potassium was determined in cork.

In 1988, the University of “Trás-os-Montes e Alto Douro” published a book where potassium concentration in cork is given as 0.045% (Borges *et al.* 1988). Gil stated that potassium concentration in cork is known to be between 0.013 and 0.230% (Gil 1998). The mean value is, therefore, 0.1215%.

Manganese

In 1939, Barceló was invited by Ribas to spectroscopically analyse cork metals, and in three samples he detected 13 elements, including manganese (Gonçalves 1954b). In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, one among which is manganese (Crabbé 1956). In 1957, Dugelay stated that cork ash analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, etc., to list 13 metals, including manganese (Dugelay 1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals detecting 13 metals, one among which is manganese: 0.001– 0.01% (Lanuza 1965), 0.0505% being the mean value.

The second straightforward measurement of manganese was given in 1985 by Caldas, who determined manganese by Atomic Absorption Spectrometry, in dried weight percentage, as an average of 0.0032% for first-, third- and fifth-class cork (Caldas *et al.* 1985).

In 1986, Mata applied Atomic Absorption Spectrometry to minerals in cork and transformation debris and tested the influence of granulometry, verifying that there is more manganese in “amadia” than in black agglomerate (Gil 1998). The values are 0.00703% in “amadia” and 0.00574% in black agglomerate (Mata *et al.* 1986).

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Marques in 1986 determined averages for manganese: 0.0044% in “amadia”, 0.00526% in “entrecasco”, 0.00355% in phellem, 0.0011% in industrial debris, 0.00999% in “raspa”, 0.00719% in dust and

0.00349% in granulates (0.5–7 mm) (Marques *et al.* 1986). Therefore, on average, 0.005715% of manganese was measured in “amadia” in 1986 .

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Martins Rodrigues in 1987 determined for manganese, in dry weight percentage, amounts of 0.00112% in “amadia” and 0.00043% in “secundeira” (second extraction cork, this is 9 years after the first one) (Martins Rodrigues 1987). By means of Atomic Absorption Spectrometry, Pereira in 1987 determined for manganese, in dry weight percentage, amounts of 0.031% in “raspa” and 0.0061% in cork (Pereira 1987). Therefore, in 1987, on average, 0.00361% manganese was determined in cork.

In 1988, the University of “Trás-os-Montes e Alto Douro” published a book where manganese concentration in cork is given as 0.031% (Borges *et al.* 1988).

Iron

Chevreul in 1815 obtained combinations of calcium, iron and magnesium (Gonçalves 1954a). In 1939, Barceló was invited by Ribas to analyse corks metals by spectroscopy, and in three samples he detected 13 elements, including iron (Gonçalves 1954b). In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, one among which is iron (Crabbé 1956). In 1957, Dugelay stated that cork ashes analysis allowed Kügler, Barceló , Ferreira, etc., to list 13 metals, including iron (Dugelay 1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals, one among which is iron: 0.0025–0.0122% (Lanuza 1965), 0.00735% being the mean value.

The second straightforward measurement of iron was given in 1985 by Caldas, who determined iron by Atomic Absorption Spectrometry, in dried weight percentage, as an average of 0.0142% for first-, third- and fifth-class cork (Caldas *et al.* 1985).

In 1986, Mata applied Atomic Absorption Spectrometry to minerals in cork and transformation debris and tested the influence of granulometry, verifying that there is more iron in the “entrecasco” than in the phellem, and that there is less iron in “amadia” than in black agglomerate (Gil 1998). The values are 0.0087% in “amadia” and 0.0304% in black agglomerate (Mata *et al.* 1986).

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Marques in 1986 determined the following averages for iron: 0.011% in “amadia”, 0.024% in “entrecasco”, 0.0063% in phellem, 0.015% in industrial debris, 0.0462% in “raspa”, 0.0543% in dust and 0.0117% in granulates (0.5–7 mm) (Marques *et al.* 1986). Therefore, on average, 0.0099% of iron was measured in “amadia” in 1986.

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Martins Rodrigues in 1987 determined for iron, in dry weight percentage, amounts of 0.00800% in “amadia” and 0.00378% in “secundeira” (second extraction cork, this is 9 years after the first one) (Martins Rodrigues 1987). By means of Atomic Absorption Spectrometry, Pereira in 1987 determined for iron, in dry weight percentage, amounts of 0.047% in “raspa” and 0.014% in cork (Pereira 1987). Therefore, in 1987, on average 0.011% of iron was determined in cork.

In 1988, the University of “Trás-os-Montes e Alto Douro” published a book wherein iron concentration in cork is given as 0.015% (Borges *et al.* 1988).

By means of Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry with L'vov platform, Soares determined 0.0513% iron in cork stoppers (Soares *et al.* 1993).

By means of Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry, Ferreira determined on average 0.016% of iron in boiled cork from Portugal, Spain and Morocco (Ferreira *et al.* 1996).

Gil stated that iron concentration in cork is known to be between 0.003 and 0.070% (Gil 1998). The mean value is, therefore, 0.0365%.

Aluminium

In 1939, Barceló was invited by Ribas to spectroscopically analyse cork metals, and in three samples he detected 13 elements, including aluminium (Gonçalves 1954b). In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, one among which is aluminium (Crabbé 1956). In 1957, Dugelay stated that cork ashes analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, and others, to list 13 metals, including aluminium (Dugelay 1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals, one among which is aluminium.

The first straightforward measurement of aluminium was given by Soares in 1993, who determined 0.0340% aluminium in cork stoppers by means of Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry with L'vov platform (Soares *et al.*1993).

By means of Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry, Ferreira in 1996 determined, on average, 0.01895% of aluminium in boiled cork from Portugal, Spain and Morocco (Ferreira *et al.*1996).

Gil stated that aluminium concentration in cork is known to be between 0.003 and 0.054% (Gil 1998). The mean value is, therefore, 0.0285%.

Magnesium

Chevreur in 1815 obtained combinations of calcium, iron and magnesium (Gonçalves 1954a). In 1939, Barceló was invited by Ribas to analyse cork metals by spectroscopy, and in three samples he detected 13 elements, including magnesium (Gonçalves 1954b). In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, one among which is magnesium (Crabbé 1956). In 1957, Dugelay stated that cork ashes analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, etc., to list 13 metals, including magnesium (Dugelay 1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals detecting 13 metals, one among which is magnesium: 0.02–0.004% (percentage inferior to the one necessary to live, interpreted as a dislocation of the metal for active vegetal zones when suberization starts (Lanuza 1965)), 0.012% being the mean value.

The second straightforward measurement of magnesium was given in 1985 by Caldas, who determined magnesium by Atomic Absorption Spectrometry, in dried weight percentage, as an average of 0.025% for first-, third- and fifth-class cork (Caldas *et al.* 1985).

In 1986, Mata applied Atomic Absorption Spectrometry to minerals in cork and transformation debris and tested the influence of granulometry, verifying that there is less magnesium in “amadia” than in black agglomerate, the values being 0.0249% in “amadia” and 0.0290% in black agglomerate (Mata *et al.* 1986).

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Marques in 1986 determined averages for magnesium of 0.0191% in “amadia”, 0.0250% in “entrecasco”, 0.02265% in phellem, 0.0738% in industrial debris, 0.0292% in “raspa”, 0.0255% in dust and 0.0202% in granulates (0.5–7 mm) (Marques *et al.* 1986). Therefore, on average, 0.022% of magnesium was measured in “amadia” in 1986.

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Martins Rodrigues in 1987 determined for magnesium, in dry weight percentage, amounts of 0.011% in “amadia” and 0.005445% in “secundeira” (second extraction cork, this is 9 years after the first one) (Martins Rodrigues 1987). By means of Atomic Absorption Spectrometry, Pereira in 1987 determined for magnesium, in dry weight percentage, amounts of 0.048% in “raspa” and 0.023% in cork (Pereira 1987). Therefore, in 1987, on average 0.017% of magnesium was measured in cork.

In 1988, the University of “Trás-os-Montes e Alto Douro” published a book where magnesium concentration in cork is given as 0.025% (Borges *et al.* 1988).

Gil stated that magnesium concentration in cork is known to be between 0.004 and 0.027% (Gil 1998). The mean value is, therefore, 0.0155%.

Sodium

In 1939, Barceló was invited by Ribas to spectroscopically analyse cork metals, and in three samples he detected 13 elements including sodium (Gonçalves 1954b). In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, one among which is sodium (Crabbé 1956). In 1957, Dugelay stated that cork ashes analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, and others, to list 13 metals including sodium (Dugelay 1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals detecting 13 metals, one among which is sodium: 0.1–0.01%. 0.055% was the mean value. Sodium was bigger at distance from the sea. Sodium probably is an acid neutraliser for transformation in suberin (Lanuza 1965).

The second straightforward measurement of sodium was given in 1985 by Caldas, who determined sodium by means of Atomic Absorption Spectrometry, in dried

weight percentage, as an average of 0.0102% for first-, third- and fifth-class cork (Caldas *et al.* 1985).

In 1986, Mata applied Atomic Absorption Spectrometry to minerals in cork and transformation debris and tested the influence of granulometry, verifying that there is less sodium in “amadia” than in black agglomerate (Gil 1998). The values are 0.0291% in “amadia” and 0.0413% in black agglomerate (Mata *et al.* 1986).

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Marques in 1986 determined averages for sodium of 0.0175% in “amadia”, 0.0409% in “entrecasco”, 0.05% in phellem, 0.0281% in industrial debris, 0.027% in “raspa”, 0.0421% in dust and 0.027% in granulates (0.5–7 mm) (Marques *et al.* 1986). Therefore, on average 0.0233% of sodium was measured in “amadia” in 1986.

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Martins Rodrigues in 1987 determined for sodium, in dry weight percentage, amounts of 0.00779% in “amadia” and 0.00963% in “secundeira” (second extraction cork, this is 9 years after the first one) (Martins Rodrigues 1987). By means of Atomic Absorption Spectrometry, Pereira in 1987 determined for sodium, in dry weight percentage, amounts of 0.033% in “raspa” and 0.016% in cork (Pereira 1987). Therefore, in 1987, on average, 0.012% of sodium was determined in cork.

In 1988, the University of “Trás-os-Montes e Alto Douro” published a book where sodium concentration in cork is given as 0.010% (Borges *et al.* 1988).

Gil stated that sodium concentration in cork is known to be between 0.003 and 0.029% (Gil 1998). The mean value is, therefore, 0.016%.

Barium

In 1939, Barceló was invited by Ribas to spectroscopically analyse cork metals, and in three samples he detected 13 elements including barium (Gonçalves 1954b). In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, one among which is barium (Crabbé 1956). In 1957, Dugelay stated that cork ashes analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, etc., to list 13 metals including barium (Dugelay

1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals, one among which is barium (Lanuza 1965).

Strontium

In 1939, Barceló was invited by Ribas to spectroscopically analyse cork metals, and in three samples he detected 13 elements, including strontium (Gonçalves 1954b). In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, one among which is strontium (Crabbé 1956). In 1957, Dugelay stated that cork ashes analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, etc., to list 13 metals, including strontium (Dugelay 1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals, one among which is strontium (Lanuza 1965).

Copper

In 1939, Barceló was invited by Ribas to spectroscopically analyse cork metals, and in three samples he detected 13 elements including copper (Gonçalves 1954b). In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, one among which is copper (Crabbé 1956). In 1957, Dugelay stated that cork ash analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, etc., to list 13 metals, including copper (Dugelay 1957).

The first straightforward measurement of copper was given in 1985 by Caldas, who determined copper by means of Atomic Absorption Spectrometry, in dried weight percentage, as an average of 0.0008% for first-, third- and fifth-class cork (Caldas *et al.* 1985).

In 1986, Mata applied Atomic Absorption Spectrometry to minerals in cork and transformation debris and tested the influence of granulometry, verifying that there is less copper in “amadia” than in black agglomerate (Gil 1998). The values are 0.00073% in “amadia” and 0.00125% in black agglomerate (Mata *et al.* 1986).

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Marques in 1986 determined averages for copper of 0.0017% in “amadia”, 0.0016% in “entrecasco”, 0.0045% in

phellem, 0.0011% in industrial debris, 0.00084% in “raspa”, 0.00131% in dust and 0.00095% in granulates (0.5–7 mm) (Marques *et al.* 1986). Therefore, on average, 0.001215% of copper was measured in “amadia” in 1986.

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Martins Rodrigues in 1987 determined for copper, in dry weight percentage, amounts of 0.00779% in “amadia” and 0.00963% in “secundeira” (second extraction cork, this is 9 years after the first one) (Martins Rodrigues 1987). By means of Atomic Absorption Spectrometry, Pereira in 1987 determined for copper, in dry weight percentage, amounts of 0.0019% in “raspa” and 0.0013% in cork (Pereira 1987). Therefore, in 1987, on average, 0.0045% of copper was determined in cork.

In 1988, the University of “Trás-os-Montes e Alto Douro” published a book where copper concentration in cork is given as 0.001% (Borges *et al.* 1988).

Another straightforward measurement of copper was given in Soares *et al.* (1993), who determined 0.00064% of copper in cork stoppers by means of Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry with L’vov platform.

By means of Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry, Ferreira determined on average 0.00078% of copper in boiled cork from Portugal, Spain, and Morocco (Ferreira *et al.* 1996).

In 1998, Gil stated that copper concentration in cork is known to be between 0.001 and 0.011% (Gil 1998). The mean value is, therefore, 0.016%.

Lithium

In 1939, Barceló was invited by Ribas to spectroscopically analyse cork metals, and in three samples he detected 13 elements, including lithium (Gonçalves 1954b). In 1957, Dugelay stated that cork ash analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, and others, to list 13 metals, including lithium (Dugelay 1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals, one among which is lithium (Lanuza 1965).

Chromium

In 1939, Barceló was invited by Ribas to spectroscopically analyse cork metals, and in three samples he detected 13 elements including chromium (Gonçalves 1954b). In 1957, Dugelay stated that cork ash analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, etc., to list 13 metals, including chromium (Dugelay 1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals, one among which is chromium (Lanuza 1965).

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Martins Rodrigues in 1987 determined for chromium in dry weight percentage, amounts of 0.00034% in “amadia” and 0.00008% in “secundeira” (second extraction cork, this is 9 years after the first one) (Martins Rodrigues 1987).

Titanium

In 1939, Barceló was invited by Ribas to spectroscopically analyse cork metals, and in three samples he detected 13 elements including titanium (Gonçalves 1954b). In 1957, Dugelay stated that cork ash analysis allowed Kügler, Barceló, Ferreira, etc., to list 13 metals, including titanium (Dugelay 1957). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals, one among which is titanium (Lanuza 1965).

Lead

In 1986, Mata applied Atomic Absorption Spectrometry to minerals in cork and transformation debris and tested the influence of granulometry, verifying that there is less lead in phellem than in “entrecasco” (Gil 1998).

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Marques in 1986 determined the following averages for lead: 0.0026% in “amadia”, 0.0071% in “entrecasco”, 0.00499% in phellem, 0.0061% in industrial debris, 0.00366% in “raspa”, 0.00413% in dust and 0.00416% in granulates (0.5–7 mm) (Marques *et al.* 1986).

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Pereira in 1987 determined for lead, in dry weight percentage, amounts of 0.0009% in “raspa” and 0.0007% in cork (Pereira 1987).

Another straightforward measurement regarding lead was given by Soares *et al.* (1993), who determined 0.0000054% lead in cork stoppers using Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry with L'vov platform.

By means of Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry, Ferreira determined on average 0.000074% of lead in boiled cork from Portugal, Spain and Morocco (Ferreira *et al.* 1996).

Gil stated that lead concentration in cork is known to be between 0.001 and 0.005% (Gil 1998). The mean value is, therefore, 0.003%.

In a study by the author, 0.00241% of lead was determined in phellem by means of Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry (Ponte-e-Sousa *et al.* 2003).

Cadmium

The first straightforward measurement of cadmium was given in 1985 by Caldas, who determined cadmium by means of Atomic Absorption Spectrometry, in dried weight percentage, as an average of 0.00013% for first-, third- and fifth-class cork (Caldas *et al.* 1985).

Another straightforward measurement of cadmium was done by Soares *et al.* (1993) who determined 0.0000045% of cadmium in cork stoppers by means of Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry with L'vov platform.

By means of Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry, Ferreira determined on average 0.00000323% of cadmium in boiled cork from Portugal, Spain and Morocco (Ferreira *et al.* 1996).

Phosphorus

In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, one among which is phosphorus (Crabbé 1956).

In 1986, Mata applied Molecular Absorption Spectrometry to minerals in cork and transformation debris and tested the influence of granulometry, verifying 0.0246% phosphorus in “amadia” and 0.0319% phosphorus in black agglomerate (Mata *et al.* 1986).

By means of Molecular Absorption Spectrometry, Marques in 1986 determined averages for phosphorus of 0.0319% in “amadia”, 0.0616% in “entrecasco”, 0.0566% in phellem, 0.0310% in industrial debris, 0.0306% in “raspa”, 0.056% in dust and 0.0255% in granulates (0.5–7 mm) (Marques *et al.* 1986). Therefore, on average, 0.02825% of phosphorus was measured in “amadia” in 1986.

By means of Molecular Absorption Spectrometry, Martins Rodrigues in 1987 determined for phosphorus, in dry weight percentage, amounts of 0.0116% in “amadia” and 0.0128% in “secundeira” (second extraction cork, this is 9 years after the first one) (Martins Rodrigues 1987). By means of Atomic Absorption Spectrometry, Pereira in 1987 determined for phosphorus, in dry weight percentage, amounts of 0.036% in “raspa” and 0.0034% in cork (Pereira 1987). Therefore, in 1987 on average 0.0075% of phosphorus was determined in cork.

Gil stated that phosphorus concentration in cork is known to be between 0.025 and 0.035% (Gil 1998). The mean value is, therefore, 0.030%.

Zinc

The first straightforward measurement of zinc was given in 1985 by Caldas, who determined zinc, in dried weight percentage, as an average of 0.0037% for first-, third- and fifth-class cork by means of Atomic Absorption Spectrometry (Caldas *et al.* 1985).

In 1986, Mata applied Atomic Absorption Spectrometry to minerals in cork and transformation debris and tested the influence of granulometry, verifying 0.00077% zinc in “amadia” and 0.00095% zinc in black agglomerate (Mata *et al.* 1986).

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Marques in 1986 determined averages for zinc of 0.00048% in “amadia”, 0.0011% in “entrecasco”, 0.00062% in phellem, 0.00048% in industrial debris, 0.00071% in “raspa”, 0.00146% in dust and

0.00054% in granulates (0.5–7 mm) (Marques *et al.* 1986). Therefore, on average 0.000625% of zinc was measured in “amadia” in 1986.

By means of Atomic Absorption Spectrometry, Martins Rodrigues in 1987 determined for zinc in dry weight percentage, amounts of 0.0052% in “amadia” and 0.00028% in “secundeira” (second extraction cork, this is 9 years after the first one) (Martins Rodrigues 1987). By means of Atomic Absorption Spectrometry, Pereira in 1987 determined for zinc, in dry weight percentage, amounts of 0.0015% in “raspa” and 0.0003% in cork (Pereira 1987). Therefore, in 1987, on average, 0.00275% of zinc was determined in cork.

In 1988, the University of “Trás-os-Montes e Alto Douro” published a book where zinc concentration in cork is given as 0.003% (Borges *et al.* 1988).

Gil stated that zinc concentration in cork is known to be between 0.001 and 0.005% (Gil 1998). The mean value is, therefore, 0.003%.

Sulphur

In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, one among which is sulphur (Crabbé 1956).

Silicon

In 1956, Crabbé stated that according to Kügler in 1884, Barceló in 1939, Guillemonat in 1949, Ribas in 1952, and Jensen in 1954, 11 elements could be identified, among which silicon is in doubt (Crabbé 1956). In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals, one among which is silicon (Lanuza 1965).

Boron

In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals among which boron is in doubt (Lanuza 1965).

Bismuth

In 1965, Lanuza reported on a spectral study of cork ash metals, detecting 13 metals among which bismuth is in doubt (Lanuza 1965).

Discussion

The synoptic point of view done throughout the study was aimed to enable the scientist to focus himself on a time and material concretization that allows establishing a strong basis of true science (if the repetition is allowed) for the characterization of a certain material. The science of materials, such as cork, is an indispensable tool for any study regarding that material. Frequently, the data base for that is not available, as can be seen in any cork science text book, as cited earlier.

In our case, a data base on averages, standard deviations and number of studies is offered that will assure for any future investigation on this subject that all known information can be referred to from our revision text.

The discussion is shown in a graphical form because this is the only way to put in evidence the major novelties found, which may be compared with the Lanuza scale (Lanuza 1965): Calcium > Silicon > Sodium > Magnesium > Potassium > Barium > Manganese > Strontium > Iron > Aluminium > Chromium > Titanium > Lithium.

Another scale is also proposed: Calcium > Potassium > Aluminium > Phosphorus > Sodium > Iron > Magnesium > Manganese > Copper > Zinc > Lead > Chromium > Cadmium (Fig. 1).

Averages of all non-organic "amadia" cork concentration measures

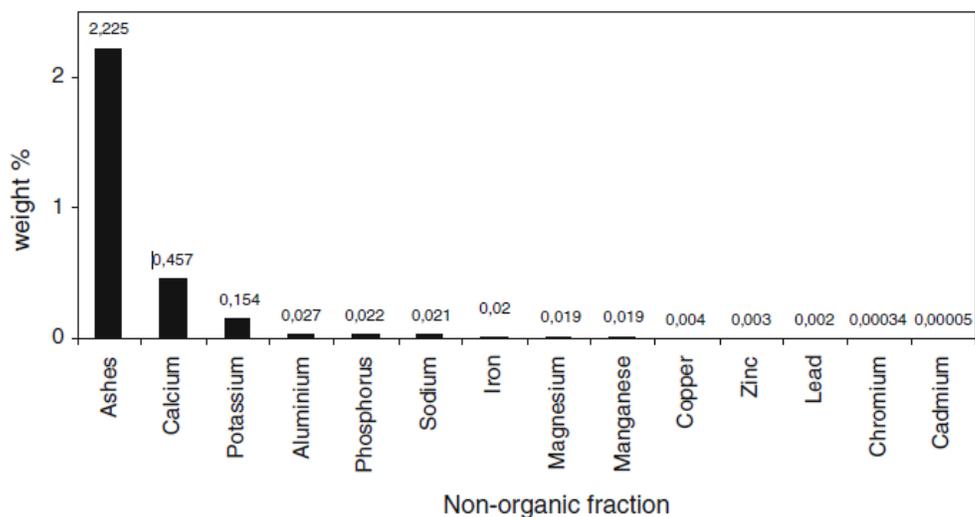


Fig. 1 Averages of all published non-organic measurements of cork, in its “amadia” form, being that standard deviations and number of samples may be in the order of the following ordinated pairs, from “ashes” to “cadmium”: (2.375, 11), (0.128, 5), (0.129, 5), (0.008, 3), (0.013, 3), (0.017, 6), (0.015, 8), (0.005, 6), (0.021, 5), (0.006, 7), (0.001, 5), (0.002, 5), (?), 1) and (7.26 x 10⁻⁵, 3).

The third scale known is the Gil scale (Gil 1998): Calcium > Potassium > Magnesium > Iron > Sodium > Zinc > Phosphorus > Lead > Aluminium > Copper.

It can be seen that calcium, potassium, sodium and magnesium are top cork elements, and that in 1965 silicon was presented at a very high position and that chromium does not appear in any of the older scales. Lead, known for its toxicity, comes third to last in both the younger scales but is absent in the older one, where strontium and titanium are absolute surprises.

Conclusion

The study of old information ranging from 1787 to nowadays, and the study of emeriti authors, cannot produce information similar to the ones obtained by means of a spectrometer, a chromatograph or a voltammeter, but it must still be fully considered when addressing any scientific issue. Cork is one of the most important economic factors in the countries where it is produced and knowledge on the integration cannot be neglected by those who understand that memory ought to be more than preserved. It must be compared with present facts in a scientific manner and compiled for the Science of material information in order for innovative approaches to reach even higher standards than the ones before.

Acknowledgement

The work by João Carlos A. de C. C. da Ponte-e-Sousa was supported by grant number SFRH/BD/31420/2006 from the Foundation for Science and Technology of the Ministry of Science, Technology and Higher Education of the Republic of Portugal.

References

Borges MAC, Ferreira JML, Roseira I, Rosmaninho M, Silva AJF (1988) *Material Science and Technology (Ciência e Tecnologia dos Materiais)*, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.

Caldas MM, Ferreira JML, Borges MA (1985) *About the chemical characterization of cork in the several stages of industrial processing (Abordagem sobre a caracterização química da cortiça nas várias etapas do processamento industrial)*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais—Cortiça 560, 549.

Carvalho A (1993) *Prepared amadias qualification (Qualificação de amadias preparadas)*, AIEC/EFN, Lisboa.

Crabbé P (1956) *Chemical constitution of cork (Constitution Chimique du Liège)*. Ing Chim 38:3

Dugelay A (1957) *Cork chemistry (A Química da Cortiça)*, Boletim da Junta Nacional da Cortiça, 225, 257.

Fengel D, Wegener G (1989) *Wood—chemistry, ultrastructure, reactions*. Walter de Gruyter, Berlin.

Ferreira MA, Soares ME, Bastos ML, Leal Ferreira JM (1996) *Evaluation of Iron, Copper, Aluminium, Lead and Cadmium content of cork from Portugal, Spain and Morocco by Electrothermic Atomic Absorption Spectrometry (Avaliação do conteúdo de Ferro, Cobre, Alumínio, Chumbo e Cádmiio em Cortiça originária de Portugal, Espanha e Marrocos por Espectrometria de Absorção Atómica com Atomização Electrotérmica)*. CTCOR Mag 1:55.

Fortes AF, Rosa ME, Pereira H (2004) *The Cork (a Cortiça)*. IST Press, Lisboa.

Gil L (1998) *Cork: production, technology and application (Cortiça: Produção, Tecnologia e Aplicação)*. INETI, Lisboa.

Gil L, Santos J, Florêncio MI (1986) *Identification and characterization of several dust types from industrial processing of cork (Identificação e caracterização de vários tipos de pó obtidos no processamento industrial da cortiça)*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais—Cortiça, 575, 255.

Gonçalves MJ (1954a) *Industry: Cork chemistry, bibliographic revision (Indústria: Química da Cortiça, Revisão bibliográfica)*, Boletim da Junta Nacional da Cortiça, 189, 242.

Gonçalves MJ (1954b) *Industry: Cork chemistry, bibliographic revision, continuation (Indústria: Química da Cortiça, Revisão bibliográfica, continuação)*, Boletim da Junta Nacional da Cortiça 190, 280.

Gonçalves MJ (1954c) *Industry: Cork chemistry, contribution to its knowledge, continuation (Indústria: Química da Cortiça, Contribuição para o seu conhecimento, continuação)*, Boletim da Junta Nacional da Cortiça, 191, 303.

Gonçalves MJ (1954d) *Industry: Cork chemistry, contribution to its knowledge, conclusion (Indústria: Química da Cortiça, Contribuição para o seu conhecimento, conclusão)*, Boletim da Junta Nacional da Cortiça 193, 7.

Lanuza JM (1965) *Studies on Cork-Oak (Estudos sobre o Sobreiro.) "Quercus suber L."* Boletim da Junta Nacional da Cortiça 314, 235.

Marques V, Mata F, Pereira H (1986) *Mineral chemical composition of cork debries from granulation industry (Composição química mineral dos desperdícios de cortiça provenientes da indústria de granulados)*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais—Cortiça 574, 233.

Martins Rodrigues A (1987) *Cork chemistry—contribution for its study (Química da cortiça—contribuição para o seu estudo)*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais—Cortiça 583, 23.

Mata F, Marques V, Pereira H (1986) *Granulometry influence on the determination of mineral elements from cork (Influência da granulometria na determinação de elementos minerais na cortiça)*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais—Cortiça 569, 68.

Pereira H (1987) *Chemical composition of Cork-Oak bark outer layer from amadia production cork pieces (Composição química da raspa em pranchas de cortiça de produção amadia)*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais—Cortiça 587, 231.

Pes A, Lissia F (1976) *Extraction of cerum and fat acids from cork, a pilot installation in Duran glass 50 (Extracção de Cera e de ácidos gordos da cortiça, uma instalação piloto em vidro Duran 50)*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais—Cortiça 452, 135.

Ponte-e-Sousa J (2004) *Determination of Lead from cork by Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry (Determinação do chumbo presente na cortiça de Quercus suber L. (sobreiro) por voltametria de redissolução anódica)*, Universidade de Évora, Évora.

Ponte-e-Sousa JCAC, Teixeira JMG, Vaz AMN (2003) *The importance of cork (bark) of Quercus suber in the environmental monitoring of heavy metals*, EJEAFChe 2, 2.

Silva Carvalho J (1968) *Cork chemistry; II – Summary analysis of fine dust from granulation for agglomeration (Química da Cortiça; II – Análise sumária do pó fino da granulação para aglomerado)*, Boletim da Junta Nacional da Cortiça 360, 187.

Soares ME, Bastos ML, Ferreira MA (1993) *Determination of copper, iron, aluminium, lead, and cadmium in cork stoppers by electrothermal atomic absorption spectrometry*. J Anal At Spectrom 8:656.

CAPÍTULO III - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes e soluções

Foram preparadas: Uma solução de electrólito de suporte NaCl 0.1 mol.dm^{-3} dissolvendo NaCl (Merck p. a.) em água Milli-Q. Uma solução de HNO_3 0.1 mol.dm^{-3} , feita dissolvendo HNO_3 65% (Merck p.a.) em água Milli-Q. Uma solução-mãe de Pb(II) $1.1 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$, dissolvendo $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (Riedel) em HNO_3 0.01 mol.dm^{-3} . Uma solução padrão de trabalho de Pb(II) $1.1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, feita diluindo a anterior.

Foram usados como reagentes digestores: HNO_3 65% (Merck p. a.) e H_2O_2 30% p/v (Panreac p. a.).

Instrumentação

A voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial foi realizada usando um potenciostato/galvanostato AUTOLAB/PGSTAT 20 (Eco Chemie) associado a um VA Stand 663 (Metrohm). O software utilizado foi o GPES (*General Purpose Electrochemical System*) 4.9 (Eco Chemie). O controlo do potenciostato foi feito com um computador Pentium4 a 1.4 GHz (figura 1 e 2). O programa, para além de controlar o potenciostato, fazia a aquisição, o armazenamento, e disponibilizava resultados que, no caso em que foi aplicado, eram os potenciais de pico e as intensidades de corrente de pico. As ligações entre os eléctrodos contidos no VA Stand e o PGSTAT20 foram feitas recorrendo a um cabo próprio do aparelho.



Figuras 1 e 2 – O computador, o controlador do eléctrodo de trabalho, o potenciostato/galvanostato e o suporte da célula e eléctrodos.

