FEUP

Transformações Biogeoquímicas na Bacia Hidrográfica do Rio Lis

Dissertação de Doutoramento
em
Ciências da Engenharia

por

Judite dos Santos Vieira

Orientação
Doutora Cidália Maria de Sousa Botelho
Doutor Rui Alfredo da Rocha Boaventura

LSRE
Laboratory and Separation and Reaction Engineering

Departamento de Engenharia Química
Faculdade de Engenharia
Universidade do Porto

Setembro 2007

Universidade do Porto
Faculdade de Engenharia
FEUP

Transformações Biogeoquímicas na Bacia Hidrográfica do Rio Lis

Dissertação apresentada à
Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto
com vista à obtenção do grau de Doutor

por

Judite dos Santos Vieira

Orientação

Professora Doutora Cidália Maria de Sousa Botelho
Professor Doutor Rui Alfredo da Rocha Boaventura

Laboratório de Processos de Separação e Reacção
Departamento de Engenharia Química
Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto
Porto, Portugal

Setembro de 2007

Agradecimentos

Desejo agradecer a todos os que participaram directa ou indirectamente deste trabalho.

Aos meus orientadores, Doutora Cidália Botelho e Doutor Rui Boaventura, pelo incentivo, aconselhamento, confiança, disponibilidade e amizade que sempre demonstraram e que foram essenciais para a concretização deste trabalho.

A todas as pessoas do Laboratório de Ciências do Ambiente, Alberta Macedo, Sílvia, Elsa, Helena, Maria do Céu, Patricia, Maria João, Sousa Vale e Licas, pela amizade, companheirismo e colaboração nas inúmeras análises efectuadas no decorrer deste trabalho.

A todos os colegas do Laboratório de Investigação, Christopher, Ramiro, Cármen, Ana Isabel e Joana, cujo apoio e camaradagem muitas vezes aliviaram os momentos mais difíceis. Ao Vitor pela disponibilidade total na aplicação do modelo de simulação da qualidade das águas QUAL2Kw e na aventura das deslocações para as medidas de caudal efectuadas na bacia do Lis. À Sílvia e Olga pelo apoio, incentivo, sugestões e amizade.

Aos colegas do LSRE agradeço o apoio e camaradagem que todos demonstraram ao longo da realização deste trabalho. Ao Nuno agradeço a ajuda na resolução dos problemas informáticos; ao Carlos Grande, a ajuda na resolução das equações cinéticas de biodegradação.

À Doutora Olga Nunes e ao Doutor Fernando Martins pela simpatia, sugestões e ajuda que sempre prestaram.

Ao Doutor Luis de Melo por colocar o seu laboratório à disposição nas análises de microscopia de fluorescência.

Ao Doutor José Serrano da CCDR-Centro por ter tido a amabilidade de disponibilizar toda a informação relativa ao Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lis.

Ao Sr. Manuel Guimarães e ao Eng.º Joaquim Barbosa do Departamento de Engenharia Civil da FEUP agradeço a preciosa ajuda no esclarecimento das dúvidas relativas à utilização do software ArcGis.

Ao Eng.º Cláudio de Jesus da SIMLIS pela colaboração sempre pronta no esclarecimento de dúvidas relativas aos diferentes aspectos da caracterização da Bacia Hidrográfica do Lis.

Ao Eng.º Paulo do Serviço de Hidráulica de Leiria agradeço a ajuda indispensável no reconhecimento do percurso do rio Lis.

À Doutora Regina do Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho pelas suas sábias sugestões relativas às bactérias nitrificantes.

À Cândida, pela ajuda, apoio, incentivo, sugestões e amizade.

À Catarina, obrigado pelo seu optimismo e boa disposição e, mesmo estando longe, por nunca se esquecer de ligar a dar uma forcinha.

A todos os colegas e amigos da ESTG de Leiria agradeço o apoio e camaradagem que demonstraram ao longo da realização deste trabalho. Ao Ricardo agradeço a disponibilidade total para se levantar cedo e ajudar nas campanhas de amostragem efectuadas. À Fátima pelo incentivo e pela amizade.

Aos alunos do curso de Engenharia do Ambiente da ESTG de Leiria que colaboraram amavelmente nas campanhas de amostragem de águas, agradeço a disponibilidade e dedicação.

Ao Doutor Greg Pelletier do Department of Ecology and Tufts University agradeço o apoio através da resposta imediata às inúmeras mensagens enviadas com dúvidas relativas à calibração do modelo QUAL2Kw.

À Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, ao seu Departamento de Engenharia Química e ao LSRE (Laboratório de Processos de Separação e Reacção) pelos meios disponibilizados.

Ao Instituto Politécnico de Leiria pela dispensa total de serviço concedida, fundamental, para a realização deste trabalho.

Ao PRODEP (Programa de Formação Avançada de Docentes do Ensino Superior, 2003) pelo suporte financeiro.

Por último, mas não em último lugar, agradeço à minha Família e amigos toda o incentivo e compreensão prestada durante a realização deste trabalho. Aos meus Pais, por todo o amor e apoio que foram a mim dedicados através de ensinamentos, conselhos, lições de vida, entre tantos outros. Ao Ireneu por todo o amor, amizade, apoio e pelas inúmeras deslocações ao terreno durante as campanhas de recolha de águas e sedimentos.

"…Para o lado do mar, para onde o rio se arrasta nas terras baixas entre dois renques de salgueiros pálidos, estende-se até aos primeiros o campo de Leiria, largo, fecundo, com aspecto de águas abundantes, cheio de luz." Eça de Queiroz (1876). O crime do Padre Amaro

"A existência é um contrato estranho. A vida deve-nos pouco; nós devemos-lhe tudo. A única felicidade verdadeira vem de esbanjarmos as nossas energias para alcançarmos um objectivo" William Cowper (1731-1800)

À Ana Isabel

Ao Ireneu

Aos Meus Pais

Resumo

A bacia hidrográfica do rio Lis constitui um dos mais importantes recursos naturais da região de Leiria (Portugal). A degradação da qualidade das águas devida às descargas continuadas de efluentes domésticos, pecuários e industriais e às práticas agrícolas inadequadas tem conduzido, na última década, à definição de um conjunto de medidas legais, institucionais, organizacionais e estruturais para que, de forma integrada, se promova uma adequada gestão dos recursos hídricos da bacia.

Pretendeu-se com este trabalho avaliar a situação da bacia hidrográfica do Lis, no período correspondente aos anos hidrológicos de 2003/04 a 2006/07, em termos de qualidade das águas e respectivas transformações biogeoquímicas.

A monitorização da qualidade das águas na bacia foi efectuada em 16 locais de amostragem, através de 6 campanhas, tendo em consideração os afluentes principais e a localização das principais fontes poluidoras. A qualidade das águas foi avaliada em termos de matéria orgânica, nutrientes, contaminação fecal, clorofila e contaminação por metais. Foram estimadas as principais cargas poluentes a partir do levantamento das fontes poluidoras e da caracterização de um efluente suinícola. Os dados obtidos no programa de monitorização foram submetidos a análise estatística multivariada (correlação, análise de componentes principais e análise grupal) com o objectivo de identificar os parâmetros que mais contribuem para a degradação geral da qualidade das águas e os locais da bacia mais contaminados. A modelação matemática da qualidade da água do rio Lis foi efectuada recorrendo ao modelo unidimensional QUAL2Kw, o qual foi calibrado e validado para dois cenários diferentes (caudal elevado e caudal baixo). A calibração efectuada reproduziu satisfatoriamente os resultados observados e confirmou que o rio Lis apresenta problemas graves de poluição no troço mais a jusante, após confluência do rio Lena, ribeira dos Milagres e colector de Amor, em termos de oxigénio dissolvido, carência bioquímica de oxigénio, azoto e coliformes fecais.

O estudo da distribuição dos metais (Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al) nos sedimentos, recolhidos em duas épocas diferentes (Inverno e Primavera), foi efectuado por extracção sequencial (BCR), sendo determinada a quantidade de metal presente nas fracções permutável/ácido solúvel, redutível, oxidável e residual. Os locais com maior contaminação metálica são os localizados nas áreas sujeitas a descargas de efluentes pecuários, domésticos e industriais. A importância dos metais para a contaminação decresce na seguinte ordem:

Mn>Zn>Al>Fe>Cu>Pb > Cr> Ni, tendo em conta a fracção permutável/ácido solúvel, a que corresponde uma maior mobilidade e biodisponibilidade.

A concentração de azoto e matéria orgânica na bacia hidrográfica do rio Lis é preocupante, nomeadamente, na ribeira dos Milagres, que concentra grande parte das suiniculturas. Estudou-se em laboratório, a degradação biológica de compostos de azoto e de carbono orgânico dissolvido em reactor fechado, perfeitamente agitado e arejado, caracterizando quantitativamente algumas populações microbianas com sondas oligonucleotídicas. Detectaram-se bactérias nitrificantes de amónio do *género Nitrosomonas* e bactérias nitrificantes de nitrito do *philum Nitrospira*. O modelo cinético de Quiroga & Sales descreve satisfatoriamente as cinéticas dos processos de nitrificação e degradação da matéria orgânica.

Palavras-chave: Rio Lis, Qualidade da Água, QUAL2Kw, Sedimentos, Metais, Extracção Sequencial, Cinética da Nitrificação, FISH, Bactérias Nitrificantes

Abstract

The Lis river basin is one of the most important natural resources of Leiria region (Portugal). The surface waters have been contaminated, as the result of discharges of wastewaters containing degradable organics, nutrients and pathogenic organisms from cattle-raising wastewaters, domestic effluents and agricultural run-off.

Freshwater pollution problems are gaining attention regional wide because their impacts on social, economic, health and others.

The main goal of this research was the evaluation of water quality and the identification of the pollution sources in the Lis river basin, in order to contribute to the integrated management of surface water resources. For that purpose, 16 monitoring stations have been strategically selected along the Lis river and in main tributaries, to evaluate the water quality in 6 different sampling periods. All samples were characterized in terms of organic material, nutrients, chlorophyll, pathogenic bacteria and metals. The data results were analysed using multivariate statistic tools (factor, principal components and cluster analyses) for identifying of the pollution sources and the more polluted river stretch. The water quality model QUAL2Kw was calibrated with data from July 2004 and November 2006. Generally the model fitted the field data quite well. The results indicated a decrease of water quality in the downstream area of the Lis River, after the confluence of Lena, Milagres and Amor tributaries. The water quality criteria was exceed in this area for dissolved oxygen, biochemical oxygen demand, total nitrogen and faecal coliform.

The extractable contents of Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe and Al were evaluated in sediments from the Lis River by using the three step sequential extraction procedure described by Community Bureau of Reference (BCR). The trace metals distribution among the exchangeable, water and acid soluble, reducible, oxidizable and residual fractions was determined. The highest metal concentrations were observed in samples collected at the most polluted river sites (animal husbandry, domestic, industrial and agricultural wastes). Pb, Cu, Cr, Ni, Fe and Al were found mainly associated with the residual and organic fractions. High concentrations of Zn and Mn were found in the exchangeable/acid soluble fraction. The observed mobility order (percentage of metal extracted in the exchangeable/acid soluble fraction) of the eight trace metals studied was Mn>Zn> Ni> Pb>Cu> Cr>Al>Fe.

The degradation process of the highly polluted water from Milagres tributary was studied in a batch reactor and the Quiroga & Sales model was applied to describe the results. The Quiroga & Sales kinetic model predicted successfully the soluble organic carbon removal and the ammonium consumption profiles. The dynamics of microbiological communities was identified and quantified by fluorescence in situ hybridization (FISH). Ammonia-oxidizing and nitrite-oxidizing bacteria of the *genus Nitrosomonas* and the *phylum Nitrospira* were detected.

Keywords: Lis River, Water Quality, QUAL2Kw Model, River Sediments, Trace Metal Distribution, BCR Sequential Extraction, Nitrification Kinetic, FISH, AOB and NOB

Résumé

Le bassin du fleuve Lis est un des plus importants ressources naturelles de la région de Leiria (Portugal). L'eau superficielle est souillée, comme résultat des décharges des eaux usagées contenant des produits organiques dégradables, des nutriments et des organismes pathogènes que provienne de l'écoulement d'élevage du bétail, domestique et agricole.

L'objectif principal de cette recherche était d'évaluer la qualité de l'eau et d'identifier les sources de pollution dans le bassin du fleuve Lis, afin de contribuer à la gestion intégrée de l'eau superficielle. Pour accomplir cet objectif, 16 stations de surveillance avaient été stratégiquement choisies en 6 périodes de prélèvement différents. Tous les échantillons ont été analysés en termes de matériel organique, de nutriments, de chlorophylle, de bactéries pathogènes et de métaux. Les données obtenues ont été analysées à l'aide des outils multi variables de statistique (facteur, composants principaux, et analyses de faisceau) pour identifier des sources de pollution et le secteur de fleuve le plus pollué. Un modèle unidimensionnel de qualité de l'eau, QUAL2Kw, a été calibré avec les résultats des campagnes de juillet 2004 et de novembre 2006. Généralement, les données de champ sont tout à fait bien représentées par le modèle. Les résultats ont indiqué une diminution sur la qualité de l'eau de la région descendante du fleuve Lis, après confluent avec les tributaires Lena, Milagres et Amor. Les critères de qualité de l'eau sont excédés dans ce secteur pour l'oxygène dissous, la demande biochimique de l'oxygène, l'azote total et les coliformes fécaux.

Le contenu extractable en Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe et Al a été évalué dans les sédiments en employant le procédé séquentiel en trois étapes d'extraction décrit par le 'Community Bureau of Reference' (BCR). La distribution des métaux parmi les fractions échangeable, solubles dans l'eau et dans l'acide, réductibles, oxydables et résiduelles a été déterminée. On a observé les concentrations plus haut en métal dans les échantillons rassemblés aux emplacements de fleuve les plus pollués (les pertes de production animale, domestique, industrielles et agricoles). Le Pb, le Cu, le Cr, le Ni, le Fe et l'Al ont été trouvés principalement associés aux fractions résiduelles et organiques. Des concentrations élevées du Zn et du Mn ont été trouvées dans la fraction échangeable/soluble dans l'acide. L'importance des métaux pour la contamination, associés a fraction échangeable/soluble dans l'acide, est Mn>Zn>Al>Fe>Cu>Pb>Cr>Ni.

Le procédé biologique de nitrification et la biodégradation de la matière organique dans le tributaire de Milagres ont été étudiés et le modèle mathématique de Quiroga & Sales a été appliqué pour décrire les résultats. Le modèle mathématique a été calibré en utilisant des données obtenues à partir des expériences en réacteur fermé. La dynamique des communautés microbiologiques a été identifiée et mesurée par l'hybridation in situ de fluorescence (FISH). Les bactéries de l'oxydation d'ammoniaque et de l'oxydation de nitrite, le genre *Nitrosomonas* et le *phylum Nitrospira* ont été détectés.

Mots-clés: Fleuve Lis, Qualité de L'eau, Modèle QUAL2Kw, Dépositions dans les Fleuves, Métaux, Extraction Séquentiel, Cinétique de Nitrification, FISH, Bactérie Nitrifier

Índice Geral

NOMENCLATURA XIII

1. INTRODUÇÃO 1
   1.1 Nota Histórica 1
   1.2 Enquadramento e Motivação 4
   1.3 Objectivos 5

2. CARACTERIZAÇÃO DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO LIS 7
   2.1 Introdução 8
   2.2 Morfologia 10
      2.2.1 Hidrografia 12
      2.2.2 Análise superficial e de relevo 14
   2.3 Geologia 17
   2.4 Hidrogeologia 19
   2.5 Análise Climática 20
   2.6 Ocupação do Solo 22
   2.7 Análise Demográfica 25
   2.8 Actividades Económicas 29
      2.8.1 Sector agrícola 31
      2.8.2 Sector pecuário 35
      2.8.3 Sector industrial 38
   2.9 Caracterização e Avaliação dos Recursos Hídricos 44
      2.9.1 Curvas de vazão 46
      2.9.2 Precipitação 47
   2.10 Qualidade da Água 49
   2.11 Principais Usos da Água 52
   2.12 Situações de Risco de Poluição 53
   2.13 Conclusões 56
   2.14 Referências 57

3. QUALIDADE DAS ÁGUAS SUPERFICIAIS NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO LIS 59
   3.1 Introdução 60
   3.2 Avaliação da Qualidade da Água 65
      3.2.1 Parâmetros físicos 65
      3.2.2 Parâmetros químicos 66
         3.2.2.1 Matéria orgânica 66
         3.2.2.2 Nutrientes 68
         3.2.2.3 Metais 70
      3.2.3 Parâmetros microbiológicos 73
      3.2.4 Parâmetros biológicos 74

3.3 Qualidade da Água 75
3.4 Cargas Poluentes (Actividade Pecuária) 77
3.4.1 Análise de um efluente suinícola 80
3.4.1.1 Metodologia 80
3.4.1.2 Resultados e discussão 81
3.5 Monitorização da Qualidade da Água 83
3.5.1 Área de estudo 84
3.5.2 Características dos locais de amostragem 85
3.5.3 Amostragem 88
3.5.4 Parâmetros de qualidade da água 89
3.5.5 Resultados 93
3.5.5.1 Caudal 97
3.6 Análise Estatística Multivariada 115
3.6.1 Análise factorial 116
3.6.2 Análise grupal 117
3.6.3 Resultados 119
3.6.3.1 Análise da matriz de correlação 119
3.6.3.2 Análise de componentes principais (ACP) e análise grupal (AG) 121
3.7 Análise da Qualidade Ecológica das Águas Superficiais 130
3.7.1 Metodologia 130
3.7.2 Classificação do estado ecológico das águas superficiais 133
3.8 Modelação Matemática 135
3.8.1 Objectivos 135
3.8.2 Modelação de sistemas fluviais 136
3.8.3 Descrição do modelo 138
3.8.3.1 Segmentação 139
3.8.3.2 Balanço de massa 140
3.8.3.3 Características hidráulicas 142
3.8.3.4 Tempo de passagem 144
3.8.3.5 Dispersão longitudinal 145
3.8.3.6 Constituintes do modelo 146
3.8.3.7 Reacções fundamentais 150
3.8.3.8 Relações estequiométricas 151
3.8.3.9 Efeito da Temperatura 152
3.8.4 Descrição do Sistema Sujeito a Modelação 153
3.8.5 Calibração do modelo 154
3.8.5.1 Parâmetros do sistema 157
3.8.6 Discussão dos resultados 160
3.8.6.1 Calibração e confirmação 160
3.8.6.2 Limitações na calibração 167
3.9 Conclusões 169
3.10 Referências 171

4. CONTAMINAÇÃO DOS SEDIMENTOS NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO LIS 177
4.1 Introdução 178
4.2 Geoquímica 180
4.3 Extracção Sequencial 181
4.4 Granulometria 183

4.5 Área de Estudo 184
4.6 Materiais e Métodos 186
4.6.1 Amostragem 186
4.6.2 Análise química 186
4.6.3 Determinação da concentração pseudototal de metais 187
4.6.4 Determinação da concentração extractável de metais 188
4.7 Resultados e Discussão 191
4.7.1 Sedimento de referência CRM-601 191
4.7.2 Sedimentos da bacia do Lis 195
4.7.2.1 Análise estatística 195
4.7.2.2 Extracção sequencial 201
4.8 Conclusões 210
4.9 Referências 211

5. ESTUDO DA DEPURAÇÃO DAS ÁGUAS SUPERFICIAIS DA RIBEIRA DOS MILAGRES: DEGRADAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA E NITRIFICAÇÃO. 217
5.1 Introdução 218
5.2 Processo de Nitrificação 220
5.2.1 Microrganismos Nitrificantes 221
5.3 Modelos Cinéticos que Descrevem Processos de Biodegradação 227
5.3.1 Modelos de crescimento de microrganismos 227
5.3.2 Modelos de consumo de substrato 228
5.3.3 Cinética de nitrificação 229
5.4 Técnicas Utilizadas para o Estudo de Microrganismos no Ambiente 231
5.4.1 Hibridação com sondas genéticas (FISH) 234
5.5 Materiais e Métodos 236
5.5.1 Sistema em estudo 236
5.5.2 Processo de biodegradação (nitrificação) em reactor fechado 237
5.5.3 Quantificação de microrganismos 238
5.5.3.1 Quantificação de bactérias totais 238
5.5.3.2 Quantificação de bactérias metabolicamente activas 239
5.5.3.3 Identificação e quantificação de grupos de bactérias 240
5.6 Resultados e Discussão 243
5.6.1 Optimização das condições experimentais 243
5.6.2 Controlos positivos 245
5.6.3 Dinâmica de populações microbianas 247
5.6.4 Variação das espécies de azoto e da biomassa 250
5.6.5 Modelo de consumo de substrato 254
5.6.6 Cinética de nitrificação 256
5.6.7 Cinética de biodegradação da matéria orgânica 259
5.7 Conclusões 262
Referências 263

6. CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE TRABALHO FUTURO 271
6.1 Conclusões 271
6.2 Sugestões para Trabalho Futuro 274

A. CARACTERIZAÇÃO DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO LIS.....277

B. QUALIDADE DAS ÁGUAS SUPERFICIAIS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO LIS 285

C. CONTAMINAÇÃO DOS SEDIMENTOS NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO LIS 301

D. ESTUDO DA PURIFICAÇÃO AERÓBIA DAS ÁGUAS SUPERFICIAIS DA RIBEIRA DOS MILAGRES: DEGRADAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA E NITRIFICAÇÃO.....307

Índice de Figuras

Figura 2.1 Hidrograma característico de uma bacia hidrográfica 8

Figura 2.2 Bacia hidrográfica do rio Lis (Portugal) 11

Figura 2.3 Hipsometria da bacia hidrográfica do rio Lis (Adaptado do Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lis, 2001) 12

Figura 2.4 Rede hidrográfica da bacia do Lis com as principais sub-bacias 14

Figura 2.5 Carta de relevo e declives da bacia hidrográfica do rio Lis (Fonte: PBH do rio Lis, 2001) 17

Figura 2.6 Carta geológica da bacia hidrográfica do Lis (Fonte: PBH do rio Lis, 2001) 18

Figura 2.7 Taxas de variação entre duas décadas dos concelhos que pertencem à bacia hidrográfica do Lis 27

Figura 2.8 Distribuição da população por sectores de actividade na bacia do Lis 30

Figura 2.9 Zonas de risco de poluição difusa nos concelhos abrangidos pela bacia do Lis (Adaptado: PBH do rio Lis, 2001) 35

Figura 2.10 Distribuição das explorações de suiniculturas por número de efectivos por concelhos da bacia hidrográfica do Lis (dados ReciLis, 2005) 38

Figura 2.11 Distribuição de empresas na área abrangida pelos concelhos da bacia do Lis 41

Figura 2.12 Curva de vazão correspondente à estação Ponte das Mestras 46

Figura 2.13 Curva de vazão correspondente à estação Açude Arrabalde 47

Figura 2.14 Caudais médios mensais (2003/06) nas estações hidrométricas da bacia do rio Lis 47

Figura 2.15 Precipitação total anual (2003 a 2006) nas estações meteorológicas da bacia do rio Lis 48

Figura 2.16 Precipitação média mensal (2003 a 2006) nos semestres húmido e seco, na bacia do rio Lis 49

Figura 2.17 Áreas da bacia hidrográfica do rio Lis de maior risco de poluição associado aos principais sectores de actividade 55

Figura 3.1 Disponibilidade da água nos 5 Continentes versus população 62

Figura 3.2 Ciclo aeróbio do crescimento e decomposição de animais e plantas relativo a compostos de carbono e azoto, reproduzida de AWMFH (1998) 67

Figura 3.3 Ciclo do azoto, reproduzida de AWMFH (1998) 69

Figura 3.4 Localização dos locais de amostragem na bacia do rio Lis 88

Figura 3.5 Variação sazonal do caudal nas estações Fontes (1), Açude Arrabalde (300 m da estação 4) e Ponte das Mestras (11).....98

Figura 3.6 Distribuição dos valores de pH (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis. 99

Figura 3.7 Distribuição dos valores de CBO_5 (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis 102

Figura 3.8 Rácio CBO_5 / CQO (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis 104

Figura 3.9 Distribuição dos valores de azoto amoniacal (média e desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis 105

Figura 3.10 Distribuição dos valores de fósforo total (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do Lis 107

Figura 3.11 Rácio N/P na bacia hidrográfica do Lis.....108

Figura 3.12 Distribuição dos valores de bactérias coliformes fecais (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do Lis 109

Figura 3.13 Rácio coliformes fecais/estreptococos fecais (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis 111

Figura 3.14 Distribuição da concentração de clorofila–a (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis 113

Figura 3.15 Distribuição da concentração de cobre total (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis 114

Figura 3.16 Disposição das variáveis segundo os dois primeiros factores da ACP 124

Figura 3.17 Análise grupal entre as variáveis 125

Figura 3.18 Dendrograma de similitude resultante da análise grupal efectuada às estações de amostragem do rio Lis e afluentes.....127

Figura 3.19 Dendrograma de similitude resultante da análise grupal efectuada às estações de amostragem do rio Lena 128

Figura 3.20 Esquema de segmentação do rio com as respectivas entradas e saídas.....139

Figura 3.21 Balanço de massa no ponto de mistura.....140

Figura 3.22 Esquema de distribuição da carga difusa em cada trecho 141

Figura 3.23 Canal trapezoidal 142

Figura 3.24 Balanço de massa 147

Figura 3.25 Modelos cinéticos e processos de transferência de massa 149

Figura 3.26 Segmentação do rio Lis com identificação dos pontos de monitorização e a localização das fontes pontuais de poluição (afluentes monitorizados) 153

Figura 3.27 Resultados da calibração (caudal, profundidade, temperatura, condutividade, OD e CBOC) para o rio Lis (Novembro de 2006) 160

Figura 3.28 Resultados da calibração (azoto orgânico, azoto amoniacal, nitratos + nitritos, fósforo orgânico, fósforo inorgânico e clorofila-a) para o rio Lis (Novembro de 2006) 161

Figura 3.29 Resultados da calibração (alcalinidade, pH, coliformes fecais, CQO, N-total e P-total) para o rio Lis (Novembro de 2006) 162

Figura 3.30 Resultados da calibração (caudal, temperatura, condutividade, OD, CBOC e N-orgânico) para o rio Lis (Julho de 2004) 163

Figura 3.31 Resultados da calibração (N-amoniacal, Nitrato + Nitrito, P-orgânico, P-inorgânico,clorofila-a e alcalinidade) para o rio Lis (Julho de 2004) 164

Figura 3.32 Resultados da calibração (pH, Coliformes fecais, CQO, N-total e P-total) para o rio Lis (Julho de 2004) 165

Figura 4.1 Bacia do rio Lis com indicação dos pontos de amostragem de sedimentos 185

Figura 4.2 Fluxograma descritivo do procedimento experimental aplicado às amostras de sedimentos 189

Figura 4.3 Variação espacial da concentração pseudototal de Zn e Pb na bacia hidrográfica do Lis nas 3 campanhas de amostragem 196

Figura 4.4 Dendograma resultante da análise grupal entre as diferentes variáveis de qualidade de sedimentos da bacia do Lis 201

Figura 4.5 Distribuição dos metais Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al pelas diferentes fracções do processo de extracção sequencial BCR (amostragem de Setembro de 2004) 202

Figura 4.6 Distribuição dos metais Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al pelas diferentes fracções do processo de extracção sequencial BCR (amostragem de Maio de 2005) 203

Figura 5.1 Sistema do Bioreactor para o estudo do processo de biodegradação 238

Figura 5.2 Diagrama esquemático de uma árvore que relaciona a especificidade das sondas oligonucleotídicas usadas na identificação in situ de bactérias nitrificantes e heterotróficas com os respectivos níveis taxonómicos. 241

Figura 5.3 Resultados obtidos para as amostras com e sem sonicação para o total de bactérias e para o número de bactérias metabolicamente activas 244

Figura 5.4 Controlos positivos de FISH para cada uma das sondas de oligonucleotídeos marcadas com Cy3 (laranja) ou FLUOS (verde) e com DAPI (azul) 246

Figura 5.5 Abundância dos grupos filogenéticos presentes na água da ribeira dos Milagres (Novembro de 2006) determinada pela técnica da hibridação in situ de sondas oligonucleotídicas 248

Figura 5.6 Variação da biomassa ao longo do tempo, S_0 = 16,2 mg N-NH_4^+ L^{-1}.....250

Figura 5.7 Resultados do estudo cinético de nitrificação para S_0=16,2 mg N L^{-1} 252

Figura 5.8 Relação entre o crescimento das bactérias oxidantes de amónio e o consumo de azoto amoniacal, S_0 = 16,2 mg N-NH_4^+ L^{-1}.....253

Figura 5.9 Relação entre o crescimento das bactérias oxidantes de nitrito e a concentração de nitrito, S_0 = 16,2 mg N-NH_4^+ L^{-1} 253

Figura 5.10 Comparação entre os valores experimentais obtidos para a concentração de azoto amoniacal, S, versus tempo e os valores obtidos através do modelo de Quiroga-Sales 257

Figura 5.11 Comparação entre os valores experimentais obtidos para a concentração de COD (substrato, S) versus tempo e os valores obtidos através do modelo de Quiroga-Sales 260

Figura B.1 Resultados da calibração (caudal, temperatura, condutividade, OD, CBOC e N-orgânico) para o rio Lis (Julho de 2004), com os parâmetros cinéticos resultantes da auto-calibração (situação A).....297

Figura B.2 Resultados da calibração (N-amoniacal, nitrato+nitrito, P-orgânico, P-inorgânico, Clorofila-a e alcalinidade) para o rio Lis (Julho de 2004), com os parâmetros cinéticos resultantes da auto-calibração (situação A) 298

Figura B.3 Resultados da calibração (pH, coliformes fecais, CQO, N-total e P-totalal) para o rio Lis (Julho de 2004), com os parâmetros cinéticos resultantes da auto-calibração (situação A).....299

Índice de Tabelas

Tabela 2.1 Índices de forma e coeficientes de relevo das sub-bacias hidrográficas do Lis 16

Tabela 2.2 Distribuição dos grupos litológicos na área abrangida pela bacia hidrográfica do Lis 18

Tabela 2.3 Tipo de solos característicos da bacia hidrográfica do Lis 23

Tabela 2.4 Capacidade de uso dos solos 23

Tabela 2.5 Principais ocupações dos solos na bacia hidrográfica do rio Lis..... 25

Tabela 2.6 População residente e densidade populacional no total dos concelhos pertencentes à bacia do Lis 26

Tabela 2.7 População e número de freguesias incluídas na bacia hidrográfica do Lis 28

Tabela 2.8 Índice de envelhecimento nos concelhos da bacia do Lis 29

Tabela 2.9 Distribuição da população activa por sector de actividade e por concelho (%) 31

Tabela 2.10 Ocupação do solo na bacia hidrográfica do rio Lis 33

Tabela 2.11 Total de efectivos animais no sector pecuário (suínos, bovinos, ovinos e caprinos) por concelho na área abrangida pela bacia hidrográfica do rio Lis 37

Tabela 2.12 Total de efectivos animais no sector pecuário (equídeos, coelhas e aves) por concelho na área abrangida pela bacia hidrográfica do rio Lis..... 37

Tabela 2.13 Total de empresas potencialmente geradoras de poluição sobre o meio hídrico por concelho da bacia do Lis 40

Tabela 2.14 Classificação dos cursos de água superficial (INAG) 52

Tabela 3.1 A distribuição da água no Globo 61

Tabela 3.2 Principais problemas de qualidade da água a nível mundial 63

Tabela 3.3 Percentagem de NH_3 em função do pH e temperatura, em soluções aquosas de NH_3. 68

Tabela 3.4 Rácios típicos de CF/EF encontrados em excrementos para diferentes espécies de animais 73

Tabela 3.5 Carga poluente per capita. 77

Tabela 3.6 Carga poluente total gerada com origem em fontes pontuais, por concelho, quantificada em termos de CQO (t/ano) 78

Tabela 3.7 Cargas geradas de SST, azoto total e fósforo total na bacia do Lis com origem em fontes pontuais (t/ano) 79

Tabela 3.8 Valores dos parâmetros quantificados do efluente suinícola (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) 82

Tabela 3.9 Valores de referência para a descarga de efluentes no meio hídrico 83

Tabela 3.10 Estações de amostragem na bacia hidrográfica do rio Lis 86

Tabela 3.11 Parâmetros de qualidade da água medidos no local 90

Tabela 3.12 Parâmetros de qualidade da água determinados no laboratório 91

Tabela 3.13 Parâmetros de qualidade da água determinados no laboratório (continuação). 92

Tabela 3.14 Média e desvio padrão associado, para os diferentes parâmetros de qualidade da água no rio Lis (estações do subgrupo 1) 94

Tabela 3.15 Média e desvio padrão associado para os diferentes parâmetros de qualidade da água no rio Lena (estações do subgrupo 2) 95

Tabela 3.16 Média, e desvio padrão associado para os diferentes parâmetros de qualidade da água nos afluentes do rio Lis (estações do subgrupo 3) 96

Tabela 3.17 Classificação do estado trófico (fósforo) 106

Tabela 3.18 Classificação do estado trófico (Clorofila-a) 112

Tabela 3.19 Matriz de correlação dos parâmetros de qualidade da água na bacia do rio Lis 119

Tabela 3.20 Contribuição individual e cumulativa dos factores que explicam a variância total na qualidade da água na bacia Hidrográfica do rio Lis 122

Tabela 3.21 Peso dos factores (rotação Varimax) associados a cada variável de qualidade da água 123

Tabela 3.22 Carga factorial associada às estações de monitorização da qualidade da água no rio Lis e afluentes 126

Tabela 3.23 Carga factorial associada às estações de monitorização da qualidade da água na sub-bacia do rio Lena 127

Tabela 3.24 Avaliação da qualidade da informação relativa à caracterização das águas superficiais da bacia Hidrográfica do rio Lis 131

Tabela 3.25 Avaliação da qualidade da informação relativa ao estudo dos elementos biológicos 131

Tabela 3.26 Identificação das estações definidas como ecótopos e pontos complementares da rede de amostragem da bacia hidrográfica do Lis 132

Tabela 3.27 Índice de Qualidade de Informação da Qualidade Ecológica (IQIQE) 132

Tabela 3.28 Amplitude de variação para as 5 classes do BMWP' e o seu significado em termos de qualidade de água 134

Tabela 3.29 Coeficiente de rugosidade ou factor de Manning para várias superfícies de canais abertos (Cortes, 2004) 144

Tabela 3.30 Variáveis de estado do modelo 146

Tabela 3.31 Parâmetros de calibração do QUAL2Kw para a modelação do rio Lis (situação A) 158

Tabela 3.32 Parâmetros de calibração do QUAL2Kw para a modelação do rio Lis (situação B) 159

Tabela 4.1 Condições operacionais de EAA utilizadas na determinação de metais 187

Tabela 4.2 Teor de metais na fracção < 90 μm obtidos para o sedimento de referência CRM-601 192

Tabela 4.3 Teor de metais extraídos nas 4 etapas do BCR-SEP. Comparação entre os valores obtidos e os valores referência (mg kg^{-1}) para a análise do sedimento CRM 601 193

Tabela 4.4 Valor médio de concentração e respectivo desvio padrão para diferentes parâmetros de qualidade de sedimentos monitorizados na bacia do rio Lis ... 195

Tabela 4.5 Critérios de qualidade para sedimentos de rio (valores de referência para o teor total de metais em, mg kg^{-1}) 197

Tabela 4.6 Valores de concentração de metais (mg kg^{-1}) obtidos em sedimentos de rios urbanos 198

Tabela 4.7 Matriz de correlação dos parâmetros de qualidade dos sedimentos da bacia do rio Lis 199

Tabela 4.8 Peso dos factores (rotação varimax) associados a cada variável de qualidade dos sedimentos do rio Lis 200

Tabela 5.1 Critérios de qualidade da água considerando as espécies de azoto para protecção do meio aquático em função dos usos da água (Decreto-Lei 236/98) 219

Tabela 5.2 Constantes cinéticas dos microrganismos oxidantes de amónio, nitrito e carbono orgânico, determinadas a 20 ºC (reproduzido de Nogueira, 2002) ... 221

Tabela 5.3 Características fisiológicas das bactérias oxidantes de amónio e habitat preferido (Koops e Pommering-Röser, 2001) 223

Tabela 5.4 Características fisiológicas das bactérias oxidantes de nitrito e habitat preferido (Koops e Pommering-Röser, 2001) 224

Tabela 5.5 Lista de sondas oligonucleotídicas usadas neste estudo 240

Tabela 5.6 Soluções de hibridação (35% de formamida) e de lavagem utilizadas no procedimento experimental para as sondas EUB338, BET42a e GAM42a....243

Tabela 5.7 Condições de optimização de dispersão da amostra 244

Tabela 5.8 Biomassa quantificada nas amostras analisadas após a colheita (média ± desvio padrão) 245

Tabela 5.9 Características dos fluorocromos utilizados.....246

Tabela 5.10 Modelo cinético de Quiroga-Sales aplicado à nitrificação: Parâmetros cinéticos e coeficientes de correlação 258

Tabela 5.11 Modelo cinético de Quiroga-Sales (1991) aplicado à biodegradação de COD: Parâmetros cinéticos e coeficientes de correlação. 261

Tabela B.1 Valores de caudais medidos (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) na campanha de Novembro de 2006 285

Tabela B.2 Valores de pH (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 285

Tabela B.3 Valores de alcalinidade (pH 4,6) expressos em mg $CaCO_3$ L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 286

Tabela B.4 Valores de temperatura, ºC (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas.....286

Tabela B.5 Valores de condutividade expressos em mS cm^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 286

Tabela B.6 Valores de potencial de oxidação-redução expressos em mV (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 287

Tabela B.7 Valores de oxigénio dissolvido expressos em mg O_2 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 287

Tabela B.8 Valores de turvação expressos em NTU (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 287

Tabela B.9 Valores de sólidos suspensos totais expressos em mg L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 288

Tabela B.10 Valores de CQO expressos em mg O_2 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 288

Tabela B.11 Valores de CBO_5 expressos em mg O_2 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 288

Tabela B.12 Valores de oxidabilidade expressos em mg O_2 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 289

Tabela B.13 Valores de carbono orgânico total expressos em mg C L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 289

Tabela B.14 Valores de azoto orgânico expressos em mg N L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 289

Tabela B.15 Valores de azoto amoniacal expressos em mg NH_3 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 290

Tabela B.16 Valores de nitrito expressos em mg NO_2 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 291

Tabela B.17 Valores de nitrato expressos em mg NO_3 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 291

Tabela B.18 Valores de fósforo total expressos em mg P L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 292

Tabela B.19 Valores de cloreto expressos em mg Cl L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 292

Tabela B.20 Valores de clorofila a expressos em μg L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 293

Tabela B.21 Valores de coliformes totais expressos em ufc/mL (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 293

Tabela B.22 Valores de coliformes fecais expressos em ufc/mL (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 294

Tabela B.23 Valores de estreptococos fecais expressos em ufc/mL (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 294

Tabela B.24 Valores de zinco expressos em μg mL^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 295

Tabela B.25 Valores de cobre expressos em μg mL^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 295

Tabela B.26 Valores de chumbo expressos em μg mL^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 295

Tabela B.27 Valores de mânganes expressos em μg mL^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 296

Tabela B.28 Valores de ferro expressos em μg mL^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas 296

Tabela C.1 Resultados experimentais obtidos para os diferentes parâmetros de qualidade de sedimentos monitorizados na bacia do rio Lis 302

Tabela C.2 Distribuição dos metais Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al pelas diferentes fracções do processo de extracção sequencial BCR (Setembro de 2004) (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) 303

Tabela C.3 Distribuição dos metais Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al pelas diferentes fracções do processo de extracção sequencial BCR (Maio de 2005) (valor médio ± intervalo com 95% de confiança).....305

Tabela D.1 Soluções de hibridação e de lavagem utilizadas no procedimento experimental para o procedimento de hibridação com a sonda Nso190 309

Tabela D.2 Soluções de hibridação e de lavagem utilizadas no procedimento experimental para o procedimento de hibridação com a sonda Ntspa712 309

Tabela D.3 Soluções de hibridação e de lavagem utilizadas no procedimento experimental para o procedimento de hibridação com sonda ALF968.....310

Tabela D.4 Resultados da concentração (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) de azoto amoniacal, nitrito, nitrato e carbono orgânico dissolvido, S_0 (N-NH_4) = 34,4 mg N L^{-1} e S_0 (COD) = 15,4 mg N L^{-1}.....310

Tabela D.5 Resultados da concentração (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) de azoto amoniacal, nitrito, nitrato e carbono orgânico dissolvido, S_0 (N-NH_4) = 9,8 mg N L^{-1} e S_0 (COD) = 13,3 mg N L^{-1}.....311

Tabela D.6 Resultados da concentração (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) de azoto amoniacal, nitrito, nitrato e carbono orgânico dissolvido, S_0 (N-NH_4) = 16,3 mg N L^{-1} e S_0 (COD) = 13,3 mg N L^{-1}.....311

Tabela D.7 Resultados da concentração (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) de azoto amoniacal, nitrito, nitrato e carbono orgânico dissolvido, S_0 (N-NH_4) = 4,55 mg N L^{-1} e S_0 (COD) = 9,9 mg N L^{-1}.....311

Tabela D.8 Resultados da concentração (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) de azoto amoniacal, nitrito, nitrato e carbono orgânico dissolvido, S_0 (N-NH_4) = 15,0 mg N L^{-1} e S_0 (COD) = 19,5 mg N L^{-1}.....312

Tabela D.9 Composição da comunidade microbiana na amostra de água com concentração de azoto amoniacal, S_0 ($N\text{-}NH_4$) = 34,4 mg N L^{-1} determinada com sondas oligonucleotídicas e expressa em cel mL^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança)..... 312

Nomenclatura

Símbolos Romanos

A	área da bacia (km^2)
A	clorofila a
A_b	quantidade de algas de fundo (g D m^{-2})
A_c	área de secção transversal (m^2)
A_{campo}	área de cada campo (cm^2)
A_{memb}	área total da membrana de filtração (cm^2)
$A_{st,i}$	área superficial do trecho i (m^2)
a_p	concentração de fitoplâncton (mg A m^{-3})
AT	Adenosina-Timina
B	largura média da base do canal (trecho) (m)
C_f	carência bioquímica de oxigénio de reacção rápida (mg O_2 L^{-1})
cf	fluxo de carbono inorgânico nos sedimentos
$C_{f,1}$	carência bioquímica de oxigénio de reacção rápida na coluna de água (mg O_2 L^{-1})
$C_{f,2}$	carência bioquímica de oxigénio de reacção rápida na zona hiporreica (mg O_2 L^{-1})
$C_{nps,i,j}$	concentração da carga difusa j no trecho i (mg L^{-1})
$C_{ps,i,j}$	concentração da carga pontual j no trecho i (mg L^{-1})
C_s	carência bioquímica de oxigénio de reacção lenta (mg O_2 L^{-1})
$C_{s,1}$	carência bioquímica de oxigénio de reacção lenta na coluna de água (mg O_2 L^{-1})
$C_{s,2}$	carência bioquímica de oxigénio de reacção lenta na zona hiporreica (mg O_2 L^{-1})
D	matéria orgânica (peso seco)
d	factor de diluição
d	morte
dn	desnitrificação
ds	dissolução
$E_{hyp,i}$	fluxo de permuta hiporreica no tracho i (m^3 d^{-1})
$E_{n,i}$	dispersão numérica (m^2 s^{-1})
$E_{p,i}$	dispersão longitudinal entre os trechos i e i+1 (m^2 s^{-1})
g	aceleração da gravidade (m s^{-2})
H	profundidade (m)
h	hidrólise
$H_{2,i}$	espessura da zona hiporreica (cm)
Kc	índice de Gravelius
Ks	constante de Monod para crescimento bacteriano (g m^{-3})
K(T)	constante cinética para da reacção
L'	comprimento do curso de água (km)
Li	coeficiente de Lemniscata
m	números de pares de valores previsto e observado
m_0	concentração de detritos (mg D L^{-1})
m_i	sólidos suspensos inorgânicos (mg D L^{-1})
n	coeficiente de rugosidade de Manning
n	número de variáveis de estado
n	nitrificação
n_o	concentração de azoto orgânico (µg N L^{-1})
n_a	concentração de azoto amoniacal (µg N L^{-1})
n_n	concentração de nitrato (µg N L^{-1})
$O_{i,j}$	valores observados
p	fotossíntese
p	perímetro molhado (m)
p_o	concentração de fósforo orgânico (µg P L^{-1})
p_i	concentração de fósforo inorgânico (µg P L^{-1})
np	número de corridas
npai	número total de extracções difusas no trecho i
npsi	número total de cargas difusas que entram no trecho i
P	perímetro da bacia hidrográfica (km)
Pai	número total de extracções de cargas pontuais que entram no trecho i
Psi	número total de cargas pontuais que entram num trecho i
$P_{i,j}$	valores previstos
Q	caudal ou vazão (m^3 s^{-1})
$Q_{ab,i}$	caudal que sai do trecho i devido a extracções pontuais e difusas (m^3 d^{-1})
Q_i	caudal de saída do trecho i para o trecho a jusante i+1 (m^3 d^{-1})
Q_{i-1}	caudal de entrada no trecho a montante i-1 (m^3 d^{-1})
$Q_{in,i}$	balanço total de cargas(m^3 d^{-1})
Qmáx	vazão de pico ou caudal máximo (m^3 s^{-1})
$Q_{npa,i,j}$	caudal de extracção difuso j no trecho i (m^3 d^{-1})
$Q_{nps,i,j}$	carga difusa j no trecho i (m^3 d^{-1})
$Q_{pa,i,j}$	caudal de extracção pontual j no trecho i (m^3 d^{-1})
$Q_{ps,i,j}$	carga pontual j que entra no trecho i (m^3 d^{-1})
R	velocidade de consumo de substrato (g m^{-3} d^{-1})
r	coeficiente de correlação
r	respiração/excreção
re	rearejamento
r_{oc}	relação do O_2 consumido/carbono orgânico oxidado a CO_2
$r_{tabelado}$	coeficiente de correlação crítico
S	concentração de substrato limitante (g m^{-3})
S	condutividade (µS cm^{-1})
s	sedimentação
S_0	inclinação do fundo do canal
$S_{b,i}$	ganhos e perdas de biomassa de algas de fundo devido a reacções (mg D m^{-2} d^{-1})

$S_{bN,i}$	ganhos e perdas de azoto das algas de fundo devido a reacções (mg N m^{-2} d^{-1})
$S_{bP,i}$	ganhos e perdas de fósforo das algas de fundo devido a reacções (mg P m^{-2} d^{-1})
S_i	ganhos e perdas de constituinte devido a reacções e mecanismos de transferência de massa (mg m^{-3} d^{-1})
S_R^2	variância residual do modelo
S_{s2}	inclinações laterais do canal
T	temperatura (ºC)
t	tempo (s)
t_k	tempo de residência da água no trecho k (d)
$t_{t,i}$	tempo de passagem da água no trecho i (d)
U	velocidade da corrente (m s^{-1})
ufc	unidades formadores de colónias
V	volume de amostra filtrado (cm^3)
$V_{2,i}$	volume de água nos poros da zona hiporreica (m^3)
V_K	volume do segmento K (m^3)
W_i	entrada externa do constituinte no trecho i (mg d^{-1})
w_i	factor de ponderação
Y_s	rendimento de biomassa produzida/substrato oxidado (g g^{-1})
X	concentração de Biomassa (g m^{-3})
x	oxidação

Símbolos Gregos

$\phi_{s,i}$	porosidade na zona hiporreica
μ_{max}	taxa especifica máxima de crescimento (d^{-1})
θ	coeficiente da temperatura para a reacção
ε_a	erro estimado (%)
τ_k	tempo de resistência no segmento K (d)
σ	desvio padrão
ΔX_k	comprimento do trecho k (m)

Abreviaturas

Abs	Absorvância
ACP	Análise de Componentes Principais
AF	Análise Factorial
AG	Análise Grupal
AMO	Amónio-Monoxigenase
APHA	*American Public Health Association*
ASTM	*American Society for Testing and Materials*
AWMFHA	*Agricultural Waste Management Field Handbook*
AWWA	*American Water Works Association*
BCR	*Community Bureau of Reference*
$BDL_{2,2}$	Valor Inferior ao Limite de Detecção de 2,2 mg Kg^{-1}
BDL_4	Valor Inferior ao Limite de Detecção de 4 mg Kg^{-1}
BMWP'	*Biological Monitoring Work Party*
BP	*Band Path*
C	Condutividade
CBO	Carência Bioquímica de Oxigénio
CBOC	Carência Bioquímica de Oxigénio Carbonácea
CBO_u	Carência Bioquímica de Oxigénio Última
CCDR	Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional
CF	Coliformes Fecais
CIT	Carbono Inorgânico Total
COD	Carbono Orgânico Dissolvido
COS	Carência de Oxigénio nos Sedimentos
COT	Carbono Orgânico Total
COVs	Compostos Orgânicos Voláteis
CQO	Carência Química de Oxigénio
CT	Coliformes Totais
CT	Carbono Total
CTC	Cloreto de 5-ciano-2,3-di-(4-metilfenil)-2H-tetrazólio
Cy3	Fluorocromo Cianina 3
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindole
DM	*Dichroic mirror*
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DQA	Directiva-Quadro da Água
DRA	Direcção Regional do Ambiente
DTPA	Ácido dietilenotriaminopentaacético
EAA	Espectrofotometria de Absorção Atómica com Chama
EAACG	Espectrofotometria de Absorção Atómica com Câmara de Grafite
EDTA	Ácido etilenodiaminotetraacético
EF	Estreptococos Fecais

NOMENCLATURA

EN	Estrada Nacional
EPA	*Environmental Proteccion Agency*
EPER	Inventário Europeu de Emissões Poluentes
e.q.	equivalente de população
EQG	*Canadian Environmental Quality Guidelines*
ERL	*Effects Range Low*
ES	Efluente Suinícola
ETA	Estação de Tratamento de Águas
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
FEUP	Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto
FISH	*Fluorescence In Situ Hybridization*
FLUOS	*Fluorocromo Flurescéína*
HAO	Hidroxilamina Oxidoreductase
IE	Índice de Envelhecimento
IF	Índice Fecal
IHP	*International Hydrological Programme*
INAG	Instituto da Água, I. P.
INE	Instituto Nacional de Estatística
IQIQE	Índice de Qualidade de Informação da Qualidade Ecológica
LD	Limite de detecção
LP	*Long Path*
MV	Matéria Volátil
NMP	Número Mais Provável
NTK	Azoto Total de Kjeldahl
NTU	Unidades Nefelométricas de turvação
$N\text{-}NH_3$	Azoto Amoniacal
$N\text{-}NO_2$	Nitrito
$N\text{-}NO_3$	Nitrato
N-total	Azoto Total
OD	Oxigénio Dissolvido
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORP	Potencial de Oxidação-Redução
$Oxi\text{-}MnO_4$	Oxidabilidade ao Permanganato de Potássio
PAHs	*Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*
PBH	Plano de Bacia Hidrográfica
PBS	Solução Salina Tampão de Fosfato
PCB	*Polychlorinated Biphenyls*
$P\text{-}PO_4$	Ortofosfatos
P-total	Fósforo Total
PVC	Cloreto de Polivinilo
RGA	Recenseamento Geral Agrícola
RMSE	*Root Mean Square Error*
RNA	Ácido ribonucleico
rRNA	Ácido ribonucleico ribossómico
SAU	Superfície Agrícola Utilizada
SEP	*Sequential Extraction Procedure*
SIMLIS	Sistema Multimunicipal de Saneamento do Lis
SM	*Standard Methods for examinatin of water and wastwater*
SNIRH	Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos
SST	Sólidos Suspensos Totais (mg D L^{-1})
SV	Sólidos voláteis
SVA	Sulfuretos Volatilizáveis por Acidificação
UNEP	United Nations Environment Programme
UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization
USEPA	United States Environmental Protection Agency
UV/Vis	Ultravioleta/Visível
VBA	Visual Basic para Aplicações
VLE	Valor Limite de Emissão
VMA	Valor Máximo Admissível
VMR	Valor Máximo Recomendável
WEF	*Water Environment Federation*
WHO	*World Health Organization* (Organização Mundial de Saúde)
WQG	*Australian Water Quality Guidelines*

1. Introdução

1.1 Nota Histórica

Desde o início da existência do Homem a disponibilidade de recursos hídricos tem sido factor determinante na fixação de populações numa determinada região.

A abundância de água é sinal de terra fértil ou boas pastagens, estando directamente associada à produção de alimento e foi, durante muitos séculos, factor de primordial importância no desenvolvimento das sociedades humanas.

À medida que as comunidades cresciam, aumentavam as necessidades de água potável para o seu abastecimento e aumentavam também os riscos de contaminação fecal, provocando problemas de saúde pública, que por vezes conduziam a situações extremas de catástrofe.

Nas civilizações primitivas, a solução para estes problemas de poluição era a movimentação para novas regiões, onde o processo era de novo iniciado. Contudo, em comunidades mais desenvolvidas, este processo de mobilidade era impraticável e foram desenvolvidas soluções de engenharia para minimizar o problema da falta de potabilidade das águas. Em recentes investigações arqueológicas realizadas no extremo e médio Oriente, foram descobertas cidades com sistemas de drenagem de esgotos, construídos vários milhares de anos antes de Cristo.

O Império Romano desenvolveu uma tarefa verdadeiramente notável na construção de aquedutos e sistemas de esgotos urbanos, dos quais se destacam, pela sua grandiosidade, as obras executadas na cidade de Roma, as quais traduzem uma forte preocupação de protecção da saúde pública.

No período da Revolução Industrial, na Europa e na América, a estrutura e implantação sociais sofreram alterações profundas, assistindo-se ao êxodo das populações rurais, que despovoaram os campos e se mudaram para as cidades industriais. O processo adquiriu uma dinâmica irreversível, assistindo-se a este fenómeno um pouco por todo o mundo, desfasado no tempo, de acordo com o ritmo de desenvolvimento de cada país.

As áreas industrializadas concentram-se preferencialmente junto de linhas de água, o que tecnicamente é mais simples e mais barato para o abastecimento de água e despejo de resíduos da produção. No entanto, o despejo descontrolado de resíduos coloca graves problemas ambientais e de saúde pública com riscos sérios de potabilidade das águas.

No sentido de minimizar os riscos de saúde pública, as próprias cidades deixaram de aceitar que os seus esgotos domésticos circulassem em valetas abertas ou em plena rua, constituído eficazes sistemas de drenagem cujo destino final era geralmente o mesmo dos esgotos de origem industrial, isto é, eram lançados sem qualquer tratamento em meios hídricos naturais (rios, lagos, estuários, mar) situados próximo do aglomerado. As linhas de água, frequentemente, eram também a fonte de abastecimento da água potável.

Com a crescente urbanização e desenvolvimento industrial, determinando alterações nos padrões de vida das populações, verifica-se um incremento constante na procura de água, quer em quantidade, quer em qualidade. Sem subestimar a quantidade de água para rega, conclui-se que o desenvolvimento harmonioso das sociedades actuais está directamente relacionado com a disponibilidade de água tendo em conta as suas diversas utilizações.

As águas superficiais, em particular os rios, constituem umas das principais fontes de abastecimento de água e, directa ou indirectamente, o suporte da vida das mais variadas espécies de flora e fauna, pelo que, a preservação da qualidade é fundamental para satisfazer a procura e as necessidades das várias actividades e organismos que dela dependem.

No entanto, nem sempre foi este o entendimento das entidades responsáveis pela gestão dos recursos hídricos que, confirmando o princípio de que “os povos definem as suas

necessidades segundo prioridades e estas segundo a sua cultura", se preocuparam, no passado, apenas com aspectos relacionados com a quantidade da água, esquecendo os relacionados com a sua qualidade e consequentemente com a conservação da natureza. Assim se justifica que as primeiras leis publicadas no início do século XX se refiram apenas a aspectos de quantidade de água.

Nessa altura a sociedade exigia um rápido crescimento económico e tecnológico com a consequente deterioração contínua dos recursos hídricos e do ambiente em geral. São inúmeras as situações de deterioração da qualidade das águas, em muitos casos profunda, de áreas ribeirinhas associadas a zonas industriais "muito prósperas".

A partir da década de 60, na América e Europa, houve uma alteração significativa desta situação, motivada, sobretudo, por motivos económicos, considerando-se fundamental focalizar a problemática da qualidade da água na perspectiva de minimizar os custos com a saúde relacionados com as doenças transmitidas por águas poluídas e, também, diminuir os custos de tratamento da água indispensável a vários processos industriais. Por outro lado, assiste-se ao aumento da procura para outras utilizações dos recursos hídricos disponíveis, como recreio (natação, pesca, desporto), amenidade paisagística, preservação da fauna e flora, etc..

Na década de 60 é elaborada legislação que visa garantir a protecção das águas superficiais e normas de descarga de águas residuais. Esta mudança de atitude, sinónimo de padrões de vida mais elevados, determinou, até à década de 80, nos países industrializados da Europa e da América, uma cobertura quase completa do território com adequados sistemas de tratamento de água se esgotos, proporcionando uma recuperação significativa e generalizada da qualidade das águas superficiais.

Em Portugal, tem-se verificado uma enorme dificuldade na implementação de soluções técnicas que viabilizem a recuperação da qualidade das águas superficiais, motivada por razões políticas, económicas sociais e institucionais. Num futuro próximo e com base no enquadramento legal actual espera-se que progressivamente se assista à revitalização de alguns cursos de água de bacias hidrográficas muito poluídas e à preservação daqueles com qualidade razoável, bem como a uma melhoria dos recursos hídricos em geral (águas subterrâneas, rios, lagos, estuários, mar).

1.2 Enquadramento e Motivação

É do conhecimento geral o aumento de problemas relacionados com a poluição dos recursos hídricos, face à pressão exercida pelas crescentes necessidades de água para as mais diversas utilizações.

Da água disponível na terra, 97% existe nos oceanos, mas não tem condições para ser directamente utilizada para consumo humano, irrigação ou na indústria. A restante (3%) encontra-se na forma de *icebergs* e glaciares, ou está indisponível para ser utilizada. O volume de água potável disponível é apenas 0,003% do volume total e tende a tornar-se cada vez mais escasso devido aos impactes negativos do aquecimento global e do crescimento populacional. Estima-se que actualmente a população humana existente seja de 6,6 mil milhões de habitantes e a previsão para 2 050 é de 10 mil milhões de habitantes. Da totalidade da população humana, 80% concentra-se em países subdesenvolvidos com problemas graves de falta de água potável.

Pode definir-se poluição como "A introdução de substâncias ou energia, pelo homem, provocando danos na saúde, destruição dos recursos naturais e dos sistemas ecológicos ou interferindo com a legítima utilização do ambiente" (Holdgate, 1979).

A poluição pode ocorrer devido à existência de descargas contínuas ou regulares, ou a descargas aleatórias. O maior problema coloca-se na poluição esporádica, não controlável, como, por exemplo, a ocorrência de precipitação intensa, acidentes, actos de vandalismo e descarga deliberada de efluentes e resíduos nos rios.

O controlo da poluição, apesar de dispendioso, deverá ser uma preocupação constante para garantir a qualidade dos recursos naturais disponíveis. Ainda que a poluição possa ser gerada individualmente, ou por pequenos grupos específicos, os custos de recuperação são muitas vezes suportados pela sociedade em geral, através do pagamento de taxas ou do aumento dos custos da água de consumo. A aplicação rigorosa das leis e/ou um elevado grau de civismo são essenciais ao controlo da poluição.

Reveste-se de particular interesse, do ponto de vista de protecção ambiental, estudar a distribuição e forma de dispersão dos poluentes particularmente quando as suas concentrações excedem os teores geoquímicos naturais e colocam em risco a vida aquática.

A avaliação da qualidade da água na bacia hidrográfica do rio Lis e das fontes de contaminação que lhe estão subjacentes, assim como a modelação matemática da concentração dos poluentes, é de extrema importância, já que a bacia hidrográfica constitui um dos mais importantes recursos naturais da região onde está inserida e apresenta graves problemas de contaminação. Por outro lado, o estudo de processos físico-químicos e biológicos que ocorrem nas águas e sedimentos poderá ser um contributo para o conhecimento dos efeitos de toxicidade e da biodisponibilidade de alguns dos poluentes presentes na água.

1.3 Objectivos

Este trabalho teve como objectivo caracterizar a actual situação dos recursos hídricos da bacia hidrográfica do rio Lis, avaliando a qualidade das águas, qualidade dos sedimentos e a capacidade de autodepuração relativamente à remoção de azoto e de matéria orgânica.

Este estudo está dividido por capítulos da seguinte forma:

No **Capítulo 2** é efectuada uma caracterização geral da bacia hidrográfica do rio Lis, em termos de geomorfologia, geologia, clima, ocupação do solo, população, actividades económicas e recursos hídricos.

No **Capítulo 3** é apresentado o estudo da qualidade das águas na bacia e a respectiva modelação matemática (programa QUAL2Kw) para previsão de diferentes cenários de qualidade da água.

No Capítulo 4 é avaliado o potencial de contaminação metálica existente na bacia através da distribuição de Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al nas diferentes fracções de amostras de sedimentos, adoptando o método da extracção sequencial, de forma a prever o risco de poluição das águas superficiais por metais a partir dos sedimentos.

No **Capítulo 5** são estudados os processos de nitrificação e de remoção de matéria orgânica nas águas superficiais da ribeira dos Milagres, que concentra grande parte das suiniculturas, a fim de verificar a capacidade de autodepuração, recorrendo ao modelo cinético de Quiroga & Sales.

2. Caracterização da Bacia Hidrográfica do Rio Lis

Neste capítulo é efectuada uma caracterização geral da bacia hidrográfica do rio Lis, em termos de geomorfologia, geologia, clima, ocupação do solo, população, actividades económicas e recursos hídricos.

O estudo das características físicas da bacia hidrográfica, usos e ocupação do solo, no geral, tornam-se importantes factores para a avaliação da degradação ambiental a que essa bacia possa estar sujeita. As bacias hidrográficas têm sido consideravelmente alteradas nos últimos anos em função do desenvolvimento industrial, do crescimento desordenado das cidades e do crescimento populacional, além de diversas actividades antropogénicas potencialmente geradoras de poluição localizadas ao longo dos cursos de água sem o adequado planeamento.

2.1 Introdução

Uma bacia hidrográfica pode ser entendida como uma unidade fisiográfica, limitada por divisores topográficos, que recolhe a precipitação, actua como um reservatório de água e sedimentos, defluindo-os numa secção fluvial única (Cardoso *et al.*, 2006).

A bacia hidrográfica, associada a uma dada secção fluvial, terá por eixo o curso de água principal e por limite as linhas de partilha de águas que a separam das bacias adjacentes. É um sistema que integra as conformações de relevo e drenagem. A parcela da chuva que se abate sobre a área da bacia e que se irá transformar em escoamento, chamada precipitação efectiva, escoa a partir das maiores elevações do terreno, formando enxurradas em direcção aos vales. Esses, por sua vez, concentram esse escoamento em córregos, riachos e ribeiras que confluem e formam o rio principal da bacia. O volume de água por unidade de tempo é a vazão ou descarga da bacia. Na sequência de um evento chuvoso significativo, a vazão *Q* varia com o tempo de uma forma característica para cada bacia. A representação gráfica de *Q* (*t*) em função de *t*, ao longo de uma ocorrência chuvosa isolada, é chamado hidrograma e encontra-se esquematicamente representado na Figura 2.1.

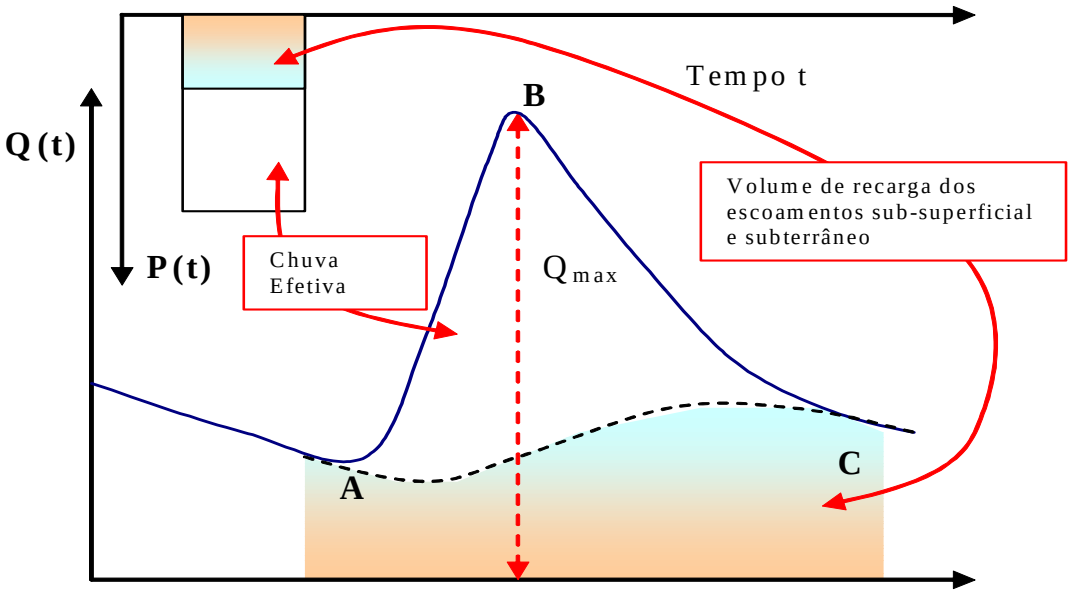


Figura 2.1 Hidrograma característico de uma bacia hidrográfica

As áreas que contribuem para a formação da vazão *Q* vão-se estendendo desde as mais adjacentes aos cursos de água até as mais distantes, delineando as características da parte ascendente A-B do hidrograma. Se a extensão espacial e a duração da chuva forem suficientemente grandes, todos os pontos da bacia irão contribuir, concentrando a totalidade do escoamento superficial no canal fluvial. Nesse ponto, forma-se um estado de equilíbrio na bacia e a vazão *Q* encontra-se no seu ponto máximo - a vazão de pico Q_{max}; se a chuva efectiva continuar com a mesma intensidade, a vazão ficará estacionária nesse ponto máximo. Caso contrário, as áreas de contribuição irão diminuir gradualmente, iniciando a fase descendente B-C do hidrograma.

As vazões numa bacia dependem de factores climáticos e geomorfológicos. A intensidade, a duração, a distribuição espaço-temporal da precipitação sobre uma bacia, bem como a evapotranspiração, estão entre os principais factores climáticos. Por outro lado, um hidrograma sintetiza a forma pela qual uma bacia hidrográfica actua como um reservatório, distribuindo a precipitação efectiva ao longo do tempo. O hidrograma possui vazões e tempos característicos, os quais são atributos típicos, resultantes das propriedades geomorfológicas da bacia em questão (extensão, forma, distribuição de relevo, declive, comprimento do rio principal, densidade de drenagem, tipo e uso do solo, entre outras).

A necessidade de promover a recuperação ambiental e a manutenção de recursos naturais escassos, como a água, fez com que, a partir da década de 70, o conceito de bacia hidrográfica passasse a ser difundido e consolidado no mundo. Para enfrentar problemas como a poluição, escassez e conflitos pelo uso da água, foi necessário reconhecer a bacia hidrográfica como um sistema ecológico, que abrange todos os organismos que vivem em conjunto numa dada área e entender como os recursos naturais estão interligados e são dependentes. Ou seja, quando o curso de um rio é alterado para levar esgotos para longe de uma determinada área, acaba por poluir outra. Da mesma forma, a impermeabilização do solo numa dada região provoca o escoamento de águas para outra, que passa a sofrer com enchentes. Com estes exemplos, tornou-se necessário reconhecer, na dinâmica das águas, que os limites geográficos para trabalhar o equilíbrio ecológico têm que ser os da bacia hidrográfica, ou seja, o espaço territorial determinado e definido pelo escoamento, drenagem e influência da água e do ciclo hidrológico na superfície da Terra, e não aquelas divisões políticas definidas pela sociedade, como municípios, regiões e países, que não comportam a dinâmica da natureza. Desde que o

homem passou a viver em sociedades organizadas e reconheceu a importância de controlar a disponibilidade de água potável, surgiram as primeiras tentativas de modificar o ambiente natural. O desenvolvimento de actividades como a agricultura e a urbanização sempre estiveram ligados ao controlo da água. Civilizações do antigo Egipto, da China, Índia e Mesopotâmia eram chamadas civilizações hidráulicas. A ascensão e queda desses povos estão intimamente ligadas aos usos e abusos da água. O mesmo acontece com a nossa sociedade. Todo o desenvolvimento de regiões urbanizadas e rurais é definido de acordo com a disponibilidade das águas doces, ou seja, a sua quantidade e qualidade. Portanto, para promover o desenvolvimento sustentável e o intercâmbio entre regiões com interesses comuns, ou entre as que lutam pelo direito de utilizar a água para determinado fim, foi necessário reconhecer e adoptar o conceito de bacia hidrográfica em todo o mundo.

O estudo das bacias hidrográficas foi desenvolvido nas primeiras décadas do século XX um pouco por todo o mundo e atingiu no período de 1935-50 uma importância significativa ao nível do planeamento regional. As bacias passaram a ser consideradas como unidades regionais com uma certa homogeneidade económica e/ou ecológica. O conceito de bacia hidrográfica desenvolve-se com os trabalhos de Boudeville (Campar *et al.*, 1989), quando as considera um espaço com uma certa unidade económica. Esta perspectiva conduziu ao crescente interesse na introdução da bacia hidrográfica como objecto e tema de estudo.

Os primeiros estudos de bacias hidrográficas em Portugal, e especificamente a do rio Lis, foram efectuados nos anos 40, estando relacionado com o aproveitamento hidroagrícola e, só mais tarde, tendo em conta as temáticas relacionadas com a preservação do meio ambiente (Campar *et al.*, 1989).

A bacia hidrográfica do rio Lis, considerada uma unidade de gestão dos recursos hídricos, tendo em conta as suas implicações socio-económicas, culturais e internacionais, de acordo com o artigo nº. 12 da Lei de Bases do Ambiente, será caracterizada no âmbito deste estudo.

2.2 Morfologia

A bacia hidrográfica do rio Lis abrange uma área total de aproximadamente 850 km^2 e situa-se na região centro de Portugal, delimitada entre as coordenadas 39º30’ e 40º00’ de latitude Norte e 8º35’ e 8º58’ de longitude Oeste. É uma bacia costeira que está confinada a

Norte pela bacia do rio Mondego, a Este pela bacia do rio Tejo e a Sul pela bacia do rio Alcoa (Figura 2.2).

A bacia do Lis forma uma unidade hidrológica com uma certa uniformidade morfológica, cuja interrupção apenas se verifica nas zonas mais altas e de maior declive da bacia, na zona do Maciço Calcário Estremenho, onde é atingida a cota de 562 m, na Pedra do Altar.