Eléctrodos e Célula

Neste equipamento foram usados: um eléctrodo de mercúrio de gota suspensa, um contra-eléctrodo de vareta de carbono vítreo, e um eléctrodo de referência de Ag/AgCl/KCl 3M. O eléctrodo de mercúrio de gota suspensa teve a sua formação dependente do dispositivo designado *Multi-Mode Electrode* (figura 5), da METROHM. Neste estava o reservatório para o mercúrio (figura 5) e o capilar de vidro (figura 6). O *Multi-Mode Electrode* estava ligado à garrafa do azoto e, assim, à pressão de azoto de cerca de 1 bar formava-se a gota de mercúrio na extremidade livre do capilar. A área da superfície do eléctrodo de mercúrio de gota suspensa depende da pressão do azoto no interior do dispositivo.

Antes de cada leitura de corrente o desarejamento efectuado foi anterior ao contacto do eléctrodo com a solução.

Como eléctrodo de referência foi usado o de Ag/AgCl/KCl, 3 M, da METROHM (figura 5). Para reduzir a probabilidade de qualquer acontecimento inconveniente devido ao contacto entre a solução de referência interna do eléctrodo e a solução da célula foi mantido o eléctrodo de referência em contacto, através de uma ponte salina (figura 6) de NaCl 0.1 M (o electrólito de suporte, também), com a solução da célula, permitindo, apenas, o fechar do circuito. O contacto entre a ponte salina e a solução da célula fez-se por um diafragma tubular de vidro esmerilado. O conjunto composto pelo eléctrodo de referência e a ponte salina foi montado no VA Stand (figura 5 e 6).

O típico conjunto de três eléctrodos habitualmente caracterizador da voltametria ficou completado pelo eléctrodo auxiliar. Este eléctrodo foi uma vareta de carbono vítreo (figura 8). Foi montada num suporte apropriado (figura 7) adquirido em conjunto com o VA Stand, por dele fazer parte integrante.

A célula utilizada foi um vaso da METROHM (figura 9). Após colocação em suporte próprio do VA Stand o vaso foi tapado por uma tampa. A célula electroquímica encontrava-se montada com o vaso, os eléctrodos, o tubo de desarejamento e o agitador. Em comunicação com a solução electrolítica estavam, portanto, para além dos eléctrodos, um tubo de PVC (cloreto de polivinilo), por onde saía o azoto para desarejar a solução e uma ponta cilíndrica em PTFE (politetrafluoretileno ou teflon), que servia de agitador mecanicamente controlado.



Figuras 3 e 4 – Reservatório de mercúrio (ref. 6.1246.020 da metrohm) e capilar para mercúrio (ref. 6.1226.030 da metrohm).



Figuras 5 e 6 – Eléctrodo de referência Ag/AgCl (ref. 6.0728.000 da metrohm) e suporte da ponte salina (ref. 6.1245.000 da metrohm).



Figuras 7 e 8 – Suporte do eléctrodo auxiliar (ref. 6.1241.020 da metrohm) e eléctrodo auxiliar de carbono vítreo (ref. 6.1247.000 da metrohm).



Figura 9 - Vaso de titulação (ref. 6.1415.220 da metrohm).

Condições voltamétricas

Pré-tratamento: Tempo de purga: 5 s. Potencial de deposição: -0.650 V. Tempo de deposição: 180 s. Agitador desligado durante a deposição: Não. Tempo de equilíbrio: 30 s.

Medição: Célula desligada após a medição: Sim. Tempo de modulação: 0.05 s. Intervalo de tempo: 0.25 s. Potenciais: Potencial inicial: -0.650 V. Potencial final: - 0.1 V. salto de potencial: 0.00195 V. Amplitude de modulação: 0.03 V. Velocidade de varrimento: 7.8 mV/s.

Outras características

Superfície da gota: $0.25 \text{ mm}^2 \pm 10\%$. Velocidade de rotação do agitador: 1500 min^{-1} . Tempo de desarejamento: 10-12 min.

Procedimento

Digestão: Foram feitas várias digestões de cortiça de acordo com o esquema seguinte: Extração das faces da pequena prancha; Granulação com granulador plástico; Pesagem de 0.09g de cortiça granulada; Adição de 2 ml HNO_3 e 0.25 ml de H_2O_2 ; Descanso de 2 horas, aproximadamente; Digestão em recipiente fechado (85-90 °C) durante 8 horas (figuras 10, 11, 12 e 13). Antes de cada medição iniciar-se a solução, na célula, foi desarejada, durante 10 a 12 minutos, com azoto (tipo c-45, Gasin, pureza de 99.995% e concentração de O_2 inferior a 4 ppm). O azoto, antes de chegar à célula, foi saturado com o electrólito de suporte, ao passar por este num contentor anexo. Antes de cada medição nova purga de 5 segundos foi efectuada automaticamente. Durante as análises houve uma atmosfera de azoto sobre a solução.



Figuras 10, 11, 12 e 13 – A cortiça em prancha, as faces externas subtraídas, os grânulos, o felema e o granulador. O digestor térmico. Duas fases da digestão do felema de cortiça e uma porção de grânulos. O resultado final da digestão.

Durante todo o tempo de actividade laboratorial procurou-se uma apurada e escrupulosa avaliação dos instrumentos, dispositivos, aparelhos e soluções indispensáveis à obtenção de dados, nomeadamente o regular acompanhamento das condições gerais do funcionamento do potenciostato, do estado dos eléctrodos e da qualidade (pureza e limpeza) dos materiais envolvidos (mercúrio, célula, eléctrodos e solução do electrólito de suporte). A este respeito, concretamente, dá-se crédito aos procedimentos expostos noutros trabalhos realizados, por períodos, em simultâneo com o trabalho laboratorial a que agora se faz referência nesta tese, e que foram acompanhados por quem havia tido oportunidade de participar na primeira utilização da instrumentação em causa no laboratório onde se encontrava, que é o mesmo do presente trabalho.

A confirmação do bom funcionamento do potenciostato, e dos eléctrodos, foi facilitada pelo cumprimento das instruções de diagnóstico dadas pelo construtor do aparelho. O potenciostato-galvanostato utilizado possui, como acessório, um dispositivo electrónico denominado “dummy cell” que simula uma célula electroquímica possibilitando, por meio de programa informático, verificar a existência de condições adequadas ao uso do sistema electroquímico. Outros aspectos das condições gerais de funcionamento foram verificados por simples inspecção visual. Esta capacidade, de fazer uma inspecção visual, melhorou com a continuação do uso, pelo que foi mais frequente no período final do trabalho.

A verificação da qualidade electroquímica dos materiais envolvidos foi dada pela utilização rigorosa do ensaio em branco. As soluções e os materiais recipientes utilizados, sendo sempre processados da mesma maneira, garantiram que, a haver qualquer interferência analítica ela seria subtraída da solução em análise. Além disto, e à cautela, todo o material foi lavado por submersão em ácido nítrico e passagem com água destilada corrente, com esguicho. Também houve secagem em estufa.

Para preparar a célula electroquímica e nela introduzir as soluções para sujeição a varrimento de potenciais capaz de devolver a intensidade da corrente de pico, foi seguido o seguinte procedimento. Após a colocação da célula no posto do braço do 663 VA Stand foi introduzida na célula a quantidade de 20 ml de electrólito de suporte. Depois a célula foi tapada. A tampa contém aplicações com o capilar do mercúrio, o eléctrodo auxiliar, o eléctrodo de referência na ponte salina, o agitador, o tubo do azoto e a zona de admissão de alíquotas, também com a sua tampa. Seguiu-se arejamento de 10 a 12 min.. Depois foram formadas e rejeitadas algumas gotas de mercúrio, de modo a usar um eléctrodo na melhor forma. Antes de cada medição voltamétrica foi executada uma programação de 5 segundos de tempo de purga e 30 segundos de tempo de estabilização da gota de mercúrio que funcionou como eléctrodo de trabalho. O procedimento foi repetido após cada adição de solução, de acordo com a tabela que resume os parâmetros que controlaram as análises, e que podem ser lido na tabela 1 do artigo que compõe o capítulo VI, coluna de antes da optimização. Atendendo ao conhecimento dos limites de polarização ideal do eléctrodo de mercúrio, no meio considerado (solução aquosa de cloreto de sódio 0.1 M) o intervalo de potencial considerado foi de -100 mV a -1600 mV, nas primeiras análises, que visavam conhecer o comportamento do catião Pb(II) no meio da análise, mas, seguidamente, optou-se por usar de -100 mV a -650 mV por ter sido observado que, neste intervalo, o pico correspondente à espécie de interesse se desenvolvia totalmente, havendo, também, formação de um pico correspondente ao Cu(II), que se conservou por permitir demonstrar que sucessivas adições de padrão Pb (II) fizeram crescer o pico relativo a esse catião mas não ao Cu(II). O limite menos negativo está relacionado com a oxidação do mercúrio, que constitui o eléctrodo de trabalho. Este processo é favorável em meio cloreto a potenciais superiores a -100 mV, Portanto, esse foi o limite menos negativo da janela de potencial. O limite mais negativo está

relacionado com a redução do catião Na^{I} que constitui parcialmente o electrólito de suporte. O valor de -650 mV não se aproxima, sequer, do problema e, ao ser escolhido, permitiu que a análise de potenciais característica da voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial fosse efectuada no menor intervalo de tempo possível. Assim, nesta janela de potenciais, foi possível observar o comportamento difusivo do Pb(II)/Pb(Hg) no que respeita à electroanálise de Pb(II) no felema de cortiça amadia. Resumidamente, nas voltametrias quantidades de 0.1 ml de padrão foram adicionadas a 1 ml de solução de cortiça e 20 ml de electrólito de suporte. Cada medição foi feita em triplicado em cada adição.

**CAPÍTULO IV - OPTIMISATION OF THE ANALYSIS OF
LEAD IN CORK BY DIFFERENTIAL PULSE ANODIC
STRIPPING VOLTAMMETRY**

Optimisation of the analysis of lead in cork by differential pulse anodic stripping voltammetry

João Carlos A. de C. C. da Ponte-e-Sousa • António Manuel Neto-Vaz

J. C. A. C. C. Ponte-e-Sousa (✉) • A. M. Neto-Vaz

Department of Chemistry, University of Évora, Rua Romão Ramalho 59, 7000 Évora,
Portugal

e-mail: jcps@uevora.pt

Fax: +35 12 66745303; Tel: +35 12 66745311

A. M. Neto-Vaz

Institute for Mediterranean Agricultural Sciences (ICAM), Pólo da Mitra, University of
Évora, 7000-Évora, Portugal

e-mail: nvaz@uevora.pt

Submetido

Abstract

A protocol for the analysis of Pb(II) in non-industrially treated oak cork tissue by differential pulse anodic stripping voltammetry has been optimised in terms of the software parameters available on an AutoLab PGstat 20 (Metrohm Autolab BV) instrument. The method described enables an improved analysis of bark tissue.

Keywords Cork • Lead • Differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) • Optimisation

Introduction

A number of investigations have focussed on the application of differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) for the quantitative analysis of heavy metals, and especially Pb (II), in cork matrices stripped from the oak tree (*Quercus suber*) [1-5]. In this context, the Faradaic signal produced in the voltammetric cell is a function of the instrumental variables associated with the equipment employed. For example, the software menu of the AutoLab PGstat 20 (Metrohm Autolab BV, Utrecht, The Netherlands) shows eight distinct variables. Thus, optimisation of the experimental conditions in order to maximize the analytical signal for curves comprising four points would necessitate $8! \times 4$ (= 161,280) measurements. In order to avoid such an exhaustive and time-consuming optimisation study, an alternative procedure has been carried out involving the optimisation of the protocol around a set of conditions currently considered to afford the most sensitive measurements [1,2]. The results of this optimisation study are reported here.

Materials and methods

Reagents and solutions

The supporting electrolyte solution was 0.1 M NaCl, which was prepared with Merck (Darmstadt, Germany) p.a. reagent and Milli-Q (Millipore, Billerica, MA, USA) water. An

appropriate amount of $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (Riedel de Haen, Seelze, Germany) was dissolved in 10 mM HNO_3 [prepared with HNO_3 65% (Merck p.a.) and Milli-Q water] to give an 11 mM Pb(II) stock solution. The stock solution was diluted with Milli-Q water in order to produce an 11 μM Pb(II) standard solution immediately before use.

Instrumentation

DPASV was carried out using an AutoLab PGstat 20 potentiostat/galvanostat and a VA stand model 663 (Metrohm Autolab BV) coupled with a hanging mercury drop electrode (HMDE), a glassy-carbon rod counter electrode, and an Ag/AgCl/KCl 3M reference electrode. The instrument was controlled using GPES 4.9 software (Metrohm Autolab BV).

Preparation of cork samples

Strips of oak tree bark, which had received no prior industrial treatment, were granulated in a plastic granulator. Aliquots (ca. 0.1 g) of cork powder were accurately weighed and mixed with 2 ml of 65% HNO_3 p.a. (Merck) and 0.25 ml of 30% (w/v) H_2O_2 p.a. (Panreac Química, Barcelona, Spain). After approximately 2 h, the digestion mixture was transferred to a closed recipient and maintained at 85-90°C for 8 h. The final mixture was used directly in the assays.

Voltammetric assays

Aliquots (1 ml) of cork digest and 20 ml of supporting electrolyte were employed in the assays. The starting point conditions for the optimisation procedure were as shown in Table 1. The cell was turned to the off position after measurement. In order to optimise deposition time, impulse amplitude and purge time, these variables were adjusted individually in order to give the best response whilst the remaining parameters were kept constant.

Results and discussion

Cork samples were evaluated by DPASV initially using the starting point conditions displayed in Table 1. The assays were then repeated using deposition times of 10, 30, 60, 90, 360, 720 or 3600 s, impulse amplitudes of 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.07 and 0.10 V, and purge times of 0, 5, 10, 15, 30, 60, 120 and 240 s. In each case, when one variable was adjusted, the remaining parameters were kept constant. The results of these experiments are shown in Figs. 1 – 3.

The redissolution potential of Pb(II) originating from digested cork solution was established as -0.405 V (SD = 0.0005 V) with an HMDE versus a Ag/AgCl/KCl 3M reference electrode in 0.1 M NaCl. This is a very acceptable result given that Pb(II) reduction has a half-wave potential against a saturated calomel electrode (SCE) in 0.1 M KCl of -0.4 V [6], and that DPASV of Pb(II) in 0.5 M NaCl reportedly shows a potential of approximately -0.4 V with HMDE versus SCE [7].

The achievement of voltammetric conditions that are highly reproducible and also offer a rapid and sensitive assay of trace amounts of analyte is particularly important in the estimation of heavy metals in cork. In the present study, it was found that a deposition time of 30 s, an impulse amplitude of 0.1 V and a purge time of 30 s (Table 1) were optimal for the estimation of Pb(II) in natural cork samples. Under these conditions, nanomolar amounts of the heavy metal were detected in digested cork samples, and these could be related to the amounts of Pb(II) expressed in ppm previously in the cork sample [2].

All optimisation procedures reported in this study were conducted using non-treated natural cork (phellem) samples and the voltammograms presented here as examples are reproduced “as obtained” without mathematical “improvement”. It is thus concluded that the procedure described herein is sufficiently robust for the determination of Pb(II) in commercial samples of cork. The full validation of the method has been described previously [8].

Acknowledgements

This study was supported by the Foundation for Science and Technology of the Ministry of Science, Technology and Higher Education of the Republic of Portugal (grant SFRH/BD/31420/2006 to JCAC Ponte e Sousa).

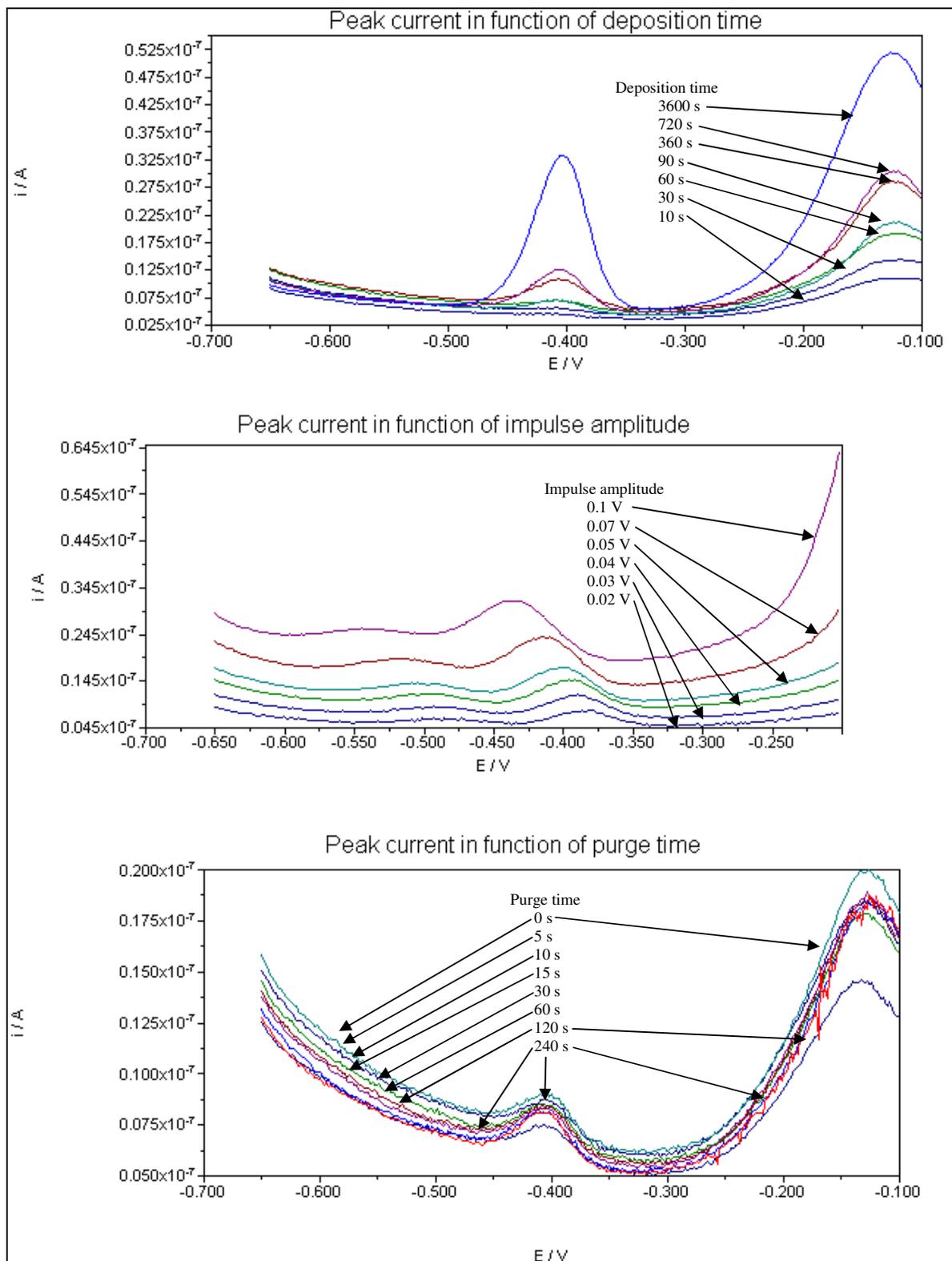
References

1. Ponte e Sousa JCAC, Ginja Teixeira JM, Neto Vaz AM (2003) *Port Electrochim Acta* 21:78-84
2. Ponte e Sousa JCAC, Ginja Teixeira JM, Neto Vaz AM (2003) *EJEAFChe* 2:1-6
3. Soares ME, Borges MA, Bastos ML, Ferreira MA (1994) *Ciência Téc Viti* 11:87-99
4. Soares ME, Bastos ML, Ferreira MA (1993) *J Anal At Spectrom* 8:655-657.
5. Ferreira MA, Soares ME, Bastos ML, Leal Ferreira JM (1996) *CTCOR Magazine* 1:48-57
6. Sawyer DT, Roberts JL (1974) *Experimental electrochemistry for chemists*, Wiley, New York, p. 369
7. Bond AM (1980) *Modern polarographic methods in analytical chemistry*, Marcel Dekker, New York, pp. 456-457
8. Ponte-e-Sousa J, Neto-Vaz A (2010) *Phytochem Anal* DOI: 10.1002/pca.1192

Table 1: Initial conditions employed in the analysis of Pb(II) in cork by DPASV together with the parameters that were optimised in the present study

Voltammetric conditions	Before optimisation	After optimisation
purge time	5 s	30 s
deposition potential	-0.650 V	unchanged
deposition potential time	180 s	30 s
stirrer during deposition	Yes	unchanged
equilibration time	30 s	unchanged
impulse time	0.05 s	unchanged
time interval	0.25 s	unchanged
initial potential	-0.650 V	unchanged
final potential	-0.1 V	unchanged
step potential	0.00195 V	0.003 V
impulse amplitude	0.03 V	0.1 V
scanning velocity	7.8 mV/s	12 mV/s
drop surface	0.25 mm ² ± 10%	not tested
agitator rotation velocity	1500 rpm	not tested
deaeration time	10 to 12 min	not tested

Fig. 1 Voltammograms showing the relationship between **I** (current intensity) and **E** (potential) as a function of deposition time, impulse amplitude and purge time.



**CAPÍTULO V - A NEW METHOD FOR THE
IMPROVEMENT OF DATA PRODUCTION IN
PHYTOCHEMICAL ANALYSIS**

A New Method for the Improvement of Data Production in Phytochemical Analysis

João Ponte-e-Sousa and António Neto-Vaz

Department of Chemistry, University of Évora, Rua Romão Ramalho no. 59, 7000-971
Évora, Portugal

E-mail: jcps@uevora

Received: 30 September 2009;

Revised: 14 October 2009;

Accepted: 21 October 2009

Phytochemical Analysis

Published online in Wiley Interscience

(www.interscience.wiley.com) DOI 10.1002/pca.1192

Abstract:

Introduction – The use of the average analytical signal for the construction of curves by the least squares method (LSM) over the standard addition method (SAM) is widespread. It would be advantageous, however, to find a way to avoid intermediary averages, which are known to be the cause of significant increases in standard deviations (SD).

Objective – To develop a protocol that uses all gathered data to create curves by LSM over SAM. To use Excel[®] for the estimation of $y = mx + b$ and R^2 rather than using LSM equations for the SD of m , x and b .

Methodology – The level of lead (II) in the bark (cork) of *Quercus suber* Linnaeus was determined using differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV). Three current samples were taken for each of the four standard additions. These signals were combined for adjustment by LSM. The results were compared with those obtained after averaging the current for each addition, and the expression of uncertainty in the measurements determined.

Results – The new method shows an expanded uncertainty of $\pm 0.3321 \mu\text{g/g}$ (nearly 1.42%). The difference between the results obtained by the new and the old method is $0.01 \mu\text{g/g}$ (23.41 and $23.40 \mu\text{g/g}$). The limit of detection changed approximately from 4.8 to $4 \mu\text{g/g}$ and the relative SD approximately from 9 to 6%.

Conclusion – The absence of intermediary averages in curves improved the determination of lead (II) in cork by DPASV. Estimation of SD only with LSM equations produced results that were significantly worse. The changes are large enough to transform an apparently internally non-validated procedure (repeatability for precision) into an internally validated procedure.

Keywords: Voltammetry; standard addition method; least squares method; cork

Introduction

No doubt numbers play an important role in phytochemical analysis but 'the fact remains that many highly competent scientists are woefully ignorant of even the most elementary statistical methods. It is even more astonishing that analytical chemists, who practise one of the most quantitative of all sciences, are no more immune than others to this dangerous, but entirely curable, affliction' (Miller and Miller, 1988).

Using averages in the middle of data analysis reduces the information extractable from a set of measures. Ideally only final results should be shown as averages. The present paper shows how to combine measurements of an analytical signal in such a way that all possible final results inferable from a data population, such as the one presented in this study, will not be neglected. The use of this particular case

of combinatorial analysis is compared with the earlier method for the estimation of the lead content in cork from *Quercus suber* L. by differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV). The effect that the new method has on the uncertainty of the estimation is emphasised. The new method extracts more information from the chemical analysis. In fact, instead of using just the curve of mean values of the analytical signals for each concentration, it uses r^s curves, where r is the number of repetitions of the analytical signal per concentration and s is the number of different concentration values. The curves correspond to all possible choices of one measurement for each concentration.

Experimental

Standards and chemicals

The supporting electrolyte solution, 0.1 M sodium chloride, was prepared by dissolving sodium chloride p.a. from Merck (Darmstadt, Hessen, Germany) in Milli-Q water; the 0.1 M nitric acid solution was obtained by dissolving nitric acid 65% p.a. (Merck) in Milli-Q water; the 1.1×10^{-2} M lead (II) stock solution was obtained by dissolving lead nitrate from Riedel (Seelze, Lower Saxony, Germany) in 0.01 M nitric acid; a standard solution of 1.1×10^{-5} M lead (II) was achieved by diluting the stock solution appropriately. The digester reagents used were: nitric acid 65% p.a. (Merck) and hydrogen peroxide 30% p/v p.a. from Panreac (Castellar del Vallés, Spain, Spain). The solutions were prepared daily.

Extraction and digestion of cork sample

The interior of the bark of cork-oak was granulated with a plastic granulator, and an aliquot (0.09 g) of the resulting bark powder was mixed with 2 mL nitric acid and 0.25 mL of hydrogen peroxide. Following incubation for 2 h, the mixture was digested in a closed recipient at 85–90 °C for 8 h.

DPASV analysis

The instrumentation used for DPASV comprised an Eco Chemie Autolab/pgstat 20 (Metrohm, Utrecht, Netherlands) potentiostat/galvanostat and a Metrohm VA stand 663 together with a hanging mercury drop electrode (HMDE), a glassy-carbon rod counter-electrode and an Ag–AgCl–KCl 3 M reference electrode. Eco Chemie GPES 4.9 software was employed to run the instruments and to obtain voltammograms. Voltammetric conditions were as shown in Table 1. For the voltammetric experiments,

Table 1. Voltammetric conditions employed in the study

Voltammetric conditions	
Purge time	5 s
Deposition potential	−0.650 V
Deposition potential time	180 s
Stirrer during deposition	Yes
Equilibration time	30 s
Impulse time	0.05 s
Time interval	0.25 s
Initial potential	−0.650 V
Final potential	−0.1 V
Step potential	0.00195 V
Impulse amplitude	0.03 V
Scanning velocity	7.8 mV/s
Drop surface	0.25 mm ² ± 10%
Stirrer rotation velocity	1500/min
Deaeration time	10–12 min

aliquots (0.1 mL) of the standard were added to 1 mL of the cork solution and 20 mL of the supporting electrolyte. Each measurement was made three times in each addition. Two-dimensional data treatment of current vs standard concentration was performed with the Excel 2003^R line adjustment tool.

Results and Discussion

Experimental measurements of the corrected electric intensity (i) produced an array of values that will be used as examples in the discussion in order to demonstrate their full exploitation. Table 2 shows i values measured three times for each of the four standard concentrations. Measurements reported refer to the sample material (a portion of the interior of the bark of cork-oak) and to the blank assay, as usually employed to subtract any influence arising from all the solutions used for the correct treatment of the sample. The focus of this study is the random dependent variable i and four populations of three individual values resulting from the four standard concentrations tested are considered.

Lead (II) concentration (10^{-8} M)	Electric intensity i (10^{-8} A)					
		Cork			Blank	
0.000	1.463	1.349	1.372	0.780	0.774	0.769
5.213	1.932	1.961	1.952	4.063	4.069	4.069
10.38	2.564	2.624	2.543	7.016	7.052	7.178
15.49	3.323	3.237	3.289	9.880	10.22	9.950

Old algorithm: least squares equations

Cork solutions. In order to show any existing differences in the final results, previous methodologies have been compared with the new methodology proposed here. As an example, focus will be given to the experimental results obtained for cork as shown in Table 2. Three current measurements are registered for each standard concentration. The electrolytic cell only contained dissolved cork and supporting electrolyte when the first recording was performed. A new HMDE (drop 2) subsequently replaced the old one, which had fallen into the cell. The same occurred after i had been recorded for drop 2. Thus, three consecutive recordings were obtained for each of the four standard concentrations, as indicated in Table 2.

The first comment is related to the initial step of the treatment of experimental results because LSM equations are usually applied after the reduction of all analytical signal recordings to their average values so that the LSM adjustments can be performed on a set of pair values, namely, analytical signal vs standard concentration. Table 3 shows the average values for cork and successive calculations for the production of the necessary data for the least squares treatment.

The quantities S_{xx} , S_{yy} and S_{xy} are needed to obtain all results allowed by LSM, where

$$S_{xx} = \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2 / N, S_{yy} = \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2 / N \text{ and} \\ S_{xy} = \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i / N,$$

N being the number of data pairs used in the construction of the curves.

Substitution gives:

$$S_{xx} = 133.3 \times 10^{-16} \text{ M}^2, S_{yy} = 1.986 \times 10^{-16} \text{ A}^2, \text{ and} \\ S_{xy} = 16.25 \times 10^{-16} \text{ MA.}$$

Now the slope (m) of the adjusted line can be calculated as:

$$m = S_{xy} / S_{xx}, \text{ from which } m = 0.122 \text{ A/M.}$$

The intercept (b) with the analytical signal axis is:

$$b = \sum y_i / N - m \sum x_i / N, \text{ from which } b = 1.354 \times 10^{-8} \text{ A.}$$

Table 3. Data obtained from cork solutions using the least squares method				
x_i^a (10^{-8} M)	y_i^b (10^{-8} A)	x_i^2 (10^{-16} M ²)	y_i^2 (10^{-16} A ²)	$x_i y_i$ (10^{-16} MA)
0.000	1.395	0.000	1.945	0.000
5.213	1.948	27.18	3.796	10.16
10.38	2.577	107.7	6.640	26.75
15.49	3.283	239.9	10.78	50.85
$\Sigma 31.08$	$\Sigma 9.203$	$\Sigma 374.9$	$\Sigma 23.16$	$\Sigma 87.76$

^a x_i = standard concentration of lead (II).
^b y_i = mean corrected electric intensity.

The standard deviation s_y of the residuals is:

$$s_y = \sqrt{[(S_{yy} - m^2 S_{xx}) / (N - 2)]}, \text{ from which } s_y = 5.830 \times 10^{-10} \text{ A.}$$

The standard deviation (s_m) of the slope (m) is:

$$s_m = s_y / \sqrt{S_{xx}}, \text{ from which } s_m = 5.049 \times 10^{-3} \text{ A/M.}$$

The standard deviation (s_b) of the intercept (b) with the analytical signal axis is:

$$s_b = s_y \sqrt{1 / [N - (\sum x_i)^2 / \sum x_i^2]}, \text{ from which } s_b = 4.888 \times 10^{-10} \text{ A.}$$

The equation for the least squares line is:

$$y = mx + b, \text{ from which } y = (0.122 \text{ A/M})x + 1.354 \times 10^{-8} \text{ A.}$$

The coefficient of determination (R^2) is:

$$R^2 = (\sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i / N)^2 / \{ [\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2 / N] [\sum y_i^2 - (\sum y_i)^2 / N] \}$$

which, after appropriate substitution, gives $R^2 = 0.997$.