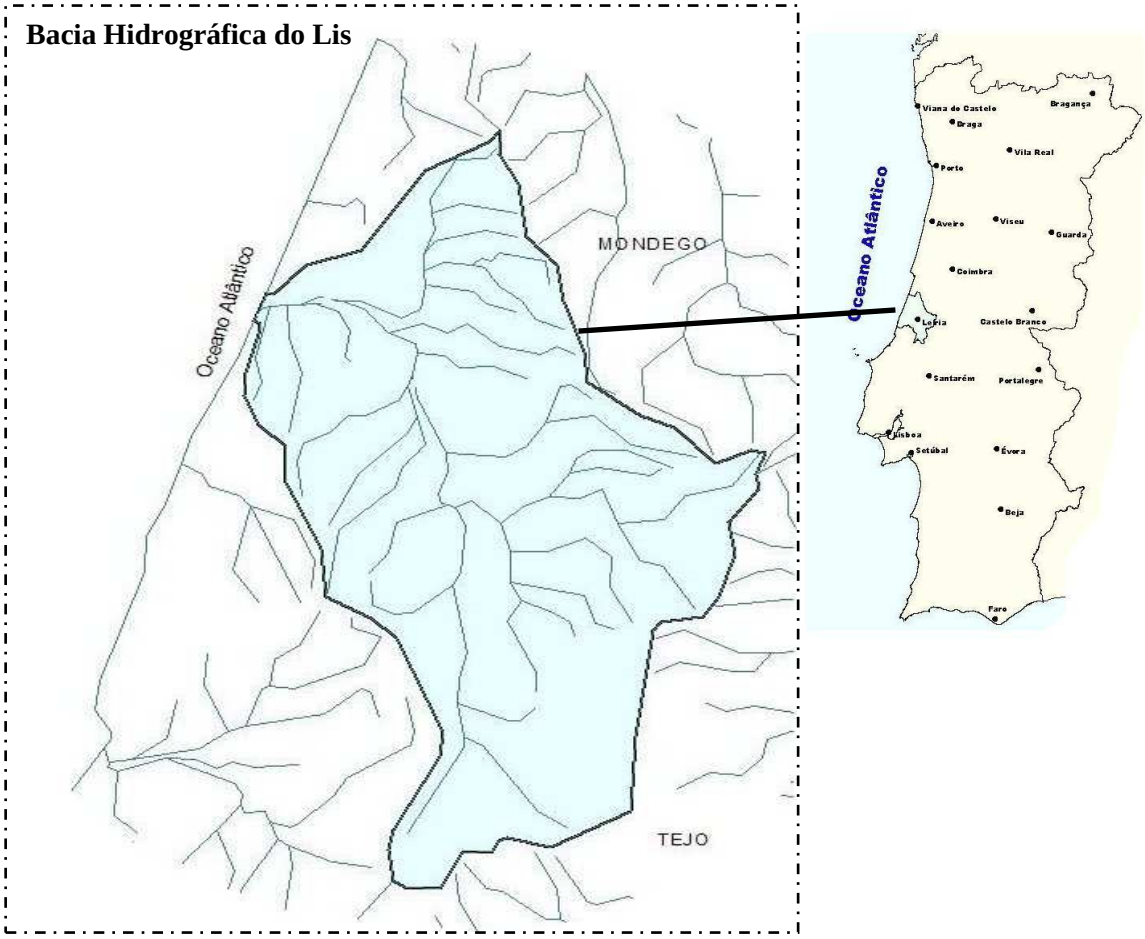


Figura 2.2 Bacia hidrográfica do rio Lis (Portugal)

A entidade geomorfológica mais importante existente na área da bacia do Lis é o Maciço Calcário Estremenho. A parte inicial da bacia desenvolve-se sobre a terminação norte do referido maciço que constitui o seu limite menos marcado pois neste sector, a passagem para as bacias cretácicas situadas a norte é gradual, ao contrário dos outros limites que são bem marcados por escarpas de falha, por vezes imponentes. O referido sector insere-se no denominado planalto de São Mamede, região de relevo suave marcado por algumas depressões cársicas, por vezes preenchidas por sedimentos cretácicos, e vales pouco

profundos. O acidente geomorfológico que se destaca é o canhão da Caranguejeira, estreito desfiladeiro cortado em calcários do Turoniano (Cretácico Superior), por onde drena a ribeira da Caranguejeira (Sirol), um dos afluentes do Lis. A parte da bacia que se desenvolve em terrenos terciários é essencialmente aplanada, apenas interrompida por alguns relevos relacionados com estruturas diapíricas, de que se destacam os domos eruptivos (doleritos e rochas afins). Na Figura 2.3 apresenta-se um excerto da carta geomorfológica correspondente à área abrangida pela bacia hidrográfica do rio Lis.

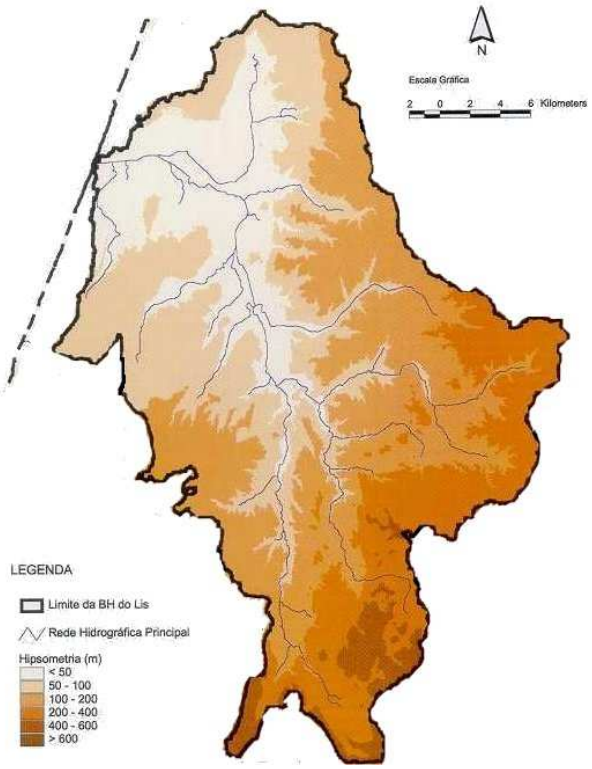


Figura 2.3 Hipsometria da bacia hidrográfica do rio Lis (Adaptado do Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lis, 2001)

2.2.1 Hidrografia

A rede hidrográfica da bacia do Lis pode dividir-se em três zonas distintas. A zona localizada mais a jusante, da costa até às proximidades de Monte Redondo-Amor, caracteriza-se por uma fraca densidade de drenagem e pelo fraco declive longitudinal dos cursos de água. Por este motivo o escoamento faz-se com uma certa dificuldade e a drenagem da área é bastante incompleta. Na zona central, que cobre a maior parte da bacia, desenvolve-se sobre arenitos,

calcários margosos e margas, a densidade de drenagem é elevada, decorrente da maior dificuldade de infiltração, motivando um fácil escoamento de águas e de eventuais efluentes. A zona de montante corresponde ao percurso no Maciço Calcário Estremenho que, à custa da sua extrema permeabilidade, possui uma drenagem essencialmente hipogeia através de galerias dando origem no seu rebordo a abundantes exsurgências de que as dos rios Lis e Lena são exemplos. Neste caso, quando existe contaminação das águas verifica-se uma situação análoga à da zona anterior, pois estas não sofrem qualquer filtragem por areias ou outros sedimentos ao atravessarem interiormente os calcários.

Em termos de regime de escoamento, o rio Lis e os seus afluentes comportam-se como cursos de água do tipo torrencial ou, mais precisamente, mediterrânico, em que se regista forte variabilidade dos caudais ao longo do ano hidrológico, com concentrações pluviométricas elevadas nos meses chuvosos e défice nos períodos secos.

Os principais afluentes do rio Lis são, na margem direita, as ribeiras do Sirol (117 km^2) e dos Milagres (76 km^2) e o rio de Fora (126 km^2) e, na margem esquerda, o rio Lena (189 km^2) e o colector de Amor (61 km^2) que recebe o caudal afluente das ribeiras de Amor e Escoura. Na

Figura 2.4 apresenta-se a rede hidrográfica completa da bacia, onde estão definidas as bacias hidrográficas dos principais afluentes do rio Lis.

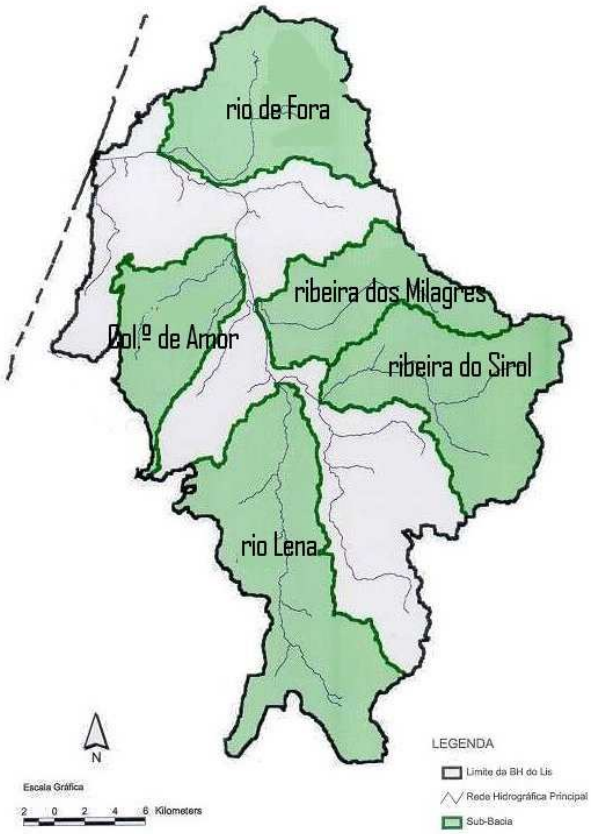


Figura 2.4 Rede hidrográfica da bacia do Lis com as principais sub-bacias

2.2.2 Análise superficial e de relevo

Do ponto de vista topográfico, a bacia do Lis é pouco acidentada, predominando os terrenos baixos, já que cerca de 2/3 do território apresenta cotas inferiores a 200 m (Campar *et al.*, 1989). Os sectores sul e sudeste, localizados nos planaltos e serras do Maciço Calcário Estremenho, são a única excepção, atingindo cotas superiores a 400 m. A passagem para a área do maciço calcário faz-se através de imponentes escarpas, nalguns casos com mais de 200 m de altura.

A análise superficial das sub-bacias seleccionadas foi realizada através da caracterização do padrão de drenagem e da análise planimétrica. A análise planimétrica foi baseada nos seguintes parâmetros morfométricos: área, perímetro, comprimento e forma da bacia. A forma da bacia foi quantificada pelo índice de Gravelius (coeficiente de compacidade) e pelo

coeficiente de Lemniscata (*Li*). Este último compara a forma da bacia com a forma de uma lemniscata e tem por base a seguinte expressão:

$$Li = \frac{P+1}{2\,p}\,\frac{\pi\,L}{P} \tag{2.1}$$

onde: P - perímetro da bacia hidrográfica, ($p = \frac{\pi\,L^2}{4\,A}$) (km), L - comprimento do curso de água principal (km) e A - área da bacia (km²).

O índice de Gravelius (K_c) exprime a relação entre o perímetro P da bacia e o perímetro de um círculo com área igual à da bacia (equação 2.2). Quanto mais próximo da unidade for K_c mais arredondada é a forma da bacia.

$$Kc = 0{,}28\,\frac{P}{\sqrt{A}} \tag{2.2}$$

onde: P - perímetro da bacia hidrográfica (km) e A - área da bacia (km²).

A partir dos valores dos coeficientes de massividade e orográfico, as principais sub-bacias foram classificadas quanto ao tipo de relevo. Na Tabela 2.1 apresentam-se os índices de forma e os coeficientes de relevo das sub-bacias principais.

Tabela 2.1 Índices de forma e coeficientes de relevo das sub-bacias hidrográficas do Lis

Designação	**Índices de Forma**			**Coeficientes de Relevo**		
	Gravelius	**Lemniscata**	**Forma**	**Massividade**	**Orográfico**	**Tipo de Relevo**
Rio Lis	2,425	0,494	Alongada	0,170	24,1	Acentuado
Rio de Fora	1,832	0,698	Arredondada	0,599	39,0	Pouco acentuado
Rib.ª Milagres	2,274	0,596	Alongada	1,656	208,6	Acentuado
Col.º Amor	2,185	0,645	Alongada	0,987	65,1	Pouco acentuado
Rib.ª Sirol	2,102	0,589	Alongada	1,616	307,0	Acentuado
Rio Lena	2,671	0,529	Alongada	1,354	291,2	Pouco acentuado

Fonte: *Plano de Bacia Hidrográfica do rio Lis, 2001*

O relevo da bacia é constituído por colinas arredondadas ou truncadas por superfícies quase planas que inclinam mais ou menos para Oeste. Neste relevo baixo e pouco vigoroso destaca-se a parte litoral, com uma topografia dunar aparentemente desordenada, onde se encontram dunas das mais altas do Litoral Português (cerca de 50 m), conservadas devido à permeabilidade das areias e ao seu revestimento florestal (sobretudo pinheiros) construído já em tempos históricos por acção humana. De salientar também os vales do Lis e do Lena, abertos no sentido sul-norte, de fundos planos e largos em praticamente todo o seu percurso e que imprimem na paisagem o cunho de verdadeiras planícies aluviais com uma largura da ordem dos 300-500 m. O vale do Lis apenas estreita ligeiramente à passagem nos calcários associados à estrutura diapírica de Leiria e, para jusante após a confluência do Lena, apresenta um plano aluvial mais amplo, com cerca de 1 km de largura. A análise dos declives (%) representados na Figura 2.5 mostra que são predominantes as classes mais baixas; cerca de 47% da área da bacia tem declives médios inferiores a 5%, e 90% da área da bacia tem declives inferiores a 15%. Os valores do declive aumentam de oeste para este e de norte para

sul à medida que o relevo se eleva. Os declives mais acentuados correspondem às escarpas ligadas a importantes acidentes tectónicos, que limitam o sector setentrional da bacia.

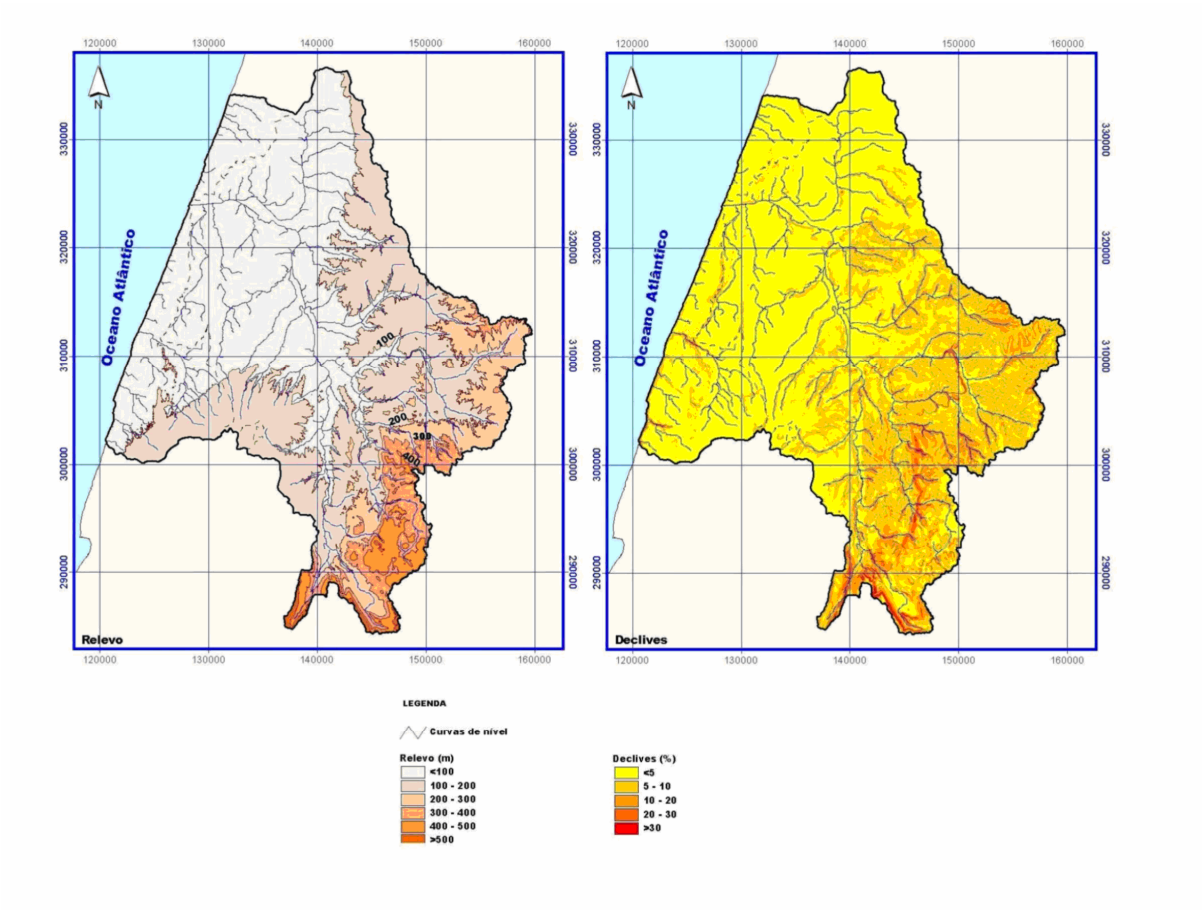


Figura 2.5 Carta de relevo e declives da bacia hidrográfica do rio Lis (Fonte: PBH do rio Lis, 2001)

2.3 Geologia

A bacia hidrográfica do rio Lis estende-se, na sua totalidade, por terrenos pertencentes à Orla Mesocenozóica Ocidental, onde podem ser encontrados materiais pertencentes a todas as idades, desde margas do Retiano-Hetangiano (Triássico superior e Jurássico inferior) até às aluviões modernas, incluindo praticamente todas as séries do Secundário (Jurássicas e Cretácicas) e do Terciário (Figura 2.6).

Para o estudo em questão, a litologia afigura-se mais importante do que a geologia. Os diferentes grupos litológicos (Tabela 2.2) apresentam distintos graus de permeabilidade e, consequentemente, diferentes capacidades hidrogeológicas, susceptíveis de condicionar o

regime dos cursos de água e de intervir directamente na difusão de poluentes (domésticos e industriais).

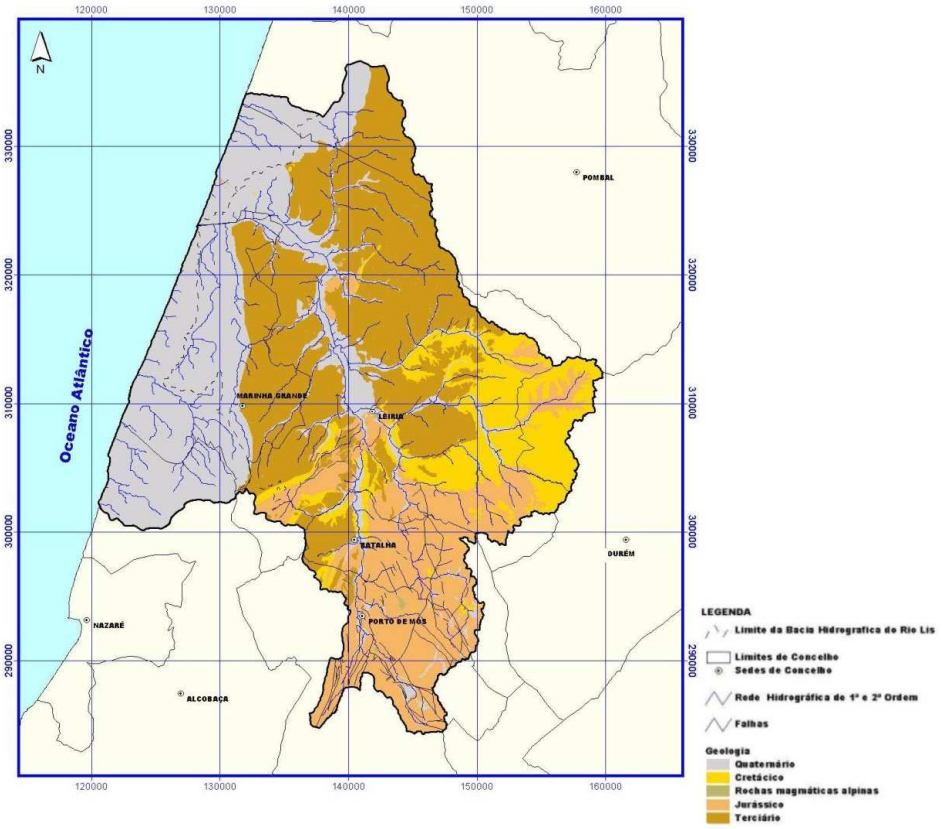


Figura 2.6 Carta geológica da bacia hidrográfica do Lis (Fonte: PBH do rio Lis, 2001)

Tabela 2.2 Distribuição dos grupos litológicos na área abrangida pela bacia hidrográfica do Lis

Grupos Litológicos	% Média
Areias Dunares	6,3
Aluviões	5,6
Areias e arenitos terciários	44,8
Arenitos secundários	20,9
Calcários (Malm)	11,4
Calcários (Dogger)	8,1
Calcários Margosos e Margas	0,5
Argilas e Calcários	2,4

2.4 Hidrogeologia

Hidrologicamente a bacia do Lis é caracterizada pela existência de alguns sistemas aquíferos importantes, relacionados com formações calcárias e detríticas. A organização sequencial dos sedimentos e a tectónica, em particular a tectónica salífera, tiveram um papel importante na organização e distribuição daqueles sistemas. A organização sequencial dos sedimentos individualiza verticalmente as formações com comportamento hidrogeológico diverso, criando alternâncias, mais ou menos cíclicas, de aquíferos, aquitardos e aquiclusos. Formam-se, assim, sistemas aquíferos multicamada, com escoamentos por drenagem intercamadas do sistema, de acordo com o potencial hidráulico local, genericamente descendente nas zonas de recarga e ascendente nas de descarga.

Algumas estruturas evaporíticas deram origem a vales tifónicos onde, por efeito da erosão dos sedimentos evaporíticos, se formaram importantes bacias de sedimentação de material detrítico com grande potencial aquífero. Noutros casos, as estruturas evaporíticas formam sub-domínios aflorantes ou sub-aflorantes (Leiria, Monte Real). Estes terrenos têm produtividade muito baixa e são local onde a água de circulação adquire forte mineralização, com formas aniónicas cloradas e/ou sulfatadas, que contaminam a água das formações adjacentes. Este tipo de contaminação também é comum nas águas da base dos sedimentos que preenchem os vales tifónicos.

No que respeita à circulação da água subterrânea individualizam-se dois tipos de sistemas aquíferos: os cársicos e os porosos. Os primeiros, suportados por calcários e dolomitos, circunscritos por estruturas cársicas que se desenvolvem pela dissolução dos carbonatos provocada pela própria água do escoamento do aquífero. A infiltração, quando a superfície se encontra carsificada, é elevada, da ordem ou mesmo acima de 50 a 60% da precipitação. Também a capacidade de armazenamento e transmissiva dependem da carsificação. Estes aquíferos têm em regra poder de auto-regulação limitado, que bem se evidencia pelas grandes variações de caudal das importantes nascentes por onde descarregam e pela amplitude da variação dos níveis da água entre a época das chuvas e a estação seca. A infiltração e o escoamento rápido pelas estruturas cársicas tornam estes aquíferos particularmente vulneráveis à poluição, com muito baixo poder autodepurador e com propagação rápida das contaminações.

Os sistemas aquíferos porosos, suportados pelas formações detríticas mesozóicas e algumas terciárias, são multicamada. Entre os terrenos mesozóicos, os arenitos do Carrascal sobressaem pela sua importância aquífera. Já os terrenos representativos de outro grande episódio de espessa sedimentação detrítica na bacia Lusitaniana, ocorrido no Jurássico superior, têm um comportamento global de aquífero pobre a muito pobre. Com efeito trata-se de uma alternância de arenitos argilosos e de argilas.

Nas unidades quaternárias, caso das dunas e, parcialmente das aluviões e terraços, encontram-se muitas das vezes situações freáticas, eventualmente com passagens laterais a condições de confinamento ou semi-confinamento.

As diversas formações ocorrentes podem ser agrupadas, em função da sua produtividade, em:

- Formações muito produtivas
- Formações de produtividade média
- Formações pouco produtivas

No primeiro grupo podemos incluir os calcários do Liásico e Dogger que constituem os sistemas aquíferos de Maceira e Maciço Calcário Estremenho. No entanto, deve-se sublinhar que, embora neste tipo de aquíferos seja possível obter caudais muito elevados, a implantação das captações é extremamente difícil, sendo numerosos os casos de insucesso ou de captações com caudais muito baixos. No segundo grupo podemos incluir as formações carbonatadas e detríticas do Cretácico, formações detríticas do Miocénico e Plio-Quaternário. Estas formações podem produzir caudais relativamente elevados, embora a maioria das captações forneçam caudais médios (medianas entre 2 e 5 L s^{-1}). Nas formações pouco produtivas incluímos os arenitos do Jurássico superior, as formações do paleogénico e as formações margosas do Liásico, incluindo as margas de Dagorda.

2.5 Análise Climática

A bacia hidrográfica do rio Lis enquadra-se, tal como o restante território de Portugal Continental, dentro dos climas mediterrânicos, cujas características fundamentais são a presença de duas estações bem contrastadas tanto do ponto de vista térmico como

pluviométrico. A um Verão quente e praticamente sem precipitação, opõe-se um Inverno com temperaturas suaves mas fortemente pluvioso.

A precipitação média anual ponderada sobre a bacia é de 956 mm, ocorrendo os maiores valores médios anuais nas zonas montanhosas das cabeceiras da bacia e os menores na zona junto à costa. O regime pluviométrico na bacia é caracterizado por um semestre chuvoso, que corresponde à estação fria, e um semestre seco que corresponde à estação quente. A distribuição sazonal da precipitação é muito acentuada, concentrando-se no semestre húmido (Outubro - Março) cerca de 75% da precipitação (Plano de Bacia Hidrográfica do rio Lis, 2001).

Procurando caracterizar termicamente o clima, recorrendo ao sistema descrito por Daveau (1985), a bacia do Lis, pode ser dividida em três manchas com comportamento próprio: junto à costa, onde os verões são suaves e os invernos tépidos; no fundo dos vales principais e no Maciço Calcário, onde os verões são moderados e os invernos frios, por efeito da acumulação de ar frio nas depressões e da altitude, e na restante área, onde os verões e os invernos são moderados.

A existência de apenas uma estação meteorológica e de três estações udométricas na área da bacia dificulta a análise da diversidade climática numa área que apresenta alguns contrastes orográficos importantes. É no entanto possível apontar alguns elementos tendentes à caracterização climática da bacia, como os ventos, importantes na dispersão de poluentes atmosféricos, e a precipitação, cujos quantitativos e ritmo de distribuição condicionam o regime de escoamento dos principais cursos de água e, consequentemente, a difusão de poluentes transportados por esta via. No que se refere aos ventos, os dados da estação localizada na Marinha Grande apontam no sentido do predomínio nítido dos ventos dos quadrantes norte e noroeste, particularmente durante os meses de Verão. A disposição do relevo, nomeadamente a orientação e a abertura dos vales do Lis e Lena, favorece a circulação dos ventos mareiros e a sua penetração em praticamente toda a área da bacia hidrográfica. Pelo facto da bacia do Lis ocupar uma posição bastante próxima do Litoral, fica na área geralmente atingida pelos ventos de advecção litoral, de grande importância para a agricultura, principalmente no verão, suprindo a falta de precipitação, à excepção das áreas meridionais pertencentes ao maciço calcário Estremenho. Os vales do Lis e do Lena podem inclusivamente servir como áreas de acumulação de ar frio, dando origem a nevoeiros mistos (advecção e radiação), que se relacionam com uma significativa inversão na estrutura térmica

da troposfera, sobretudo frequente durante as madrugadas e manhãs em situação de tempo anticiclónico. Esta situação de inversão térmica dificulta a dispersão de eventuais poluentes atmosféricos, impedindo a sua ascensão e concentrando-os nas camadas de ar mais próximas da superfície (Jesus, 1996).

2.6 Ocupação do Solo

Quanto à ocupação do solo, a bacia pode ser dividida em quatro grandes manchas, correspondendo a cada uma o domínio de um determinado tipo de solo, cujo desenvolvimento está directamente relacionado com as condições litológicas e hídricas (Campar *et al.*, 1989).

Os aluvissolos, solos profundos e férteis, encontram-se predominantemente nos fundos mais aplanados dos vales. Os solos podzolizados predominam nas superfícies e colinas arenosas a jusante de Leiria, respondendo à forte permeabilidade daquelas rochas, à sua idade recente e também a uma antiga ocupação com vegetação à base de resinosas- pinheiro bravo. São solos pobres, por vezes muito ácidos e com fracas capacidades de retenção de água. No terço meridional da bacia, sobre os calcários, são frequentes os luvissolos cálcicos, solos evoluídos de tons avermelhados, neutros ou básicos, com boa capacidade de retenção de água e férteis, quando profundos. A sua utilização pela agricultura apresenta-se bastante condicionada por um conjunto de limitações impostas pela morfologia e hidrologia particulares das regiões calcárias. A principal é a descontinuidade no espaço tornando inviável a prática de uma agricultura desenvolvida. Nas colinas greso-argilosas imediatamente a jusante dos calcários ocorrem, com maior frequência, os cambissolos, que são solos medianamente evoluídos e, se bem que menos ricos que os luvissolos anteriores, quando corrigidos são passíveis de uma boa ocupação agrícola intensiva. Como se pode verificar, na Tabela 2.3 (Campar *et al.*, 1989), os solos podzolizados são os que ocupam extensões mais importantes, correspondendo a quase metade da superfície da bacia, precisamente a mais litoral. Em contrapartida, os aluviossolos, os melhores para a utilização agrícola, surgem apenas em cerca de 7% da área.

Tabela 2.3 Tipo de solos característicos da bacia hidrográfica do Lis

Tipo de Solos	% (aproximada)
Aluvissolos	7
Solos podzolizados	40
Cambissolos	28
Luvissolos	20
Afloramentos rochosos + Litossolos	5

A bacia do Lis, a exemplo do que acontece no conjunto do território nacional, é constituída por solos que revelam uma aptidão essencialmente florestal (63%), e os solos com aptidão agrícola ocupam uma área inferior (37%) (Tabela 2.4). Estes têm maior expressão no fundo dos vales mais importantes, já que as condições morfológicas, líticas e hídricas das áreas arenosas, a jusante, e das áreas calcárias, a montante, são incapazes de proporcionar solos com capacidade agrícola.

Tabela 2.4 Capacidade de uso dos solos

Capacidade de Uso	% Média
Agrícola	35,0
Florestal	59,0
Agrícola + Florestal	4,0
Agrícola + agrícola condicionada	0,8
Florestal + agrícola condicionada	0,4
Sem qualquer aptidão	0,8
Capacidade agrícola total	37,0
Capacidade florestal total	63,0

Fonte: Campar *et al.* (1989)

Os fortes contrastes litológicos e pedológicos daí decorrentes proporcionam diferentes capacidades de uso, que determinam uma ocupação distinta dos solos na área de bacia do Lis (Tabela 2.5).

O pinheiro bravo é a espécie dominante, ocupando mais de metade da área da bacia (53,7%), particularmente o sector de jusante (pinhal de Leiria). As formações arenosas, principalmente as áreas de dunas e as areias e arenitos terciários, assim como solos podzolizados constituem os terrenos onde se encontra mais difundido (Campar *et al.*, 1989).

A vinha é a segunda ocupação mais importante, encontrando-se mais a montante de Leiria, associando-se aos arenitos e aos calcários margosos e margas do Secundário.

A oliveira e as culturas arvenses de sequeiro e de regadio surgem com um peso semelhante em termos de área ocupada. No entanto, a oliveira e as culturas arvenses de regadio têm preferências opostas. Nas culturas de regadio, onde há abundância de água, os terrenos são mais aplanados e os solos mais profundos, ou seja, no fundo dos principais vales, preenchidos por aluviões e com aluviossolos. O olival ocupa os locais que não permitem outra ocupação, sendo dominante sobre as formações calcárias, nos declives mais acentuados e sobre os solos mais pobres, normalmente luvissolos e litossolos.

As culturas arvenses de sequeiro ocorrem, predominantemente, sobre as formações arenosas, aproveitando geralmente superfícies aplanadas ou pouco inclinadas no cimo das colinas ou em patamares intermédios e na proximidade das povoações. Nas áreas a jusante existem preferencialmente sobre solos podzolizados ou cambissolos e sobre o Maciço Calcário nos luvissolos desenvolvidos à custa das argilas acumuladas nas depressões cársicas. O factor comum é a inexistência de água nas proximidades da superfície.

Os pomares (macieiras, pereiras, etc.), apesar de não ocuparem uma extensão significativa (inferior a 1%) têm bastante importância económica, dado o grande incremento verificado há alguns anos, face ao aumento de procura interna destes produtos e aproveitando as elevadas potencialidades apresentadas por alguns dos solos para a sua produção. Os aluviossolos, os coluviossolos e os luvissolos, ricos em bases e desde que profundos, apresentam características óptimas para a sua cultura. Em termos litológicos andam associados geralmente às aluviões e às margas e calcários margosos, caso apresentem topografia aplanada.

No extremo montante da bacia, em pleno Maciço Calcário, regista-se uma frequência significativa de áreas incultas, associadas a uma topografia muito acidentada, ao afloramento de calcários compactos do Secundário e à inexistência de solo ou a litossolos (solos esqueléticos). Alguma vegetação presente é arbustiva ou herbácea, descontínua e com utilização unicamente para pastoreio. De salientar que esta subárea está incluída no Parque Natural da Serra de Aire e Candeeiros. Devido às suas riquezas naturais (geomorfológica, geológica e florística) ainda existem neste parque alguns retalhos de vegetação próxima do clímax onde pontifica o carvalho português (*Quercus faginea* e *Quercus lusitanico*), além das espécies do sub-bosque que lhes estão associadas (carrasqueiro, medronheiro, alecrim,

Pistácias, *Cistáceas*, etc.). Outro caso de incultos verifica-se no cordão litoral junto à foz devido à acção do mar.

Tabela 2.5 Principais ocupações dos solos na bacia hidrográfica do rio Lis

Ocupação	Área (%)	Litologia	Pedologia	Topografia
Pinheiro	53,0	Areias (Terciárias e Quaternárias)	Podzolizados	Médio e fraco declive
Vinha	14,3	Areias (Secundárias)	Cambissolos Luvissolos	Fraco declive
Oliveira	7,4	Calcários (Malm e Dogger)	Luvissolos Litossolos	Forte e médio declive
Culturas arvenses de sequeiro	8,2	Areias e Cascalhos	Podzolizados	Fraco declive
Culturas arvenses de regadio	8,2	Aluviões	Aluviossolos	Fraco declive
Eucalipto	1,0	Areias (Terciárias)	Podzolizados	Fraco e médio declive
Carvalho	0,4	Calcários (Malm)	Cambissolos	Forte declive
Macieira	0,7	Margas e aluviões	Aluviossolos Coluviossolos Luvissolos	Fraco declive
Incultos	6,1	Calcários (Malm e Dogger)	Afluramentos rochosos e Litossolos	Forte declive
Outros	0,7	–	–	–

Fonte: Campar *et al.* (1989)

2.7 Análise Demográfica

A área da bacia hidrográfica do rio Lis compreende 6 concelhos abrangidos pela nomenclatura de Unidades Territoriais NUTE II Centro e Lisboa e Vale do Tejo, e pelas NUTES III, Pinhal Litoral e Médio Tejo.

Em termos administrativos, a bacia abrange a totalidade dos concelhos de Batalha e Leiria, grande parte dos concelhos de Marinha Grande (97%) e Porto de Mós (70%), e ainda uma pequena parte (11%) dos concelhos de Ourém e Pombal, num total de 48 freguesias.
Os dados de base utilizados foram os do Recenseamento da População entre 1981 e 2001 (Tabela 2.6).

Os resultados dos Censos 2001 apontam para um crescimento da população residente na Região Centro, com um acréscimo de 4% face aos valores apurados em 1991. Contudo, este crescimento é inferior ao verificado para o total do país, que cresceu cerca de 5%. Em termos relativos, e apesar do aumento populacional verificado, a Região Centro vê o

seu peso diminuído no total nacional: enquanto que em 1991 cerca de 17,4% da população total do país residia na região, em 2001 esse valor desce para 17,2% (INE, 2001).

Tabela 2.6 População residente e densidade populacional no total dos concelhos pertencentes à bacia do Lis

Concelhos	***População 1981***	***População 1991***	***População 2001***	***Densidade populacional 2001 (hab km^{-2})***
Batalha	12 588	13 329	14 995	144,8
Leiria	96 517	102 762	119 847	212,2
Marinha Grande	31 284	32 234	35 092	188,0
Ourém	41 376	40 185	46 156	110,8
Pombal	53 727	51 357	56 270	89,8
Porto de Mós	21 700	23 343	24 255	91,6

Dados: INE, 2001

A análise em termos de evolução concelhia será mais relevante para a caracterização da bacia em estudo, com a individualização dos concelhos em termos de crescimento/decréscimo populacional. Considerando que as actividades económicas estão intimamente relacionadas com o comportamento populacional, a análise do comportamento concelhio nas últimas décadas adquire especial importância. Os concelhos que apresentaram maiores acréscimos de população residente no período entre 1981 e 1991 foram os concelhos de Porto de Mós, Leiria e Batalha; por outro lado, os concelhos de Ourém e Pombal registaram decréscimos. O concelho de Marinha Grande apresenta uma situação intermédia com acréscimos populacionais na ordem dos 3%. No período entre 1991 e 2001 todos os concelhos apresentaram um aumento de população. Os que apresentaram maiores acréscimos de população residente foram os de Leiria (16,6%), Ourém (15,0%), Batalha (12,6%), Pombal (9,6%) e Marinha Grande (6,0%). O concelho de Porto de Mós apresentou um baixo acréscimo de população, 4,0%, comparativamente ao acréscimo verificado de 1981 a 1991. No entanto, apresenta valores idênticos aos acréscimos em Portugal e na Região Centro relativamente a 1991 que foram, respectivamente, de 5,0 e 4,0 %. As maiores variações da população na década 1991-2001 ocorreram no concelho de Leiria (Figura 2.7).

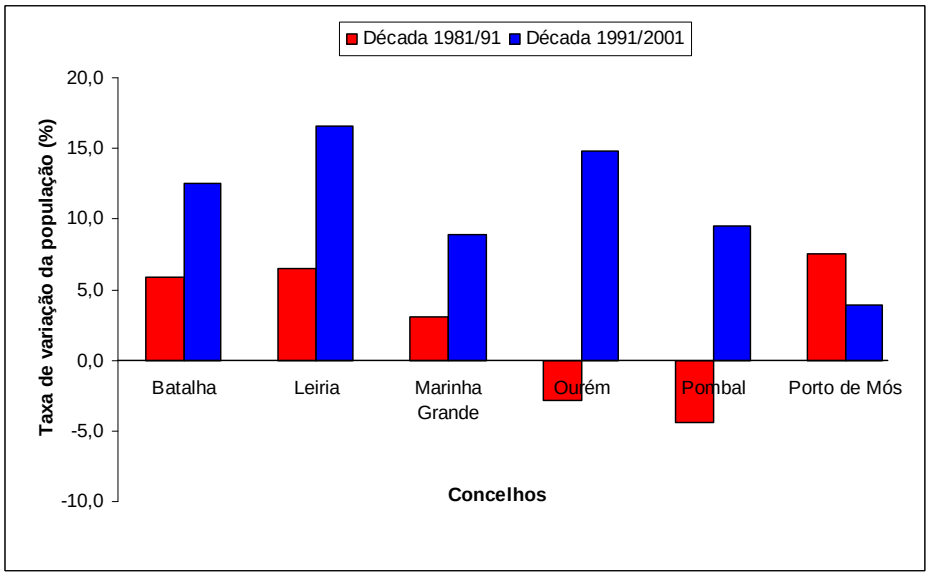


Figura 2.7 Taxas de variação entre duas décadas dos concelhos que pertencem à bacia hidrográfica do Lis

Por fim, refira-se que o concelho de Leiria é, sem dúvida, o mais populoso da bacia, com uma população em 2001 de 119 847 habitantes (61,5% da população total da bacia hidrográfica).

Em termos de densidade populacional, dos seis concelhos da bacia destacam-se Leiria, Marinha Grande e Batalha com 212,2, 188,0 e 144,8 hab km^{-2}, respectivamente, sendo superiores à densidade populacional de Portugal (114,3 hab km^{-2}).

Em 2001 a população residente na bacia hidrográfica do Lis era de 194 915 habitantes considerando a população residente total de 48 freguesias (Tabela 2.7). Ocorreu um acréscimo da população de bacia de 17,9% comparativamente a 1991 (população total de bacia de 165 253). Actualmente (2006) a população estimada a residir na bacia do Lis é cerca de 220 000 habitantes (Estimativas do INE, 2007).

Para compreender o crescimento é fundamental conhecer a distribuição da população por idades, de forma a avaliar a vitalidade demográfica. A vitalidade demográfica da população reflecte-se em melhores perspectivas de desenvolvimento da região e, inevitavelmente, numa maior utilização dos recursos hídricos e num maior impacte na qualidade das águas.

Tabela 2.7 População e número de freguesias incluídas na bacia hidrográfica do Lis

Concelho	População 2001	Nº de Freguesias
Batalha	14 995	4
Leiria	119 847	29
Marinha Grande	34 153	2
Ourém	2171	2
Pombal	6598	2
Porto de Mós	17 151	9
Total	***194 915***	***48***

Para a análise da estrutura da população foram utilizados os dados provenientes dos Censos de 1981, 1991 e 2001 (INE), relativos à população por grupos etários (0-14, 15-64 e 65 e mais anos) e foi calculado o índice de envelhecimento (IE)**,** em que a situação ideal é IE = 40:

$$IE = \frac{População\ (65+)}{População\ (0-14)} \tag{2.3}$$

Com este índice, calculado para os três anos em análise, foi possível caracterizar a estrutura da população e verificar quais as principais tendências.

Ao nível da bacia o IE passou de 47 em 1981, para 67 em 1991 e para 116 em 2001, o que revela um claro acréscimo do número de idosos nos últimos anos relativamente à percentagem de jovens. A proporção de população idosa residente na área da bacia do Lis é superior à da região Centro e à do total do país, contrariamente ao que acontecia nos anos de 1991 e 1981 (Tabela 2.8).

Os concelhos que apresentam maiores índices de envelhecimento em 2001 são basicamente aqueles que apresentavam menores percentagens de jovens e maiores percentagens de idosos, nomeadamente os concelhos de Ourém e Pombal. Apenas o concelho de Leiria apresenta uma estrutura relativamente jovem face ao continente e à Região Centro, o que poderá estar relacionado com o dinamismo económico.

Tabela 2.8 Índice de envelhecimento nos concelhos da bacia do Lis

Concelhos	**IE**		
	1981	***1991***	***2001***
Batalha	43,1	70,3	114,0
Leiria	47,7	52,9	90,7
Marinha Grande	33,8	61,9	112,0
Ourém	52,0	80,3	122,6
Pombal	57,5	–	142,0
Porto de Mós	48,6	70,4	117,3
Bacia	*47,1*	*67,2*	*116,4*
Centro	*58,6*	*87,2*	*114,5*
Portugal	*45,4*	*69,5*	*102,5*

2.8 Actividades Económicas

A análise da distribuição da actividade económica pelos três sectores de actividade tradicionais (primário, incluindo agricultura e indústria extractiva, secundário, incluindo produção industrial e agro-industrial e terciário, incluindo serviços) permite inferir sobre o tipo de sociedade e seu modo de vida. Os dados utilizados foram recolhidos no Recenseamento da População e da Habitação publicados pelo INE em 1981, 1991 e 2001.

Os concelhos abrangidos por esta bacia registaram um aumento total de aproximadamente 9 152 activos, passando de 39% para 43% da população residente. Este comportamento registou-se em todos os concelhos à excepção de Ourém, cuja população activa passou de 41% para 38%. Ao nível dos 3 sectores de actividade o sector primário registou um forte decréscimo, passando de 18% (1981) para 8% (1991) e para 4% em 2001, o sector secundário teve um decréscimo ligeiro, passando de 49% em 1991 a 46% em 2001 e o sector terciário registou um aumento de cerca de 10%, sensivelmente à custa da diminuição dos activos na agricultura e no sector secundário, especialmente na última década (Figura 2.8).

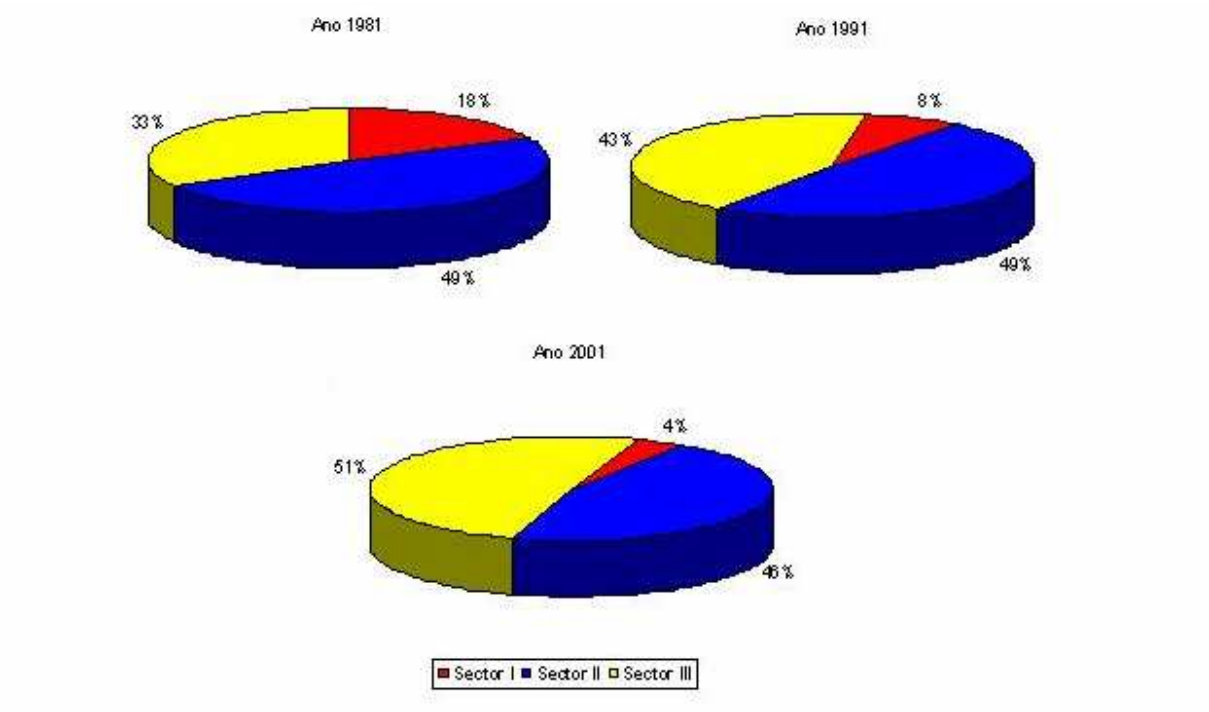


Figura 2.8 Distribuição da população por sectores de actividade na bacia do Lis

Da análise da Tabela 2.9 verifica-se que, em 1981 o Sector I era predominante nos concelhos de Ourém e Pombal, e o Sector II predominava nos restantes concelhos, quando se passa para 1991 o Sector I deixa de ter predominância passando o activo deste a estar distribuído nos Sectores II e III. O concelho da Marinha Grande destaca-se dos restantes por apresentar 63% dos activos no sector secundário e por apresentar menos de 1% no sector primário. De 1991 a 2001 houve um acréscimo significativo do sector terciário, passando este a ser predominante em todos os concelhos de bacia, com o decréscimo não só do sector primário como também do sector secundário. No entanto, há a salientar o elevado peso do sector secundário nesta bacia que imprime uma relação forte em termos de relações de trabalho industrial e consequentemente maiores impactes no meio hídrico, nomeadamente no eixo Marinha Grande – Batalha – Porto de Mós, com percentagens de activos neste sector superiores a 40%.

Tabela 2.9 Distribuição da população activa por sector de actividade e por concelho (%)

Concelhos	***Sector Primário***			***Sector Secundário***			***Sector Terciário***		
	1981	***1991***	***2001***	***1981***	***1991***	***2001***	***1981***	***1991***	***2001***
Batalha	36,3	10,9	4,9	36,5	54,3	48,9	27,2	34,8	46,2
Leiria	15,2	6,2	3,1	48,1	46,3	41,4	36,7	47,6	55,6
Marinha Grande	1,9	0,9	0,7	71,1	63,2	56,5	27,0	35,9	42,7
Ourém	40,7	13,4	3,1	31,8	42,0	42,4	27,5	44,6	54,5
Pombal	47,8	47,8	6,7	30,4	30,4	46,2	21,8	21,8	47,1
Porto de Mós	22,8	10,9	5,2	51,6	56,5	52,6	25,7	32,6	42,1

Fonte: INE, 2001

2.8.1 Sector agrícola

Na área geográfica abrangida pela bacia hidrográfica do Lis a superfície total das explorações agrícolas correspondia, em 1989, a 31,3% da superfície territorial da bacia. Da superfície total, 60,2% correspondiam a Superfície Agrícola Utilizada (SAU) e 34,2% a área de matas e florestas, sem culturas sob coberto, integradas nas explorações agrícolas. A terra arável correspondia a 46,2% da SAU, as culturas permanentes a 47,4%, como a vinha e os pomares, e os prados e pastagens permanentes a 4,6%.

Nos últimos anos, regionalmente, tem-se verificado uma diminuição progressiva do número de explorações e uma redução da SAU total.

Segundo o Recenseamento Geral Agrícola de 1989 (RGA 89), a bacia hidrográfica do Lis não chega a ocupar 1% da Superfície Agrícola Utilizada (SAU) no território do Continente, e abrange apenas 2% do número total de explorações agrícolas. A produção agrícola assenta também em unidades produtivas de reduzida dimensão, fragmentadas num elevado número de parcelas e com quase exclusivo recurso a trabalho familiar.

No que respeita à população ligada a explorações agrícolas pelo trabalho e/ou pela residência, estima-se que, no início dos anos 90, esta rondaria na bacia hidrográfica do Lis os 28% da população residente. A tendência, que se tem vindo a acentuar nos últimos anos, aponta, também aqui, para uma crescente articulação da agricultura familiar com os mercados de

trabalho e com outros rendimentos conseguidos pelas famílias no exterior da exploração agrícola. Nos casos de famílias com alternativas de trabalho noutros sectores, são mais frequentes as situações de complemento dos proventos da actividade agrícola (consumo próprio e comercialização de produtos da exploração agrícola) através de salários e rendimentos de actividades não agrícolas dos membros do agregado doméstico. Nas situações em que são menores as alternativas nos mercados de trabalho ou onde a população ligada a explorações agrícolas é mais envelhecida, são, com frequência, transferências do exterior (designadamente da previdência social) que complementam o rendimento arrecadado no cultivo de pequenas parcelas de terra.

No que respeita ao regadio, a bacia do Lis, em 1989, apresentava uma percentagem de explorações na ordem dos 76%, e uma estimativa aproximada feita com base no RGA 89 aponta para uma percentagem da superfície regada na área total das explorações abaixo dos 20% baseada sobretudo em água com origem em furos ou nascentes. A área beneficiada pelo aproveitamento hidroagrícola do Vale do Lis corresponde a 2 145 ha, cerca de 30% do total de área regada na bacia do Lis.

A partir dos dados da Tabela 2.10, das seis classes principais salientam-se as áreas agrícolas e florestais, as quais representam a maior percentagem de área ocupada (cerca de 87% na área norte e 83% na área sul da bacia). Em termos gerais, verifica-se a predominância dos espaços florestais, nomeadamente as áreas ocupadas por resinosas seguida pelas ocupações agrícolas, quer na área norte quer na área sul da bacia. Em termos de representatividade, na área norte da bacia surgem as áreas pertencentes às ocupações agrícolas, entre as quais se destacam as áreas das culturas anuais de sequeiro e prados permanentes (8,8%), que se encontram distribuídas um pouco por toda esta área, seguidas pelas áreas de regadio (5,8%) que se encontram distribuídas ao longo das linhas de água. Salienta-se ainda a ocupação dos espaços artificializados, principalmente no que diz respeito aos espaços urbanos que ocupam 6% desta área. No que se refere à área sul, surgem também as áreas pertencentes às ocupações agrícolas entre as quais se destacam as áreas de mosaico policultural (19,5%) e as áreas correspondentes a pomares (10,3%). As formações arbustivas e áreas degradadas apresentam nesta área uma ocupação considerável (cerca de 12,5%). Por fim, os territórios artificializados correspondem a 2,5% da ocupação.

Verifica-se uma ocupação diferenciada da área norte da bacia relativamente à área sul, quer em termos percentuais quer em termos de tipologia de ocupação. Desta forma, enquanto que

cerca de 40% da área sul é composta por terrenos agrícolas, apenas 23% da área norte é composta por este tipo de ocupação.

No que respeita às culturas anuais de sequeiro e prados permanentes, verifica-se que este tipo de ocupação é dominante na área sul da bacia enquanto que na área norte apenas representa cerca de 20% dos espaços agrícolas.

O mosaico policultural é essencialmente composto pelas áreas agrícolas heterogéneas que se caracterizam por corresponderem a manchas de minifúndio. A distribuição destes espaços é predominante na área sul.

Os espaços que compõem o mosaico agro-florestal correspondem a pequenas manchas de utilização agrícola em áreas que são essencialmente florestais. A sua existência na área total da bacia apresenta-se como diminuta mas com maior incidência na área norte.

Tabela 2.10 Ocupação do solo na bacia hidrográfica do rio Lis

Classes	***Uso do Solo (%)***	
	Área Norte	**Área Sul**
Territórios artificializados	7,0	2,5
Urbano	6,2	2,0
Zonas industriais	0,7	0,5
Espaços verdes artificializados	0,1	0,0
Agrícolas	23,1	41,3
Culturas anuais de sequeiro e prados permanentes	8,8	8,1
Regadio	5,8	0,0
Arrozais	0,0	0,0
Pomares	3,3	10,3
Mosaico policultural	0,8	19,5
Mosaico agroflorestal	4,3	3,3
Floresta	64,2	42,0
Folhosas	4,5	18,8
Resinosas	59,7	23,2
Formações arbustivas, áreas degradadas	4,6	12,5
Meios semi-naturais	1,0	1,6
Improdutivos	0,0	0,0
Zonas descobertas sem ou com pouca vegetação	1,0	1,6
Zonas húmidas	0,1	0,0

Fonte: Plano de Bacia Hidrográfica, 2001

Tal como previamente referenciado, os espaços florestais constituem o tipo de ocupação dominante na área abrangida pela bacia hidrográfica do rio Lis. Na generalidade da área as florestas de resinosas apresentam-se como dominantes (pinheiro bravo e o pinheiro manso) embora, na zona sul, a distribuição das folhosas (sobreiro, azinheira, ocupação mista de sobreiro e azinheira, castanheiro, carvalho e o eucalipto) tenha uma percentagem de área ocupada circunstancialmente maior.

As principais culturas tradicionalmente regadas são: milho, hortícola e tomate, tendo esta última vindo a decrescer. Por outro lado, os prados, forragens e pomares têm vindo a assumir importância crescente.

A progressiva abertura das explorações ao mercado, implicou mudanças cujo sentido aponta para uma crescente mecanização, para a introdução de novas espécies cultivadas e de efectivos pecuários de raças seleccionadas e para o aumento de consumo de adubos químicos, de produtos fitossanitários e de alimentos compostos para animais.

A actividade agrícola, ao artificializar o meio e ao emitir substâncias poluentes para o solo, para as águas (superficiais e subterrâneas) e para a atmosfera, tem sempre interacções com o ambiente ao nível do impacto das práticas culturais e do tipo de coberto vegetal sobre a erosão dos solos e ao nível da manutenção ou da alteração das paisagens, e outros impactos sobre a biodiversidade dos ecossistemas (através da introdução e manipulação de espécies vegetais e animais).

Uma vez que a agricultura não está isolada na sua interacção com o ambiente, nem sempre é fácil estabelecer uma relação directa de causa efeito entre as diferentes pressões (agrícolas, urbanas e industriais) e o estado do ambiente. É contudo possível identificar e avaliar a alteração de factores com pressão sobre o ambiente, associados às tendências da dinâmica das condições em que decorre a actividade agrícola.

Finalmente, o abandono de áreas cultivadas, embora corresponda a uma certa forma de regresso à natureza, tem evidentes reflexos no ambiente, tanto pela inviabilização de ecossistemas que respeitem a natureza (mas insustentáveis sem a intervenção do homem) como pela perda de paisagens agricultadas. Mas é o aumento de povoamentos florestais de pinheiro e eucalipto, e as áreas queimadas pelos fogos que anualmente os consomem, que constituem o mais expressivo traço de alteração regional das paisagens.

Os principais riscos associados às actividades agrícolas estão relacionados com a utilização de agro-químicos e pesticidas nas áreas de rega. Na Figura 2.9 apresentam-se as zonas mais críticas em termos de poluição difusa por fósforo. Estas zonas reflectem a ocupação dos regadios tradicionais e individuais.

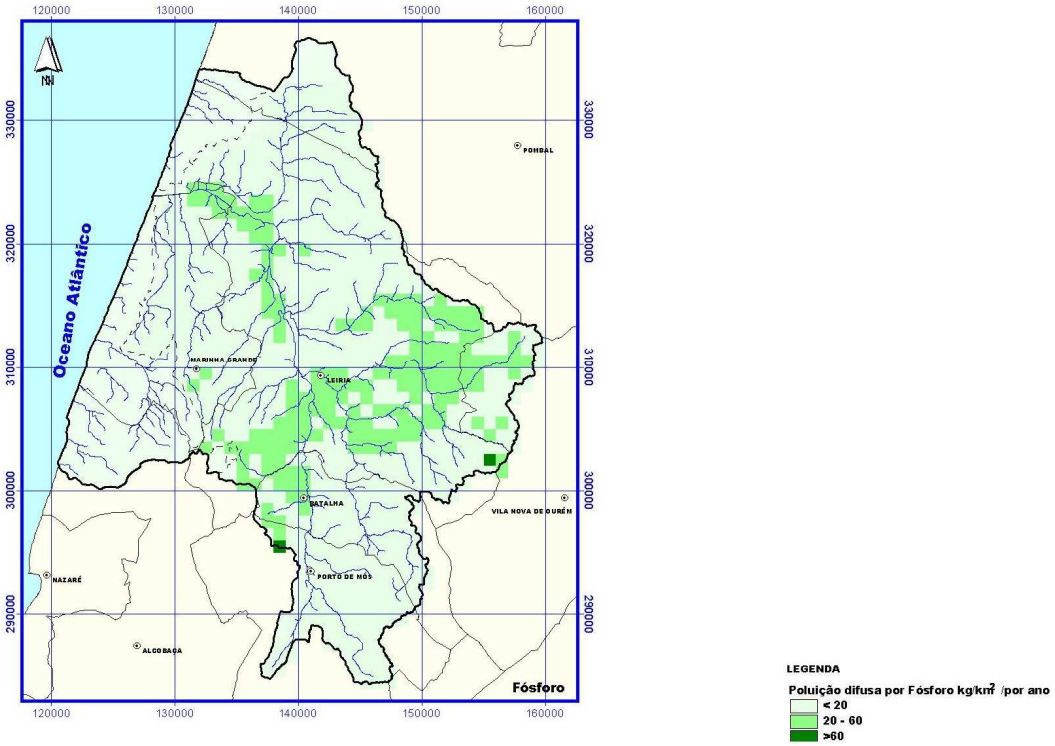


Figura 2.9 Zonas de risco de poluição difusa nos concelhos abrangidos pela bacia do Lis (Adaptado: PBH do rio Lis, 2001)

2.8.2 Sector pecuário

A actividade pecuária, nomeadamente o sector das suiniculturas, está fortemente representada nesta região, com os inúmeros problemas ambientais que lhes estão associados.

A produção de animais provoca inevitavelmente o aumento da carga poluente associada aos efluentes produzidos. Os principais constituintes dos efluentes animais (fezes e urina), descarregados de forma directa sobre as águas superficiais, são a matéria orgânica, nutrientes (azoto e fósforo) e bactérias fecais. Associados aos efluentes, contribuem também para a contaminação da água os resíduos provenientes da alimentação dos animais, animais mortos e resíduos resultantes da limpeza das instalações. O impacto deste tipo de contaminantes no

meio hídrico depende da quantidade, do tipo de cada um dos poluentes e do meio hídrico receptor.

A intensificação da actividade suinícola no Mundo, à qual Portugal não é excepção, resultou na substituição da aplicação dos efluentes pecuários nos solos pela sua descarga directa em cursos de água, na maioria dos casos sem qualquer tipo de tratamento. De acordo com os dados do Instituto Nacional de Estatística (dados de 1999) para a produção animal, existem cerca de 2 338 000 suínos em Portugal, dos quais 530 000 na região Centro e 470 000 na região da Beira Litoral, região onde se situa a bacia hidrográfica do rio Lis, prevendo-se impactes ambientais associados à actividade suinícola.

Da análise da Tabela 2.11 e da Tabela 2.12 verifica-se que o concelho de Leiria concentra a maioria do efectivo animal, com excepção dos caprinos, concentrados no concelho de Porto de Mós (42,5%). Na bacia do Lis, concentra-se um efectivo suinícola de 206 312 animais registados, dos quais 78,2% se localizam no concelho de Leiria, que potencialmente está sujeito a maior carga poluente proveniente do sector pecuário. Neste concelho destacam-se as freguesias de Milagres, Colmeias, Bidoeira de Cima, Marrazes e Boa Vista por apresentarem um elevado número de suiniculturas, o que afecta essencialmente a ribeira dos Milagres. Esta ribeira, ao longo dos anos, tem sido alvo de constantes descargas ilegais provenientes deste sector, o que se reflecte na má qualidade dos recursos hídricos, agravada pelo seu baixo caudal (ver noticias apresentadas no Apêndice A).

A grande concentração de suiniculturas constitui uma potencial fonte de risco de poluição, aliás bem conhecida não só ao nível local como nacional, pelos vários acidentes de poluição que têm originado. Neste contexto, apresenta-se na Figura 2.10 a localização das principais explorações de suiniculturas, referenciadas aos respectivos concelhos.

Tabela 2.11 Total de efectivos animais no sector pecuário (suínos, bovinos, ovinos e caprinos) por concelho na área abrangida pela bacia hidrográfica do rio Lis

Concelhos	Efectivo Pecuário							
	Suínos		***Bovinos***		***Ovinos***		***Caprinos***	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Batalha	17 107	8,3	1 349	9,5	1 449	9,8	1 485	22,1
Leiria	161 430	78,2	6 746	47,7	7 456	50,2	1 456	21,7
Marinha Grande	2 607	1,3	245	1,7	115	0,8	10	0,1
Ourém	526	0,3	192	1,4	298	2,0	529	7,9
Pombal	4 803	2,3	567	4,0	1 423	9,6	383	5,7
Porto de Mós	19 839	9,6	5 039	35,6	4 110	27,7	2 856	42,5
Bacia	*206 312*		*14 138*		*14 851*		*6 719*	
Centro	546 467	*37,8*	208 586	*6,8*	643 520	*2,3*	190 432	*3,5*
Portugal	2 418 426	*8,5*	1 415 188	*1,0*	2 929 765	*0,5*	537 241	*1,3*

Fonte: INE (Recenseamento Geral da Agricultura 1999)

Tabela 2.12 Total de efectivos animais no sector pecuário (equídeos, coelhas e aves) por concelho na área abrangida pela bacia hidrográfica do rio Lis

Concelhos	Efectivo Pecuário					
	Equídeos		***Coelhas reprodutoras***		***Aves***	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Batalha	111	12,5	2 798	16,8	170 970	8,2
Leiria	376	42,4	10 171	60,9	1 600 031	76,6
Marinha Grande	34	3,8	966	5,8	5 672	0,3
Ourém	30	3,4	494	3,0	179 275	8,6
Pombal	73	8,2	1 003	6,0	90 467	4,3
Porto de Mós	262	29,6	1 265	7,6	42 533	2,0
Bacia	*886*		*16 697*		*2 088 948*	
Centro	*24 963*	*3,5*	*136 264*	*12,3*	*16 491 617*	*12,7*
Portugal	*96 431*	*1,3*	*338 331*	*4,9*	*39 942 087*	*5,2*

Fonte: INE (Recenseamento Geral da Agricultura 1999)

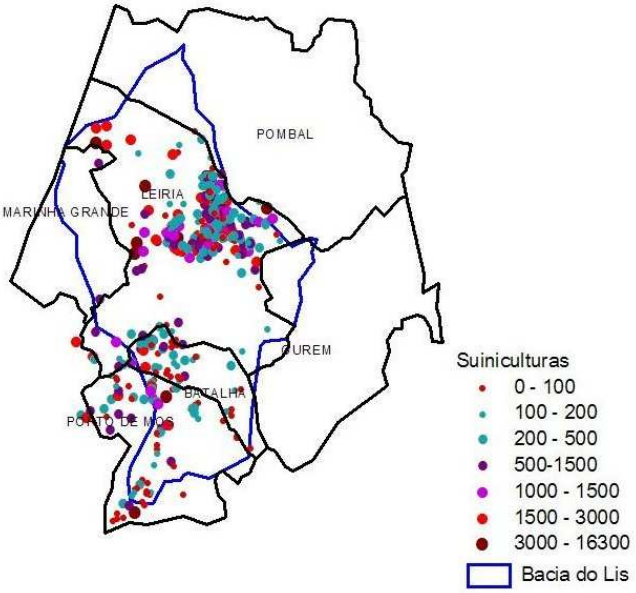


Figura 2.10 Distribuição das explorações de suiniculturas por número de efectivos por concelhos da bacia hidrográfica do Lis (dados ReciLis, 2005)

2.8.3 Sector industrial

A bacia hidrográfica do rio Lis insere-se numa região de forte dinamismo empresarial, nomeadamente nas áreas abrangidas pelos concelhos de Leiria e Marinha Grande.

Dos seis concelhos abrangidos pela bacia do Lis, Leiria é o concelho que detém maior número de empresas e de pessoal ao serviço, seguida pelos concelhos de Marinha Grande e Batalha. Dentro do sector secundário destacam-se as indústrias do ramo transformador que se encontram essencialmente distribuídas nos concelhos acima referidos. Deste modo, o concelho de Leiria foi identificado como aquele que apresenta maior potencial de carga poluente sobre o meio hídrico, seguido pelos concelhos de Marinha Grande e Batalha.

O número total de empresas registadas na Direcção Regional de Economia (transcrito do Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lis, 2001) pertencentes à bacia do Lis é cerca de 2 154, no entanto apenas cerca de 1 065 são consideradas como potencialmente geradoras de poluição para o meio hídrico. Na Tabela 2.13 apresenta-se a distribuição destas por concelho. Embora todas as actividades seleccionadas originem poluição, são abordadas em primeiro lugar as actividades com maior representatividade em número de indústrias, e posteriormente analisa-se a distribuição das actividades que, embora em menor número no total de bacia,

produzem cargas poluentes bastante elevadas. Incluem-se neste caso as actividades como a produção de óleos e gorduras vegetais e animais, o fabrico de papel e cartão, o fabrico de pasta de papel e a indústria das bebidas (maiores valores relativos às cargas poluentes, nomeadamente de CBO_5, CQO e SST).

Como se pode verificar, o concelho de Leiria é aquele que apresenta um maior número e percentagem de empresas potencialmente geradoras de poluição, possuindo cerca de 58% do total. De forma a obter uma perspectiva espacial, na Figura 2.11 apresenta-se a distribuição do total de empresas por concelho na bacia do Lis. Ao nível de concelhos da bacia, Leiria destaca-se dos restantes. No entanto, ao nível das freguesias verifica-se que Marinha Grande é aquela que apresenta um maior número de empresas (184 empresas que correspondem a 17% do total). Esta freguesia é atravessada por três ribeiras (podendo potencialmente estar sujeitas a maiores cargas): a ribeira do Escoura, a ribeira de Amor e a ribeira de Fagundo. Em número de empresas por freguesia seguem-se as freguesias de Colmeias, Marrazes e Maceira, pertencentes ao concelho de Leiria, e Batalha e Golpinheira, pertencentes ao concelho da Batalha.

Em seguida é efectuada uma análise tendo em conta a distribuição dos sectores de actividade por freguesias e linhas de água da bacia:

- Serração, aplainamento e impregnação de madeira;

Este sector de actividade engloba cerca de 188 empresas relacionadas com a serração e trabalho mecânico da madeira (17 % no total da bacia), estando a sua maioria concentradas no concelho de Leiria (143 empresas). As freguesias de Marrazes, Caranguejeira, Santa Catarina da Serra, Marinha Grande, Maceira e Monte Redondo são aquelas que apresentam maior número de empresas, entre 10 e 18. No que se refere aos cursos de água, são as ribeiras de Escoura, Amor, Fagundo e ribeira do Sirol aqueles que atravessam as freguesias enunciadas.

- Fabrico de outros produtos químicos;

O fabrico de outros produtos químicos está representado na bacia do Lis por 167 empresas, destinadas essencialmente ao fabrico de artigos de matérias plásticas. Esta actividade encontra-se essencialmente concentrada nas freguesias de Marinha Grande (57 empresas), Marrazes (27) e Maceira (14), nas imediações das ribeiras de Escoura, Amor e Milagres. Estas três freguesias detêm cerca de 50 % destas actividades pelo que a carga poluente se verificará essencialmente nas ribeiras que se encontram nas suas imediações.