Final Pb (II) concentration in electrolytic cell result appears, according to the standard addition method, as

$$0 = (0.122 \text{ A/M})x + 1.354 \times 10^{-8} \text{ A} \leftrightarrow x = 1.111 \times 10^{-7} \text{ M.}$$

The standard deviation (s_c) for the analytical results obtained with the standard addition method is given by (Miller and Miller, 1988):

$$s_c = (s_y / m) \sqrt{[(1/N) + (\sum y_i / N)^2 / (m^2 S_{xx})]}, \text{ from which } s_c \\ = 8.181 \times 10^{-9} \text{ M.}$$

$$s_c = (s_y/m) \sqrt{\left[\frac{1}{L} + \frac{1}{N} + \frac{(y_c - \sum y_i/N)^2}{(m^2 S_{xx})} \right]}$$

is the equation for the standard deviation of the analyte estimate for a calibration curve. In the case presented, y_c equals zero, since the result stems from the intercept of the adjusted line with the horizontal axis, and L , the number of replicate measures of the sample, appears as infinite, as if by extrapolating the adjusted line, thus making $1/L$ equal to zero.

Blank solutions. Table 4 shows averages for the blank and successive calculations for the least squares treatment. The quantities S_{xx} , S_{yy} , S_{xy} that are required for LSM may be calculated in a manner analogous to that outlined above to give the following values:

$$S_{xx} = 133.3 \times 10^{-16} \text{ M}^2$$

$$S_{yy} = 47.29 \times 10^{-16} \text{ A}^2$$

$$S_{xy} = 79.38 \times 10^{-16} \text{ MA}$$

$$m = 0.595 \text{ A/M}$$

$$b = 8.584 \times 10^{-9} \text{ A}$$

$$s_y = 10.97 \times 10^{-10} \text{ A}$$

$$s_m = 9.497 \times 10^{-3} \text{ A/M}$$

$$s_b = 9.194 \times 10^{-10} \text{ A.}$$

The equation for the least squares line is thus $y = (0.595 \text{ A/M})x + 8.584 \times 10^{-9} \text{ A}$, and $R^2 = 0.999$. The final Pb (II) concentration in the electrolytic cell result appears, according to the standard addition method, as

$$0 = (0.595 \text{ A/M})x + 8.584 \times 10^{-9} \text{ A} \leftrightarrow x = 1.442 \times 10^{-8} \text{ M,}$$

and the standard deviation (s_c) for the analytical results obtained with the standard addition method is $s_c = 1.734 \times 10^{-9} \text{ M}$.

New algorithm

Linear regression, as performed using Excel 2003^R, is a fairly easy way to treat data from the standard addition method, and is used in laboratories throughout the world. Nevertheless, the Excel^R package used to execute these calculations has no way of directly attaining SD for the slope, y intercept and x estimates, hence the need to develop an alternative way of obtaining such values. One can see that, in order to obtain such estimates, several slopes, y intercepts and x estimates are needed. However, the question remains how to attain these values with data from one sample. The problem was solved using all available data instead of just the i means for each concentration. The corrected electric current, compensated for dilution effects, was used.

The first step for the resolution of the problem was to verify whether every measurement was equally likely because none of them differ much from the others. That is why any combination of four values for y , each stemming from its group of three replicates, should produce an adjusted line as favourable as the one resulting from its averages.

The data set, composed of three replicates of the corrected electric intensity for each of the four standard concentrations, can be combined in 81 different ways (3^4). This is shown in Fig. 1, where a , b and c are current measurements for the null addition, d , e and f are current measurements for the first addition, g , h and i are current measurements for the second addition and j , k and l are current measurements for the third addition. Tables 5 and 6 show these values, organised in the same order of the first matrix of Fig. 1, respectively, for the cork solution and for the blank. This algorithm shows all possible combinations of values able to adjust a line by LSM, without repetition or change of column in such a way that all lines will be different and will point to a different estimate of the lead (II) content of the cork sample after blank subtraction. The algorithm is absolutely general and expresses itself as r^s final equations, r being the number of repetitions of the measurement of the analytical signal and s the number of standard additions, including the null addition.

The substitution of each letter in the matrix at the top of Fig. 1 by the numbers inside Tables 5 or 6, written in the same relative position, followed by the routine

described in Fig. 1, will produce 81 sets of four i values, which will be the dependent random variable in each of the 81 graphs. The independent variable will be the concentration, which takes the values 0.000, 5.213, 10.38 and 15.49×10^{-8} M, as previously presented.

It is possible to write all 81 equations for the cork solution and the blank according to the combinatory scheme in Fig. 1, starting from the data inside Table 5 or 6, to which the scheme presented in Fig. 1 is applied. Standard concentration sets are constant and are shown in the first column of Table 2.

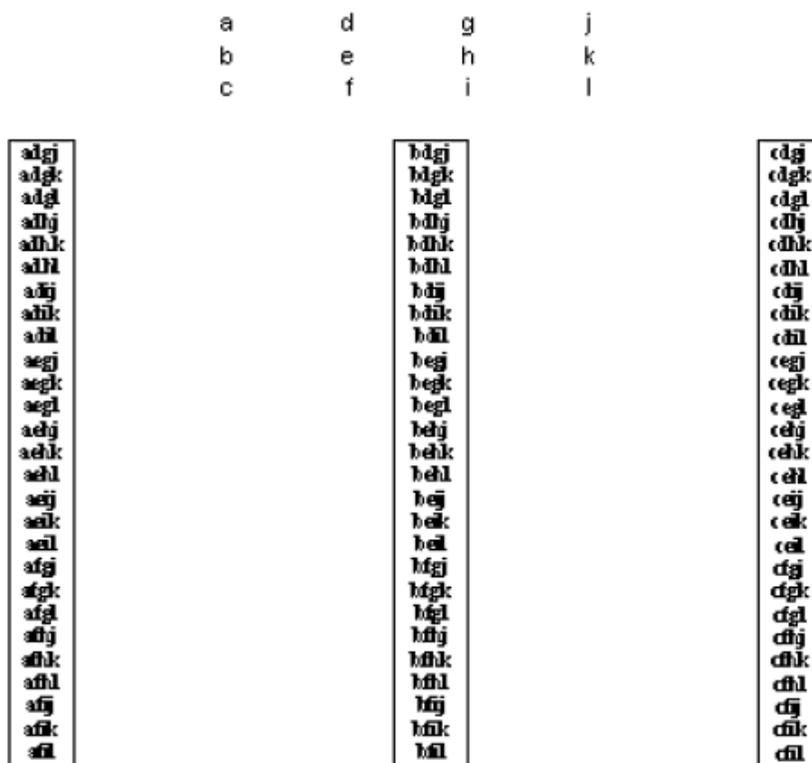


Figure 1. The method used to obtain 81 regression lines (3^4). The columns shown in the first matrix are the corrected electric intensities measured for each of the four concentrations measured. The first column is for the null addition, the second column is for the first addition, the third column is for the second addition and the fourth column is for the third addition. By choosing one measurement from each concentration (i.e. one value from each column), a particular four-point data set for

adjusting the corresponding regression line is obtained. There are 81 ways (which are listed in the three boxes) of constructing these four-point data sets.

Table 5. Cork <i>i</i> data positioned as in the first matrix of Fig. 1			
Cork, <i>i</i> (10^{-8} A)			
Addition 0	Addition 1	Addition 2	Addition 3
1.463	1.932	2.564	3.323
1.349	1.961	2.624	3.237
1.372	1.952	2.543	3.289

Table 6. Blank <i>i</i> data positioned as in first matrix of Fig. 1			
Blank, <i>i</i> (10^{-8} A)			
Addition 0	Addition 1	Addition 2	Addition 3
0.780	4.063	7.016	9.880
0.774	4.069	7.052	10.22
0.769	4.069	7.178	9.950

Several analytical parameters were determined from the 24 current intensities measured, as already presented, and the results are shown in Table 7. The main result is the finding of an expanded uncertainty (95% confidence level) in the measurement according to ISO (1995) of $U = 0.332 \mu\text{g/g}$. Relative standard deviation falls from approximately 9 to 6%. Current data treatment allowed for the determination of the standard deviation of the coefficient of determination (R^2), making the standard deviation of R^2 a new analytic parameter. It also allowed for the estimation of a better limit of detection, falling from approximately $4.7 \mu\text{g/g}$ to roughly $3.9 \mu\text{g/g}$.

In this manner, the uncertainty measurement in lead (II) concentration in cork can be measured using all available data instead of just the averages, which are unable to achieve the results presented here. Table 7 compares the values obtained using the new method presented in this paper with those from the older method.

In fact, one can see that, if all possible results from all data collected are treated, as has been done, their standard deviation is much smaller than the standard deviation predicted by least squares, and that the estimation of lead (II) concentration in the sample also differs (a difference of more than 0.01 µg/g was found in our case study).

Table 7. Analytical parameters

		New algorithm		Old algorithm	
		Cork	Blank	Cork	Blank
<i>m</i> (A/M)	<i>avg</i>	0.122	0.595	0.122	0.595
	<i>s</i>	0.004	0.009	0.005	0.010
<i>b</i>	<i>avg</i> (10 ⁻⁸ A)	1.354	0.858	1.354	0.859
	<i>s</i> (10 ⁻¹⁰ A)	3.632	3.045	4.914	9.232
<i>R</i> ²	<i>avg</i>	0.995	0.999	0.997	0.999
	<i>s</i>	0.003	0.000	n.a. ^a	n.a.
[Pb (II)]	<i>avg</i> (10 ⁻⁸ M)	11.13	1.443	11.12	1.444
	<i>s</i> (10 ⁻¹⁰ M)	61.44	7.040	82.35	17.43
	<i>u_n</i> ^b (10 ⁻¹⁰ M)	6.826	0.782	n.a.	n.a.
LOD (10 ⁻⁸ M)		1.654 (3.998 µg/g)		1.967 (4.755 µg/g)	
LOL (10 ⁻⁸ M)			15.49		15.49
CV (%)		5.521	4.879	7.403	12.07
<i>N</i>			81		1
[Pb (II)] _i	<i>avg</i> (10 ⁻⁸ M)		9.685		9.680
	<i>s_f</i> ^c (10 ⁻¹⁰ M)		61.84		84.17
	** <i>U</i> (10 ⁻¹⁰ M)		13.74		n.a.
<i>D</i> ^d			241.7		241.7
<i>C_{mass}</i> ^e (µg/g)	<i>avg</i>		23.41		23.40
	<i>s_f</i> ^c		1.495		2.035
	CV _i (%)		6.385		8.696
	<i>U</i> ^f		0.332		n.a.
	CV _U (%)		1.419		n.a.
Δ (µg/g)					0.013
Δ _r (%) ^f					0.000(1)

The line produced by the least squares method is applied to the standard addition method: *b* is the intercept with the *yy* axis, *m* is its slope (method sensitivity), *R*² is the coefficient of determination, *avg* is the average, *s* is the absolute standard deviation, LOD is the limit of detection, i.e. 'blank plus three times standard deviation of the blank' (Skoog and Leary, 1992), LOL is the limit of linearity and CV is the coefficient of variation, the ratio *s/avg* × 100 or *U/avg* × 100. Number of values (*N*) = 81 for each—cork and blank—for new algorithm and 1 for the old algorithm

^a n.a. = not applicable.

^b Partial uncertainty, $u_n = s_n / \sqrt{n}$; combined standard uncertainty, $u = \sqrt{(u_1^2 + u_2^2)}$; expanded uncertainty, $U = u \times 2$ (** confidence level of 95%) (ISO, 1995).

^c $s_f = \sqrt{(s_{\text{cork}}^2 + s_{\text{blank}}^2)}$.

^d $21 \times 5 \text{ ml} \times 207.2 \text{ g/mol} / 0.09 \text{ g}$.

^e Mass-based concentration [µg Pb (II)/g of cork (interior of the bark of *Quercus suber* L.)].

^f $\Delta_r (\%) = (\text{new algorithm} - \text{old algorithm}) / \text{old algorithm} \times 100$.

Phytochemical analysis is of great importance throughout the world, particularly in the agro-industry, but quality certification processes follow standard procedures that are not always fully understood by those who exercise them, thus making errors more likely to occur. The simplification of approach is the best way to improve performance. In fact, the present approach was developed based on a serious doubt as to how to calculate standard deviations of slope, xx and yy axis intercepts if least squares gave only one value for the slope and the xx and yy intercepts. It would require several measurements in order to calculate the averages and standard deviations. After all the equations for least squares are known (Miller and Miller, 1988), the knowledge of the foundations on which the estimation of those standard deviations is based would be complete. Nevertheless, if all least square procedures commence by gauging the differences between y measured and y estimated, then the achievement of standard deviations should be possible through the study of all possible lines adjustable to experimentally measured yy data, specifically when it is possible to have a considerable number of repetitions of y values for each x value. The case studied above shows how to perform such an approach after three repetitions of each of the four y values, producing 81 lines. The variabilities of the slope and axis intercepts are revealed to be smaller than those estimated by least square equations, thus presenting a new way of estimating it which generates improved results.

The lead/cork case reported here can be used as a worthy model when alerting researchers to the possibility of significant errors inherent in the addition of all experimental parameters. Although some of these parameters are not yet definable by hydrodynamics or electroanalytical chemistry, it is assumed that they are quasi-linear in their empirical use, but this clearly involves some risk in the final result. The new method proposed warns of the need for a full understanding of the art of analytical science beyond the mere mechanical operation of equipment, with critical insight into the statistical procedure to be adopted for interpreting the results of the analysis of traces.

This method allows for the estimation of known analytical parameters after one single chemical analysis. The advantages of such an approach must be compared with its disadvantages; therefore this discussion will conclude with an enumeration of the main advantages and disadvantages.

The main advantage, and the underlying strength of the new approach, is to include all of the analytical signals. Methods are known for the elimination of extreme values, but there are no methods for the inclusion of coherent values in their absolute state, only their averages. In relation to the elimination of the extreme or incoherent values, one must refer to a criterion for the rejection of incoherent values: the *Q* test

assumes that the distribution of populational data is normal. [Nevertheless], this condition cannot be proven as true or false for distributions with less than 50 results. (. . .) This is why J. Mandel, talking about a small set of data, writes: "Those that believe that they can reject observations using an exclusion criterion integrated in a statistical rule for the rejection of incoherent values are just deluding themselves." (. . .) In the end, the only valid reason for the rejection of a result within a small group of data is the knowledge that some mistake was done during the measuring. Without this knowledge it is advised a careful approximation to the exclusion of values of incoherent appearance [for that a statistical rule is just an important auxiliary]. (Skoog et al., 1988).

Using just the averages instead of all the information in the data set is also a process of exclusion but, contrary to the exclusion of outliers or incoherent data, it excludes quite coherent measurements. This clearly changes the final result, mostly its uncertainty, as is shown in the above example, and must be avoided at all times. The simplest way to do this is through the application of the new method, which considers all analytical signal data equally.

Also relevant is the possibility of gauging the uncertainty of measuring of the analytical signal for each set of such measurements. In the above practical application, 24 signals were needed and an exact estimation of the expanded uncertainty related to the measuring of the analytical signal variable was achieved. The present approach also allows for the estimate of a minimum value for total uncertainty in an analysis from only one sample, as well as the characterisation of each analysis using several usual parameters estimated from a single sample. Since this approach does not need equations for the standard deviations of the slope and of the *yy* and *xx* axis intercepts, it can be implemented in Excel^R much more easily using the line adjustment routines. Uncertainty can now be calculated.

Several disadvantages were, however, encountered: The first is that, for a constant number of repetitions of the measurement of the analytical signal, the number of values increased exponentially with the number of concentrations used in the standardization process (a large number of values can therefore be achieved, even though this disadvantage is currently of little interest due to the use of computers). This method using LSM is also inadequate when any of the assumptions of the method are not fulfilled, specifically when autocorrelation of the analytical signal appears. It is also very important to point out that the purpose of the method is to study a single sample. Using it to avoid the repetition of the measurement of as many samples as needed would be a real scientific disadvantage, even though the production of data that this new method permits can be used to simulate a great number of sample repetitions. It is well understood that t statistics are being used as if averaged final concentration resulted from between 50 and 100 values ($t = 2$), which is true for the new but not for the older approach. Nevertheless, the equation for the standard deviation of the estimated concentration by the standard addition method differs from that of the calibration curve because estimation pretends that an infinite number of analytical signal measures were performed ($1/L$ equals zero). This would lead to the logical conclusion that uncertainty of the previous approach would be zero. The non-application of this conclusion is advised.

The new approach shows a different result by including all current intensity measurements. The new approach does not use the least squares equation for the standard deviation of the results. This equation produces a standard deviation of the results based on points of the line that are not treated as averages (with their standard deviation), but simply as points of the line. That is why the older approach, in which the standard deviation of the result is based solely on the differences between the least square estimation of the points of the line and their averages, is shown as being poor for the production of a final result. In the new method the standard deviation also uses the differences between original analytical signal measurements (resulting in their standard deviations). In the end, repeatability of analytical signals measurement and its relevance to the precision of the estimate of the lead (II) concentration are the present work's most important issues. All the results were presented with four significant digits, but the intermediary computations used as many digits as the Excel[®] allowed (30).

Alternative ways to show how standard deviations of medium points (used to construct an adjusted line) would affect the lead (II) concentration estimate were investigated.

Acknowledgements

Thanks are due to (chronological order): grant number SFRH/BD/31420/2006 from the Foundation for Science and Technology of the Ministry of Science, Technology and Higher Education of Portugal; Russell Alpizar-Jara, from the Department of Mathematics, University of Évora; David Zellmer, from the Department of Chemistry, California State University, Fresno; Victor M. M. Lobo, from the Department of Chemistry, University of Coimbra; Carlos Braumann, from the Department of Mathematics, University of Évora.

References

ISO, 1995. *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurements*. International Standard Organization: Geneva.

Miller J, Miller J. 1988. *Statistics for Analytical Chemistry*. Ellis Horwood: Chichester.

Skoog DA, Leary JJ. 1992. *Principles of Instrumental Analysis*. Saunders College: New York.

Skoog D, West D, Holler F. 1988. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Saunders College: New York.

**CAPÍTULO VI - A CORTIÇA COMO SONDA AMBIENTAL
DE METAIS PESADOS – UM SERVIÇO SÓCIO-
AMBIENTAL PRESTADO POR MONTADOS DE SOBRO
E SOBREIRAIS**

O presente capítulo procura fazer a ligação entre um trabalho do contexto da química analítica e a relevância agrária que possa ter em Portugal. Portanto, foi escrito em português, na Revista das Ciências Agrárias, e pretende, usando uma linguagem directa, com a preocupação de ser de tão fácil entendimento quanto possível, descrever o âmbito em que a voltametria havia já sido aplicada ao material mais próximo da cortiça – a madeira de carvalho – e explicar como é feita uma determinação, que tem como característica mais destacada o baixo custo. Não só é descrita a abordagem quantitativa como é previamente descrita a relevância dos resultados por comparação com os já conhecidos.

A cortiça como sonda ambiental de metais pesados – um serviço sócio-ambiental prestado por montados de sobreiro e sobreirais

The cork as environmental probe of heavy metals – a socioenvironmental service done by “montados” with cork oaks and cork oak stands (*Quercus suber* L.)

J. Ponte-e-Sousa¹, Jorge Ginja Teixeira¹ & António Neto Vaz^{1,2}

¹ Dep. Química, Universidade de Évora, Colégio Luís António Verney, Romão Ramalho, 59,
7000-671 Évora; e-mail: jcps@uevora.pt;

²CECUL Fundação da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

Publicado

Revista de Ciências Agrárias v.30 n.1, Lisboa, Janeiro de 2007

ISSN 0871-018X

Resumo

A longevidade do sobreiro e a capacidade que a cortiça amadia tem de crescer construindo camadas anuais extremamente bem individualizáveis permitiu criar a hipótese de correlação entre as marcas químicas deixadas em cada camada de crescimento e as características ambientais do local onde o sobreiro vegeta. Isto permitiria a construção de séries de novénios de distribuição espacial e temporal da característica que se pretenda estudar. Há nisto algumas semelhanças com

abordagens dendrométricas, sendo que estas tendem a ser muito mais agressivas. Foi objectivo deste trabalho que numa fase inicial do estudo se procedesse à criação de uma maneira credível de fazer a quantificação de chumbo (II) no felema da cortiça recorrendo a uma técnica de análise química nunca antes utilizada para este efeito – a voltametria. A escolha deste método da análise química moderna resulta do conhecimento das vantagens competitivas que tem sobre outros, quando aquele é aplicável, como se demonstra ser o caso. A metodologia utilizada começou por exigir a recolha de uma porção de cortiça de um sobreiro escolhido ao acaso, de maneira a encontrar o material cortiça como se encontra na árvore. No momento não se consideram possíveis correlações biogeográficas mas tão-somente o material propriamente dito. Tendo sido possível fazer a quantificação indicada, estão em curso os estudos necessários à verificação da hipótese que dá o mote a este trabalho de investigação centrado no sobreiro do montado e do sobreiral, sendo que a principal conclusão a retirar é que a possibilidade de utilização do sobreiro como indicador da qualidade ambiental do local, neste caso quanto ao teor em Pb(II), é mais um serviço prestável (pelo ecossistema que orbita em torno do sobreiro) às populações humanas da área da bacia mediterrânica ocidental. O futuro uso da voltametria como forma de, determinando a concentração do metal em causa em cada camada da cortiça de sobreiros dispersos na área onde vegetam, poder obter-se uma estimativa dos teores médios desses metais nos locais frequentemente caracterizados pela presença daquela árvore, poderá vir a ser muito interessante para um conhecimento mais profundo desta realidade.

Abstract

The long term life of cork oak and the capacity that “amadia” cork has to build annual layers (highly separable) allowed to create the hypothesis of correlation between the chemical marks made in each growing layer and the environmental characteristics of the place where the cork oak grows. This would allow to build space and time distribution series every nine years, about the characteristic in study. This is

somewhat alike some dendrometric procedures, but these ones are much more aggressive. The objective of this work was to study lead (II) in cork by voltammetry, because this method is well recognized as having competitive advantages over other known methods already used. The methodology adopted was: bark extraction, acid-hot digestion in closed recipient and voltammetric analytical signal search. The main conclusion is the possible association of this technique as another socioenvironmental service that “montado” can provide, in order to evaluate the quality of mediterranean basin continental areas with cork oak tree, regarding lead contamination.

Introdução

O teor em chumbo da cortiça interessa à investigação científica desde 1986 recorrendo a métodos de análise química envolvendo a interacção entre a radiação electromagnética e a matéria, nomeadamente a espectrometria de absorção atómica. Em 2003 também a análise química recorrendo a um método electroquímico interfacial dinâmico, assim caracterizado por recorrer à superfície electródica onde surge a resposta em termos de corrente eléctrica a um varrimento de potencial eléctrico, foi usado: a voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial, cuja aplicação é revista no presente trabalho.

Marques *et al.* (1986) determinou por espectrometria de absorção atómica os seguintes teores em chumbo, em percentagem de peso seco:

- cortiça amadia (amostra A1 a A3) - 0,00102%, 0,00295%, 0,0037%;

- entrecasco (amostra A1 a A3) - 0,00479%, 0,00902%, 0,00734%;

- felema amostra (amostra A1 a A2) - 0,0044%, 0,00558%.

- Desperdícios de cortiça Unidade Industrial (UI) 1^a, Filtro - 0,0025%, Rotex - 0,01433%, BM - 0,00133%; UI 2^a, Raspa - 0,00366 %, Pó - 0,00413%.

- Granulado de cortiça (0,5-7 mm) - 0,00416% (Marques *et al.*, 1986).

Pereira (1987) determinou por espectrometria de absorção atómica os seguintes teores em chumbo, em percentagem de peso seco: raspa - 0,0009%; cortiça - 0,0007%. Soares *et al.* (1993) determinou por espectrometria de absorção atómica

utilizando uma câmara de grafite com plataforma de L'vov o seguinte teor em chumbo em rolhas de cortiça: 0,0000054%. Ferreira *et al.* (1996) determinou por espectrometria de absorção atómica electrotérmica os seguintes teores em chumbo em amostras de cortiça rabanada: 0,000108%, 0,0000095%, 0,0000036%, 0,000089% (Portuguesa); 0,000108% e 0,0000136%; (Espanhola); 0,000238% e 0,0000258% (Marroquina). Gil (1998) recolhe e publica um conjunto de resultados de vários autores (nomeadamente Lanuza, 1965; Caldas, 1985; Marques, 1986; Pereira e Rodrigues, 1987; Borges, 1988 e Ferreira *et al.*, 1996), donde retirou que o chumbo se encontra entre 0,001 e 0,005% (m/m) (Gil, 1998). Ponte-e-Sousa *et al.* (2003a) faz a análise qualitativa de chumbo (II) em cortiça por voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial após digestão ácida a quente em recipiente fechado. Também nesse ano determina 0,00241% de chumbo (II) numa amostra de cortiça pelo mesmo método (Ponte-e-Sousa, 2003b).

O interesse na determinação de metais pesados em tecidos vegetais provenientes de árvores é demonstrado por vários trabalhos, dos quais se destacam os trabalhos versando sobre o efeito da poluição industrial nas concentrações de zinco, cádmio e cobre nos anéis de xilema do *Pinus sylvestris* L. e no solo (Lukaszewski *et al.*, 1988), sobre o efeito da poluição industrial nas concentrações de cobre, chumbo, zinco e cádmio nos anéis de xilema do *Populus marilandica* (resistente) e do *Populus balsamifera* (sensível) (Lukaszewski *et al.*, 1993), sobre uma estimativa da poluição por metais pesados em florestas de carvalhos do “Plateau” de Krotoszyn (Opydo, 1993) e sobre a concentração de metais pesados em anéis de crescimento da madeira de carvalho das regiões de Taunus (Alemanha) e da Valdivia (Chile) (Queirolo *et al.*, 1990).

São conhecidos três trabalhos nos quais a técnica analítica usada foi a voltametria. Estes são sobre a determinação de traços de Cd, Cu, Pb e Zn em anéis de crescimento anual por voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial (Queirolo & Valenta, 1987), sobre o estudo da distribuição radial e axial de metais pesados em anéis de crescimento de carvalho por voltametria de redissolução (Queirolo *et al.*, 1991) e sobre a determinação de Cd, Pb, Cu e Zn em madeira por voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial (Opydo, 1993).

Material e métodos

Reagentes e soluções

Foram preparadas: Uma solução de electrólito de suporte NaCl 0.1 mol.dm⁻³ dissolvendo NaCl (Merck p. a.) em água Milli-Q. Uma solução de HNO₃ 0.1 mol.dm⁻³, feita dissolvendo HNO₃ 65% (Merck p.a.) em água Milli-Q. Uma solução-mãe de Pb(II) 1.1x10⁻² mol.dm⁻³, dissolvendo Pb(NO₃)₂ (Riedel) em HNO₃ 0.01 mol.dm⁻³. Uma solução padrão de trabalho de Pb(II) 1.1x10⁻⁵ mol.dm⁻³, feita diluindo a anterior. Foram usados como reagentes digestores: HNO₃ 65% (Merck p. a.) e H₂O₂ 30% p/v (Panreac p. a.).

Instrumentação

A voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial foi feita usando um potencióstato/galvanóstato AUTOLAB/PGSTAT 20 (Eco Chemie) associado a um VA Stand 663 (Metrohm). Neste equipamento foram usados: um eléctrodo de mercúrio de gota suspensa, um contra-eléctrodo de vareta de carbono vítreo, e um eléctrodo de referência de Ag/AgCl/KCl 3M. O software utilizado foi o GPES 4.9 (Eco Chemie).

Condições voltamétricas

Pré-tratamento: Tempo de purga: 5 s. Potencial de deposição: -0.650 V. Tempo de deposição: 180 s. Agitador desligado durante a deposição: Não. Tempo de equilíbrio: 30 s.

Medição: Célula desligada após a medição: Sim. Tempo de modulação: 0.05 s. Intervalo de tempo: 0.25 s. Potenciais: Potencial inicial: -0.650 V. Potencial final: - 0.1 V. salto de potencial: 0.00195 V. Amplitude de modulação: 0.03 V. Velocidade de varrimento: 7.8 mV/s.

Outras características

Superfície da gota: $0.25 \text{ mm}^2 \pm 10\%$. Velocidade de rotação do agitador: 1500 min^{-1} . Tempo de desarejamento: 10-12 min.

Procedimento

Digestão: Foram feitas várias digestões de cortiça de acordo com o esquema seguinte: Extração das faces da pequena prancha; Granulação com granulador plástico; Pesagem de 0.09g de cortiça granulada; Adição de 2 ml HNO_3 e 0.25 ml de H_2O_2 ; Descanso de 2 horas, aproximadamente; Digestão em recipiente fechado ($85\text{-}90^\circ\text{C}$) durante 8 horas.

Voltametrias: Quantidades de 0.1 ml de padrão foram adicionadas a 1 ml de solução de cortiça e 20 ml de electrólito de suporte. Cada medição foi feita em triplicado em cada adição.

Resultados e discussão

Com vista à confirmação da possibilidade da voltametria permitir a análise qualitativa e quantitativa do Pb(II) no felema da cortiça foram efectuados ensaios dos quais resultaram voltamogramas como os visualizáveis na Figura 1, onde a consistência da análise é evidenciada pelo R^2 de 0,9970 (Figura 2) como em (Ponte-e-Sousa *et al.*, 2003a).

A Figura 1 mostra como o sinal analítico varia progressiva e regularmente com o acréscimo da concentração de Pb(II) durante a análise do mesmo ião proveniente do felema da cortiça utilizada. O elevado coeficiente de correlação (0,9970), a simetria das curvas, obtidas sem qualquer filtragem informática, e o aparecimento dos seus máximos ao potencial característico do ião Pb(II), revelam a potência do método para fazer a análise deste ião no felema da cortiça, permitindo a sua aplicação à análise de

qualquer amostra de felema, quanto a este ião, nomeadamente após individualização da camadas de crescimento numa amostra de cortiça amadia, o que terá como consequência a possibilidade de ter no sobreiro, cujas características de crescimento da cortiça amadia e longevidade da árvore são uma vantagem, um verdadeiro serviço sócio-ambiental, prestável pelo ecossistema mediterrânico, onde quer que este possua sobreiros, serviço esse que faz desta nobre árvore uma verdadeira sonda da qualidade ambiental capaz de indicar aos habitantes da região quais as condições em que vivem quanto à presença do poluente analisado, como aqui se apresenta para o caso da faculdade de analisar o Pb(II) no felema de cortiça amadia por voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial.

A subtracção do valor de concentração obtido para a intensidade de corrente nula do branco à concentração obtida da mesma maneira para a cortiça permite, de acordo com o método da adição padrão e utilizando as equações presentes na figura 2, obter para a concentração de chumbo (II) proveniente da cortiça e presente na célula voltamétrica o valor de 9.97×10^{-8} M. A utilização dos factores convenientes leva à transformação deste valor em: $A = B \times C \times D \times E / F = G$ onde **A** significa (m Pb (II) / m cortiça), **B** significa $9,97 \times 10^{-8}$ M, **C** significa 21 (deve-se à diluição de 1 para 21 feita), **D** significa 5 ml (deve-se a que aqueles 1 ml vieram de uma aferição de 5 ml), **E** significa 207,2 g / mol (massa molar do chumbo), **F** significa 0,09 g (massa de cortiça usada) e **G** significa 24,1 $\mu\text{g Pb (II) / (g de cortiça usada)}$, sendo este o resultado final obtido para a concentração mássica de Pb (II) nesta cortiça medida por este método.

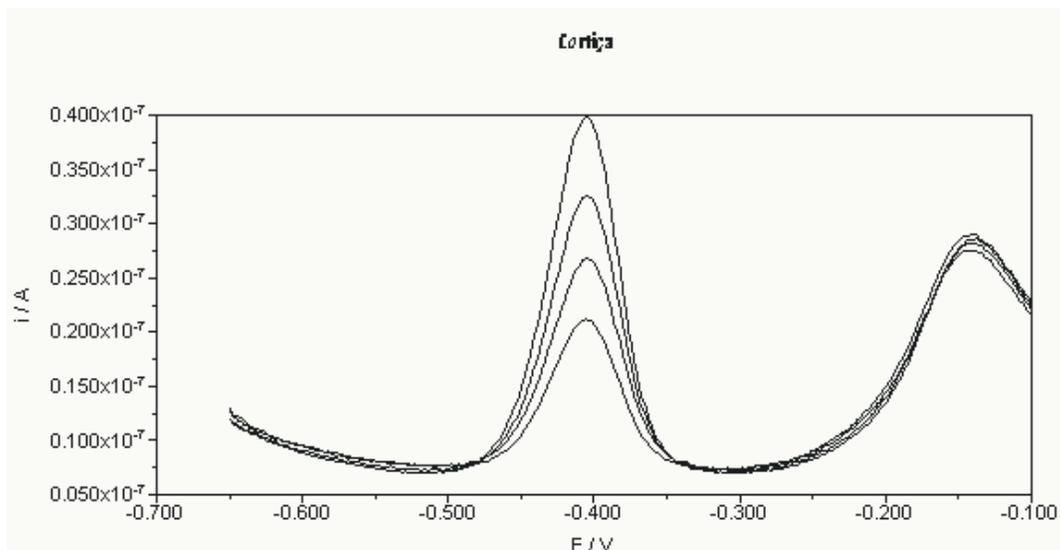


Figura 1 – Voltamogramas representativos: Acréscimo da intensidade da corrente eléctrica (i/A) com adições sucessivas de iguais quantidades do ião $Pb(II)$, à quantidade do mesmo ião proveniente do felema da cortiça (digerida pelo método ácido a quente usado), ao potencial característico do ião $Pb(II)$ (E/V)

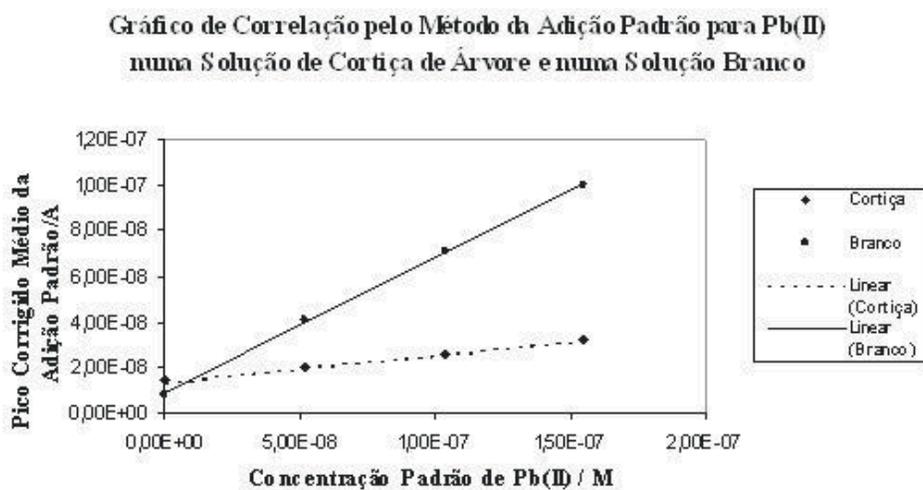


Figura 2 – Acréscimo da intensidade da corrente eléctrica (i/A) com adições sucessivas de iguais quantidades do ião $Pb(II)$, à quantidade do mesmo ião proveniente do felema da cortiça (digerida pelo método ácido a quente usado), ao potencial característico do ião $Pb(II)$ (E/V). A curva a tracejado resulta do ajuste aos

pontos resultantes, cada um, da média de três máximos da intensidade de corrente obtidos, para cada adição, semelhantemente ao apresentado em qualquer das curvas da Figura 1.

Conclusões

Procurou-se com o presente trabalho, para além de revelar o resultado obtido de 24.1 µg Pb(II)/(g de cortiça usada), uma melhor tradução para a linguagem considerada mais acessível a não electroquímicos e o anúncio da aplicabilidade da voltametria num âmbito tão geral como é o de permitir observar a nobreza do Sobreiro como sonda ambiental prestadora de um serviço sócio-ambiental enriquecedor da região onde vegeta. Tal é, cremos, algo enquadrável no largo espectro que é o extensionismo rural, cujas virtudes não nos cansamos de engrandecer e cuja menor atenção a que por vezes é votado não nos impede de insistir nas vantagens de manter o hábito, sempre tido por uma importante parte daqueles que estão ligados ao mundo rural, de observar, estudar, e divulgar, na linguagem mais acessível possível, os resultados da sua investigação, como agora se faz.

Tratando-se este trabalho de um essencialmente analítico, afigura-se-nos muito interessante apresentá-lo como um bom indicador da possibilidade de fazer uma determinação de chumbo em cortiça por um método cuja distinção positiva é a robustez operacional conjugada com os menores custos associados ao uso de aparelhagem desta natureza (potenciostatos, galvanostatos, eléctrodos,...), não acompanhada de distinções negativas significativas uma vez que a perda de sensibilidade associada a estas técnicas electroanalíticas, quando comparadas com as espectrais, que a precederam no estudo do chumbo, é habitualmente tida como desprezável para a generalidade das aplicações e expectavelmente para esta também, ainda que afirmá-lo com rigôr e certeza concretos exigiria um trabalho do âmbito contabilístico ainda não feito, visando apurar custos exactos.

Verifica-se que a concentração obtida se enquadra no intervalo das obtidas no

passado, e que é suficientemente baixa para não permitir esperar qualquer perigo alimentar associado ao uso de cortiça em contacto com alimentos, em particular bebidas alcoólicas, como indicado também em (Soares *et al.*, 1994).

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Departamento de Química da Universidade de Évora a disponibilização das condições necessárias à execução do presente trabalho.

Referências bibliográficas

Ferreira, Margarida A., Soares, M. Elisa, Bastos, M. Lourdes & Leal Ferreira, J. M. 1996. *Avaliação do conteúdo de Ferro, Cobre, Alumínio, Chumbo e Cádmio em Cortiça originária de Portugal, Espanha e Marrocos por Espectrometria de Absorção Atómica com Atomização Electrotérmica*, CTCOR MAGAZINE, **1**:2.

Gil, Luís, 1998. *Cortiça: Produção, Tecnologia e Aplicação*, INETI.

Lukaszewski, Z., Siwecki, R., Opydo, J. & Zembruski, W. 1988. *The effect of industrial pollution on zinc, cadmium and copper concentration in the xylem rings Scot's pine (Pinus sylvestris L.) and in the soil*, Trees Structure and Function **2**:1-6.

Lukaszewski, Z., Siwecki, R., Opydo, J. & Zembruski, W. 1993. *The effect of industrial pollution on copper, lead, zinc and cadmiun concentration in xylem rings of resistant (Populus marilandica) and sensitive (P. balsamifera) species of poplar*, Trees Structure and Function **7**:169-174.

Mata, F., Marques, V. & Pereira, H. 1986. *Influência da granulometria na determinação*

de elementos minerais na cortiça, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais - Cortiça **569:68**.

Marques, V., Mata, F. & Pereira, H. 1986. *Composição química mineral dos desperdícios de cortiça provenientes da indústria de granulados*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais – Cortiça **574:233**.

Opydo, J. & Lukaszewski, Z. 1993. *Determination of Cd, Pb, Cu and Zn in wood by differential pulse anodic stripping voltammetry*. Chem. Anal. (Warsaw), **38:823-827**.

Opydo, J., 1994. *Estimation of oak stand pollution heavy metal on the Krotoszyn Plateau*, Acta societatis botanicorum poloniae, **1:83-86**.

Pereira, H., 1987. *Composição química da raspa em pranchas de cortiça de produção amadia*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais - Cortiça, **587:231**.

Ponte-e-Sousa, J.C.A.C., Ginja Teixeira, J.M. & Neto Vaz, A.M. 2003a. *Electroanalysis of Heavy Metals in the Cork of Quercus Suber Tree. Preliminary Study: Electroanalyticity of Pb(II)*, Portugaliae Electrochimica Acta, **21:74 – 84**.

Ponte-e-Sousa, J.C.A.C., Ginja Teixeira, J.M. & Neto Vaz, A.M. 2003b. *The importance of the cork (bark) of Quercus suber in the environmental monitoring of heavy metals*, EJEAFChe, **2:2**.

Queirolo, F. & Valenta, P. 1987. *Trace determination of Cd, Cu, Pb and Zn in annual growth rings by differential pulse anodic stripping voltammetry*, Fresenius Z Anal Chem., **328:93-98**.

Queirolo, F., Valenta, P., Stengen, S. & Breckle, S. 1990. *Heavy metal concentrations in oak wood growth rings from the Taunus (Federal Republic of Germany) and the Valdivia (Chile) regions*. Trees Structure and Function **4:81-87**.

Queirolo, F., Valenta, P., Stengen, S. & Sanchez, A.M. 1991. *Study of the radial and axial distribution of heavy metals in oak growth rings by stripping voltammetry*. *Electroanalysis*, **3**:325-329.

Soares, M. Elisa, Bastos, M. Lourdes & Ferreira, Margarida A. 1993. *Determination of Cooper, Iron, Aluminium, Lead, and Cadmium in Cork Stoppers by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **8**:655-657.

Soares, M. Elisa, Borges, M. A., Bastos, M. Lurdes & Ferreira, M. A. 1994. *Estudo de migração de metais nas rolhas de cortiça para um simulador das bebidas alcoólicas*, *Ciência e Técnica Vitivinícola* **11(2)**:87-99.

CAPÍTULO VII - CONCLUSÕES

Conclusões gerais

A realização de um trabalho analítico que fez uso de uma amostra real digerida de forma a que a sua solubilização não a transformasse numa matriz de tal maneira descaracterizada e diluída que houvesse pouca diferença entre fazer as análises assim prováveis e uma análise de águas foi, num primeiro momento, o factor diferenciador do procedimento aqui apresentado. Também foi procurado usar processos simples, de fácil reprodução, evitando usos dispendiosos. A utilização dos meios disponíveis revelou-se capaz de permitir a criação de hipóteses que foram sucessivamente testadas. Foi garantido que, para a amostra como foi tratada, a maximização do sinal analítico não se tornou impossível, mas sim otimizada. Os resultados voltamétricos, quando comparados com os previamente existentes, ou com os encontrados no decurso do trabalho, mostraram-se concordantes, inclusive melhores quando comparados indicadores como o desvio-padrão inter-amostal, visando uma medida da reprodutibilidade dos resultados analíticos. Por outro lado a inexistência de medidas de sensibilidade, desvio-padrão da sua estimativa, desvio-padrão e incerteza da estimativa intra-amostal da concentração do analito, coeficiente de correlação do ajuste da recta (quer fosse curva de calibração quer fosse método da adição padrão), seu desvio-padrão intra-amostal, ou de qualquer referência aos respectivos gráficos produtores de resultado, ou mesmo de qualquer referência aos próprios sinais analíticos e forma como foram parcialmente influenciados pelo branco amostral, são factores que debilitavam o estudo do conteúdo em chumbo do felema da cortiça amadia, que agora estão disponíveis na sua melhor forma.

Se se focar a interpretação do presente trabalho no último factor referido - o estudo do conteúdo em chumbo do felema da cortiça amadia – o ganho é ainda maior, pois que, concretamente, o único estudo analítico publicado sobre o teor em chumbo da cortiça visava a rolha. Trata-se, portanto, de ter no presente trabalho o primeiro que se interessou, do ponto de vista da análise Química, pelo estudo deste analito na referida matriz. É, em função dos resultados apresentados, e até considerando outros, mais antigos, ainda que incipientes do ponto de vista analítico, que se observa, agora mais claramente, uma tendência que aponta no sentido de serem previsíveis quedas

de quase mil vezes quando se passa do teor em chumbo no felema da cortiça amadia para o teor em chumbo no felema da rolha, com a cortiça cozida a ficar algures em posição intermédia.

Transformada uma simples hipótese numa simples tese fica, contudo, muito por esclarecer. Desde logo todo o procedimento analítico beneficiaria, certamente, se fossem testadas as muitas possibilidades que o mercado oferece relativamente a eléctrodos, electrólitos de suporte e métodos de digestão. Também fica em aberto a determinação simultânea de outros metais, estudando potenciais interferências e respectivos rácios de constância, bem como quais as condições analíticas capazes de obviar a qualquer possível sobreposição de sinais. A não existência de um material de referência capaz de simular a matriz em análise revelou-se impossível de resolver, uma vez que a costumada técnica que consiste em usar uma quantidade excessiva de adição, de tal maneira que o conteúdo presente naturalmente na matriz fosse negligenciável, foi desprezada, já que de nada interessa validar um método às custas de uma recuperação que seria feita para valor muito superior aos mensuráveis numa análise real. Não existindo ainda um material de referência há que aguardar pelo seu aparecimento no mercado.

Enquanto possível de perspectivar pela via quimiométrica, concretamente electroquimiométrica, ou estatística, em abstracto, o presente trabalho conseguiu simplificar uma abordagem decorrente da aplicação do método dos mínimos quadrados ao método da adição padrão. A necessidade de fazer uma extrapolação, em vez da habitual interpolação aquando do uso da curva de calibração, introduz um factor aproximativo que faz variar bastante a forma da equação que permite estimar o desvio-padrão intra-amostal da estimativa da concentração do analito. Para ultrapassar esta dificuldade, e ultrapassar também a dificuldade causada pela ausência de acesso à dita equação no programa informático que foi utilizado, houve que usar uma estratégia combinatória que não só permitiu atingir o resultado em falta – o desvio-padrão intra-amostal – como permitiu demonstrar que o caminho usado faz baixar o limite-de-deteccção e o dito desvio-padrão, quando comparado com o valor desse parâmetro quando calculado pelo método tradicional. Portanto, usando da aplicação de uma máxima que convida a fazer médias apenas no fim das contas, observou-se que, tratando todos os sinais analíticos obtidos, em vez de uma média

para cada concentração de analito que os causou, obtém-se como efeito uma maior explicitação do cálculo, que assim não tem qualquer passo menos óbvio nele contido, com ganhos ao nível dos indicadores de qualidade analítica já indicados.

Pensando na aplicação industrial que um método desta natureza possa ter surge, a montante, a colaboração na determinação do teor metálico da cortiça, logo que seja capaz de fazer a determinação de um maior número de metais. É sabido que desse teor resulta o aumento da velocidade de desgaste das lâminas usadas na granulação da cortiça, entre outras usadas noutras fases da indústria corticeira. A jusante existe a determinação da qualidade do material, nomeadamente enquanto contactante com matérias alimentares. No caso concreto da rolha seria, dadas as circunstâncias específicas desse mercado, de toda a conveniência que, especialmente em Portugal, se desenvolvesse o hábito de usar o conhecimento adquirido para fortalecer os argumentos que permitem colocar o produto à disposição. E, se houver quem não receie mostrar que, ao nível de um parâmetro tão toxicologicamente activo, como são os metais pesados, há conhecimento capaz de demonstrar que tal não resultará da rolha, então, pode ser imaginada a pergunta posta a quem defende o uso de outros vedantes.

Para o Ambiente, nomeadamente para os ecossistemas da bacia mediterrânica ocidental, o crescimento camada-a-camada que a cortiça amadia apresenta, com camadas individuais muito bem definidas, permite colocar a hipótese de existir, naturalmente, no sobreiro, uma fonte de informação – um bio-indicador – que não exige o abate de uma árvore, como é o caso da abordagem dendrocronológica, e que, caso seja feita uma análise nas referidas camadas, poderá permitir ter um registo bastante interessante da história do local onde o sobreiro vegeta. Visto assim cada sobreiro pode ser classificado como uma sonda ambiental a explorar, com risco nulo para a conservação da qualidade da vida do sobreiro, da sérié de vegetação que lidera e das comunidades animais, irracionais e racionais, que dele dependem.

Discussão e conclusões finais

Com vista à discussão dos resultados obtidos após a quantificação da concentração de chumbo em felema de cortiça sem tratamento industrial por voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial apresenta-se uma análise estatística de novos resultados provenientes de uma análise química feita numa amostra colhida na mesma prancha de cortiça (ca. 15 cm²). Os voltamogramas obtidos podem ser consultados no anexo II e apresentam o pico a potencial mais negativo correspondente à oxidação do chumbo em função da etapa de redissolução, com a respectiva intensidade de corrente eléctrica. Esses voltamogramas representam o comportamento do par Pb(II)/Pb(Hg). Esse par é proveniente maioritariamente do felema da cortiça no voltamograma "Cort". Para dez acréscimos sucessivos de cerca de 5×10^{-8} mol/L da concentração analítica de Pb(II) na solução contendo como electrólito de suporte NaCl 0.1 mol/L, digesto da cortiça e sucessivas adições de padrão, regista-se aumento da intensidade da corrente. Os resultados são apresentados na seguinte tabela onde é exposto um exercício que visa mostrar a evolução da estimativa da concentração, bem como dos parâmetros da recta de ajuste, em função do número de adições de padrão.

Os pares ordenados (concentração/M, corrente/A) foram: $\{(0, 5.222 \times 10^{-9}); (5.213 \times 10^{-8}, 7.733 \times 10^{-9}); (1.038 \times 10^{-7}, 9.651 \times 10^{-9}); (1.549 \times 10^{-7}, 1.036 \times 10^{-8}); (2.056 \times 10^{-7}, 1.084 \times 10^{-8}); (2.558 \times 10^{-7}, 5.047 \times 10^{-9}); (3.056 \times 10^{-7}, 1.645 \times 10^{-8}); (3.548 \times 10^{-7}, 1.797 \times 10^{-8}); (4.037 \times 10^{-7}, 1.518 \times 10^{-8}); (4.521 \times 10^{-7}, 2.156 \times 10^{-8}); (5.000 \times 10^{-7}, 2.218 \times 10^{-8})\}$.

Tabela 1 – Cálculo dos parâmetros da recta de ajuste aos pares ordenados indicados na página anterior. O declive da recta é m , a ordenada na origem é b , C_{massa} é a concentração mássica e R^2 é o coeficiente de determinação. N é o número de adições de padrão, A é ampere, M é mol/L, ppm é parte por milhão e Pb é chumbo.

N	m (A/M)	b (10^{-9} A)	C_{massa} Pb (ppm)	R^2 (%)
1	0.048	5.222	22.72	100.0
2	0.043	5.317	26.62	99.45
3	0.034	5.632	37.06	94.91
4	0.027	5.970	49.92	90.78
5	0.005	7.462	338.1	3.902
6	0.021	6.146	68.39	33.77
7	0.028	5.398	43.15	53.75
8	0.026	5.634	48.89	58.20
9	0.030	5.027	36.39	69.29
10	0.032	4.766	32.30	76.37

Os resultados da tabela 1 mostram como a concentração estimada se mantém na proximidade do valor anteriormente estimado no capítulo V, isto é 23.41 ppm (no caso tabelado acima temos valores de 22.72 ppm a 338.1 ppm). De notar que para quatro padrões adicionados, à semelhança do capítulo V, obtém-se 49.92 ppm para um coeficiente de determinação superior a 90%. Se retirarmos do cálculo o valor mais desviante ($N = 5$) temos como estimativa o valor de 86,3 ppm, $R^2 = 93.9\%$ (anexo II). Tirando o desviante que se segue temos 77.6 ppm, $R^2 = 98.5\%$. Tentando ter um grande número de pontos na recta, e a melhor correlação, fica-se com 82,3 ppm, $R^2 = 99.5\%$. Percebe-se, assim, que a obtenção de coeficientes de determinação superiores a 95% foi possível, de maneira aceitável, apenas após a exclusão de valores desviantes. A este respeito vale a pena referir a regra enunciada na página 88 citando Mandel porque do conjunto dos resultados reunidos, quer devido a medições próprias, quer alheias, é mais provável que a estimativa obtida com os primeiros pontos da recta esteja mais próxima da realidade do que a que é obtida com pontos

distantes, apesar de para quatro pontos ter sido obtido apenas 90.78% como valor de coeficiente de determinação. É de notar que todas as estimativas já referidas no decurso desta tese mostram uma clara tendência para concentrações da ordem das dezenas de ppm em felema de cortiça sem tratamento industrial, e valores muito inferiores para cortiça com tratamento industrial. Se tomarmos como exemplo as várias estimativas possíveis feitas na tabela 1 (acima) e no anexo II, exceptuando N = 5 da tabela 1, obtemos como resultado $40.60 \text{ ppm} \pm 13.91 \text{ ppm}$ (34.27%). Esta estimativa e a estimativa do capítulo V dão, para um número de duas amostras de cortiça sem tratamento industrial, efectivamente estudadas, um valor médio de $32.00 \text{ ppm} \pm 12.16 \text{ ppm}$ (37.98%).

Em conclusão:

A “COST action MP0602” prevê o banimento do chumbo em ligas para uso em soldas de alta temperatura. Esta acção terminará em Maio de 2011 (http://www.cost.esf.org/domains_actions/mpns/Actions/HISOLD). Houvesse qualquer dúvida sobre o significado negativo mundial proveniente da actual ubiquidade do chumbo e este dado seria suficiente para reduzir a nada tal dúvida. A conclusão final deste trabalho não poderia ser mais do que o contributo para o conhecimento do teor em chumbo do felema da cortiça amadia, material usado na manufactura das rolhas, que devem poder ser classificadas como “lead-free”, pois isso seria importante.

Após este trabalho o conhecimento analítico existente sobre esta temática pode ser resumido como se segue:

Tabela 2 - Sobre felema de cortiça natural. * capítulo V e anexo II. ** capítulo V e pág.112.

n		Voltametria de redissolução anódica de impulso diferencial (ppm)	Espectrometria de absorção atómica (ppm)
Uma amostra de felema de cortiça (Ponte-e-Sousa, Neto-Vaz, 2009)	Tratamento estatístico tradicional	23.40±2.035 (8.696%)	-
	Tratamento estatístico proposto	23.41±1.495 (6.385%) [23.41±0.332 (1.419%), nível de confiança de 95% de acordo com ISO, 1995]	
Duas amostras de felema de cortiça [actual tese e (Marques <i>et al.</i> , 1986)]		52.85±41.63 (77.36%)* 32.00±12.16 (37.98%)**	49.9
Cinco amostras de felema de cortiça (Pereira, 1987)		-	7

Tabela 3 - sobre felema de rolha de cortiça

Uma amostra de felema de rolha de cortiça (Soares <i>et al.</i> , 1993)	Uma alíquota	-	0.054
	Vinte leituras numa alíquota	-	±1.4%
	Vinte alíquotas lidas	-	±9.5%

Tabela 4 - sobre felema de cortiça cozida

Oito amostras de felema de cortiça cozida (Ferreira <i>et al.</i> , 1996)	-	0.74±0.66 (89.19%)
---	---	--------------------

O valor médio, por referência, e respectivo desvio-padrão, para os seis trabalhos existentes é de (22.30±24.04) ppm (108%)*, (18.85±19.90) ppm (106%)**, meramente indicativo.

CAPÍTULO VIII - BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

Bindler, R., Brännvall, M. L., Renberg, I. (1999) *Natural Lead Concentrations in Pristine Boreal Forest Soils and Past Pollution Trends: A reference for critical load models*, Environmental, Science & Technology, American Chemical Society, 33:3362-3367.

Brännvall, M. L., Bindler, R., Emteryd, O., Renberg, I. (2001a) *Vertical distribution of atmospheric pollution lead in Swedish boreal forest soils*, Water, Air and Soil Pollution, Kluwer Academic Publishers, 1:357-370.

Brännvall, M. L., Kurkkio, H., Bindler, R., Emteryd, O., Renberg, I. (2001b) *The role of pollution versus natural geological sources for lead enrichment in recent lake sediments and surface forest soils*, Environmental Geology, Springer-Verlag, 40:1057-1065.

Ehrlich, G., & Gerbatsch, R. (1965) *Untersuchungen zur Anwendung des Eichzusatzverfahrens*, Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, Springer Berlin / Heidelberg.

Ferreira, M. A., Soares, M. E., Bastos, M. L., Leal Ferreira, J. M. (1996). *Avaliação do conteúdo de Ferro, Cobre, Alumínio, Chumbo e Cádmio em Cortiça originária de Portugal, Espanha e Marrocos por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Electrotérmica*, CTCOR MAGAZINE, 1:2.

Gil, L., (1998). *Cortiça: Produção, Tecnologia e Aplicação*, INETI.

Ginja Teixeira, J. (2005). *Influência dos catiões de amónio e de fosfónio tetra-N-butílicos no comportamento electroquímico do par $Tl(I)/Tl(Hg)$ em meio aquoso*, Tese de Doutoramento em Química, Universidade de Évora.

ISO, (1995). *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurements*. International Standard Organization: Geneva.

<http://products.metrohm.com> (Dezembro de 2010).

<http://www.ecochemie.nl> (Dezembro de 2010).

http://www.cost.esf.org/domains_actions/mpns/Actions/HISOLD (Dezembro de 2010).

Locatelli, C. (2007) *Voltammetric methods for the simultaneous determination of trace metals in foods plant tissues and soils*. Journal of the Science of Food and Agriculture 87, 305-312.

Locatelli, C. (2006a) *Simultaneous square wave stripping voltammetric determination of platinum group metals and lead at trace and ultratrace concentration level – application to surface water*. Analytica Chimica Acta 557, 70-77.

Locatelli, C. (2006b) *Possible interference in the sequential voltammetric determination at trace and ultratrace concentration level of platinum group metals and lead. Application to environmental matrices*. Electrochimica Acta 52, 614-622.

Locatelli, C. (2005a) *Platinum, Rhodium, Palladium and Lead: elements linked to vehicle emissions. Their simultaneous voltammetric determination in superficial water*. Electroanalysis 17, 2.

Locatelli, C. (2005b) *Overlapping voltammetric peaks – an analytical procedure for simultaneous determination of trace metals. Application to food and environmental matrices*. Analytical and Bioanalytical Chemistry 381, 1073-1081.

Locatelli, C. (2004) *Heavy metals in matrices of food interest: sequential voltammetric determination at trace and ultratrace level of Copper, Lead, Cadmium, Zinc, Arsenic, Selenium, Manganese and Iron in meals*. Electroanalysis 16, 18.

Locatelli, C. (2002) *Simultaneous determination of Aluminum and Iron in high salt content matrices by adsorptive stripping voltammetry. Application to dialysis fluids.* Electroanalysis 15, 17.

Locatelli, C., Melucci, D., Torsi, G. (2005) *Determination of platinum-group metals and lead in vegetable environmental bio-monitors by voltammetric and spectroscopic techniques: critical comparison.* Analytical and Bioanalytical Chemistry 382, 1567-1573.

Locatelli, C., Torsi, G. (2004) *Simultaneous square wave anodic stripping voltammetric determination of Cr, Pb, Sn, Sb, Cu, Zn in presence of reciprocal interference: application to meal matrices.* Microchemical Journal 78, 175-180.

Lukaszewski, Z., Siwecki, R., Opydo, J., Zembrzuski, W. (1988). *The effect of industrial pollution on zinc, cadmium and copper concentration in the xylem rings Scot's pine (Pinus sylvestris L.) and in the soil,* Trees Structure and Function 2:1-6.

Lukaszewski, Z., Siwecki, R., Opydo, J., Zembrzuski, W. (1993). *The effect of industrial pollution on copper, lead, zinc and cadmium concentration in xylem rings of resistant (Populus marilandica) and sensitive (P. balsamifera) species of poplar,* Trees Structure and Function 7:169-174.

Mata, F., Marques, V., Pereira, H. (1986). *Influência da granulometria na determinação de elementos minerais na cortiça,* Boletim do Instituto dos Produtos Florestais – Cortiça, 569:68.

Marques, V., Mata, F., Pereira, H. (1986). *Composição química mineral dos desperdícios de cortiça provenientes da indústria de granulados,* Boletim do Instituto dos Produtos Florestais – Cortiça, 574:233.

Miller J, Miller J. (1988). *Statistics for Analytical Chemistry.* Ellis Horwood: Chichester.

Neto Vaz, A. (1997). *Influência de sais de tetra-alquilamónio na polarografia de catiões metálicos*, Tese de Doutoramento em Química, Universidade de Évora.

Opydo, J., Lukaszewski, Z. (1993). *Determination of Cd, Pb, Cu and Zn in wood by differential pulse anodic stripping voltammetry*. Chem. Anal. (Warsaw), **38**:823-827.

Opydo, J., (1994). *Estimation of oak stand pollution heavy metal on the Krotoszyn Plateau*, Acta societatis botanicorum poloniae, 1:83-86.

Pereira, H. (1987). *Composição química da raspa em pranchas de cortiça de produção amadia*, Boletim do Instituto dos Produtos Florestais - Cortiça, **587**:231.

Ponte-e-Sousa, J. (2004). *Determinação do chumbo presente na cortiça de Quercus suber (Sobreiro) por voltametria de redissolução anódica*, Universidade de Évora, Évora.

Ponte-e-Sousa, J.C.A.C.C., Neto-Vaz, A.M. (2009). *Cork and metals – a review*, Wood Science and Technology, Springer-Verlag, DOI 10.1007/s00226-009-0288-8.

Ponte-e-Sousa, J., Neto-Vaz, A. (2009). *A new method for the improvement of data production in phytochemical analysis*, Phytochemical Analysis, Wiley Interscience, DOI 10.1002/pca.1192.

Ponte-e-Sousa, J., Ginja Teixeira, J., Vaz, A. Neto (2007). *A cortiça como sonda ambiental de metais pesados: um serviço sócio-ambiental prestado por montados de sobro e sobreirais*. Rev. de Ciências Agrárias, vol.30, no.1, p.260-266. ISSN 0871-018X. <http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2007000100026&lng=pt&nrm=iso>.

Ponte-e-Sousa, J.C.A.C.C., Teixeira, J.M.G., Vaz, A.M.N. (2003). *The importance of cork (bark) of Quercus suber in the environmental monitoring of heavy metals*, EJEAFChE, 2, 2. [314-319], ISSN 1579-4377,

http://ejeafche.uvigo.es/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=180&Itemid=33.

Queirolo, F., Valenta, P. (1987). *Trace determination of Cd, Cu, Pb and Zn in annual growth rings by differential pulse anodic stripping voltammetry*, *Fresenius Z Anal Chem.*, **328**:93-98.

Queirolo, F., Valenta, P., Stengen, S. & Breckle, S. (1990). *Heavy metal concentrations in oak wood growth rings from the Taunus (Federal Republic of Germany) and the Valdivia (Chile) regions*. *Trees Structure and Function* **4**:81-87.

Queirolo, F., Valenta, P., Stengen, S., Sanchez, A.M. (1991). *Study of the radial and axial distribution of heavy metals in oak growth rings by stripping voltammetry*. *Electroanalysis*, **3**:325-329.

Renberg, I., Bindler, R., Brännvall, M. L. (2001). *Using the historical atmospheric lead-deposition record as a chronological marker in sediment deposits in Europe, The Holocene*, *Arnold*, **11**,5:511-516.