Tabela 2.13 Total de empresas potencialmente geradoras de poluição sobre o meio hídrico por concelho da bacia do Lis

Designação	*Número de empresas por Concelho*						
	Batalha	Leiria	Marinha Grande	Ourém	Pombal	Porto de Mós	**Total**
Serração, aplainamento e impregnação de madeira	14	143	15	–	8	8	**188**
Fabrico de óleos e gorduras vegetais	2	6	–	–	–	–	**8**
Fabrico de produtos forjados, estampados e laminados	12	110	20	–	8	15	**165**
Indústria de bebidas	27	90	3	–	1	6	**127**
Serragem, corte e acabamento de pedra	18	59	2	4	1	28	**112**
Fabrico de vidro e artigos de vidro	2	9	83	–	–	–	**94**
Fabrico de joalharia, ourivesaria e artigos similares	12	20	6	–	–	30	**68**
Transformação de cereais, leguminosas e produtos afins	7	26	3	–	–	9	**45**
Fabrico de alimentos compostos para animais	6	24	3	–	–	3	**36**
Fabrico de papel e cartão e de embalagens	–	5	8	–	–	–	**13**
Fabrico de produtos químicos de base	–	10	2	–	1	–	**13**
Fabrico de outros produtos químicos	7	98	59	–	–	3	**167**
Fabrico de cimento, cal e gelo	–	5	–	–	1	2	**8**
Fabrico de tintas e vernizes e produtos similares	–	5	–	–	–	–	**5**
Fabrico de folheados, contraplacados, e outros painéis	1	3	–	–	–	–	**4**
Fabrico de sabões, produtos de limpeza e de polimento, perfumes e produtos de higiene	2	1	–	–	–	–	**3**
Fabrico de carroçarias, reboques e semi-reboques	–	4	–	–	–	–	**4**
Fabrico de motociclos	–	–	1	–	–	–	**1**
Curtimenta e acabamento de peles	2	–	–	–	–	–	**2**
Fabrico de agroquímicos	–	1	–	–	–	–	**1**
Fabrico de produtos farmacêuticos	–	–	–	–	1	–	**1**
Total	**112**	**619**	**205**	**4**	**21**	**104**	**1 065**
% por concelho	**10,5**	**58,1**	**19,2**	**0,4**	**2,0**	**9,8**	

Fonte: Direcção Regional de Economia do Centro (transcrito do Plano de Bacia Hidrográfico do rio Lis, 2001)

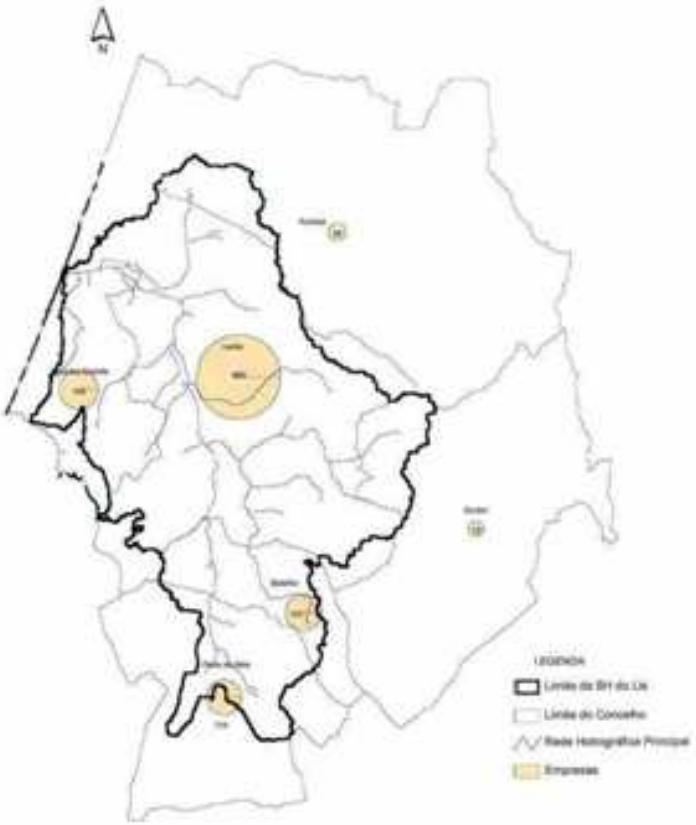


Figura 2.11 Distribuição de empresas na área abrangida pelos concelhos da bacia do Lis

- Fabrico de produtos forjados, estampados e laminados.

Esta actividade encontra-se representada na bacia por 165 empresas, mais uma vez maioritariamente concentrada nas freguesias de Marinha Grande e Marrazes.

- Indústria das bebidas

Esta actividade inclui-se no agrupamento de actividades geradoras de maiores cargas poluentes sobre os recursos hídricos. As freguesias de Batalha, Cortes, Arrabal e Caranguejeira são aquelas onde se inserem a maioria das empresas relacionadas com a indústria das bebidas, instaladas maioritariamente a sul da Bacia, nas proximidades do rio Lena, rio Lis e ribeira do Sirol. Refira-se que das 127 indústrias registadas 123 correspondem a destilarias e apenas 4 correspondem à produção de refrigerantes e águas gaseificadas.

- Serragem, corte e acabamento de pedra

Este grupo inclui o fabrico de artigos de cimento e de marmorite, o fabrico de cantarias e outros produtos de pedra e o fabrico de outros produtos minerais não metálicos, encontrando-se intimamente relacionado com a existência de matéria-prima. É a freguesia de Pedreiras em Porto de Mós que apresenta um maior número de empresas, afectando o rio Lena.

- Fabrico de vidro e artigos de vidro

O fabrico de vidro e artigos de vidro (indústrias fundamentais ou de fusão de vidro e indústrias complementares do vidro) encontra-se nitidamente concentrado na freguesia de Marinha Grande, com um total de 83 empresas. Mais uma vez são as ribeiras de Escoura, do Amor e de Fagundo que potencialmente poderão ser mais afectadas por esta actividade.

- Transformação de cereais e leguminosas, fabrico de amidos, féculas e produtos afins

Com um total de 45 empresas, esta actividade, relacionada essencialmente com a moagem, descasque, trituração e preparação de cereais, encontra-se disseminada na bacia mas concentra-se essencialmente na zona de montante, no rio Lis e no rio Lena.

- Fabrico de alimentos compostos para animais

Esta actividade é desenvolvida por um total de 36 empresas e encontra-se disseminada por toda a bacia. No entanto, são as freguesias de Batalha e Boa Vista as que apresentam maior número de empresas.

Em seguida serão descritas as actividades que, embora não sejam em número significativo na bacia, apresentam cargas poluentes muito elevadas. Isto significa que apesar de certas actividades estarem representadas com um elevado número de ocorrências na bacia, como é o caso da serração e aplainamento e impregnação de madeira (com um total de 188 empresas) existem outras, em menor número, que potencialmente geram cargas poluentes superiores às primeiras.

- Fabrico de papel e cartão canelados e de embalagens de papel e cartão

Nesta actividade inclui-se o fabrico e a transformação simples de papel e cartão. Considerada uma das actividades mais poluentes da bacia, encontra-se concentrada essencialmente na freguesia de Marinha Grande uma vez que esta freguesia apresenta sete empresas do total de

treze. O fabrico de papel e cartão origina elevadas cargas poluentes, estando as empresas concentradas essencialmente em torno da ribeira da Escoura e da ribeira de Fagundo.

- Fabrico de produtos químicos de base

A freguesia de Marrazes apresenta 50% das actividades relacionadas com os produtos químicos de base que englobam o fabrico de corantes e pigmentos orgânicos, resinosos, adubos, preparação de pesticidas, mistura de adubos, PVC e outras matérias plásticas. Entre estas actividades, o fabrico e mistura de adubos e o fabrico de PVC são as que produzem maiores cargas poluentes. Refira-se que a distribuição destas empresas aponta para uma maior concentração nas ribeiras de Escoura e Fagundo e na ribeira dos Milagres.

- Produção de óleos e gorduras animais e vegetais

Esta actividade, fabrico de azeite e produção e refinação de óleos alimentares, a seguir às actividades relacionadas com o fabrico de pasta de papel, é considerada como geradora de elevadas descargas poluentes sobre os recursos hídricos. Na bacia do Lis foram detectadas oito empresas, afectando potencialmente o rio Lis e o rio Lena, na zona de montante.

Com base na distribuição das indústrias potencialmente geradoras de carga poluente, podem-se identificar na bacia zonas de risco em termos de poluição das linhas de água; a zona onde se verifica o maior risco de poluição hídrica é a freguesia da Marinha Grande, na qual está concentrado um grande número de unidades industriais, algumas das quais de grande dimensão, essencialmente dos sectores do vidro e do revestimento de metais. As freguesias de Vieira de Leiria, Marrazes e Colmeias, apresentam também riscos significativos de poluição hídrica, devido, na primeira freguesia, à existência de uma unidade importante de cristalaria e, nas restantes, à existência de unidades do sector químico de dimensões importantes. Um outro sector associado a riscos de poluição, neste caso mais relacionados com poluição visual, mas também de poluição hídrica, em termos de cor e sólidos em suspensão, é o da serragem, corte e acabamento de pedra. As principais origens da poluição, e consequentemente dos riscos que lhes estejam associados, são as águas de refrigeração das serras de corte e equipamentos de polir. Funcionando a água em circuito fechado, o risco está associado a descargas dos tanques de decantação. Recorde-se que é o subsector que apresenta maior número de pessoal ao serviço no total da bacia, concentrando-se essencialmente nos concelhos de Leiria, Batalha, Marinha Grande e Porto de Mós. É na freguesia de Pedreiras, em Porto de Mós, que está instalado o maior número de empresas e, consequentemente, a maior concentração de riscos de poluição deste tipo, afectando o rio Lena, na zona de montante.

2.9 Caracterização e Avaliação dos Recursos Hídricos

O único aproveitamento hidráulico existente na bacia do Lis resume-se ao aproveitamento hidroagrícola, não existindo qualquer aproveitamento hidroeléctrico nem de fins múltiplos. Quanto aos sistemas para abastecimento de água, eles são essencialmente constituídos por captações isoladas e de carácter local, não se podendo apontar nenhuma delas como um sistema estruturante, o que, por outro lado, confere a cada uma das captações individuais um valor conjuntural muito importante, pela dependência dos sistemas de abastecimento associados.

Na bacia hidrográfica do rio Lis existem o aproveitamento hidroagrícola do Vale do Lis, de iniciativa estatal, e 4 regadios tradicionais de iniciativa particular. As áreas abrangidas são de 2 145 ha, para o primeiro, e de, aproximadamente, 110 ha para os restantes. O regadio colectivo realizado pelo Estado, abrange os concelhos de Leiria e Marinha Grande. Este Aproveitamento, inaugurado em 1957, desenvolve-se ao longo do troço do vale do Lis a jusante de Leiria, englobando inclusivamente um sector de rega a montante da confluência com o rio Lena, contíguo à área urbana da cidade. A sua extremidade de jusante situa-se a apenas 3 km do mar. Relativamente a obras de regularização de caudais estão inventariados 26 açudes para rega, construídos no Lis e seus afluentes. A partir desses açudes desenvolvem-se as redes de rega com um comprimento total de 216 km, que servem para derivar a água das linhas de água naturais para a rede de rega e as redes de rega têm por função o transporte da água desde a captação até às parcelas agrícolas, onde é utilizada.

No que diz respeito à água para abastecimento público, o nível de atendimento é elevado e a situação é considerada boa, mas o mesmo não se pode dizer das origens. Nesta matéria, a grande dispersão de sistemas e captações conduz a uma baixa fiabilidade e, em muitos casos, para além da falta de garantia de qualidade, acresce ainda a insuficiência das mesmas, em anos secos. Face à distribuição do número de sistemas pela bacia, bem como à própria distribuição da população, verifica-se ser no baixo Lis que se encontram as piores situações, muito em particular devido aos elevados riscos de poluição existentes. Nesta matéria, e embora as origens sejam constituídas essencialmente por captações subterrâneas, muitas delas são efectuadas em aquíferos de elevada produtividade, mas com contacto fácil com as águas superficiais (apenas uma captação superficial directamente no rio Lis), o que lhes confere um elevado grau de vulnerabilidade à poluição, situação de risco efectivo, face às elevadas cargas poluentes descarregadas seja para as águas superficiais, seja para o solo.

Relativamente ao sistema de saneamento, entendido como o conjunto de redes, interceptores, ETARs, emissários e órgãos complementares, que se encontram ligados entre si, potenciando a condução, tratamento e descarga dos efluentes num único "ponto de descarga", verifica-se que 60% da população é servida por redes de drenagem, sendo os concelhos de Marinha Grande e Batalha que apresentam maiores níveis de atendimento com 78% e 66%, respectivamente. Segue-se o concelho mais populoso, Leiria, com 60% (dados da SIMLIS, 2006).

A quantidade de água na bacia hidrográfica do rio Lis é avaliada neste estudo com base nos dados disponibilizados pelas redes hidrométrica e meteorológica existentes na bacia.

A rede hidrométrica automática é, actualmente, composta por 2 estações hidrométricas, que cobrem uma área de bacia de 393 km^2, ao que corresponde uma densidade da rede de cerca de 472 km^2/estação. Esta quantidade de estações e correspondente densidade da rede é notoriamente insuficiente. Uma estação situa-se no rio Lis (Açude Arrabalde) e cobre uma área de bacia de 235 km^2 a outra estação localiza-se no rio Lena (Ponte das Mestras) e cobre uma área de 158 km^2, quase a totalidade da área da bacia do Lena. Relativamente às estações refere-se o seguinte:

Ponte Mestras (15E/03) – Esta estação situa-se no troço final do rio Lena, a cerca de 300 m da sua confluência com o rio Lis. O rio Lena encontra-se regularizado (e coberto de vegetação) desde a confluência com o Lis até esta estação, sendo a secção transversal do seu leito menor de configuração trapezoidal. O leito é argiloso. Para montante desta estação existe um largo vale com ocupação maioritariamente agrícola. Existem registos nesta estação desde 1980.

Açude do Arrabalde (15E/05) – Esta estação situa-se no troço do rio Lis à saída de Leiria, no qual o leito principal está regularizado e estabilizado (secção trapezoidal e os leitos de cheia esquerdo e direito praticamente desimpedidos). A estação está instalada a cerca de 15 m a montante da secção do açude, sendo os seus registos influenciados pelo regolfo deste, sempre que as comportas se fecham. O açude tem cerca de 3,0 m de altura por 15,0 m de largura. A estação situa-se a cerca de 800 m a montante da confluência do rio Lena com o rio Lis. Existem igualmente registos nesta estação desde 1980.

2.9.1 Curvas de vazão

As curvas de vazão utilizadas neste estudo para estimar os caudais foram as disponibilizadas no SNIRH , com medições realizadas nas décadas de 80 e 90 (Figura 2.12 e Figura 2.13). A não existência de curvas de vazão actualizadas é um factor de elevada incerteza na determinação dos caudais correspondentes ao período referente a este estudo (2003-2006).
A equação da curva de vazão utilizada foi a que é tradicionalmente utilizada em Portugal:

$$Q = a\,(h - h_0)^b \tag{2.4}$$

Os parâmetros da curva proposta para a estação de Ponte das Mestras (SNIRH) são:

a = 7,60763, b = 1,52641 e h_0 = 0,60379

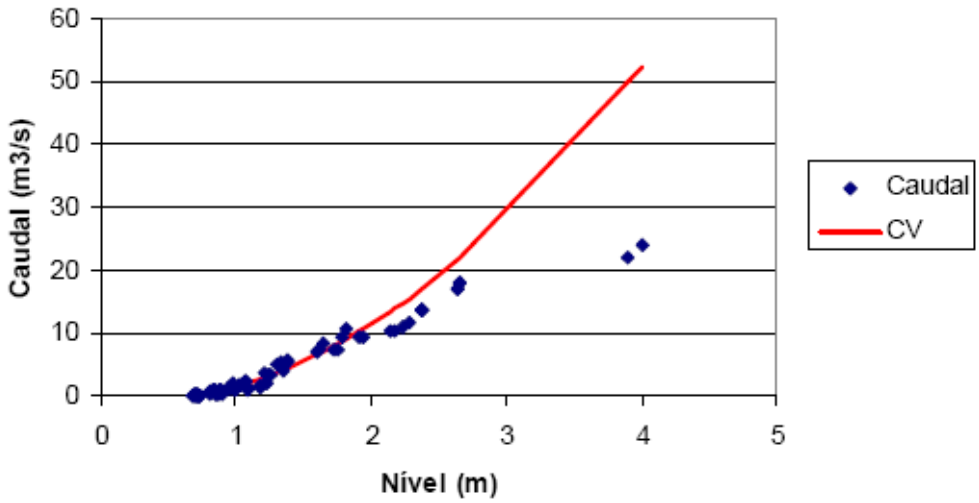


Figura 2.12 Curva de vazão correspondente à estação Ponte das Mestras

No período em que decorreu este estudo (Janeiro de 2003 a Dezembro de 2006) foram calculados, através das curvas de vazão mencionadas, os caudais mensais para as duas estações (Figura 2.14) recorrendo aos dados de nível hidrométrico disponibilizados no SNIRH (a 18 de Janeiro de 2007). De salientar que é difícil estimar os caudais noutros pontos da bacia hidrográfica, dado o número reduzido de estações da rede hidrométrica a que acresce ainda o facto da estação Açude Arrabalde, a única situada no rio Lis, ser monitorizada 15 m a montante das comportas do açude, pelo que não existem registos nos meses de Verão.

Os parâmetros da curva proposta para a estação Açude Arrabalde (SNIRH) são:

a = 3,1122, b = 1,0193 e h_0 = 0,25

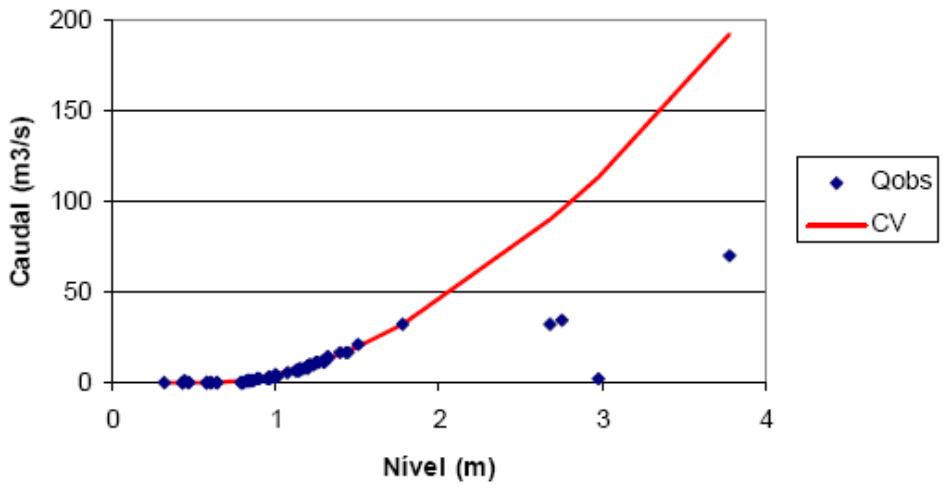


Figura 2.13 Curva de vazão correspondente à estação Açude Arrabalde

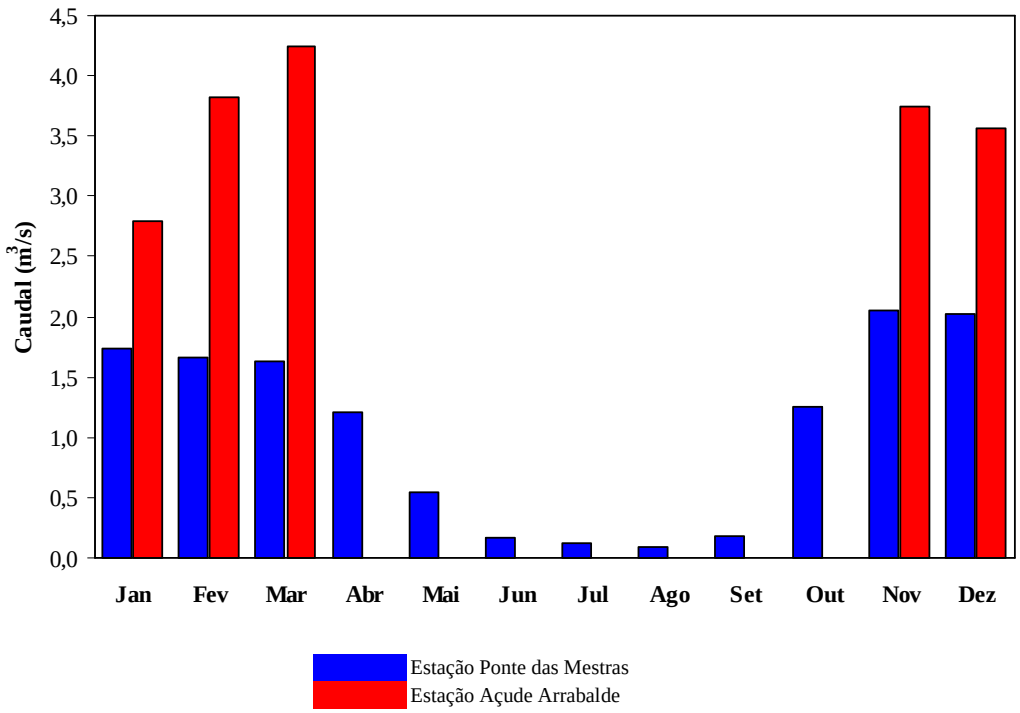


Figura 2.14 Caudais médios mensais (2003/06) nas estações hidrométricas da bacia do rio Lis

2.9.2 Precipitação

Na bacia hidrográfica do rio Lis existem 8 estações da rede meteorológica com dados de precipitação mensais referentes ao período deste estudo. A área média coberta por cada estação da rede meteorológica é de 119 km^2. A análise dos dados de precipitação apresenta algumas limitações devido à inexistência de séries anuais completas para todas as 8 estações.

Na Figura 2.15 estão representados graficamente os dados correspondentes à distribuição da precipitação total anual. Verifica-se a existência de valores de precipitação bastante diferentes no período analisado. O ano de 2005 foi o que apresentou em toda a bacia menores valores médios anuais de precipitação (347 mm), o que está de acordo com os valores de precipitação obtidos em Portugal Continental, cujo valor médio anual foi de 400 mm. Relativamente aos valores mensais, verifica-se que os meses mais chuvosos são Outubro e Novembro, com valores médios mensais para o período em análise de 1 239 mm e 747 mm, respectivamente. Da análise da precipitação média mensal por trimestre, verifica-se ser bastante desigual, mostrando a existência de dois semestres com características diferentes: chuvoso e seco (Figura 2.16). No semestre húmido concentra-se cerca de 77% da precipitação anual (em média anual de 1 300 mm).

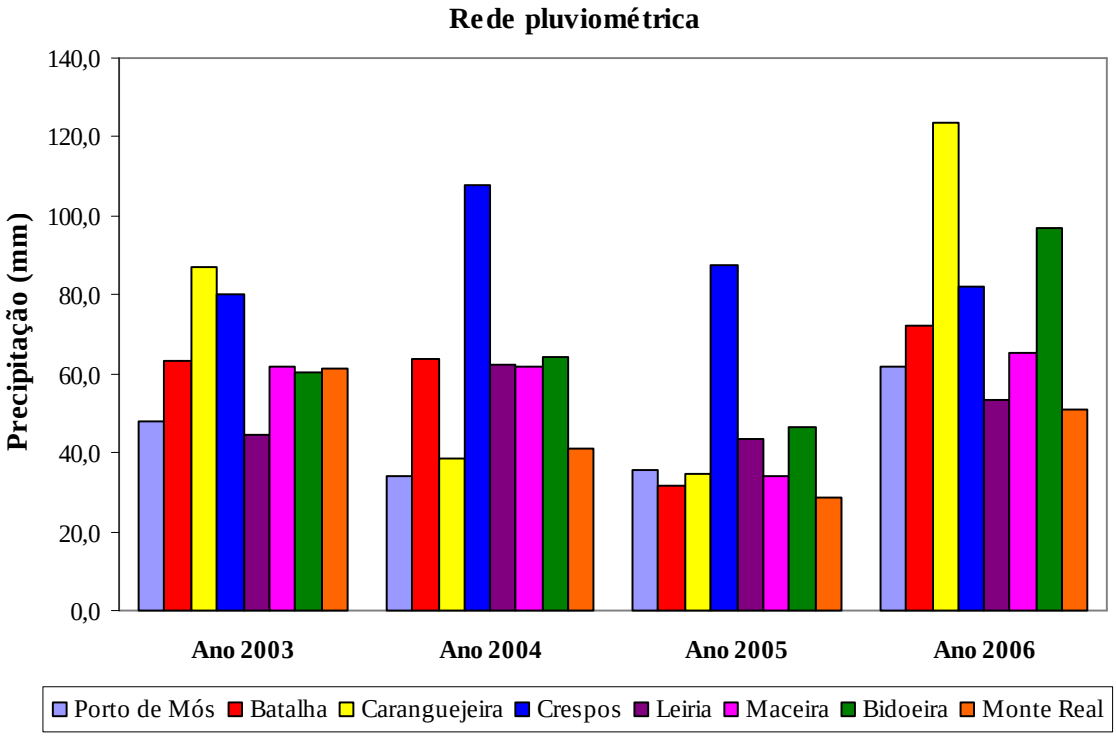


Figura 2.15 Precipitação total anual (2003 a 2006) nas estações meteorológicas da bacia do rio Lis

A elevada pluviosidade tem um forte poder erosivo e, juntamente com a ocorrência de cheias, conduz ao transporte de grande quantidade de sedimentos que cobrem os solos de alto valor agrícola. A eficiência erosiva das águas escorrentes é tanto maior quanto mais despido de vegetação estiver o terreno, constituído por materiais como margas e areias que, além de permeáveis, são facilmente arrastáveis.

A forte variabilidade dos quantitativos pluviométricos origina também uma grande irregularidade na alimentação dos aquíferos, a partir dos quais se efectuam as captações de água para os mais diversos fins (agrícolas, domésticos e industriais), atingindo-se um regime de escassez nos anos mais secos.

Assim, o papel depurador exercido pelas águas pluviais sobre a superfície da bacia é irregular e sazonal. A sua acção é maior nos anos húmidos e, nos anos mais secos, pode ser insuficiente. De igual modo, os efeitos poluentes de todo o tipo de descargas são acentuados no Verão, pela falta de diluição e dispersão que o rio Lis evidencia.

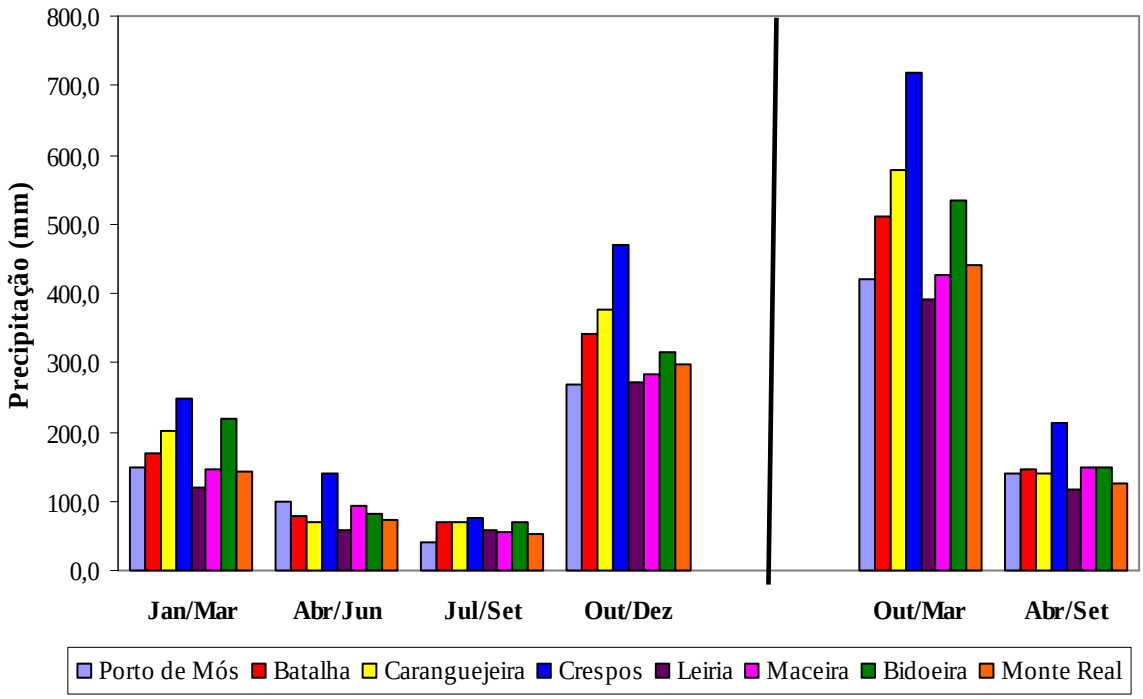


Figura 2.16 Precipitação média mensal (2003 a 2006) nos semestres húmido e seco, na bacia do rio Lis

2.10 Qualidade da Água

A caracterização completa da bacia hidrográfica deve também ter em conta a qualidade da água, com base nos dados históricos existentes. Uma análise mais detalhada correspondente ao período a que se refere este estudo será abordada no capítulo seguinte.

O histórico relativo à qualidade da água na bacia hidrográfica do rio Lis (Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lis, 2001) permite desde já salientar os seguintes aspectos:

- O carácter dinâmico dos caudais e das descargas de efluentes e, consequentemente, das concentrações de muitos dos parâmetros de qualidade da água.

- A incerteza associada à identificação e quantificação das descargas poluentes, devido ao seu elevado número e à sua dispersão pela bacia, variando desde colectores abertos sobre o rio, efluentes lançados nas encostas com escoamento superficial até ao rio, descargas de efluentes mal tratados e descargas de efluentes em zonas aleatórias da bacia efectuadas por meios mecânicos móveis.

O estado da qualidade da água na bacia do Lis é dominado por uma das principais actividades económicas da região: a suinicultura. Esta actividade é responsável, em termos de carga gerada, por cerca de 80% da contaminação em matéria orgânica e compostos azotados, e cerca de 95% de compostos fosfatados. Os efluentes domésticos contribuem com cerca de 15% da contaminação em matéria orgânica e compostos azotados, restando 5% que se repartem pela indústria e bovinocultura. Finalmente, a agricultura tem, eventualmente, algum peso na contaminação por azoto (Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lis, 2001).

As suiniculturas localizam-se sobretudo na sub-bacia da ribeira dos Milagres (freguesias de Colmeias, Milagres e Marrazes) e no rio Lena a montante de Leiria (freguesia da Batalha).

A contaminação doméstica provém sobretudo de Leiria, na confluência do Lis com o Lena.

A indústria reparte-se entre Leiria e Marinha Grande (nas cabeceiras de vários afluentes da margem esquerda do Lis), sendo de realçar a do fabrico de papel e cartão que é responsável por cerca de 60% da carga de CQO de origem industrial gerada na bacia. Existe ainda um número significativo de empresas de fabrico de produtos metálicos, na sua maioria localizadas em torno da ribeira dos Milagres. Saliente-se, ainda, o elevado número de destilarias que se encontram na bacia, estando mais concentradas nos concelhos de Leiria, Batalha e Porto Mós.

Os dados de qualidade da água disponibilizados no Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lis (2001) (série de dados reportados a 8 estações da rede de monitorização de qualidade da água INAG/DRA até 1998) revelam que as cargas poluentes provêm sobretudo do Lena, da sub-bacia do troço entre Mil Homens e Ponte Mestras, do Lis junto a Leiria, da ribeira do Sirol e da ribeira dos Milagres, exactamente os locais onde está instalada a maior parte das suiniculturas.

As concentrações dos indicadores de matéria orgânica, CBO_5 e CQO, azoto, fósforo e contaminação fecal atingem valores extremamente elevados que colocam grande parte da rede hidrográfica na classe dos rios muito poluídos a extremamente poluídos.

Os valores observados de clorofila-*a* revelam situações de eutrofização, no rio Lena, próximo da confluência com o rio Lis (troço que atravessa a cidade de Leiria) e no rio Lis desde a cidade de Leiria até à Foz. A ocorrência deste parâmetro apresenta uma forte sazonalidade sobretudo nas estações a jusante de Leiria. A disponibilidade de nutrientes e de radiação durante o período de Abril a Setembro conduz a um acentuado crescimento de algas nesta época.

Os dados revelam ainda que a origem da contaminação por fósforo tem um carácter pontual, o que confirma a hipótese de esta ter como principal fonte a suinicultura.

No que diz respeito ao azoto não é possível identificar claramente a origem e tipo de descarga, admitindo-se, no entanto, a existência de descargas pontuais e de poluição difusa.

Por último, em relação aos metais observa-se uma contaminação significativa por ferro, zinco e alumínio proveniente da ribeira dos Milagres e de acordo com a classificação do INAG coloca este curso de água nos rios poluídos a muito poluídos. O inventário das fontes poluidoras identificou algumas serralharias e fábricas de produtos metálicos nas freguesias de Pousos, Colmeias e Milagres, que poderão ser responsáveis por esta situação.

A classificação da qualidade da água para usos múltiplos segundo critérios do INAG permite obter informação sobre os usos que potencialmente podem ser considerados na massa de água classificada (Tabela 2.14).

Com base nos parâmetros de qualidade da água, para as estações da rede automática monitorizadas na Bacia do Lis (INAG, SNIRH 28 de Novembro de 2006), a água é considerada de má qualidade e de muito má qualidade, respectivamente na estação Arrabalde e na estação Monte Real. Contribui para isso a concentração elevada de CQO na estação Arrabalde e as concentrações elevadas de azoto amoniacal e fósforo total em Monte Real.

Tabela 2.14 Classificação dos cursos de água superficial (INAG)

Classificação dos Cursos de Água Superficiais de Acordo com as suas Características de Qualidade para Usos Múltiplos

CLASSE:		A	B	C	D	E
PARÂMETRO		Excelente	Boa	Razoável	Má	Muito má
pH		6,5 - 8,5*	5,5 - 9,0	5,0 - 10,00	4,5 - 11,0	
Condutividade	(uS/cm, 20ºC)	<=750	751 - 1 000	1 001 - 1 500	1 501 - 3 000	>3 000
SST	(mg/l)	<=25,0	25,1 - 30,0	30,1 - 40,0	40,1 - 80,0	>80,0
Sat OD	(%)	>=90	89 - 70	69 - 50	49 - 30	<30
CBO_5	(mg O2/l)	<=3,0	3,1 - 5,0	5,1 - 8,0	8,1 - 20,0	>20,0
CQO	(mg O2/l)	<=10,0	10,1 - 20,0	20,1 - 40,0	40,1 - 80,0	>80,0
Azoto Amoniacal	(mg NH4/l)	<=0,50	0,51 - 1,50	1,51 - 2,50	2,51 - 4,00	>4,00
Nitratos	(mg NO3/l)	<=5,0	5,0 - 25,0	25,1 - 50,0	50,1 - 80,0	>80,0
Azoto Kjeidahl	(mg N/l)	<=0,5	0,51 - 1,00	1,01 - 2,00	2,01 - 3,00	>3,00
Fosfatos	(mg P2O5/l)	<=0,40	0,41 - 0,54	0,55 - 0,94	0,95 - 1,00	>1,00
Fósforo Total	(mg P/l)	<=0,2	0,21 - 0,25	0,26 - 0,40	0,41 - 0,50	>0,50
Coliformes Totais	(/100 ml)	<=50	51 - 5 000	5 001 - 50 000	>50 000	-
Coliformes Fecais	(/100 ml)	<=20	21 - 2 000	2 001 - 20 000	>20 000	-
Estreptococos Fecais	(/100 ml)	<=20	21 - 2 000	2 001 - 20 000	>20 000	-
Ferro	(mg/l)	<=0,50	0,51 - 1,00	1,10 - 1,50	1,50 - 2,00	>2,00
Manganês	(mg/l)	<=0,10	0,11 - 0,25	0,26 - 0,50	0,51 - 1,00	>1,00
Zinco	(mg/l)	<=0,30	0,31 - 1,00	1,01 - 3,00	3,01 - 5,00	>5,00
Cobre	(mg/l)	<=0,050	0,051 - 0,2	0,201 - 0,5	0,501 - 1,000	>1,00
Crómio	(mg/l)	<=0,050	-	0,051 -0,080	-	>0,080
Selénio	(mg/l)	<=0,01	-	0,011 - 0,050	-	>0,050
Cádmio	(mg/l)	<=0,0010	0,0011 - 0,0050		>0,0050	
Chumbo	(mg/l)	<=0,050	-	0,051 - 0,100	-	>0,100
Mercúrio	(mg/l)	<=0,00050	-	0,00051 - 0,001	-	>0,001
Arsénio	(mg/l)	<=0,010	0,011 - 0,050	-	0,051 - 0,100	>0,100
Cianetos	(mg/l)	<=0,050	-	0,051 - 0,080	-	>0,080
Fenóis	(mg/l)	<=0,0010	0,0011 - 0,0050	0,0051 - 0,010	0,011 - 0,100	>0,100
Agentes Tensioactivos	(Las-mg/l)	<=0,2	-	0,21 - 0,50	-	>0,50

* O pH, sendo um parâmetro muito dependente de características geomorfológicas, pode apresentar valores fora deste intervalo, sem contudo significar alterações de qualidade devidas à poluição,

2.11 Principais Usos da Água

Os recursos hídricos subterrâneos são, na bacia do rio Lis, a principal fonte de água para a maioria das utilizações. O inventário das captações subterrâneas e superficiais identificou 56 captações, das quais apenas uma é superficial. A existência desta única captação, que serve cerca de 30 000 habitantes (15% da população total de bacia) a sul de Leiria, no lugar de S. Romão, resulta da grande variabilidade sazonal e interanual das disponibilidades hídricas superficiais e da má qualidade das águas superficiais para a produção de água para consumo humano.

Na bacia hidrográfica do Lis foram identificadas 3 praias fluviais:

• Fontes na freguesia de Cortes

• Vale da Rosa na Caranguejeira

• Pisão na freguesia da Bajouca

Na área abrangida pela bacia hidrográfica do rio Lis as actividades relacionadas com a pesca distribuem-se, essencialmente, em dois locais habitualmente frequentados por pescadores:

• No troço do rio Lis delimitado entre o açude de Arrabalde e o Posto de turismo (centro da cidade), na freguesia de Leiria;

• Na zona envolvente à ponte de Monte Real até ao açude das Salgadas, na freguesia de Monte Real.

No que se refere as outras actividades directamente relacionadas com os recursos hídricos há ainda a salientar a existência de moinhos de água ainda em funcionamento em várias freguesias do concelho de Leiria, nomeadamente: Bajouca (Pisão), Caranguejeira (Vale do Lapedo), Carvide, Cortes, Marrazes (Sismaria) e Monte Redondo (Grou e Fonte Nova).

Na área abrangida pela bacia hidrográfica do rio Lis, segundo o sistema completo de rega da Associação de Regantes e Beneficiários do Vale do Lis, estão projectados 26 açudes, dos quais 19 estão em funcionamento, e destes 5 encontram-se no rio Lis.

2.12 Situações de Risco de Poluição

Os riscos de poluição na bacia do rio Lis estão associados a diversas actividades: agricultura, indústria e agro-pecuária e às descargas de efluentes domésticos não tratados e/ou com tratamento inadequado.

Pela sua expressão, considera-se um risco potencial elevado de poluição associado à grande concentração de suiniculturas, nomeadamente as de maiores dimensões e, em particular, na ribeira dos Milagres.

Os principais riscos associados às actividades agrícolas estão relacionados com a utilização de agro-químicos e pesticidas nas áreas de rega situadas nos campos do Lis.

Os riscos associados à actividade industrial estão localizados em áreas específicas. A zona onde se verifica o maior risco de poluição hídrica é na freguesia da Marinha Grande, na qual está concentrado um grande número de unidades industriais, algumas das quais de grande dimensão, essencialmente dos sectores do vidro e do revestimento de metais. As freguesias de

Vieira de Leiria, Marrazes e Colmeias apresentam também riscos significativos de poluição hídrica, devido à existência de uma unidade importante de cristalaria e à existência de unidades do sector químico de dimensões importantes. Um outro sector que comporta riscos de poluição (poluição visual, mas também alteração de parâmetros como a cor e teor de sólidos em suspensão) é o da serragem, corte e acabamento de pedra. É o subsector que apresenta maior número de pessoal ao serviço em toda a bacia, concentrando-se essencialmente nos concelhos de Leiria, Batalha, Marinha Grande e Porto de Mós. É a freguesia de Pedreiras, em Porto de Mós, que apresenta um maior número de empresas e, consequentemente, o maior risco de poluição deste tipo. Há ainda a considerar os riscos de poluição de origem doméstica, neste caso associados às ETAR's municipais, tendo em conta a eventualidade de avarias ou interrupções no seu funcionamento. Na Figura 2.17 está representada a área da bacia sujeita a maiores riscos de poluição associados aos sectores descritos.

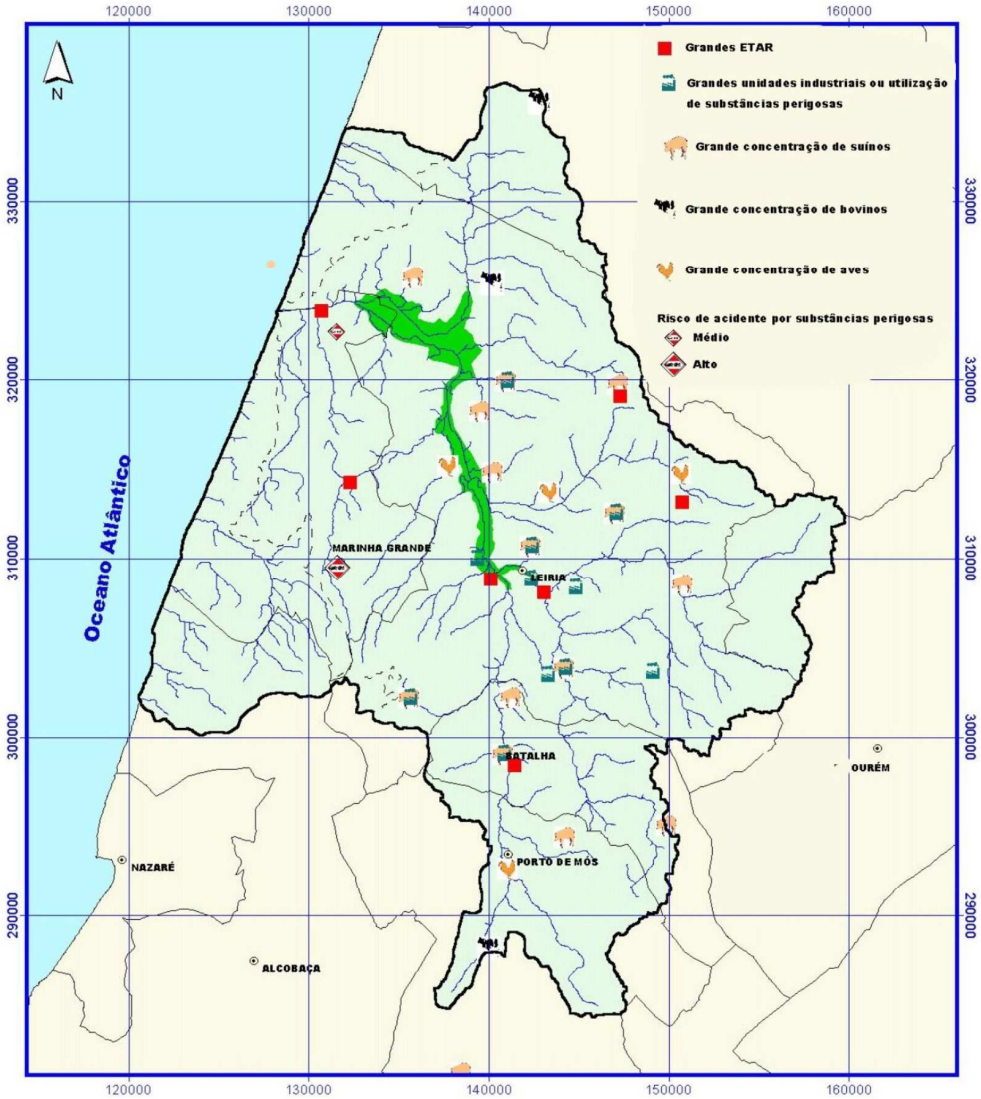


Figura 2.17 Áreas da bacia hidrográfica do rio Lis de maior risco de poluição associado aos principais sectores de actividade

2.13 Conclusões

Apesar da sua pequena dimensão, a bacia do rio Lis é uma das mais conhecidas pela publicitação de que tem sido alvo devido aos frequentes "desastres ecológicos" que se têm manifestado essencialmente através da morte de peixes no troço entre Leiria e a praia de Vieira de Leiria, de relevante utilização turística e de lazer. Ao longo desse troço localiza-se um dos mais antigos perímetros hidroagrícolas do país que utiliza água para rega directamente do rio. Também a cidade de Leiria é parcialmente abastecida a partir de uma captação directa no rio Lis, localizada a montante da cidade. De realçar também todo o potencial paisagístico dos rios Lena e Lis, principalmente nos centros das cidades de Leiria, Batalha e Porto de Mós, as quais devem proporcionar um ecossistema estável, limpo e sustentável.

Na área geográfica da bacia do rio Lis coexistem diversas actividades industriais, algumas delas concentradas em determinados concelhos e/ou freguesias. É o caso das indústrias de fusão vidro e de indústrias complementares do vidro, concentradas no concelho de Marinha Grande, e as indústrias de plástico, concentradas nos concelhos de Marinha Grande e Leiria. O rio Lena apresenta-se condicionado, uma vez que nas freguesias em seu redor existem actividades potencialmente poluentes como é o caso da indústria das bebidas, da produção de óleos vegetais e animais e das suiniculturas. A ribeira dos Milagres é igualmente alvo de fortes pressões essencialmente derivadas da existência de suiniculturas e de produção de óleos animais e vegetais. Para além dos riscos de poluição de origem industrial e agro-industrial, foram ainda considerados os riscos de poluição de origem doméstica, neste caso associados às ETAR's municipais, tendo em consideração a eventualidade de avarias ou interrupções no seu funcionamento. Para além dos baixos níveis de drenagem e tratamento de efluentes na maioria dos concelhos, as situações mais precárias estarão associadas à baixa capacidade de carga dos meios receptores e, consequentemente, a uma exigência de níveis de tratamento mais elevados nas ETAR´s. Os riscos associados com actividades agrícolas concentram-se essencialmente nas áreas de rega situadas nos campos do Lis e na zona de jusante do rio Lis. Pela análise efectuada prevêem problemas sérios de contaminação nas águas da bacia do rio Lis.

2.14 Referências

Campar, A., Gama, A., Cunha, L., Jacinto, R., Boura, I., Medeiros, J. e Brandão, J., (1989), *A Bacia Hidrográfica do Rio Lis – Contributo para o Estudo da Organização do Espaço e dos Problemas do Ambiente,* Câmara Municipal de Leiria, CCDR-Centro, Coimbra.

Cardoso, C., Dias, H., Soares, C. e Martins, S., (2006), Caracterização Morfométrica da Bacia Hidrográfica do rio Debossan, Nova Friburgo, RJ, *R, Árvore, Viçosa-MG*, **30**, 241-248.

Consórcio AMBIO/CHIRON/PROFABRIL/DRENA/HLC/FBO (2000), Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lis, 1ª Fase – Análise e diagnóstico de Referência, Ministério do Ambiente e Ordenamento do Território, Instituto da Água, Direcção Regional do Ambiente do Centro, Coimbra.

Daveau, S., (1989), *Mapas Climáticos de Portugal*, Relatório 8, Memórias do Centro de Estudos Geográficos, 7, Lisboa.

INAG (2007), Instituto da Água, Portugal, www.inag.pt.

INE (2007), *Estimativas da População Residente, Portugal NUTS II, NUTS III e Municípios*, Instituto Nacional de Estatística, Portugal, www.ine.pt.

INE (1999), *Recenseamento Geral da Agricultura*, Beira Litoral, Instituto Nacional de Estatística, Portugal, www.ine.pt.

INE (1999), *Recenseamento Geral da Agricultura*, Ribatejo e Oeste, Instituto Nacional de Estatística, Portugal, www.ine.pt.

INE (2001), *Recenseamento Geral da População*, região Centro, Instituto Nacional de Estatística, Portugal, www.ine.pt.

INE (1991), *Recenseamento Geral da População*, região Centro, Instituto Nacional de Estatística, Portugal, www.ine.pt.

INE (1981), *Recenseamento Geral da População*, região Centro, Instituto Nacional de Estatística Portugal, www.ine.pt.

Quintela, A.C., (1975), *Carta do Escoamento (Quantidade de Água na Rede Hidrográfica)* (I.8), Direcção Geral dos Recursos Florestais/Instituto Hidrográfico, Comissão Nacional do Ambiente, Lisboa.

Quintela, A.C., (1975), *Carta da Evapotranspiração Real (Quantidade de Água Devolvida à Atmosfera)* (I.9), Direcção Geral dos Recursos Florestais/Instituto Hidrográfico, Portugal, Atlas do Ambiente, Lisboa.

Jesus, C., (1996), *Gestão Integrada de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio Lis: Estado Actual e Medidas para o seu Desenvolvimento*, Tese de Mestrado, Instituto Superior Técnico de Lisboa, Lisboa.

Lei n.º 11/87 de 7 de Abril de 1987, artigo 12.º, *Unidade Básica de Gestão*, Lei de Bases do Ambiente, Portugal.

SNIRH (2007), Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos, "*Rios, Dados de Base de Qualidade, Bacia do Rio Lis*", Portugal, http://snirh.pt.

Teixeira, C., Zbyszewski, G., Torre de Assunção, C. e Manuppella, G., (1968), Carta Geológica de Portugal na Escala de 1/50 000, Folha 23-C, Leiria, Serviços Geológicos de Portugal, Lisboa.

3. Qualidade das Águas Superficiais na Bacia Hidrográfica do Rio Lis

Neste capítulo é apresentado o estudo da qualidade das águas na bacia hidrográfica do rio Lis e a respectiva modelação matemática (programa QUAL2Kw) para previsão de diferentes cenários de qualidade da água.

A qualidade das águas é representada por um conjunto de características, geralmente mensuráveis, de natureza química, física e biológica. As influências antropogénicas e os fenómenos naturais (clima, precipitação, erosão, etc.) condicionam a qualidade das águas superficiais e poderão colocar em perigo os seus principais usos (abastecimento público, utilização industrial e agrícola, recreio, ou outros), sendo por isso fundamental fazer a monitorização sistemática dos sistemas aquáticos.

3.1 Introdução

A água é a substância mais abundante no planeta, globalmente distribuída pelo ciclo hidrológico, sendo, no entanto, a maior parte salina, o que constitui uma limitação para a sua utilização. A quantidade de água doce no mundo, adequada para a produção de água para consumo humano, é suficiente para fornecer cerca de 6 a 7 vezes o mínimo anual necessário por habitante (UNEP, 2007) Apesar de parecer abundante, esse recurso representa apenas 0,3% do total de água no Planeta. A restante água doce (cerca de 2,5% do total) está nos lençóis freáticos e aquíferos, nas calotes glaciares, neve permanente e outros reservatórios (UNEP, 2007).

Se em termos globais a água doce é suficiente para todos, a sua distribuição é irregular no território. As regiões intertropicais possuem 50% do escoamento das águas, nas zonas temperadas estão 48%, e nas zonas áridas e semiáridas, apenas 2% (UNEP, 2007). Além disso, as necessidades também são diferentes, sendo maiores nos países desenvolvidos.

Em relação à sua utilização, em média, 70% da água vai para a agricultura, 22% é consumida pela indústria e 8% para fins domésticos (UNEP, 2007). Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde), a necessidade mínima diária por pessoa é 50 litros de água, enquanto que, com 200 litros, vive confortavelmente. Uma água de má qualidade pode causar sérios riscos à saúde humana. Por exemplo, 30% das mortes de crianças com menos de 1 ano ocorre por diarreias e 80% das enfermidades no mundo são contraídas por causa da água poluída (UNEP, 2007).

O cenário de escassez deve-se não apenas à irregularidade na distribuição da água e ao aumento das necessidades, mas também ao facto de que, nos últimos 50 anos, a degradação da qualidade da água ter aumentado para níveis alarmantes. Actualmente, os grandes centros urbanos, industriais e áreas de desenvolvimento agrícola com grande uso de adubos químicos e agrotóxicos já enfrentam má qualidade da água, o que pode gerar graves problemas de saúde pública. Prevê-se que em breve a água será a causa principal de conflitos entre nações. Há sinais dessa tensão em áreas do planeta como Médio Oriente e África (WMO/UNESCO, 2006).

Na Tabela 3.1 está representada a distribuição de água na Terra (Shiklomanov *et al.*, 2002). Verifica-se que existem grandes discrepâncias entre o elevado volume de água salgada e a pequena fracção de água doce, a quantidade de água presente nos glaciares e a quantidade de

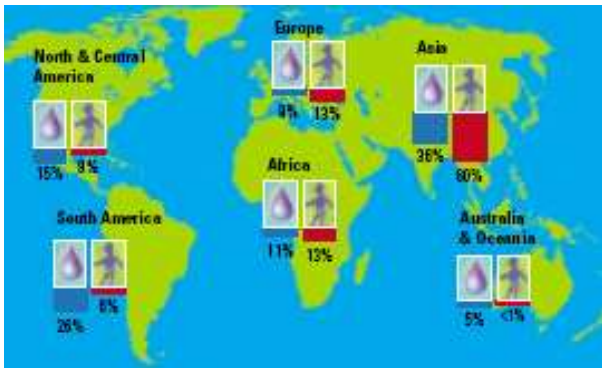
água armazenada nos aquíferos, e entre a grande quantidade de águas subterrâneas e a pequena fracção existente em rios, lagos e reservatórios.

Tabela 3.1 A distribuição da água no Globo

Localização	*Volume (10^3 km^3)*	*% de volume total na hidrosfera*	*% de água doce*	*Volume reciclado anualmente (km^3)*	*Período de renovação em anos*
Oceanos	1 338 000	96,5	–	505 000	2 500
Águas subterrâneas	23 400[1]	1,7		16 700	1 400
Águas doces subterrâneas	10 530	0,76	30,1		
Solos	16,5	16,5	0,001	0,05	16 500
Glaciares e neve permanente:	24 064	1,74	68,7		
Antárctica	21 600	1,56	61,7		
Áreas verdes	2 340	0,17	6,68	2 477	9 700
Ilhas árcticas	83,5	0,006	0,24		
Regiões montanhosas	40,6	0,003	0,12	25	1 600
Gelo subterrâneo	300	0,022	0,86	30	10 000
Água em Lagos:	176,4	0,013	–	10 376	17
Doce	91,0	0,007	0,26		
Salgada	85,4	0,006	–		
Pântanos	11,5	0,0008	0,03	2 294	5
Rios	2,12	0,0002	0,006	43 000	16 dias
Água biológica	1,12	1,12	0,0001	0,003	–
Água na atmosfera	12,9	0,001	0,04	600 000	8 dias
Volume total na hidrosfera	1 386 000	100	–		
Água doce total	35 029,2	2,53	100		

[1] Excluindo as águas subterrâneas do Antárctico estimadas em 2 milhões de km^3, dos quais 1 milhão de km^3 é água doce.

A água é um elemento vital essencial para a estruturação do desenvolvimento sócio-económico. Em termos mundiais, analisando a disponibilidade da água em função da população, verificam-se fortes disparidades continentais, em particular no continente asiático, que suporta mais de 60% da população com apenas 36% dos recursos hídricos mundialmente disponíveis (Figura 3.1).



Fonte: Página da Internet da UNESCO/IHP

Figura 3.1 Disponibilidade da água nos 5 Continentes versus população

Segundo os dados de disponibilidade da água por pessoa e por ano, descritos no relatório da WMO/UNESCO (2006), Portugal aparece em 82º lugar, com 6 859 m^3/capita/ano.

A qualidade das águas dos rios, lagos e reservatórios depende de um número de factores interligados: geologia, clima, topografia, processos biológicos e usos do solo, em conjunto com o tempo de residência da água e respectivo caudal. No entanto, nos últimos 200 anos, além dos factores referidos também se salientam as actividades humanas associadas ao desenvolvimento urbano e industrial e à intensificação das práticas agrícolas, que conduziram ao transporte de efluentes directamente para os rios ou, indirectamente, através da atmosfera.

Existem problemas globais de contaminação por metais pesados, contaminação orgânica, e problemas regionais como chuvas ácidas ou outros mais localizados. Na Tabela 3.2 estão descritos os maiores problemas de qualidade da água a nível mundial com consequências graves, quer ao nível da saúde pública quer ao nível da saúde dos ecossistemas.

Tabela 3.2 Principais problemas de qualidade da água a nível mundial

Tipo de poluição	**Tipo de águas poluídas**	**Sector afectado**	**Período de tempo causa/efeito**	**Área afectada**
Poluição orgânica	Rios ++ Lagos + Aquíferos +	Ambiente aquático	< 1 ano	Local a regional
Patogénicos	Rios ++ Lagos + Aquíferos +	Saúde pública	< 1 ano	Local
Salinização	Aquíferos ++ Rios +	A maioria dos usos Ambiente aquático Saúde pública	1-10 anos	Regional
Nitrato	Rios + Lagos + Aquíferos ++	Saúde pública	> 10 anos	Regional
Metais	Todos	Saúde pública Ambiente aquático Transporte para o oceano	< 1 ano a > 10 anos	Local a global
Orgânicos	Todos	Saúde pública Ambiente aquático Transporte para o oceano	1-10 anos	Local a global
Acidificação	Rios ++ Lagos ++ Aquíferos +	Saúde pública Ambiente aquático	> 10 anos	Regional
Eutrofização	Rios + Lagos ++	A maioria dos usos Ambiente aquático Transporte para o oceano	> 10 anos	Local
Sedimentos acumulados (aumento ou diminuição)	Rios + Lagos	A maioria dos usos Ambiente aquático Transporte para o oceano	1-10 anos	Regional
Açudes, barragens	Rios ++ Lagos + Aquíferos ++	A maioria dos usos Ambiente aquático	1-10 anos	Regional

Fonte: WHO/UNEP (1991).

+ Problema sério a nível global, ++ Problema muito sério a nível global.

A contaminação orgânica provém globalmente de descargas de águas residuais domésticas, urbanas e agro-industriais (VHO/UNEP, 1991). Este tipo de efluentes contém também matéria fecal, por vezes com agentes patogénicos, o que conduz a taxas elevadas de morbilidade e mortalidade. A contaminação orgânica está também relacionada com altos teores de nutrientes, particularmente fósforo e azoto, responsáveis por processos de eutrofização, promovendo o crescimento anormal de microalgas e plantas, com efeitos no teor de oxigénio dissolvido e no pH. O uso de fertilizantes na agricultura conduz também ao aumento da contaminação das águas por azoto e fósforo.

A contaminação com metais em determinadas regiões é alarmante, com concentrações que chegam a atingir 5-10 vezes os teores naturais (Meybeck, 1998).

A concentração de micropoluentes orgânicos (pesticidas, COVs, PAHs, PCBs e outros) tem vindo a aumentar nas últimas décadas. Entre as principais fontes de emissão de micropoluentes destacam-se os processos metalúrgicos e siderúrgicos.

A acidificação das águas foi sobretudo grave no século XX, particularmente na Escandinávia, Europa Central e América do Norte. Os principais responsáveis pela acidificação da água da chuva são os óxidos de azoto e de enxofre, bem como o dióxido de carbono. O dióxido de carbono é lançado para a atmosfera, principalmente pelas chaminés das fábricas, e durante o processo de queima de combustíveis fósseis nas centrais termoeléctricas, os restantes óxidos são fundamentalmente emitidos pelos escapes dos veículos motorizados. A água da chuva reage com estes gases, formando ácidos (sulfúrico e nítrico), que baixam muito o pH normal da chuva. Quando as chuvas ácidas atingem a superfície terrestre há uma modificação nas propriedades químicas dos solos e das águas.

O aumento da salinização tem sido considerado um problema de poluição associado à baixa capacidade de drenagem dos solos e às velocidades elevadas de evaporação. Estima-se que 30% das áreas irrigadas sofram problemas de salinidade de difícil remediação (Foster *et al*., 2000).

Em muito rios, a carga elevada de sedimentos em suspensão ou depositados, contendo metais e outros materiais tóxicos, é um factor de risco para a qualidade da água. A quantidade de sedimentos depende do regime de escoamento do rio, podendo provocar assoreamento, aumentar o risco de inundações e prejudicar a actividade piscícola e a vida aquática, em geral.

Estima-se que, a nível mundial, a quantidade de sedimentos em suspensão transportados para o oceano seja de 51,1 biliões de toneladas/ano (Walling e Webb, 1996).

No início do século XXI têm surgido vários programas a nível mundial visando o estudo de bacias hidrográficas nas mais variadíssimas vertentes. No relatório da WMO/UNESCO (2006) estão descritos alguns dos principais problemas associados ao impacte de áreas urbanas no ciclo hidrológico, como a redução da infiltração e da capacidade de carga dos aquíferos, com o consequente aumento do escoamento superficial, o aumento da descarga de poluentes nas águas superficiais, a existência de sistemas de esgotos com deficiências e manutenção inadequada, a contaminação de águas e solos por efluentes industriais, o aumento das zonas artificializadas e a redução dos habitats e da diversidade de espécies.

A Europa, com uma área de 10,46 milhões km^2, é o continente mais densamente povoado e com regiões muito desenvolvidas. Apesar de possuir bacias hidrográficas de áreas significativas (Volga, Danúbio e Reno) a maioria são pequenas e pouco estudadas. O valor médio anual de escoamento foi estimado em 2 900 km^3 (UNEP, 2007). Muitos rios estão extremamente poluídos por descargas de esgotos não tratados, de efluentes industriais e agrícolas.

3.2 Avaliação da Qualidade da Água

Os contaminantes existentes na água podem ser abordados de acordo com as suas características físicas, químicas e biológicas. Estas características podem ser traduzidas na forma de parâmetros de qualidade da água.

3.2.1 Parâmetros físicos

As características organolépticas são fundamentais para a avaliação do estado de qualidade das águas sujeitas a fortes impactos de actividade humana. A **cor** resulta de substâncias dissolvidas e pode ser de origem natural (decomposição da matéria orgânica com formação de ácidos húmicos e fúlvicos ou pela presença de Fe ou Mn) ou de origem antropogénica (resíduos industriais contendo, por exemplo, corantes ou esgotos domésticos). O **sabor** e **odor** da água são alterados pela presença dos sólidos em suspensão e sólidos ou gases dissolvidos de origem natural ou antropogénica.

A **turvação** representa o grau de interferência com a passagem da luz através da água. É originada pela presença de substâncias coloidais ou em suspensão. A turvação de origem natural não representa riscos, porém é esteticamente desagradável e pode servir de abrigo a microrganismos patogénicos. A de origem antropogénica pode estar associada a compostos tóxicos e microrganismos patogénicos. No sistema aquático, reduz a penetração da luz, prejudicando a fotossíntese.

A **temperatura** é originada de forma natural pela transferência de calor a partir do solo e do ar ou pela radiação solar directamente. Alterações anormais de temperatura poderão estar associadas a descargas de efluentes industriais. A temperatura, apesar de não ser um parâmetro muitas vezes indicativo de poluição, afecta a velocidade das reacções químicas e biológicas assim como a solubilidade dos gases na água.

A **condutividade** é uma medida da concentração de espécies iónicas dissolvidas na água. Valores elevados deste parâmetro estão muitas vezes associados a descargas de efluentes industriais.

3.2.2 Parâmetros químicos

3.2.2.1 Matéria orgânica

A introdução da matéria orgânica nas linhas de água provoca a degradação de resíduos animais e vegetais em compostos mais simples por acção de bactérias, habitualmente em regime aeróbio, com consequente consumo de oxigénio. Os organismos envolvidos nas reacções de degradação consomem a matéria orgânica e também o oxigénio, originando dióxido de carbono, água e outros compostos oxidados. Na Figura 3.2 está esquematicamente representado o ciclo de digestão aeróbia.

No ambiente aquático o decréscimo de matéria orgânica está directamente relacionado com a comunidade biológica presente, nomeadamente bactérias. Por sua vez a quantidade de bactérias depende das condições do meio, como a presença de alimentos, temperatura e pH.

Para além de outros inconvenientes, a decomposição da matéria orgânica provoca alterações nas propriedades organolépticas da água, colocando-a em risco para captações superficiais ou recreio, por exemplo.

O decréscimo de oxigénio dissolvido (OD) depende, principalmente, da quantidade de resíduos descarregada, do caudal, velocidade e turbulência do sistema onde foi efectuada a descarga, dos níveis de oxigénio dissolvido no efluente e no sistema aquático e da temperatura da água. Um sistema de elevada turbulência promove o rearejamento da água e consegue, por isso, assimilar maior quantidade de efluente orgânico descarregado. A quantidade de oxigénio na água é maior a temperaturas mais baixas, por exemplo, a água pura a 10 ºC tem 10,92 mg O_2 L^{-1}, quando totalmente saturada, enquanto que a água a 30 ºC tem apenas 7,5 mg O_2 L^{-1}.

A quantidade de matéria orgânica na água pode ser avaliada através da determinação da Carência Bioquímica de Oxigénio (CBO_5), Carência Química de Oxigénio (CQO), Sólidos Voláteis (SV), Oxidabilidade ao $KMnO_4$ e Carbono Orgânico Total (COT).

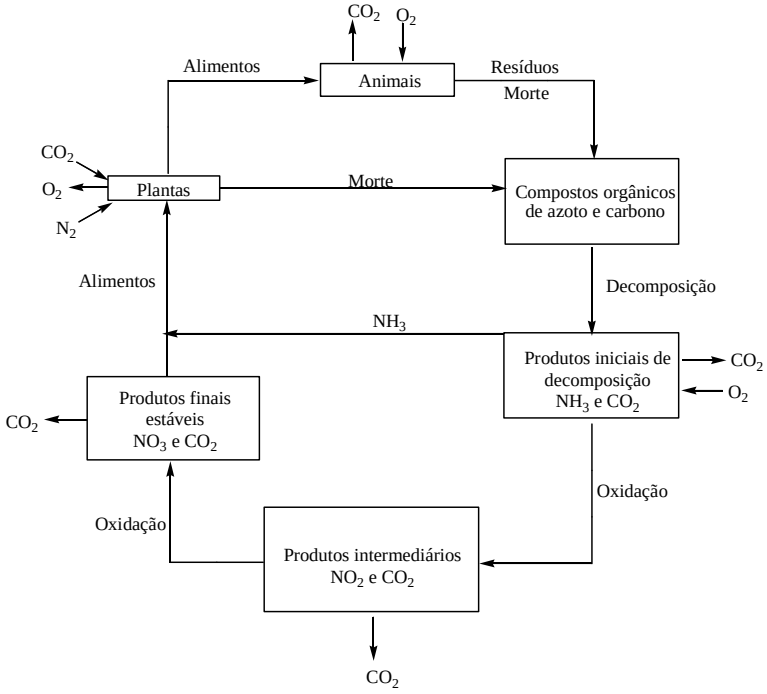


Figura 3.2 Ciclo aeróbio do crescimento e decomposição de animais e plantas relativo a compostos de carbono e azoto, reproduzida de AWMFH (1998)

3.2.2.2 Nutrientes

Os nutrientes com maior relevância em ambientes aquáticos são o azoto e fósforo. A química do azoto é complexa devido aos vários estados de oxidação em que se apresenta (-3 a +5).

O azoto total de Kjeldahl (NTK) refere-se ao azoto amoniacal e azoto presente em compostos orgânicos, como aminoácidos, aminas, amidas, iminas, derivados nitro e muitos outros compostos. Os compostos orgânicos de azoto são degradados por acção bacteriana em condições anaeróbias e aeróbias, podendo o período de conversão na água ir de 60 dias a 4-5 meses (AWMFH, 1998), sendo o processo acelerado a temperaturas mais elevadas.

O azoto amoniacal é utilizado no sentido genérico para referir o ião amónio (NH_4^+) e a forma não ionizada, amoníaco (NH_3). Estas duas formas químicas existem em equilíbrio e a sua concentração depende do pH e da temperatura (Tabela 3.3). A toxicidade do azoto amoniacal para a fauna aquática depende do teor da espécie NH_3, que é função do pH: a toxicidade aumenta com a elevação do pH.

Tabela 3.3 Percentagem de NH_3 em função do pH e temperatura, em soluções aquosas de NH_3.

T (ºC)	**pH**								
	6,0	***6,5***	***7,0***	***7,5***	***8,0***	***8,5***	***9,0***	***9,5***	***10,0***
5	0,013	0,040	0,12	0,39	1,2	3,8	11	28	56
10	0,019	0,059	0,19	0,59	1,8	5,6	16	37	65
15	0,027	0,087	0,27	0,86	2,7	8,0	21	46	73
20	0,040	0,13	0,40	1,2	3,8	11	28	56	80
25	0,057	0,18	0,57	1,8	5,4	15	36	64	85
30	0,080	0,25	0,80	2,5	7,5	20	45	72	89

A concentração de nitritos em águas superficiais e subterrâneas é normalmente inferior a 0,1 mg L^{-1}, sendo uma forma intermediária nos processos de nitrificação e desnitrificação. Os nitritos estimulam o crescimento planctónico e dosagens elevadas (superiores a 50 mg L^{-1}) são tóxicas para algumas espécies piscícolas.

Os nitratos são o produto final do processo de nitrificação. A contaminação das águas superficiais por nitratos é essencialmente proveniente da agricultura e resulta da lixiviação de solos, terrenos cultiváveis e pastos. Os nitratos são tóxicos para os peixes apenas para

concentrações que excedam os 1 000 mgN L^{-1} mas, apesar disso, favorecem o crescimento das plantas e de outra vegetação aquática, com consequências nefastas para a qualidade da água.

Em condições anaeróbias pode ocorrer o processo de desnitrificação, em que os nitratos são convertidos em nitritos, e estes em azoto amoniacal e azoto gasoso. Este processo conduz à perda do poder fertilizante dos solos. Na Figura 3.3 apresenta-se esquematicamente o ciclo do azoto.