Skoog DA, Leary JJ. (1992). *Principles of Instrumental Analysis*. Saunders College: New York.

Skoog D, West D, Holler F. (1988). *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Saunders College: New York.

Soares, M. E., Bastos, M. L., Ferreira, M. A.(1993). *Determination of Cooper, Iron, Aluminium, Lead, and Cadmium in Cork Stoppers by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **8**:655-657.

Soares, M. E., Borges, M. A., Bastos, M. L., Ferreira, M. A. (1994). *Estudo de migração de metais nas rolhas de cortiça para um simulador das bebidas alcoólicas*, *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **11**(2):87-99.

Sousa, J.C.A.C. Ponte e, Teixeira, J.M. Ginja, Vaz, A.M. Neto (2003). *Electroanalysis of Heavy Metals in the Cork of Quercus Suber Tree. Preliminary Study: Electroanalyticity of Pb(II)*. Port. Electrochim. Acta, vol.21, no.1, p.79-84. ISSN 0872-1904. <http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0872-19042003000100006&lng=pt&nrm=iso>.

ANEXOS

Anexo I: Tratamento estatístico dos dados

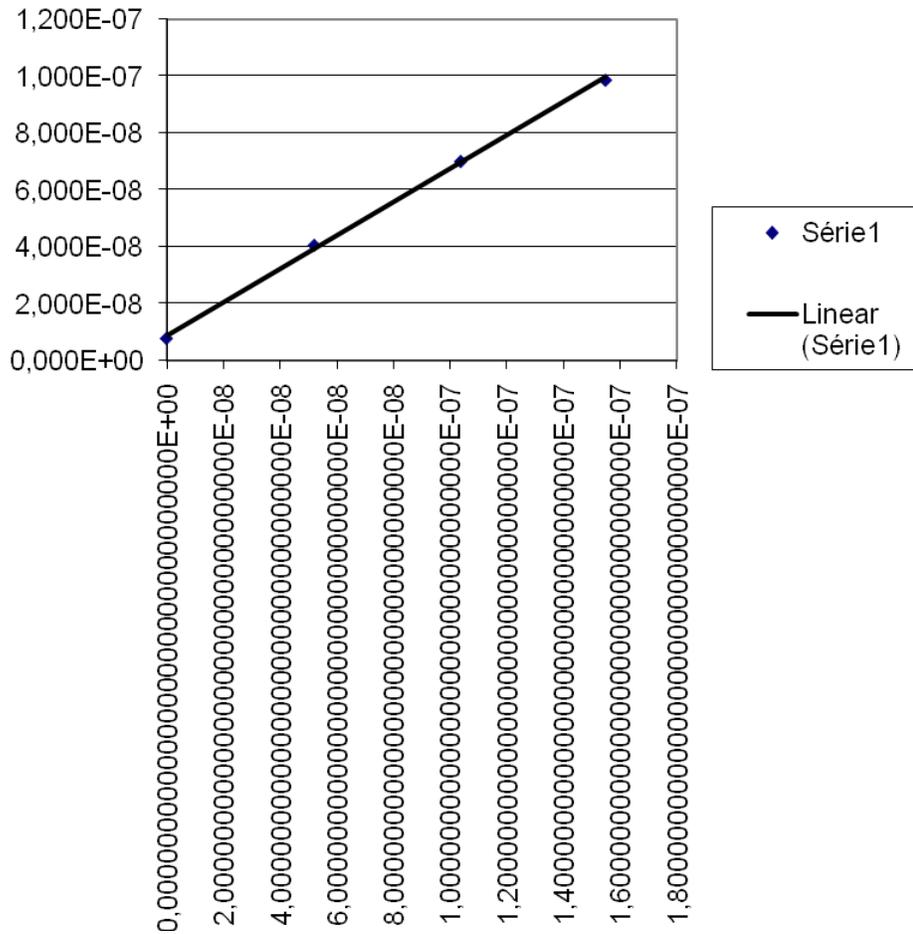
Branco

7,800E-09	4,063E-08	7,016E-08	9,880E-08
7,744E-09	4,069E-08	7,052E-08	1,022E-07
7,692E-09	4,069E-08	7,178E-08	9,950E-08

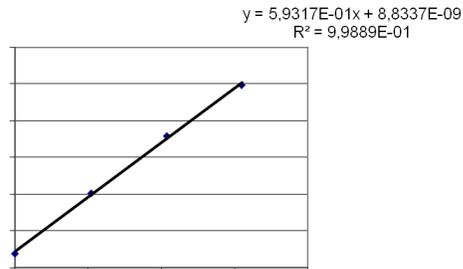
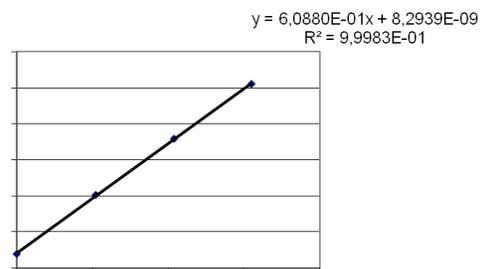
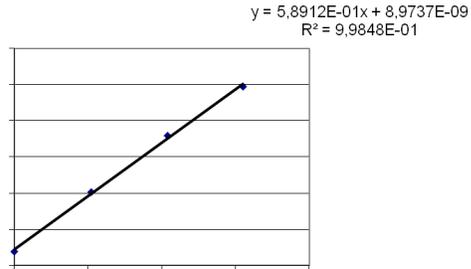
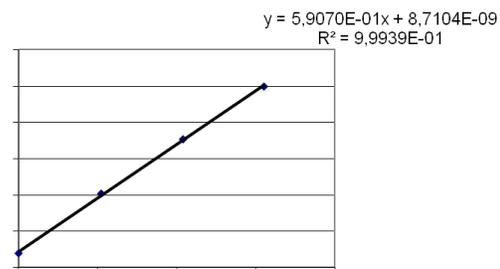
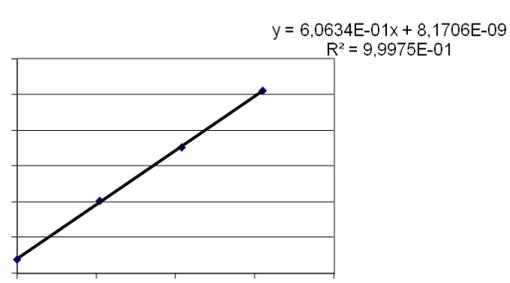
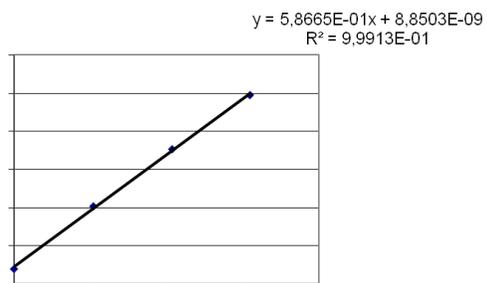
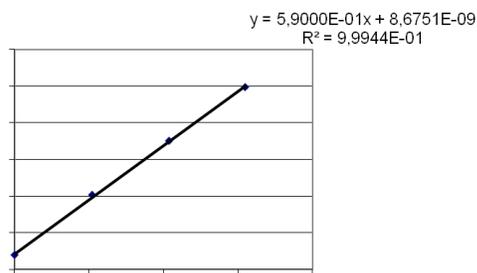
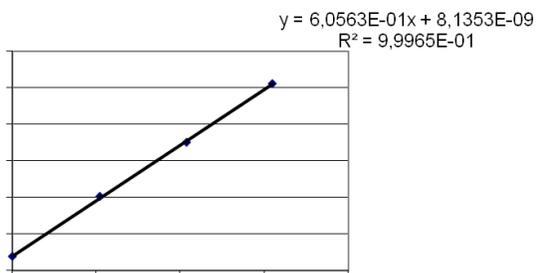
a	d	g	j
b	e	h	k
c	f	i	l

0,000E+00	7,800E-09
5,213000000000000000000000000000000000000000E-08	4,063E-08
1,038000000000000000000000000000000000000000E-07	7,016E-08
1,549000000000000000000000000000000000000000E-07	9,880E-08

$$y = 5,8595E-01x + 8,8151E-09$$
$$R^2 = 9,9923E-01$$

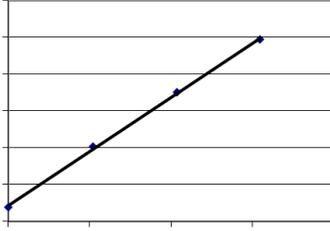


(ver explicação da página 126)

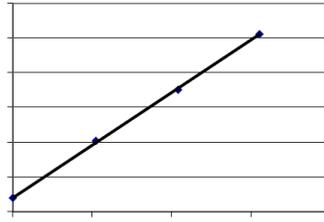


(ver explicação da página 126)

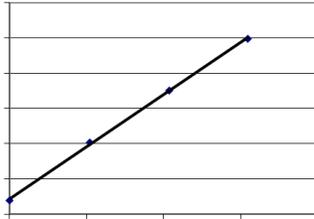
$$y = 5,8583E-01x + 8,8390E-09$$
$$R^2 = 9,9920E-01$$



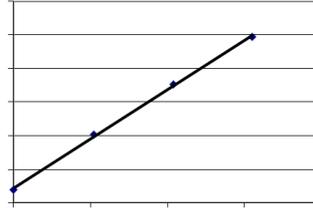
$$y = 6,0552E-01x + 8,1593E-09$$
$$R^2 = 9,9962E-01$$



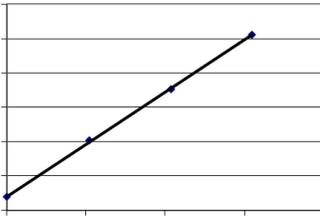
$$y = 5,8988E-01x + 8,6991E-09$$
$$R^2 = 9,9941E-01$$



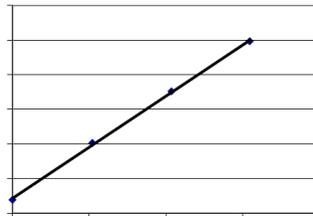
$$y = 5,8654E-01x + 8,743E-09$$
$$R^2 = 9,9910E-01$$



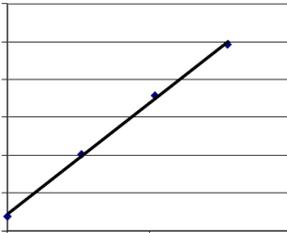
$$y = 6,0622E-01x + 8,1945E-09$$
$$R^2 = 9,9973E-01$$



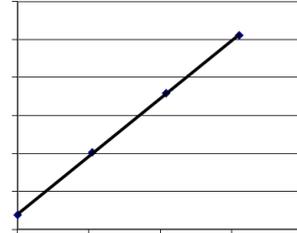
$$y = 5,9059E-01x + 8,7343E-09$$
$$R^2 = 9,9936E-01$$



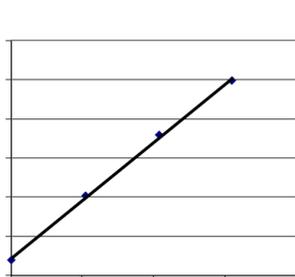
$$y = 5,8900E-01x + 8,9976E-09$$
$$R^2 = 9,9845E-01$$



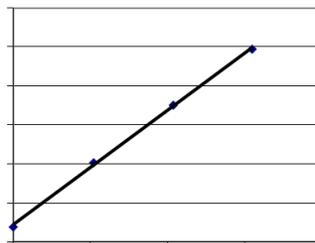
$$y = 6,0869E-01x + 8,3179E-09$$
$$R^2 = 9,9981E-01$$



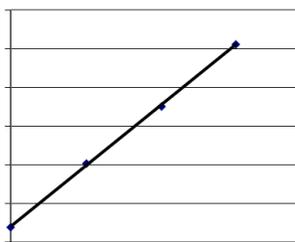
(ver explicação da página 126)



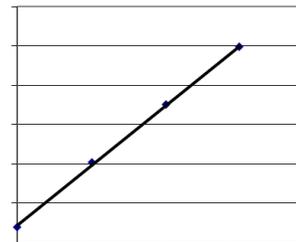
$$y = 0,5931x + 9E-09$$
$$R^2 = 0,9989$$



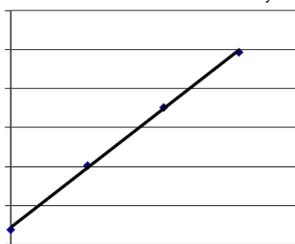
$$y = 5,8583E-01x + 8,8390E-09$$
$$R^2 = 9,9920E-01$$



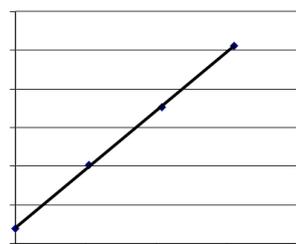
$$y = 6,0552E-01x + 8,1593E-09$$
$$R^2 = 9,9962E-01$$



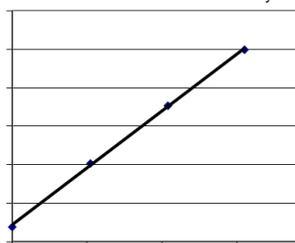
$$y = 5,8988E-01x + 8,6991E-09$$
$$R^2 = 9,9941E-01$$



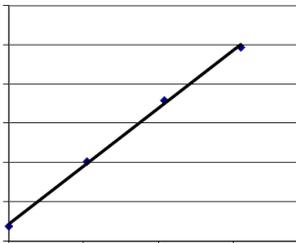
$$y = 5,8654E-01x + 8,8743E-09$$
$$R^2 = 9,9910E-01$$



$$y = 6,0622E-01x + 8,1945E-09$$
$$R^2 = 9,9973E-01$$

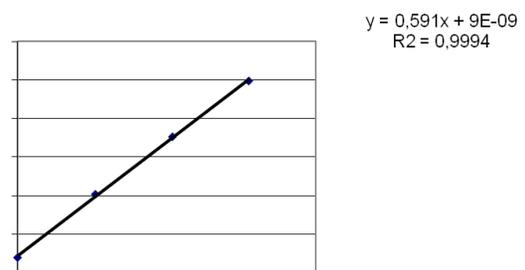
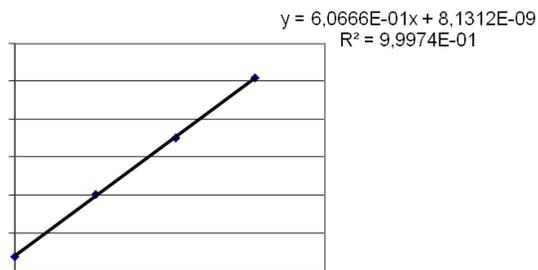
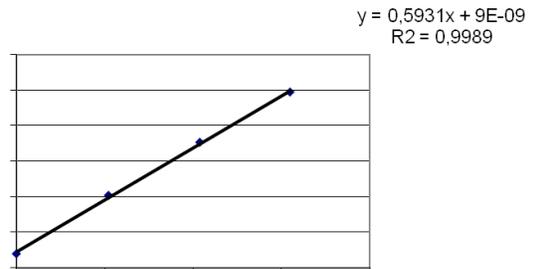
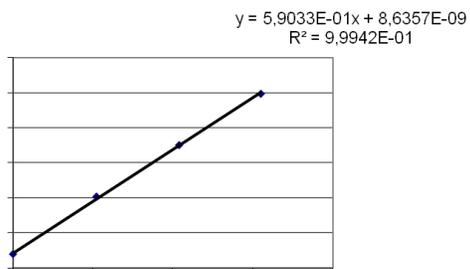
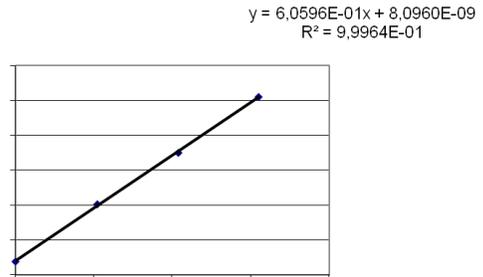
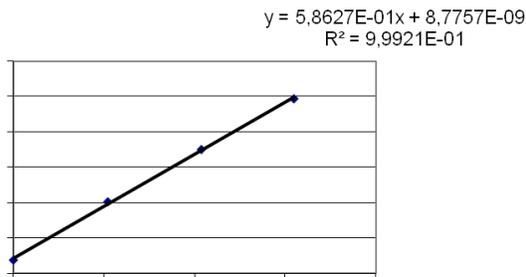
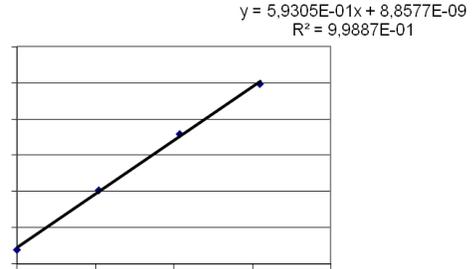
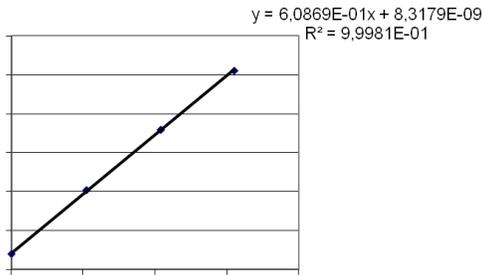


$$y = 5,9059E-01x + 8,7343E-09$$
$$R^2 = 9,9936E-01$$

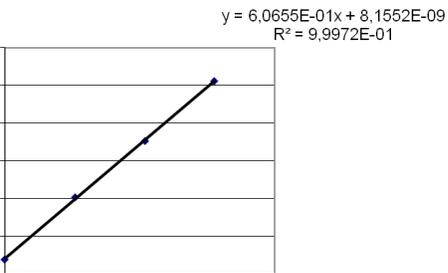
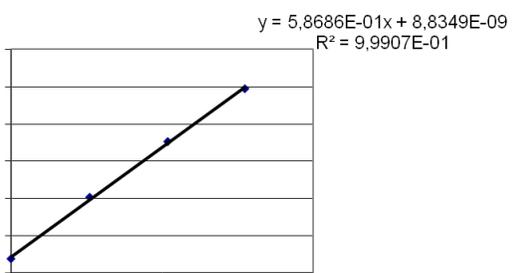
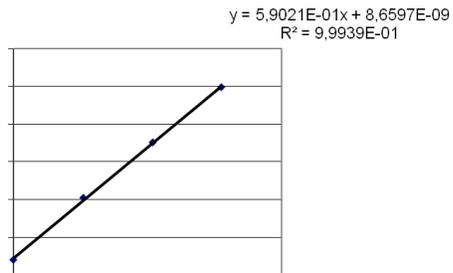
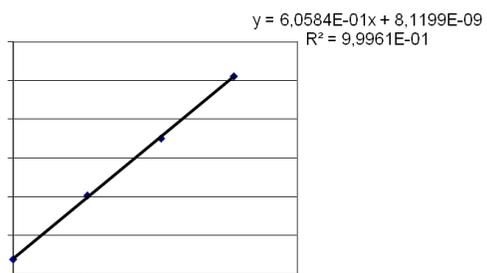
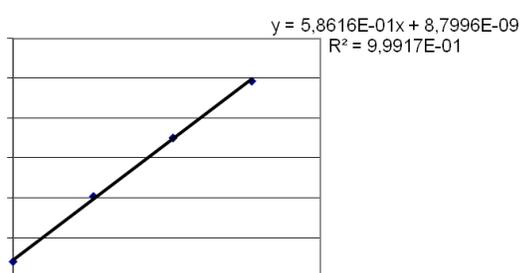
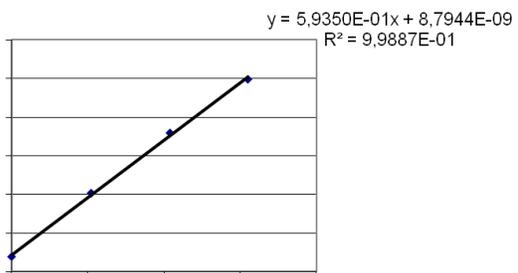
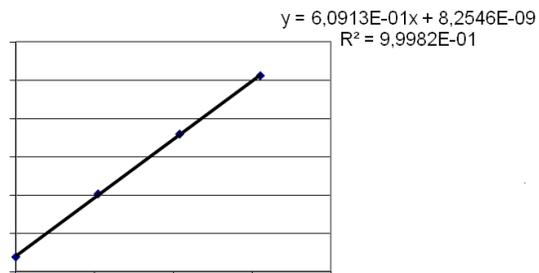
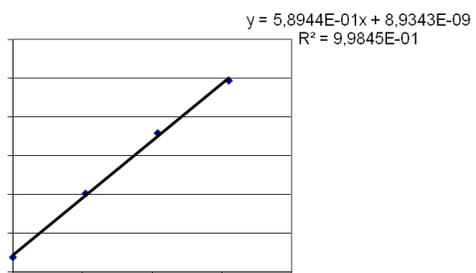


$$y = 5,8900E-01x + 8,9976E-09$$
$$R^2 = 9,9845E-01$$

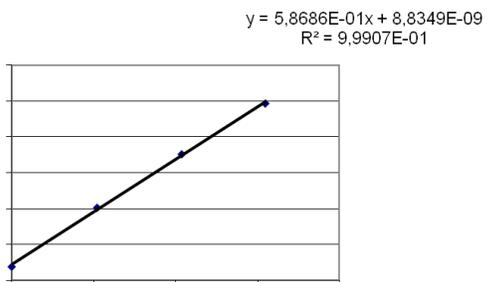
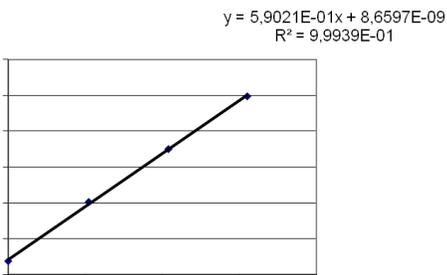
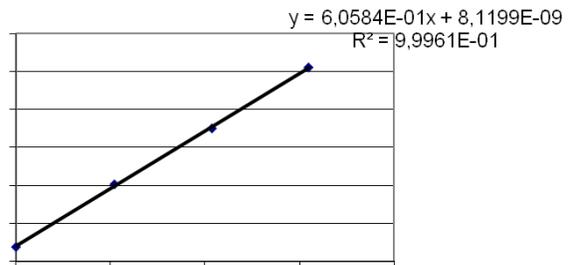
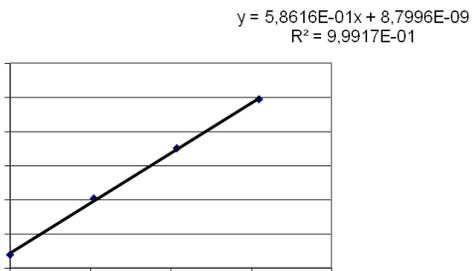
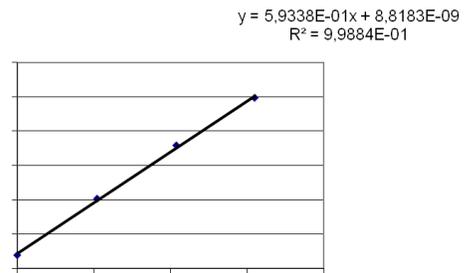
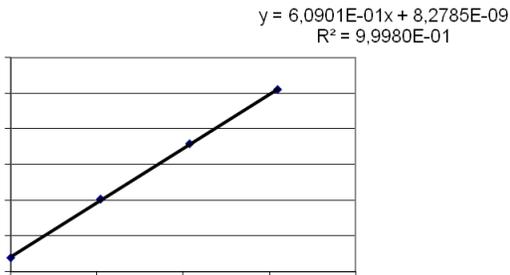
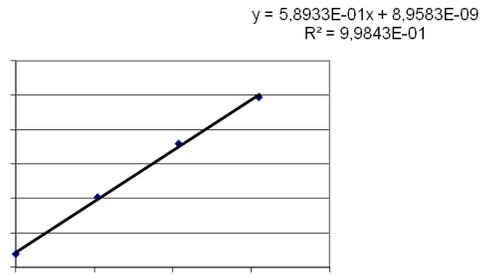
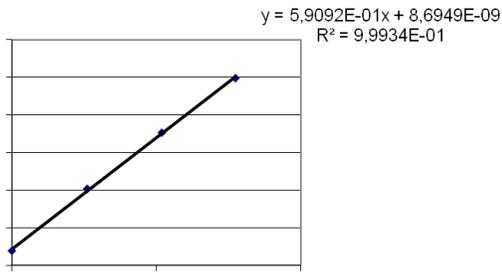
(ver explicação da página 126)



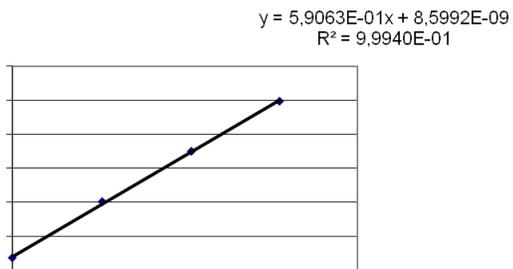
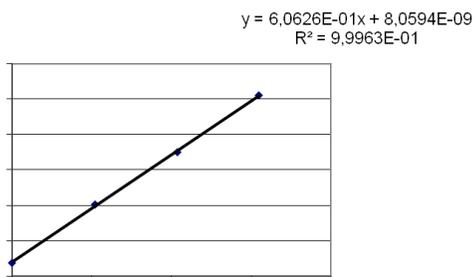
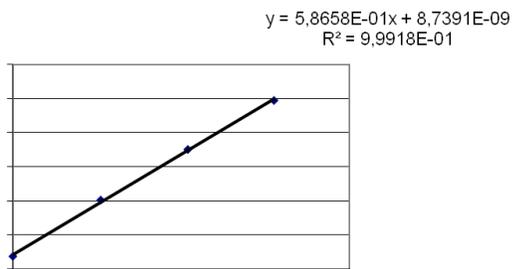
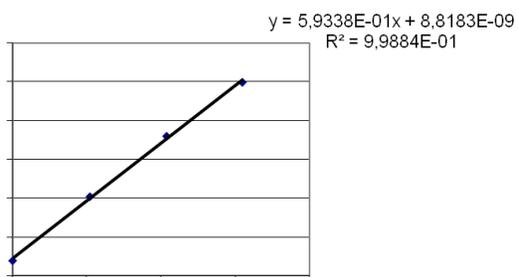
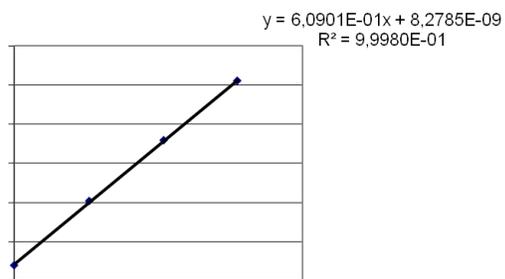
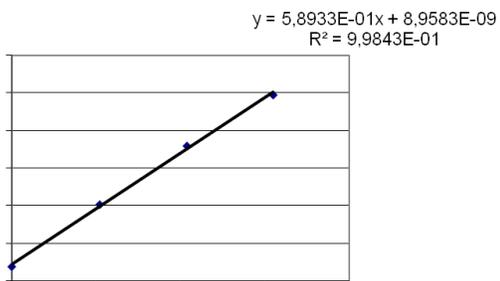
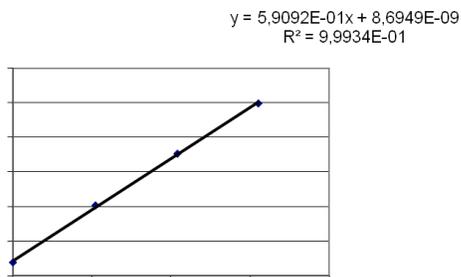
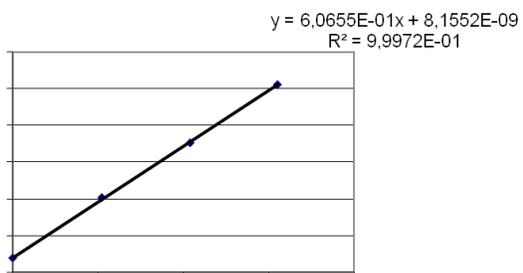
(ver explicação da página 126)



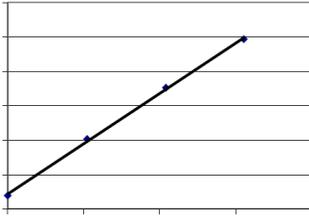
(ver explicação da página 126)



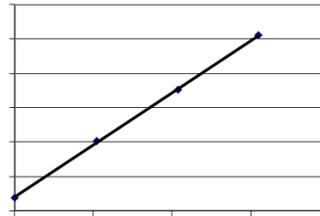
(ver explicação da página 126)



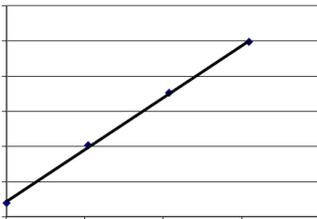
$$y = 5,8728E-01x + 8,7744E-09$$
$$R^2 = 9,9908E-01$$



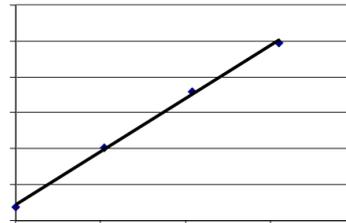
$$y = 6,0697E-01x + 8,0947E-09$$
$$R^2 = 9,9973E-01$$



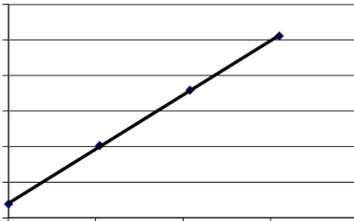
$$y = 5,9133E-01x + 8,6344E-09$$
$$R^2 = 9,9935E-01$$



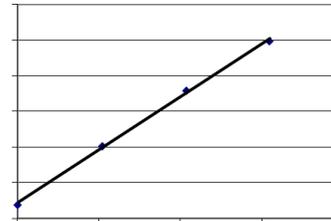
$$y = 5,8975E-01x + 8,8978E-09$$
$$R^2 = 9,9843E-01$$



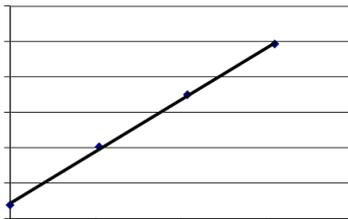
$$y = 6,0943E-01x + 8,2180E-09$$
$$R^2 = 9,9981E-01$$



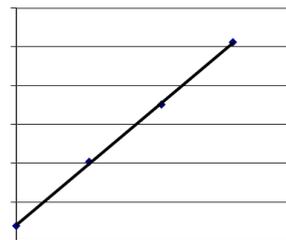
$$y = 5,9380E-01x + 8,7578E-09$$
$$R^2 = 9,9885E-01$$



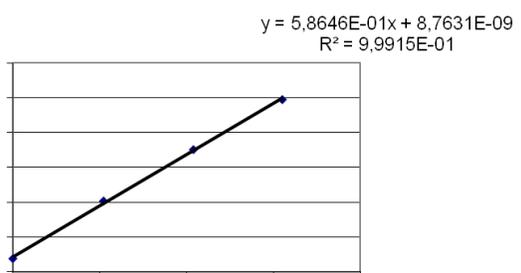
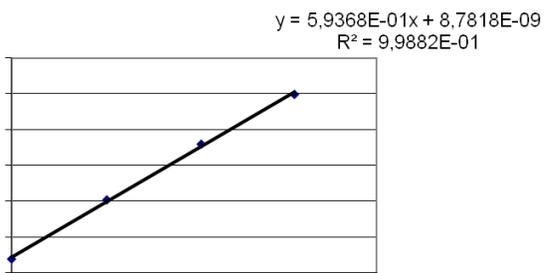
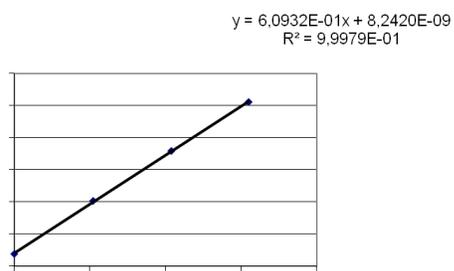
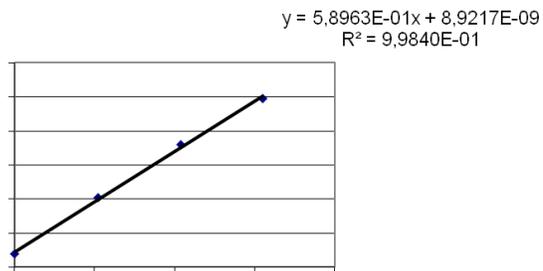
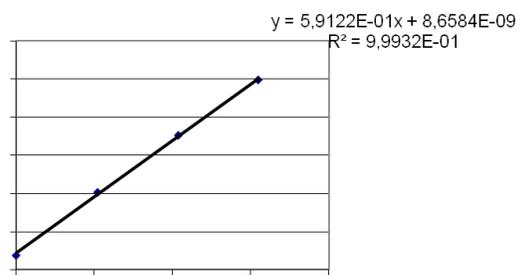
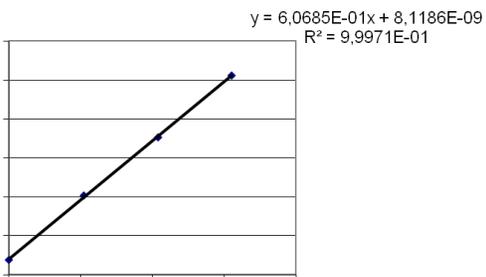
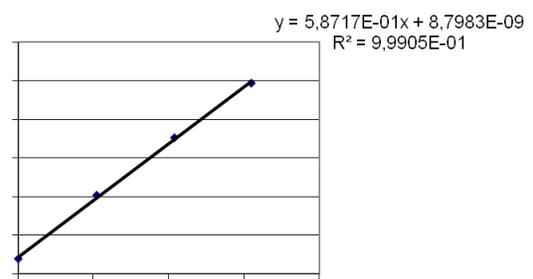
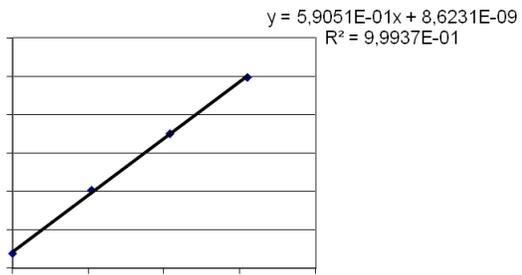
$$y = 5,8646E-01x + 8,7631E-09$$
$$R^2 = 9,9915E-01$$



$$y = 6,0615E-01x + 8,0833E-09$$
$$R^2 = 9,9961E-01$$

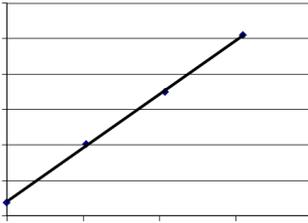


(ver explicação da página 126)

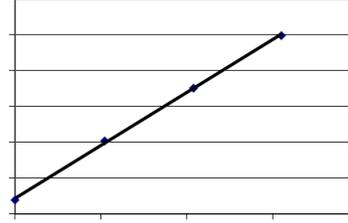


(ver explicação da página 126)

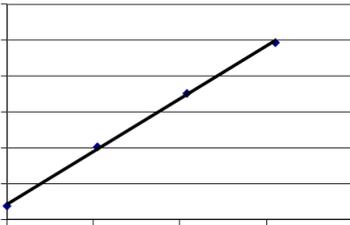
$$y = 6,0615E-01x + 8,0833E-09$$
$$R^2 = 9,9961E-01$$



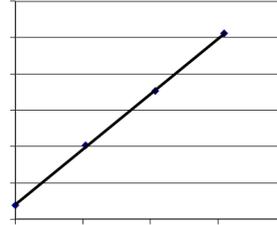
$$y = 5,9051E-01x + 8,6231E-09$$
$$R^2 = 9,9937E-01$$



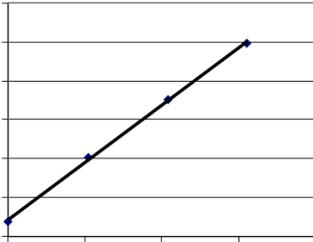
$$y = 5,8717E-01x + 8,7983E-09$$
$$R^2 = 9,9905E-01$$



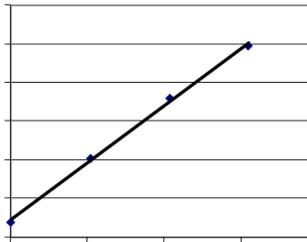
$$y = 6,0685E-01x + 8,1186E-09$$
$$R^2 = 9,9971E-01$$



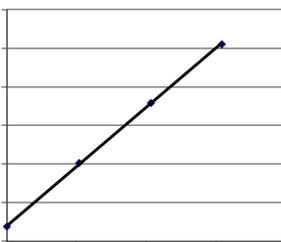
$$y = 5,9122E-01x + 8,6584E-09$$
$$R^2 = 9,9932E-01$$



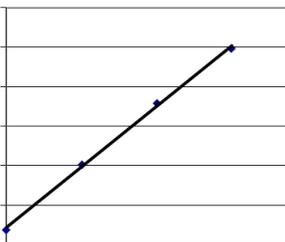
$$y = 5,8963E-01x + 8,9217E-09$$
$$R^2 = 9,9840E-01$$



$$y = 6,0932E-01x + 8,2420E-09$$
$$R^2 = 9,9979E-01$$



$$y = 5,9368E-01x + 8,7818E-09$$
$$R^2 = 9,9882E-01$$

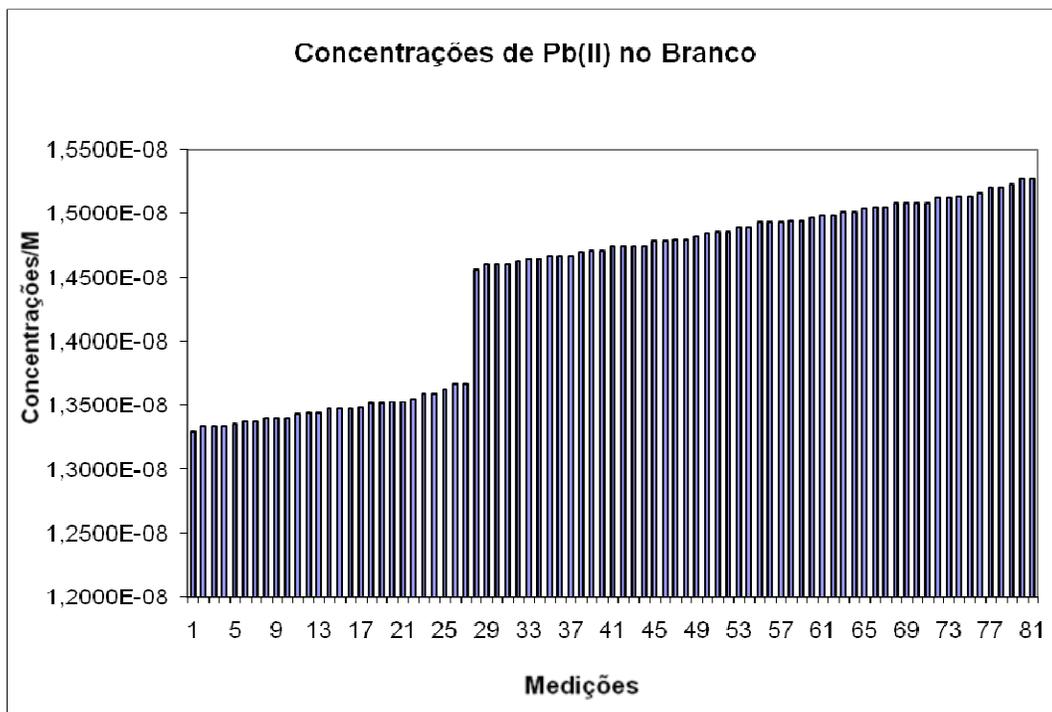


(ver explicação da página 126)

Branco	b	m	R ²
Média	8,5840E-09	0,5955	0,9993
Desvio Padrão	3,0454E-10	0,0086	0,0004

1	8,82E-09	0,5859	0,9992	42	8,69E-09	0,5909	0,9993
2	8,14E-09	0,6056	0,9996	43	8,96E-09	0,5893	0,9984
3	8,68E-09	0,5900	0,9994	44	8,28E-09	0,609	0,9998
4	8,85E-09	0,5867	0,9991	45	8,82E-09	0,5934	0,9988
5	8,17E-09	0,6063	0,9998	46	8,80E-09	0,5862	0,9992
6	8,71E-09	0,5907	0,9994	47	8,12E-09	0,6058	0,9996
7	8,97E-09	0,5891	0,9985	48	8,66E-09	0,5902	0,9994
8	8,29E-09	0,6088	0,9998	49	8,83E-09	0,5869	0,9991
9	8,83E-09	0,5932	0,9989	50	8,16E-09	0,6065	0,9997
10	8,84E-09	0,5858	0,9992	51	8,69E-09	0,5909	0,9993
11	8,16E-09	0,6055	0,9996	52	8,96E-09	0,5893	0,9984
12	8,70E-09	0,5899	0,9994	53	8,28E-09	0,609	0,9998
13	8,87E-09	0,5865	0,9991	54	8,82E-09	0,5934	0,9988
14	8,19E-09	0,6062	0,9997	55	8,74E-09	0,5866	0,9992
15	8,73E-09	0,5906	0,9994	56	8,06E-09	0,6063	0,9996
16	9,00E-09	0,589	0,9985	57	8,60E-09	0,5906	0,9994
17	8,32E-09	0,6087	0,9998	58	8,77E-09	0,5873	0,9991
18	8,86E-09	0,5931	0,9989	59	8,09E-09	0,607	0,9997
19	8,84E-09	0,5858	0,9992	60	8,63E-09	0,5913	0,9993
20	8,16E-09	0,6055	0,9996	61	8,90E-09	0,5897	0,9984
21	8,70E-09	0,5899	0,9994	62	8,22E-09	0,6094	0,9998
22	8,87E-09	0,5865	0,9991	63	8,76E-09	0,5938	0,9988
23	8,19E-09	0,6062	0,9997	64	8,76E-09	0,5865	0,9991
24	8,73E-09	0,5906	0,9994	65	8,08E-09	0,6061	0,9996
25	9,00E-09	0,589	0,9985	66	8,62E-09	0,5905	0,9994
26	8,32E-09	0,6087	0,9998	67	8,80E-09	0,5872	0,999
27	8,86E-09	0,5931	0,9989	68	8,12E-09	0,6069	0,9997
28	8,78E-09	0,5863	0,9992	69	8,66E-09	0,5912	0,9993
29	8,10E-09	0,606	0,9996	70	8,92E-09	0,5896	0,9984
30	8,64E-09	0,5903	0,9994	71	8,24E-09	0,6093	0,9998
31	8,81E-09	0,5931	0,9989	72	8,78E-09	0,5937	0,9988
32	8,13E-09	0,6067	0,9997	73	8,76E-09	0,5865	0,9991
33	8,67E-09	0,591	0,9994	74	8,08E-09	0,6061	0,9996
34	8,93E-09	0,5894	0,9985	75	8,62E-09	0,5905	0,9994
35	8,25E-09	0,6091	0,9998	76	8,80E-09	0,5872	0,999
36	8,79E-09	0,5935	0,9989	77	8,12E-09	0,6069	0,9997
37	8,80E-09	0,5862	0,9992	78	8,66E-09	0,5912	0,9993
38	8,12E-09	0,6058	0,9996	79	8,92E-09	0,5896	0,9984
39	8,66E-09	0,5902	0,9994	80	8,24E-09	0,6093	0,9998
40	8,83E-09	0,5869	0,9991	81	8,78E-09	0,5937	0,9988
41	8,16E-09	0,6065	0,9997				

Concentração	29	1,3360E-08	58	1,4940E-08	
1	1,5045E-08	30	1,4629E-08	59	1,3336E-08
2	1,3433E-08	31	1,4856E-08	60	1,4602E-08
3	1,4704E-08	32	1,3402E-08	61	1,5089E-08
4	1,5085E-08	33	1,4672E-08	62	1,3485E-08
5	1,3476E-08	34	1,5158E-08	63	1,4749E-08
6	1,4746E-08	35	1,3552E-08	64	1,4941E-08
7	1,5233E-08	36	1,4818E-08	65	1,3337E-08
8	1,3623E-08	37	1,5011E-08	66	1,4603E-08
9	1,4892E-08	38	1,3404E-08	67	1,4983E-08
10	1,5089E-08	39	1,4672E-08	68	1,3377E-08
11	1,3475E-08	40	1,5054E-08	69	1,4645E-08
12	1,4747E-08	41	1,3446E-08	70	1,5132E-08
13	1,5131E-08	42	1,4715E-08	71	1,3527E-08
14	1,3518E-08	43	1,5202E-08	72	1,4792E-08
15	1,4789E-08	44	1,3594E-08	73	1,4941E-08
16	1,5276E-08	45	1,4861E-08	74	1,3337E-08
17	1,3665E-08	46	1,5011E-08	75	1,4603E-08
18	1,4935E-08	47	1,3404E-08	76	1,4983E-08
19	1,5089E-08	48	1,4672E-08	77	1,3377E-08
20	1,3475E-08	49	1,5054E-08	78	1,4645E-08
21	1,4747E-08	50	1,3446E-08	79	1,5132E-08
22	1,5131E-08	51	1,4715E-08	80	1,3527E-08
23	1,3518E-08	52	1,5202E-08	81	1,4792E-08
24	1,4789E-08	53	1,3594E-08		
25	1,5276E-08	54	1,4861E-08		
26	1,3665E-08	55	1,4898E-08		
27	1,4935E-08	56	1,3293E-08		
28	1,4968E-08	57	1,4560E-08		



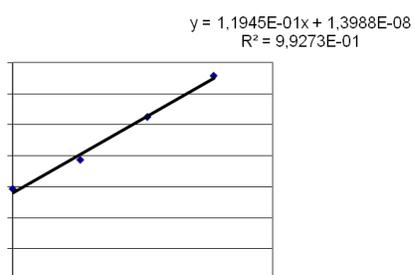
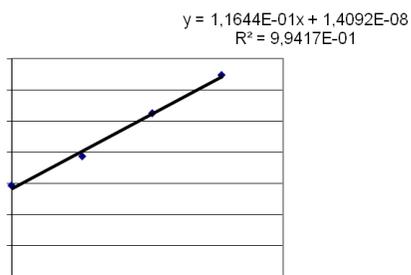
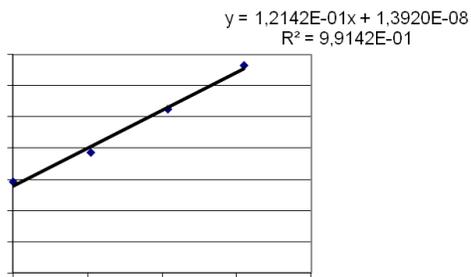
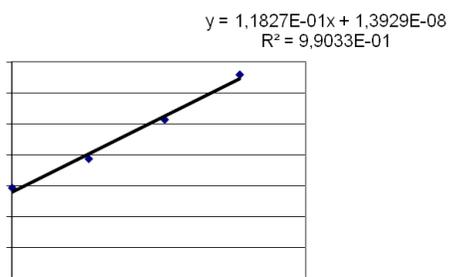
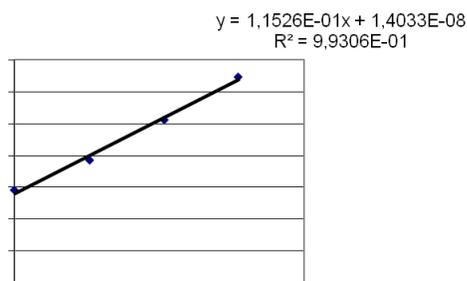
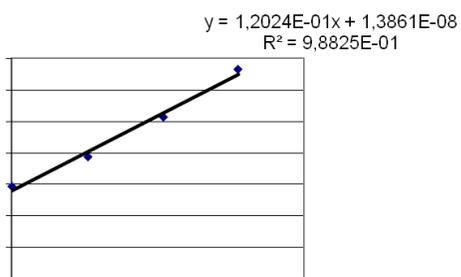
(ver explicação da página 126)

Cortiça

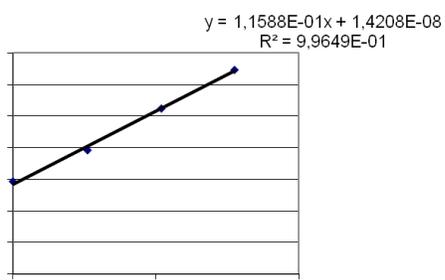
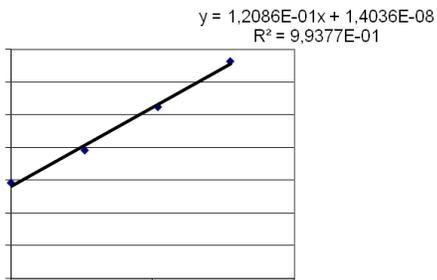
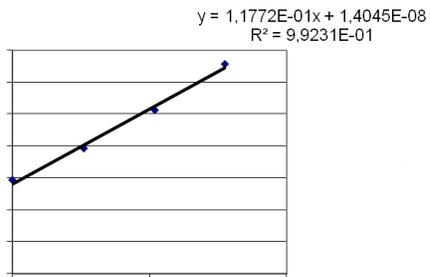
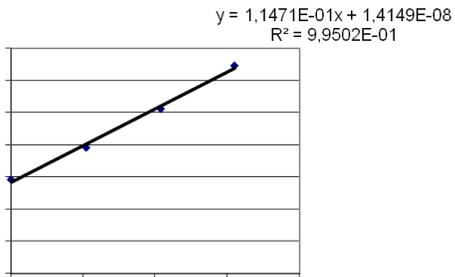
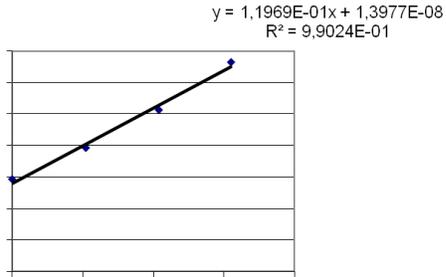
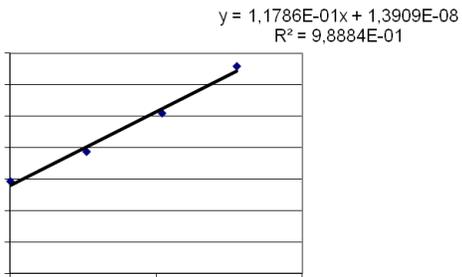
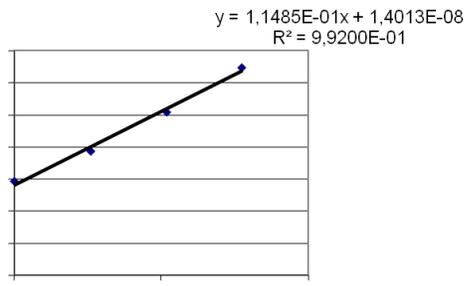
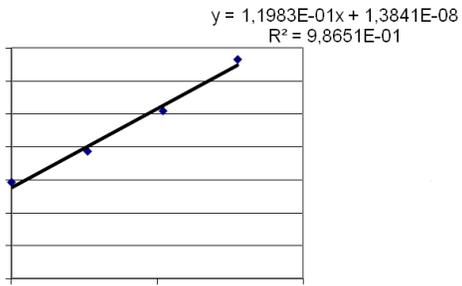
1,463E-08	1,932E-08	2,564E-08	3,323E-08
1,349E-08	1,961E-08	2,624E-08	3,237E-08
1,372E-08	1,952E-08	2,543E-08	3,289E-08

a d g j
b e h k
c f i l

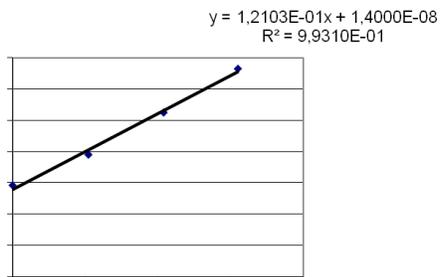
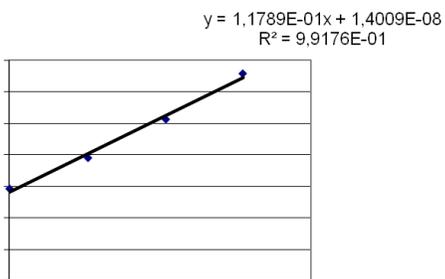
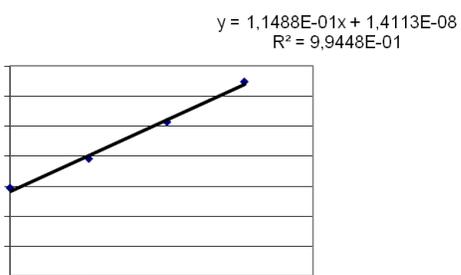
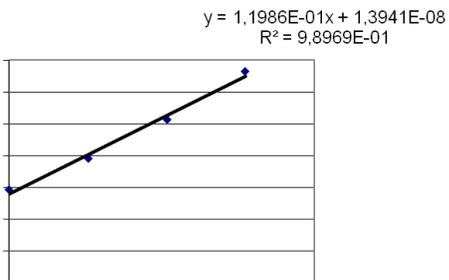
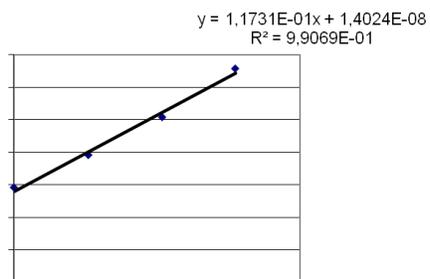
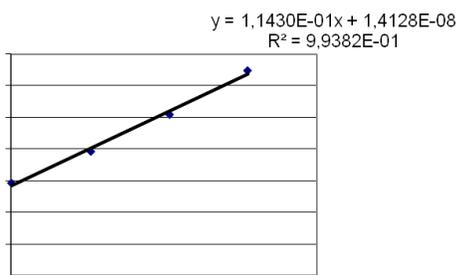
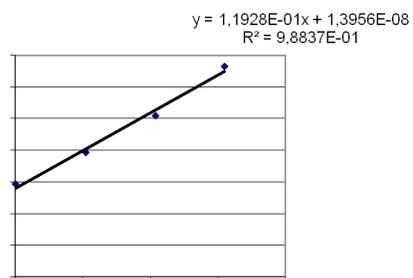
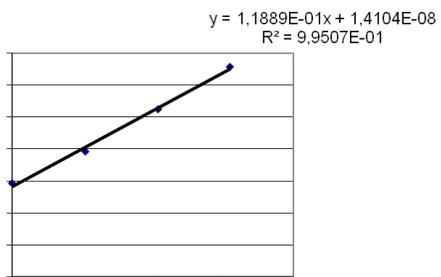
0,00E+00	1,4630E-08
5,21E-08	1,9320E-08
1,04E-07	2,5640E-08
1,55E-07	3,3230E-08



(ver explicação da página 126)

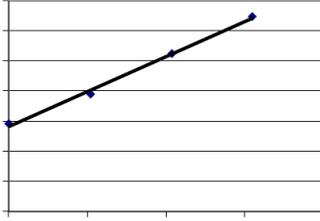


(ver explicação da página 126)

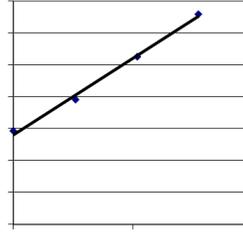


(ver explicação da página 126)

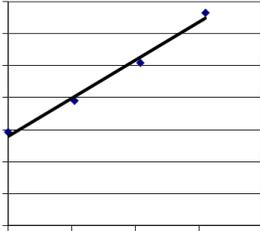
$$y = 1,1605E-01x + 1,4172E-08$$
$$R^2 = 9,9583E-01$$



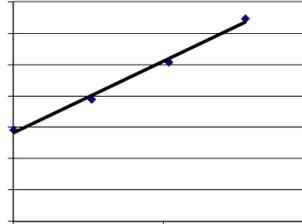
$$y = 1,1907E-01x + 1,4068E-08$$
$$R^2 = 9,9440E-01$$



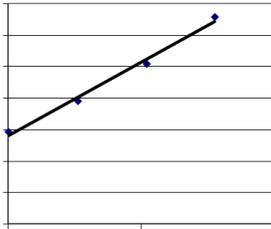
$$y = 1,1945E-01x + 1,3920E-08$$
$$R^2 = 9,8785E-01$$



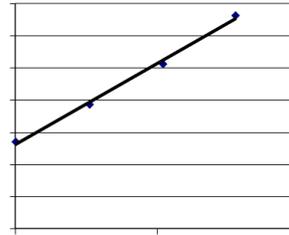
$$y = 1,1447E-01x + 1,4092E-08$$
$$R^2 = 9,9332E-01$$



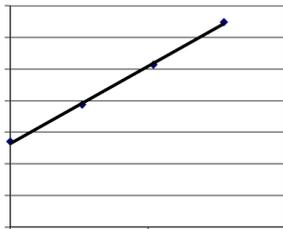
$$y = 1,1748E-01x + 1,3988E-08$$
$$R^2 = 9,9018E-01$$



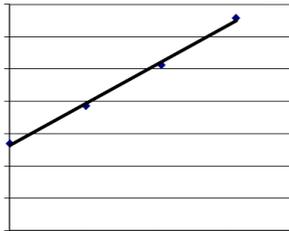
$$y = 1,2689E-01x + 1,3060E-08$$
$$R^2 = 9,9571E-01$$



$$y = 1,2191E-01x + 1,3232E-08$$
$$R^2 = 9,9867E-01$$

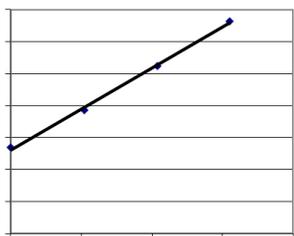


$$y = 1,2492E-01x + 1,3128E-08$$
$$R^2 = 9,9708E-01$$

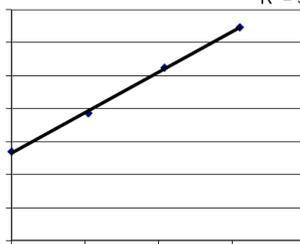


(ver explicação da página 126)

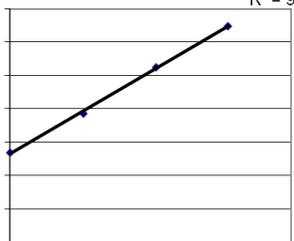
$$y = 1,2806E-01x + 1,3119E-08$$
$$R^2 = 9,9786E-01$$



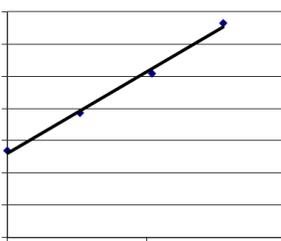
$$y = 1,2308E-01x + 1,3291E-08$$
$$R^2 = 9,9891E-01$$



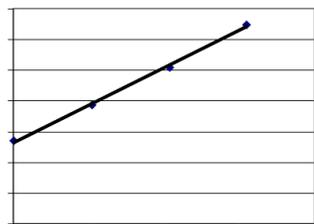
$$y = 1,2308E-01x + 1,3291E-08$$
$$R^2 = 9,9891E-01$$



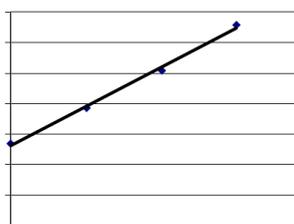
$$y = 1,2648E-01x + 1,3039E-08$$
$$R^2 = 9,9439E-01$$



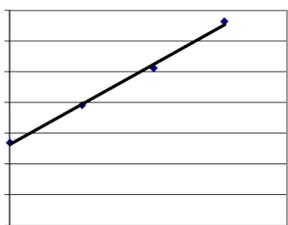
$$y = 1,2150E-01x + 1,3211E-08$$
$$R^2 = 9,9799E-01$$



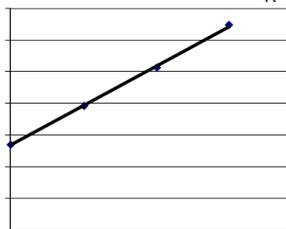
$$y = 1,2451E-01x + 1,3107E-08$$
$$R^2 = 9,9599E-01$$



$$y = 1,2633E-01x + 1,3176E-08$$
$$R^2 = 9,9635E-01$$

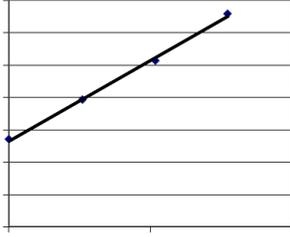


$$y = 1,2135E-01x + 1,3348E-08$$
$$R^2 = 9,9915E-01$$

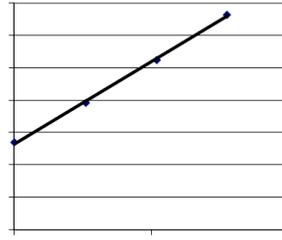


(ver explicação da página 126)

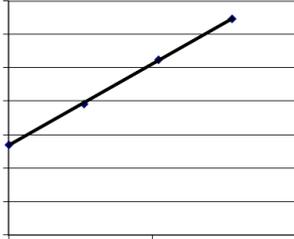
$$y = 1,2436E-01x + 1,3244E-08$$
$$R^2 = 9,9766E-01$$



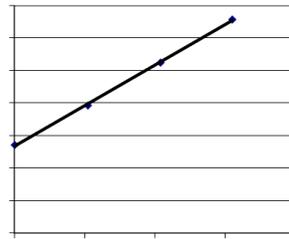
$$y = 1,2751E-01x + 1,3234E-08$$
$$R^2 = 9,9884E-01$$



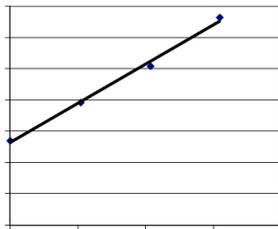
$$y = 1,2253E-01x + 1,3406E-08$$
$$R^2 = 9,9973E-01$$