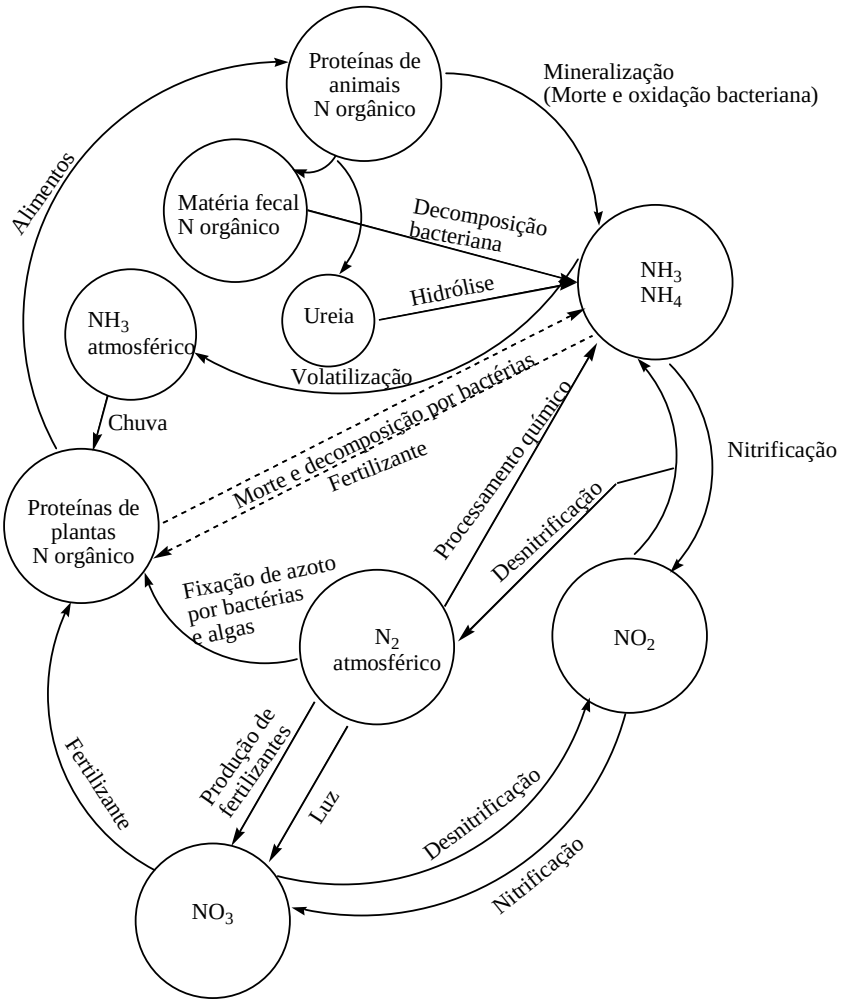


Figura 3.3 Ciclo do azoto, reproduzida de AWMFH (1998)

O azoto é um indicador da qualidade sanitária das águas. Águas com concentrações elevadas de azoto orgânico e amoniacal (azoto total Kjeldahl) são consideradas recentemente poluídas, e constituem um problema de saúde pública, águas contendo azoto na forma de nitratos consideram-se poluídas há algum tempo e o risco para a saúde não é tão elevado e, por fim,

águas com quantidades apreciáveis de nitritos são consideradas de carácter duvidoso (Sawyer *et al.*, 1994).

A concentração de nutrientes nas águas de rios (compostos de azoto e fósforo) com a consequente eutrofização do sistema, têm-se revelado como uma problemática ambiental em toda a Europa, incluindo Portugal. A eutrofização reflecte-se frequentemente no crescimento de algas, turvação das águas e diminuição do oxigénio disponível (na ausência de radiação solar).

O fósforo é, geralmente, o nutriente limitante no crescimento das plantas aquáticas. A poluição associada ao fósforo é proveniente de fontes pontuais e difusas. A agricultura é particularmente importante neste tipo de contaminação devido ao uso de fertilizantes fosfatados. O controlo das fontes difusas, comparativamente ao das fontes pontuais, é muito difícil, pois envolve fenómenos complexos de transporte e transformação através do ar, solos e águas. Geralmente a pesquisa do fósforo em águas é efectuada pela determinação do fósforo total, que inclui as formas, orgânicas, inorgânicas, solúveis e não solúveis. O fósforo orgânico faz parte dos organismos vivos, incluindo microrganismos e plantas, e é a forma de fósforo maioritariamente presente em efluentes domésticos e de explorações de animais. O fósforo solúvel disponível é o utilizado pelas plantas, e está sujeito a lixiviação. Nos solos esta fracção representa cerca de 15% do fósforo total. O fósforo solúvel ligado a ferro, cálcio e alumínio pode ser facilmente convertido em fósforo disponível para as plantas ou adsorvido em partículas sólidas. Apesar do fósforo não ser tóxico para a vida aquática, indirectamente afecta o sistema através do processo de eutrofização já mencionado, e algumas espécies de algas libertam toxinas, que impedem a utilização da água para consumo humano.

3.2.2.3 Metais

A poluição do sistema aquático por metais tóxicos é uma realidade preocupante, já que coloca em risco a vida aquática, devido à sua biodisponibilidade e bioacumulação nos organismos. A extracção e processamento de minérios têm provocado o aumento de detritos industriais, altamente contaminados, que são lançados, muitas vezes sem qualquer tratamento, no ambiente terrestre afectando as águas superficiais (Vilar, 2006).

O **cobre** aparece naturalmente nas águas superficiais em quantidades vestigiais. Valores acima de 0,05 mg L^{-1} são geralmente resultado de descargas poluentes. O cobre metálico é usado na indústria de componentes e aparelhos eléctricos, no fabrico de ligas, de

catalisadores, etc.. Os sais de cobre são usados na indústria têxtil, em fotografia, cerâmica, no fabrico de insecticidas, etc.. São também incorporados frequentemente em tintas e conservantes para inibir o crescimento de algas e invertebrados. O sulfato de cobre é utilizado na agricultura como pesticida, fungicida, em suplementos nutricionais para a alimentação de animais e em fertilizantes (VHO, 1998). A toxicidade do cobre para a vida aquática depende da alcalinidade da água, dado que o ião cobre pode ser complexado pelos aniões presentes. O cobre é, geralmente, mais tóxico para a vida aquática em águas com baixa alcalinidade. Outros factores que afectam a toxicidade incluem o pH e a presença de compostos orgânicos. Os peixes adultos podem tolerar concentrações relativamente elevadas de cobre durante curtos períodos de tempo, sendo maior a toxicidade para as formas juvenis dos peixes (USEPA, 1976). Este elemento tem uma função vital na síntese da clorofila. Quando presente em quantidades elevadas, ocasiona um desenvolvimento anormal das raízes e pode levar à clorose das plantas (Campos, 1998). O solo tem um efeito de retenção do cobre pela presença de carbonatos e de matéria orgânica, reduzindo consideravelmente a concentração que chega efectivamente às raízes (Bremond e Vuichard, 1973).

O **crómio** raramente se encontra nas águas doces, aparecendo geralmente em concentrações inferiores a 1 $\mu g\ L^{-1}$, e embora se apresente em vários estados de oxidação, de Cr^{3+} a Cr^{6+}, a forma mais comum é a trivalente. A elevada descarga de crómio oriunda das habitações é difícil de explicar tendo sido sugerido que possa advir, em parte, da corrosão do aço inoxidável. A contribuição das excreções humanas, estimada em 100 μg de crómio por pessoa d^{-1}, não justifica as concentrações encontradas à entrada de ETARs de grandes dimensões (WHO, 1988). Os efeitos da presença de crómio na água variam com as espécies, a temperatura, a valência do ião, a presença ou ausência de outros elementos e o pH (baixando este, aumenta a toxicidade, o que, muito provavelmente, está relacionado com o aumento de solubilidade dos metais à medida que o pH desce para valores inferiores a 7). Geralmente, os peixes, suportam bem os sais de crómio, enquanto que as formas inferiores de vida aquática são extremamente sensíveis a este elemento (Bremond e Vuichard, 1973). O crómio hexavalente é muito mais perigoso para as plantas do que o crómio trivalente. Bremond e Vuichard (1973) sugerem que o principal malefício causado pelo crómio é a inibição da nitrificação se exceder 1 mg kg^{-1} de solo.

As águas naturais podem conter **chumbo** em concentrações da ordem de 0,2 a 0,6 mg L^{-1}, como resultado de lixiviação de constituintes do solo. Pode haver um aumento da

concentração por contaminação com águas residuais ou por dissolução do chumbo das canalizações dos antigos sistemas de distribuição de água. A contaminação pode ainda ser devida à exposição a tintas interiores à base de chumbo, em habitações antigas, à inalação de partículas da atmosfera contendo chumbo, ao uso de louça vidrada com chumbo, etc.. O chumbo bioacumula-se ao longo da cadeia alimentar. As fábricas de pólvora e de corantes, as explorações de minérios de chumbo, a queima de combustíveis fósseis e o uso do chumbo como aditivo na gasolina (em países onde é ainda utilizada gasolina com chumbo) são as principais fontes de poluição por este metal. Desde a introdução da gasolina sem chumbo, tem diminuído o teor deste metal na atmosfera. O chumbo e seus compostos também são utilizados em processos de eletrodeposição, em metalurgia, em materiais de construção, plásticos, tintas, etc. (WHO, 1995). A toxicidade do chumbo na água é afectada pelo pH, dureza, teor de matéria orgânica e presença de outros metais. A acção tóxica do chumbo sobre os peixes origina, numa primeira fase, a formação de mucosidades sobre as brânquias e, depois, sobre todo o corpo, ocasionando a morte por asfixia (Bremond e Vuichard, 1973). A adição de quantidades reduzidas de sais de chumbo ao solo favorece o processo de nitrificação e inibe o processo de conversão de azoto orgânico a azoto amoniacal.

O **zinco** faz parte da composição de rochas e minérios (nomeadamente sulfureto de zinco associado a outros metais, como chumbo, cobre, cádmio e ferro), na água do mar, nas águas subterrâneas, nas plantas e animais. Em águas superficiais, as concentrações estão normalmente na gama de 0,001-0,10 mg L^{-1}. É largamente utilizado na indústria e pode entrar no meio ambiente através de processos naturais e antropogénicos, entre os quais se destacam a produção de primário de zinco, combustão de madeira, incineração de resíduos, produção de ferro e aço, efluentes domésticos (WHO, 2001). A toxicidade dos compostos de zinco para os animais aquáticos é afectada por vários factores ambientais, particularmente a dureza da água, o oxigénio dissolvido e a temperatura (aumenta com esta e diminui com a redução do oxigénio). Concentrações tóxicas de compostos de zinco causam alterações adversas na morfologia e fisiologia dos peixes, atrasando o crescimento e maturação (Campos, 1998).

O **cádmio** é um elemento não essencial à vida; pelo contrário, é tóxico, mesmo em concentrações muito baixas, e bioacumulável (ciclo biológico: 10 a 30 anos). Está na origem de tumores testiculares, mau funcionamento dos rins, hipertensão, arteriosclorose, inibição do crescimento, cancro, etc.. É usado em metalurgia, fabrico de ligas metálicas, galvanoplastia, corantes e pigmentos, fotografia, catalisadores, baterias, etc. (WHO, 1992). A maioria das

águas doces contém menos de 1 µg L^{-1} de cádmio. Os alimentos cultivados em solos poluídos com cádmio ou regados com águas com elevado teor deste elemento podem acumular o metal em nível suficiente para os tornar nocivos para o homem quando os consome. Têm-se observado efeitos tóxicos sobre peixes para concentrações de Cd entre 0,01 e 1 mg L^{-1}.

3.2.3 Parâmetros microbiológicos

A avaliação da qualidade microbiológica da água é efectuada pela pesquisa de microrganismos, incluindo bactérias, vírus, parasitas e fungos, associados à eliminação de excrementos de animais, incluindo o homem. Muitos destes organismos são patogénicos e provocam doenças transmissíveis animal-homem e vice-versa.

Muitos países utilizam as bactérias coliformes fecais como um indicador da exposição à poluição com origem em animais superiores, incluindo o homem. Os coliformes totais são utilizados como indicador de patogénicos, associados quer a contaminação fecal quer a contaminação proveniente dos solos. No entanto o grupo dos coliformes fecais incluídos no grupo dos coliformes totais representa a poluição fecal. Uma elevada contagem de coliformes indica que a probabilidade de encontrar organismos patogénicos é elevada. A presença de coliformes fecais nas águas naturais não sujeita a actividades humanas resulta da existência de vida selvagem. A legislação estabelece limites para os valores de coliformes fecais de acordo com os usos da água (Decreto-Lei 236/98). O rácio coliformes fecais/estreptococos fecais (CF/EF) é utilizado em estudos de qualidade de águas, como ferramenta na identificação da fonte suspeita de poluição, de origem humana ou animal (Coyne e Howell, 1994). A Tabela 3.4 apresenta os rácios típicos CF/EF encontrados em excrementos para diferentes espécies de animais.

Tabela 3.4 Rácios típicos de CF/EF encontrados em excrementos para diferentes espécies de animais

Animal	Rácio CF/EF
Homem	4,4
Pato	0,6
Ovelha	0,4
Porco	0,4
Galinha	0,2
Peru	0,1

Fonte: AWMFH (1998).

3.2.4 Parâmetros biológicos

A clorofila é um dos pigmentos, além dos carotenóides e ficobilinas, responsáveis pelo processo fotossintético. A clorofila *a* é a mais comum das clorofilas (*a*, *b*, *c*, e *d*) e representa, aproximadamente, de 1 a 2% do peso seco do material orgânico em todas as algas planctónicas e é, por isso, um indicador da biomassa algal. Assim a **clorofila *a*** é considerada a principal variável indicadora de estado trófico dos ambientes aquáticos.

O emprego de comunidades biológicas confere carácter ecológico à rede de monitorização, subsidiando decisões relacionadas com a preservação da vida aquática e do ecossistema como um todo.

A comunidade fitoplanctónica pode ser utilizada como indicadora da qualidade da água, principalmente em reservatórios e a análise da sua estrutura permite avaliar alguns efeitos decorrentes de alterações ambientais. Esta comunidade é a base da cadeia alimentar e, portanto, a produtividade dos elos seguintes depende da sua biomassa. Os organismos fitoplanctónicos respondem rapidamente (em dias) às alterações ambientais decorrentes da interferência antrópica ou natural. É uma comunidade indicadora do estado trófico, podendo ainda ser utilizada como indicador de poluição por pesticidas ou metais pesados (presença de espécies resistentes ao cobre) em reservatórios utilizados para abastecimento. A presença de algumas espécies em altas densidades pode comprometer a qualidade das águas, causando restrições ao seu tratamento e distribuição. É dada atenção especial ao grupo das *Cianofíceas*, também denominadas *Cianobactérias*, que possui espécies potencialmente tóxicas. A ocorrência destas algas tem sido relacionada com eventos de mortandade de animais e com danos na saúde humana (Chrous, 2001).

A comunidade zooplanctónica é formada por animais microscópicos que vivem em suspensão, sendo os protozoários, rotíferos, cladóceros e copépodes os grupos dominantes em águas doces. São importantes na manutenção do equilíbrio do ambiente aquático, podendo actuar como reguladores da comunidade fitoplanctónica (utilizando-a como alimento) e na reciclagem de nutrientes, além de servirem de alimento para diversas espécies de peixes.

A comunidade bentónica corresponde ao conjunto de organismos que vive todo, ou parte, do seu ciclo de vida no substrato de fundo de ambientes aquáticos. Os macroinvertebrados (invertebrados seleccionados em rede de 0,5 mm) que compõe essa comunidade têm sido

sistematicamente utilizados em redes de biomonitorização em vários países, porque ocorrem em todo tipo de ecossistema aquático, exibem tolerância a vários graus e tipos de poluição, têm baixa mobilidade e estão continuamente sujeitos às alterações da qualidade do ambiente aquático, inserindo a componente temporal no diagnóstico e, como monitores contínuos, possibilitam a avaliação a longo prazo dos efeitos de descargas regulares, intermitentes e difusas, de concentrações variáveis de poluentes, de poluição simples ou múltipla e de efeitos sinérgicos e antagónicos de contaminantes (Graça *et al.*, 2002).

3.3 Qualidade da Água

O conceito de água pura é relativo, pois depende do uso a que se destina, o que torna indissociável o estudo dos parâmetros e substâncias que se podem encontrar na água para consumo humano, por exemplo, e o estudo dos parâmetros que avaliam o grau de poluição ou contaminação, nomeadamente aqueles que provocam desequilíbrios nos ciclos biogeoquímicos.

A Directiva 2000/60/CE, designada por Directiva-Quadro da Água (DQA), transposta para a legislação nacional pela Lei nº 58/2005, estabelece um quadro de acção comunitária, no domínio da política da água, através da coordenação, integração e adaptação de estruturas normativas e institucionais dos Estados membros, nomeadamente na definição de qualidade da água em função dos seus usos (consumo humano, vida aquícola, balnear e rega), com vista a criar um sistema uniforme que permita a adaptação de objectivos gerais de qualidade às condições ambientais específicas de cada região hidrográfica, estabelecendo o conceito de "estado ecológico". Esse sistema é baseado, no caso das águas de superfície, no "estado ecológico de referência", definido na DQA como o estado dos ecossistemas aquáticos na ausência de qualquer influência antropogénica significativa, estabelecendo um rácio de qualidade ecológica, independentemente dos usos actuais ou potenciais dessas águas.

A avaliação do estado ecológico exige a classificação das diferentes categorias de águas na bacia hidrográfica em ecótopos, que são áreas definidas por condições geográficas e hidrológicas relativamente homogéneas, consideradas relevantes para a determinação das condições ecológicas. De acordo com o Anexo V da DQA a qualidade da água é baseada em diversos parâmetros agregados: biológicos, hidromorfológicos e físico-químicos. Os elementos biológicos constituem a base de avaliação da qualidade da água, sendo usados

como indicadores da sua qualidade ecológica. A determinação dos elementos biológicos envolve a análise da composição, abundância e estrutura etária da ictiofauna. Os elementos hidromorfológicos e físico-químicos são os elementos de suporte dos elementos biológicos, já que englobam os factores abióticos que condicionam a comunidade biológica. Para além destes elementos é necessário analisar também a presença de poluentes prioritários (artigo 16º da DQA), ou de outras substâncias poluentes, descarregadas em quantidades significativas nos meios hídricos. Os elementos que condicionam as comunidades biológicas têm de ser relacionados com a análise da pressão da actividade humana na bacia hidrográfica sobre as águas.

Neste capítulo são apresentados os resultados da avaliação da qualidade da água na bacia hidrográfica do rio Lis e das fontes de contaminação que lhe estão subjacentes, no período de 2003 a 2006. Na primeira parte descreve-se a metodologia utilizada, apresentam-se os dados disponíveis e a rede de monitorização estabelecida. Numa segunda parte são analisados os dados de diversos parâmetros de qualidade da água e estimadas as principais cargas poluentes, nomeadamente as cargas pontuais do sector pecuário e, por último, são apresentados os resultados da modelação matemática da qualidade da água do rio Lis, utilizando a aplicação QUAL2Kw (USEPA).

As estações de monitorização seleccionadas são consideradas representativas de toda a Bacia. Os valores de concentração obtidos foram submetidos a uma análise estatística multivariada com o objectivo de caracterizar a sua variabilidade e identificar os principais problemas da bacia. Foi ainda possível identificar as sub-bacias que mais contribuem para a contaminação global e caracterizar essa contaminação.

A limitação mais grave em termos de análise é a existência de apenas 2 estações hidrométricas (Pontes Mestras e Arrabalde, esta inoperante durante o Verão devido à criação de um açude para desvio de água para rega). Assim, alguns valores de caudal tiveram de ser estimados.

A análise dos valores observados e estimados de cargas poluentes sugeriu algumas hipóteses que foram testadas através da análise mais aprofundada da informação disponível, recorrendo à modelação matemática da qualidade de água do rio Lis. O modelo QUAL2Kw é um modelo unidimensional, de regime permanente. Foi calibrado e validado para 2 situações particulares que cobrem a gama de situações que ocorrem na bacia, no que se refere à época do ano, caudal e qualidade da água.

3.4 Cargas Poluentes (Actividade Pecuária)

Com base nas características gerais da bacia hidrográfica do rio Lis descritas no Capítulo 2, as fontes pontuais foram classificadas em quatro grandes grupos:

– Fontes domésticas

– Fontes industriais

– Suiniculturas

– Bovinoculturas

Na impossibilidade de localizar espacialmente todas as fontes, o levantamento foi feito por concelho e foi atribuída uma carga poluente em termos de CBO_5, CQO, SST, azoto total e fósforo total (Tabela 3.5).

Tabela 3.5 Carga poluente per capita.

Parâmetros	Doméstica (g/hab.d)	Suiniculturas (g/animal.d)	Bovinoculturas (g/animal.d)
CBO	60	180	405
CQO	135	450	458
SST	90	270	500
Azoto	8	27	165
Fósforo	1,5	9	55

Fonte: Anexo 6 do PBH do rio Lis (2001).

A determinação dos valores estimados para as cargas poluentes pretende realçar apenas a importância das diferentes fontes pontuais de poluição existentes na bacia. Estes valores correspondem a estimativas da carga total gerada que pode eventualmente ser sujeita a tratamento em ETARs antes de ser lançada na rede hidrográfica.

A carga de origem doméstica e pecuária foi estimada a partir da população residente na bacia e do número total de animais, respectivamente, e de capitações específicas para CBO_5, CQO, SST, azoto e fósforo. Os valores correspondentes à carga de origem industrial foram transcritos do anexo 10 B do PBH do rio Lis (2001).

Como é de esperar, os concelhos que mais contribuem para a carga orgânica total gerada são os mais populosos, nomeadamente, Leiria, que contribui com 72% da carga total e, em menor grau, Batalha, Porto Mós e Marinha Grande. Estes 3 concelhos, no seu conjunto, contribuem com cerca de 25% da carga gerada na bacia. Os concelhos de Ourém e Pombal perfazem cerca de 3% da carga orgânica total.

Em termos industriais, com estas estimativas, os concelhos de Leiria e Marinha Grande são responsáveis por cerca de 95% da carga industrial afluente à bacia do Lis, restando 5% para os outros concelhos, dos quais o concelho da Batalha se destaca com maior contribuição.

A poluição suínicola e bovinícola da bacia do Lis provém exclusivamente do concelho de Leiria, que contribui com cerca de 78% e 48%, respectivamente, da carga orgânica proveniente do sector pecuário. Como se pode verificar pelo somatório das cargas geradas, o sector da suinicultura é o que apresenta maior carga orgânica, cerca de 69% do total gerado na bacia (Tabela 3.6).

Tabela 3.6 Carga poluente total gerada com origem em fontes pontuais, por concelho, quantificada em termos de CQO (t/ano)

Concelhos	**Origem de Poluição**				
	Doméstica	**Suinicultura**	**Bovinocultura**	**Industrial**	**Total Concelho**
Batalha	739	2 809	226	113	3 887
Leiria	5 905	26 515	1 128	1 993	35 541
Marinha Grande	1 683	428	41	1 191	3 343
Ourém	107	86	32	0,9	225,9
Pombal	325	789	95	–	1 209
Porto Mós	845	3 259	842	39	4 985
Total	9 604	33 886	2 364	3 336,9	

Na Tabela 3.7 são apresentadas as cargas geradas em termos de sólidos suspensos (SST), azoto total e fósforo total, verificando-se que é o sector suinícola que mais contribui para a contaminação de SST, responsável por aproximadamente 66% da contaminação total. Os efluentes domésticos contribuem com cerca de 21%, a bovinocultura contribui com 8% e os restantes 5% correspondem à indústria. Em relação ao azoto, a fonte que mais contribui é também a suinicultura, com aproximadamente 59% da carga total azotada, 25% tem origem nas bovinoculturas e 16% resulta da contaminação doméstica. Neste estudo, considerou-se desprezável o azoto de origem difusa e industrial, face à contribuição proveniente dos sectores mencionados. A suinicultura assume um papel ainda mais significativo no que se refere à

contaminação de fósforo, em que 63% da carga total é produzida por esta actividade, 27% provém das bovinoculturas e apenas 10% está associada a efluentes domésticos.

Tabela 3.7 Cargas geradas de SST, azoto total e fósforo total na bacia do Lis com origem em fontes pontuais (t/ano)

	Origem da poluição			
	Doméstica	**Suinicultura**	**Bovinocultura**	**Indústria**
SST	6 403	20 332	2 508	1 526
N-total	569	2 033	851	–
P-total	107	678	284	–

Relativamente à poluição de origem difusa, cuja identificação e quantificação é mais difícil de efectuar, refira-se o risco significativo de contaminação de azoto e fósforo no troço do rio Lis que começa a montante da estação de Amor e que continua até à foz do rio. Os factores que potenciam este risco são a actividade agrícola e o tipo de solo.

A intensificação da criação de animais provoca inevitavelmente o aumento da carga poluente associada aos efluentes produzidos. Os principais constituintes dos efluentes animais (fezes e urina), descarregados directamente nas águas superficiais, são a matéria orgânica, nutrientes (azoto e fósforo) e bactérias fecais. Os resíduos provenientes da alimentação dos animais, animais mortos e resíduos resultantes da limpeza das instalações, associados aos efluentes, contribuem também para a contaminação da água. O impacto deste tipo de contaminantes no meio hídrico depende da quantidade, do tipo de cada um dos poluentes e das características do meio hídrico receptor (Imbeah, 1998; Palhares e Calijuri, 2007).

A intensificação da actividade suinícola no Mundo, à qual Portugal não é excepção, resultou na substituição da aplicação dos efluentes pecuários nos solos pela sua descarga directa em cursos de água, na maioria dos casos sem qualquer tipo de tratamento. Existem cerca de 2 338 000 suínos em Portugal, dos quais 567 000 na região Centro e 495 000 na região da Beira Litoral (dados INE, recenseamento geral da agricultura, 1999), região onde se situa a bacia hidrográfica do rio Lis, com 206 312 animais declarados, prevendo-se impactes ambientais associados à actividade suinícola.

Apesar da pressão legal, a partir da exigência dos licenciamentos, da crescente consciencialização de produtores e agro-industriais, o impacto desta actividade no meio hídrico ainda se faz sentir fortemente na bacia do Lis. Deve ser, no entanto, superado ou

minimizado para que a suinicultura continue a contribuir para o desenvolvimento económico da região.

A proibição de fazer despejos de grandes dimensões em cursos de água conduz à acumulação dos efluentes nas explorações, sendo um motivo de preocupação para os empresários que têm alegado falta de terrenos agrícolas para os espalhar, como está previsto na lei (Decreto-Lei nº 446/91 de 22 de Novembro). Este Decreto-Lei regula a utilização na agricultura das lamas de depuração, de forma a evitar a ocorrência de episódios nocivos sobre os solos, vegetação, os animais e o homem, incentivando ao mesmo tempo a sua correcta utilização.

O sistema de saneamento dessas unidades empresariais deverá estar concluído dentro de dois anos pelo que, até lá, a Associação do sector está a tentar minimizar os efeitos, reforçando a limpeza de fossas e alargando o número de terrenos utilizados para espalhamento dos dejectos como adubo agrícola.

As suiniculturas, quer pelo elevado número de unidades, quer pela dimensão de algumas delas e localização concentrada em determinadas áreas da bacia hidrográfica, possuem uma importância determinante no processo de poluição de toda a Bacia, colocando em risco a preservação e desenvolvimento da vida aquática e alguns usos da água importantes na região, designadamente a rega e as actividades de recreio e balneares. A ribeira dos Milagres tem sido palco, ao longo dos anos, de grandes descargas de efluentes suinícolas, situação que se espera fique resolvida no âmbito do projecto de despoluição da bacia hidrográfica do rio Lis. Estima-se que do total de 206 312 animais presentes em toda a bacia, 91 590 se localizem na sub-bacia da ribeira dos Milagres. Neste estudo procedeu-se à caracterização de um efluente suinícola de uma exploração pecuária típica, na tentativa de avaliar o impacte ambiental que este sistema de produção poderá provocar nos recursos hídricos e validar os valores das cargas totais estimadas com base nas capitações específicas para o sector.

3.4.1 Análise de um efluente suinícola

3.4.1.1 Metodologia

A caracterização foi efectuada numa exploração suinícola de ciclo fechado considerada representativa do sector na bacia, de acordo com os dados fornecidos pela Associação de Suinicultores do Lis, localizada na freguesia de Ponte das Necessidades, próxima da estação de Milagres, onde foi monitorizada a qualidade da água da ribeira dos Milagres, a montante

da sua confluência com o Lis, na Ponte da EN 109. O efluente (ES) foi monitorizado mensalmente no período de Janeiro de 2005 a Junho de 2005.

A suinicultura, durante o período de monitorização, possuía um efectivo animal de 250 porcas reprodutoras e 1 750 porcos (crescimento), a que corresponde um total de 3 625 animais equivalentes. O caudal médio descarregado a partir do reservatório de efluente tratado é de 0,3 L s^{-1}.

A propriedade dispunha de uma sistema de tratamento com três lagoas em série. A amostra de efluente (3 L) foi recolhida num reservatório, a seguir à descarga da terceira lagoa e antes de ser descarregado na ribeira dos Milagres. As descargas na ribeira são efectuadas semanalmente, durante um período de tempo que depende do volume de efluente tratado que chega ao reservatório. De acordo com o relato dos funcionários e confirmação visual, a manutenção do sistema de tratamento estava a funcionar, apesar de, durante o período de monitorização, a segunda lagoa apresentar problemas de assoreamento por dejectos.

Foram determinados os seguintes parâmetros para a caracterização do efluente: no local, pH, condutividade (C), potencial de oxidação-redução (ORP), temperatura (T) e oxigénio dissolvido (OD) e, no laboratório, azoto total (N-total), azoto amoniacal ($N\text{-}NH_3$), carência química de oxigénio (CQO), carência bioquímica de oxigénio (CBO_5), carbono orgânico total (COT), fósforo total (P-total), ortofosfatos ($P\text{-}PO_4$), sólidos suspensos totais (SST) e metais (Cu, Zn, Mn e Fe).

Os métodos de análise e respectivos equipamentos estão descritos no sub-capítulo 3.5.4 (Monitorização da qualidade da água no rio Lis). De referir apenas que a determinação dos metais foi efectuada por espectrometria de absorção atómica (EAA) com chama (Espectrofotómetro de absorção atómica GBC 932 Plus).

3.4.1.2 Resultados e discussão

Os resultados da caracterização do efluente suinícola estão apresentados na Tabela 3.8. As concentrações de CQO do efluente demonstram o seu elevado impacto no meio hídrico, mesmo depois de passar pelo sistema de tratamento (valor médio e respectivo desvio padrão, 4 609 ± 1 179 mg O_2 L^{-1}), o que coloca sérios riscos ao meio aquático onde o efluente é descarregado. Apesar deste parâmetro não ser de cumprimento obrigatório pela portaria que controla a descarga de efluentes de suiniculturas (Portaria nº. 810/90 de 10 de Setembro), os

valores encontrados são cerca de 30 vezes superiores ao VLE de 150 mg O_2 L^{-1} (Decreto-Lei nº 236/98, Tabela 3.9). A introdução de matéria orgânica na água, com origem na suinicultura, faz aumentar também a CBO_5 (valor médio e respectivo desvio padrão, 2 001 ± 769 mg O_2 L^{-1}), reduzindo-se a concentração de oxigénio necessária para a manutenção da vida aquática. No que respeita aos valores de N-total (1 873 ± 278 mg N L^{-1}) e N-Amoniacal (1 783 ± 287 mg N L^{-1}), verifica-se que estes se apresentam muito acima dos VLE estabelecidos pelo Decreto-Lei nº 236/98. Relativamente ao P-total, os valores observados foram de 62,2 ± 9,3 mg P L^{-1}, o que determina o elevado potencial eutrofizante deste tipo de efluentes. O Decreto-Lei nº 236/98 estabelece uma concentração máxima de 10 mg P L^{-1} para descargas de águas residuais em rios. Relativamente aos metais analisados, a sua presença no efluente resulta essencialmente da introdução em rações, medicação, desinfecção de instalações e equipamentos.

Tabela 3.8 Valores dos parâmetros quantificados do efluente suinícola (valor médio ± intervalo com 95% de confiança)

	Jan	**Fev**	**Mar**	**Abr**	**Mai**	**Jun**
pH	8,1±0,1	8,0±0,1	8,0±0,1	8,0±0,1	8,2±0,1	7,9±0,1
Temperatura (ºC)	9,2±0,1	7,4±0,1	18,2±0,1	19,8±0,1	19,8±0,1	22,0±0,1
C (mS cm^{-1})	8,6±0,2	10,6±0,2	12,9±0,2	11,6±0,2	10,9±0,2	10,7±0,2
ORP (mV)	-308±3	-318±3	-320±3	-142±2	-112±2	-229±3
OD (mg O_2 L^{-1})	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
SST (mg L^{-1})	954±10	1 164±10	1 020±10	1 385±10	1 950±10	1 440±10
CQO (mg O_2 L^{-1})	4 175±30	6 228±30	5 926±30	4 218±30	3 673±30	3 435±30
CBO_5 (mg O_2 L^{-1})	1 575±20	2 704±20	3 128±20	1 950±20	1 114±20	1 533±20
COT (mg C L^{-1})	1 242±30	2 196±30	2 020±30	1 142±30	717±20	815±20
N-Total (mg N L^{-1})	2 012±40	2 061±40	2 037±40	2 092±40	1 570±40	1 468±40
N-NH_3 (mg N L^{-1})	1 922±20	1 984±20	1 581±20	1 834±20	1 483±20	1 299±20
P-Total (mg P L^{-1})	56,8±0,9	78,1±0,9	67,8±0,9	52,4±0,9	60,1±0,9	57,7±0,9
P-PO_4 (mg P L^{-1})	48,5±0,9	62,1±0,9	52,4±0,9	32,4±0,9	34,9±0,9	40,1±0,9
Cu (mg L^{-1})	1,0±0,03	1,5±0,03	1,5±0,03	2,1±0,03	2,0±0,03	1,4±0,03
Zn (mg L^{-1})	1,8±0,04	2,1±0,04	2,2±0,04	3,6±0,04	3,5±0,04	2,8±0,04
Mn (mg L^{-1})	0,36±0,01	0,48±0,01	0,58±0,01	0,92±0,01	1,0±0,01	0,66±0,01
Fe (mg L^{-1})	2,0±0,04	2,1±0,04	2,2±0,04	3,9±0,04	4,0±0,04	2,8±0,04

De acordo com o Inventário Europeu de Emissões Poluentes para o sector suinícola (EPER 2004), as percentagens de remoção da matéria orgânica, azoto e fósforo e metais (Cu e Zn) são baixas, memo em situações de adequado funcionamento do sistema de lagunagem, cerca de 60% para o azoto total, 78% para o fósforo total, 84% para o carbono orgânico total e 46% para Cu e 58% para Zn. No entanto, de salientar que segundo o mesmo relatório as eficiências de remoção apresentadas são optimistas e não correspondem na maioria dos casos à realidade,

na prática os sistemas estão mal dimensionados e operam em condições longe das ideais. Pelo que o impacto deste tipo de efluentes nas águas superficiais na bacia do rio Lis com especial atenção na ribeira dos Milagres é elevado, devido ao teor de matéria orgânica, azoto e fósforo.

Após a caracterização do efluente da suinicultura conclui-se não haver conformidade com padrões estipulados pela legislação hídrica vigente. Assim, urge a implementação de acções para minimizar o impacte ambiental deste tipo de efluentes na bacia do rio Lis e aumentar a eficiência dos sistemas de tratamento.

Tabela 3.9 Valores de referência para a descarga de efluentes no meio hídrico

Parâmetro	Unidades	Efluente Urbano[(a)]	DL 236/98 (VLE)	Portaria n.º 810/90 [(b)]
CBO_5	mg O_2 L^{-1}	200-450	40	500
CQO	mg O_2 L^{-1}	400-1 000	150	–
SST	mg SST L^{-1}	200-500	60	500
$N\text{-}NH_3$	mg NH_4 L^{-1}	22,1-53,0	10	–
N-Total	mg N L^{-1}	30-70	15	–
P-Total	mg P L^{-1}	7,2-17,3	10	–
Nitratos	mg NO_3 L^{-1}	–	50	–
Cu	mg Cu L^{-1}	–	1,0	–
Mn	mg Mn L^{-1}	–	2,0	–
Fe	mg Fe L^{-1}	–	2,0	–

(a) – Metcalf & Eddy, 2003 (*Table* 3-13)

(b) – Para a capacidade máxima de exploração de (número de animais equivalentes) $n \geq 200$. Para $n < 50$, os valores para CBO_5 e SST são de 5 833 mg L^{-1}; $50 < n \leq 200$, 2 500 mg L^{-1}.

Decreto-Lei n.º 236/98 (Valores Limite de Emissão para a descarga de águas residuais industriais no meio hídrico).

3.5 Monitorização da Qualidade da Água

As actividades antropogénicas (urbanas, agrícolas, industriais e culturais), assim como fenómenos naturais (precipitação, erosão, etc.), degradam as águas superficiais colocando em perigo o respectivo uso (Jarvie *et al.*, 1998; Simeonov *et al.*, 2003). Devido às variações espaciais e temporais na química das águas, é fundamental a implementação de programas de monitorização da qualidade da água. Os programas de monitorização incluem frequentemente amostragem de água em diferentes locais e determinação de um determinado número de parâmetros físico-químicos e biológicos, o que conduz à elaboração de uma matriz com um grande número de dados, cuja interpretação é, por vezes, complexa (Simeonov *et al.*, 2003).

Um dos objectivos principais no estabelecimento de redes de monitorização da qualidade da água é verificar o impacto das actividades antropogénicas na qualidade das águas, de modo a

controlar as fontes e mecanismos que alteram o comportamento dos meios naturais, nomeadamente a biodiversidade das espécies e o tipo de usos da água (produção de água para consumo humano, rega, recreio, etc.). Esta abordagem é muito mais eficaz quando se dispõe de dados e registos sistematizados de bacias hidrográficas ou de determinados cursos de água, para uma melhor compreensão dos mecanismos que estão na base de alterações nas condições naturais na respectiva área de drenagem (Ouyang, 2005).

Os métodos tradicionais de análise da qualidade da água (parâmetros fisico-químicos e microbiológicos) devem ser complementados com a utilização de comunidades biológicas como indicadoras da qualidade da água, facultando, simultaneamente, uma avaliação integrada dos efeitos dos poluentes e outras perturbações presentes no sistema aquático (Metcalfe, 1989; Dixon e Chiswell, 1996; Graça *et al.*, 2002). A selecção dos parâmetros de interesse depende do objectivo do estudo, investigação ou projecto, levando-se em consideração os usos previstos para a massa de água, as fontes de poluição, actuais e potenciais, e a legislação existente.

A poluição introduzida nos rios e outros sistemas aquáticos conduz à necessidade de elaboração de planos de prevenção e recuperação ambiental, a fim de garantir condições para os usos actuais e futuros.

3.5.1 Área de estudo

A bacia hidrográfica do rio Lis situa-se na região centro de Portugal e abrange uma área total de aproximadamente 850 km^2. Apresenta um desenvolvimento essencialmente meridiano, a acompanhar o traçado Sul-Norte dos principais elementos hidrográficos que a constituem: o rio Lis e o rio Lena, seu afluente. Em termos de regime, o rio Lis e os seus afluentes comportam-se como cursos de água do tipo torrencial, em que se verifica forte variabilidade nos caudais. Administrativamente abrange total ou parcialmente os concelhos de Porto de Mós, Batalha, Marinha Grande, Leiria e Pombal, no distrito de Leiria, e o concelho de Ourém, no distrito de Santarém.

Na bacia do rio Lis, as variações anuais e sazonais do escoamento superficial, implicam, por um lado, a necessidade de aprovisionamento da água captada e, por outro lado, colocam problemas de qualidade da água devido à concentração de poluentes, que se revela drástica nos meses de Verão. Para esta situação contribuem as descargas poluentes associadas aos efluentes agro-pecuários, com especial destaque para a actividade suinícola muito concentrada

no concelho de Leiria. Este concelho, em particular, é caracterizado também pela grande variedade de actividades humanas (urbanização, indústria e agricultura). Em 2006, 60% da população de bacia era servida por sistemas municipais de tratamento dos esgotos. Apenas pequenos aglomerados populacionais dispunham de fossas sépticas. Em relação aos efluentes provenientes da suinicultura, o cenário actual é bem mais dramático, com descargas provenientes de sistemas de tratamento inadequados. O projecto para a construção de um sistema integrado de tratamento de efluentes suinícolas está em fase de avaliação de impacte ambiental e prevê-se que no futuro, após a construção, 95% do total das suiniculturas adiram ao sistema. A poluição difusa provém de actividades agrícolas e do espalhamento disperso de efluentes pecuários nos solos.

3.5.2 Características dos locais de amostragem

Os locais de amostragem foram seleccionados com base nos seguintes pressupostos: historial descrito no Plano de Bacia Hidrográfica do rio Lis, 2001, relativo à avaliação da qualidade da água, que contempla 8 estações de amostragem (rede de qualidade de água, INAG-DRA), sub-bacias com maior número de unidades pecuárias e industriais e mais intensa actividade agrícola, e publicitação de desastres ecológicos por parte da comunicação social e da população afectada (Apêndice A.1 *Desastres ecológicos noticiados*).

A rede de amostragem das águas superficiais estabelecida, neste estudo, para a bacia do Lis engloba 16 locais de monitorização, 6 ao longo do rio Lis (subgrupo 1), 5 no rio Lena, principal afluente (subgrupo 2, excluindo o ponto 12) e 5 noutras linhas de água, referenciadas como potenciais causadoras da má qualidade da água da bacia, nas proximidades da confluência com o rio Lis, (subgrupo 3 incluindo o ponto 12). As coordenadas dos locais de amostragem são apresentadas na Tabela 3.10.

Devido às limitações de recursos técnicos e humanos, e à distância entre o local de colheita e o laboratório de análise, no Departamento de Engenharia Química da FEUP, a amostragem nas 16 estações foi repartida por 3 semanas consecutivas: na 1ª semana efectuou-se a amostragem nos 6 locais do subgrupo 1, na 2ª semana, nos locais do subgrupo 2 e, na 3ª semana, nos locais do subgrupo 3. Esta metodologia foi aplicada nas 6 campanhas de amostragem realizadas no período dos 3 anos do estudo (2003-2006).

Tabela 3.10 Estações de amostragem na bacia hidrográfica do rio Lis

Nome	*Designação*	*Curso de água*	*Concelho*	*Latitude (N)*	*Longitude (W)*	*Altitude (m)*
Subgrupo 1						
Fontes	1	Lis	Leiria	39º41,23’	8º46,69’	90
Olhalvas[(a)]	2	Lis	Leiria	39º44,26’	8º47,60’	38
Ponte dos Caniços	3	Lis	Leiria	39º44,39’	8º47,93’	38
Arrabalde	4	Lis	Leiria	39º45,07’	8º48,61’	38
Ponte das Necessidades	5	Lis	Leiria	39º47,36’	8º50,20’	19
Ponte Metálica	6	Lis	Leiria	39º51,73’	8º51’79	15
Ponte da Bajanca	7	Lis	Leiria	39º52,20’	8º56,79’	5
Subgrupo 2						
Porto de Mós	8	Lena	Porto de Mós	39º35,02’	8º49,06’	158
Batalha	9	Lena	Batalha	39º39,78’	8º49,26’	79
Ponte Mil Homens	10	Lena	Batalha	39º41,73’	8º49,57’	57
Ponte das Mestras	11	Lena	Leiria	39º44,92’	8º49,49’	30
Subgrupo 3						
Lena	12	Lena	Leiria	39º44,95’	8º49,65’	30
Sirol	13	Rib.ª do Sirol	Leiria	39º44,24’	8º47,70’	38
Milagres	14	Rib.ª dos Milagres	Leiria	39º47,07’	8º49,71’	37
Amor	15	Col.º de Amor	Leiria	39º50,88’	8º51,25	27
Carreira	16	Rib.ª da Carreira	Leiria	39º51,77’	8º51’71	11
Fora	17	Rio de Fora	Leiria	39º52,09’	8º55,43’	4

(a) - a estação Olhalvas, apenas foi considerada nas campanhas de monitorização de sedimentos, e não da qualidade das águas.

As estações de Porto de Mós e Fontes encontram-se, respectivamente próximas das exsurgências do rio Lena (Olho d’água) e do rio Lis. Ambos os locais se localizam no Maciço Calcário Estremenho.

Imediatamente a montante de Leiria existe, no rio Lis, a estação Ponte dos Caniços, a jusante da confluência com a ribeira do Sirol e da ETAR das Olhalvas e, no rio Lena, as estações de Ponte Mil Homens e Batalha.

A estação de Batalha localiza-se imediatamente a jusante da cidade da Batalha e a estação de Ponte Mil Homens localiza-se na freguesia de Golpinheira, a 3,5 km da estação de Batalha.

A ribeira do Sirol foi monitorizada a 100 m da confluência com o rio Lis (estação Sirol). Cerca de 500 m a jusante da confluência fica a estação Ponte dos Caniços, no rio Lis.

As estações Ponte das Mestras e Lena localizam-se ambas no rio Lena, a uma distância de cerca de 500 m, e a estação Lena encontra-se a cerca de 100 m da confluência com o Lis. A selecção destas duas estações, relativamente próximas, resultou do plano de monitorização elaborado com o objectivo de fazer um estudo mais exaustivo da sub-bacia do rio Lena. Consideraram-se, para o efeito, as 4 estações de monitorização do subgrupo 2 (Porto de Mós, Batalha, Mil Homens e Ponte das Mestras) e ainda a estação Lena, que foi incluída no subgrupo 3 dos afluentes do Lis.

A estação de Arrabalde localiza-se imediatamente a jusante da cidade de Leiria, no rio Lis, a montante da confluência do Lena e a jusante do açude Arrabalde (cerca de 200 m), junto à nova Ponte EURO 2004.

A estação de Ponte das Necessidades, também no rio Lis, está localizada no limite das freguesias de Amor (margem esquerda do rio Lis) e de Regueira de Pontes (margem direita do rio Lis), cerca de 9 km a montante da estação de Ponte Metálica (Monte Real), ainda no troço regularizado do rio, após a confluência da ribeira dos Milagres (500 m) na margem direita e do rio Lena (5 km), na margem esquerda. A qualidade da água da ribeira dos Milagres, onde se encontra localizado um grande número de pocilgas, foi monitorizada na estação de Milagres, a montante da sua confluência com o Lis na Ponte EN 109.

Entre a estação de Ponte das Necessidades e a estação de Ponte Metálica existe o colector de Amor que recebe a água proveniente das ribeiras que atravessam a zona mais industrial da bacia (Marinha Grande) e com actividade agrícola significativo. A qualidade da água desta sub-bacia foi monitorizada na estação de Amor, a montante da confluência com o Lis.

As estações de Carreira e de Fora encontram-se respectivamente na ribeira da Carreira e rio de Fora, a cerca de 100 m da confluência com o Lis.

A estação Ponte da Bajanca (rio Lis) localiza-se em Coimbrão, na travessia entre Vieira de Leiria e Pedrógão, a jusante da confluência do rio de Fora e está praticamente na foz do rio. A distribuição espacial das estações de amostragem está representada na Figura 3.4.

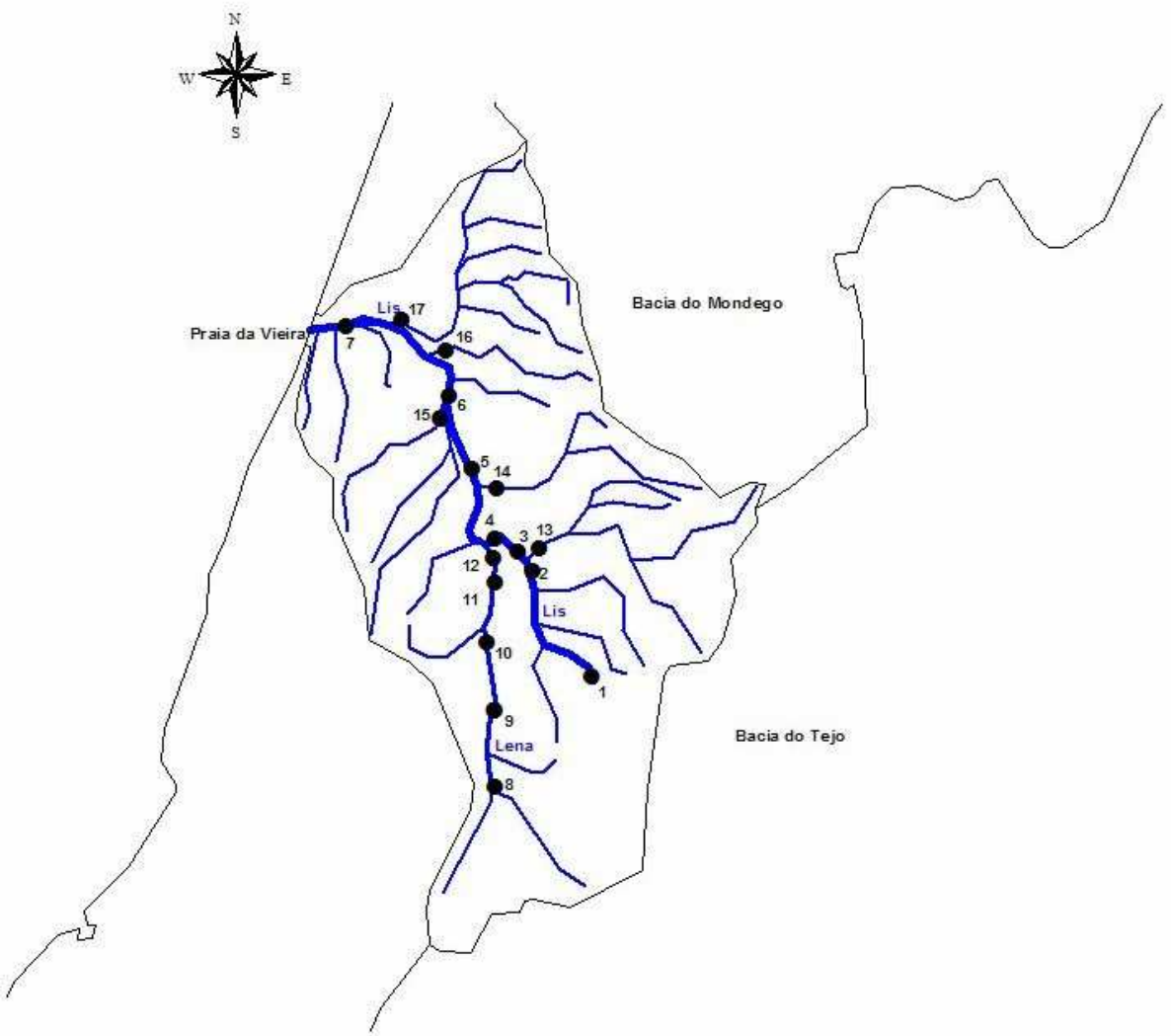


Figura 3.4 Localização dos locais de amostragem na bacia do rio Lis

3.5.3 Amostragem

Foram efectuadas 6 campanhas de amostragem no período de 2003 a 2006, com a seguinte cronologia: dias 15, 22 e 29 de Setembro de 2003, 10, 17 e 24 de Novembro de 2003, 19 e 26

de Janeiro e 2 de Fevereiro de 2004, 19 e 26 de Abril e 3 de Maio de 2004, 28 de Junho, 5 e 12 de Julho de 2004 e 15, 22 e 29 de Novembro de 2006. As campanhas decorreram em períodos secos e períodos chuvosos, com caudais a variar entre 0,066 e 12,14 $m^3 s^{-1}$.

A colheita das amostras foi sempre efectuada no período da manhã (7h30-9h30), para frascos de vidro e de plástico, previamente lavados com uma solução ácida e enxaguados com água ultra pura. Nos casos, em que não foi possível efectuar a recolha directamente no rio (estações de Lena, Amor, Ponte Metálica e Ponte da Bajanca) utilizou-se um balde de plástico de 5 L, atado a uma corda de nylon. Para os parâmetros microbiológicos, a recolha foi efectuada com um frasco de mergulho devidamente esterilizado. Para a determinação dos pigmentos fotossintéticos as amostras foram transportadas em garrafas de vidro de cor escura, de 1 L de capacidade. As amostras foram armazenadas em mala térmica durante o transporte para o laboratório. No laboratório as amostras foram preservadas e/ou analisadas de acordo com os métodos descritos no Standard Methods (1998), num prazo de 12 horas após a colheita.

3.5.4 Parâmetros de qualidade da água

Alguns parâmetros da qualidade da água foram medidos no local: temperatura da amostra (T, °C), pH (escala de Sorensen), condutividade a 20 ºC (C, µS cm^{-1}), potencial de oxidação-redução (ORP, mV) e oxigénio dissolvido (OD mg O_2 L^{-1}). No laboratório foram determinados: sólidos suspensos totais (SST, mg L^{-1}), turvação (NTU), carência bioquímica de oxigénio (CBO_5, mg O_2 L^{-1}), carência química de oxigénio (CQO, mg O_2 L^{-1}), oxidabilidade ao permanganato (Ox-MnO_4, mg O_2 L^{-1}), carbono orgânico total (COT, mg C L^{-1}), azoto orgânico total (N-orgânico, mg N L^{-1}), azoto amoniacal (N-NH_3, mg L^{-1}), nitrito (N-NO_2, mg L^{-1}), nitrato (N-NO_3, mg L^{-1}), fósforo total (P-total, mg P L^{-1}), cloreto (mg Cl L^{-1}), alcalinidade a pH 4,6 (mg $CaCO_3$ L^{-1}), coliformes totais (CT, ufc/100 mL), coliformes fecais (CF, ufc/100 mL), estreptococos fecais (EF, ufc/100 mL), clorofila-*a* (µg L^{-1}), Zn, Cu, Pb, (µg L^{-1}) , Mn e Fe (mg L^{-1}).

A temperatura e o teor de oxigénio dissolvido foram medidos com um aparelho portátil Hanna HI 9143. A condutividade foi medida com um condutivímetro WTW, LF 330/SET. O pH e o potencial de oxidação-redução (ORP) foram determinados com um eléctrodo de pH/ORP/Temperatura (Tabela 3.11). O equipamento portátil foi devidamente calibrado com soluções padrão.

Tabela 3.11 Parâmetros de qualidade da água medidos no local

Parâmetro	Metodologia	Equipamento	Precisão (1)
pH	Electrometria	Medidor de pH/ORP/Temperatura, Hanna HI 991003	1-2,5% (4-9)
T	Termometria	Sensor de Temperatura e Medidor de oxigénio, Hanna HI 9143	0,1ºC (2)
C	Electrometria	Condutivímetro, WTW, LF 330/SET	1-2% (450-1278µS/cm)
ORP	Electrometria	Medidor de pH/ORP/Temperatura, Hanna HI 991003	3% (138 mV)
OD	Electrometria	Medidor de oxigénio, Hanna HI 9143	1,5% (2) Em escala integral

(1) – A precisão do método corresponde ao valor do coeficiente de variação (%) para um conjunto de 5 determinações para 3 soluções padrão distintas, com excepção do potencial ORP com apenas 1 solução padrão.

(2) – Valor de precisão referido no manual do equipamento.

O teor de SST foi determinado por gravimetria após filtração por filtro de fibra de vidro (Albet FV-C) e secagem a 105 ± 2 ºC. A turvação foi determinada por nefelometria (turbidímetro Merck TURBIQUANT 3000 IR). A CBO_5 foi determinada por quantificação do consumo de oxigénio dissolvido durante cinco dias de incubação a 20 ºC ao abrigo da luz. A CQO foi determinada por oxidação com solução de dicromato de potássio, em meio ácido, a 148 ºC, durante 2 horas, em refluxo aberto, seguida de titulação do dicromato residual com uma solução padrão de sulfato ferroso amoniacal. O azoto total foi obtido após conversão de todas as formas de azoto a nitrato por digestão com persulfato, sendo o teor de nitrato determinado pelo método colorimétrico da brucina. O azoto amoniacal foi medido por electrometria com um eléctrodo selectivo de membrana. O nitrito foi quantificado pelo método colorimétrico usando o reagente de diazotação (sulfanilamida e dicloreto de N-(1-naftil)-etilenodiamina). Por sua vez, o fósforo total foi determinado por digestão ácida e subsequente medição do ortofosfato pelo método colorimétrico do ácido ascórbico. A alcalinidade foi obtida por titulação potenciométrica com uma solução padrão de ácido sulfúrico e o teor de cloretos por titulação com uma solução padrão de nitrato de prata (método de Mohr). A clorofila-*a* foi determinada pelo método colorimétrico após extracção com acetona a 90%. Os teores de Zn, Cu e Pb foram determinados por voltametria de redissolução anódica diferencial com impulsos, usando o método da adição de padrão, após digestão com ácido nítrico. As concentrações de Fe e Mn foram obtidas por espectrometria de absorção atómica com chama, após digestão com ácido nítrico. Os parâmetros

microbiológicos (CT, CF e EF) foram estimados pela técnica de membrana filtrante de nitrato de celulose (porosidade 0,45 μm) e incubação respectivamente em mEndoLes Agar a 35,0±0,5 ºC durante 24 ±1 h, mFCAgar a 44,5±0,2 ºC durante 24 ±1 h e mEnterococcus Agar a 35,0±0,5 ºC durante 48 ±2 h (Tabela 3.12 e Tabela 3.13).

As amostras foram sempre analisadas em duplicado e foram usadas soluções padrão com concentração próxima da média dos valores do parâmetro a quantificar, nos casos em que se aplicou o método da curva de calibração. Todo o material usado na análise foi devidamente pré-tratado de acordo com o descrito no respectivo método analítico.

Tabela 3.12 Parâmetros de qualidade da água determinados no laboratório

Parâmetro	Método	Equipamento	Precisão[(1)]
CQO	SM 5220 B: Método de digestão com dicromato em refluxo aberto	Bureta de 25 mL (±0,03)	2-16% (4-50mg L^{-1})
CBO_5	SM 5210 B: Método das diluições, 5 dias	Medidor de oxigénio CrisonOXI45, Eléctrodo WTW Cell OX 325	2-13% (1-10mg L^{-1})
Oxi-MnO_4	Oxidação com $KMnO_4$ Volumetria	Bureta de 25 mL (±0,02)	3-8% (1-15mg L^{-1})
COT	SM 5310 B Método de oxidação catalítica a elevada temperatura (680 ºC)	Analisador SHIMADZU IZASA, modelo TOC-5000 A	2-3% (1-25mg L^{-1})
N-orgânico	SM 4500-N C Método do persulfato	Espectrofotómetro PHILIPS, modelo PYE ÚNICAM PU 8600UV/VIS	3-15% (10-50mg L^{-1})
N-NH_3	SM 4500-NH_3 D Método do Eléctrodo Selectivo (Electrometria)	Eléctrodo ORION 9512 ammonia	1-11% (0,1-1000mg L^{-1})
N-NO_2	SM 4500-NO_2^- B Método Colorimétrico Espectrometria de Absorção Molecular	Espectrofotómetro PHILIPS, modelo PYE UNICAM PU 8600 UV/VIS	2-3% (0,1-0,7mg L^{-1})
N-NO_3	ASTM D992-71 Método da Brucina Espectrometria de Absorção Molecular	Espectrofotómetro PHILIPS, modelo PYE UNICAM PU 8600 UV/VIS	5-8% (10-30mg L^{-1})

SM – Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition (1998); (1) – A precisão do método corresponde ao valor do coeficiente de variação (%) para um conjunto de 5 determinações da concentração de uma solução padrão.

Tabela 3.13 Parâmetros de qualidade da água determinados no laboratório (continuação).

Parâmetro	Método	Equipamento	Precisão
SST	SM 2540 D Método da Secagem a 103-105 ºC Pesagem	Estufa Memmert modelo 854 Schwabach; Balança analítica, Denver Instrument Company, AA 2000 (0,0001 g)	0,5-4% (8-200mg L^{-1})
Turvação	SM 2130 B Método Nefelométrico	Turbidímetro Merck, TURBIQUANT 3000 IR	1-5% (0,02-100 NTU)
Clorofila-a	NP 4327 (1996) Método de extracção com acetona 90% Espectrometria de Absorção Molecular	Espectrofotómetro PHILIPS, modelo PYE UNICAM PU 8600 UV/VIS	5-16% (1-5mg L^{-1})
Alcalinidade	SM 2320 B Método da Titulação Electrométrica	Medidor de pH, Hanna HI 8424, Eléctrodo pH 2114	1-3% (40-450mg L^{-1})
Cloreto	SM 4500-Cl^- B Método de Morh	Bureta de 25 mL (±0,03)	1-4% (10-50mg L^{-1})
P-total	SM 4500-P E Método Colorimétrico Espectrometria de Absorção Molecular	Espectrofotómetro PHILIPS, modelo PYE UNICAM PU 8600 UV/VIS	2-4% (0,1-0,5mg L^{-1})
Cu	SM 3130 B Voltametria de Redissolução Anódica	Polarógrafo Metrohm E506 e posto polarográfico Metrohm 663VA	2%(1) (60µg L^{-1})
Zn	SM 3130 B Voltametria de Redissolução Anódica	Polarógrafo Metrohm E506 e posto polarográfico Metrohm 663VA	2%(1) (60µg L^{-1})
Pb	SM 3130 B Voltametria de Redissolução Anódica	Polarógrafo Metrohm E506 e posto polarográfico Metrohm 663VA	5%(1) (3µg L^{-1})
Mn	SM 3030 E Espectrometria de Absorção Atómica com Chama protóxido-acetileno	Espectrómetro de absorção atómica GBC 932 Plus	1-7%(2) (0,02-2mg L^{-1})
Fe	SM 3030 E Espectrometria de Absorção Atómica com Chama ar-acetileno	Espectrómetro de absorção atómica GBC 932 Plus	0,5-5%(2) (0,2-1,2mg L^{-1})
CT	SM 9222 B Filtração em membrana filtrante e incubação em meio selectivo	–	< 20%(3)
CF	SM 9222 D Filtração em membrana filtrante e incubação em meio selectivo	–	< 20%(3)
EF	SM 9230 C Filtração em membrana filtrante e incubação em meio selectivo	–	< 20%(3)

SM – Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition (1998); (1) – A precisão do método corresponde ao valor do coeficiente de variação (%) para um conjunto de 5 determinações da concentração de uma solução padrão; (2) – A precisão do método corresponde ao valor do coeficiente de variação (%) para um conjunto de 5 determinações da concentração de 6 soluções padrão distintas (em toda a gama da curva de calibração); (3) – Precisão estimada com base no desvio padrão de 5 determinações feitas em 100 mL de água da estação Porto de Mós (Olho d´Agua).

3.5.5 Resultados

Os resultados obtidos foram submetidos a uma análise estatística multivariada com o objectivo de caracterizar a variabilidade dos valores observados e identificar os principais problemas da bacia.

Com base nos resultados e nos valores estimados para as cargas poluentes, foram enunciadas algumas hipóteses, que foram testadas pela análise mais aprofundada da informação disponível, recorrendo nomeadamente à modelação matemática da qualidade de água do rio Lis. O modelo utilizado foi o QUAL2Kw, um modelo unidimensional, de regime permanente, desenvolvido pela EPA (*Environmental Protection Agency*) dos Estados Unidos da América. O modelo QUAL2Kw foi calibrado e validado para 2 situações que cobrem a gama de situações que ocorrem na bacia, no que se refere à época do ano, caudal e qualidade da água.

Os resultados da caracterização físico-química e bacteriológica, de acordo com os subgrupos de estações de amostragem previamente definidos, são apresentados na Tabela 3.14, Tabela 3.15 e Tabela 3.16 (os resultados obtidos para cada parâmetro de qualidade da água nas campanhas de amostragem efectuadas são apresentados no Apêndice B.1).

A contaminação por fontes orgânicas, azoto e fósforo é bastante evidente, mais acentuada nas estações 5, 6 e 7, no rio Lis, estação 9, no rio Lena e estações 14 e 15, respectivamente, na ribeira dos Milagres e no colector de Amor. A contaminação bacteriológica atinge níveis alarmantes em todas as estações. De facto, os resultados médios obtidos nas estações 5, 14 e 15 para coliformes fecais (na ordem 10^4 ufc/100 ml) são preocupantes, não só do ponto de vista da saúde pública, como também por inviabilizarem a utilização da água para outros fins. Os valores médios de turvação e SST apresentam-se elevados em quase todas as estações de amostragem, em parte devido ao facto das campanhas terem coincidido com períodos chuvosos e de maiores caudais.

Tabela 3.14 Média e desvio padrão associado, para os diferentes parâmetros de qualidade da água no rio Lis (estações do subgrupo 1)

Parâmetros	**Locais de Amostragem**					
	1	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
pH	7,8±0,1	7,9±0,3	8,1±0,2	7,9±0,2	7,9±0,1	7,8±0,1
Temperatura	16,0±1,3	16,4±2,2	17,2±2,8	16,1±2,5	16,3±2,6	16,8±3,5
Condutividade	495±34	487±47	496±61	748±220	771±277	838±126
ORP	119±58	115±41	115±33	125±36	136±35	150±28
OD	7,8±1,1	8,0±1,2	8,6±0,8	6,8±2,2	5,2±1,8	6,7±1,7
Turvação	5,2±3,8	15,3±7,9	17,9±15,4	22,0±21,8	34,4±18,2	29,6±9,7
CQO	8±7	9±7	11±4	20±11	19±8	20±6
CBO_5	2,8±4,5	4,4±4,3	4,8±2,6	6,8±3,1	8,6±3,2	6,4±1,8
Oxi-MnO_4	0,8±0,3	2,8±0,9	3,1±0,9	4,5±2,2	6,3±2,8	6,2±2,5
COT	2,1±1,5	3,3±1,3	4,1±1,7	4,5±2,1	5,3±2,3	5,6±2,5
SST	4,4±2,6	15,4±8,2	14,7±8,8	17,0±16,4	34,8±20,4	26,5±12,0
Alcalinidade	245±11	232±17	231±14	249±24	232±24	185±51
N-NH_4	0,04±0,03	0,21±0,15	0,50±0,51	3,9±3,7	3,9±3,5	3,4±3,3
N-orgânico	6±1	7±1	7±1	14±9	15±10	13±5
N-NO_2	0,02±0,01	0,10±0,07	0,22±0,13	0,80±0,49	0,75±0,37	0,77±0,43
N-NO_3	18±3	16±2	17±3	19±3	18±5	17±4
P-total	0,04±0,03	0,20±0,08	0,26±0,13	0,67±0,24	0,72±0,23	0,66±0,31
Cloreto	35±10	37±9	43±8	86±44	94±49	118±22
Clorofila-a	1,1±0,3	2,3±1,3	3,2±2,2	4,0±2,0	5,4±1,0	4,6±1,7
CT	$1,8(\pm2,3)\times10^4$	$4,7(\pm2,7)\times10^4$	$9,4(\pm9,3)\times10^4$	$4,5(\pm6,7)\times10^4$	$3,3(\pm4,8)\times10^5$	$1,3(\pm1,1)\times10^5$
CF	$4,3(\pm4,5)\times10^2$	$4,5(\pm3,4)\times10^3$	$1,8(\pm1,8)\times10^4$	$0,97(\pm1,7)\times10^5$	$2,9(\pm5,5)\times10^4$	$3,5(\pm2,5)\times10^3$
EF	$9,2(\pm5,3)\times10^2$	$4,3(\pm3,8)\times10^3$	$2,2(\pm4,3)\times10^4$	$0,68(\pm1,4)\times10^5$	$5,8(\pm2,5)\times10^4$	$2,6(\pm2,0)\times10^3$
Zn	27,5±7,0	27,8±9,8	26,2±6,2	46,3±31,0	29,5±14,3	27,1±13,5
Cu	14,2±4,7	15,2±7,6	6,1±3,5	21,5±9,8	15,7±7,2	10,5±1,2
Pb	3,6±2,9	4,0±1,9	7,4±4,1	3,7±1,9	4,7±1,4	3,2±0,7
Mn	17±2	23±11	30±13	70±45	87±49	45±19
Fe	87±57	112±70	358±239	383±181	552±216	196±30

Tabela 3.15 Média e desvio padrão associado para os diferentes parâmetros de qualidade da água no rio Lena (estações do subgrupo 2)

Parâmetros	**Locais de Amostragem**			
	8	**9**	**10**	**11**
pH	7,4±0,3	7,9±0,4	7,9±0,3	8,1±0,3
Temperatura	16,0±0,6	16,7±3,3	16,6±2,4	16,0±2,3
Condutividade	398±70	732±347	709±202	654±175
ORP	150±79	111±49	132±43	120±45
OD	7,3±1,6	6,7±3,7	7,4±2,3	9,0±1,7
Turvação	1,5±0,8	20,5±20,8	14,2±15,2	16,9±23,5
CQO	3,6±1,8	21±16	15±8	23±13
CBO_5	1,0±0	9,0±7,9	5,1±3,7	6,8±3,7
Oxi-MnO_4	0,6±0,4	4,4±2,8	4,7±2,0	6,3±1,1
COT	1,7±0,8	5,3±4,2	4,7±3,6	4,6±3,0
SST	1,4±0,6	24,0±16,1	17,9±19,7	30,1±39,2
Alcalinidade	254±88	285±44	287±34	280±42
N-NH_4	0,03±0,03	4,7±6,5	0,28±0,19	0,46±0,39
N-orgânico	1±1	21±12	16±6	18±5
N-NO_2	0,01±0	0,37±0,32	0,43±0,47	0,76±0,95
N-NO_3	11±4	12±4	18±7	19±6
P-total	0,03±0	0,61±0,69	0,37±0,38	0,54±0,60
Cloreto	13±3	87±50	86±45	83±37
Clorofila-a	3,6±2,6	15,6±10,6	18,9±21,6	10,6±16,9
CT	$2,5(\pm2,2)\times10^3$	$5,1(\pm6,7)\times10^5$	$9,1(\pm9,8)\times10^4$	$7,2(\pm7,0)\times10^4$
CF	$0,71(\pm1,3)\times10^3$	$4,4(\pm5,8)\times10^4$	$1,0(\pm1,6)\times10^4$	$1,0(\pm0,48)\times10^4$
EF	$3,5(\pm6,7)\times10^2$	$5,1(\pm3,7)\times10^3$	$3,7(\pm3,3)\times10^3$	$4,0(\pm2,8)\times10^3$
Zn	10,9±3,4	39,9±19,2	9,1±1,5	36,7±16,7
Cu	11,3±1,6	31,4±19,9	18,4±13,8	19,0±7,9
Pb	3,4±0,7	2,8±1,2	5,2±4,0	4,6±1,2
Mn	21±7	77±83	41±14	86±62
Fe	91±24	132±68	175±77	267±95

Tabela 3.16 Média, e desvio padrão associado para os diferentes parâmetros de qualidade da água nos afluentes do rio Lis (estações do subgrupo 3)

Parâmetros	**Locais de Amostragem**					
	12	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
pH	8,0±0,3	8,0±0,1	7,7±0,1	7,4±0,2	7,2±0,2	7,0±0,3
Temperatura	15,3±4,2	15,4±3,4	14,4±4,3	15,8±5,3	15,7±4,5	16,0±3,9
Condutividade	659±147	441±99	499±44	502±102	243±21	854±414
ORP	175±32	149±27	147±20	172±21	182±35	116±73
OD	8,2±2,1	8,7±1,0	7,8±2,4	4,2±2,3	8,0±2,1	6,1±2,1
Turvação	39,2±78,4	22,7±40,5	39,3±44,2	18,5±10,7	18,5±20,4	27,9±18,8
CQO	21±9	13±6	49±20	34±8	8±6	17±7
CBO_5	9,4±3,3	5,6±3,5	15,2±17,7	9,9±3,9	2,0±1,2	2,7±1,5
Oxi-MnO_4	7,1±2,6	5,4±4,9	17,4±3,7	13,2±3,4	5,8±3,6	9,4±2,1
COT	3,2±1,8	3,1±1,8	12,6±4,4	11,6±4,0	4,7±2,4	5,8±1,4
SST	36,5±62,6	24,7±42,0	40,5±37,8	18,1±7,3	17,7±13,9	27,0±15,8
Alcalinidade	248±9	207±26	185±20	138±27	37±7	53±22
N-NH_4	0,86±0,59	0,64±0,78	10,9±5,7	7,8±5,6	0,31±0,11	0,21±0,14
N-orgânico	20±4	9±1	17±2	16±5	9±2	35±16
N-NO_2	0,64±0,34	0,20±0,16	1,62±0,94	0,32±0,25	0,10±0,03	0,18±0,16
N-NO_3	21±4	15±2	19±4	10±7	11±3	23±9
P-total	0,45±0,36	0,28±0,30	2,15±1,13	1,35±1,00	0,22±0,14	0,21±0,27
Cloreto	78±36	38±8	46±2	70±30	46±6	155±111
Clorofila-a	7,5±8,2	2,7±1,8	6,6±8,8	6,0±3,7	2,3±1,0	5,7±4,4
CT	$1,5(\pm2,3)\times10^5$	$1,2(\pm1,3)\times10^5$	$2,0(\pm2,8)\times10^5$	$0,66(\pm1,4)\times10^6$	$1,3(\pm2,2)\times10^5$	$0,54(\pm1,1)\times10^5$
CF	$4,2(\pm8,3)\times10^4$	$1,9(\pm1,8)\times10^4$	$1,7(\pm1,8)\times10^4$	$0,82(\pm1,6)\times10^5$	$2,6(\pm1,7)\times10^3$	$0,65(\pm1,4)\times10^4$
EF	$1,0(\pm1,2)\times10^4$	$1,6(\pm1,6)\times10^4$	$2,4(\pm1,5)\times10^4$	$1,2(\pm1,1)\times10^4$	$2,3(\pm1,5)\times10^3$	$3,2(\pm5,3)\times10^3$
Zn	30,0±17,2	12,6±5,5	168±132	93,3±28,9	11,8±3,1	16,7±15,8
Cu	19,2±8,8	18,0±19,1	38,7±17,1	40,3±14,1	11,3±3,3	10,3±0,5
Pb	3,9±1,3	2,1±1,0	4,6±1,9	7,8±3,8	5,4±1,3	3,5±1,7
Mn	86±62	38±14	96±43	104±72	38±14	38±14
Fe	253±98	103±8	1088±188	357±187	75±27	75±27

3.5.5.1 Caudal

A avaliação da qualidade de água de um curso de água deve ser feita tendo em conta o regime de escoamento e, em particular, o caudal que se verifica no momento da amostragem. O valor de caudal é, por exemplo, necessário na modelação matemática da qualidade da água, quer directamente, quer através das estimativas das cargas poluentes afluentes às linhas de água. A análise da relação da concentração com o caudal fornece ainda indicações importantes sobre a origem da contaminação.

Os valores de caudal na bacia hidrográfica do rio Lis, referentes ao período do estudo (2003-2005), foram cedidos pela CCDR-Centro nas estações Fontes (1), Ponte das Mestras (11) e Açude Arrabalde, próximo da estação 4. A estação de Arrabalde constitui um caso especial, uma vez que durante o Verão é instalado um açude para permitir o desvio de água para rega. O período de presença do açude varia, sendo normalmente montado entre Abril e Maio e desactivado entre Outubro e Novembro. A informação hidrométrica da estação provém de um limnígrafo a montante do açude e de uma escala de nível a jusante. No período em que o açude não está montado, a leitura do nível hidrométrico é realizada apenas no limnígrafo de montante. No período açudado, para além do registo contínuo da escala de montante, é lido diariamente na escala de jusante o nível hidrométrico, teoricamente às 12 horas, pelo operador da estação. Não existe, no entanto, nenhum registo do caudal que é desviado para a rega, pelo que, durante os meses em que o açude está montado, não é possível saber o caudal que chega a Arrabalde, pois a escala de montante encontra-se sob influência directa do açude. Os caudais, Ponte Mil Homens (estação10), Batalha (estação 9) e Porto de Mós (estação 8) foram estimados a partir do caudal específico de Ponte das Mestras. O caudal na estação Lena foi considerado igual ao de Ponte das Mestras. Os caudais em Sirol (estação 13) e Ponte dos Caniços (estação 3) foram estimados a partir do caudal específico de Fontes. Os caudais em Milagres (estação 14), Amor (estação 15), Carreira (estação 16) e Fora (estação 17) foram estimados a partir do caudal específico de Açude Arrabalde. Os caudais de Ponte das Necessidades (estação 5), Ponte Metálica (estação 6) e Ponte da Bajanca (estação 7) foram calculados a partir do somatório dos caudais medidos em Ponte das Mestras, Açude Arrabalde e o estimado em Milagres, no primeiro caso, mais o estimado em Amor, no segundo caso, e mais o estimado em Carreira e Fora, no último caso.

Na campanha de amostragem realizada em Novembro de 2006, foi possível medir localmente o caudal (caudalímetro modelo PCM Pro, NIVUS) juntamente com a recolha das amostras

para análise, no rio Lis em Fontes, Ponte dos Caniços, Ponte Arrabalde, no rio Lena em Porto de Mós, Batalha, Ponte Mil Homens e Ponte das Mestras e em Milagres, Amor, Carreira e Fora. Os caudais de Lena, Ponte das Necessidades, Ponte Metálica e Ponte da Bajanca foram estimados da forma anteriormente descrita (Tabela B.1).

O caudal do rio Lis, medido em Fontes, variou entre 0,088 e 2,8 $m^3 s^{-1}$, tendo o valor máximo sido registado na campanha realizada no mês de Novembro de 2003 e o mínimo na campanha realizada em Setembro de 2003. O caudal do rio Lena, medido em Ponte das Mestras, variou entre 0,066 e 1,5 $m^3 s^{-1}$, com os valores máximo e mínimo nos mesmos meses (Figura 3.5). O valor máximo (12,1 $m^3 s^{-1}$) foi registado em Arrabalde, em Novembro de 2003.

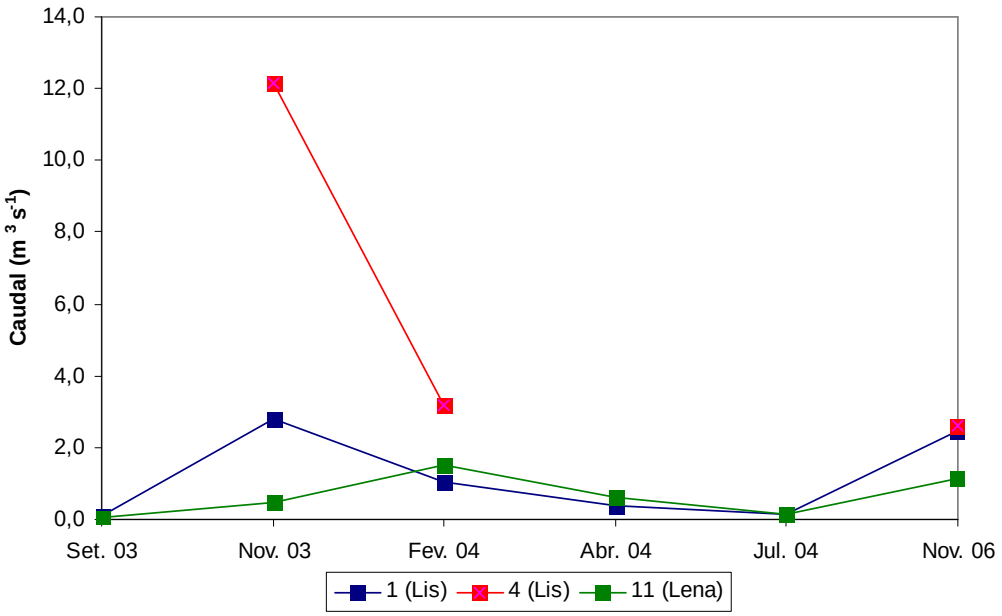


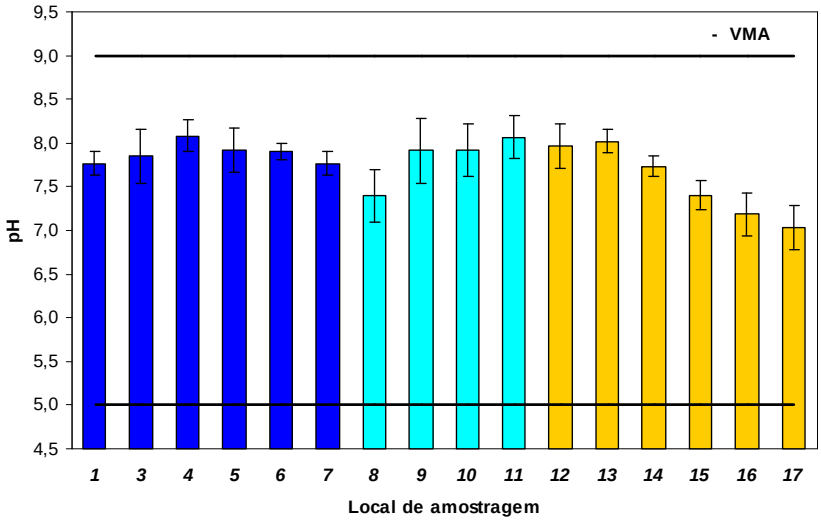
Figura 3.5 Variação sazonal do caudal nas estações Fontes (1), Açude Arrabalde (300 m da estação 4) e Ponte das Mestras (11).

Em seguida é feita uma análise mais detalhada de cada parâmetro, destacando os que apresentam valores de risco para os diferentes usos (captação para produção de água para consumo humano, vida piscícola e rega). Das estações monitorizadas, as que apresentam as maiores concentrações em azoto, fósforo e matéria orgânica são as estações 9, 14 e 15. A ribeira dos Milagres (14) está sujeita a fortes cargas poluentes provenientes do sector agro-pecuário, nomeadamente do sector suinícola. O colector de Amor (15) recebe descargas provenientes do sector agro-pecuário e industrial. Na área onde se inserem estas últimas estações, o sistema integrado de tratamento de efluentes domésticos só serve, actualmente,

50% da população. Estes são os dois afluentes do rio Lis que mais contribuem para a degradação da qualidade da água após a respectiva confluência (estações 5, 6 e 7). No rio Lena encontrou-se uma grande variabilidade nos resultados de qualidade da água ao longo do seu percurso, destacando-se a estação 9 como a mais problemática relativamente aos parâmetros em análise. Esta estação situa-se imediatamente a jusante da cidade da Batalha que concentra um aglomerado populacional significativo, com 66% da população servida pelo sistema de tratamento de esgotos domésticos, e está a jusante de algumas indústrias, nomeadamente uma cooperativa agrícola de produção de bebidas.

pH, Alcalinidade, Temperatura, Condutividade, ORP e OD

A variação espacial do pH na bacia do Lis está representada na Figura 3.6. Verifica-se que o pH não apresenta variações significativas (6,7-8,3), com a maior parte dos valores próximos de pH 8, com excepção das estações 8, 15, 16 e 17, com valores próximos da neutralidade. Não há evidências de perturbações que afectem a qualidade da água para os diversos fins, tendo em conta os critérios estabelecidos pelo Decreto-Lei n.º236/98.



Sub-Grupo 1 **Sub-Grupo 2** **Sub-Grupo 3**

VMA- valor máximo admissível (pH 5,0-9,0) para cumprimento dos objectivos ambientais de qualidade mínima para as águas superficiais (Decreto-Lei 236/98); Sub-grupo 1 – estações de amostragem localizadas no rio Lis; Sub-grupo 2 – estações de amostragem localizadas no rio Lena; Sub-grupo 3 – estações de amostragem localizadas nos afluentes do rio Lis.

Figura 3.6 Distribuição dos valores de pH (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis.

A alcalinidade na bacia do Lis apresenta valores relativamente elevados (valores médios por estação a variar entre 200 e 334 mg $CaCO_3$ L^{-1}), com excepção das estações 16 e 17, com valores a variar entre 25 e 84 mg $CaCO_3$ L^{-1} (Tabela B.3), às quais correspondem os menores valores de pH. A alcalinidade das águas superficiais é sobretudo função do teor de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos.

A temperatura da água varia de acordo a época do ano, com um valor mínimo de 7,4 ºC em Janeiro (estação 14) e um valor máximo de 23,5 ºC em Julho (estação 15), situando-se 25% dos valores acima dos 18 ºC e 95% dos valores abaixo dos 21 ºC. De salientar que as maiores oscilações de temperatura, com base nos valores do desvio padrão, ocorrem nos afluentes do rio Lis. Este parâmetro não indicia quaisquer fontes de poluição térmica nas proximidades das estações monitorizadas, mas pode conduzir a alterações significativas noutros parâmetros, nomeadamente no oxigénio dissolvido e em espécies químicas afectadas por determinadas reacções, como a nitrificação e a degradação da matéria orgânica. A sua variabilidade corresponde às alterações do clima e características morfológicas do leito (Tabela B.4).

A condutividade variou entre 201 e 1 352 $\mu S\ cm^{-1}$, sendo os valores mais elevados registados no Verão (campanhas realizadas em Julho e Setembro), nomeadamente nas estações 9, 10, 11 e 12, no rio Lena, e nas estações 5, 6 e 7, no rio Lis, e no afluente rio de Fora (estação 17). Os valores mínimos de condutividade foram observados na ribeira da Carreira (estação 16). O trecho do rio Lena, Porto Mós – Batalha, é responsável pelo aumento dos valores da condutividade nas estações de Batalha, Mil Homens e Ponte das Mestras. As estações de Arrabalde, Ponte dos Caniços e Fontes registam valores semelhantes de condutividade, indicando que no troço entre elas não haverá contaminação significativa (resultados da condutividade na Tabela B.5).

Os valores obtidos para o potencial de oxidação-redução (ORP) mostraram uma reduzida variabilidade temporal e espacial e indicam que o meio hídrico em análise é oxidante (Tabela B.6).

A maioria dos locais de amostragem apresenta boa oxigenação das águas superficiais. Os valores inferiores de OD, no período de Verão, estão associados a temperaturas mais elevadas e ao menor caudal, que conduz a uma maior concentração de matéria orgânica oxidável. Foram medidos valores de OD < 3 mg L^{-1} no colector de Amor e ribeira dos Milagres e, como seria de esperar, nas estações de Ponte das Necessidades, no Lis, localizada imediatamente a jusante da ribeira e da confluência do rio Lena, e de Ponte Metálica, imediatamente a jusante

do colector de Amor. Os resultados traduzem a ocorrência de concentrações elevadas de matéria orgânica na água, resultantes da descarga de efluentes domésticos e agro-pecuários (resultados de OD na Tabela B.7).

Material em Suspensão

As concentrações mais elevadas de material em suspensão, avaliadas pela determinação dos parâmetros SST e turvação, foram encontradas nas campanhas de Novembro e Janeiro/Fevereiro em quase todas as estações de amostragem. Destacam-se os valores elevados encontrados na estação do rio Lena mais a jusante (estação 12) e na ribeira dos Milagres (estação 14). O elevado teor de sólidos pode ser explicado pela escorrência de águas da chuva, pelas descargas de efluentes suinícolas e outros e também pela regularização das margens do rio Lena e da ribeira dos Milagres, que ocorreu neste período. A estação de Ponte das Necessidades apresenta os valores mais elevados de SST, o que reflecte a afluência do rio Lena e da ribeira dos Milagres. De referir também a diferença de comportamento das cabeceiras do Lis e do Lena. O valor mais baixo de concentração de SST foi encontrado na estação de Porto de Mós (2,1 mg L^{-1}) (resultados de turvação na tabela B.8 e de SST na Tabela B.9).

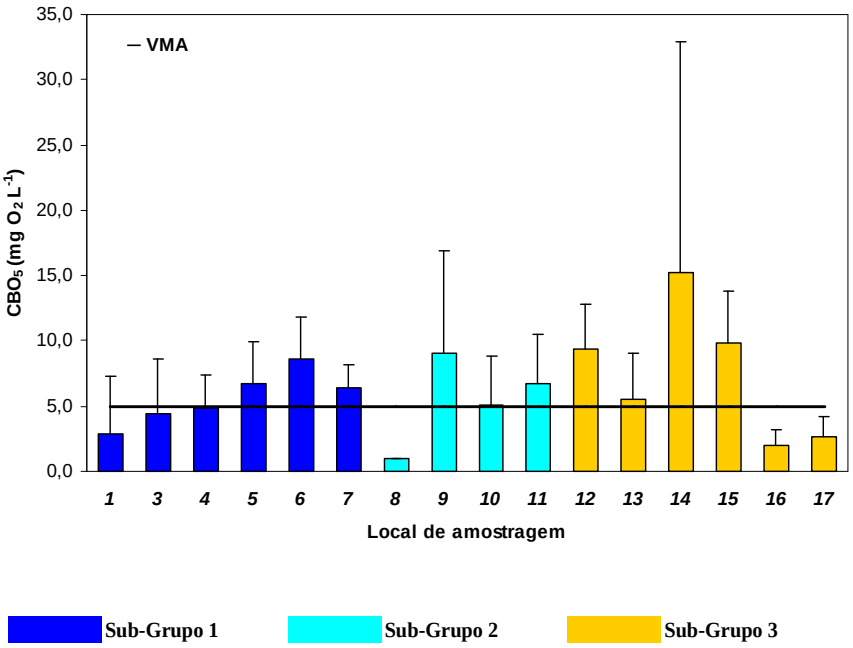
Matéria orgânica (CQO, CBO_5, Oxi-MnO_4, COT)

A avaliação do teor de matéria orgânica presente nos cursos de água da bacia foi efectuada recorrendo aos parâmetros carência química de oxigénio, (CQO), carência bioquímica de oxigénio (CBO_5), oxidabilidade (Oxi-$KMnO_4$) e carbono orgânico total (COT).

Os valores de CQO variam entre 4 e 82 mg L^{-1} (resultados apresentados na Tabela B.10), observando-se os valores máximos na ribeira dos Milagres (estação 14), colector de Amor (estação 15), rio Lena (estações 9, 11 e 12) e rio Lis, no troço após a confluência dos afluentes mencionados (estações 5, 6 e 7). A estação 6 situada a jusante da confluência do colector de Amor apresenta os valores mais elevados do rio Lis. De uma forma geral, as estações das cabeceiras da bacia (Porto Mós e Fontes), a ribeira da Carreira e o rio de Fora apresentam os valores mais baixos de CQO. Relativamente à CBO_5, o valor mais baixo foi encontrado na estação de Porto de Mós (2 mg L^{-1}). Em Fontes, os valores não ultrapassam os 12 mg L^{-1}, enquanto que na ribeira da Carreira o valor máximo detectado foi de 3,9 mg L^{-1} e, no rio de

Fora, de 5 mg L^{-1}. No entanto, estes valores já conduzem à classificação de rios poluídos a muito poluídos (INAG).

As concentrações mais elevadas de CBO_5 foram encontradas na ribeira dos Milagres e no colector de Amor (Figura 3.7), acompanhadas dos valores mais elevados de fósforo total e azoto amoniacal, o que parece estar associado a descargas pontuais de efluentes suinícolas. A má qualidade da água nestes afluentes do rio Lis influencia também as estações do rio a jusante (5, 6 e 7), que apresentam concentrações acima dos valores fixados para a qualidade mínima das águas doces superficiais. De referir também a variabilidade dos resultados obtidos no rio Lena (estações 9, 11 e 12), associada a descargas pontuais de efluentes domésticos e agro-pecuários ao longo de todo o percurso do rio.



VMA - valor máximo admissível (CBO_5 5,0 mg O_2 L^{-1}) no cumprimento dos objectivos ambientais de qualidade mínima para as águas superficiais(Decreto-Lei 236/98); Sub-grupo 1 – estações de amostragem localizadas no rio Lis; Sub-grupo 2 – estações de amostragem localizadas no rio Lena; Sub-grupo 3 – estações de amostragem localizadas nos afluentes do rio Lis.

Figura 3.7 Distribuição dos valores de CBO_5 (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis

Relativamente aos valores de oxidabilidade (Tabela B.12) e COT (Tabela B.13), as conclusões não diferem significativamente das obtidas pela análise da CQO e CBO_5. Relativamente ao rio Lena, os valores da oxidabilidade aumentam ao longo do percurso do rio, com concentrações mais elevadas na estação Lena (12), a 100 m da confluência com o

Lis, contrariamente ao que acontece com a CBO_5 e CQO, em que os valores de concentração mais elevados foram encontrados na estação Batalha.

A componente orgânica, de difícil oxidação, que separa a CBO_5 e a CQO, encontra-se normalmente associada a contaminação industrial. Na tentativa de avaliar o peso da contaminação orgânica de origem industrial, procedeu-se ao cálculo da razão CBO_5/CQO. Da análise da

Figura 3.8 verifica-se que, em termos de valor médio, as estações Sirol (13) e Lena (12) apresentam as razões mais elevadas, sugerindo maior biodegradabilidade do conteúdo orgânico. A estação correspondente ao rio de Fora (estação 17) regista os valores mais baixos. Por outro lado, no rio Lis as razões aumentam da estação Fontes (1) até à estação mais a jusante (3), diminuindo nas estações 4 e 5, e com ligeiro aumento na estação 6. No rio Lena o comportamento relativamente à matéria orgânica biodegradável é variável. Os resultados sugerem um aumento da biodegradabilidade nas estações de cabeceira até à Batalha, depois um decréscimo que poderá estar relacionado com a concentração industrial no troço Batalha até Ponte das Mestras e, finalmente, um novo aumento no troço mais a jusante. Relativamente aos afluentes (ribeira dos Milagres e colector de Amor), os valores de CBO_5/CQO oscilam, não apresentado nenhum comportamento específico. No colector de Amor, situado na zona com maior concentração de indústrias, não se observou uma diminuição da razão CBO_5/CQO. É de salientar, no entanto, que esta sub-bacia concentra também pocilgas e recebe efluentes domésticos não tratados.

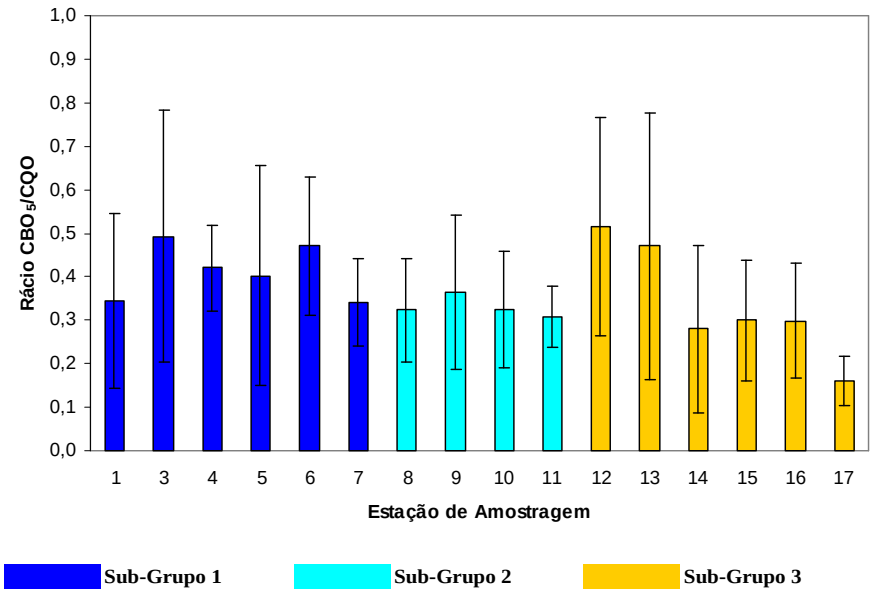


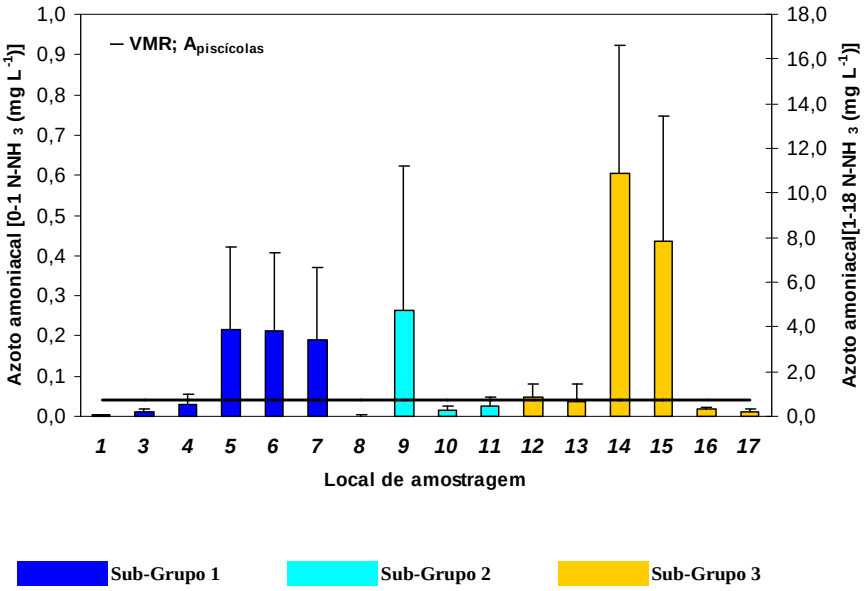
Figura 3.8 Rácio CBO_5 / CQO (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis

Nutrientes (azoto amoniacal, azoto orgânico, nitritos e nitratos e fósforo total)

A análise das concentrações de nutrientes disponíveis na água é fundamental, na medida em que são estes que condicionam o fenómeno da eutrofização. Do conjunto de nutrientes destacam-se os compostos de azoto (azoto orgânico, azoto amoniacal (NH_3), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) e o fósforo total.

Na

Figura 3.9 é possível observar o comportamento da concentração de azoto amoniacal. As estações de Milagres (14) e Amor (15) destacam-se das restantes, apresentando valores acima de 2 mg L^{-1}, o que inviabiliza a água para qualquer tipo de uso de acordo com o Decreto-Lei 236/98. As estações de Ponte das Necessidades (5), Ponte Metálica (6) e Ponte da Bajanca (7) apresentam valores que determinam uma classificação de rio poluído nos troços onde estão localizadas. No rio Lena, o troço mais problemático localiza-se a montante da estação de Batalha (9), numa área que concentra o maior número de suiniculturas e bovinoculturas e de população nesta sub-bacia. Verifica-se uma ligeira subida dos teores de azoto amoniacal da estação de Fontes (1) para a estação Arrabalde (4), que poderá estar relacionada com a descarga de efluentes domésticos provenientes da cidade de Leiria.



VMR - valor máximo recomendado (azoto amoniacal 0,04 mg NH_4 L^{-1}) para fins piscícolas (águas de salmonídeos) (Decreto-Lei 236/98); Sub-grupo 1 – estações de amostragem localizadas no rio Lis; Sub-grupo 2 – estações de amostragem localizadas no rio Lena; Sub-grupo 3 – estações de amostragem localizadas nos afluentes do rio Lis.

Figura 3.9 Distribuição dos valores de azoto amoniacal (média e desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis

No que se refere ao azoto orgânico, verifica-se que as estações de Milagres (14), Amor (15) e Lena (12) apresentam concentrações elevadas associados a fontes de contaminação pontuais. No entanto, a estação que apresenta os maiores valores é a do rio de Fora (17). Uma vez que, nesta estação, apenas se destacam os parâmetros condutividade, cloretos e nitratos, os resultados sugerem uma contaminação da água de origem industrial (resultados de azoto orgânico na Tabela B.14).

No que se refere ao nitrito, trata-se de um parâmetro muito instável, que corresponde a um produto intermédio na passagem de azoto amoniacal a nitrato, não constituindo um nutriente preferencial para o fitoplâncton. Destacam-se os valores elevados observados nas estações de Milagres (14) e, consequentemente, no troço após a confluência da ribeira dos Milagres com o rio Lis (estação 5). Na estação de Amor (15) na campanha de Novembro de 2003, também se observou um valor elevado de concentração de nitrito (0,72 mg L^{-1}). As estações de Fontes (1) e Porto Mós (8) representam os casos menos preocupantes. Na sub-bacia do rio Lena, os

valores mais elevados foram obtidos nas estações mais a jusante (Pontes das Mestras e Lena) (resultados de nitrito apresentados na Tabela B.16).

No que diz respeito aos nitratos, os valores mais elevados foram encontrados na estação 17 (rio de Fora). No rio Lena, os valores mais elevados aparecem nas estações mais a jusante, comportamento idêntico ao observado para os nitritos. No rio Lis, a dispersão de resultados é maior nas estações situadas a jusante, mas a variabilidade relativamente à estação Fontes (1) não parece significativa (resultados de nitrato apresentados na Tabela B.17).

O facto da ribeira dos Milagres e do colector de Amor apresentarem níveis elevados de azoto amoniacal, mas não de nitrato, pode ser explicado pelo excesso de contaminação orgânica que resulta num abaixamento generalizado do nível de oxigénio dissolvido na massa de água. A nitrificação é um processo que consome oxigénio e que é inibido por concentrações muito baixas deste elemento. O excesso de contaminação orgânica bloqueia, portanto, a passagem de azoto amoniacal a nitrato.

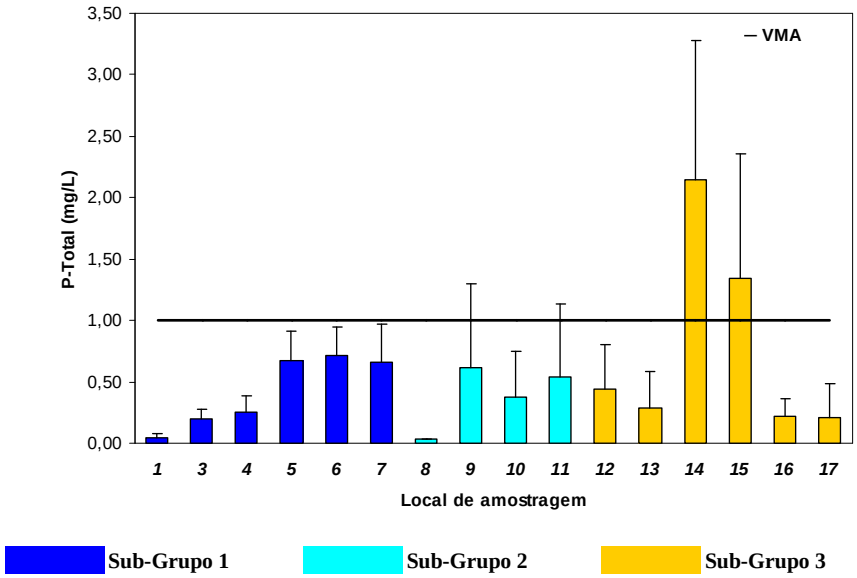
As concentrações de fósforo podem ser usadas para classificar o estado trófico de uma dada massa de água (Thomann, 1987). Na Tabela 3.17 são apresentadas as gamas de concentração referentes a esta classificação.

Tabela 3.17 Classificação do estado trófico (fósforo)

Estado trófico	**Fósforo total (mg P L^{-1})**
Oligotrófico	< 0,01
Mesotrófico	0,01-0,02
Eutrófico	> 0,02

A Figura 3.10 representa a distribuição da concentração de fósforo total. Os valores na bacia oscilam entre 0,07 e 3,6 mg P L^{-1}. Segundo a classificação do estado trófico, os valores indicam uma elevada probabilidade para a eutrofização do sistema aquático. As concentrações mais elevadas foram encontradas nas estações de Milagres (14) e Amor (15). Registaram-se também valores elevados nas estações de Batalha (9) e Ponte das Mestras (11). As concentrações encontradas inviabilizam a utilização da água para qualquer fim e a sua qualidade é mesmo inferior à qualidade mínima. Em resultado da contaminação proveniente do rio Lena, ribeira dos Milagres e colector de Amor, as estações de Ponte das Necessidades (5) e Ponte Metálica (6) também apresentam concentrações elevadas de fósforo, pondo em

risco a vida piscícola. Repare-se, ainda, no acréscimo pouco significativo entre Fontes e Arrabalde e, por outro lado, o grande acréscimo entre Porto Mós e Batalha, no rio Lena.

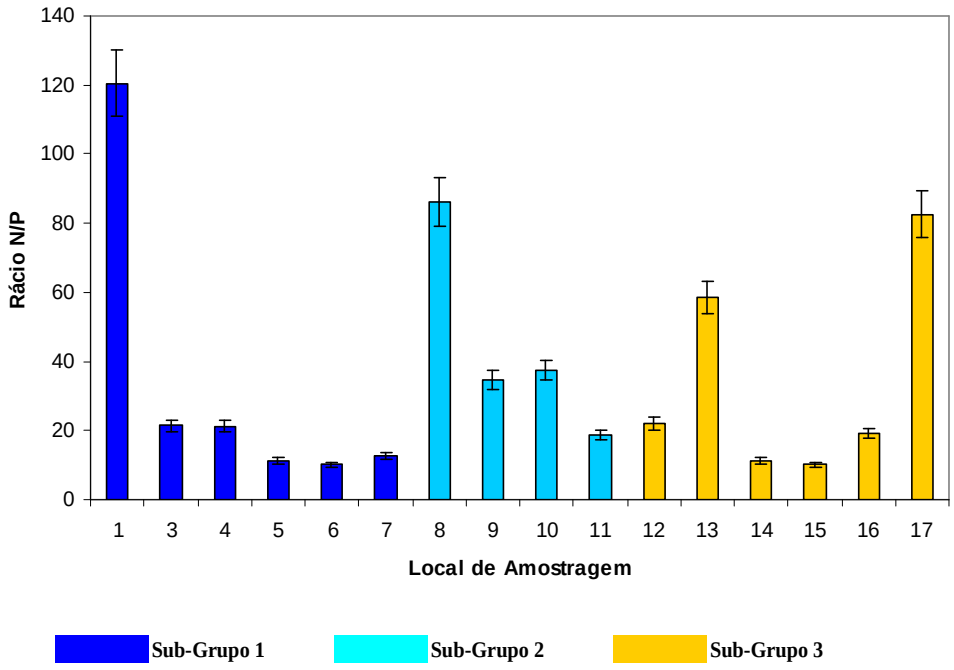


VMA - valor máximo admissível (fósforo total 1,0 mg P L^{-1}) no cumprimento dos objectivos ambientais de qualidade mínima para as águas superficiais(Decreto-Lei 236/98); Sub-grupo 1 – estações de amostragem localizadas no rio Lis; Sub-grupo 2 – estações de amostragem localizadas no rio Lena; Sub-grupo 3 – estações de amostragem localizadas nos afluentes do rio Lis.

Figura 3.10 Distribuição dos valores de fósforo total (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do Lis

Calculou-se a relação N/P para as várias estações da bacia do Lis, sendo o N = azoto amoniacal e nitratos e o P = fósforo total, e verificou-se que o nutriente limitante é o fósforo, uma vez que se determinaram relações N/P superiores a 10 (Thomann, 1987) para quase todas as estações, com excepção de Ponte Mil Homens (10), Ponte das Mestras (11) e Lena (12), no rio Lena, na campanha de Julho de 2004, com valores de N/P inferiores a 2,5. Valores de N/P inferiores a 7 também foram encontrados em Milagres (estação 14) e Amor (estação 15), em três das campanhas de amostragem e em Sirol (estação 13) e Carreira (estação 16), em duas das campanhas de amostragem e rio de Fora (estação 1), na campanha de Julho de 2004. Não se verifica uma tendência generalizada de aumento de N/P nos meses de maior escoamento. Desta forma, a análise efectuada revela que, apesar da forte presença

em alguns locais, o fósforo constitui o elemento limitante no processo de eutrofização (Figura 3.11).



Rácio N/P igual à razão entre o teor de azoto amoniacal (mg N L^{-1}) e nitratos (mg N L^{-1}) e o teor de fósforo total (mg P L^{-1}); Sub-grupo 1 – estações de amostragem localizadas no rio Lis; Sub-grupo 2 – estações de amostragem localizadas no rio Lena; Sub-grupo 3 – estações de amostragem localizadas nos afluentes do rio Lis.

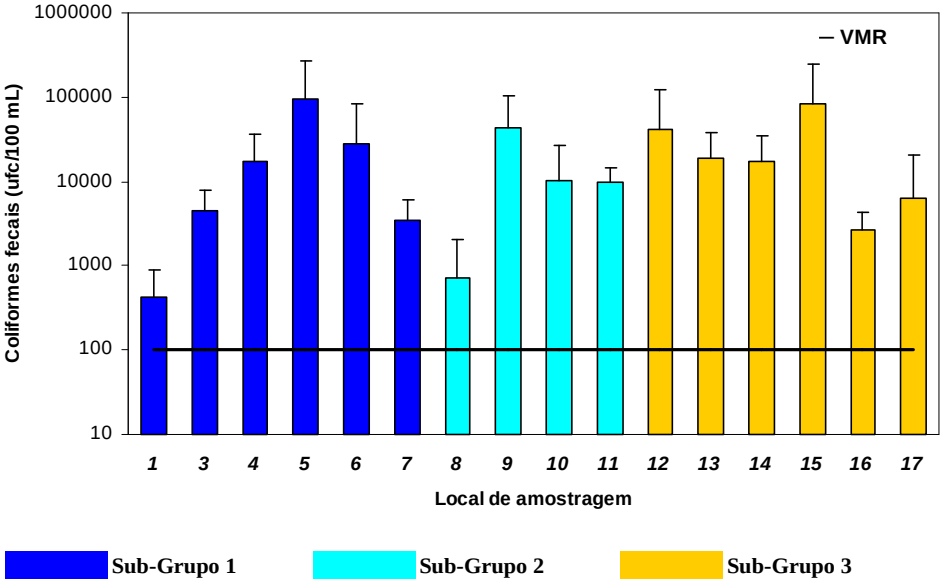
Figura 3.11 Rácio N/P na bacia hidrográfica do Lis

Parâmetros microbiológicos

Os coliformes totais, coliformes fecais e estreptococos fecais constituem um conjunto de indicadores do grau de patogenicidade da água.

Os resultados revelam uma contaminação generalizada na bacia, com valores menos elevados para as estações a montante (Porto Mós e Fontes). A situação é especialmente grave a jusante de Leiria, na ribeira dos Milagres, colector de Amor e no rio Lena.

Os coliformes fecais são um subgrupo dos coliformes totais que crescem principalmente no intestino de animais de sangue quente, incluindo o homem, pelo que são bons indicadores da contaminação fecal (Sargeant, 1999). A distribuição ao longo da bacia está representada na Figura 3.12.



VMR - valor máximo recomendável (Coliformes fecais 100 ufc/100mL) no cumprimento dos objectivos ambientais de qualidade das águas balneares(Decreto-Lei 236/98); Sub-grupo 1 – estações de amostragem localizadas no rio Lis; Sub-grupo 2 – estações de amostragem localizadas no rio Lena; Sub-grupo 3 – estações de amostragem localizadas nos afluentes do rio Lis.

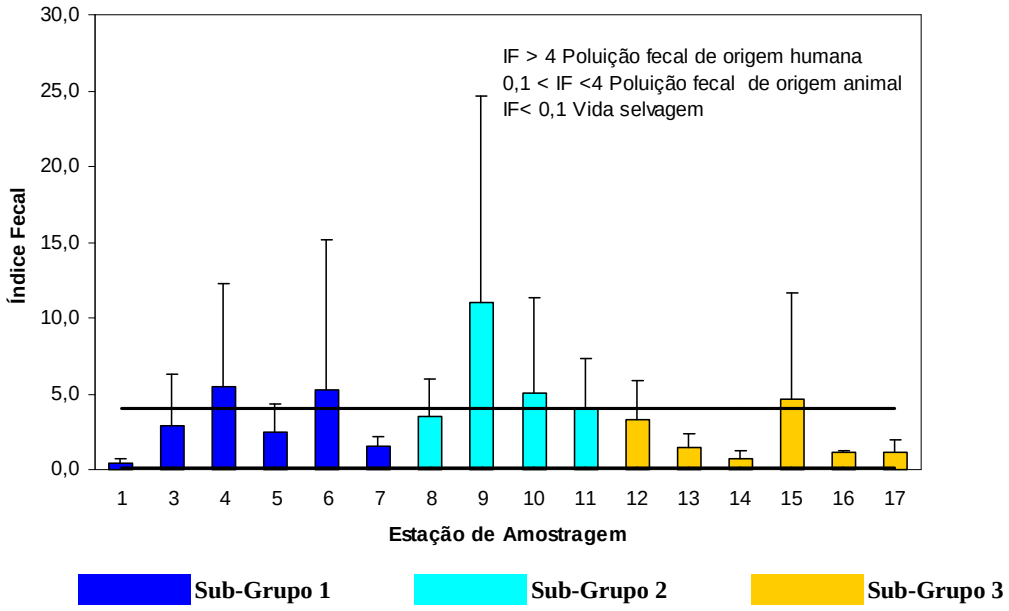
Figura 3.12 Distribuição dos valores de bactérias coliformes fecais (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do Lis

Em relação aos coliformes fecais, foram medidos valores acima de 100 000 ufc/100ml em pelo menos uma das campanhas de amostragem na estação de Batalha (9) e Lena (12), no rio Lena, no colector de Amor (15) e nas estações 5 e 6, no rio Lis, respectivamente a jusante do rio Lena e do colector de Amor. Curiosamente, a ribeira dos Milagres, em termos de contaminação fecal, não apresenta os maiores teores de bactérias coliformes. No que se refere aos coliformes totais (resultados na Tabela B.22), as estações mais preocupantes continuam a ser Batalha e Lena, no rio Lena, Amor e as estações mais a jusante no rio Lis, com especial destaque para as estações 5 e 6. Os resultados sugerem que a contaminação do rio Lis por coliformes é fundamentalmente fecal, uma vez que este parâmetro apresenta maior variabilidade espacial que os coliformes totais.

No que diz respeito aos estreptococos fecais, os valores mais elevados foram encontrados na ribeira dos Milagres (valores de estreptococos fecais na Tabela B.23). Valores preocupantes foram também encontrados nas estações Sirol, Lena e Amor. As estações das cabeceiras do Lis e do Lena constituem os casos menos graves, no entanto a diferença dos valores

encontrados nas duas é bastante significativa. De salientar que na bacia existe apenas uma captação superficial de água destinada à produção de água para consumo humano que abastece cerca de 50 000 habitantes, localizada no troço entre a estação de Fontes e Ponte dos Caniços, no rio Lis. Apesar deste troço do rio ser o que apresenta melhor qualidade microbiológica, os níveis de contaminação merecem especial atenção tendo em conta a utilização em causa. Nos últimos anos, o arranjo urbanístico das zonas junto às margens do rio Lis, no troço que atravessa a cidade de Leiria, promoveu o uso recreativo do rio. O rio Lis desagua no Oceano Atlântico na localidade de Vieira de Leiria, numa praia frequentada por milhares de pessoas no período estival. Os parâmetros microbiológicos na última estação de monitorização no rio Lis (estação de Ponte da Bajanca) apresentam concentrações elevadas, com sérios riscos para a saúde pública.

Tanto os coliformes fecais como os estreptococos fecais têm o seu habitat nos tractos intestinais humanos e animais, sendo usualmente referido o rácio coliformes fecais/estreptococos fecais (CF/EF ou índice fecal (IF)) como indicador da proveniência da contaminação fecal (*Sargeant, 1999).* Em efluentes humanos o rácio CF/EF é superior a 4, enquanto que em animais domésticos, incluindo o gado caprino, bovino, suíno, etc., o rácio CF/EF varia entre 0,1 e 4 e em animais selvagens o rácio é inferior a 0,1 (Coyne e Howell, 1994). A razão CF/EF é uma relação empírica que deve ser aceite com cautela, uma vez que os processos biológicos no curso de água dependem não só das proveniência das descargas, mas também da posição relativa destas e da variação das taxas de mortalidade dos microrganismos ao longo do curso de água. Os valores médios do rácio CF/EF nas estações monitorizadas são apresentados na Figura 3.13.



Sub-grupo 1 – estações de amostragem localizadas no rio Lis; Sub-grupo 2 – estações de amostragem localizadas no rio Lena; Sub-grupo 3 – estações de amostragem localizadas nos afluentes do rio Lis.

Figura 3.13 Rácio coliformes fecais/estreptococos fecais (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis

Os resultados sugerem que a estação correspondente à nascente do rio Lis (1) não apresenta indícios de contaminação fecal de origem humana. A contaminação está relacionada com a existência nesta zona de pequenas instalações de criação de gado, nomeadamente suínos e bovinos. Índices idênticos foram obtidos nas estações 5 e 7 (rio Lis), 13, 14, 16 e 17, respectivamente, ribeira do Sirol, ribeira dos Milagres, ribeira da Carreira e rio de Fora. De salientar que na área abrangida pelas estações 14, 16 e 17 se concentra um grande número de suiniculturas que justificam os valores baixos de IF obtidos (IF<4). No entanto, os valores individuais de bactérias fecais são elevados nestas estações, ao contrário do que acontece nas estações de montante, no rio Lis. É de salientar a estação 4, localizada a jusante da cidade de Leiria, onde existem esgotos domésticos não tratados ou eventualmente resultantes de sistemas de armazenamento e transporte inadequados. A principal estação de tratamento de esgotos situada em Leiria (ETAR de Olhalvas) encontra-se a montante da estação 3 onde já existem indícios de contaminação fecal de origem humana, que poderão estar relacionadas com falhas pontuais no sistema de tratamento e/ou descarga de efluentes não tratados. A situação no rio Lis revela a não existência de contaminação fecal humana significativa na estação 5, localizada a jusante da confluência do rio Lena e da ribeira dos Milagres. A estação

6 (Ponte Metálica em Monte Real) já revela a presença de contaminação fecal também de origem humana, introduzida pela entrada do colector de Amor (15), que apresenta contaminação fecal de origem animal e doméstica. Na estação mais a jusante do rio Lis não há evidência de contaminação fecal humana, o que está de acordo com os índices fecais obtidos nos afluentes monitorizados após a estação 6 (ribeira da Carreira e rio de Fora). A carga fecal nas últimas estações referidas é significativamente mais baixa do que nas estações 5, 6, 14 e 15. Relativamente ao rio Lena, a estação correspondente à nascente (8) apresenta indícios de contaminação fecal de origem humana e animal, provavelmente associada à existência de fossas sépticas; a estação 9, situada a jusante da cidade da Batalha, apresenta os maiores índices de contaminação fecal de origem humana, o que revela a existência de um tratamento de efluentes domésticos deficiente nesta área. Em termos de contaminação fecal de origem humana a situação vai melhorando ao longo do percurso do rio Lena (10, 11 e 12). No entanto, a carga fecal ainda é bastante elevada e parece associada a contaminação de origem animal, relacionada mais uma vez com a produção animal dispersa um pouco por toda a sub-bacia.

Fitoplâncton (clorofila-a)

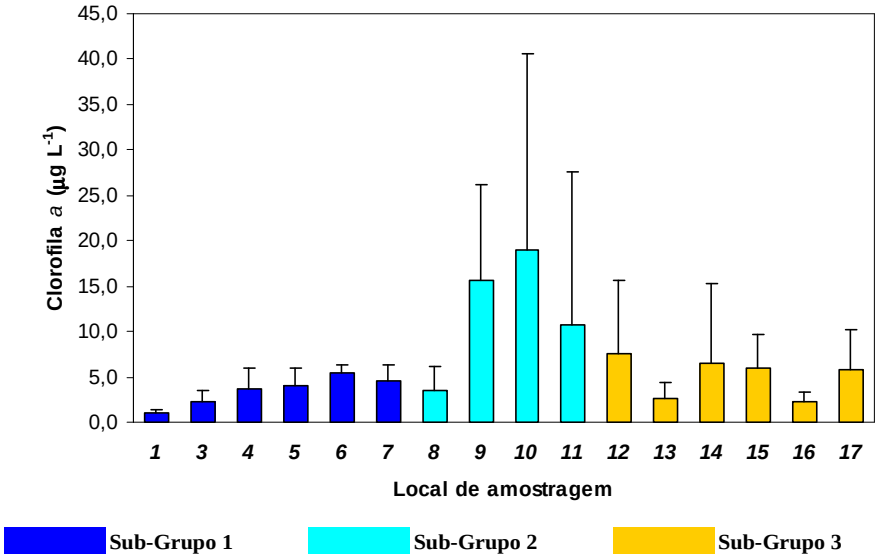
A clorofila-*a* é a medida tradicional para avaliar a quantidade de algas numa massa de água. A Tabela 3.18 apresenta as gamas de valores típicos médios (Thomann,1987) para cada estado de eutrofização.

Tabela 3.18 Classificação do estado trófico (Clorofila-a)

Estado trófico	**Clorofila-*a* (μg L^{-1})**
Oligotrófico	< 4
Mesotrófico	4-10
Eutrófico	> 10

A Figura 3.14 apresenta a distribuição da concentração média de clorofila-a nas estações da bacia do Lis. Como se pode observar, há várias estações no rio Lena, Batalha, Mil Homens e Ponte das Mestras, que revelam situações eutróficas. As estações de Fontes (1) e Carreira (16) representam os únicos casos em que o estado oligotrófico não é ultrapassado. Em geral, no período de Abril a Setembro, registaram-se as concentrações mais elevadas (máximos em

Julho de 2004), como resultado das condições propícias (nutrientes, radiação) existentes nesta época.



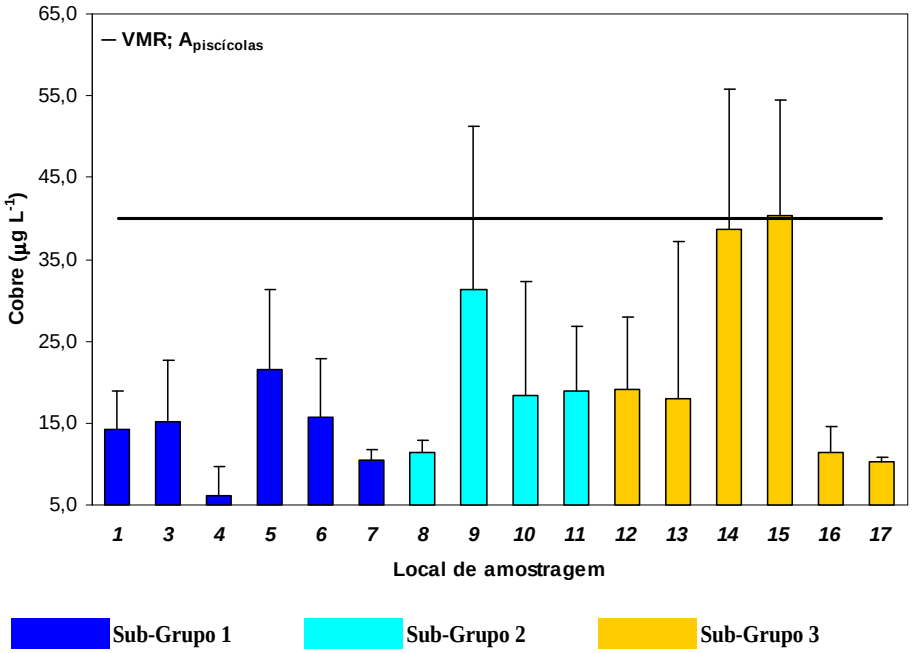
Sub-grupo 1 – estações de amostragem localizadas no rio Lis; Sub-grupo 2 – estações de amostragem localizadas no rio Lena; Sub-grupo 3 – estações de amostragem localizadas nos afluentes do rio Lis.

Figura 3.14 Distribuição da concentração de clorofila–a (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis

Metais

A análise da concentração de metais centrou-se no zinco, cobre, chumbo, ferro e manganês. Também foram efectuadas determinações de níquel, cádmio e crómio mas os valores obtidos foram inferiores ao limite de detecção (0,06 mg L^{-1} de Ni, 0,03 mg L^{-1} de Cd e 0,15 mg L^{-1} de Cr) em todas as amostras.

As estações de Batalha, no rio Lena, Milagres e Amor são as que apresentam concentrações mais elevadas de cobre, que, em algumas campanhas, chegam a colocar em risco a vida piscícola (concentrações superiores a 40 µg Cu L^{-1}), afectando o troço do rio Lis a jusante do rio Lena e ribeira dos Milagres, estação 5 (Figura 3.15). O sulfato de cobre é muitas vezes usado em suplementos nutricionais para a alimentação de animais, e a sua presença está relacionada com a actividade pecuária existente. Relativamente à estação de Amor, o cobre deve estar associado à utilização de sulfato de cobre na agricultura como pesticida.



VMR - valor máximo recomendado (cobre solúvel 40 µg L^{-1}) para fins piscícolas (ciprinídeos) (Decreto-Lei 236/98); Sub-grupo 1 – estações de amostragem localizadas no rio Lis; Sub-grupo 2 – estações de amostragem localizadas no rio Lena; Sub-grupo 3 – estações de amostragem localizadas nos afluentes do rio Lis.

Figura 3.15 Distribuição da concentração de cobre total (média e respectivo desvio padrão) na bacia hidrográfica do rio Lis

Para o zinco, a ribeira dos Milagres aparece como caso singular, afectando também o rio Lis após a confluência. No entanto, os teores encontrados não colocam em risco a vida aquática (concentrações de zinco apresentadas na Tabela B.24).

As concentrações de chumbo não ultrapassam os valores legais em nenhuma das estações monitorizadas. As estações Arrabalde e Ponte das Mestras, no rio Lena, são as que apresentam concentrações mais elevadas, o que sugere a existência de alguma contaminação nestes locais, que poderá estar associada a pequenas oficinas de metalomecânica dispersas no rio Lena, a montante da cidade de Leiria. O colector de Amor também apresenta concentrações de chumbo significativamente superiores às detectadas nos restantes afluentes, talvez associadas ao sector vidreiro fortemente implementado na freguesia de Marinha Grande (concentrações de chumbo apresentadas na Tabela B.26).

A ribeira dos Milagres apresenta-se como um caso particular de contaminação de ferro na bacia, mas não se detectaram valores significativamente elevados na estação do rio Lis imediatamente a jusante da confluência (estação 5). A estação de Milagres está a jusante das freguesias de Pousos, Colmeias e Milagres, com actividades económicas no sector da

manufactura de produtos metálicos e à actividade no sector suinícola (concentrações de ferro apresentadas na Tabela B.28).

Por último, os teores de manganês não indicam a existência de contaminação das águas em nenhuma das estações monitorizadas (Tabela B.27).

As concentrações de metais não revelam situações preocupantes de poluição na bacia do rio Lis, com excepção da ribeira dos Milagres (principalmente devido a Cu, Zn e Fe).

3.6 Análise Estatística Multivariada

Na metodologia de compilação de dados resultantes de programas de monitorização surgem frequentemente quadros multidimensionais onde estão registados valores numéricos (ou atributos qualitativos), resultantes de um conjunto de medidas (ou observações). Se os quadros em questão são de grandes dimensões, a interpretação dos valores brutos torna-se uma tarefa impraticável, e é então necessário recorrer a técnicas de análise de dados para sumariar a informação de partida.

A análise multivariada - análise grupal (AG), análise factorial (AF) por análise de componentes principais (ACP) e correlação de parâmetros - da matriz de dados obtida no programa de monitorização é uma ferramenta adequada para a gestão dos recursos hídricos na resposta a problemas de poluição (Simeonov et *al.*, 2003) que fornece informação adicional sobre a qualidade da água, o estado ecológico do sistema em estudo e ajuda a identificar os factores/fontes que mais influenciam o sistema.

A análise grupal e a análise factorial são ferramentas eficazes para relacionar vários objectos numa determinada matriz complexa (Reghunath *et al.*, 2002), que pode ser a relação entre as variáveis estudadas ou entre os locais de amostragem estudados.

Nos últimos anos têm sido publicados resultados da aplicação de ACP e AG à análise de uma variedade de sistemas associados à monitorização de águas de rios, redes de monitorização de qualidade de águas subterrâneas, interpretação de dados hidrográficos, avaliação da variação temporal e espacial de determinados contaminantes, como metais, pesticidas, compostos orgânicos, etc. (Vega *et al.*, 1998; Morales *et al.*, 1999; Helena *et al.*, 2000; Alberto *et al.*, 2001; Ouyang, 2005; Zeng e Rasmussen, 2005; Kannel *et al.*, 2007).

A análise estatística multivariada permite não só melhorar a rede de monitorização relativamente à gestão do número de locais a monitorizar, de modo a minimizar custos de amostragem e de análise, mas também seleccionar os parâmetros físicos, químicos e biológicos mais relevantes para a previsão das variações sazonais da qualidade das águas. (Vega *et al.*, 1998; Yu *et al.*, 1998; Singh et *al.*, 2004; Ouyang, 2005; Zeng e Rasmussen, 2005; Castañé *et al.*, 2006).

3.6.1 Análise factorial

A análise factorial constitui uma ferramenta eficaz para detectar semelhanças entre variáveis ou amostras. O princípio é determinar uma matriz de variância-covariância de um conjunto de dados com múltiplas variáveis. Os factores explicam parte da variabilidade total dos dados, expressa através da soma das variâncias das variáveis originais. As variáveis com uma maior variabilidade (variância) podem vir a ser predominantes na construção dos factores, mascarando, eventualmente, a presença de variáveis com menor variabilidade. Nesses casos, sugere-se trabalhar com as variáveis padronizadas, cujas variâncias são iguais a um e cujas covariâncias correspondem às correlações entre as variáveis originais. Um dos métodos mais utilizados é o baseado na análise de componentes principais (ACP). A vantagem desse método é que não há a pressuposição da normalidade das variáveis envolvidas. Tecnicamente os factores são obtidos a partir de uma decomposição da matriz de correlação (ou de covariância). Como resultado dessa decomposição, temos as cargas factoriais, que indicam o quanto cada variável está associada a cada factor e os valores próprios associados a cada um dos factores envolvidos. Os valores próprios são números que reflectem a importância do factor. Quando o número de factores é igual ao número de variáveis, a soma dos valores próprios corresponde à soma das variâncias dessas variáveis (no caso de se utilizar a matriz de correlação utilizam-se as variáveis padronizadas e, consequentemente, cada uma delas tem variância um, o que faz com que essa soma seja igual ao número de variáveis envolvidas). Desse modo, a razão entre um valor próprio e a soma das variâncias (ou o número de variáveis, no caso da matriz de correlação) indica a proporção da variabilidade total dos dados que é explicada pelo factor. A soma das proporções relativas aos factores considerados na análise reflecte a parte da variabilidade dos dados que é explicada pelo conjunto de factores. Para ajudar a interpretar os factores obtidos é comum a utilização de métodos que procedam à rotação dos eixos seleccionados. O método escolhido para este estudo foi o Varimax proposto por Kaiser (1958). Os factores sofrem rotação de forma a maximizar a soma do quadrado das

variâncias das quantidades no interior de cada coluna da matriz de rotação. O propósito é o de produzir valores grandes ou pequenos e evitar valores intermédios.

O primeiro factor obtido contabiliza a maior variação observada entre as variáveis, enquanto que cada um dos factores consecutivos é ortogonal em relação ao factor precedente, e introduz menor contribuição para a relação global. Pequenos valores próprios contribuem muito pouco para explicar a variabilidade dos dados, pelo que apenas os primeiros factores cujos valores próprios são elevados contribuem para a variabilidade dos parâmetros.

Neste estudo, a análise de componentes principais (ACP) foi aplicada aos parâmetros de qualidade da água e às estações de monitorização. Várias foram as metodologias desenvolvidas por Browne (1968), Tucker *et al.* (1969) e Hakstian *et al*. (1982), citados por Zeng e Rasmussen (2005), para determinar quantos factores se devem usar e quantos se devem ignorar. O critério mais amplamente utilizado foi desenvolvido por Kaiser (1958) que considera apenas os factores cujos valores próprios são superiores a 1, o que significa que cada um dos factores considerados permite interpretar a variabilidade dos dados como se de uma variável individual se tratasse. O teste de Scree (Cattel, 1996, citado por Zeng e Rasmussen, 2005) selecciona os factores úteis de acordo com a diferença entre os seus valores próprios, considerando aqueles com diferenças significativas (entre valores próprios subsequentes).

3.6.2 Análise grupal

A análise grupal (AG) consiste em classificar os valores de uma matriz de dados em grupos discretos (classes ou grupos). Existem diversas abordagens de *grupos* (Davis, 1986; Sharma, 1996), tais como: métodos de partição, métodos de origem arbitrária, métodos de similaridade mútua e métodos por agrupamento hierárquico. Cada um dos métodos difere do outro na maneira como agrupa os elementos.

A técnica classificatória multivariada da análise grupal pode ser utilizada quando se pretende explorar a similaridade entre estações de amostragem (modo Q) ou entre variáveis (modo R), definindo-as em grupo, considerando, no primeiro caso, todas as variáveis medidas em cada estação e, no segundo caso, todas as estações nas quais foram feitas as mesmas medições. Partindo de uma matriz inicial de dados [n, p] em que n (linhas) representa os locais de amostragem (amostras) e p (colunas) representa as variáveis, feitas as comparações usando um coeficiente de similaridade qualquer entre linhas, obtém-se uma matriz inicial de

coeficiente de similaridade de tamanho [n, n], que será utilizada no modo Q. Se a comparação for entre colunas, obtém-se uma matriz inicial de coeficientes de similaridade [p, p], que será utilizada no modo R. Embora diversas medidas de similaridade tenham sido propostas, somente duas são geralmente usadas: o coeficiente de correlação de Pearson e a medida de distância euclidiana. Na matriz inicial os coeficientes de correlação representam o grau de semelhança entre pares de objectos e os mesmos deverão ser arranjados de acordo com os respectivos graus de similitude, de modo a ficarem agrupados segundo uma disposição hierárquica. Os resultados quando organizados em gráfico, do tipo dendrograma, mostrarão as relações das amostras agrupadas.

Neste trabalho, a análise grupal foi usada para agrupar os locais de amostragem baseando-se na similitude entre os valores da concentração dos poluentes e agrupar variáveis, usando todas as estações nas quais foram feitas as mesmas medições.

A distância euclidiana foi usada para calcular as distâncias entre objectos e recorreu-se ao "método das médias das distâncias" (*average linkage method*) para os agrupar. Este método tem como base as distâncias médias entre todos os pares de objectos (os dois objectos tem de pertencer a grupos diferentes). Os dois objectos cuja distância média é a menor são ligados formando um novo grupo e a análise é efectuada a partir deste grupo para formar outros novos grupos. A metodologia aplicada pode dividir-se em 3 etapas:

Etapa 1 – Determinar as distâncias entre todos os objectos;

Etapa 2 – Agrupar os dois objectos correspondentes à menor distância média e recalcular as distâncias;

Etapa 3 – Repetir a etapa 2 até todos os objectos estarem agrupados.

Os grupos são apresentados na forma de um dendrograma que consiste num tipo especial de árvore constituída por grupos de variáveis ou estações de amostragem. Com o uso desta técnica, pode-se analisar os grupos em diferentes níveis de similitude, pois cada nível do dendrograma descreve um conjunto diferente de agrupamentos. Segundo Reghunath *et al.* (2002), a vantagem deste tipo de abordagem é a não exigência de nenhum conhecimento prévio do número de grupos, ao contrário do que acontece nos métodos não hierárquicos.

Neste estudo, os 27 parâmetros determinados nas 6 campanhas de amostragem no período de 2003 a 2006 foram submetidos a uma análise estatística multivariada. As concentrações inferiores ao limite de detecção foram substituídas por um valor igual a metade do valor do

limite de detecção, seguindo a metodologia adoptada por Zeng e Rasmussen (2005). Para a análise factorial foi utilizada a matriz total, considerando todos os parâmetros para todas as campanhas e todas as estações de amostragem (sub-grupo 1, sub-grupo 2 e sub-grupo 3), ou seja, fez-se uma análise conjunta da bacia hidrográfica do Lis, em termos de associação de parâmetros de qualidade. Para a análise grupal (AG), em termos de parâmetros, foi utilizada a matriz anterior. A aplicação da AG às estações de amostragem foi efectuada, separadamente, tendo em conta as estações situadas no rio Lis e afluentes (subgrupo 1 e subgrupo 3) e as estações situadas no rio Lena (subgrupo 2 e estação 12).

3.6.3 Resultados

3.6.3.1 Análise da matriz de correlação

A matriz de correlação múltipla para todas as variáveis de qualidade foi obtida a partir do cálculo dos respectivos coeficientes de correlação (r). Os coeficientes de correlação obtidos foram comparados com os coeficientes de correlação críticos ($r_{tabelado}$) em função do número de dados experimentais. Seleccionaram-se as correlações estatisticamente significativas para 99,9% de confiança.

O efeito da poluição antropogénica faz variar significativamente as espécies químicas e microbiológicas presentes no rio, surgindo um número elevado de correlações entre os parâmetros cuja variação tem a mesma proveniência (Tabela 3.19).

Tabela 3.19 Matriz de correlação dos parâmetros de qualidade da água na bacia do rio Lis

	pH	T	C	ORP	OD	Turv.	CQO	CBO5	Oxid.	COT	SST	Alcal.	N-org.	$N-NH_3$	$N-NO_2$	$N-NO_3$	P-total	Cl	Clor-a	CT	CF	EF	Zn	Cu	Pb	Mn	Fe
pH	1.00																										
T	-0.04	1.00																									
C	0.04	**0.43**	1.00																								
ORP	-0.10	-0.19	**-0.37**	1.00																							
OD	**0.39**	**-0.63**	**-0.55**	0.20	1.00																						
Turv.	0.02	-0.09	0.07	0.09	0.01	1.00																					
CQO	-0.05	0.11	0.32	0.00	**-0.35**	0.28	1.00																				
CBO_5	0.12	-0.08	0.18	0.04	-0.12	0.20	**0.76**	1.00																			
Oxid.	-0.17	-0.15	0.05	0.17	-0.16	**0.44**	**0.72**	**0.50**	1.00																		
COT	-0.19	0.09	0.17	0.10	-0.31	0.27	**0.66**	**0.44**	**0.75**	1.00																	
SST	0.08	-0.11	0.05	0.11	0.07	**0.94**	0.28	0.20	**0.45**	0.27	1.00																
Alcal.	**0.62**	0.17	0.26	-0.24	0.06	-0.08	0.03	0.16	-0.32	-0.19	-0.04	1.00															
N-org.	-0.19	0.28	**0.64**	-0.15	**-0.40**	0.13	**0.41**	0.26	**0.37**	**0.38**	0.16	-0.11	1.00														
$N-NH_3$	-0.06	0.17	0.25	-0.04	**-0.42**	0.09	**0.73**	**0.60**	**0.61**	**0.74**	0.11	0.04	0.32	1.00													
$N-NO_2$	0.10	0.15	**0.37**	-0.09	-0.27	0.11	**0.55**	0.27	**0.40**	**0.37**	0.09	0.09	0.21	**0.41**	1.00												
$N-NO_3$	0.05	**-0.48**	0.03	-0.10	0.28	0.08	0.00	0.01	0.09	-0.12	0.05	-0.09	0.02	-0.24	0.23	1.00											
P-total	-0.02	0.28	0.25	0.03	**-0.41**	0.23	**0.80**	**0.61**	**0.67**	**0.76**	0.23	0.05	0.32	**0.80**	**0.44**	-0.26	1.00										
Cl	-0.09	0.29	**0.78**	-0.26	**-0.45**	-0.04	0.25	0.14	0.16	0.24	-0.04	-0.07	**0.74**	0.20	0.27	0.06	0.17	1.00									
Clor-a	0.11	0.27	**0.40**	-0.19	-0.21	-0.04	0.32	**0.35**	0.16	0.27	-0.01	**0.35**	**0.44**	0.23	0.03	-0.22	**0.38**	**0.35**	1.00								
CT	-0.12	0.31	0.25	-0.10	**-0.45**	0.13	0.30	0.28	0.21	0.32	0.12	0.08	0.31	**0.54**	0.13	-0.32	**0.45**	0.20	0.14	1.00							
CF	-0.04	0.24	0.20	-0.08	**-0.34**	0.19	0.22	0.18	0.21	0.25	0.16	0.09	0.27	**0.42**	0.15	-0.27	**0.34**	0.17	0.07	**0.85**	1.00						
EF	0.08	0.12	0.14	-0.08	-0.13	0.06	0.11	0.14	0.15	0.13	0.05	0.07	0.16	0.28	0.20	-0.16	0.19	0.13	0.03	**0.40**	**0.69**	1.00					
Zn	0.04	-0.15	-0.05	0.05	-0.06	0.28	**0.52**	0.23	**0.58**	**0.52**	0.27	-0.06	0.05	**0.42**	**0.39**	0.09	**0.57**	-0.07	-0.03	0.05	0.07	0.09	1.00				
Cu	0.04	-0.17	-0.07	0.00	-0.12	0.21	**0.44**	0.31	**0.38**	**0.33**	0.25	0.06	0.07	**0.42**	0.27	-0.08	**0.42**	-0.09	0.02	0.32	0.22	0.05	**0.47**	1.00			
Pb	0.03	-0.13	-0.17	-0.04	-0.02	0.02	0.04	0.05	0.20	0.17	-0.01	-0.08	-0.05	0.14	-0.09	-0.07	0.06	-0.01	0.05	0.10	0.10	0.02	0.09	0.11	1.00		
Mn	0.11	0.14	0.18	-0.06	-0.22	0.03	**0.39**	0.20	**0.41**	**0.38**	0.11	0.10	0.33	**0.46**	0.29	-0.10	**0.41**	0.24	0.28	0.28	0.31	0.21	0.31	**0.35**	0.26	1.00	
Fe	0.13	-0.04	0.07	0.01	-0.09	0.15	**0.58**	**0.42**	**0.58**	**0.49**	0.16	0.04	0.09	**0.55**	**0.67**	0.16	**0.58**	0.03	0.02	0.15	0.17	0.29	**0.56**	0.32	0.11	**0.41**	1.00

Os valores assinalados a azul representam as correlações estatisticamente significativas para ($p < 0,05$).

Na análise global, verifica-se uma correlação positiva e significativa entre diferentes variáveis, incluindo a correlação positiva entre SST e turvação (r=0,935), a correlação entre os coliformes totais e os coliformes fecais (r=0,845) e entre estes e os estreptococos fecais (r=0,693), o que poderá indicar descarga conjunta de efluentes domésticos e de explorações pecuárias. A presença de esgoto doméstico é explicável pela ainda deficiente rede de saneamento básico, quer em termos de cobertura quer em termos de funcionamento, e a presença de efluentes de explorações pecuárias decorre da ausência de tratamento ou de tratamento inadequado (capacidade de resposta excedida dos sistemas de lagunagem disponíveis). A correlação positiva entre a CQO e a CBO_5 (r=0,759), oxidabilidade (r=0,718), COT (r=0,657), azoto amoniacal (r=0,731) e fósforo total (r=0,796), e de todos os parâmetros entre si, indica a mesma proveniência da contaminação orgânica, de fósforo e de azoto amoniacal, associada, possivelmente, às descargas suinícolas. A correlação positiva entre a CQO e CBO_5 indica a presença de matéria biodegradável facilmente oxidável.