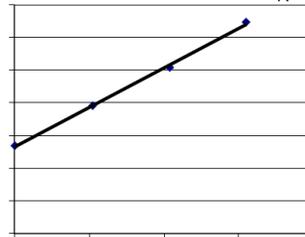
$$y = 1,2554E-01x + 1,3302E-08$$
$$R^2 = 9,9943E-01$$



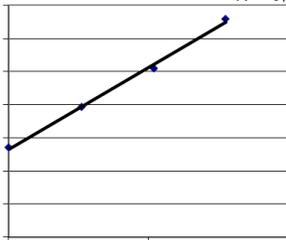
$$y = 1,2592E-01x + 1,3155E-08$$
$$R^2 = 9,9491E-01$$



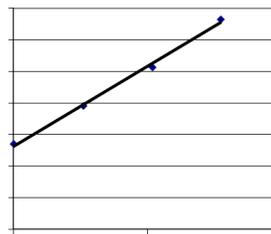
$$y = 1,2094E-01x + 1,3327E-08$$
$$R^2 = 9,9833E-01$$



$$y = 1,2395E-01x + 1,3223E-08$$
$$R^2 = 9,9645E-01$$

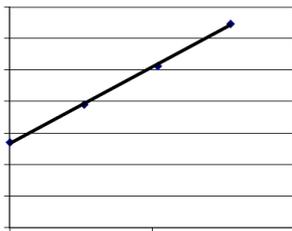


$$y = 1,2650E-01x + 1,3140E-08$$
$$R^2 = 9,9621E-01$$

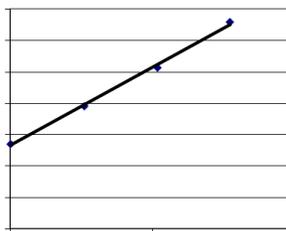


(ver explicação da página 126)

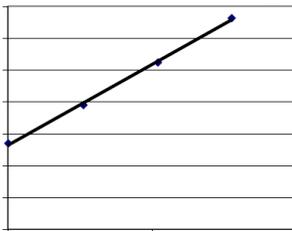
$$y = 1,2152E-01x + 1,3312E-08$$
$$R^2 = 9,9906E-01$$



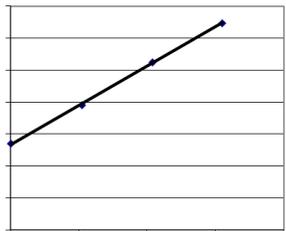
$$y = 1,2454E-01x + 1,3208E-08$$
$$R^2 = 9,9754E-01$$



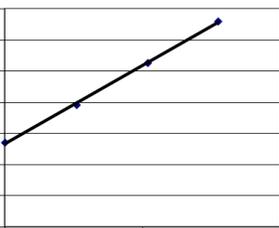
$$y = 1,2768E-01x + 1,3198E-08$$
$$R^2 = 9,9859E-01$$



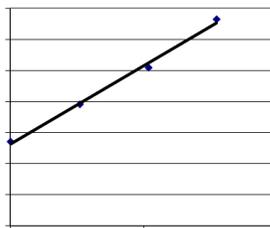
$$y = 1,2270E-01x + 1,3370E-08$$
$$R^2 = 9,9954E-01$$



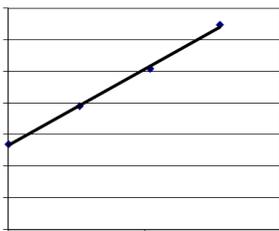
$$y = 1,2571E-01x + 1,3266E-08$$
$$R^2 = 9,9920E-01$$



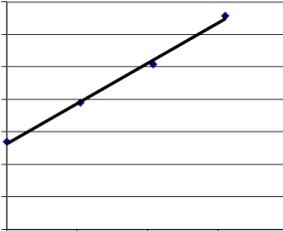
$$y = 1,2609E-01x + 1,3119E-08$$
$$R^2 = 9,9480E-01$$



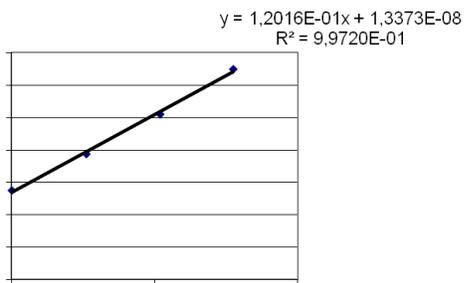
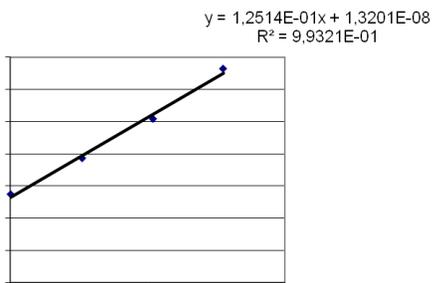
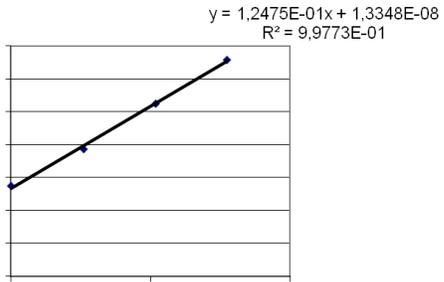
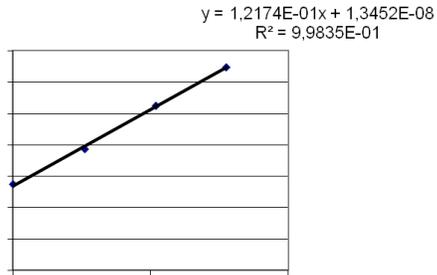
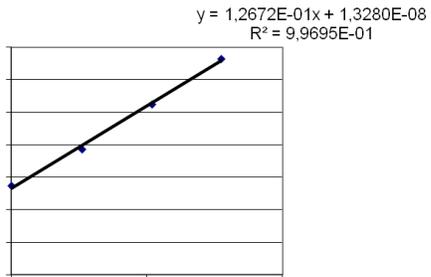
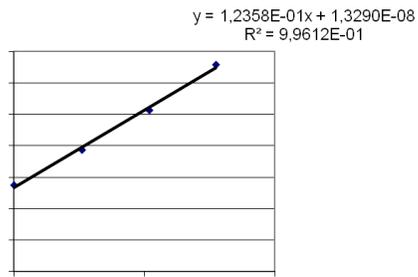
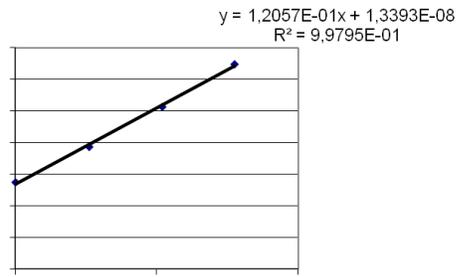
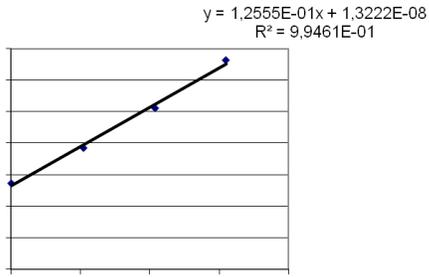
$$y = 1,2111E-01x + 1,3291E-08$$
$$R^2 = 9,9829E-01$$



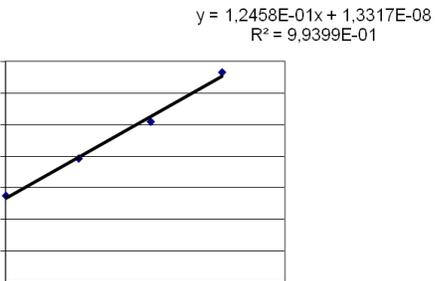
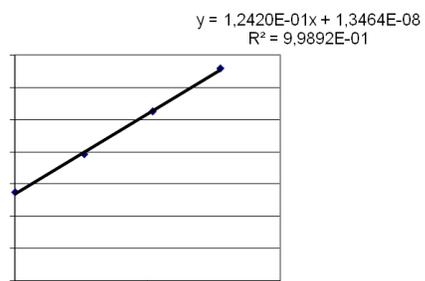
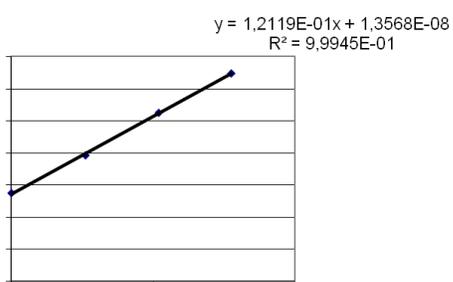
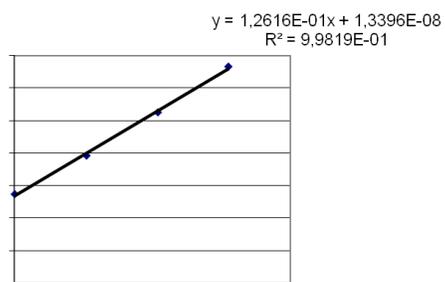
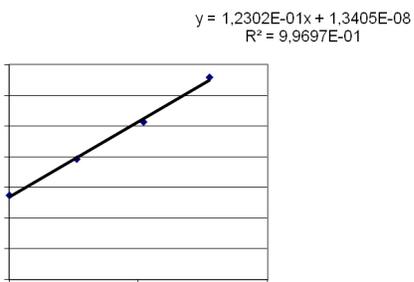
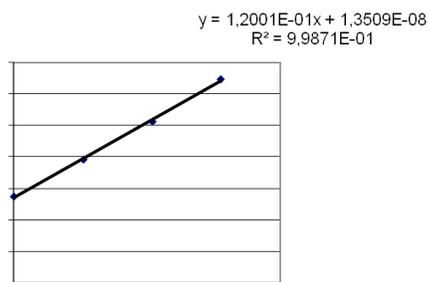
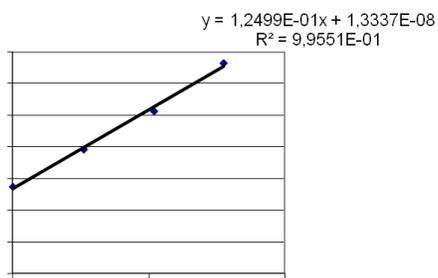
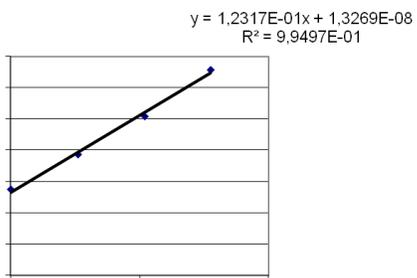
$$y = 1,2412E-01x + 1,3187E-08$$
$$R^2 = 9,9637E-01$$



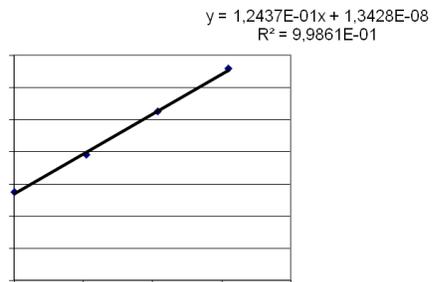
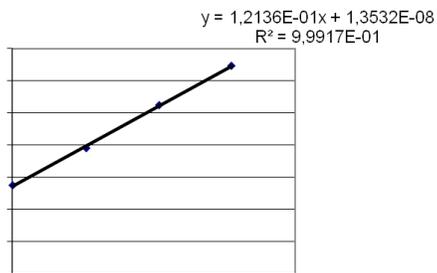
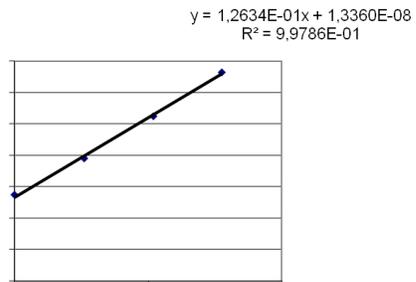
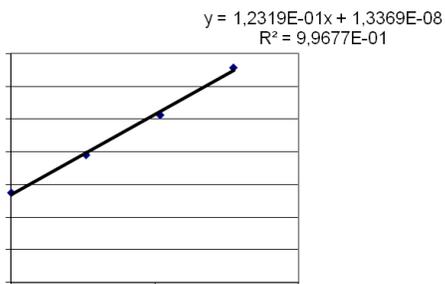
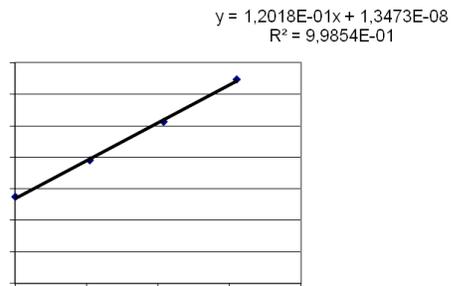
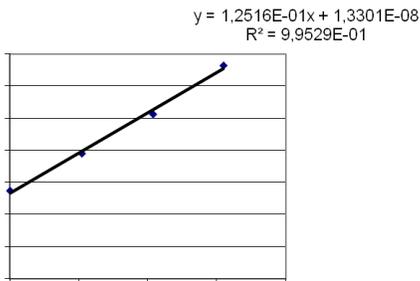
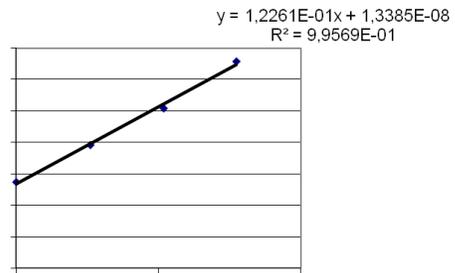
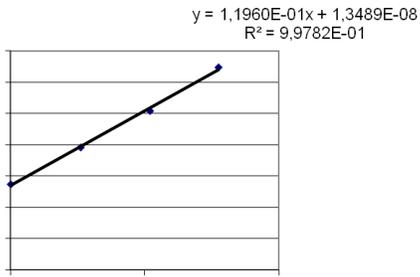
(ver explicação da página 126)



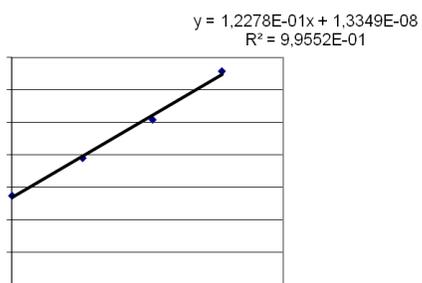
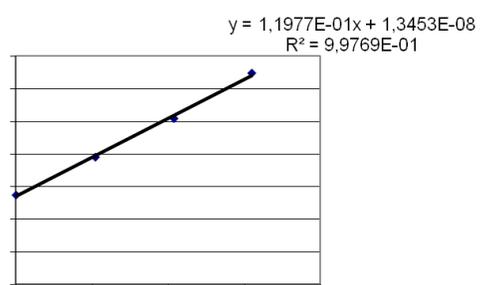
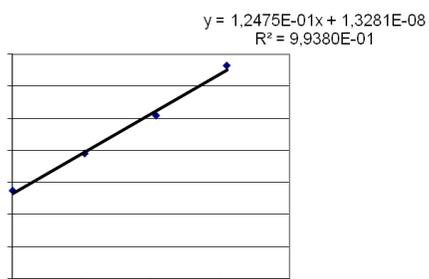
(ver explicação da página 126)



(ver explicação da página 126)



(ver explicação da página 126)

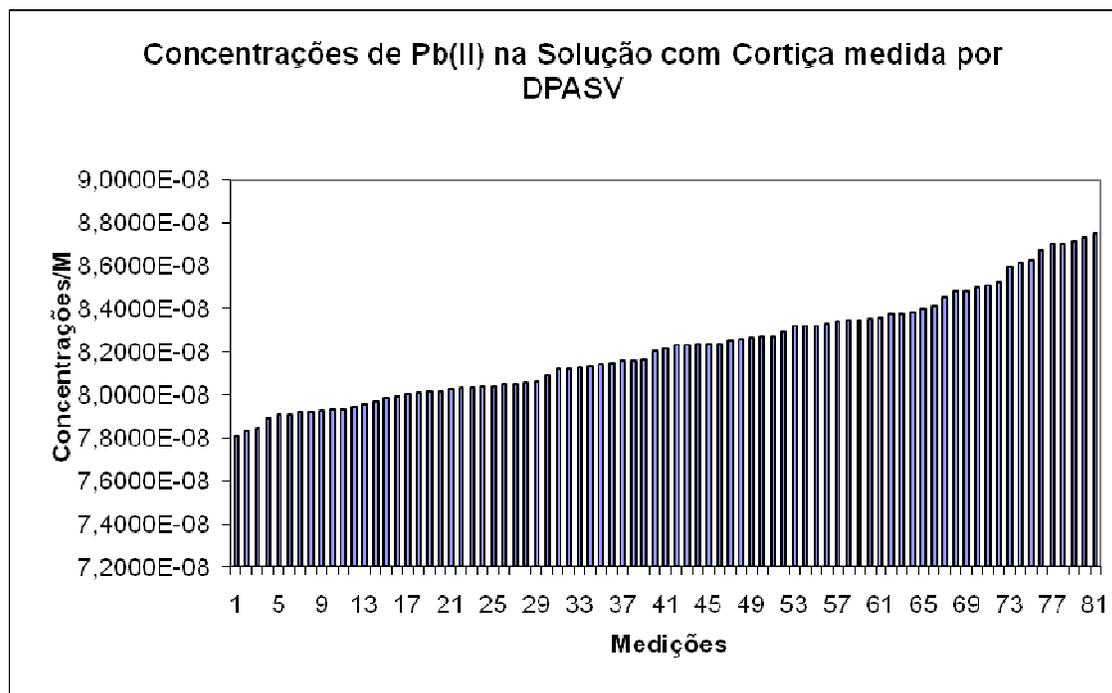


Cortiça	b	m	R ²
Média	1,3487E-08	0,1217	0,9955
Desvio Padrão	5,3319E-10	0,0035	0,0033

	b	a	R ²				
1	1,3861E-08	0,1202	0,9883	46	1,3140E-08	0,1265	0,9962
2	1,4033E-08	0,1153	0,9931	47	1,3312E-08	0,1215	0,9991
3	1,3929E-08	0,1183	0,9903	48	1,3208E-08	0,1245	0,9975
4	1,3920E-08	0,1214	0,9914	49	1,3198E-08	0,1277	0,9986
5	1,4092E-08	0,1164	0,9942	50	1,3370E-08	0,1227	0,9995
6	1,3988E-08	0,1194	0,9927	51	1,3266E-08	0,1257	0,9992
7	1,3841E-08	0,1198	0,9865	52	1,3119E-08	0,1261	0,9948
8	1,4013E-08	0,1149	0,9920	53	1,3291E-08	0,1211	0,9983
9	1,3909E-08	0,1179	0,9888	54	1,3187E-08	0,1241	0,9964
10	1,3977E-08	0,1197	0,9902	55	1,3222E-08	0,1255	0,9946
11	1,4149E-08	0,1147	0,9950	56	1,3393E-08	0,1206	0,9980
12	1,4045E-08	0,1177	0,9923	57	1,3290E-08	0,1236	0,9961
13	1,4036E-08	0,1209	0,9938	58	1,3280E-08	0,1267	0,9970
14	1,4208E-08	0,1159	0,9965	59	1,3452E-08	0,1217	0,9983
15	1,4104E-08	0,1189	0,9951	60	1,3348E-08	0,1248	0,9977
16	1,3956E-08	0,1193	0,9884	61	1,3201E-08	0,1251	0,9932
17	1,4128E-08	0,1143	0,9938	62	1,3373E-08	0,1202	0,9972
18	1,4024E-08	0,1173	0,9907	63	1,3269E-08	0,1232	0,9950
19	1,3941E-08	0,1199	0,9897	64	1,3337E-08	0,1250	0,9955
20	1,4113E-08	0,1149	0,9945	65	1,3509E-08	0,1200	0,9987
21	1,4009E-08	0,1179	0,9918	66	1,3405E-08	0,1230	0,9970
22	1,4000E-08	0,1210	0,9931	67	1,3568E-08	0,1212	0,9994
23	1,4172E-08	0,1161	0,9958	68	1,0000E-08	0,1182	0,9995
24	1,4068E-08	0,1191	0,9944	69	1,3464E-08	0,1242	0,9989
25	1,3920E-08	0,1194	0,9879	70	1,3317E-08	0,1246	0,9940
26	1,4092E-08	0,1145	0,9933	71	1,3489E-08	0,1196	0,9978
27	1,3988E-08	0,1175	0,9902	72	1,3385E-08	0,1226	0,9957
28	1,3060E-08	0,1242	0,9975	73	1,3301E-08	0,1252	0,9953
29	1,3232E-08	0,1219	0,9987	74	1,3473E-08	0,1202	0,9985
30	1,3128E-08	0,1249	0,9971	75	1,3369E-08	0,1232	0,9968
31	1,3119E-08	0,1281	0,9979	76	1,3360E-08	0,1263	0,9979
32	1,3291E-08	0,1231	0,9989	77	1,3532E-08	0,1214	0,9992
33	1,3187E-08	0,1261	0,9985	78	1,3428E-08	0,1244	0,9986
34	1,3039E-08	0,1265	0,9944	79	1,3281E-08	0,1248	0,9938
35	1,3211E-08	0,1215	0,9980	80	1,3453E-08	0,1198	0,9977
36	1,3107E-08	0,1245	0,9960				
37	1,3176E-08	0,1263	0,9964				
38	1,3348E-08	0,1214	0,9991				
39	1,3244E-08	0,1244	0,9977				
40	1,3234E-08	0,1275	0,9988				
41	1,3406E-08	0,1225	0,9997				
42	1,3302E-08	0,1226	0,9996				
43	1,3155E-08	0,1259	0,9949				
44	1,3327E-08	0,1209	0,9983				
45	1,3223E-08	0,1240	0,9965				

(ver explicação da página 126)

Concentrações					
1	1,1532E-07	28	1,0515E-07	56	1,1105E-07
2	1,2171E-07	29	1,0855E-07	57	1,0752E-07
3	1,1774E-07	30	1,0511E-07	58	1,0481E-07
4	1,1466E-07	31	1,0241E-07	59	1,1053E-07
5	1,2107E-07	32	1,0797E-07	60	1,0696E-07
6	1,1710E-07	33	1,0458E-07	61	1,0552E-07
7	1,1550E-07	34	1,0308E-07	62	1,1126E-07
8	1,2196E-07	35	1,0873E-07	63	1,0770E-07
9	1,1797E-07	36	1,0528E-07	64	1,0670E-07
10	1,1677E-07	37	1,0432E-07	65	1,1258E-07
11	1,2336E-07	38	1,0995E-07	66	1,0898E-07
12	1,1933E-07	39	1,0646E-07	67	1,0615E-07
13	1,1610E-07	40	1,0380E-07	68	1,1195E-07
14	1,2259E-07	41	1,0944E-07	69	1,0841E-07
15	1,1862E-07	42	1,0850E-07	70	1,0688E-07
16	1,1698E-07	43	1,0449E-07	71	1,1278E-07
17	1,2360E-07	44	1,1023E-07	72	1,0918E-07
18	1,1956E-07	45	1,0664E-07	73	1,0624E-07
19	1,1627E-07	46	1,0387E-07	74	1,1209E-07
20	1,2283E-07	47	1,0956E-07	75	1,0851E-07
21	1,1882E-07	48	1,0609E-07	76	1,0578E-07
22	1,1570E-07	49	1,0335E-07	77	1,1147E-07
23	1,2207E-07	50	1,0896E-07	78	1,0794E-07
24	1,1812E-07	51	1,0554E-07	79	1,0642E-07
25	1,1658E-07	52	1,0404E-07	80	1,1230E-07
26	1,2307E-07	53	1,0975E-07	81	1,0871E-07
27	1,1905E-07	54	1,0626E-07		
		55	1,0535E-07		



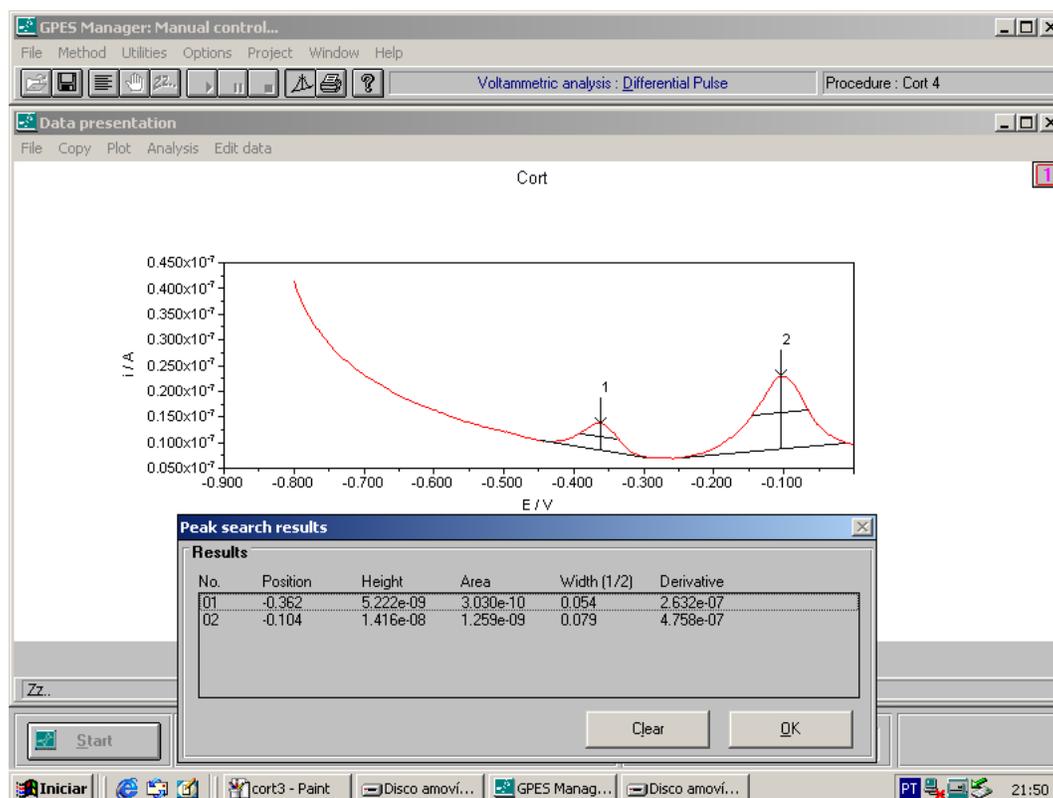
	b		m		R ²		Média	Desvio Padrão	LOD	LOL	CV
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão					
Branco	8,5840E-09	3,0453E-10	0,5955	0,0086	0,9993	0,0004	1,4425E-08	7,0245E-10	1,65326E-08	15,5	4,869601
Cortiça	1,3497E-08	5,3319E-10	0,1217	0,0035	0,9955	0,0033	1,1134E-07	6,0856E-09	-		5,465957

Anexo II: Exclusão de valores desviantes

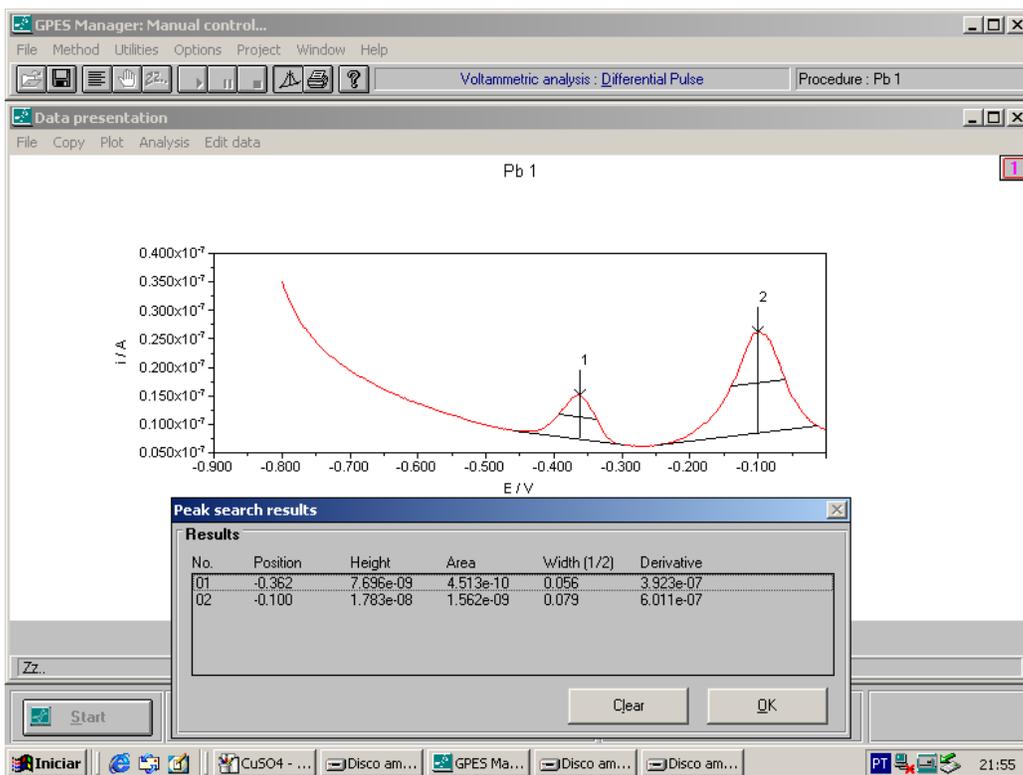
Com vista ao completo esclarecimento do procedimento que conduz à obtenção dos sinais analíticos, que são as grandezas determinantes da qualidade da análise, a seguir demonstra-se como é feita a recolha e escolha dos mesmos pondo em evidência a variação que existe no sentido da melhoria do resultado final causada pelo desprezar de valores desalinhados designados, na terminologia inglesa, por “outliers”. Esta exclusão de valores desviantes explicita as deficiências prováveis numa análise como a realizada e representa, portanto, uma possibilidade de um mau cenário que vai sendo sucessivamente melhorado à medida que os pontos desalinhados são retirados do procedimento que produz o resultado final.

Todas as imagens seguintes provêm do ecrã do monitor do computador usado durante a análise e são-lhe retiradas através da função “print screen” que impede qualquer manipulação da imagem.