A correlação dos parâmetros anteriores com Zn, Cu e Fe e destes, entre si, evidencia a mesma origem de contaminação; elevados teores de Zn e Cu foram determinados em efluentes suinícolas tratados por sistema de lagunagem (EPER, 2004). A caracterização do efluente suinícola efectuada neste estudo mostra a presença destes três metais em quantidades significativas, sendo o Fe o mais abundante.

A correlação entre condutividade e cloretos (r=0,779) era de esperar. A correlação entre cloretos e N-orgânico (r=0,637) tem a ver com a situação particular da sub-bacia do rio de Fora que apresenta os maiores teores de cloretos e N-orgânico da bacia do Lis. Este facto indicia contaminação industrial que poderá estar relacionada com a presença nas imediações de uma indústria de rações. Segundo Sena (2005), os efluentes deste tipo de indústrias possuem altos teores de N-orgânico e as substâncias utilizadas na higienização podem contribuir para a incorporação de cloro.

A correlação positiva entre nitritos e Fe (r=0,672) parece dever-se ao caso particular da sub-bacia ribeira dos Milagres que apresenta os maiores teores de nitritos e Fe da bacia, associado às descargas de efluentes suinícolas com alto teor de azoto amoniacal e microrganismos fecais que, através do processo de nitrificação, conduzem à formação de nitritos. Este tipo de efluentes apresenta também elevado teor de Fe. A correlação positiva, embora pouco significativa, entre o azoto amoniacal e as bactérias fecais parece confirmar esta situação particular.

A correlação positiva entre pH e alcalinidade (r=0,620) era de esperar.

Poucas são as variáveis que aparecem negativamente correlacionadas: correlação entre OD e temperatura (r=-0,627) e, apesar de pouco significativas, correlações entre OD e matéria orgânica (CQO), azoto amoniacal e orgânico, fósforo total e com os coliformes. O OD aparece também correlacionado negativamente com os cloretos (r=-0,446) e a condutividade (r=-0,548).

3.6.3.2 Análise de componentes principais (ACP) e análise grupal (AG)

As variáveis utilizadas para quantificar a heterogeneidade temporal e espacial da qualidade da água no Lis estão correlacionadas e exibem interacção estatística entre si, o que sugere que uma aproximação factorial multivariada de redução de dados poderá conduzir a resultados úteis. A análise factorial é utilizada para combinar parâmetros de qualidade da água em grupos homogéneos, sendo também possível avaliar a associação dos vários locais de amostragem em regiões homogéneas e assim reduzir o número de locais de amostragem (Zeng e Rasmussen, 2005).

Após factorização da matriz de correlação pelo método dos componentes principais (ACP) foram estimados os valores próprios e respectivas pontuações nos eixos (factores). Cada valor próprio corresponde a um factor próprio que identifica o grupo de variáveis que apresentam maior correlação entre si. A Tabela 3.20 apresenta os valores próprios e a capacidade explicativa dos dados de qualidade de água na bacia hidrográfica em estudo. Os primeiros oito factores, que apresentam valor próprio superior a 1, de acordo com o critério de Kaiser (1960), explicam 77,9% da variação total e os restantes factores não melhoram significativamente o nível de variância explicada. O primeiro factor contabiliza cerca de um quarto da variabilidade total, enquanto que os factores subsequentes ajudam na descrição da qualidade da água, mas em ordem decrescente de poder explicativo.

Tabela 3.20 Contribuição individual e cumulativa dos factores que explicam a variância total na qualidade da água na bacia Hidrográfica do rio Lis

Factor	**Valor próprio**	**Variância (%)**	
		Individual	Cumulativa
1	7,47	27,67	27,7
2	3,55	13,14	40,8
3	2,18	8,09	48,9
4	2,15	7,95	56,9
5	1,80	6,65	63,5
6	1,52	5,63	69,1
7	1,29	4,78	73,9
8	1,08	4,00	77,9
9	0,94	3,48	81,4
10	0,78	2,89	84,3
11	0,67	2,46	86,8
12	0,51	1,90	88,7
13	0,46	1,69	90,3
14	0,44	1,63	92,0
15	0,38	1,40	93,4
16	0,33	1,21	94,6
17	0,24	0,91	95,5
18	0,23	0,85	96,3
19	0,21	0,78	97,1
20	0,17	0,61	97,7
21	0,13	0,50	98,2
22	0,12	0,45	98,7
23	0,09	0,35	99,0
24	0,09	0,32	99,3
25	0,08	0,28	99,6
26	0,06	0,22	99,8
27	0,05	0,17	100,0

A carga factorial reflecte as correlações entre as variáveis e os factores obtidos. A Tabela 3.21 apresenta os pesos de cada variável para cada um dos 8 factores após rotação varimax. Valores superiores a 0,5 foram considerados significativos. Os resultados obtidos podem ser interpretados pelo estudo da correspondência entre várias variáveis e os eixos factoriais.

As variáveis CQO, CBO_5, Oxi-$KMnO_4$, COT, N-NH_3, N-NO_2^-, P-total, Zn, Cu e Fe apresentam pesos elevados no primeiro componente (factor 1). Este grupo de parâmetros reflecte a presença de contaminação orgânica associada a elevados teores de azoto, fósforo e metais, relacionados com as descargas poluentes típicas existentes na bacia do Lis, maioritariamente efluentes pecuários. A presença de múltiplos parâmetros neste factor poderá servir como indicativo da possibilidade de reduzir o número de parâmetros utilizado no programa de monitorização. Reduzindo o número dos parâmetros previamente seleccionados poderá haver possibilidade de incluir outros parâmetros (Zeng e Rasmussen, 2005). O segundo componente inclui a condutividade, cloreto e N-orgânico, relacionado com o tipo de

efluentes presentes na sub-bacia rio de Fora - efluentes da indústria de produção de rações para animais. O terceiro factor engloba os parâmetros microbiológicos associados à contaminação fecal existente na bacia hidrográfica. O quarto factor, que inclui pH e alcalinidade, sugere uma relação com as características químicas da água. O quinto factor relaciona-se com o material em suspensão, turvação e SST. O sexto factor inclui temperatura, OD e nitratos. O sétimo factor inclui Mn e Pb e está associado às características morfológicas da bacia (não parece resultar de contaminação antropogénica). O último factor inclui a CBO_5 e clorofila-*a*, relacionando a matéria orgânica com os nutrientes P e N e com o crescimento de algas.

Tabela 3.21 Peso dos factores (rotação Varimax) associados a cada variável de qualidade da água

Variável	**Factor**							
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
pH	0,016	-0,084	-0,007	**-0,848**	0,059	0,180	0,041	0,035
Temperatura	0,004	*0,369*	-0,092	-0,083	-0,084	**-0,776**	-0,162	-0,120
Condutividade	0,101	**0,871**	-0,088	-0,171	0,041	-0,171	-0,184	0,014
ORP	0,053	**-0,476**	0,030	*0,333*	0,094	0,056	-0,181	*0,302*
OD	-0,254	*-0,490*	0,154	-0,257	0,078	**0,619**	0,033	0,132
Turvação	0,172	0,016	-0,068	0,032	**0,953**	0,047	-0,036	-0,001
CQO	**0,818**	0,238	-0,045	0,015	0,133	-0,063	-0,064	***0,332***
CBO_5	***0,545***	0,092	-0,147	-0,139	0,058	0,101	-0,104	**0,640**
Oxi-$KMnO_4$	**0,733**	0,097	-0,074	*0,322*	*0,319*	0,158	0,177	0,237
COT	**0,708**	0,151	-0,073	0,286	0,146	-0,135	0,157	0,283
SST	0,180	-0,002	-0,049	-0,022	**0,956**	0,053	-0,003	0,042
Alcalinidade	-0,011	0,050	-0,052	**-0,890**	-0,053	-0,156	-0,062	0,103
N-orgânico	0,150	**0,785**	-0,145	0,203	0,134	-0,024	0,061	0,275
N-NH_3	**0,746**	0,120	*-0,310*	0,051	-0,057	-0,234	0,103	0,280
N-NO_2	**0,709**	*0,303*	-0,079	-0,135	-0,050	0,108	-0,249	*-0,304*
N-NO_3	0,069	0,201	0,192	0,012	0,029	**0,785**	-0,126	-0,231
P-total	**0,799**	0,108	-0,143	0,006	0,097	*-0,337*	0,017	***0,312***
Cloreto	0,046	**0,891**	-0,089	0,118	-0,056	0,012	0,038	0,089
Clorofila-a	0,090	*0,441*	0,103	-0,291	-0,034	-0,248	0,182	**0,589**
Coli. totais	0,196	0,137	**-0,740**	0,052	0,085	*-0,373*	0,106	0,114
Coli. fecais	0,132	0,108	**-0,911**	0,002	0,133	-0,204	0,104	0,016
Estrept. fecais	0,121	0,073	**-0,833**	-0,082	-0,039	0,079	-0,029	-0,043
Zn	**0,757**	-0,128	0,080	0,013	0,197	0,052	0,133	-0,164
Cu	**0,548**	-0,169	-0,108	-0,090	0,200	-0,091	0,260	-0,025
Pb	0,067	-0,060	-0,044	0,052	-0,030	0,053	**0,834**	0,018
Mn	*0,457*	0,237	-0,167	-0,134	-0,012	-0,087	**0,528**	-0,006
Fe	**0,829**	0,005	-0,154	-0,112	-0,046	0,198	-0,010	-0,121

Os valores assinalados a negrito são os estatisticamente significativos.

Na Figura 3.16 está representada a disposição das variáveis considerando apenas os 2 factores principais, ressaltando dois grupos estatisticamente significativos.

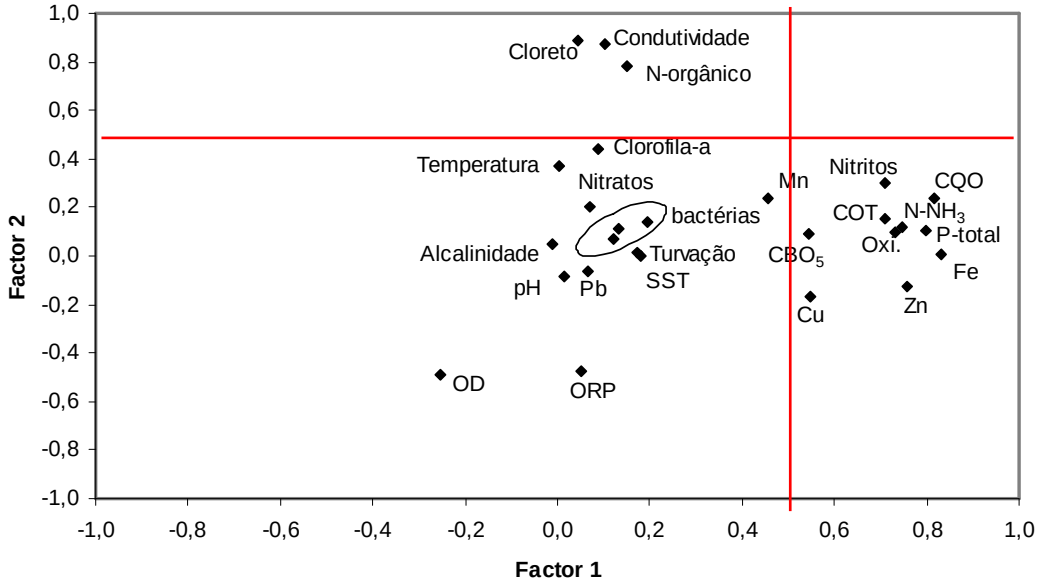
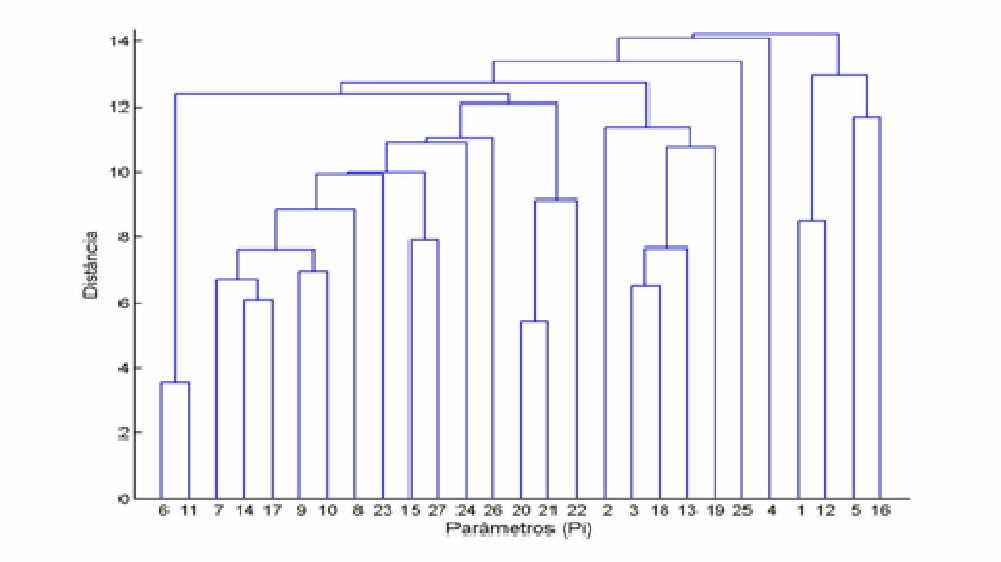


Figura 3.16 Disposição das variáveis segundo os dois primeiros factores da ACP

A origem de poluição na bacia do Lis é maioritariamente pontual, sendo 52,8% da variabilidade dos resultados (factores 1, 2, 4 e 8) explicada pela descarga de efluentes, domésticos, pecuários e industriais. Cerca de 20% está associada a fenómenos naturais como variações no clima, precipitação e tipo de solos (factores 3, 5 e 6). Cerca de 5% (factor 7) está associada às características geomorfológicas da bacia e os restantes 22% poderão estar associados a poluição difusa resultante do uso dos solos, que é mais difícil de qualificar.

A análise grupal, tal como a análise ACP entre variáveis (modo R), foi efectuada considerando a totalidade dos parâmetros de qualidade (Figura 3.17). Os resultados revelam dois grandes grupos: um constituído pelas variáveis Pb (25), ORP (4), pH (1), alcalinidade (12), OD (5) e nitratos (16) e o outro constituído pelas restantes 21 variáveis. O primeiro parece estar relacionado com as propriedades físico-químicas da água. O segundo grupo parece estar relacionado com as actividades poluentes existentes na bacia e pode ser subdividido em 4 subgrupos. O primeiro subgrupo, constituído pela turvação (6) e SST (11), refere-se ao material em suspensão. O segundo subgrupo constituído pela CQO (17), N-NH_3 (14), P-total (17), Oxi-$KMnO_4$ (9), COT (10), CBO_5 (8), Zn (23), Nitritos (15), Fe (27), Cu (24) e Mn (26) está associado a contaminação orgânica. O terceiro subgrupo constituído pelos coliformes totais (20), coliformes fecais (21) e estreptococos fecais (22) representa a

contaminação fecal e, por último, o subgrupo associado a um caso pontual de contaminação industrial, constituído por temperatura (2), condutividade (3), cloreto (18), N-orgânico (13) e clorofila-a (19). De uma forma geral estes resultados estão de acordo com os obtidos pela análise ACP, com excepção da temperatura e Mn, que não são considerados como indicadores de contaminação da água, mas resultantes das características geomorfológicas e climáticas da bacia.



pH	T	C	ORP	OD	Turv.	CQO	CBO5	Oxi	COT	SST	Alcal.	N-orgânico	N-amoniacal	Nitritos	Nitratos	P-total	Cloreto	Clorofila-a	Coli totais	Coli fecais	Estrept. fecais	Zn	Cu	Pb	Mn	Fe
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27

Figura 3.17 Análise grupal entre as variáveis

As variações detectadas, comparando os valores medidos nas diferentes campanhas de amostragem, não são facilmente explicáveis. A bacia do rio Lis foi sujeita durante décadas a fortes pressões antropogénicas, pelo que estas variações estão relacionadas com cargas poluentes domésticas, pecuárias e industriais, que não seguem um ciclo regular.

A fim de pesquisar a variação espacial da qualidade da água, foram estimados os valores próprios e respectivas cargas factoriais, tendo em conta os parâmetros com maior relevância para a qualidade da água na bacia (pH, temperatura, condutividade, OD, CQO, CBO_5, SST, alcalinidade, N-orgânico, N-amoniacal, nitritos, nitratos, P-total, cloreto, clorofila-a, coliformes totais, coliformes fecais, estreptococos fecais, Zn, Cu e Fe). A análise factorial foi aplicada separadamente ao rio Lis e principais afluentes (Lena, considerando a estação 12, ribeira do Sirol, estação 13, ribeira dos Milagres, estação 14, colector de Amor, estação 15,

ribeira da Carreira, estação 16 e rio de Fora, estação 17) e ao rio Lena (estações 8, 9, 10, 11 e 12).

Cada valor próprio corresponde a um factor próprio que identifica o grupo de estações que apresentam maior correlação entre si. Na análise espacial para identificar os factores mais relevantes foi aplicada o Teste Scree (Cattel, 1966), que selecciona os factores cujo valor próprio seja significativamente superior ao valor próprio subsequente, obtendo-se 5 factores que explicam 73,9% variância total, no rio Lis. Na Tabela 3.22 são apresentados os pesos de cada variável, para cada um dos 5 factores, após rotação varimax. O primeiro factor contabiliza 34% da variabilidade total e engloba as estações mais a jusante do rio Lis (5, 6 e 7), sujeitas a fortes pressões antropogénicas e localizadas em área agrícola. O segundo factor contempla as estações mais a montante, sujeitas a cargas poluentes "moderadas" (estações 1, 3 e 4). O terceiro factor inclui a ribeira do Sirol (13) e a ribeira da Carreira (16). Estes dois factores apresentam valores próprios semelhantes o que significa que contribuem da mesma forma para a variabilidade dos dados. O quarto e quinto factores, em conjunto, explicam cerca de 15% da variância total e incluem os afluentes mais poluídos, respectivamente, rio Lena (12) e colector de Amor (15), e ribeira dos Milagres (14) e rio de Fora (17).

Tabela 3.22 Carga factorial associada às estações de monitorização da qualidade da água no rio Lis e afluentes

Local	**Factor**				
	1	**2**	**3**	**4**	**5**
1	0,054	**0,765**	-0,090	*-0,390*	0,017
3	*-0,356*	**0,554**	-0,172	*-0,397*	-0,209
4	-0,292	**0,813**	-0,091	0,188	0,067
5	**-0,784**	0,160	0,002	-0,168	*0,358*
6	**-0,899**	0,092	-0,002	-0,180	0,000
7	**-0,758**	0,183	-0,300	0,037	0,023
12	-0,057	0,205	-0,198	**-0,735**	0,214
13	-0,074	0,243	**-0,673**	*-0,533*	0,011
14	-0,018	-0,090	*-0,534*	0,015	**0,599**
15	*-0,484*	-0,105	-0,075	**-0,616**	0,108
16	-0,153	0,122	**-0,835**	-0,130	0,054
17	-0,179	0,038	0,014	-0,206	**0,844**

Os valores assinalados a negrito são os estatisticamente significativos.

Na análise efectuada ao subsistema do rio Lena (Tabela 3.23) obtiveram-se 3 factores, de acordo com o Teste Scree, que explicam 87,4% da variância total. O primeiro factor inclui as estações mais a jusante (10, 11 e 12) e explica 54,7% da variabilidade total. O segundo factor

explica 18,5% da variância total e inclui a estação mais poluída, Batalha (9), e o último factor explica cerca de 15% da variância e inclui a estação menos poluída, Porto de Mós (8).

Tabela 3.23 Carga factorial associada às estações de monitorização da qualidade da água na sub-bacia do rio Lena

Local	**Factor**		
	1	**2**	**3**
8	-0,142	0,121	**0,964**
9	-0,131	**0,969**	0,111
10	**-0,677**	*0,465*	*0,402*
11	**-0,833**	0,193	0,266
12	**-0,893**	0,023	-0,018

Para a abordagem espacial, a análise grupal (AG), tal como a análise factorial (AF), foi aplicada separadamente ao rio Lis e principais afluentes (Lena, considerando a estação 12, ribeira do Sirol, estação 13, ribeira dos Milagres, estação 14, colector de Amor, estação 15, ribeira da Carreira, estação 16 e rio de Fora, estação 17) e rio Lena (estações 8 a 12). A Figura 3.18 representa o resultado da AG para o rio Lis e respectivos afluentes.

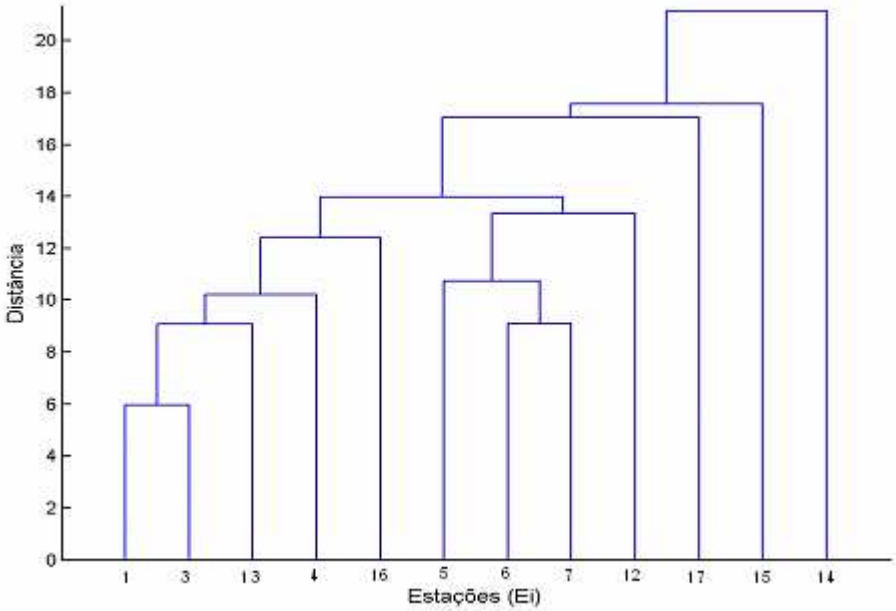


Figura 3.18 Dendrograma de similitude resultante da análise grupal efectuada às estações de amostragem do rio Lis e afluentes

Na Figura 3.19 é apresentado o dendrograma da análise grupal aplicada ao caso particular do rio Lena.

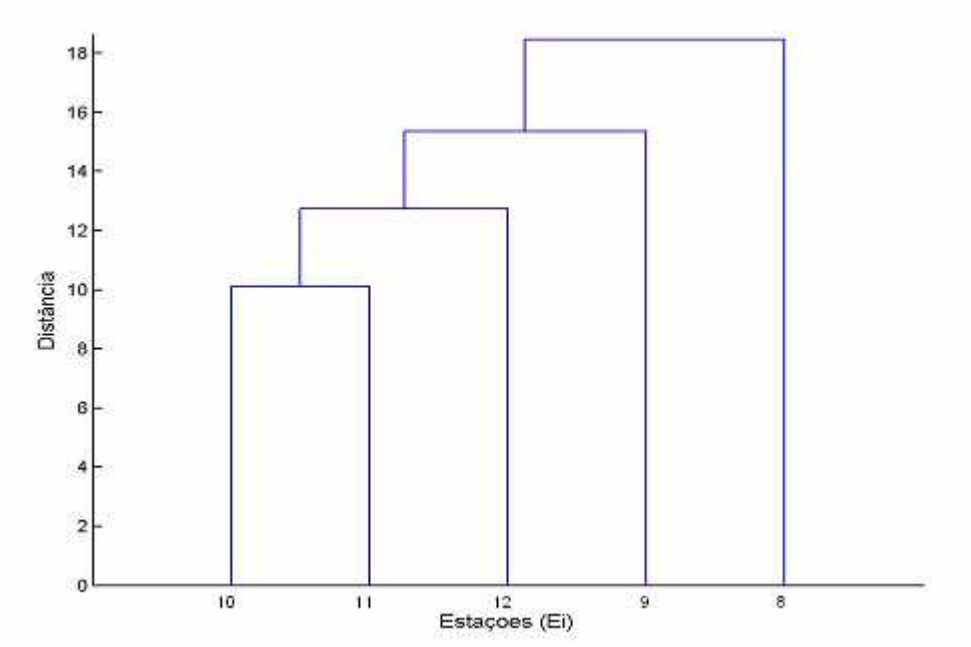


Figura 3.19 Dendrograma de similitude resultante da análise grupal efectuada às estações de amostragem do rio Lena

O dendrograma resultante da aplicação da análise grupal no modo Q, ou seja, entre amostras (estações de amostragem), correspondente ao rio Lis, apresenta uma nítida distinção entre o grupo de estações situadas no troço de montante (1, 3, 4) e as estações situadas a jusante das confluências dos principais afluentes (5, 6 e 7), o que revela a importância da carga poluente associada ao rio Lena (12), ribeira dos Milagres (14), colector de Amor (15) e rio de Fora (17). Numa análise mais detalhada podem-se considerar 3 grupos de similitude principais: (i) 1 e 3 associado ao subgrupo 13, 4 e 16; (ii) 5, 6 e 7 associado ao subgrupo 12 e (iii) 17, 15 e 14, em que cada uma das estações se pode considerar um subgrupo. As estações incluídas no grupo (i) incluem o troço a montante do rio Lis, a ribeira do Sirol (13), que aflui ao rio Lis a montante da estação 3, e a ribeira da Carreira (16), que aflui a montante da estação 7. Apesar de se verificar, através dos resultados obtidos, uma degradação da qualidade da água das estações 1 e 3 para a estação 4, situada a jusante de Leiria, pode-se considerar, em conjunto com as estações 13 e 16, como um subgrupo do grupo principal. Para economizar recursos, poderá no futuro não se incluir a estação 3 no plano de monitorização, sendo suficiente a

monitorização na estação 1, na exsurgência do rio Lis. As estações incluídas no grupo (ii) incluem as três mais a jusante do rio Lis (5, 6 e 7) e o afluente principal do Lis, o rio Lena (12). Este troço do rio Lis encontra-se fortemente condicionado pelas descargas nas sub-bacias do Lena, ribeira dos Milagres, colector de Amor e rio de Fora. O rio Lena, na margem esquerda, e a ribeira dos Milagres, na margem direita, entram no rio Lis a montante da estação 5, o colector de Amor, a montante da estação 6, e o rio de Fora, a montante da estação 7, o que explica a similitude obtida. Pode eventualmente retirar-se a estação 7 do plano de amostragem, mantendo as estações 5 e 6. O último grupo inclui os casos particulares da ribeira dos Milagres, com elevadas cargas poluentes provenientes do sector suinícola, o colector de Amor, com cargas poluentes de origem mista (doméstica, pecuária e industrial) e o rio de Fora, com carga poluente de origem industrial. Não esquecer que em todos os grupos estará também a contribuição da poluição de origem difusa, acentuada pelo volume de ocupação agrícola nas imediações do grupo (ii). Estes resultados, de forma geral, estão de acordo com a análise em componentes principais discutida anteriormente, que revela semelhanças espaciais nas estações 1, 3 e 4 (montante do rio Lis), estações 13 e 16, estações 5, 6 e 7 (jusante do rio Lis) e os afluentes mais poluídos 12 e 15 e 14 e 17.

A análise grupal efectuada à sub-bacia do rio Lena considera três grupos de estações: (i) - 10, 11 e 12; (ii) - 12 e (iii) - 8. As estações incluídas no grupo (i) pertencem ao troço mais a jusante do rio Lena. Esta classificação está de acordo com os restantes resultados obtidos, em que se verifica uma degradação da qualidade da água da estação 11 para a estação 12. Isto é explicado pela diferença temporal (uma semana) na amostragem das estações do subgrupo 2 e das estações do subgrupo 3, uma vez que as fontes de poluição presentes são as mesmas, já que as duas estações distam cerca de 300 m. No que diz respeito à redefinição do programa de amostragem, os resultados sugerem a monitorização em apenas uma estação representativa do grupo. Por questões de facilidade de recolha das amostras a opção seria a estação 11 (Ponte das Mestras), que também faz parte do programa de monitorização do INAG. A qualidade da água na estação incluída no grupo (ii) - Batalha, a jusante da cidade - encontra-se poluída devido a descargas de efluentes domésticos e efluentes industriais do sector de destilarias e bebidas. O troço mais poluído do rio Lena corresponde à área abrangida por esta estação, notando-se uma melhoria significativa no troço a jusante (estações 10 e 11). O último grupo inclui a estação situada próximo da nascente do rio Lena (Porto de Mós), que corresponde a uma zona pouco poluída. Estes resultados estão de acordo com os factores obtidos na análise em componentes principais.

3.7 Análise da Qualidade Ecológica das Águas Superficiais

De forma a complementar o estudo da qualidade das águas superficiais da bacia hidrográfica do rio Lis, com base na metodologia anterior, efectuou-se também a avaliação da qualidade ecológica das águas, de acordo com a Directiva-Quadro da Água (DQA). Esta avaliação foi baseada na informação constante no anexo 9 do Plano de Bacia Hidrográfica do rio Lis (PBH do rio Lis, 2001), uma vez que no plano de monitorização, levado a cabo no período de 2003-2006, não foram considerados os parâmetros biológicos devido às limitações de meios humanos e de recursos laboratoriais.

3.7.1 Metodologia

Numa primeira fase foi analisada a informação apresentada no PBH e comparada com os requisitos apresentados na DQA, recorrendo ao Índice de Qualidade de Informação da Qualidade Ecológica – IQIQE, desenvolvido por Bernardino *et al.* (2000).

Numa segunda fase foram determinados os rácios de qualidade ecológica das águas superficiais na bacia do Lis com base nos valores do índice biótico apresentados no PBH do rio Lis (2001).

O IQIQE baseia-se em dois tipos de informação: o primeiro está relacionado com a caracterização dos tipos de massas de água e o segundo diz respeito ao estudo dos elementos biológicos. Na ponderação do IQIQE considera-se que a informação relativa à caracterização dos tipos de massas de água tem um peso maior (dois terços do valor total do IQIQE) do que a informação correspondente ao estudo dos elementos biológicos (um terço do valor total do IQIQE). Por outro lado, considerou-se que a informação relativa à caracterização dos meios hídricos era um factor limitante da qualidade da informação global produzida, isto é, o valor da qualidade da informação global produzida não pode ser superior à qualidade da informação relativa à caracterização dos meios hídricos. A adopção deste critério justifica-se pelo facto de a caracterização dos tipos de meios hídricos constituir a base para a avaliação do estado ecológico (Tabela 3.24 e Tabela 3.25).

Tabela 3.24 Avaliação da qualidade da informação relativa à caracterização das águas superficiais da bacia Hidrográfica do rio Lis

Caracterização do tipo de massas de água	Significado	Pontuação
Seleccção de Ecótopos (A)	Ecótopos não seleccionados	0
	Ecótopos seleccionados segundo bibliografia ou critérios genéricos de classificação	1
	Ecótopos seleccionados com base em parâmetros geográficos e hidromorfológicos	2
Selecção de estações de referência (B)	Estações de referência não seleccionadas	0
	Estações de referência seleccionadas com base numa análise simplificada	1
	Estações de referência seleccionadas com base na análise das pressões antropogénicas	2

O valor a negrito corresponde à pontuação atribuída à bacia hidrográfica do rio Lis.

Tabela 3.25 Avaliação da qualidade da informação relativa ao estudo dos elementos biológicos

Parâmetros		Descrição	Pontuação
Flora aquática (C)	Composição e Abundância	Composição e Abundância	**3**
		Composição	1
		Nenhuma	0
	5 Classes	Caracterização	**1**
		Nenhuma Informação	0
Macroinvertebrados bentónicos (D)	Composição e Abundância	Composição e Abundância	**3**
		Composição	1
		Nenhuma	0
	5 Classes	Caracterização	**1**
		Nenhuma Informação	0
Ictiofauna (E)	Composição e Abundância	Composição e Abundância e Estrutura etária	3
		Composição e Abundância ou Estrutura etária	**2**
		Composição	1
		Nenhuma	0
	5 Classes	Caracterização	**1**
		Nenhuma Informação	0

Os valores a negrito correspondem à pontuação atribuída à bacia hidrográfica do rio Lis.

A definição dos ecótopos e a selecção dos pontos de amostragem na bacia foi realizada através da aplicação do Sistema A da DQA. Tendo por base esta classificação foram definidos 4 ecótopos e, consequentemente, 4 pontos de amostragem para a bacia do Lis, cujos critérios de diferenciação são a altitude, a área das sub-bacias e a tipologia geológica. Na Tabela 3.26 apresentam-se, de forma sistematizada, os ecótopos ocorrentes na bacia, os pontos de amostragem de referência e os pontos para complemento de informação.

Tabela 3.26 Identificação das estações definidas como ecótopos e pontos complementares da rede de amostragem da bacia hidrográfica do Lis

		Ecótopos		
Substrato geológico	***Altitude (m)***	***Área de Bacia (km²)***	***Estações***	***Pontos Complementares***
Silicioso	< 200	< 100	Rib.ª do Regato	Rib.ª da Escoura Rib.ª da Várzea
		100-1000	**17** – Fora	–
Calcário	< 200	< 100	**13** – Rib.ª do Sirol	Rib.ª dos Murtórios
		100-1000	**8** – Rio Lena	–

Adaptado do PBH do rio Lis (2001).

O cálculo do IQIQE foi efectuado recorrendo à seguinte equação:

$$IQIQE = \min\left[(A+B), \frac{6(A+B)+(C+D+E)}{9}\right] \tag{3.1}$$

Os valores do IQIQE variam de 0 a 4 (Tabela 3.27), de acordo com a pontuação atribuída aos parâmetros em análise.

Tabela 3.27 Índice de Qualidade de Informação da Qualidade Ecológica (IQIQE)

IQIQE	**Descrição**
0	Informação praticamente inexistentes
1	Informação insuficiente, com poucos elementos relevantes para a caracterização
2	Informação insuficiente, com muitos elementos relevantes em falta
3	**Informação razoável, mas com alguns elementos relevantes em falta**
4	Informação boa/muito boa, embora com alguns elementos em falta

O valor a negrito corresponde à pontuação atribuída ao PBHLis

É de realçar que a qualidade de informação foi avaliada apenas em termos dos critérios estabelecidos na DQA, e não em termos da qualidade ou fiabilidade dos dados obtidos e apresentados.

O PBH do Lis apresenta informação razoável relativa à caracterização dos tipos de massas de água, uma vez que foi feita a selecção dos ecótopos segundo o Sistema A, apesar de não ter sido verificada a homogeneidade dos ecossistemas correspondentes a cada um dos ecótopos estabelecidos. Quando não é verificada a aplicabilidade do Sistema A não se garante a correcta identificação de ecótopos, já que os elementos utilizados para a caracterização destes poderão ser insuficientes para representar de forma adequada a variabilidade espacial dos ecossistemas presentes. Apesar disto, foram estabelecidas estações de referência e estações complementares, representativas dos ecótopos tal como foram definidos. Estas estações de referência pretendem ser representativas de locais em que as pressões das actividades humanas são insignificantes (equivalente ao "estado excelente" da qualidade ecológica). São ainda apresentados outros pontos de amostragem em cada ecótopo, ditos pontos complementares, que pretendem corresponder a vários estados de qualidade ecológica das águas. Relativamente aos elementos biológicos, o PBH apresenta informação razoável, faltando a análise da estrutura etária da ictiofauna (IQIQE com pontuação 3).

3.7.2 Classificação do estado ecológico das águas superficiais

Da informação constante do PBH concluiu-se que, de entre os elementos biológicos avaliados, os macroinvertebrados bentónicos e a flora aquática são elementos com uma boa classificação no IQIQE, para os quais existe informação suficiente e compatível com uma primeira abordagem do estado ecológico das águas de superfície no rio Lis. Entre as comunidades biológicas do meio aquático, os macroinvertebrados bentónicos são os mais amplamente utilizados na avaliação da qualidade da água, recorrendo à utilização de índices bióticos. Isto deve-se às características favoráveis da sua biologia e ecologia, das quais se destacam a distribuição por todos os habitats aquáticos, os longos ciclos de vida que permitem uma interpretação das alterações da comunidade menos dependente das flutuações sazonais e o seu carácter sedentário que implica a exposição demorada às variações ambientais. Outra grande vantagem, inerente à utilização dos macroinvertebrados bentónicos na avaliação da qualidade da água, resulta do grande número de espécies que oferece uma grande variedade de respostas ao *stress* ambiental, possibilitando a diferenciação de vários graus de tolerância à

poluição. A todas estas particularidades acresce o facto de a amostragem qualitativa ser fácil e a sua identificação taxonómica ser suficientemente conhecida (Rosenberg e Resh, 1993; Zamora-Muñoz e Alba-Tecedor, 1996).

Em Portugal ainda não se efectuaram os estudos necessários ao desenvolvimento de índices bióticos específicos, adaptados aos grupos de macroinvertebrados característicos das comunidades dos nossos sistemas dulciaquícolas.

Um dos índices mais usados, baseado na comunidades de macroinvertebrados, é o BMWP' - *Biological Monitoring Work Party* - que resultou da adaptação do índice BMWP (criado pelo National Water Council, 1981) para a Península Ibérica por Alba-Tecedor e Sanchez-Ortega (1988).

Para o cálculo deste índice é apenas exigida a identificação até ao nível de família, sendo o valor final obtido pela soma dos valores atribuídos a cada uma das famílias, de acordo com a respectiva sensibilidade à contaminação orgânica. As amplitudes de variação consideradas para as cinco classes do BMWP' e o seu significado em termos de qualidade de água estão representadas na Tabela 3.28.

Tabela 3.28 Amplitude de variação para as 5 classes do BMWP' e o seu significado em termos de qualidade de água

Índice Biológico	Amplitude e valores	Classe	Significado
BMWP'	> 100	I	Águas não contaminadas
	61-100	II	Águas pouco contaminadas
	36-60	III	Águas contaminadas
	16-35	IV	Águas muito contaminadas
	< 15	V	Águas fortemente contaminadas

Os valores de BMWP' (PBH do rio Lis, 2001), para as estações de amostragem que foram contempladas neste estudo indicam que o rio de Fora (17) revela uma qualidade das águas crítica (classe IV). Na ribeira do Sirol (13), o valor de BMWP' está incluído na classe III, indicando uma qualidade duvidosa das águas. O rio Lena (8), incluído na classe II, apresenta uma qualidade aceitável das águas, com alguns efeitos evidentes de contaminação.

3.8 Modelação Matemática

3.8.1 Objectivos

O planeamento e a gestão dos recursos hídricos não se limita à identificação dos problemas específicos da água, abrangendo também as questões ligadas a outros recursos naturais e a sua relação com a dinâmica socio-económica da região.

A definição estratégica de prioridades tem como objectivo estabelecer uma hierarquia para os usos da água (urbano, industrial, agrícola, recreativo ou energético) nos diversos trechos da bacia.

Para a gestão sustentável de uma bacia hidrográfica devem avaliar-se diferentes opções estratégicas para uma correcta caracterização da situação e, se possível, encontrar ferramentas de gestão adequadas à prevenção (McIntyre e Wheater, 2004). A complexidade das relações entre as descargas de diferentes tipos de poluentes e as consequências na qualidade das águas do meio receptor é mais facilmente descrita recorrendo à modelação matemática (Deksissa *et al.*, 2004).

Os dados referidos neste estudo relativos às fontes de poluição e à qualidade de água na bacia do rio Lis são insuficientes para caracterizar com rigor os processos de contaminação e depuração do meio hídrico. A amostragem foi efectuada em determinados locais e com uma certa periodicidade, originando valores discretos no espaço e no tempo, a partir dos quais foi estimada a qualidade da água em locais e instantes diferentes. A modelação matemática é uma ferramenta que permite obter essas estimativas e validar os valores de determinados parâmetros face aos valores de outros parâmetros. A qualidade da água do meio hídrico depende de um conjunto de factores, designadamente o clima, o caudal, a época do ano, as fontes de contaminação, que, por combinação, definem um número elevado de cenários. Para identificar as piores situações de qualidade da água, ou para identificar as melhores medidas correctivas que sejam eventualmente necessárias, é preciso analisar os vários cenários e prever as suas consequências em termos de qualidade do sistema hídrico. A modelação matemática é a ferramenta apropriada para atingir esse objectivo (Park e Lee, 2002; Pelletier e Bilhimer, 2006; Kannel *et al.*, 2007; Paliwal *et al.*, 2007).

No âmbito deste estudo, a modelação matemática visa os seguintes objectivos:

- Estimar a qualidade da água em locais e instantes que não foram objecto de monitorização;
- Identificar possíveis erros nos dados;
- Estabelecer relações causa-efeito entre as fontes de poluição e a qualidade da água;
- Analisar os impactes de vários cenários;
- Contribuir para uma eventual reestruturação do programa de monitorização estabelecido.

3.8.2 Modelação de sistemas fluviais

Da pesquisa bibliográfica de trabalhos sobre modelação hidráulica e qualidade de sistemas fluviais verificou-se que, ao longo da última década, diversos autores tem utilizado o modelo QUAL2E (Brown e Barnwell, 1987; Drolc e Konkan, 1996) e, mais recentemente, o QUAL2Kw (Pelletier *et al.*, 2006). A maioria dos trabalhos publicados tem um mesmo objectivo e segue, basicamente, a mesma metodologia: (i) discretização do sistema, de acordo com a descrição do modelo e calibração através dos dados recolhidos no campo (amostragem); (ii) validação dos parâmetros de calibração em simulações prováveis, de forma a prever danos na qualidade da água e (iii) discussão dos resultados, permitindo a tomada de acções no presente e no futuro que visem a melhoria da qualidade da água.

A primeira etapa, que consiste na discretização do sistema a ser modelado e subsequente calibração de dados experimentais, é fundamental para que haja consistência entre as simulações e a realidade e, com isso, a modelação possa ser efectivamente usada como ferramenta de gestão em processos de decisão. A fiabilidade dos dados observados, o domínio das condições hidráulicas e morfológicas da bacia, a localização exacta das fontes pontuais de poluição e dos pontos de extracção são factores fundamentais para uma calibração adequada. Quanto maior o nível de conhecimento sobre a bacia, mais precisa será a calibração e consequentemente melhor será a correlação entre os valores calculados e os observados.

A segunda etapa utiliza os parâmetros ajustados na calibração para prever, através de simulações, cenários futuros que possam originar ameaças ou melhorias na qualidade das águas.

A terceira etapa é a própria análise da situação da bacia em função dos resultados obtidos nas etapas anteriores, permitindo uma adequada gestão dos recursos hídricos e uma intervenção no processo de tomada de decisões em relação ao sistema fluvial.

Van Orden e Uchrin (1993) aplicaram o QUAL2E na modelação da dinâmica de OD, no rio Whippany, localizado a noroeste de Nova Jersey (EUA). A calibração do modelo considerou a carência bioquímica de oxigénio de compostos de carbono e azoto, a carência bioquímica de oxigénio dos sedimentos, azoto amoniacal e nitratos, e processos naturais como a fotossíntese e respiração de algas. Concluíram que uma melhoria na qualidade dos efluentes em CBO_5 e azoto amoniacal e uma remoção mais eficiente dos sólidos dissolvidos elevaria a concentração de OD para níveis desejáveis para a protecção da vida aquática.

Em 1996, Drolc e Koncan procederam à modelação da qualidade da água do rio Sava, na Eslovénia, usando o QUAL2E, para avaliar o impacto da descarga de dois afluentes, na região de Ljubljana. O modelo foi alterado para que apenas os efeitos mais críticos sobre a concentração de OD fossem considerados, em detrimento da fotossíntese. A calibração foi complementada com uma análise de sensibilidade de vários parâmetros.

No Plano de Bacia Hidrográfica do rio Lis (2001), foi utilizado o modelo QUAL2E para a modelação matemática da qualidade da água da bacia, considerando o troço do rio Lis da nascente até Monte Real (26 km de percurso) e o rio Lena num percurso de 20 km, desde a nascente. A calibração do modelo foi efectuada para os parâmetros CBO_5, OD, azoto e fósforo. Os dados gerados pelo modelo mostraram grande proximidade com os dados observados, com discrepâncias acentuadas para os períodos de maior caudal. De referir que os valores de OD obtidos pelo modelo situaram-se quase sempre na gama de sobresaturação, o que é dificilmente explicável.

Em 2002, a qualidade da água do rio Nakdong, na Coreia, foi modelada por Park e Lee utilizando o QUAL2E. Neste trabalho foram introduzidas alterações na estrutura computacional do modelo, inserindo alguns parâmetros adicionais como: conversão da mortalidade de algas em CBO, desnitrificação e alteração no OD causada por plantas fixas. Estas alterações conduziram a um novo modelo QUAL2K, que foi calibrado e comparado com o QUAL2E.

Em 2004, Pelletier e Bilhimer, simularam o efeito de descargas diárias em diferentes parâmetros de qualidade (temperatura, OD, CBO, P, N e condutividade) para o rio

Stillaguamish, Washington, recorrendo ao algoritmo genético de calibração descrito por Pelletier *et al.* (2006).

Finalmente em 2007, Kannel *et al.* aplicaram o modelo QUAL2Kw à modelação da qualidade da água no rio Bagmati, Nepal. O modelo foi aplicado para simular diferentes estratégias de gestão durante os períodos críticos, de forma a garantir a manutenção dos critérios mínimos de qualidade da água (OD > 4 mg O_2 L^{-1}; CBOC ≤ 3,0 mg O_2 L^{-1}; azoto total ≤ 2,5 mg N L^{-1}; fósforo total ≤ 0,1 mg N L^{-1}; pH entre 6,5 e 8,5 e temperatura máxima de 20 ºC) tendo em conta (i) modificações nas cargas poluentes, (ii) aumento de caudal e (iii) arejamento local. Os resultados do modelo mostraram que o arejamento local era eficaz para manter a concentração de OD acima do valor mínimo. A combinação de cargas pontuais, aumento de caudal e arejamento local era adequada à garantia da manutenção dos critérios de qualidade dentro dos limites aceitáveis.

3.8.3 Descrição do modelo

Neste trabalho utilizou-se o modelo QUAL2Kw (versão 5.0), desenvolvido por Pelletier *et al.* (2006) e disponível gratuitamente (htttp://www.ecy.wa.gov/), para avaliar a qualidade da água da bacia do Lis. Constitui uma versão actualizada do modelo de QUAL2E (Brown e Barnwell, 1987) e uma adaptação do modelo de QUAL2K desenvolvido originalmente por Chapra e Pelletier (2003). É um modelo estacionário, unidimensional, que simula a variação de vários parâmetros da qualidade da água ao longo de uma rede hidrográfica, em condições de regime permanente. O modelo pode ser aplicado a situações em que os valores de caudal e de carga poluente afluentes ao sistema se mantêm sensivelmente constantes no tempo.

A estrutura do QUAL2Kw contempla os seguintes elementos adicionais: (i) programação em Visual Basic para Aplicações (VBA), usando o Excel como interface gráfica do utilizador; (ii) segmentação do sistema em trechos do rio compreendidos em elementos igualmente espaçados, ou não, podendo as fontes de poluição, pontuais ou dispersas, e as extracções ser introduzidas em qualquer trecho do rio; (iii) inclusão da interacção de OD com plantas fixas; (iv) conversão da morte algal em CBOC; (v) redução da CBOC devido à desnitrificação; (vi) interacção sedimentos - água; (vii) extinção da luz, calculada em função das algas, dos detritos e dos sólidos inorgânicos; (viii) simulação da densidade de microrganismos patogénicos, em função da temperatura, da luz, e da sedimentação; (ix) simulação do metabolismo na zona hiporreica.

A ferramenta de suporte inclui um algoritmo genético para facilitar a calibração do modelo em aplicação a cursos de água específicos. O algoritmo genético é utilizado para encontrar a combinação dos parâmetros cinéticos e das constantes do modelo que melhor descrevem os dados observados (Pelletier *et al.*, 2006), mesmo em sistemas com um número limitado de dados (Kannel *et al.*, 2007).

O modelo QUAL2Kw consegue simular inúmeros parâmetros incluindo a temperatura, pH, carência bioquímica de oxigénio carbonácea (CBOC), oxigénio dissolvido (OD), carência de oxigénio dos sedimentos (COS), azoto orgânico, azoto amoniacal, nitratos e nitritos, fósforo orgânico, fósforo inorgânico, biomassa algal (na forma de clorofila-*a*), azoto total, fósforo total, coliformes, algas de fundo e outros [carência química de oxigénio (CQO), sólidos suspensos totais (SST), carbono orgânico total (COT), etc.]. Os processos simulados incluem o rearejamento, respiração e crescimento algal, degradação da matéria orgânica e mineralização, nitrificação, decantação e actividade bentónica.

3.8.3.1 Segmentação

O modelo simula o curso principal de um rio conforme descrito na Figura 3.20. Os afluentes não são modelados explicitamente, mas podem ser representados como entradas (fontes pontuais).

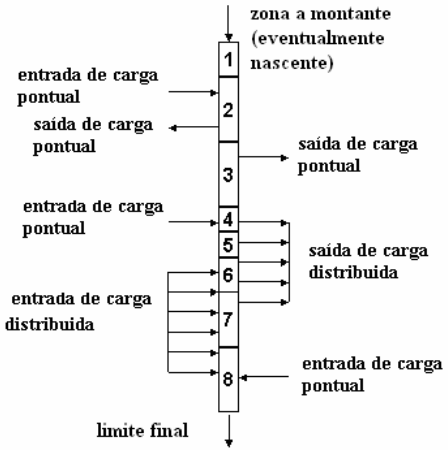


Figura 3.20 Esquema de segmentação do rio com as respectivas entradas e saídas

3.8.3.2 Balanço de massa

Um balanço em estado estacionário aplicado a um dado segmento, traduz-se por:

$$Q_i = Q_{i-1} + Q_{in,i} - Q_{ab,i} \tag{3.2}$$

onde Q_{i-1} [m³ d^{-1}] é o caudal de entrada do trecho a montante i-1; $Q_{in,i}$ (m³ d^{-1}) é o caudal que entra devido a cargas pontuais e difusas; $Q_{ab,i}$ (m³ d^{-1}) é o caudal que sai do trecho devido a extracções pontuais e difusas e Q_i (m³ d^{-1}) é o caudal de saída do trecho i para o trecho a jusante i+1 (Figura 3.21).

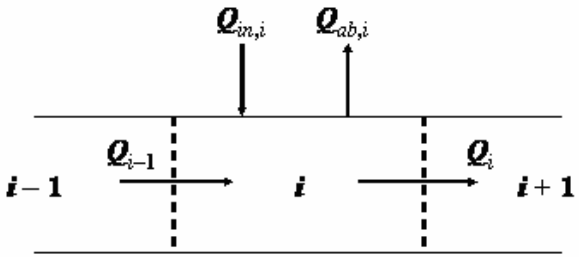


Figura 3.21 Balanço de massa no ponto de mistura

O balanço total de cargas é representado por:

$$Q_{in,i} = \sum_{j=1}^{psi} Q_{ps,i,j} + \sum_{j=1}^{npsi} Q_{nps,i,j} \tag{3.3}$$

onde $Q_{ps,\ i,\ j}$ = carga pontual j que entra no trecho i (m³ d^{-1}); psi = número total de cargas pontuais que entram no trecho i; $Q_{nps,\ i,\ j}$ = carga difusa j que entra no trecho i (m³ d^{-1}) e npsi = número total de cargas difusas que entram no trecho i.

O balanço total do caudal relativo às extracções traduz-se pela expressão:

$$Q_{ab,i} = \sum_{j=1}^{pai} Q_{pa,i,j} + \sum_{j=1}^{npai} Q_{npa,i,j} \tag{3.4}$$

onde $Q_{pa,\ i,\ j}$ = caudal de extracção pontual j no trecho i ($m^3\ d^{-1}$); pai = número total de extracções de cargas pontuais do trecho i; $Q_{npa,\ i,\ j}$ = caudal de extracção difuso j no trecho i ($m^3\ d^{-1}$) e npai = número total de extracções difusas do trecho i.

As fontes de carga difusas e extracções são modeladas como se indica na Figura 3.22, sendo a fonte de carga difusa ou extracção demarcada pelos pontos iniciais e finais do segmento. O caudal é distribuído ao longo de cada trecho de uma forma ponderada.

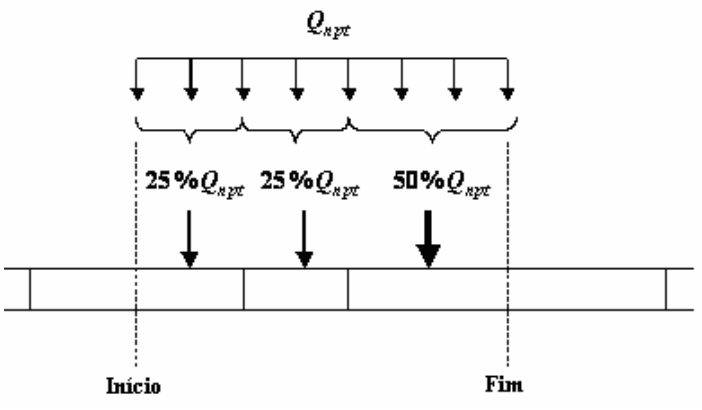


Figura 3.22 Esquema de distribuição da carga difusa em cada trecho

Depois de obtido o caudal de saída de cada trecho, a profundidade e a velocidade podem ser calculadas por três métodos diferentes. Neste estudo descreve-se apenas a forma de cálculo recorrendo à equação de Manning.

3.8.3.3 Características hidráulicas

Cada trecho do rio é idealizado como um canal trapezoidal (Figura 3.23). Para caudal constante, a equação de Manning pode ser usada para expressar a relação entre o caudal e a profundidade:

$$Q = \frac{S_0^{1/2}}{n} \frac{A_c^{5/3}}{P^{2/3}} \tag{3.5}$$

onde Q = caudal ($m^3\ s^{-1}$), S_0 = inclinação do fundo ($m\ m^{-1}$), n = coeficiente de rugosidade ou factor de Manning, A_c = área de secção transversal (m^2), e P = perímetro molhado (m).

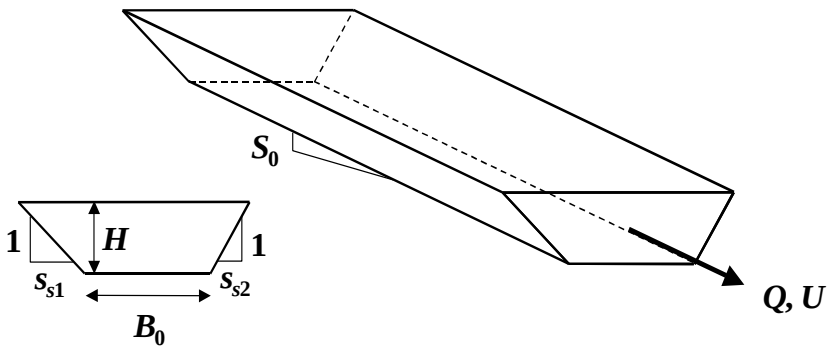


Figura 3.23 Canal trapezoidal

A área de secção transversal de um canal trapezoidal é calculada através da seguinte expressão:

$$A_c = [B_0 + 0.5(s_{s1} + s_{s2})H]H \tag{3.6}$$

onde B_0 = largura do fundo (m), s_{s1} e s_{s2} = inclinações laterais ($m\ m^{-1}$) e H = profundidade (m).

O perímetro molhado é calculado da seguinte forma:

$$P = B_0 + H\sqrt{s_{s1}^2 + 1} + H\sqrt{s_{s2}^2 + 1} \tag{3.7}$$

Após substituir as equações (1.6) e (1.7) na equação (1.5), esta pode ser resolvida para determinar a profundidade (Chapra e Canale, 2002),

$$H_k = \frac{(Qn)^{3/5}\left(B_0 + H_{k-1}\sqrt{s_{s1}^2 + 1} + H_{k-1}\sqrt{s_{s2}^2 + 1}\right)^{2/5}}{S^{3/10}\left[B_0 + 0.5(s_{s1} + s_{s2})H_{k-1}\right]} \tag{3.8}$$

onde k = 1, 2..., n (n = número das iterações). O método iterativo termina quando o erro estimado é inferior a um valor especificado (0,001 %). O erro estimado é calculado como:

$$\boldsymbol{\varepsilon_a(\%) = \left|\frac{H_{k+1} - H_k}{H_{k+1}}\right| \times 100} \tag{3.9}$$

A velocidade pode ser determinada através da equação de continuidade:

$$U = \frac{Q}{A_c} \tag{3.10}$$

e a largura média da base do canal, B (m), pela expressão:

$$B = \frac{A_c}{H} \tag{3.11}$$

Na Tabela 3.29 são apresentados valores sugeridos para o coeficiente de rugosidade de Manning.

O coeficiente de rugosidade de Manning, n, varia com o caudal e a profundidade (Gordon et al., 1992). Como a profundidade diminui para caudais baixos, a rugosidade relativa aumenta.

Tabela 3.29 Coeficiente de rugosidade ou factor de Manning para várias superfícies de canais abertos (Cortes, 2004)

Tipo de canal e sua caracterização	**n**
Escavado ou canalizado	
Em terra, linear e uniforme:	
Limpo, recente	0,016-0,020
Cascalho, secção uniforme, limpo	0,022-0,030
Com macrófitas	0,022-0,033
Em terra, curvilíneo e de escoamento lento:	
Sem vegetação	0,023-0,030
Macrófitas densas	0,030-0,040
Fundo de cascalho	0,030-0,050
Rios	
Rios de pequena dimensão:	
Perfil curvilíneo, limpo	0,033-0,045
Escoamento lento, macrófitas	0,050-0,080
Rios de montanha, sem vegetação, margens declivosas arborizadas:	
a) leito: domina gravilha e cascalho	0,030-0,050
b) leito: domina cascalho e pedras	0,040-0,070
Rios de planície:	
Gramíneas curtas	0,025-0,035
Áreas cultivadas	
Sem culturas	0,020-0,040
Culturas maturas	0,030-0,050
Árvores	
Salgueiros densos	0,110-0,200
Floresta densa com cheias até aos ramos	0,080-0,120
Rios principais:	
Secção irregular sem blocos ou arbustos	0,025-0,060
Secção muito irregular	0,035-0,100

3.8.3.4 Tempo de passagem

O tempo de residência em cada trecho é calculado como:

$$\tau_k = \frac{V_k}{Q_k} \tag{3.12}$$

onde τ_k = tempo de residência no segmento k (d), V_k = volume do segmento k (m³), igual a $A_{c,k}*\Delta x_k$, sendo Δx_k o comprimento do segmento k (m). Estes tempos são acumulados para determinar o tempo de passagem a montante até jusante de cada trecho i:

$$t_{t,i} = \sum_{k=1}^{i} \tau_k$$

(3.13)

3.8.3.5 Dispersão longitudinal

A fórmula utilizada para determinar a dispersão é baseada nas características hidráulicas do canal (Fischer *et al.*, 1979):

$$E_{p,i} = 0.011 \frac{U_i^2 B_i^2}{H_i U_i^*}$$

(3.14)

onde $E_{p,i}$ = dispersão longitudinal entre os trechos i e i + 1 ($m^2\ s^{-1}$), U_i = velocidade ($m\ s^{-1}$), B_i = largura (m), H_i = profundidade média (m) e U_i^* = velocidade de corte ($m\ s^{-1}$), calculada pela expressão:

$$U_i^* = \sqrt{gH_i S_i}$$

(3.15)

onde g = aceleração da gravidade [9,81 $m\ s^{-2}$] e S = inclinação do canal ($m\ m^{-1}$).

A dispersão numérica é calculada como:

$$E_{n,i} = \frac{U_i \Delta x_i}{2}$$

(3.16)

A dispersão E_i (a utilizar nos cálculos do modelo) é fixada da seguinte forma:

- Se $E_{n,i} \leq E_{p,i}$, a dispersão do modelo $E_i = E_{p,i} - E_{n,i}$.

- Se $E_{n,i} > E_{p,i}$ a dispersão do modelo $E_i = 0$.

Para o último caso, a dispersão resultante será maior do que a dispersão real. No entanto, para a maioria dos rios em estado estacionário, o impacto desta sobrestimativa no gradiente da concentração é desprezável.

3.8.3.6 Constituintes do modelo

As variáveis do modelo são apresentados na Tabela 3.30. Os constituintes da coluna de água são indicados pelo subscrito "$_1$" ou sem subscrito, e da água na zona hiporreica são indicados pelo subscrito "$_2$", excepto para as algas de fundo na coluna de água (a_b IN_b, IP_b) e as bactérias heterotróficas na zona hiporreica dos sedimentos (a_h).

Tabela 3.30 Variáveis de estado do modelo

Variável	Simbolo	Unidades
Condutividade	s_1, s_2	µmhos
Sólidos inorgânicos suspensos	$m_{i,1}$, $m_{i,2}$	mg D L^{-1}
Oxigénio dissolvido	o_1, o_2	mg O_2 L^{-1}
CBOC de reacção lenta	$c_{s,1}$, $c_{s,2}$	mg O_2 L^{-1}
CBOC de reacção rápida	$c_{f,1}$, $c_{f,2}$	mg O_2 L^{-1}
Azoto orgânico	$n_{o,1}$, $n_{o,2}$	µg N L^{-1}
Azoto amoniacal	$n_{a,1}$, $n_{a,2}$	µg N L^{-1}
Nitratos	$n_{n,1}$, $n_{n,2}$	µg N L^{-1}
Fósforo Orgânico	$p_{o,1}$, $p_{o,2}$	µg P L^{-1}
Fósforo Inorgânico	$p_{i,1}$, $p_{i,2}$	µg P L^{-1}
Fitoplâncton	$a_{p,1}$, $a_{p,2}$	µg A L^{-1}
Detritos (SST)	$m_{o,1}$, $m_{o,2}$	mg D L^{-1}/
Patogénicos (CF)	x_1, x_2	cfu 100 mL^{-1}
Constituinte genérico (CQO)	gen_1, gen_2	mg O_2 L^{-1}
Alcalinidade	Alk_1, Alk_2	mg $CaCO_3$ L^{-1}
Carbono inorgânico total	$c_{T,1}$, $c_{T,2}$	mol L^{-1}
Algas de fundo (a_b na camada da superfície da água), biofilme constituído por bactérias heterotróficas (a_h na zona *hiporreica* para opção do nível 2)	a_b,a_h	g D m^{-2}
Azoto nas algas de fundo	IN_b	mg N m^{-2}
Fósforo nas algas de fundo	IP_b	mg P m^{-2}

A simulação dos constituintes da qualidade da água presente na zona hiporreica é opcional no QUAL2Kw (3 opções disponíveis). Neste estudo seleccionou-se a opção nível 1: simulação da oxidação rápida de CBOC usando uma cinética de ordem zero ou de primeira ordem com atenuação de CBOC e OD na zona hiporreica dos sedimentos.

O balanço de massa para um determinado constituinte, excepto para as variáveis relacionadas com as algas de fundo, é descrito para cada trecho da seguinte forma (Figura 3.24):

$$\frac{dc_i}{dt} = \frac{Q_{i-1}}{V_i} c_{i-1} - \frac{Q_i}{V_i} c_i - \frac{Q_{ab,i}}{V_i} c_i + \frac{E'_{i-1}}{V_i}(c_{i-1} - c_i) + \frac{E'_i}{V_i}(c_{i+1} - c_i) + \frac{W_i}{V_i} + S_i + \frac{E'_{hyp,i}}{V_{1,i}}(c_{2,i} - c_i)$$

(3.17)

onde W_i = entrada externa do constituinte no trecho i (mg d^{-1}) e S_i = ganhos e perdas de constituinte devido a reacções e a mecanismos de transferência de massa (mg m^{-3} d^{-1}). A permuta de massa entre a superfície de água e a zona hiporreica é representada pelo fluxo de permuta hiporreica no trecho i [$E'_{hyp,i}$ em m^3 d^{-1}] e pela diferença de concentração na superfície da água (c_i) e na zona hiporreica ($c_{2,i}$).

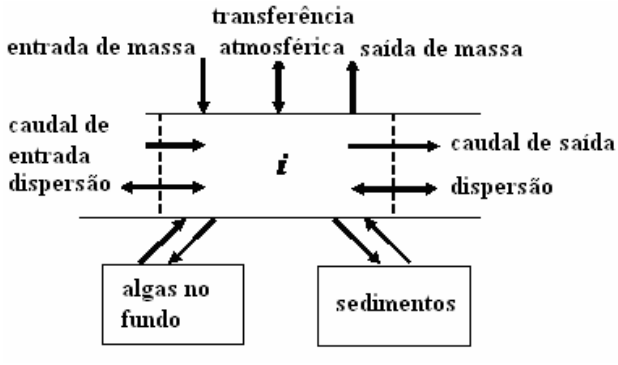


Figura 3.24 Balanço de massa

Com excepção das bactérias heterotróficas no biofilme, o balanço de massa geral para a concentração de um constituinte na zona hiporreica dos sedimentos em cada trecho ($c_{2,i}$) é descrito como:

$$\frac{dc_{2,i}}{dt} = S_{2,i} + \frac{E'_{hyp,i}}{V_{2,i}}(c_i - c_{2,i})$$

(3.18)

onde $S_{2,i}$ = ganhos e perdas do constituinte na zona hiporreica devido a reacções, $V_{2,i} = \phi_{s,i} A_{st,i} H_{2,i} / 100$ = volume de água nos poros na zona hiporreica (m^3), $\phi_{s,i}$ = porosidade nessa zona [número adimensional entre 0 e 1], $A_{st,i}$ = área superficial do trecho (m^2) e $H_{2,i}$ = espessura da zona hiporreica (cm). A porosidade corresponde à fracção da fase líquida no volume total de sedimento (Chapra, 1997).

A carga externa é calculada como

$$W_i = \sum_{j=1}^{psi} Q_{ps,i,j} c_{psi,j} + \sum_{j=1}^{npsi} Q_{nps,i,j} c_{npsi,j} \tag{3.19}$$

onde $c_{ps,i,j}$ é a concentração da carga pontual j para o trecho i (mg L^{-1}) e $c_{nps,i,j}$ é a concentração da carga difusa j no trecho i (mg L^{-1}).

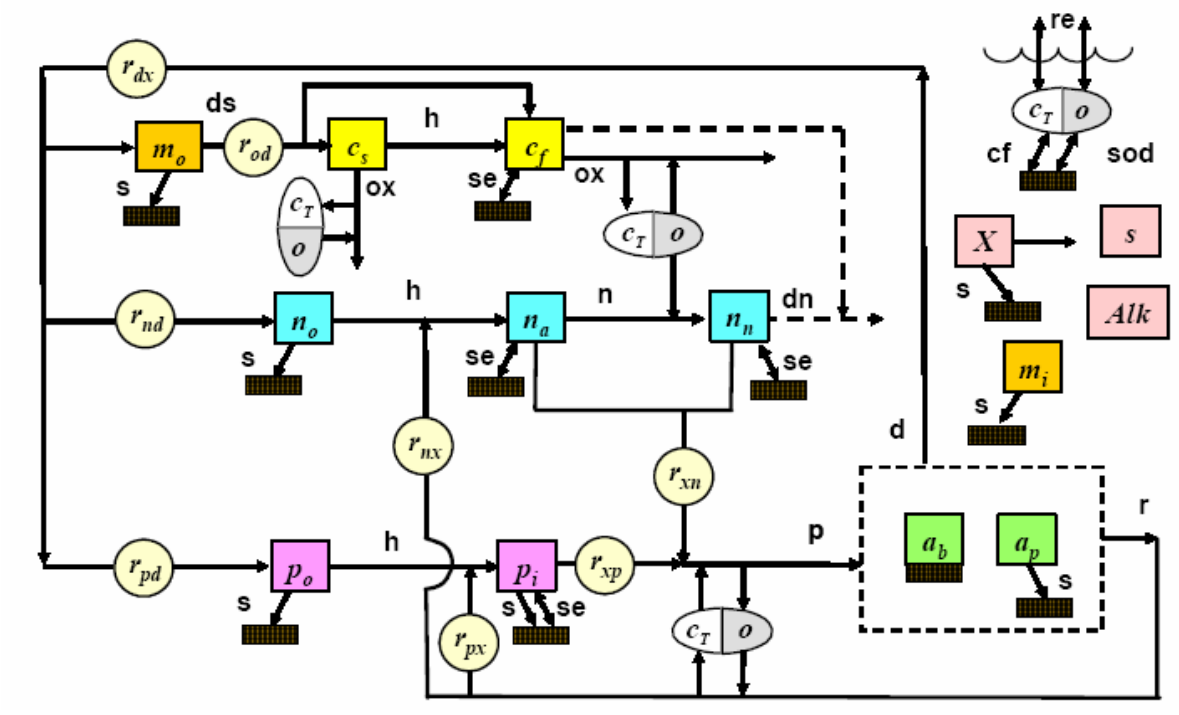
Para as algas de fundo, os termos de transporte e carga são omitidos,

$$\frac{da_{b,i}}{dt} = S_{b,i} \qquad \frac{dIN_b}{dt} = S_{bN,i} \qquad \frac{dIP_b}{dt} = S_{bP,i} \tag{3.20}$$

onde $S_{b,i}$ = ganhos e perdas de biomassa de algas de fundo devidos a reacções (mg D m^{-2} d^{-1}), $S_{bN,i}$ = ganhos e perdas de azoto das algas de fundo devidos a reacções (mg N m^{-2} d^{-1}), e $S_{bP,i}$ = ganhos e perdas de fósforo das algas de fundo devidos a reacções (mg P m^{-2} d^{-1}).

Para os sólidos suspensos inorgânicos, fitoplâncton e detritos sedimentados assume-se que são depositados da coluna de água para os sedimentos na zona de diagénese e não entram na água dos poros da zona hiporreica uma vez que a permuta hiporreica não ocorre em áreas de deposição de sedimentos finos. O submodelo de diagénese dos sedimentos considera o metabolismo anaeróbio do material depositado nos sedimentos. O submodelo hiporreico considera o metabolismo aeróbio das bactérias heterotróficas na zona hiporreica. Os materiais suspensos são transportados para a água através dos poros da zona hiporreica.

Os ganhos e perdas para as variáveis de estado são apresentados na Figura 3.25 (de referir que os níveis internos de azoto e fósforo nas algas de fundo não são descritos). O processo de interação entre as variáveis de estado foi descrito de forma detalhada por Pelletier e Chapra (2005).



As variáveis de estado são definidas na Tabela 3.30. Processos cinéticos: dissolução (ds), hidrólise (h), oxidação (x), nitrificação (n), desnitrificação (dn), fotossíntese (p), morte (d), e respiração/excreção. Processos de transferência de massa: rearejamento (re), sedimentação (s), carência de oxigénio dos sedimentos (COS), permuta nos sedimentos (se) e fluxo de carbono inorgânico nos sedimentos (cf). O subscrito x para as conversões estequiométricas é relativo à clorofila-a (a) e peso seco (d) para o fitoplâncton e algas do fundo, respectivamente.

Figura 3.25 Modelos cinéticos e processos de transferência de massa

Para além das variáveis de estado do modelo, o QUAL2Kw também apresenta outras variáveis compostas que são calculadas da seguinte forma:

Carbono Orgânico Total (mg C L^{-1}):

$$COT = \frac{c_s + c_f}{r_{oc}} + r_{ca} a_p + r_{cd} m_0 \tag{3.21}$$

Azoto Total (µg N L^{-1}):

$$NT = n_0 + n_a + n_n + r_{na} a_p \tag{3.22}$$

Fósforo Total (µg P L^{-1}):

$$PT = p_o + p_i + r_{pa} a_p \tag{3.23}$$

Azoto Total de Kjeldahl (µg N L^{-1}):

$$NTK = n_o + n_a + r_{na} a_p \tag{3.24}$$

Sólidos Suspensos Totais (mg D L^{-1}):

$$SST = r_{da} a_p + m_o + m_i \tag{3.25}$$

CBOC última (mg O_2 L^{-1}):

$$CBOCu = c_s + c_f + r_{oc} r_{ca} a_p + r_{oc} r_{cd} m_0 \tag{3.26}$$

3.8.3.7 Reacções fundamentais

As equações químicas que representam a maioria das reacções bioquímicas que ocorrem no modelo são (Stumm e Morgan, 1996):

Fotossíntese (P) e Respiração (R):

<u>Amónio como substrato:</u>

$$106\ CO_2 + 16\ NH_4^+ + HPO_4^{2-} + 108\ H_2O \underset{R}{\overset{P}{\rightleftharpoons}} C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}P + 107\ O_2 + 14\ H^+ \tag{3.27}$$

<u>Nitrato como substrato:</u>

$$106\ CO_2 + 16\ NO_3^- + HPO_4^{2-} + 122\ H_2O + 18\ H^+ \underset{R}{\overset{P}{\rightleftharpoons}} C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}P + 138\ O_2 \tag{3.28}$$

Nitrificação:

$$NH_4^+ + 2\ O_2 \longrightarrow NO_3^- + H_2O + 2H^+$$

(3.29)

Desnitrificação:

$$5\ CH_2O + 4\ NO_3^- + 4\ H^+ \longrightarrow 5\ CO_2 + 2\ N_2 + 7\ H_2O$$

(3.30)

3.8.3.8 Relações estequiométricas

O modelo requer que a relação estequiométrica referente à matéria orgânica (ex: fitoplâncton e detritos) seja especificada pelo utilizador. O modelo sugere a seguinte relação, como uma primeira aproximação (Redfield et al., 1963; Chapra, 1997):

$$100\ \text{g D} : 40\ \text{g C} : 7200\ \text{mg N} : 1000\ \text{mg P} : 1000\ \text{mg A}$$

Os termos D, C, N, P e A referem-se, respectivamente, a matéria orgânica (peso seco), carbono, azoto, fósforo e clorofila-*a*. Refira-se que a clorofila-*a* é o parâmetro com o maior intervalo de variação (500-2000 mg A) (Laws e Chalup, 1990; Chapra, 1997).

Estes valores são depois combinados para determinar as razões estequiométricas:

$$r_{xy} = \frac{\text{X}}{\text{Y}}$$

(3.31)

onde X = massa do elemento X (g) e Y = massa do elemento Y (mg).

Por exemplo, a quantidade de detritos (em peso seco) que é libertada devido à morte de 1 mg de fitoplâncton pode ser calculada como:

$$r_{da} = \frac{100\ \text{g D}}{1000\ \text{mg A}} = 0{,}1 \frac{\text{g D}}{\text{mg A}}$$

(3.32)

O modelo requer que sejam introduzidas as taxas de consumo e produção de oxigénio. Se o azoto amoniacal é o substrato, pode ser usada a seguinte razão (baseada na Equação 3.27)

para determinar a quantidade de oxigénio produzido por grama de biomassa produzida através da fotossíntese:

$$r_{oca} = \frac{107\ \text{mol O}_2(32\ \text{g O}_2/\text{mol O}_2)}{106\ \text{mol C}(12\ \text{g C/mol C})} = 2{,}69\frac{\text{g O}_2}{\text{g C}} \tag{3.33}$$

Se o nitrato é o substrato, calcula-se a seguinte razão (baseada na Equação 3.22):

$$r_{ocn} = \frac{138\ \text{mol O}_2(32\ \text{g O}_2/\text{mol O}_2)}{106\ \text{mol C}(12\ \text{g C/mol C})} = 3{,}47\frac{\text{g O}_2}{\text{g C}} \tag{3.34}$$

A Equação 3.27 também é usada para estabelecer a relação estequiométrica relativa ao oxigénio consumido na respiração das plantas.

Para a nitrificação, obtém-se a seguinte razão:

$$r_{on} = \frac{2\ \text{mol O}_2(32\ \text{g O}_2/\text{mol O}_2)}{1\ \text{mol N}(14\ \text{g N/mol N})} = 4{,}57\frac{\text{g O}_2}{\text{g N}} \tag{3.35}$$

Como representado pela Equação 3.30 a CBOC é utilizada durante a desnitrificação:

$$r_{ondn} = 2.67\frac{\text{gO}_2}{\text{gC}}\frac{5\ \text{molC}\times 12\ \text{gC/molC}}{4\ \text{molN}\times 14\ \text{gN/molN}}\times\frac{1\ \text{gN}}{1000\ \text{mgN}} = 0{,}00286\frac{\text{gO}_2}{\text{mgN}} \tag{3.36}$$

3.8.3.9 Efeito da Temperatura

O efeito da temperatura na constante cinética das reacções de primeira-ordem é representado por

$$\text{k(T)} = \text{k(20)}\theta^{\text{T}-20} \tag{3.37}$$

onde k(T) = constante cinética da reacção (d^{-1}) à temperatura T (^oC) e θ = coeficiente da temperatura para a reacção.

3.8.4 Descrição do Sistema Sujeito a Modelação

O rio Lis foi modelado em todo o seu percurso (40 km), da nascente até à foz. A largura média do rio varia entre 2 e 15 m. O rio foi dividido em 38 segmentos (trechos), todos com um comprimento inferior a 2 km (Figura 3.26). O declive longitudinal dos segmentos varia entre 0,007 e 0,001. Considerou-se que o canal era de secção transversal trapezoidal com um declive de encostas constante e igual. Assumiu-se para o coeficiente de Manning um valor igual a 0,035.

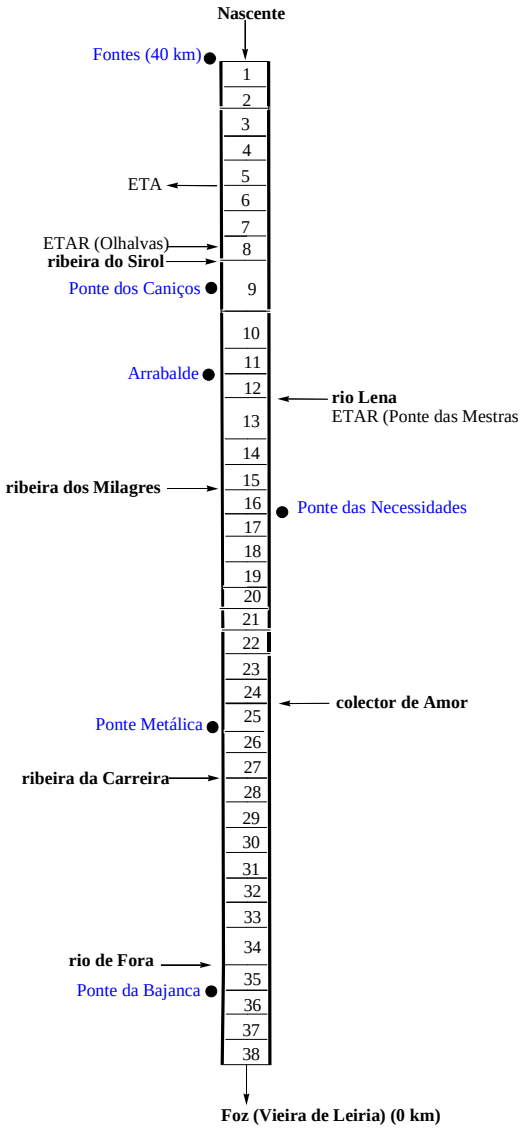


Figura 3.26 Segmentação do rio Lis com identificação dos pontos de monitorização e a localização das fontes pontuais de poluição (afluentes monitorizados)

O modelo Qual2Kw foi aplicado ao rio Lis considerando os dados obtidos em 5 de Julho de 2004 e 15 de Novembro de 2006. Os resultados são apresentados para os 3 dias de simulação (tempo necessário para o sistema atingir o estado estacionário).

3.8.5 Calibração do modelo

O processo de calibração tem por objectivo encontrar os valores apropriados para os parâmetros do modelo. Para atingir tal objectivo é necessários seleccionar várias situações em que sejam conhecidas as variáveis de entrada e de saída do modelo. Os valores dos parâmetros serão aqueles que, a partir das variáveis de entrada, permitam ao modelo reproduzir os valores das variáveis de saída (Pelletier *et al.*, 2006).

Para garantir a robustez das estimativas dos parâmetros é necessário calibrar o modelo para várias situações, que representem a variedade de cenários que o modelo terá de simular. Quanto maior e diverso o número de situações disponíveis para calibrar o modelo, maior será a confiança do utilizador nos resultados previstos pelo modelo.

O conhecimento dos intervalos de valores admissíveis para cada parâmetro e dos valores típicos em função das características dos cursos de água é de extrema importância porque, com os dados disponíveis, é extremamente difícil indicar, para alguns dos parâmetros de calibração, os valores específicos para o rio em causa (Pelletier *et al.*, 2006).

No caso específico do rio Lis, foram atribuídos valores aos parâmetros do modelo de modo a reproduzir os valores observados nos 6 locais monitorizados, para um período de estiagem (Julho de 2004) e para um período de elevado caudal (Novembro de 2006). Os parâmetros introduzidos foram: caudal (m^3 s^{-1}), temperatura (ºC), pH, alcalinidade (mg $CaCO_3$ L^{-1}), condutividade (µS cm^{-1}), OD (mg O_2 L^{-1}), CBOC (mg O_2 L^{-1}), N-orgânico (µg N L^{-1}), N-amoniacal (µg N L^{-1}), nitritos e nitratos (µg N L^{-1}), P-orgânico (µg P L^{-1}), P-inorgânico (µg P L^{-1}), clorofila-*a* (µg L^{-1}), CQO (mg O_2 L^{-1}) e coliformes fecais (ufc/100 mL).

No modelo foram introduzidos os valores medidos na nascente (estação Fontes), as entradas dos afluentes monitorizados (estações Sirol, Lena, Milagres, Amor, Carreira e Fora) e as cargas estimadas (domésticas e provenientes do sector suinícola). Foram ainda consideradas as descargas provenientes das ETARs, Olhalvas e Ponte das Mestras (Figura 3.26).

Desprezaram-se as contribuições das cargas poluentes industrias e das bovinoculturas, uma vez que o efeito gerado é pouco significativo. A extracção mais significativa é a que ocorre para produção de água para consumo humano (ETA de Leiria). As estações de Fontes, Ponte dos Caniços, Arrabalde, Ponte das Necessidades, Ponte Metálica e Ponte da Bajanca constituem os pontos de verificação do modelo.

O modelo simula a CBOC considerando a CBOC de reacção lenta e a CBOC de reacção rápida. A $CBOC_{lenta}$ aumenta devido à dissolução de detritos e diminui por via da hidrólise. A $CBOC_{rápida}$ aumenta por via da hidrólise da CBOC de reacção lenta e diminui por via da oxidação e desnitrificação, equações descritas em Pelletier e Chapra (2005).

Como o modelo simula a CBO_u, os valores de CBO_5 medidos foram convertidos em $CBOC_{rápida}$ (CBO_u) usando a seguinte relação:

$$CBO_u = \frac{CBO_5}{1 - e^{-5k}} \tag{3.38}$$

Onde k = constante cinética de decomposição de CBOC (d^{-1}) (Chapra *et al.*, 2006).

Os valores de k para águas poluídas e efluentes contaminados com carbono orgânico variam na gama de 0,05-0,3 d^{-1} (Chapra, 1997). Neste estudo assumiu-se um valor de k = 0,18 d^{-1} (rácio $CBOu/CBO_5$ = 1,7). A $CBOC_{lenta}$ foi calculada da seguinte forma:

$$CBOC_{lenta} = 0{,}90 \times CQO - CBO_{rápida} \tag{3.39}$$

No decorrer da calibração do modelo, verificou-se que, no mês de Julho, as estimativas das cargas de CBO_5, CQO e N-amoniacal estavam sobrestimadas. Após várias tentativas foi necessário reduzir as estimativas das cargas provenientes do sector suinícola, considerando-se apenas 22% da carga total para CBO_5, 34% para CQO e 20% para N-amoniacal. Os valores de condutividade foram reduzidos, considerando-se apenas 10% do valor médio determinado par este tipo de efluentes. Considerando que nos meses de Verão e de menor escoamento, a velocidade da corrente atinge os valores mais baixos, a que corresponde um aumento do tempo de escoamento que, associado a temperaturas elevadas, poderá conduzir a uma maior eficiência de depuração do rio. Tal corresponde a admitir que a matéria orgânica que chega neste período ao rio Lis sofreu já um pré-tratamento, com redução da respectiva carga. Por outro lado, é habitual no Verão algumas instalações indústriais reduzirem a produção, tendo

também como resultado uma diminuição da carga afluente à rede hidrográfica da bacia. Os valores de condutividade para os efluentes domésticos foram também reduzidos, considerando-se apenas 10% do valor médio determinado para este tipo de efluentes. Os valores considerados para os coliformes fecais foram os descritos na literatura para efluentes domésticos 1×10^6-1×10^8 ufc/100 mL (Metcalf & Eddy, 2003). A clorofila-a não foi medida (estimada) para as cargas poluentes (domésticas, suínicolas e ETARs).

O modelo QUAL2Kw considera as variáveis fósforo orgânico e fósforo inorgânico como variáveis de entrada. Porém, estes parâmetros não foram medidos neste estudo, tendo-se medido apenas a concentração de fósforo total. Considerou-se uma repartição igual do fósforo total em fósforo orgânico e fósforo inorgânico. Esta suposição baseou-se nos valores medidos na rede de monitorização do INAG para a bacia hidrográfica do Lis. A mesma hipótese foi considerada para as cargas de fósforo de efluentes domésticas e suinícolas. Na modelação efectuada por Kannel *et al.* (2007), o fósforo total de águas residuais essencialmente domésticas foi considerado fósforo orgânico e fósforo inorgânico na proporção de 1:1.

A taxa de rearejamento foi estimada usando a fórmula de Owens-Gibbs para os dados de Novembro. Este modelo foi desenvolvido para rios de baixa profundidade (0,12-3,34 m) e velocidades na gama 0,03-1,52 m s^{-1} (Ghosh e Mcbean, 1998). A fórmula USGS *(pool riffle*) foi utilizada para os dados de Julho de forma a considerar a presença de açudes para o desvio de água do rio para rega.

Assumiu-se o valor de 10 cm para a espessura da zona hiporreica dos sedimentos, 40% (fracção de volume) para a porosidade, 1,6 W m^{-1} $^oC^{-1}$ para a condutividade térmica e 0,0059 cm^2 s^{-1} para a difusividade térmica (Pelletier e Chapra, 2006).

A auto-calibração do modelo foi efectuada recorrendo ao algoritmo genético descrito em Pelletier *et al.* (2006).

O modelo QUAL2Kw usa um algoritmo genético, técnica de optimização numérica, para determinar os valores óptimos para os parâmetros cinéticos correspondentes às variáveis de estado consideradas no modelo. O ajuste final é efectuado de forma a minimizar as diferenças entre os valores medidos e os valores previstos pelo modelo por ajuste de um grande número de parâmetros (Equação 3.40), num número de corridas imposto pelo utilizador para definir a população. O tamanho da população mantém-se constante durante a evolução do processo. Em vez de evoluir a população até que algum critério de tolerância seja satisfeito, o algoritmo genético continua a evolução durante o número de gerações definidas pelo utilizador.

$$f(x) = \left[\sum_{i=1}^{n} w_i \right] \quad \sum_{i=1}^{n} \frac{1}{w_i} \quad \left[\frac{\left(\sum_{j=1}^{m} O_{ij} / m \right)}{\left[\sum \left(P_{ij} - O_{ij} \right) / m \right]^{1/2}} \right] \tag{3.40}$$

Onde $O_{i,j}$ = valores observados, $P_{i,j}$ = valores previstos, m = número de pares de valores previsto e observado, w_i = factor de ponderação e n = número de variáveis de estado.

3.8.5.1 Parâmetros do sistema

A gama de valores para os parâmetros cinéticos do QUAL2Kw foi obtida da literatura, incluindo o documento de referência da EPA (*Environmental Protection Agency*) (USEPA, 1985b), os valores apresentados por defeito pelo modelo (Pelletier e Chapra, 2005), os valores descritos na modelação de rios recorrendo aos modelos QUAL2E e QUAL2E-UNCAS (Brown ae Barnwell, 1987; Paliwal et al., 2007) e os valores utilizados para o caso específico do rio Lis, que resultaram do processo de calibração e validação do modelo QUAL2E (PBH do rio Lis, 2001).

O modelo de transporte Euleriano (modelo de Newton-Raphson para a modelação do pH) foi usado no processo de integração. Na auto-calibração considerou-se um número de corridas, np, igual a 100 (*model runs in a population*) e ngen igual a 50 iteracções (Kannel *et al.*, 2007).

Os parâmetros do modelo foram mantidos constantes na calibração para os dois cenários considerados neste estudo (Julho de 2004 e Novembro de 2006) (situação A) e foram modificados de forma a obter o melhor ajuste possível para cada um dos períodos (situação B) (Tabela 3.31).

Tabela 3.31 Parâmetros de calibração do QUAL2Kw para a modelação do rio Lis (situação A)

Parâmetros	Valores	Unidades	Auto-cal	minimo	máximo
Carbono	40	gC	No	30	50
Azoto	7,2	gN	No	3	9
Fósforo	1	gP	No	0,4	2
Peso seco	100	gD	No	100	100
Clorofila	1	gA	No	0,5	2
Velocidade de sedimentação de SSI	0,90	m/d	Yes	0	2
Modelo de arejamento	Owens-Gibbs		No		
Taxa de hidrólise de $CBOC_{lenta}$	1,52	/d	Yes	0	4,2
Taxa de degradação de $CBOC_{lenta}$	2,88	/d	Yes	0	4,2
Taxa de degradação de $CBOC_{rápida}$	3,00	/d	No	0	4,2
Taxa de hidrólise de N-orgânico	0,40	/d	Yes	0	0,4
Velocidade de decantação de N-orgânico	0,70	m/d	Yes	0,001	1
Taxa de nitrificação	2,03	/d	Yes	0	10
Taxa de desnitrificação	1,46	/d	Yes	0	2
Coeficiente de transf. sedimentar de desnitrificação	0,93	m/d	Yes	0	1
Taxa de hidrólise de P-orgânico	0,07	/d	Yes	0,01	0,7
Velocidade de decantação de P-orgânico	0,73	m/d	Yes	0,001	1
Velocidade de decantação de P-inorgânico	1,23	m/d	Yes	0	2
Constante de atenuação de oxigénio (meia-saturação) de P	0,90	mgO_2/L	Yes	0	2
Fitoplancton:					
Taxa máxima de crescimento	2,95	/d	Yes	1,5	3
Taxa de respiração	0,02	/d	Yes	0	1
Taxa de decaimento	0,79	/d	Yes	0	1
Constante de meia-saturação para o azoto	34,9	ugN/L	Yes	0	150
Constante de meia-saturação para o fósforo	22,66	ugP/L	Yes	0	50
Constante de meia-saturação para o carbono inorgânico	1,09E-04	moles/L	Yes	1,30E-06	1,30E-04
HCO_3^- como substrato	Yes				
Função limitante da luz	Half saturation				
Constante da luz (modelo de meia-saturação)	19,6	langleys/d	Yes	9,7790396	39,116158
Factor algal de preferência por NH_3	12,6	ugN/L	Yes	0	25
Velocidade de decantação	0,02	m/d	No	0	5
Plantas de fundo:					
Modelo de crescimento	Zero-order				
Taxa máxima de crescimento	145	$mgA/m^2/d$	Yes	0	500
Capacidade de transporte (modelo de 1ª ordem)	1000	mgA/m^2	No	1000	1000
Taxa de respiração	0,38	/d	Yes	0,05	0,5
Velocidade de excreção	0,36	/d	Yes	0	0,5
Taxa de decaimento	0,19	/d	Yes	0	0,5
Constante de meia-saturação para o azoto	30,0	ugN/L	Yes	10	300
Constante de meia-saturação para o fósforo	1,84	ugP/L	Yes	1	50
Constante de meia-saturação para o carbono inorgânico	2,12E-05	moles/L	Yes	1,30E-06	1,30E-04
HCO_3^- como substrato	Yes				
Função limitante da luz	Half saturation				
Constante da luz (modelo de meia-saturação)	50,9	langleys/d	Yes	1	100
Factor de preferência por NH_3	97,4	ugN/L	Yes	1	100
Cota de subsistência para o azoto	5,23	mgN/mgA	Yes	0,0072	7,2
Cota de subsistência para o fósforo	0,96	mgP/mgA	Yes	0,001	1
Velocidade máxima de utilização de azoto	120	mgN/mgA/d	Yes	1	500
Velocidade máxima de utilização de fósforo	422	mgP/mgA/d	Yes	1	500
Rácio interno de azoto (meia saturação)	2,00		Yes	1,05	5
Rácio interno de afósforo (meia saturação)	3,31		Yes	1,05	5
Taxa de decaimento de CF	3,41	/d	Yes	0	5
Velocidade de decantação de CF	1	m/d	Yes	1	1
Velocidade de decaimento de CQO	0,77	/d	Yes	0	0,8
Velocidade de decantação de CQO	0,99	m/d	Yes	0	1

Tabela 3.32 Parâmetros de calibração do QUAL2Kw para a modelação do rio Lis (situação B)

Parâmetros	Novembro de 2006	Julho de 2004	Unidades
Carbono	40	40	gC
Azoto	7,2	7,2	gN
Fósforo	1	1	gP
Peso seco	100	100	gD
Clorofila	1	1	gA
Velocidade de sedimentação de SSI	0,90	0,38	m/d
Modelo de arejamento	Owens-Gibbs	USGS (pool-riffle)	
Taxa de hidrólise de $CBOC_{lenta}$	1,52	0,98	/d
Taxa de degradação de $CBOC_{lenta}$	2,88	2,81	/d
Taxa de degradação de $CBOC_{rápida}$	3,00	3,00	/d
Taxa de hidrólise de N-orgânico	0,40	0,23	/d
Velocidade de decantação de N-orgânico	0,70	0,44	m/d
Taxa de nitrificação	2,03	0,50	/d
Taxa de desnitrificação	1,46	1,87	/d
Coeficiente de transf. sedimentar de desnitrificação	0,93	0,12	m/d
Taxa de hidrólise de P-orgânico	0,07	0,07	/d
Velocidade de decantação de P-orgânico	0,73	0,78	m/d
Velocidade de decantação de P-inorgânico	1,23	1,58	m/d
Constante de atenuação de oxigénio (meia-saturação) de P	0,90	1,92	mgO_2/L
Fitoplancton:			
Taxa máxima de crescimento	2,95	1,82	/d
Taxa de respiração	0,02	0,57	/d
Taxa de decaimento	0,79	0,82	/d
Constante de meia-saturação para o azoto	34,9	76,8	ugN/L
Constante de meia-saturação para o fósforo	22,7	7,90	ugP/L
Constante de meia-saturação para o carbono inorgânico	1,09E-04	2,65E-05	moles/L
HCO_3^- como substrato	Yes	Yes	
Função limitante da luz	Half saturation	Half saturation	
Constante da luz (modelo de meia-saturação)	19,6	10,8	langleys/d
Factor algal de preferência por NH_3	12,6	1,60	ugN/L
Velocidade de decantação	0,02	0,02	m/d
Plantas de fundo:			
Modelo de crescimento	Zero-order	Zero-order	
Taxa máxima de crescimento	145	269	$mgA/m^2/d$
Capacidade de transporte (modelo de 1ª ordem)	1000	1000	mgA/m^2
Taxa de respiração	0,38	0,22	/d
Velocidade de excreção	0,36	0,31	/d
Taxa de decaimento	0,19	0,41	/d
Constante de meia-saturação para o azoto	30,0	21,5	ugN/L
Constante de meia-saturação para o fósforo	1,84	40,2	ugP/L
Constante de meia-saturação para o carbono inorgânico	2,12E-05	8,95E-05	moles/L
HCO_3^- como substrato	Yes	Yes	
Função limitante da luz	Half saturation	Half saturation	
Constante da luz (modelo de meia-saturação)	50,9	40,9	langleys/d
Factor de preferência por NH_3	97,4	8,06	ugN/L
Cota de subsistência para o azoto	5,23	4,68	mgN/mgA
Cota de subsistência para o fósforo	0,96	0,26	mgP/mgA
Velocidade máxima de utilização de azoto	120	235	mgN/mgA/d
Velocidade máxima de utilização de fósforo	422	319	mgP/mgA/d
Rácio interno de azoto (meia saturação)	2,00	2,10	
Rácio interno de afósforo (meia saturação)	3,31	4,01	
Taxa de decaimento de CF	3,41	3,79	/d
Velocidade de decantação de CF	1,00	1,00	m/d
Velocidade de decaimento de CQO	0,77	4,90	/d
Velocidade de decantação de CQO	0,99	9,53	m/d

3.8.6 Discussão dos resultados

3.8.6.1 Calibração e confirmação

Os resultados da calibração (situação A), para Novembro de 2006, estão representados na Figura 3.27, Figura 3.28 e Figura 3.29 e, para Julho de 2004, na Figura 3.30, Figura 3.31 e Figura 3.32.

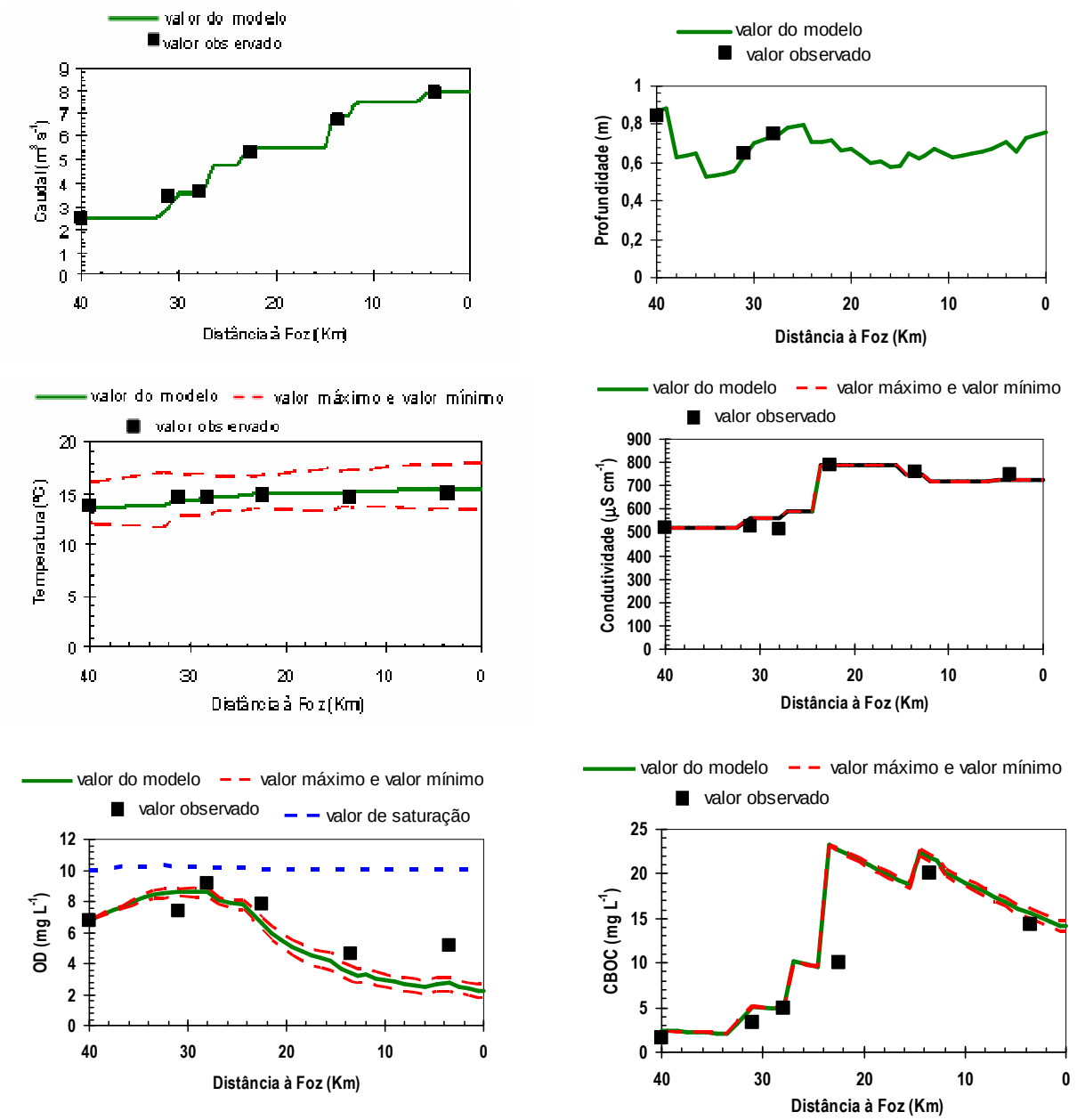


Figura 3.27 Resultados da calibração (caudal, profundidade, temperatura, condutividade, OD e CBOC) para o rio Lis (Novembro de 2006)

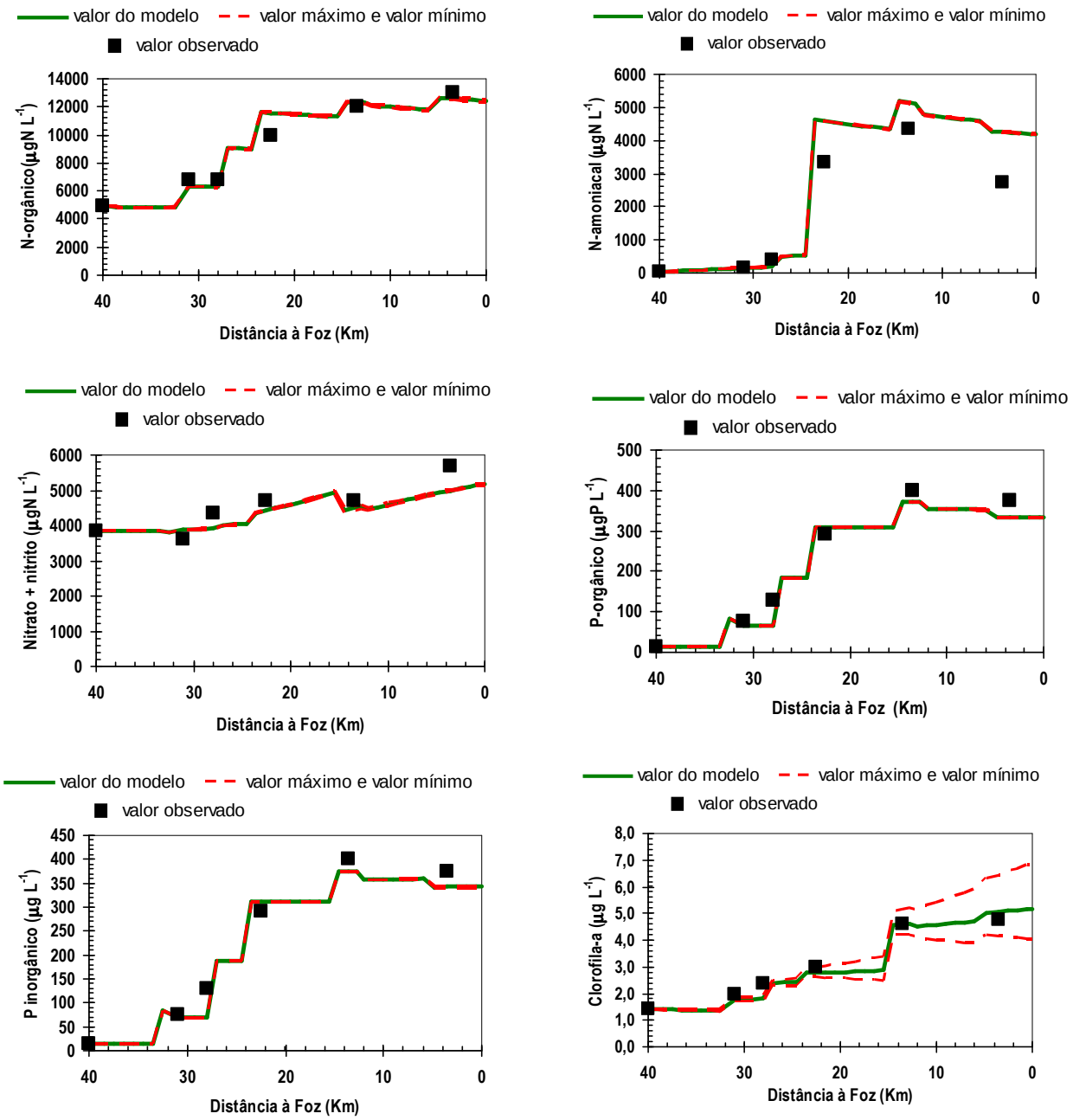


Figura 3.28 Resultados da calibração (azoto orgânico, azoto amoniacal, nitratos + nitritos, fósforo orgânico, fósforo inorgânico e clorofila-a) para o rio Lis (Novembro de 2006)

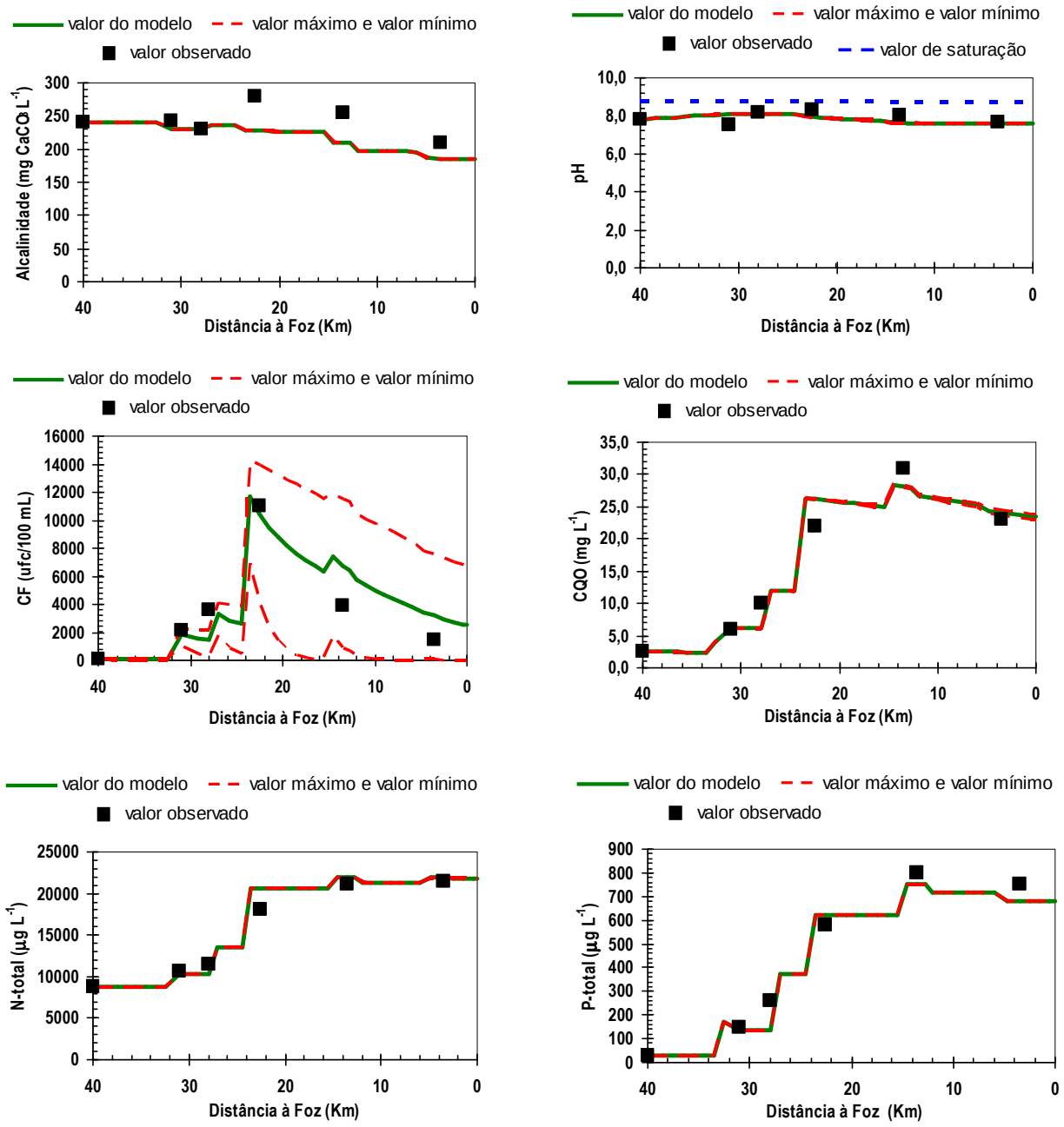


Figura 3.29 Resultados da calibração (alcalinidade, pH, coliformes fecais, CQO, N-total e P-total) para o rio Lis (Novembro de 2006)

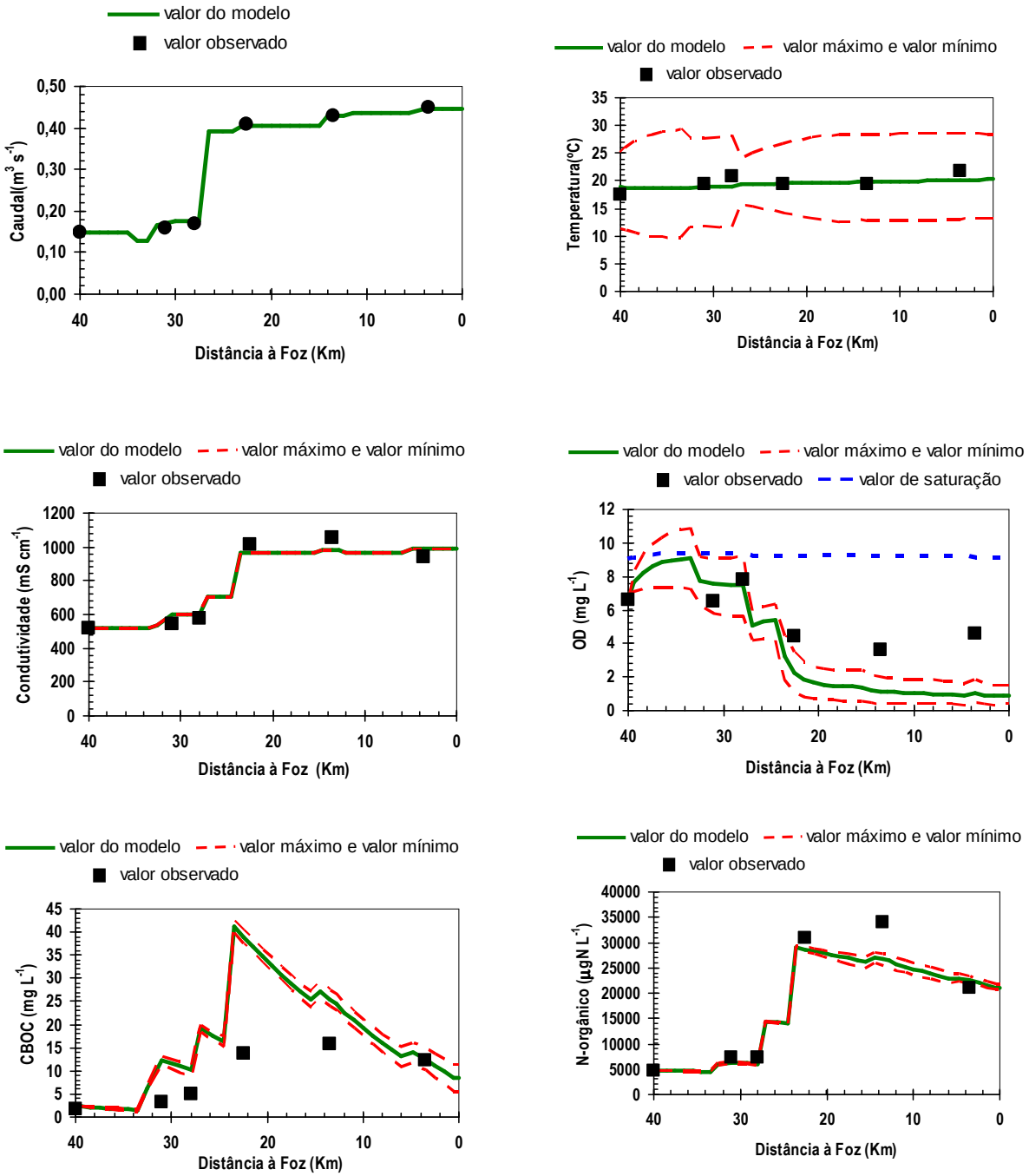


Figura 3.30 Resultados da calibração (caudal, temperatura, condutividade, OD, CBOC e N-orgânico) para o rio Lis (Julho de 2004)

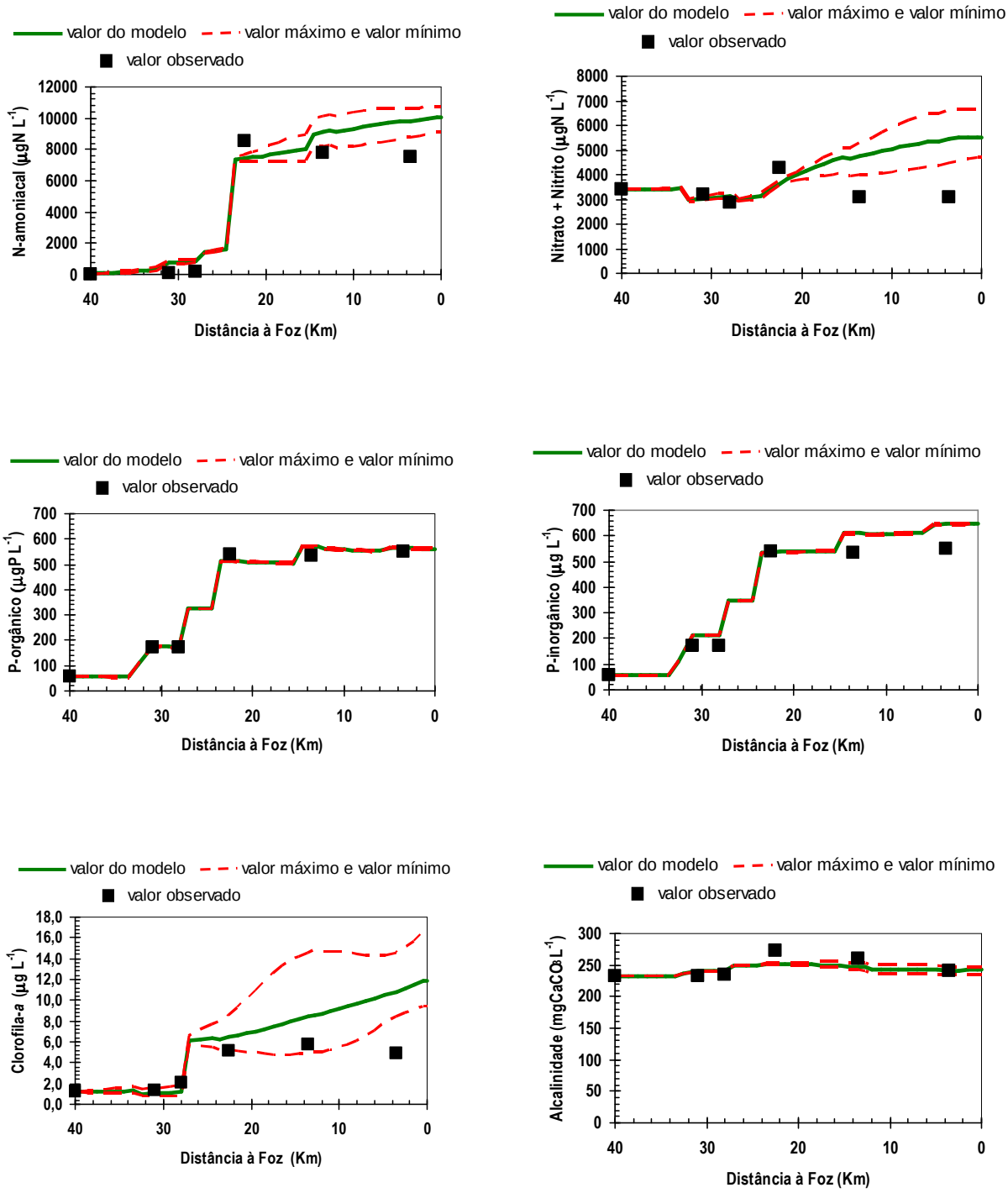


Figura 3.31 Resultados da calibração (N-amoniacal, Nitrato + Nitrito, P-orgânico, P-inorgânico,clorofila-a e alcalinidade) para o rio Lis (Julho de 2004)

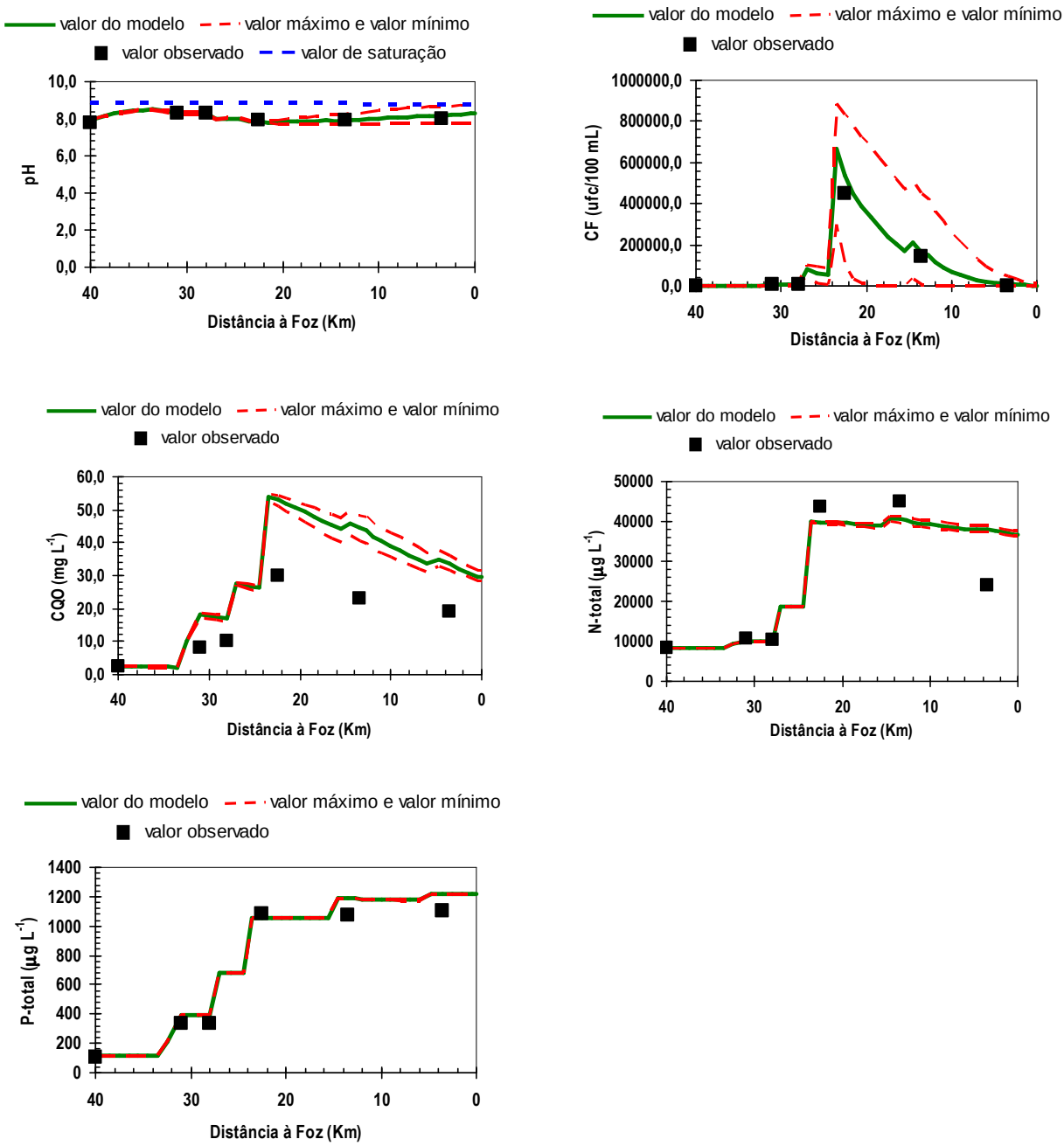


Figura 3.32 Resultados da calibração (pH, Coliformes fecais, CQO, N-total e P-total) para o rio Lis (Julho de 2004)

De um modo geral, os resultados da calibração de Novembro de 2006 são mais satisfatórios do que os de Julho de 2004, mantendo-se os mesmos valores para os parâmetros de reacção. Tal poderá estar associado à estimativa das cargas pontuais para o período de Verão, à forma como foi efectuada a estimativa dos caudais e ao facto do poder de diluição das linhas de água

ser pequeno devido ao baixo caudal, o que torna o sistema mais sensível a descargas pontuais. É de esperar que existam diferenças nos valores de alguns parâmetros cinéticos.

Para quantificar a distância média entre os valores medidos e os valores modelados determinou-se a raiz do erro quadrático médio (*RMSE)* cujos valores (Novembro de 2006) são os seguintes: temperatura (0,35), condutividade (27,7), OD (1,1), CBOC (5,3), N-orgânico (737), N-amoniacal (883), nitratos + nitritos (371), P-orgânico (33,9), P-inorgânico (31,1), clorofila-a (0,75), alcalinidade (30,2), pH (0,31), coliformes fecais (1 627), CQO (2,67), N-total (1 228) e P-total (63,4).

Comparando os valores de RMSE, o ajuste aos valores observados em Julho, de acordo com o modelo B, é significativamente melhor (gráficos apresentados no Apêndice B.2). Os valores do somatório do quadrado dos desvios (*RMSE)* entre os valores simulados e os valores observados (Julho 2004) são: temperatura (1,2), condutividade (48,6), OD (0,85), CBOC (11,2), N-orgânico (3 125), N-amoniacal (1 817), nitratos + nitritos (747), P-orgânico (20,4), P-inorgânico (60,6), clorofila-a (0,94), alcalinidade (9,95), pH (0,11), coliformes fecais (32 717), CQO (18,7), N-total (6 959) e P-total (75,8).

O OD é um parâmetro de análise essencial, relacionado com vários outros parâmetros, nomeadamente azoto, matéria orgânica e clorofila-*a* e afecta as reacções na zona hiporreica. A tendência dos resultados apresentados pelo modelo é satisfatória e revela que o cenário em termos de qualidade da água é mau no sector mais a jusante do rio, sendo péssimo, em Julho, nos últimos 16 km. Os valores de OD previstos pelo modelo estão abaixo de 3 mg O_2 L^{-1}, prejudicando as espécies piscícolas (Decreto-Lei 236/98).

Em relação à CBOC (CBO_u), os valores do modelo sobrestimam os valores observados, no entanto, reflectem a tendência da evolução ao longo do rio, notando-se um agravamento da qualidade da água de montante para jusante. O agravamento ocorre a partir dos 6,5 km associado também à entrada da ribeira do Sirol e é mais acentuado aos 12 e 15,5 km com as entradas do rio Lena e da ribeira dos Milagres. A diferença entre os valores previstos pelo modelo e os valores observados pode estar associada ao cálculo da CBO_u a partir da CBO_5 medida em laboratório. A carga do sector das suiniculturas que é descarregada ao longo dos afluentes (rio Lena, ribeira dos Milagres e colector de Amor) foi considerada como fonte pontual que entra no ponto de confluência com o rio Lis. Esta aproximação introduz erros significativos, uma vez que o efluente vai sendo descarregado ao longo do percurso do afluente e sofre tanto uma diluição como uma redução de CBO.

Em relação à CQO, na calibração de Julho os valores do modelo sobrestimam os valores observados, mas reflectem a tendência da evolução, notando-se um agravamento da qualidade da água de montante para jusante, tal como acontece com a CBO.

O resultado da calibração do azoto ajusta-se de forma aceitável aos valores medidos, sendo a tendência dos valores acompanhada pelo modelo. A degradação da qualidade da água acentua-se de montante para jusante, após a confluência do rio Lena, ribeira dos Milagres e colector de Amor.

A calibração do fósforo incluiu fósforo orgânico, fósforo inorgânico e fósforo total. O ajuste aos valores observados é bastante satisfatório, tendo em conta que o fósforo orgânico e inorgânico foi estimado a partir do fósforo total. Verifica-se uma tendência da degradação da qualidade da água de montante para jusante, a partir dos 12 km do percurso do rio.

Os resultados da calibração da clorofila-*a* revelaram um comportamento crescente deste parâmetro ao longo do rio Lis. A calibração de Novembro aproxima-se mais dos valores observados, verificando-se uma contribuição significativa do colector de Amor para a concentração de algas no Lis. Os resultados da calibração de Julho sobrestimam os valores deste parâmetro no troço mais a jusante do rio Lis, a partir de Monte Real. O troço entre a Ponte das Necessidades e a Foz (a 20 km da Foz) apresenta o maior crescimento de algas, o que parece estar associado às cargas de fósforo e azoto provenientes do rio Lena e da ribeira dos Milagres.

Os resultados da calibração de microrganismos patogénicos (coliformes fecais) estão concordantes com os valores observados, revelando a situação dramática de contaminação fecal do rio Lis após a confluência do rio Lena e, principalmente, da ribeira dos Milagres (24,5 km da Foz). A tendência é para uma melhoria da qualidade no troço Monte Real-Foz, associada à diminuição das entradas de carga fecal e ao efeito de diluição.

3.8.6.2 Limitações na calibração

A calibração do QUAL2Kw para o rio Lis apresentou algumas limitações, designadamente as seguintes:

- Número de dados de campo reduzido para cada período simulado (Julho de 2004). Para minimizar as incertezas nos valores introduzidos como referência seria conveniente dispor de

uma série de dados diária para o mês de Julho ou de uma série de vários anos para o mesmo mês;

- Número de pontos usados como referência no processo de simulação reduzido. A limitação de meios materiais e humanos para a realização de campanhas de amostragem que contemplassem maior número de pontos no rio poderá ser uma fonte de erro considerável na modelação;

- Estimativas dos valores dos caudais para o mês de Julho de 2004. Os valores de caudais para os pontos de calibração usados no rio Lis e para os afluentes foram estimados a partir dos caudais específicos de Fontes, Ponte Arrabalde e Ponte das Mestras (dados cedidos pela CCDR-centro);

- Identificação de todas as entradas e saídas pontuais ao longo do troço modelado. Foram apenas consideradas as principais;

- Identificação das fontes poluentes difusas e respectiva localização. As cargas orgânicas derivadas de fontes dispersas (bovinocultura, avicultura e agricultura) não foram consideradas nas simulações, uma vez que não foi possível determinar o caudal gerado nem as características físico-químicas;

- Estimativas dos parâmetros cinéticos. As constantes cinéticas foram fixadas por tentativa e erro, dentro da gama sugerida pelo próprio modelo. Foram ainda utilizados, como referência, alguns valores descritos na literatura. A solução ideal seria determinar experimentalmente os parâmetros, especialmente para as reacções que envolvem OD, CBOC e CQO;

- A formulação matemática para a descrição hidráulica do sistema com base na equação de Manning. Recorrendo a este modelo considerou-se o mesmo declive e o mesmo coeficiente de Manning = 0,035 para todo o rio, embora o rio apresente alguma heterogeneidade.

No que respeita à modelação da qualidade da água, a existência de “pouca” informação disponível limita a desejável consistência na validação do modelo, que deve incluir estimativas de erro e análises de sensibilidade à informação de entrada (*input* do modelo).

3.9 Conclusões

A qualidade água na bacia hidrográfica do rio Lis apresenta problemas graves de poluição associados essencialmente a contaminação orgânica (CQO, CBO_5), nutrientes (azoto amoniacal, azoto orgânico, nitritos e nitratos e fósforo total) e contaminação fecal, nomeadamente no troço mais a jusante, após as entradas do rio Lena e ribeira dos Milagres. O colector de Amor também contribui com uma carga significativa de matéria orgânica, fósforo e coliformes fecais. O rio Lena apresenta os maiores problemas de qualidade da água na zona da Batalha e sofre uma melhoria significativa no troço mais a jusante (Mil Homens - Ponte das Mestras). Em relação à qualidade ecológica da água, os afluentes rio de Fora, ribeira do Sirol e rio Lena apresentam uma qualidade da água duvidosa, com evidentes efeitos de contaminação.

A análise estatística multivariada (ACP e AG) aplicada aos parâmetros de qualidade da água obtidos em 6 campanhas de amostragem permitiu concluir que a origem de poluição na bacia do Lis é maioritariamente pontual, proveniente da descarga de efluentes domésticos, pecuários e industriais. A contribuição associada a fenómenos naturais como variações no clima, precipitação e tipo de solos e às características geomorfológicas da bacia e poluição difusa é menos significativa.

A análise grupal entre amostras (estações de amostragem), correspondente ao rio Lis, apresenta uma nítida distinção entre o grupo de estações situadas no troço de montante (Fontes, Ponte dos Caniços, Arrabalde) e as estações situadas a jusante das confluências dos principais afluentes (Ponte das Necessidades, Ponte Metálica e Ponte da Bajanca), o que revela a importância da carga poluente associada ao rio Lena, ribeira dos Milagres, colector de Amor e rio de Fora. A análise grupal efectuada à sub-bacia do rio Lena considera três grupos de estações: as estações situadas mais a jusante do rio Lena (Ponte Mil Homens, Ponte das Mestras e Lena), a estação Batalha, a jusante da cidade, e a estação situada próximo da nascente do rio Lena (Porto de Mós), que corresponde a uma zona pouco poluída. O troço mais poluído do rio Lena corresponde à área abrangida pela estação de Batalha, notando-se uma melhoria significativa no troço a jusante.

Os resultados da modelação matemática mostraram que a calibração foi satisfatória na previsão da qualidade da água do rio Lis. O rio apresenta os mais graves problemas de poluição no troço mais a jusante, a partir das entradas do rio Lena, ribeira dos Milagres e

colector de Amor, não cumprindo os objectivos ambientais de qualidade mínima para as águas superficiais, nomeadamente em termos de OD, CBO_5 e azoto amoniacal. Em relação à contaminação fecal, os valores de coliformes fecais também estão acima dos valores admissíveis para fins balneares, com especial preocupação para a foz do rio (Praia da Vieira de Leiria).

O modelo QUAL2Kw mostrou ser uma ferramenta adequada para a previsão da qualidade da água nos cenários considerados. O ajuste das curvas obtidas através do modelo aos valores medidos é uma prova da aplicabilidade do modelo.

Com base nos resultados obtidos, e aproveitando o potencial do modelo como ferramenta de apoio à gestão, propõe-se uma tomada de medidas correctivas, a curto prazo, para melhorar a qualidade das águas no rio Lis de forma a atingir um equilíbrio saudável do ecossistema. Essas medidas passam pela diminuição da carga pontual descarregada no rio, nomeadamente a de efluentes não tratados, ou seja, pelo aumento da taxa de atendimento da população servida pela rede de drenagem e tratamento de efluentes domésticos (medida que já está a ser implementada pelas entidades competentes através da construção do sistema Norte, SIMLIS) e pela implementação de uma sistema de tratamento de efluentes suinícolas. O arejamento artificial do rio e o aumento do caudal na época estival, através da armazenagem da água no período das chuvas, ajudariam também à melhoria da qualidade das águas.

3.10 Referências

Alba-Tercedor, J. e Sánchez-Ortega, A., (1988), Um Método Rápido y Simple para Evaluar la Calidad Biológica de las Aguas Corrientes basado en el de Hellawell (1978), *Limnética*, **4**, 51-56.

Alberto, W.D., Pilar, D.M., Valeria, A.M., Fabiana, P.S., Cecilia, H.A. e Ángelas, B.M., (2001), Pattern Recognition Techniques for the Evaluation of Spacial and Temporal Variations in Water Quality. A case Study: Suquía River Basin (Córdoba-Argentina), **35**, *Water Res.*, 2881-2894.

ASTM D 992-71, (1978), American Society for Testing and Materials, Philadelphia.

AWMFH, *Agricultural Waste Management Field Handbook*, (1998), United Sates Environmental Protection Agency, 4-92.

Barnwell, T.O., Brown, L.C. e Mareck, W., (1989), Application of Expert Systems Technology in Water Quality Modelling, *Water Sci. Technol.*, **21**, 1045-1056.

Bellos, D e Sawidis, T., (2005), Chemical Pollution Monitoring of the River Pinios (Thessalia-Greece), *J. Environ. Manage.*, **76**, 282-292.

Bencala, K.E. e Waters, R.A., (1983), Simulation of Solute Transport in a Mountain Pool-and-Riffle Stream: a Transient Storage Model, *Water Res.*, **19**, 718-724.

Bernardino, R., Rodrigues, S., Rafael, M.T., Alves, M.H. e Henriques, A.G., (2000), *Análise Comparativa da Qualidade Ecológica das Águas Superficiais Nacionais Tendo como Base os Planos de Bacia Hidrográfica*, Actas do II Congresso Ibérico sobre Planeamento e Gestão da Água, Porto, 1-14.

Bremond, R. e Vuichard, R., (1973), *Les Paramètres de la Qualité des Eaux. Ministère de la Protection de la Nature et de L'Environment*, Paris.

Brown, L.C. e Barnwell, T.O., (1987), *The Enhanced Stream Water Quality Models QUAL2E and QUAL2E-UNCAS*, EPA/600/3-87-007.

Browne, M-W., (1968), A Comparison of Factor Analytic Techniques, *Phychometrika*, **33**, 267-334.

Campos, M.F.G.T., (1998), *Musgos Aquáticos como Indicadores da Contaminação das Águas Superficiais por Metais Pesados*, Tese de Mestrado, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto.

Castañé, P.M., Rovedatti, M.G., Topalián, M.L. e Salibián, A, (2006), Spatial and Temporal Trends of Physicochemical Parameters in the Water of the Reconquista River (Buenos Aires, Argentina), *Environ. Monit. Assess.*, **117**, 135-144.

Cattel, R.B., (1996), The Scree Test for the Number of Factors, em: Multivariate Behaviour Research, **1**, 245-276.

Chapra, S.C., (1997), *Surface Water Quality Modeling*, McGraw-Hill, New York.

Chapra, S.C. e Canale, R.P., (2002), *Numerical Methods for Engineers*, McGraw-Hill, New York.

Chapra, S. e Pelletier, G., (2003), QUAL2K: A Modeling Framework for Simulating River and Stream Water Quality, Beta version: Documentation and Users Manual.

Chrous, I., ed., (2001), *Cyanotoxins: Ocurrence, Causes, Consequences*, Springer, Berlin.

Consórcio AMBIO/CHIRON/PROFABRIL/DRENA/HLC/FBO, (2001), Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lis, Instituto da Água, Direcção Regional do Ambiente do Centro.

Cortes, R., (2004), *Requalificação de Cursos de Água*, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 1-125.

Coyne, M.S. e Howell, J.M., (1994), *The Fecal Coliform/Fecal Streptococci Ratio (FC/EF) and Water Quality in the Bluegrass Region of Kentucky*, Soil and Science News & Views., **15**, 201-215.

Davis, J.C., (1986), Statistical and Data Analysis in Geology, 2nd ed., John Wiley and Sons, Inc., New York.

Deksissa, T., Meirlaen, J., Asthon, P.J. e Vanrolleghem, P.A., (2004), Simplifying Dynamic River Water Quality Modelling: a Case Study of Inorganic Dynamics in the Crocodile River (South Africa), *Water Air Soil Pollut.*, **155**, 303-320.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de Agosto, 1998.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 243/2001, de 5 de Setembro, 2001.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 446/91 de 22 de Novembro, 1991.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 209/90 de 10 de Setembro, 1990; Portaria nº 810/90.

Directiva 2000/60/CE, União Europeia (2000): do Parlamento e Conselho Europeu. Jornal Oficial da Comunidades Europeias, L327, 1-73.

Dixon, W. e Chiswell, B., (1996), Review of Aquatic Monitoring Program Design, *Water Res.*, **30**, 1935-1948.

Drolc, A. e Koncan, J.Z.Z., (1996), Water Quality Modelling of the River Sava, Slovenia, *Water Res.*, **30**, 2587-2592.

EPER (2004), Registo Europeu das Emissões de Poluentes, Relatório de 2004, Agência Portuguesa do Ambiente.

Fischer, H.B., Imberger, J., List, E.J., Koh, R.C.Y. e Brooks, N.H., (1979), *Mixing in Inland and Coastal Waters*, Academic Press, New York.

Foster, S.D.D., Chilton, P.J., Moench, M., Cardy, W.F. e Schiffler, M., (2000), *Groundwater in Rural Development: Facing the Challenges of Supply and Resource Sustainability*, New York, World Bank Technical Paper 463.

Ghosh, N.C. e Mcbean, E.A., (1998), Water Quality Modelling of the Kali River, India, *Water Air Soil Pollut.*, **102**, 91-103.

Gordon, N.D., McMahon, T.A. e Finlayson, B.L., (1992), *Stream Hydrology, An Introduction for Ecologists,* John Wiley and Sons.

Graça, M.A.S., Rodrigues-Capítulo, A, Ocón, C. e Gómez, N., (2002), In Situ Tests for Water Quality Assesssment: a case study in Pampean Rivers, *Water Res.*, **36**, 4033-4040.

Hakstian, A.P., Rogers, W.D. e Cattel, R.B., (1982), The Behaviour of Numbers of Factors Rules with Simulated Data, *Multiv. Behav. Res.*, **17**, 193-219.

Helena, B., Pardo, R., Veja, M., Barrado, E., Fernandez J.M. e Fernandez, L., (2000), Temporal Evolution of Groundwater Composition in na Alluvial Aquifer (Pisuerga River, Spain), by Principal Components Analysis, *Water Res.*, **34**, 807-816.

INE, Recenseamento Geral da Agricultura, (1999), Ribatejo e Oeste, Instituto Nacional de Estatística Portugal, www.ine.pt.

Imbeah, M., (1998), Composting Piggery Waste: A Review, *Bioresour. Technol.*, **63**.

Jarvie,.H.P., Whitton, B.A. e Neal, C., (1998), Nitrogen and Phosphorus in east Coast British Rivers: Speciation, sources and Biological Significance, *Sci. Total Environ.*, **210**, **211**, 79-109.

Kannel, P.R., Lee, S., Kanel, S.R., Lee, Y. e Ahn, K.-H., (2007), Aplication of QUAL2Kw for Water Quality Modeling and Dissolved Oxygen Control in the River Bagmati, *Environ. Monit. Assess*., **125**, 201-217.

Kannel, P.R., Lee, S., Kanel, S.R., Khan, S.P. e Lee, Y.-S., (2007), Spatial-Temporal Variation and Comparative Assessment of Water Qualities of Urban System: a Case Study of the River Bagmati (Nepal), *Environ. Monit. Assess*., **129**, 433-459.

Kannel, P.R., Lee, S., Lee, Y.-S., Kannel, S.R. e Pelletier, G. J., (2007), Aplication of Automated QUAL2Kw for Water Quality Modelling and Management in the Bagmati River, Nepal, *Ecol. Model.*, **202,** 503-517.

Kaiser, H.F., (1958), The Varimax Criterion for Analytic Rotation in Factor Analysis, *Psychometrica*, **23**, 187-200.

Laws, E.A. e Chalup, M.S., (1990), A Microalgal Growth Model, *Limnol. Oceanogr.*, **35**, 597-608.

McIntyre, N.R. e Wheater, H.S., (2004), A Tool for Risk-Based Managementof Surface Water Quality, *Environ. Model. Software*, **19**, 1131-1140.

Metcalf & Eddy, (2003), *Wastewater Engineering – Treatment and Reuse*, 4th ed, Mc Graw-Hill.

Metcalfe, J.L., (1989), Biological Water Quality Assessment of Running Waters Based on Macroinvertebrate Communities: History and Present Status in Europe, *Environ. Pollut.*, **60**, 101-139.

Morales, M.M., Martih, P., Llopis, A., Campos, L. e Sagrado, J., (1999), na Environmental Study by Factor Analysis of Surface Seawater in the Gulf of Valencia (Western Mediteranean), *Anal. Chim. Acta*, **394**, 109-117.

O'Connor, D.J. e Dobbins, W.E., (1958), Mechanism of Reaeration in Natural Streams, Trans. ASCE, **123**, 641-684.

Ouyang, Y., (2005), Evaluation of River Water Quality Monitoring Stations by Principal Components Analysis, *Water Res.*, **39**, 2621-2635.

Owens, M., Edwards, R.W. e Gibbs, J.W., (1969), Some Reaeration Studies in Streams, *Int. J. Air and Water Pollut.*, **8**, 469-486.

Paliwal, R., Sharma, P. e Kansal, A., (2007), Water Quality Modelling of the River Yamuna (India) using QUAL2E-UNCAS, J. *Environ. Manage.*, **83**, 131-144.

Palhares, J.C.P. e Calijuri, M.C., (2007), Caracterização dos Afluentes e Efluentes Suinícolas em Sistema de Crescimento/Terminação e Qualificação do seu Impacto Ambiental, *Ciência Rural*, **37**, 502-509.

Park, S.S. e Lee, Y.S., (2002), A Water Quality Modelling Study of the Nakdong River, Korea, *Ecol. Model.*, **152**, 65-75.

Pelletier, G.J. e Bilhimer, D., (2004), *Stillaguamish River Watershed Temperature Total Maximum Daily Load Study*, Washington State Department (http:/www.ecy.wa.gov/biblio/0403010.html).

Pelletier, G.J. e Chapra, C.S., (2005), QUAL2Kw, Theory and Documentation (version 5.1), A Modelling Framework for Simuling River and Stream Water Quality, (http:/www.ecy.wa.gov/programs/eap/models/).