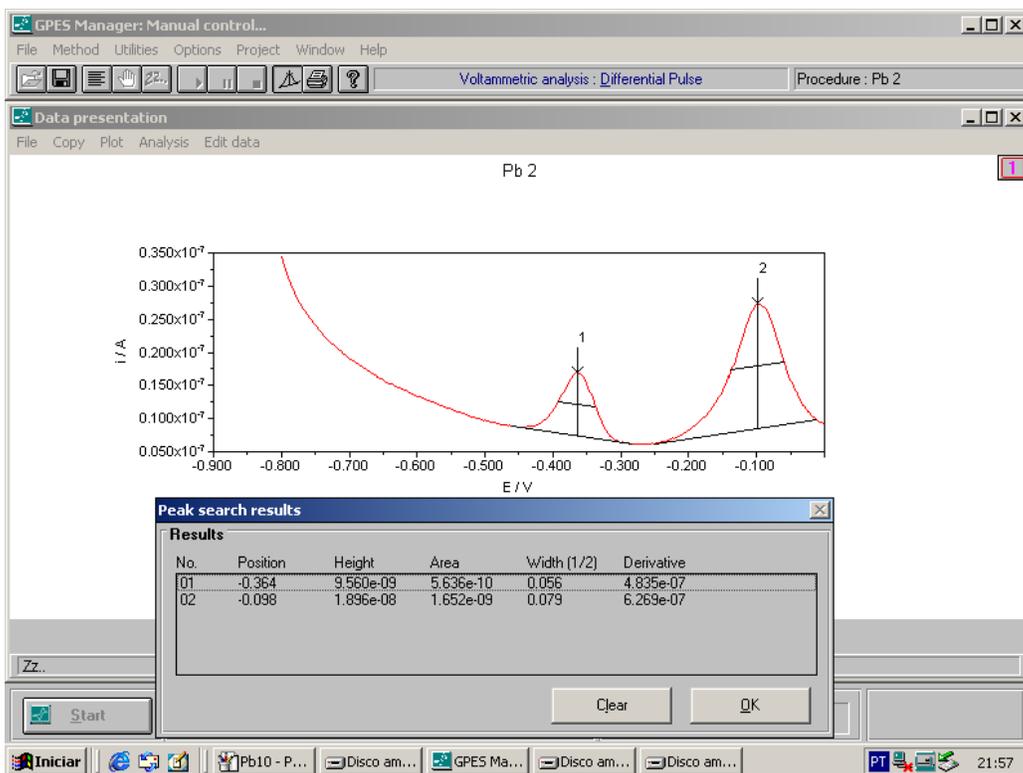
Cort – A amostra da cortiça.



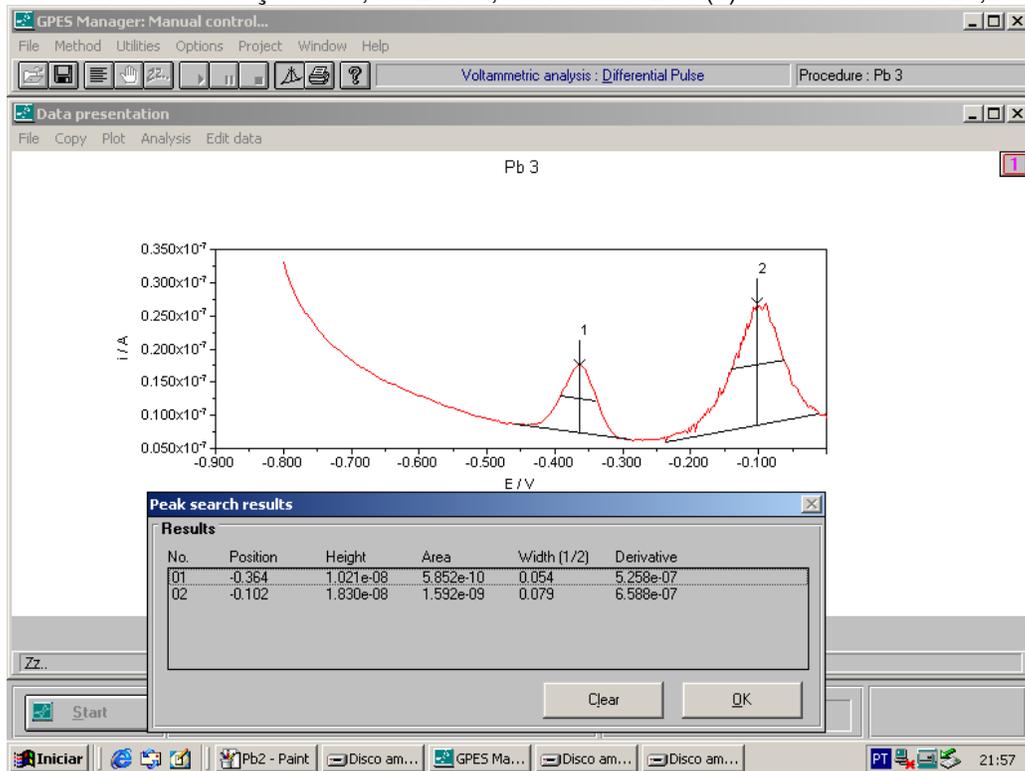
Pb 1 – A primeira adição de 0,1 mL de $1,1 \times 10^{-5}$ mol/L Pb(II) a um volume de 21 mL.



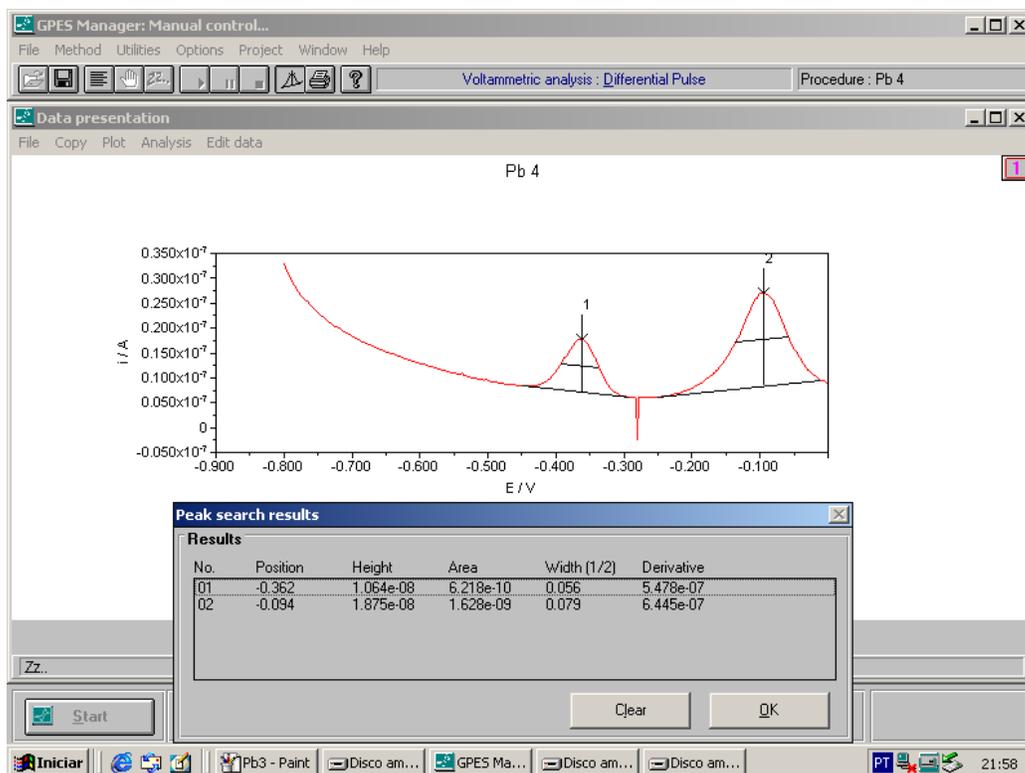
Pb 2 – A segunda adição de 0,1 mL de $1,1 \times 10^{-5}$ mol/L Pb(II) a um volume de 21,1mL.



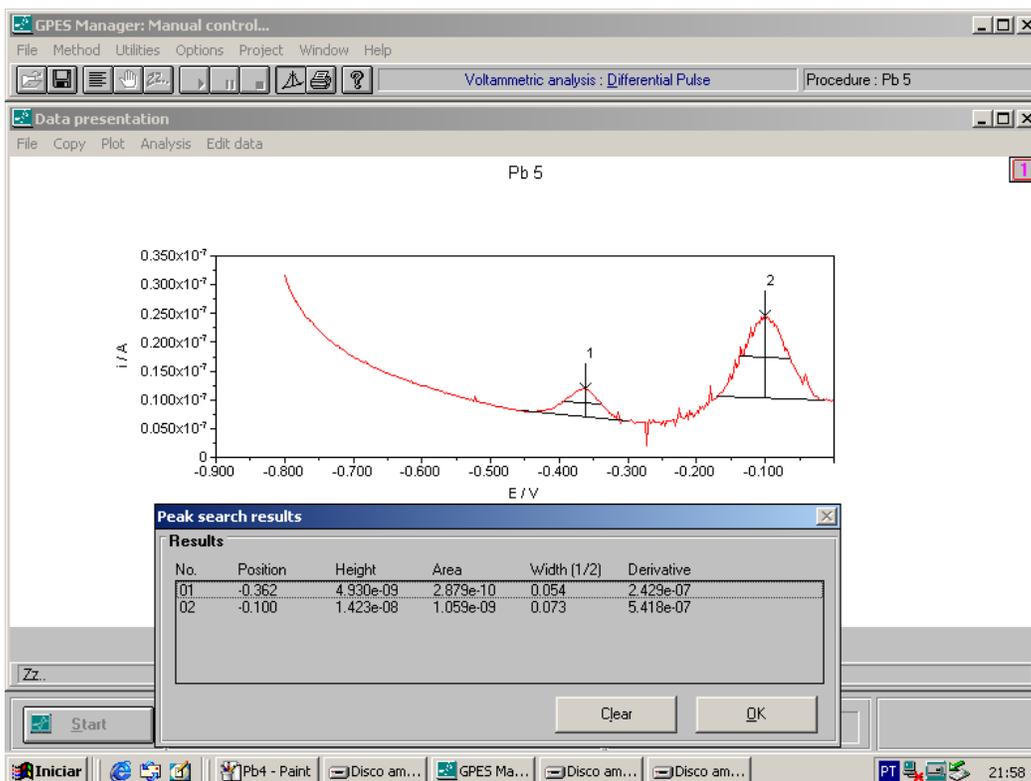
Pb 3 – A terceira adição de 0,1 mL de $1,1 \times 10^{-5}$ mol/L Pb(II) a um volume de 21,2 mL.



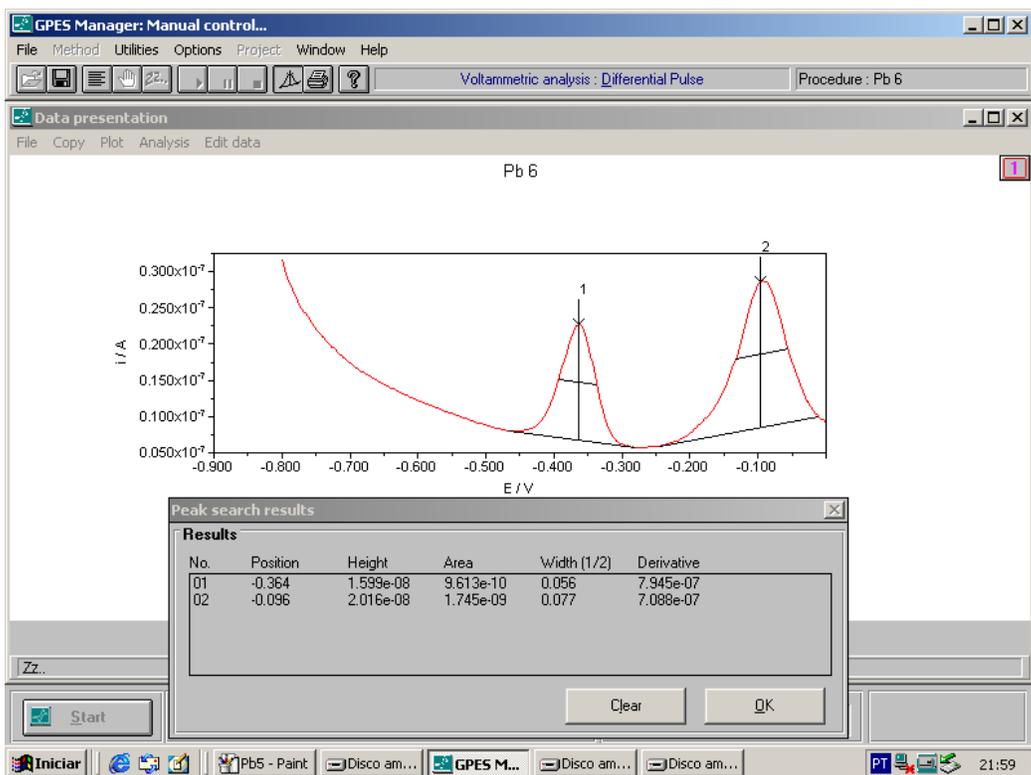
Pb 4 – A quarta adição de 0,1 mL de $1,1 \times 10^{-5}$ mol/L Pb(II) a um volume de 21,3 mL.



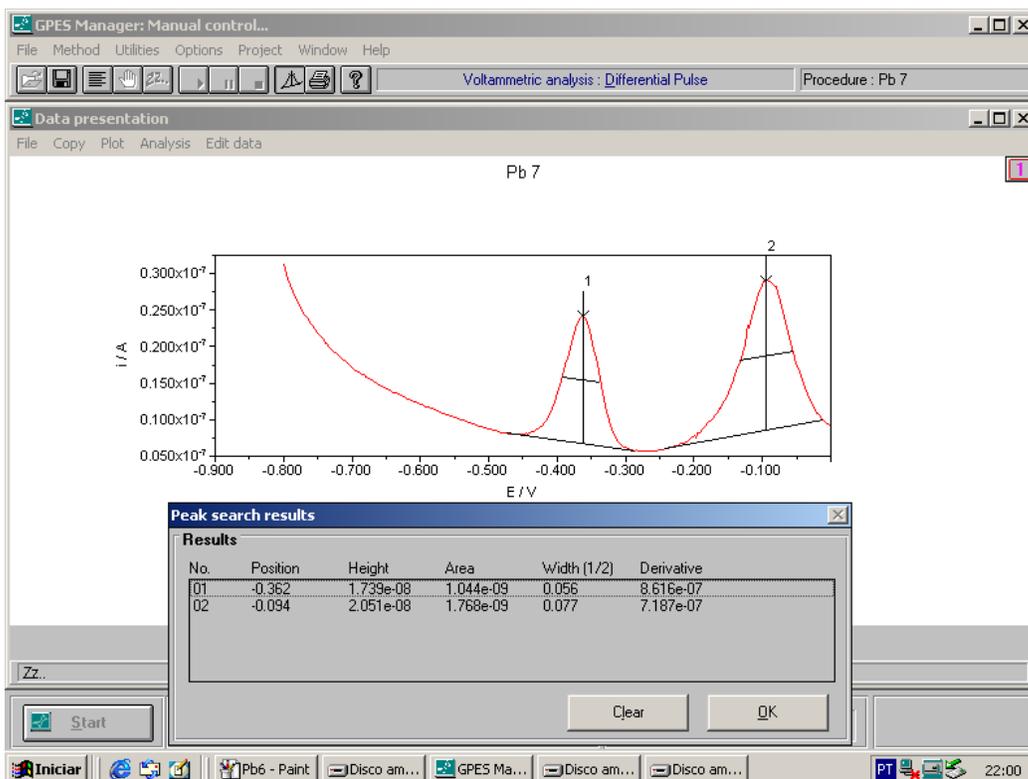
Pb 5 – A quinta adição de 0,1 mL de $1,1 \times 10^{-5}$ mol/L Pb(II) a um volume de 21,4 mL.



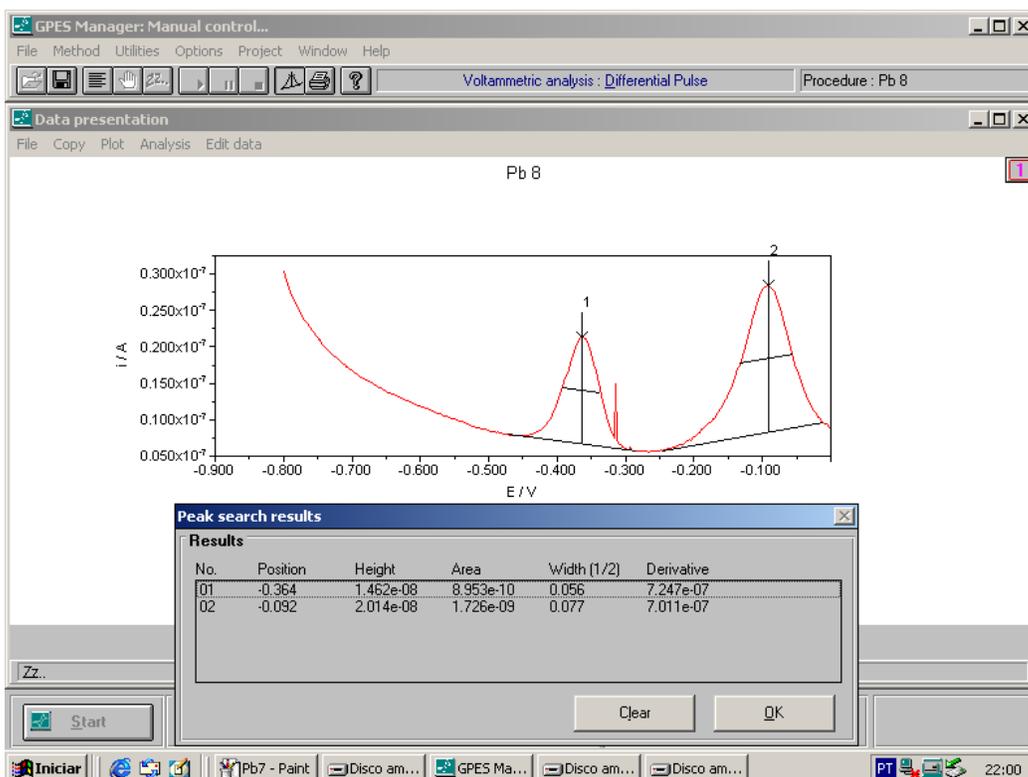
Pb 6 – A sexta adição de 0,1 mL de $1,1 \times 10^{-5}$ mol/L Pb(II) a um volume de 21,5 mL.



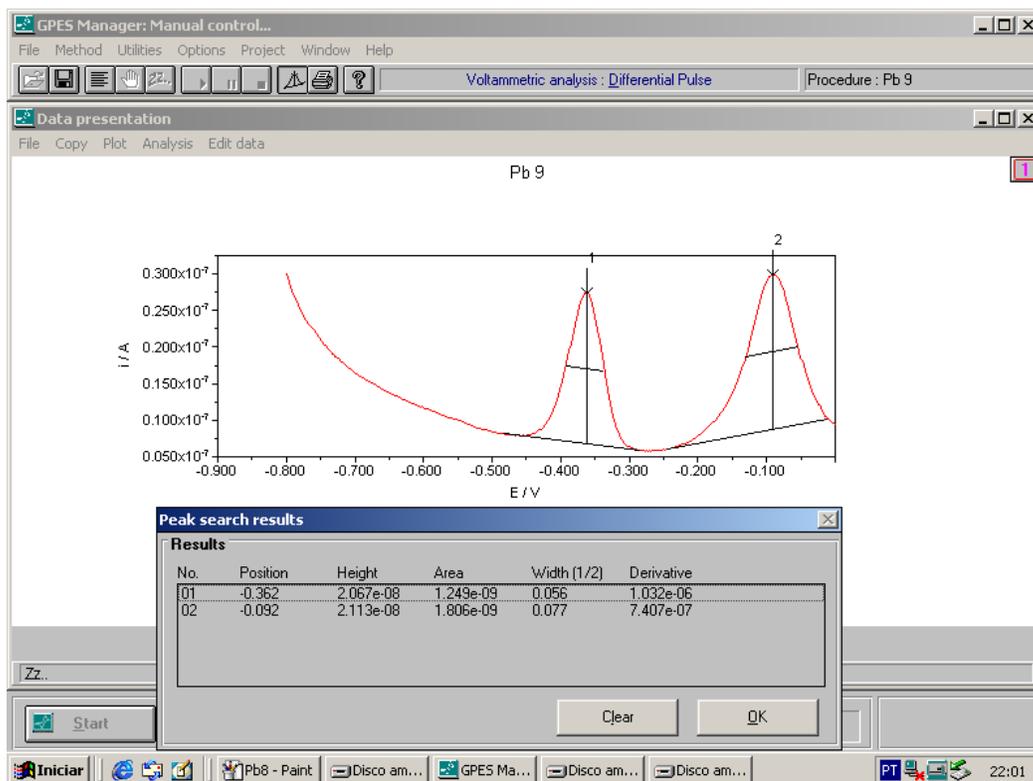
Pb 7 – A sétima adição de 0,1 mL de $1,1 \times 10^{-5}$ mol/L Pb(II) a um volume de 21,6 mL.



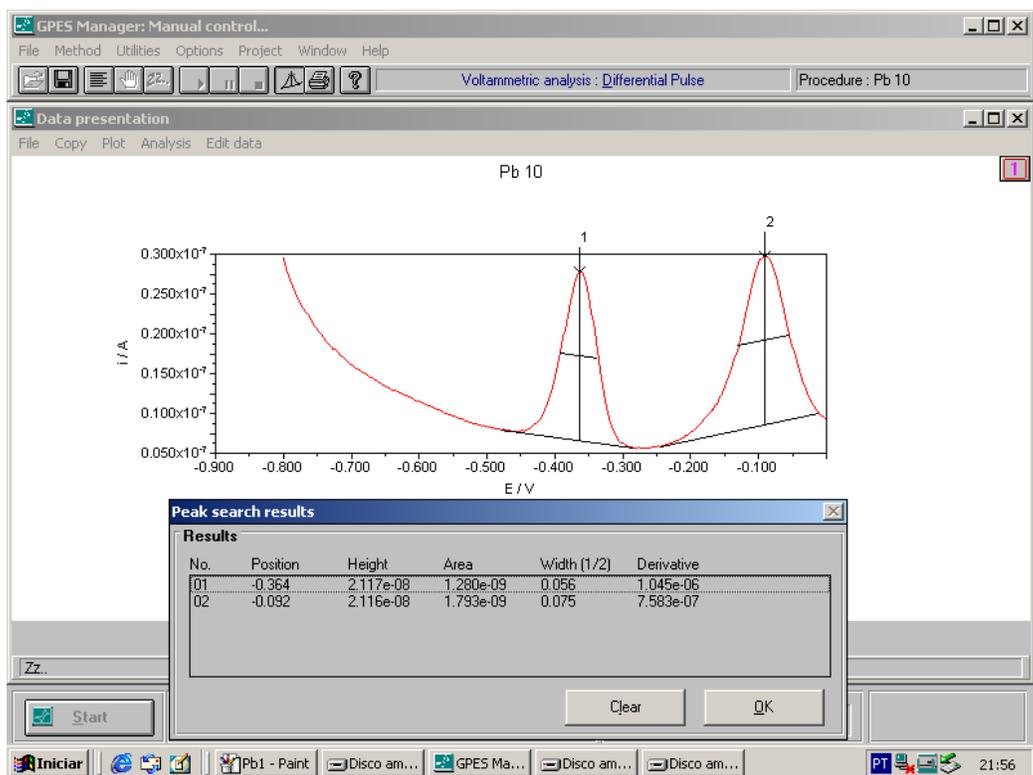
Pb 8 – A oitava adição de 0,1 mL de $1,1 \times 10^{-5}$ mol/L Pb(II) a um volume de 21,7 mL.



Pb 9 – A oitava adição de 0,1 mL de $1,1 \times 10^{-5}$ mol/L Pb(II) a um volume de 21,8 mL.

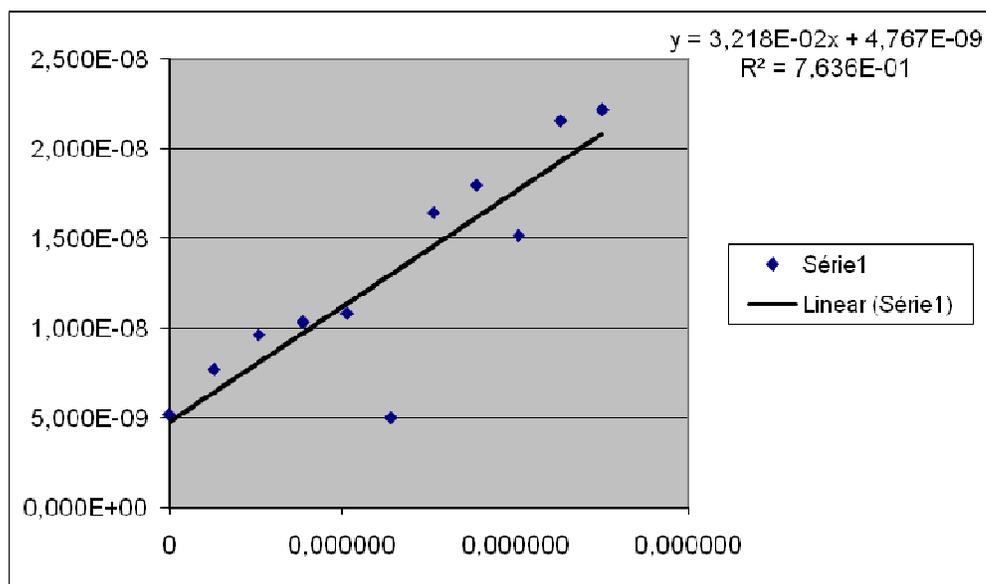


Pb 10 – A décima adição de 0,1 mL de $1,1 \times 10^{-5}$ mol/L Pb(II) a um volume de 21,9 mL.



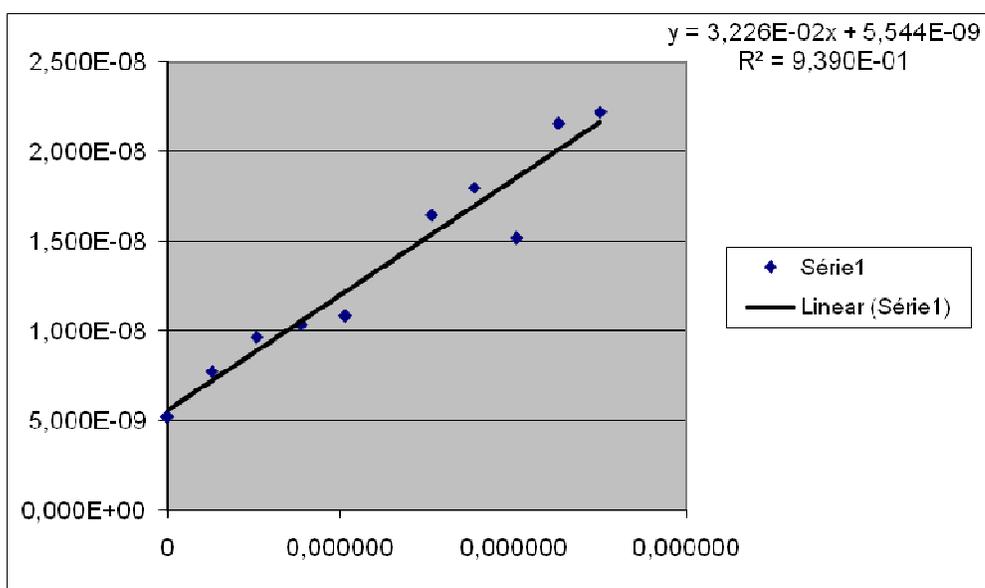
De acordo com a lógica apresentada no início deste anexo mostra-se agora a tabela de intensidades de corrente corrigidas *versus* concentração padrão da célula electrolítica bem como a evolução do resultado final em função da saída dos valores desviantes:

concentrações padrão mol/L	correntes corrigidas A	
0	5,226E-09	cortiça
5,213E-08	7,733E-09	Pb 1
1,038E-07	9,651E-09	Pb 2
1,549E-07	1,036E-08	Pb 3
2,056E-07	1,084E-08	Pb 4
2,558E-07	5,047E-09	Pb 5
3,056E-07	1,645E-08	Pb 6
3,548E-07	1,797E-08	Pb 7
4,037E-07	1,518E-08	Pb 8
4,521E-07	2,156E-08	Pb 9
5,000E-07	2,218E-08	Pb 10



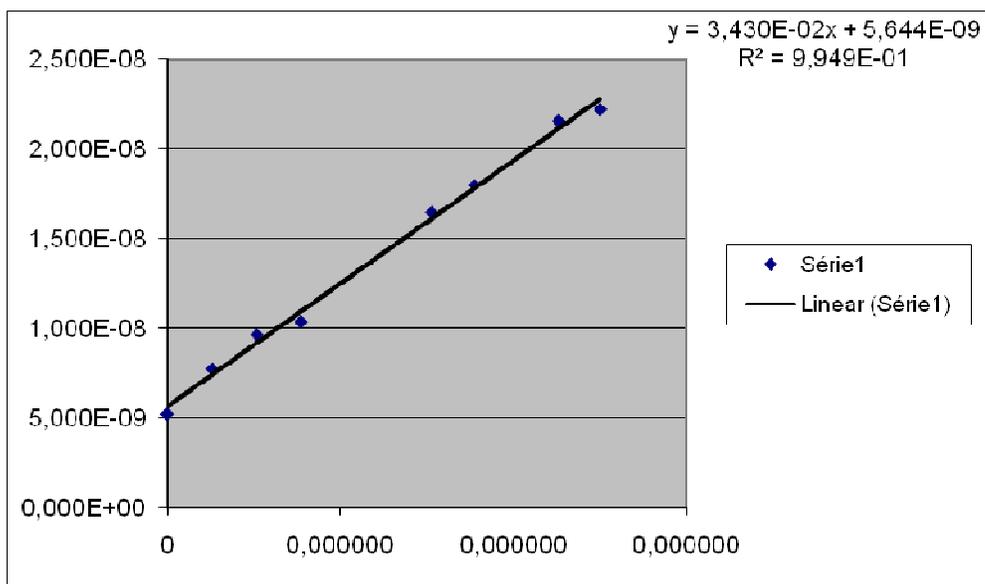
Cortiça + Branco	Branco	Cortiça
1,48135E-07	1,444E-08	1,337E-07
		7,32849E-05
		73,3 ppm

mol/L	A	
0	5,226E-09	cortiça
5,213E-08	7,733E-09	Pb 1
1,038E-07	9,651E-09	Pb 2
1,549E-07	1,036E-08	Pb 3
2,056E-07	1,084E-08	Pb 4
3,056E-07	1,645E-08	Pb 6
3,548E-07	1,797E-08	Pb 7
4,037E-07	1,518E-08	Pb 8
4,521E-07	2,156E-08	Pb 9
5,000E-07	2,218E-08	Pb 10



Cortiça + Branco	Branco	Cortiça
1,71854E-07	1,444E-08	1,574E-07
		8,629E-05
		86,3 ppm

mol/L	A	
0	5,226E-09	cortiça
5,213E-08	7,733E-09	Pb 1
1,038E-07	9,651E-09	Pb 2
1,549E-07	1,036E-08	Pb 3
3,056E-07	1,645E-08	Pb 6
3,548E-07	1,797E-08	Pb 7
4,521E-07	2,156E-08	Pb 9
5,000E-07	2,218E-08	Pb 10



Cortiça + Branco	Branco	Cortiça
1,64548E-07	1,444E-08	1,501E-07
		8,228E-05
		82,3 ppm



Contactos:

Universidade de Évora
Instituto de Investigação e Formação Avançada - IIFA
Palácio do Vimioso | Largo Marquês de Marialva, Apart. 94
7002-554 Évora | Portugal
Tel: (+351) 266 706 581
Fax: (+351) 266 744 677
email: iifa@uevora.pt