Pelletier, G.J., Chapra, C.S. e Tao, H, (2006), QUAL2Kw, A framework for Modelling Water Quality in Streams and Rivers Using a Genetic Algorithm for Calibration., *Environ. Model. Software*, **21**, 419-4125.

Redfield, A.C., Ketchum, B.H. e Richards, F.A., editors, (1963), *The Influence of Organisms on the Composition of Seawater*, Wiley-Interscience, New York.

Reghunath, R., Murthy, T.R.S. e Raghavan, B.R., (2002), The Utility of Multivariate Statistical Techniques in Hydrogeochemical Studies: an Example from Karnataka, India, *Water Res.*, **36**, 2437-2442.

Rosenberg, B.M. e Resh V.H., (1993), Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates, Chapman & Hall, USA, 488.

Sargeant, D., (1999), *Faecal Contamination Source Identification Methods in Surface Water*, Ecology Report, Washington State Department of Ecology, Environmental Assessment Program, 1-17.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, (1998), APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association) e WEF (Water Environment Federation), 20th ed., eds Greenberg, A.H., Clesceri, L.S. e Eaton, A.D., APHA; Washington, DC.

Sawyer, S.N., McCarty, P.L. e Parkin, G.F., (1994), *Chemistry for Environmental Engeneering*, 4. Ed., Mc Graw-Hill, New York.

Sena, R.F., (2005), *Avaliação da Biomassa Obtida pela Optimização da Flotação de Efluentes da Indústria de Carnes para Geração de Energia*, Tese de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Sharma, S., (1996), Applied Multivariate Techniques, John Wiley and Sons, Inc., New York.

Shiklomanov, I.A., Lammers, R.B. e Vörösmarty, C.J., (2002), *Widespread Decline* em: Hidrological Monitoring Threatens Pan-Arctic Research, EOS, Transactions of the American Geophysical Union, **83**, 13-16.

Simeonov, V., Stratis, J.A., Samara, C., Zachariadis, G., Voutsa, D., Anthemidis, A., Sofoniou, M. e Kouimtzis, Th., (2003), Assessment of the Surface Water Quality in Northern Greece, *Water Res.*, **37**, 4119-4124.

Singh, K.P., Malik, A., Mohan, D. e Sinha, S., (2004), Multivariate Statistical Techniques for the Evaluation of Spatial and Temporal Variations in Water Quality of Gomti River (India)-a case study, *Water Res.*, **38**, 3980-3992.

Stumm, W. e Morgan, J.J., (1996), *Aquatic Chemistry*, Wiley-Interscience, New York.

Thomann, R. e Mueller, J.A., (1987), Principles of Surface Water Quality Modelling and Control.

Tucker, L.R., Koopman, R.F. e Linn, R.L., (1969), Evaluation of Factor Analytic Research Procedures by Means of Simulated Correlation Matrices, *Phychometrika*, **34**, 421-469.

UNEP (United Nations Environment Programme), (2007), Water Quality Outlook: Freshwater Portal http://freshwater.unep.net e www.gemswater.org.

USEPA, (1976), *Quality Criteria for Water*, United Sates Environmental Protection Agency, Washington.

Van Orden, G.N. e Uchrin, C.H., (1993), The Study of Dissolved Oxigen Dynamics in the Whippany River, New Jersey using the QUAL2E model, *Ecol. Model.*, **70**, 1-17.

Vega, M., Pardo, R., Barrado, E. e Debán, L., (1998), Assessment of Seasonal and Polluting Effects on the Quality River Water by Exploratory Data Analysis, *Water Res.*, **32**, 3581-3592.

Vilar, V.J.P., (2006), *Remoção de Iões Metálicos em Solução Aquosa por Resíduos da Indústria de Extracção do Agar*, Tese de Doutoramento, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto.

Walling, E. e Webb, B.W., (1996), *Erosion and Sediment Yield: Global and Regional Perspectives*, Wallingford, International Association of Hydrological Sciences, Pub. Nº 236.

WHO, World Health Organization, (1988), Environmental Health Criteria 61: Chromium, Geneva.

WHO, World Health Organization, (1992), Environmental Health Criteria 134: Cadmium, Geneva.

WHO, World Health Organization, (1998), International Health Criteria 200: Copper, Geneva.

WHO,World Health Organization, (1995), Environmental Health Criteria 165: Inorganic Lead, Geneva.

WHO, World Health Organization, (2001), Environmental Health Criteria 221: Zinc, Geneva.

WHO/UNEP (World Health Organization /United Nations Environment Programme), (1991), *Water Quality: Progress in the Implementation of the Mar del Plata Action Plan and Strategy for the 1990s, Nairobi, Earthwatch Global Environment Monitoring System*, World Health Organization, United Nations Environment Programme.

WMO/UNESCO (World Meteorological Organization /United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization), (2006), Part II: *A Look at the World´s Freshwater Resources*, em: 2nd UN World Water Development Report.

Yu, C-C, Quinn, J.T., Dufournaud, C.M., Harrington, J.J., Rogers, P.P. e Lohani, B.N., (1998), Effective Dimensionality of Environmental Indicators: a Principal Component Analysis with Bootstrap Confidence Intervals , *J. Environ. Manage.*, **5**, 101-119.

Zamora-Muñoz, C. e Alba-Tercedor, J., (1996), Bioassessment of Organically Polluted Spanish Rivers, Using Biotic Index and Multivariate Methods, *J. Nat. Am. Benthol. Soc.*, **15**, 332-352.

Zeng, X. e Rasmussen, T.C., (2005), Multivariate Statistical Characterization of Water Quality in Lake Lanier, Georgia, USA, *J. Environ. Qual.*, **34**, 1980-1991.

4. Contaminação dos Sedimentos na Bacia Hidrográfica do Rio Lis

A avaliação da contaminação dos sedimentos fluviais é fundamental para o conhecimento criterioso do tipo e variações da concentração de poluentes, respectivos ciclos e taxas de degradação e efeitos crónicos sobre a qualidade da água. Os problemas associados com a poluição por metais prendem-se com a sua toxicidade e persistência, em resultado da não biodegradabilidade ou biodegradabilidade muito reduzida no meio ambiente.

Neste capítulo avalia-se o potencial de contaminação metálica existente na Bacia Hidrográfica do rio Lis através da distribuição de Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al nas diferentes fracções de amostras de sedimentos, adoptando o método da extracção sequencial, de forma a prever o risco de poluição das águas superficiais por metais a partir dos sedimentos.

4.1 Introdução

A contaminação ambiental com metais começou com a descoberta do fogo. A queima de madeira libertava pequenas quantidades de metal para o ar, e as cinzas enriquecidas com metais eram colocadas no solo. Na época do Império Romano, grandes quantidades de metais, especialmente chumbo, eram obtidas em fundições, sem qualquer controlo das cinzas e dos gases libertados (Nascimento, 2003).

Durante o século XVI, com o desenvolvimento de grandes fornos equipados com altas chaminés, estendeu-se drasticamente a esfera de influência das emissões de fundições a instalações industriais. A detecção de metais em sedimentos e camadas de gelo, no final do século XVII, já indicava que metais poluentes libertados por indústrias na Grã-Bretanha e Europa central estavam a atingir regiões na Escandinávia (Nriagu, 1990).

No período da revolução industrial aumentou exponencialmente a exploração de reservas minerais, a produção e usos de metais. Consequentemente, aumentou também a magnitude do impacte ambiental causado por essas actividades.

Apesar das inúmeras medidas tomadas para a preservação ambiental, múltiplas actividades antropogénicas, sobretudo nas áreas mais desenvolvidas e urbanizadas do Globo, continuam a provocar degradação da qualidade dos ecossistemas aquáticos.

Nos últimos anos, devido à aglomeração da população em determinadas áreas dedicou-se especial atenção ao comportamento de ambientes urbanos, e às consequências de viver junto de sistemas aquáticos naturais, onde se prevê que actualmente residem cerca de 47% da população mundial. Em 2030 prevê-se que 60% da população mundial resida em áreas urbanas. Se a análise estatística tiver apenas em conta as regiões mais desenvolvidas, estima-se que a população residente em zonas urbanas aumente de 76% em 2000 para 83,5% em 2030 (De Miguel *et al.*, 2005).

Os sedimentos são ferramentas importantes na avaliação dos poluentes no ambiente, uma vez que têm elevado potencial para armazenar metais. Ao contrário do que acontece nos rios naturais, a maioria dos metais em meios poluídos não está associado à componente litológica do sedimento, mas aos vários componentes resultantes da contaminação, na forma dissolvida e partículada, resultante da descarga de efluentes. Alterações que ocorram no meio ambiente ao qual os sedimentos estão expostos poderão conduzir à libertação dos metais, acumulados

durante longos períodos de tempo, para a água, pois integram a contaminação proveniente da atmosfera, solos e água.

A relação entre a concentração de elementos tóxicos nos sedimentos e a saúde dos ecossistemas explica o crescente interesse e o consequente aumento do número de publicações relacionados com o teor de metais em sedimentos fluviais (Sutherland, 2000).

A capacidade dos sedimentos para concentrar no tempo níveis baixos de muitos contaminantes da água faz deles indicadores particularmente úteis na monitorização de metais. Por outro lado, a avaliação do potencial efeito toxicológico de um sistema aquático não pode ser efectuada apenas pela determinação da concentração total de metais. É importante conhecer a forma química em que os metais se encontram, para fazer uma correcta avaliação em termos de mobilidade, biodisponibilidade e efeitos ecotoxicológicos.

Os metais estão distribuídos pelos vários componentes dos sedimentos e podem estar associados a eles por processos de permuta iónica, adsorção, precipitação e complexação. A esta distribuição dos metais por várias espécies, que correspondem a forças de interacção diferentes, chama-se especiação. Os metais não estão permanentemente fixados nos sedimentos, uma vez que alterações e factores ambientais, como o pH, o potencial de oxidação-redução, ou a concentração de ligantes orgânicos podem provocar a mobilidade dos elementos da fase sólida para a fase líquida e provocar a contaminação das águas em contacto com os sedimentos.

A concentração de metais em sedimentos é bastante variável, dependendo das características geomorfológicas e químicas do meio aquático, e mesmo em áreas não afectadas por actividade humana, pode alcançar níveis que em outros locais poderiam causar efeitos biológicos (Painter *et al.*, 1994). No entanto, é importante fazer estudos comparativos com base nos valores de concentração de referência de metais em sedimentos que mantenham o equilíbrio do ecossistema aquático. No contexto ambiental, valores de referência para a concentração de metais e outras substâncias tóxicas, é uma questão central em todas as pesquisas que envolvem sedimentos como indicadores de poluição, no estabelecimento de valores ou critérios de qualidade.

Na literatura aparecem descritas três formas distintas para a obtenção de valores referência: (1) níveis de referência geológica global, que são valores médios de rocha sedimentar do tipo "shale", (2) valores de referência recorrendo a isótopos ^{14}C ou ^{210}Pb em amostras cronológicas correspondentes ao período pré-civilização ou pré-industrialização e (3) valores

obtidos em locais do rio ou afluentes, supostamente não sujeitos à contaminação antropogénica, próximos da área em estudo, tendo a bacia de drenagem como referência espacial (Miguel *et al.*, 2005).

4.2 Geoquímica

O sedimento é uma mistura complexa de fases sólidas que podem incluir argila, sílica, matéria orgânica, óxidos metálicos (ferro, manganês e alumínio), carbonatos, sulfuretos, minerais e microrganismos, particularmente bactérias (Hart, 1982). A SEDNET, *European Sediment Research Network* (2003), define sedimentos como "sólidos (constituídos por matéria orgânica e/ou inorgânica), suspensos ou depositados, actuando como principal componente de uma matriz que é susceptível de ser transportada pela água"

A matéria constituinte do sedimento é proveniente da atmosfera, do solo transportado pelas águas e dos organismos vivos ou em degradação no sistema aquoso. Segundo Giannini e Riccomini (2000), o tamanho de partícula nos sedimentos é classificado nas seguintes categorias: argila (< 4 μm), silte (4-62 μm), areia (62-2000 μm) e cascalho (> 2000 μm). As partículas menores que 4 μm, designadas por fracção pelítica, são usualmente mais pobres em quartzo e feldspato potássico, porém mais ricas em argilas minerais do que as partículas maiores, silte e areia. A fracção pelítica é também enriquecida em ferro (minerais de óxido de ferro ou ferro associado a argilas) e em matéria orgânica (Rubio *et al.*, 1991).

Os metais podem estar associados ao sedimento adsorvidos nas partículas de superfície (como argilas, ácidos húmicos e oxi-hidróxidos metálicos), ligados a carbonatos, ocluídos nos oxi-hidróxidos de ferro e/ou manganês, ligados à matéria orgânica, ligados a sulfuretos e ligados à matriz, geralmente formada por aluminossilicatos (Salomons e Förstner, 1984; Tessier e Campbell, 1987).

O risco de contaminação da biota está relacionado, sobretudo, com a fracção fracamente ligada dos metais, que é composta por metais absorvidos às superfícies por forças iónicas, mais a parte do conteúdo metálico coprecipitado em hidróxidos e carbonatos, e parte do incorporado na matéria orgânica e na forma de sulfuretos (Salomons, 1980). Considera-se que os metais ligados a óxidos e materiais orgânicos refractários, e os que fazem parte da estrutura cristalina dos minerais, estabelecem ligações fortes que não são rompidas facilmente nas condições do meio envolvente.

4.3 Extracção Sequencial

A intensificação das actividades humana e industrial tem contribuído para o aumento do teor de poluentes no meio ambiente, nomeadamente o teor de metais pesados. Com o objectivo de avaliar a extensão da poluição nos sistemas aquáticos, os sedimentos são frequentemente analisados. No entanto, a determinação da concentração total do metal deve ser complementada com o conhecimento do modo como se encontra ligado aos diferentes constituintes do sedimento, na perspectiva de se avaliar a fracção de metal mais facilmente mobilizável. Para se poder estimar a quantidade de metais nos sedimentos resultante de causas naturais ou antropogénicas é comum recorrer à normalização dos valores baseada na correlação entre a concentração dos metais e um dado elemento, que está naturalmente presente no sedimento, normalmente o Al, o principal constituinte de aluminossilicatos ou o Fe, como indicador mineral. Estes dois elementos não poderão ser usados na normalização se existirem em grandes quantidades, resultantes de contaminações ambientais (Svete *et al.*, 2001).

O teor de metais presente nas fracções solúveis poderá ser avaliado recorrendo a procedimentos de extracção sequencial e corresponde à maior mobilidade e biodisponibilidade para o meio ambiente. De acordo com Salomons (1980) as técnicas de extracção sequencial são usadas para determinar associações químicas de metais a fases específicas do sedimento, onde o potencial de disponibilidade dos compostos tóxicos para o ambiente pode eventualmente ser estudado.

Os metais presentes nas diferentes fases sólidas dos sedimentos podem ser selectivamente extraídos mediante procedimentos de extracção semelhantes aos aplicados à análise química de solos. Esses procedimentos podem ser agrupados em métodos para apenas separar os metais ligados à fracção refractária da parte biodisponível e esquemas mais elaborados que empregam extracções sequenciais simples ou combinadas (Tessier *et al.*, 1979, Tessier e Campbell, 1987; Quevauviller *et al.*, 1996). O primeiro método geralmente envolve uma extracção simples (por exemplo com uma solução de HCl 0,1 mol L^{-1}) podendo diferenciar as várias amostras em não contaminadas e sujeitas a contaminação antropogénica, o que não se consegue através da determinação total da concentração do metal. Apesar da rapidez e simplicidade, os métodos de extracção simples têm como dificuldade encontrar um reagente efectivo na dissolução quantitativa das formas não residuais do metal sem atacar as formas detríticas. O uso de extracção sequencial, embora mais demorado, pode fornecer informações

detalhadas sobre a origem, modo de ocorrência, disponibilidade biológica e química, mobilização e transporte de metais (Tessier *et al.*, 1979; Quevauviller *et al.*, 1997; Yuan *et al.*, 2004).

Nos últimos anos, um considerável número de estudos, que empregam a extracção sequencial para identificar as fracções físico-químicas com as quais os metais estão associados, foram aplicados a sedimentos (Martin *et al.*, 1998*;* Ariza *et al.*, 2000; Martin e Giresse, 2001; Akcay *et al.*, 2003; Fytianos e Lourantou, 2004; Morill*o et al.*, 2004; Riba *et al.*, 2004; Fernández *et al.*, 2006*).*

Têm sido utilizados vários procedimentos para a extracção sequencial baseados em diferentes sequências extractantes e ou diferentes condições de operação (Mester *et al.*, 1998; Martin *et al.*, 1998). Os problemas associados aos resultados analíticos dos diversos procedimentos experimentais prendem-se essencialmente com problemas de selectividade e problemas de redistribuição e poderão ser evitados pela introdução de modificações nas condições experimentais, tais como, tempo de extracção, proporção amostra/extractante, concentração dos reagentes extractantes, temperatura de extracção, uso de extracções sucessivas com o mesmo reagente extractante, etc. (Ariza *et al.*, 2000). A redistribuição é influenciada pelas características geoquímicas dos sedimentos.

Os reagentes químicos extractantes podem ser electrólitos ($CaCl_2$ ou $MgCl_2$), tampões de ácidos fracos (ácidos acético ou oxálico), agentes quelantes (EDTA, DTPA), agentes redutores (NH_2OH), ácidos fortes (HCl, HNO_3, $HClO_4$, HF) ou bases (NaOH, Na_2CO_3). Os electrólitos neutros, os ácidos fracos e os agentes quelantes libertam os metais dos locais de coordenação, enquanto que os ácidos fortes e outros agentes redutores libertam mais metal, como resultado da decomposição da matriz. Nenhum extractante permite a determinação selectiva de uma espécie única de metal, sendo a eficiência da extracção dependente do tempo, da razão sedimento/volume da solução e de efeitos de redistribuição (Raksasataya *et al.*, 1996).

Um dos esquemas de extracção sequencial mais citado (Tessier *et al.*, 1979) envolve a realização de cinco etapas, as quais permitem distinguir os catiões facilmente permutáveis usando soluções de cloreto de magnésio (pH 7) ou acetato de amónio (pH 8,2), a fracção de carbonatos recorrendo a soluções de acetato de sódio tamponado a pH 5,0 com ácido acético, as fracções ligadas aos óxidos de ferro e manganês usando soluções de ditionito de sódio ou citrato de sódio e ácido cítrico ou cloreto de hidroxilamónio em ácido acético, a fracção ligada

à matéria orgânica recorrendo a ácido nítrico e peróxido de hidrogénio e a fracção residual usando uma mistura ácida (HNO_3, $HClO_4$ e HF).

Em 1987, o *Community Bureau of Reference* (BCR, agora designado por *Standards, Measurements and Testing Programme*) desenvolveu um projecto para uniformizar um esquema de extracção sequencial (BCR-SEP) para a determinação de metais em solos e sedimentos. Neste programa foi também certificado um material referência (CRM 601), permitido validar a aplicação desta metodologia a vários tipos de amostras (Quevauviller *et al.*, 1996; Quevauviller *et al.*, 1997; Rauret *et al.*, 1999; Sahuquillo *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 2006).

A reprodutibilidade dos resultados obtidos a partir da extracção sequencial é particularmente susceptível a variações e os erros são facilmente propagáveis às várias etapas de extracção. A falta de reprodutibilidade poderá estar associada ao pH da solução extractante, à temperatura de extracção, ao tempo de extracção e à concentração da solução extractante.

Sahuquillo *et al.* (1999) estudou a problemática associada à falta de reprodutibilidade do método BCR-SEP, aplicada ao sedimento referência CRM-601, e concluiu que as condições utilizadas na 2ª etapa da extracção, o pH e a concentração da solução de cloreto de hidroxilamónio, eram as responsáveis pelos desvios obtidos.

Neste estudo, a avaliação da qualidade dos sedimentos com base na distribuição de metais nas diferentes fracções de sedimento, foi efectuada recorrendo ao esquema de extracção sequencial BCR-SEP (EUR 17554 EN, Quevauviller *et al.* (1996)).

4.4 Granulometria

Um dos parâmetros que mais afecta a interacção metal/sedimento no ciclo biogeoquímico é o tamanho da partícula no sedimento. Os elementos metálicos de origem antropogénica e natural estão principalmente concentrados nas fracções de argila e silte do sedimento, com diâmetro das partículas < 0,63 μm (Rubio *et al.*, 1991; Fytianos e Lourantou, 2004). O enriquecimento em contaminantes da fracção argila/silte é devido à grande superfície específica desta fracção a ao forte poder sorptivo das argilas minerais.

No estudo da contaminação em sedimentos devem ser consideradas diferentes texturas e mineralogias de amostras colhidas em regiões distintas, assim como a partição dos metais de

origem antropogénica nas várias fracções e componentes do sedimento. O efeito do tamanho do grão influencia significativamente os dados analíticos e, consequentemente, a comparabilidade de resultados entre laboratórios, pelo que se deve optar pelo procedimento que assume que os metais de origem antropogénica são adsorvidos predominantemente nas fracções mais finas dos sedimentos (Förstner, 1993).

No presente estudo optou-se por utilizar a fracção granulométrica de sedimento < 0,63 μm, conforme recomendado pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1982 citada por Ackermann *et al.*, 1983) e por Förstner e Salomons (1980), pelas seguintes razões: os metais estão associados principalmente nas fracções de argila e silte; estas fracções são equivalentes ao material carregado em suspensão, que é o modo principal de transporte dos sedimentos; a crivagem da amostra não altera as concentrações dos metais, e grande parte dos estudos em sedimentos realizam-se sobre a fracção < 0,63 μm, o que facilita a comparação de resultados.

4.5 Área de Estudo

Realizaram-se amostragens em 9 locais da bacia hidrográfica do rio Lis, desde as nascentes dos rios Lis e Lena até próximo da foz e principais afluentes. As características dos locais de amostragem já foram descritas no Capítulo anterior, à excepção do local de amostragem 2. A estação 2 designada por Olhalvas localiza-se no troço do rio Lis a montante da área urbana da cidade de Leiria, junto do ponto de descarga da Estação de Tratamento de Águas Residuais (ETAR-Olhalvas). A introdução deste ponto de amostragem na monitorização de sedimentos (não incluído na monitorização da qualidade das águas) teve como objectivo avaliar a eficácia do tratamento do efluente descarregado pela ETAR, uma vez que periodicamente a estação de tratamento recebe efluentes provenientes de indústrias com altos teores de metais, nomeadamente Cr e Ni (dados SIMLIS, 2005).

Os locais de amostragem utilizados na monitorização de sedimentos estão assinalados na Figura 4.1. A numeração dos locais de amostragem está de acordo com a adoptada para a monitorização da qualidade da água. Optou-se, desta forma, por identificar as estações do mesmo modo, independentemente de se tratar do estudo das águas ou dos sedimentos. A redução dos locais de amostragem dos sedimentos (17 locais para monitorização da água e apenas 9 para os sedimentos) prendeu-se com questões de ordem prática relacionadas com a acessibilidade aos locais de recolha de sedimentos, e tempo despendido na amostragem e secagem das amostras em condições idênticas.

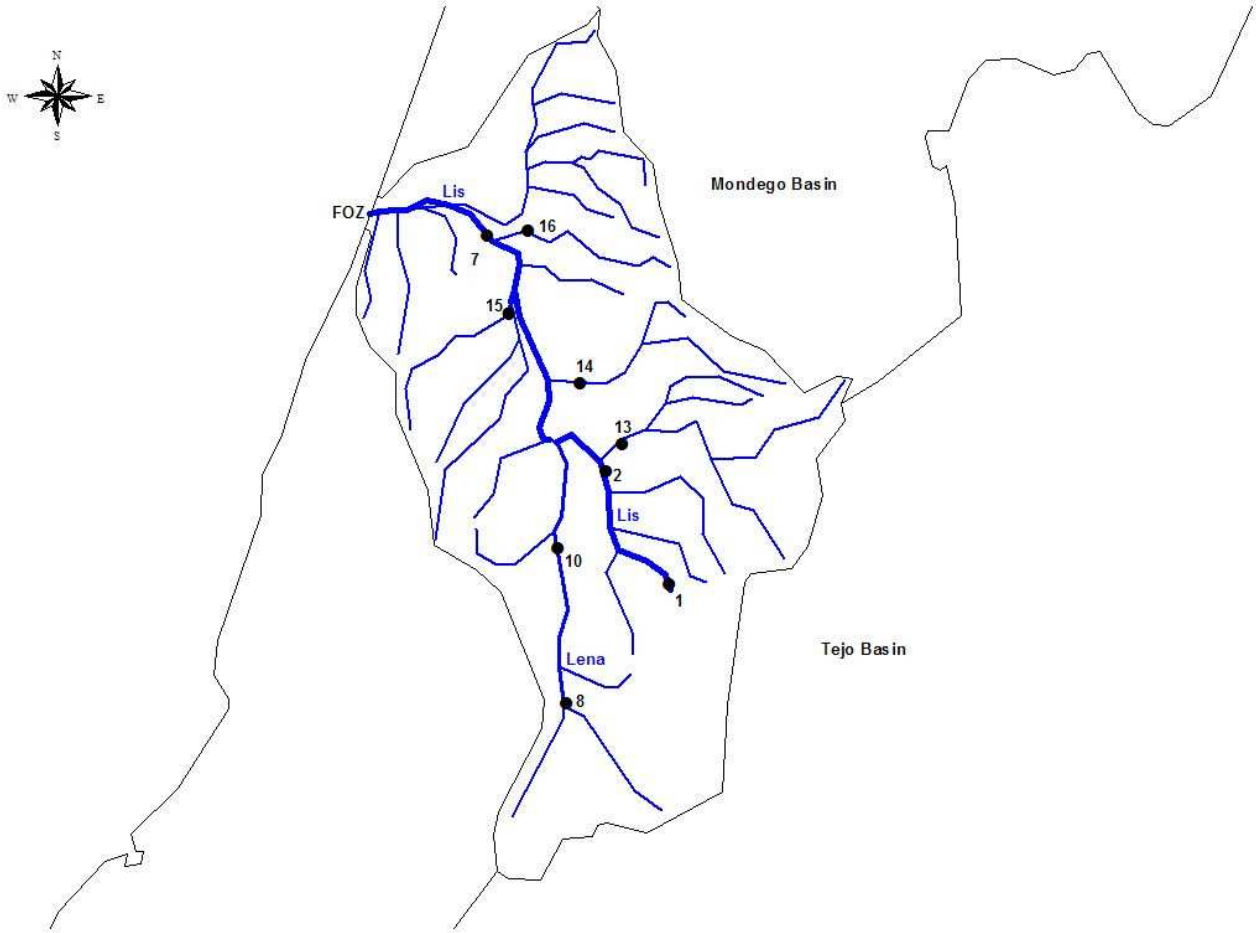


Figura 4.1 Bacia do rio Lis com indicação dos pontos de amostragem de sedimentos

No âmbito deste estudo foram realizadas 3 campanhas de amostragem de sedimentos nas seguintes datas: 8 de Dezembro de 2003, 19 de Setembro de 2004 e 15 de Maio de 2005. Os períodos seleccionados corresponderam a diferentes características hidrológicas. De que se destacam o caudal médio mensal da bacia, com base nos dados obtidos nas duas estações hidrométrica existentes (Dezembro-5,57 $m^3 s^{-1}$, Setembro- 0, 20 $m^3 s^{-1}$ e Maio- 0,56 $m^3 s^{-1}$).

A escolha dos metais Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al teve em conta o potencial toxicológico e o facto de que alguns são mais significativamente afectados no ciclo geoquímico pelas actividades antropogénicas identificadas na bacia hidrográfica do Lis.

De salientar que as concentrações de Zn, Pb, Mn e Fe nas águas da bacia do Lis durante o período monitorizado, não excedem os limites legais para os critérios de qualidade da água tendo em conta a preservação da vida piscícola (Decreto-Lei 236/98), à excepção do cobre. Foi no rio Lena, na ribeira dos Milagres e no colector de Amor que se encontraram os maiores

valores, que em algumas campanhas chegam a colocar em risco a vida piscícola (concentrações de Cu superiores a 40 μgL^{-1}). O estudo da contaminação metálica em sedimentos poderá apresentar resultados bem diferentes, já que os sedimentos são reservatórios de elementos tóxicos.

4.6 Materiais e Métodos

4.6.1 Amostragem

As amostras de sedimentos foram recolhidas da seguinte forma: para as amostras das estações 7 e 15 recorreu-se a uma draga do modelo Birge-Ekman em aço inoxidável, com dimensões aproximadas de 15×15×30 cm. As restantes amostras foram colhidas com uma pá de aço inoxidável. A quantidade de amostra recolhida variou de 2 a 3 kg de sedimento superficial (3-5 cm de profundidade) oxigenado e o transporte para o laboratório foi efectuado em sacos de plástico pretos, colocados em malas térmicas refrigeradas. No laboratório, após remoção de cascalhos e folhas, os sedimentos foram colocadas em tabuleiros de plástico e secos ao ar durante 1 semana. Após o período de secagem ao ar foi efectuada a separação granulométrica da fracção < 63 μm com um agitador de peneiros (RETSCH modelo AS 200 digit) e um peneiro ASTM E11-Nº. 230. A fracção fina obtida foi seca a 105 ± 2 ºC até peso constante. Todas as amostras foram acondicionadas em frascos plásticos para posterior análise química.

4.6.2 Análise química

O conteúdo de matéria orgânica (MOV) foi determinado por gravimetria após calcinação a 550 ±50 ºC segundo o procedimento descrito no manual *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (Criasceri *et al.*, 2000). O carbono orgânico total (COT) foi obtido por diferença entre os resultados da medição do carbono total (CT) e do carbono inorgânico total (CIT). O CT foi medido após combustão catalítica da amostra a 900 ºC e o CIT foi determinado após acidificação com ácido fosfórico a 200 ºC de acordo com a norma EN 13137: 2001, usando um analisador SHIMADZU modelo SSM-5000A para amostras sólidas. Os sulfuretos volatilizáveis por acidificação (SVA) foram convertidos em H_2S com uma solução de HCl 1 mol L^{-1}; o H_2S formado foi recolhido numa solução de NaOH 0,5 mol L^{-1} e

determinado por espectrometria (espectrofotómetro PYE UNICAM PU 8600 UV/VIS) de acordo com o procedimento descrito por Allen *et al.* (1993). A concentração de iões metálicos foi efectuada por espectrometria de absorção atómica com chama (EAA) usando um espectrofotómetro GBC 932 Plus Atomic Absorption Spectrometer.

As soluções padrão de zinco [$Zn(NO_3)_2$ 1001 ±2 mg L^{-1}], chumbo [$Pb(NO_3)_2$ 1001 ±2 mg L^{-1}], cobre [$Cu(NO_3)_2$ 1001 ±2 mg L^{-1}], crómio [$Cr(NO_3)_3$ 999 ±5 mg L^{-1}], manganês [$Mn(NO_3)_2$ 1001 ±2 mg L^{-1}], níquel [$Ni(NO_3)_2$ 1001 ±2 mg L^{-1}], ferro [$Fe(NO_3)_3$ 1001 ±2 mg L^{-1}] e alumínio [$Al(NO_3)_3$ 999 ±2 mg L^{-1}], usadas na preparação dos padrões de calibração foram da marca Merck. As condições operacionais de EAA estão descritas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Condições operacionais de EAA utilizadas na determinação de metais

Metal	Intensidade de corrente (A)	Comprimento de onda (nm)	Tipo de chama	Gama de leitura (mg L^{-1})	Limite de detecção (mg L^{-1})[1]
Zn	5,0	213,9	A-A	0,4-1,5	0,05
Pb	5,0	217,0	A-A	0,6-8	0,08
Cu	3,0	324,7	A-A	0,5-5	0,06
Cr	6,0	357,9	P-A	2-15	0,2
Mn	5,0	279,8	A-A	0,4-4	0,04
Ni	4,0	232,0	A-A	0,2-2	0,06
Fe	7,0	372,0	A-A	20-80	3,0
		248,3		0,8-8	0,09
Al	10,0	396,2	P-A	25-110	0,73

A-A – Ar/acetileno, P-A – Protóxidode azoto/Acetileno; (1) – Limite de Detecção calculado de acordo com a expressão, Y_B+3S_B (Miller and Miller, 2000), em que Y_B = b e $S_B=S_{y/x}$, da equação linear obtida da curva de calibração [Y (absorvância)= m X (concentração (mg L^{-1}))+b].

$$S_{Y/X} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - Y_i)^2}{n-2}}$$

4.6.3 Determinação da concentração pseudototal de metais

O teor de metais das amostras de sedimentos foi determinado após digestão ácida, HCl (37%, Merck) e HNO_3 (65%, Merck) na proporção de 3:1, num digestor RECOD/6 *digester (Método D- London Her Majesty´s Stationary Office).* Transferiu-se 1,0 g de sedimento seco (fracção <63 μm) para um tubo de digestão e adicionou-se 1 mL de água destilada e 4 esferas de vidro

(reguladores de ebulição). Cuidadosamente adicionou-se 6 mL de HCl pa (d=1,18) e 2 mL de HNO_3 pa (d= 1,42) e agitou-se manualmente. Depois de não se verificar efervescência, a suspensão foi colocada no bloco de digestão e aquecida até ao refluxo (140 ºC) durante 3-4 horas. Após arrefecimento à temperatura ambiente, a amostra foi filtrada através de membrana filtrante de nitrato celulose 0,45 μm lavada previamente com uma solução de ácido nítrico 10 % (V/V) e diluída a volume final de 25 mL com água destilada. A solução obtida foi armazenada no frigorifico até posterior determinação do teor em metais por EAA.

Para cada determinação efectuou-se um ensaio em branco, colocando 5 mL de água destilada em substituição da amostra de sedimento e aplicou-se o mesmo procedimento de digestão.

Todo o material utilizado foi previamente lavado com uma solução de ácido nítrico a 10% e água destilada e seco na estufa a 30 ºC.

4.6.4 Determinação da concentração extractável de metais

O método de extracção sequencial utilizado neste estudo foi descrito por Quevauviller *et al.* (1997) e está esquematicamente resumido no fluxograma da Figura 4.2.

A velocidade de agitação de 40 rpm recomendada no procedimento certificado pelo BCR, não foi utilizada, uma vez que com o sistema de agitação utilizado neste estudo, o sedimento não era mantido em suspensão durante a extracção. Desta forma, foram testadas várias velocidades de agitação, 50, 60, 80, 100, 120 e 140 rpm, tendo-se verificado que o sedimento permanecia em suspensão a 140 rpm, pelo que foi esta a velocidade de agitação utilizada no procedimento experimental.

A quantidade de amostra utilizada, por questões de ordem prática (apenas se dispunha de tubos de centrifugação de 50 mL) foi reduzida para metade, mantendo a proporção de amostra/volume de extractante. Na literatura (Mester *et al.*, 1998; Svete *et al.*, 2001; Pustisek *et al*., 2001) existem dados que demonstram que a aplicação do procedimento de extracção sequencial BCR com reduções da massa de amostra e do volume de extractante conduz a resultados semelhantes.

Todo o material utilizado foi lavado com uma solução de HNO_3 a 10% e água destilada (incluindo os tubos de centrifuga de 50 mL, e os frascos de recolha de amostras de 25 mL de polietileno).

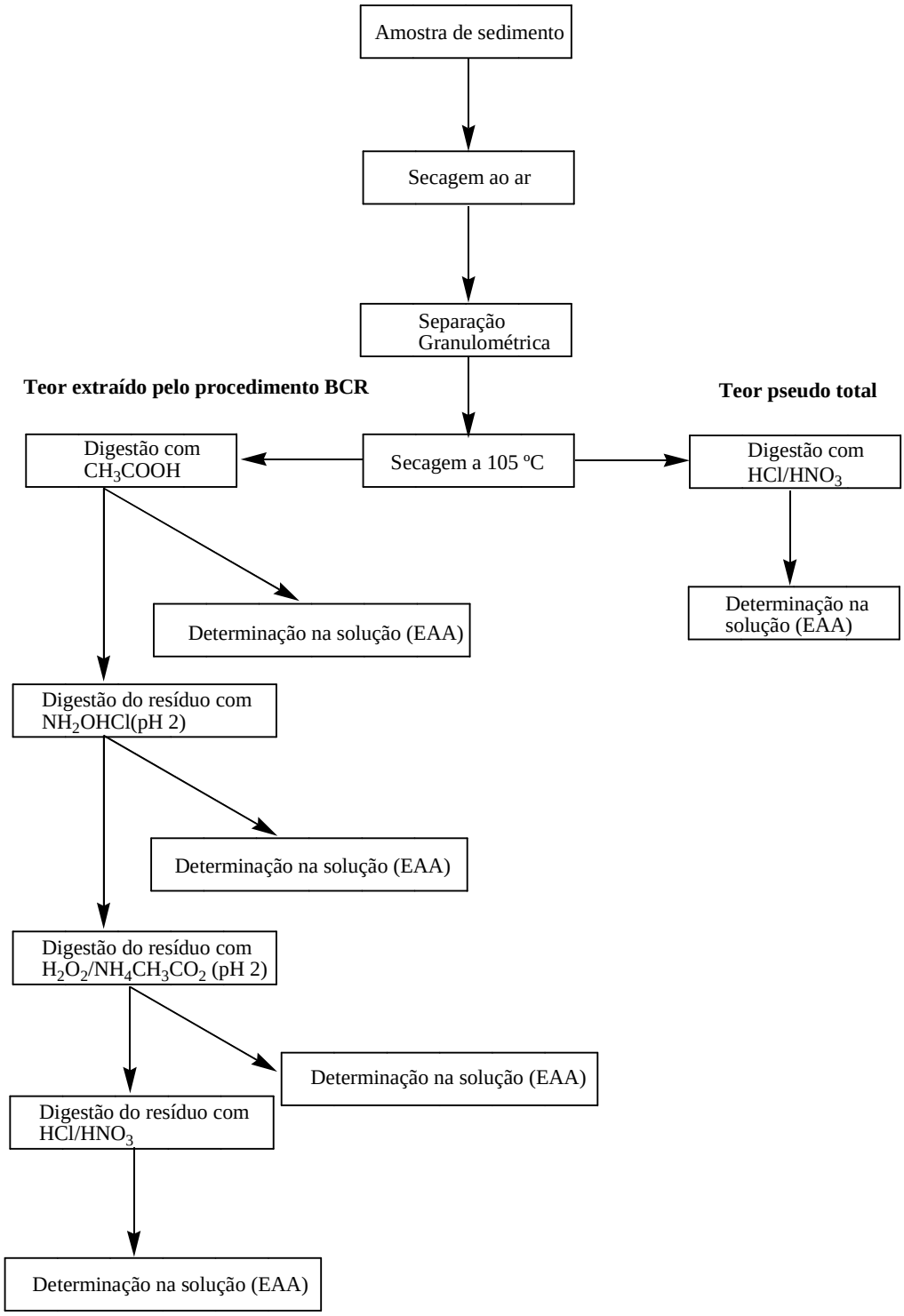


Figura 4.2 Fluxograma descritivo do procedimento experimental aplicado às amostras de sedimentos

O branco foi preparado da seguinte forma: 5 mL de água destilada a que se adicionaram as soluções de ácido acético 0,11 mol L^{-1}, cloreto de hidroxilamónio 0,1 mol L^{-1}, peróxido de

hidrogénio 8,8 mol L^{-1} e acetato de amónio 1 mol L^{-1}, respectivamente, seguindo o procedimento operacionalmente definido (BCR-SEP) (Apêndice C.1).

Para poder avaliar os procedimentos adoptados para a digestão das amostras para a obtenção do teor pseudototal de metais e para o processo de extracção sequencial, foi utilizado o sedimento de referência CRM 601 após secagem a 104±2 ºC durante 2-3 h (5 amostras retiradas do mesmo frasco).

Para as amostras de sedimentos do rio Lis foram efectuados dois ensaios em paralelo. A amostra 7 não foi submetida ao procedimento de extracção, devido à quantidade insuficiente da fracção < 63 μm (amostra com carácter predominantemente arenoso).

Apresenta-se a seguir, de forma mais detalhada, o procedimento adoptado em cada uma das etapas do procedimento BCR-SEP.

1ª Etapa (fracção permutável/ácido solúvel)

Para um tubo de centrifuga de 50 mL pesou-se 0,5 g de sedimento seco (fracção < 63 μm) e adicionou-se 20 mL de solução de ácido acético (0,11 mol L^{-1}). Manteve-se o tubo sob agitação num agitador do tipo orbital a 140 rpm durante 16 horas à temperatura de 20 ± 5 ºC. O extracto foi separado por centrifugação a 3400 rpm e guardado em frasco de polietileno a 4ºC até ser analisado. Ao resíduo foram adicionados 10 mL de água destilada, sendo a suspensão agitada durante 15 minutos e depois centrifugada. O líquido sobrenadante foi descartado, sendo o resíduo sólido usado na etapa seguinte.

2ª Etapa (fracção redutível)

Ao resíduo resultante da etapa anterior adicionou-se 20 mL de solução de cloreto de hidroxilamónio (0,1 mol L^{-1} ajustado a pH 2 com HNO_3 (65%). Manteve-se o tubo sob agitação num agitador do tipo orbital a 140 rpm durante 16 horas à temperatura de 20 ± 5 ºC. O extracto foi separado por centrifugação a 3 400 rpm, guardado em frasco de polietileno e mantido a 4ºC até ser analisado. O resíduo foi lavado com 10 mL de água destilada, a suspensão agitada durante 15 minutos e centrifugada. O líquido sobrenadante foi descartado, sendo o resíduo sólido usado na etapa seguinte.

3ª Etapa (fracção oxidável)

Adicionou-se cuidadosamente ao resíduo sólido da etapa anterior, em pequenas porções, 10 mL de solução de H_2O_2 (8,8 mol L^{-1}). O tubo foi tapado com um vidro de relógio, e colocou-se numa placa de agitação à temperatura ambiente durante 1 hora, agitando ocasionalmente (manualmente). Prosseguiu-se a digestão durante mais uma hora a 85 ºC e, no final, reduziu-se o volume a 1-2 mL, por aquecimento do tubo destapado. Adicionou-se mais 10 mL de solução de H_2O_2 (8,8 mol L^{-1}), e repetiu-se o procedimento anterior. Após arrefecimento da mistura, adicionou-se 50 mL de solução de acetato de amónio (1 mol L^{-1}) e manteve-se o tubo sob agitação durante 16 horas (toda a noite) a 140 rpm. A temperatura foi controlada a 20 ± 5 ºC durante o decorrer da experiência. O extracto foi separado por centrifugação a 3 400 rpm, guardado em frasco de polietileno e mantido a 4ºC até ser analisado. O resíduo foi lavado com 10 mL de água destilada, a suspensão agitada durante 15 minutos e centrifugada. O líquido sobrenadante foi descartado, e o resíduo sólido foi usado na etapa seguinte de digestão ácida.

4ª Etapa (fracção residual)

O resíduo obtido na etapa anterior foi tratado com 3 mL de HCl (d=1,18) e 1 mL de HNO_3 (d=1,42). Colocou-se o tubo no bloco de digestão, submetendo a amostra a aquecimento até ao refluxo (140 ºC) durante 2-3 horas. Após este período, arrefeceu-se a amostra à temperatura ambiente. Filtrou-se a amostra através de membrana filtrante de nitrato de celulose de 0,45 μm, lavada previamente com uma solução de HNO_3 10 % (V/V), para balão volumétrico de 25 mL, perfazendo o volume final com água destilada. As soluções antes de serem submetidas a análise por EAA foram conservadas no frigorífico a 4 ºC.

4.7 Resultados e Discussão

4.7.1 Sedimento de referência CRM-601

De forma a validar o método de extracção sequencial aplicado ao estudo das amostras de sedimentos da bacia do Lis, foi aplicado o mesmo procedimento ao sedimento de referência CRM 601. Os teores pseudototais de metais foram comparados com os descritos na literatura (Mester *et al.*, 1998*; Rauret et al.*, 1999). Com excepção do zinco, todos os valores determinados concordam com os valores indicativos referidos na Tabela 4.2. A explicação para a discrepância observada para o zinco poderá estar associada à técnica analítica utilizada

na determinação deste elemento, já que os valores indicativos foram determinados por espectrofotometria de emissão atómica induzida por plasma e espectrofotometria de absorção atómica com forno de grafite.

Tabela 4.2 Teor de metais na fracção < 90 μm obtidos para o sedimento de referência CRM-601

	Zn	**Pb**	**Cu**	**Cr**	**Mn**	**Ni**	**Fe**	**Al**
				F1 (Fracção solúvel em ácido)				
Quantidade obtida(1,2)	***1000±26***	***273±17***	***196±11***	***140±9***	***1006±23***	***85±8***	***49 333±27***	***27 646±18***
Valor indicativo(1,2,3)	833±17	288±52	230±15	112±10	-	78,8±6,7	-	-
Mester et al., 1998(3,4)	800	272	200	136	-	80	-	-

Os valores a negrito representam os determinados no laboratório (n=5); Os valores indicativos estão descritos por Rauret *et al.* (1999); (*1*) - Os resultados estão apresentados como o valor médio ± desvio padrão, para n≥5 (mg kg^{-1}); (2) – Digestão efectuada com a mistura ácida HCl/HNO_3; (*3*) – Valores baseados em resultados de seis laboratórios. Os elementos foram determinados por espectrofotometria de absorção atómica com câmara de grafite (EAA-CG) ou espectrofotometria de emissão atómica induzida por plasma; (4) - Digestão com a mistura ácida $HNO_3/HF/H_2O_2$.

Na Tabela 4.3 apresentam-se os valores obtidos, neste estudo, para os diferentes metais analisados nas várias fracções resultantes da extracção sequencial, e comparados com os valores certificados e/ou indicativos descritos na EUR 17554 EN e com valores publicados por outros autores. O sedimento CRM 601 apresenta valores certificados para os metais Zn, Pb, Cr, Ni e Cd extraídos na etapa 1, para os metais Zn, Ni e Cd na etapa 2 e para os metais Pb, Ni e Cd na etapa 3. Valores indicativos, mas não certificados, para Cu na etapa 1 e para Pb na etapa 2 também são fornecidos. Para os metais Mn, Fe e Al não existem valores de referência, pelo que se optou por comparar com valores encontrados por outros autores aplicando o mesmo procedimento de extracção.

O procedimento foi aplicado às amostras de sedimento e ao material de referência CRM 601 com algumas modificações, nomeadamente na velocidade de agitação.

Tabela 4.3 Teor de metais extraídos nas 4 etapas do BCR-SEP. *Comparação entre os valores obtidos e os valores referência (mg kg^{-1}) para a análise do sedimento CRM 601*

	Zn	Pb	Cu	Cr	Mn	Ni	Fe	Al
F1 (Fracção solúvel em ácido)								
Quantidade obtida[1]	*260±6*	*2,9±1,0*	*12±3*	*1,7±1,3*	*260±3*	*6,7±1,9*	*21±14*	*BDL 4*
Valor *certificado*/indicativo[1,2]	*264±5*	*2,68±0,35*	*8,32±0,46*	*0,36±0,04*	-	*8,01±0,73*	-	-
Mester *et al.*, 1998[1,3,4]	267±9	2,47±0,15	8,81±0,43	0,43±0,05	-	8,24±0,76	-	-
Sahuquillo *et al.*, 1999[1,2]	275±7	2,90±1,00	10,04±0,06	0,27±0,05	301±4	8,43±0,44	50,9±1,5	-
Svete *et al.*, 2001[1,2,4]	262±6	2,8±1,3	-	-	-	-	-	-
Sutherland e Tack., 2002[1,5]	292±4	$BDL_{2,2}$	12±0,1	-	803±2	-	58±1	34±3
F2 (Fracção redutível)								
Quantidade Obtida[1]	*202±5*	*33±10*	*9,4±1,6*	*2,0±1,1*	*170±6*	*7,4±1,9*	*566±21*	*39 7±42*
Valor *certificado*/indicativo[1,2]	*182±11*	33,1±10	*5,62±3,19*	1,43±1,01	-	*6,05±1,09*	-	-
Mester *et al.*, 1998[1,3,4]	184±8	27,2±2,1	7,06±0,74	1,03±0,71	-	7,28±0,78	-	-
Sahuquillo *et al.*, 1999[1,2]	151±6	12,4±0,8	2,70±0,29	0,42±0,06	127±4	4,72±0,45	941±25	-
Svete *et al.*, 2001[1,2,4]	170±8	26,1±1,3	-	-	-	-	-	-
Sutherland *e Tack*, 2002[1,5]	303±11	225±7	83±1	-	381±6	-	7880±105	4060±104
F3 (Fracção oxidável)								
Quantidade obtida[1]	*173±22*	*112±6*	*87±3*	*30±4*	*49±3*	*9,2±1,3*	*545±33*	*2115±45*
Valor *certificado*/indicativo[1,2]	137±30	*109±13*	116±26	18,3±4,5	-	*8,55±1,04*	-	-
Mester *et al.*, 1998[1,3,4]	157±1	100±10	157±64	20,2±0,5	-	9,82±0,27	-	-
Sahuquillo *et al.*, 1999[1,2]	133±9	91,9±23,4	113±7	17,9±2,0	46,5±1,3	6,27±0,31	526±246	-
Svete *et al.*, 2001[1,2,4]	167±9	123±8	-	-	-	-	-	-
Sutherland *e Tack.*, 2002[1,5]	116±15	19±1	90±6	-	111±1	-	2220±66	1170±16
F4 (Fracção residual)								
Quantidade obtida[1]	*378±10*	*149±5*	*100±2*	*122±5*	*477±7*	*70±2*	*45709±160*	*25602 ±100*
Mester *et al.*, 1998[1,3,4]	181±8	101±10	22,4±0,5	121±1	-	44,5±1,1	-	-
Sutherland *e Tack*, 2002[1,5]	160±1	26±2	61±1	-	1050±7	-	45500±560	21300±500

BDL_4 – valor inferior ao limite de detecção de 4 mg kg^{-1}; $BDL_{2,2}$ – valor inferior ao limite de detecção de 2.2 mg kg^{-1}; (*1*) Os resultados estão apresentados como o valor médio ± desvio padrão, para n≥5 (mg kg^{-1}); (*2*) Os metais Cu, Cr, Ni and Pb foram determinados por espectrofotometria de emissão atómica induzida por plasma (EEA/ICP) e os metais Zn, Mn, Fe e Al por espectrofotometria de Absorção atómica (EAA); (*3*) Todos os elementos foram determinados por espectrofotometria de absorção atómica com câmara de grafite (EAA-CG); (4) A concentração de metais na fracção residual foi determinada após digestão com a mistura ácida $HNO_3/HF/H_2O_2$; (5) 2ª etapa: 0,5 mol L^{-1} de solução de cloreto de hidroxilamónio (ajustado a pH 1,5 com uma solução de ácido nítrico, 2 mol L^{-1}). A concentração de metais na fracção residual foi determinada após digestão por microondas com a mistura ácida $HNO_3/HF/H_2O_2$.

De uma forma geral, os valores obtidos estão dentro do intervalo de incerteza, tendo em conta o desvio padrão, com excepção do Cu na etapa 1 e do Zn na etapa 2. Nestes casos, ocorrem diferenças significativas entre o menor valor do intervalo obtido e o maior valor do intervalo certificado. Esta diferença poderá estar relacionada com algumas limitações inerentes ao próprio procedimento de extracção sequencial descritas por Fernàndez *et al.* (2006), tais como, baixa selectividade do reagente extractante, redistribuição de analitos entre fases (Raksasataya *et al.*, 1996) e variabilidade entre diferentes operadores.

Alguns valores de desvio padrão obtidos são elevados, nomeadamente para Pb, Cr e Ni e estão relacionados com os valores relativamente elevados do limite de detecção associados à técnica analítica. Todos os elementos neste estudo foram determinados por espectrofotometria de absorção atómica cuja precisão é geralmente baixa para valores próximos do limite de detecção, mas aumenta para concentrações elevadas. A comparação dos resultados obtidos para os metais Mn, Fe e Al com os valores publicados por outros autores revela uma grande variabilidade de resultados, pelo que se justifica a não existência de valores certificados para estes metais nas várias etapas.

Ao comparar os valores da concentração pseudototal de metal com a soma das concentrações obtidas nas 4 etapas de extracção do procedimento BCR-SEP para o sedimento CRM 601 verifica-se que a percentagem de recuperação varia entre 90 e 111% para os metais analisados. Estes resultados estão de acordo com os valores encontrados por diferentes autores, referenciados na Tabela 4.3.

4.7.2 Sedimentos da bacia do Lis

4.7.2.1 Análise estatística

Na Tabela 4.4 encontram-se os teores de metais e de matéria orgânica determinados nas fracções de sedimento com granulometria inferior a 63 μm, previamente desidratados a 104 ±2 ºC, obtidas nas 3 campanhas de amostragem.

Tabela 4.4 Valor médio de concentração e respectivo desvio padrão para diferentes parâmetros de qualidade de sedimentos monitorizados na bacia do rio Lis

Parâmetros	Estações de amostragem								
	1	**2**	**7**	**8**	**10**	**13**	**14**	**15**	**16**
Zn	55±14	87±18	64±23	69±20	77±17	70±2	315±99	622±484	106±6
Pb	21±10	36±14	24±2	15±12	24±11	26±10	18±8	25±11	21±8
Cu	23±15	39±16	22±2	19±12	26±6	21±2	51±15	59±12	22±2
Cr	39±15	121±111	32±23	29±3	30±10	45±10	13±5	43±21	43±20
Mn	268±102	242±56	368±13	225±41	478±196	236±87	155±56	233±54	427±318
Ni	10±2	30±7	12±3	12±3	15±10	19±2	5±3	28±18	19±11
Fe	11,6±1,8	15,3±1,1	15,0±3,6	11,1±3,0	18,5±6,5	13,8±0,09	10,4±3,0	20,4±2,1	30,4±12,2
Al	9,6±2,0	15,6±5,5	8,2±2,3	12,7±4,1	14,9±2,4	12,2±0,64	8,4±3,7	24,2±7,5	24,3±12
MOV	6,1±1,3	6,3±2,8	5,6±0,3	8,4±1,6	4,9±1,5	5,4±2,1	7,0±2,2	10,3±0,8	10,1±1,1
TOC	3,3±0,6	3,0±0,8	3,6±0,3	5,6±0,2	2,5±0,1	2,0±0,8	3,6±0,6	3,8±0,2	3,1±0,1
SVA	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Zn, Pb, Cu, Cr, Mn e Ni (mg kg^{-1}), Fe e Al (g kg^{-1}), MOV e TOC (%) e SVA (μmol S g^{-1}).

A análise global dos teores de matéria orgânica, MOV (%) e TOC (%), e de concentração pseudototal de metais permite afirmar que, em geral, os valores mais elevados foram obtidos na campanha de Maio de 2005 (resultados apresentados no Apêndice C.2). Verifica-se uma grande dispersão de resultados na Bacia, com algumas tendências: os teores mais elevados de Zn e Cu foram encontrados nas estações Milagres e Amor em todas as campanhas de amostragem, o que poderá estar relacionado com a descarga de efluentes de origem pecuária bastante concentrados nesta área e que possuem teores significativos destes dois metais (EPER, 2004). Por outro lado, a ribeira dos Milagres apresenta, disperso um pouco por toda a área, um número significativo de metalomecânicas que poderão contribuir também para o enriquecimento metálico dos sedimentos. O colector de Amor engloba a área mais industrializada da bacia pelo que este tipo de contaminação poderá contribuir para o teor de Zn e Cu encontrado. O teor de Cr mais elevado (valor anormal de 199 mg kg^{-1}) foi detectado na estação de Olhalvas. Esta estação localiza-se imediatamente a jusante da descarga da ETAR de Olhalvas, que recebe para além de efluentes domésticos alguns efluentes industriais

provenientes do sector da cromagem e tratamento de superfícies (dados SIMLIS, 2005). A variação espacial da concentração pseudototal dos metais Zn e Pb na bacia do Lis está representada na Tabela 4.3.

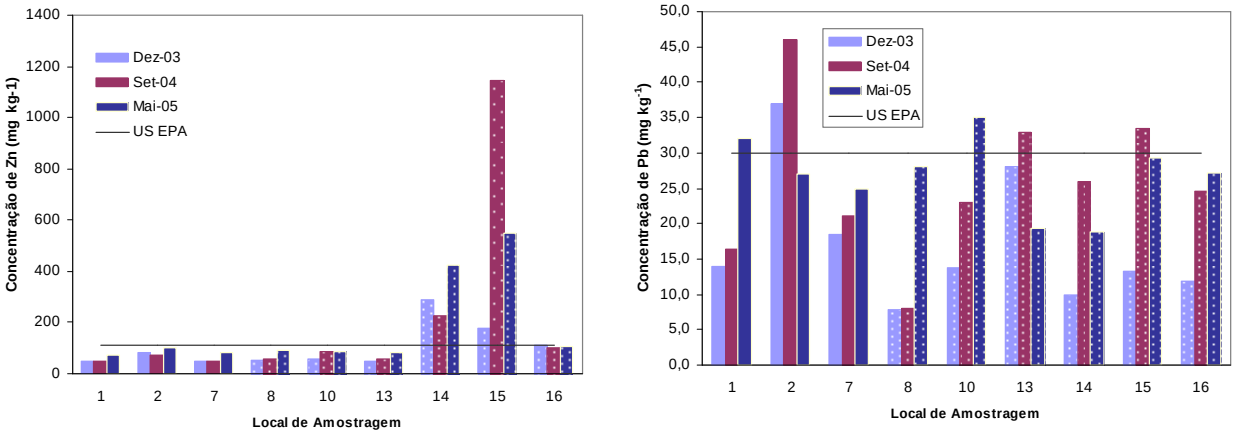


Figura 4.3 Variação espacial da concentração pseudototal de Zn e Pb na bacia hidrográfica do Lis nas 3 campanhas de amostragem

Para uma análise mais global, os resultados obtidos foram comparados com critérios de qualidade em sedimentos, tendo em conta os potenciais efeitos na biota, e com valores obtidos para sedimentos de rios urbanos. Tiveram-se em conta, no entanto, algumas limitações associadas a este tipo de comparações, nomeadamente em relação à fracção granulométrica analisada, aos reagentes utilizados no processo de digestão da amostra, à composição química do sedimento (aspectos geológicos) e ao tipo de contaminações antropogénicas a que está sujeito. Os valores apresentados na Tabela 4.5 correspondem a valores encontrados na literatura (Moss e Constanzo, 1998) que relacionam a comunidade bentónica com os níveis de metais pesados cuja concentração não afecta a sua saúde, para diferentes ambientes. Os valores (ERL-*effects range low*) representam o limite abaixo do qual a probabilidade de ocorrerem efeitos adversos na biota é muito baixa. Os diferentes critérios descritos apresentam alguma variabilidade de valores, particularmente no caso do chumbo, mas na maioria dos casos são concordantes e servem de base para avaliação do potencial tóxico em sedimentos em que não foram determinados valores de referência em condições prístinas, como é o caso do Lis.

Tabela 4.5 Critérios de qualidade para sedimentos de rio (valores de referência para o teor total de metais em, mg kg^{-1})

	Puget Sound (1)	*Canadian EQG* (2)	Netherlands (1)	*Australian WQG* (3)	USEPA (4)
Zn	160	123	140	150	110
Pb	6,6	35	85	47	31
Cu	81	35,7	36	34	16
Cr		37,3		81	26
Ni				21	16
Cd	0,96	1,00	0,80	1,2	
Al					14 000

(1) Batley (1994); *(2) Environment Canada* (2002), MacDonald *et al.* (1992), *(3)* Moss e Constanzo (1998); *(4)* U*S Environmental Protection Agency (1999);* EQG – *Canadian Environmental Quality Guidelines e* WQG – *Australian Water Quality Guidelines.*

Os valores obtidos para a concentração pseudototal de metais na bacia do Lis surgem na gama de concentrações obtidas em outros rios urbanos, Tabela 4.6, (Sena, Sherbourne, Henares, Semarang, Danúbio, Tiber, Po e Manzanares) (Miguel *et al.*, 2005). No que respeita aos níveis toxicológicos, a situação é preocupante nomeadamente para Zn, Cu, Cr e Ni. O valor médio das concentrações destes metais no rio Lis é superior aos valores estabelecidos pelos critérios USEPA: para o Zn nas estações Milagres e Amor (valores acima dos 110 mg kg^{-1} em todas as campanhas de amostragem), para o Pb na estação Olhalvas, para Cr na maioria das estações monitorizadas (excepto na estação Milagres), para o Cu em todas as estações de amostragem, para o Ni nas estações Olhalvas e Amor e para o Al nas estações Olhalvas, Ponte Mil Homens, Amor e Carreira. Resultados semelhantes obtêm-se aplicando o critério "*Canadian EQG*" (Environmental Canada, 2002) para Zn e Pb nas estações Olhalvas, Milagres e Amor. Para o Cu, os valores encontrados são superiores nas estações Olhalvas, Milagres e Amor e para o Cr em cinco estações do total das estações monitorizadas (Fontes, Olhalvas, Sirol, Amor e Carreira).

Tabela 4.6 Valores de concentração de metais (mg kg^{-1}) obtidos em sedimentos de rios urbanos

Rio	Zn	Pb	Cu	Cr	Mn	Ni	Fe (%)
Henares, Espanha (1)	[17-1280]	[11-128]	[7-270]	[97-180]	[150-445]		[0,8-3,16]
Sena, França (2)	429	162	84				2,91
Sowe, UK (3)	786	411	47,9			164	
Samarang, Indonésia (4)	[53,7-1257]	[5,2-2666]	[12,3-448]			103	
Danúbio, Áustria (5)	187	53,6	43,5				
Tiber, Itália (6)	[53,4-417,6]	[12,4-43,1]	[13,3-45,5]	[18,2-54,2]		[3,6-33,5]	
Po, Itália (7)	[127-519]	[39,3-71,8]	[45,2-180]	[118-233]	[355-1159]	[99-237]	[4,5-5,2]
Sherbourne (8)	[114-1586]	[45,7-957]	[7.1-270]			[30-843]	
Manzanares, Espanha (9)	[70-591]	[32-371]	[11-347]	[18-126]	[305-1276]	[5-47]	[1,9-9,1]
Rio Lis, Portugal	**[46-1138]**	**[7,9-46,1]**	**[9-73]**	**[8,9-199]**	**[91-788]**	**[2,4-46]**	**[0,77-4,2]**

Os valores a negrito representam o valor mínimo e o valor máximo do intervalo de valores obtido para a concentração de cada elemento metálico no rio Lis; (1) Alarcón (1990), (2) Estèben *et al.* (1997), *(3)* Foster *et al.* (1996), (4) Widianarko *et al. (2000); (5)* Gundacker *et al. (2000), (6)* Minissi *et al. (1998), (7)* Vignati *et al.* (2003), (8) Foster e Charlesworth (1996) e *(9)* Miguel *et al.* (2005).

Os resultados dos parâmetros analíticos (teores pseudototatais de metal e conteúdo orgânico) obtidos para as estações monitorizadas foram submetidos a uma análise estatística multivariada (matriz de correlação, análise de componentes principais (ACP) e análise grupal (AG)).

Da análise da matriz de correlação (Tabela 4.7) salientam-se as seguintes correlações positivas com maior significância: Zn e Cu (r=0,81) e Fe e Al (r=0,82). O Zn e o Al, separadamente, por sua vez aparecem correlacionados com a matéria orgânica volátil (r=0,50), embora sendo de estranhar a não correlação com o TOC, já que os dois parâmetros quantificam a matéria orgânica presente nos sedimentos e aparecem correlacionados entre si (r=0,59). O Mn e o Ni aparecem correlacionados com o Fe, e o Ni também com o Al, o que parece indicar uma mesma origem destes metais nas várias amostras de sedimentos, e diferente da origem do Cu e do Zn. A correlação de Al e Zn com a matéria volátil está associada ao facto destes metais serem detectados nos locais da bacia com maior contaminação orgânica.

Tabela 4.7 Matriz de correlação dos parâmetros de qualidade dos sedimentos da bacia do rio Lis

	Zn	Pb	Cu	Cr	Mn	Ni	Fe	Al	MOV	TOC
Zn	1									
Pb	0,179	1								
Cu	**0,813**	0,321	1							
Cr	0,013	0,123	0,298	1						
Mn	-0,29	0,063	-0,281	0,058	1					
Ni	0,343	0,451	0,258	0,331	0,162	1				
Fe	0,134	0,124	-0,016	0,131	**0,66**	**0,504**	1			
Al	0,314	0,219	0,253	0,334	0,46	**0,736**	**0,816**	1		
MOV	**0,496**	-0,266	0,452	0,228	0,072	0,228	0,448	**0,626**	1	
TOC	0,189	-0,392	0,214	0	-0,217	-0,204	-0,234	-0,056	**0,593**	1

Os valores assinalados a azul na tabela correspondem aos coeficientes estatisticamente significativos para $P < 0,05$.

Da ACP obtêm-se 3 componentes principais (Tabela 4.8), considerando o critério de Kaiser (1958), valores próprios superiores a 1, e explicam 75,5% da variância total. O PC 1 explica 35% da variabilidade e é representado pelos metais Fe, Al, Mn e Ni. Este factor parece estar relacionado com a natureza geológica dos sedimentos. O Fe e Mn constituem a fracção de hidro-óxidos, o Al representa a fracção associada aos silicatos e o Ni poderá estar associado predominantemente a uma destas duas fracções do sedimento. Esta suposição será confirmada pelos resultados da distribuição sequencial do Ni. O PC 2 explica 24% da variância total e é constituído pelos metais Zn, Cu e Cr, o que parece revelar o componente resultante da contaminação antropogénica resultante de fontes pontuais. Por último, o PC 3 explica 17% da variância total e está associado aos parâmetros MOV e TOC (valores negativos) e Pb (valor positivo). Estes parâmetros não apresentaram uma grande dispersão de valores nas amostras estudadas. A contaminação por Pb na bacia não parece ter particular significado. No entanto, em termos de matéria orgânica a situação é bem diferente, nomeadamente em Milagres, Amor e Ponte Mil Homens, locais em que as águas apresentaram forte contaminação orgânica. Esta situação não foi aí evidenciada tão significativamente nos sedimentos devido à limpeza e regularização periódica efectuada nestes troços.

Tabela 4.8 Peso dos factores (rotação varimax) associados a cada variável de qualidade dos sedimentos do rio Lis

Parâmetro	PC1	PC2	PC3	Com
Zn	-0,070	**0,871**	-0,111	0,776
Pb	-0,133	0,378	**0,772**	0,756
Cu	0,005	**0,924**	-0,034	0,856
Cr	-0,301	**0,308**	0,073	0,191
Mn	**-0,733**	-0,444	0,067	0,739
Ni	**-0,619**	0,447	0,361	0,714
Fe	**-0,933**	-0,021	0,022	0,872
Al	**-0,913**	0,316	-0,017	0,933
MOV	-0,495	0,472	**-0,697**	0,954
TOC	0,153	0,245	**-0,824**	0,763

Em relação à análise grupal, os resultados obtidos não são totalmente concordantes com a análise ACP, o que poderá estar associado ao reduzido número de dados da matriz usada para a análise, pelo que, no futuro, sugere-se uma análise mais detalhada recorrendo a mais campanhas de avaliação da qualidade de sedimentos e, se possível, em mais locais de amostragem (>9).

Na análise grupal (Figura 4.4) foram obtidos dois grupos distintos principais, um constituído pelos metais Zn e Cu e a matéria orgânica (MOV e TOC) e um outro constituído pelos restantes metais analisados. Convém realçar o nível de similitude entre os metais Fe e Al e entre os metais Zn e Cu, os quais poderão ser considerados subgrupos dentro de cada um dos grupos principais.

De acordo com os resultados apresentados, a análise grupal parece acusar a realidade da bacia do rio Lis, com os parâmetros Cu, Zn e matéria orgânica associados e relacionados com a poluição existente na bacia, com especial destaque para a resultante do sector suinícola, mais concentrado em alguma áreas da bacia, e os restantes que sugerem nalguns casos (Cr, Fe e Al) contaminação pontual, mas que não constituem um problema crónico de poluição. No entanto, a monitorização é essencial, dado o alto nível tóxico de Cr e Pb.

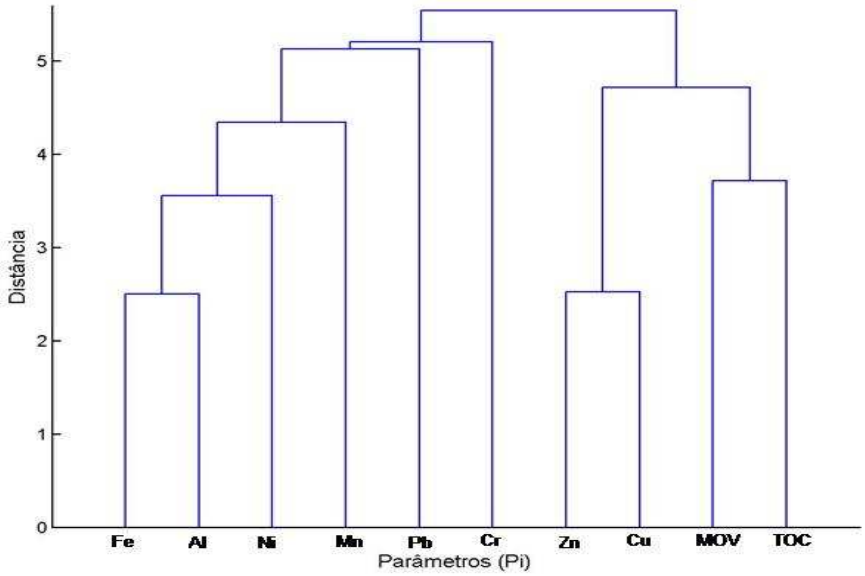


Figura 4.4 Dendograma resultante da análise grupal entre as diferentes variáveis de qualidade de sedimentos da bacia do Lis

4.7.2.2 Extracção sequencial

A partição resultante da aplicação da técnica de extracção sequencial é útil para avaliar o impacto ambiental dos sedimentos poluídos em termos da possibilidade de transferência dos metais para a fase líquida. Em geral, a mobilidade associada à fracção permutável é superior à da fracção redutível, em condições ácidas, e esta, por sua vez, é superior à da fracção orgânica/sulfuretos, em condições redutoras. A fracção residual, por sua vez, é considerada como o reservatório de maior quantidade de metais, em condições anóxicas, onde a permuta com a fase líquida é mais difícil (Ngiam e Lim, 2001).

Neste estudo, apenas as amostras com maior teor pseudototal de metais foram submetidas ao procedimento extractivo (amostras 2, 10, 14 e 15) na campanha de Setembro de 2004 (Figura 4.5), e todas as amostras de sedimentos colhidas na campanha de amostragem levada a cabo em Maio de 2005 foram submetidas ao procedimento de extracção sequencial, para todos os metais (Figura 4.6).

De seguida será efectuada uma análise comparativa dos resultados obtidos para cada um dos metais analisados.

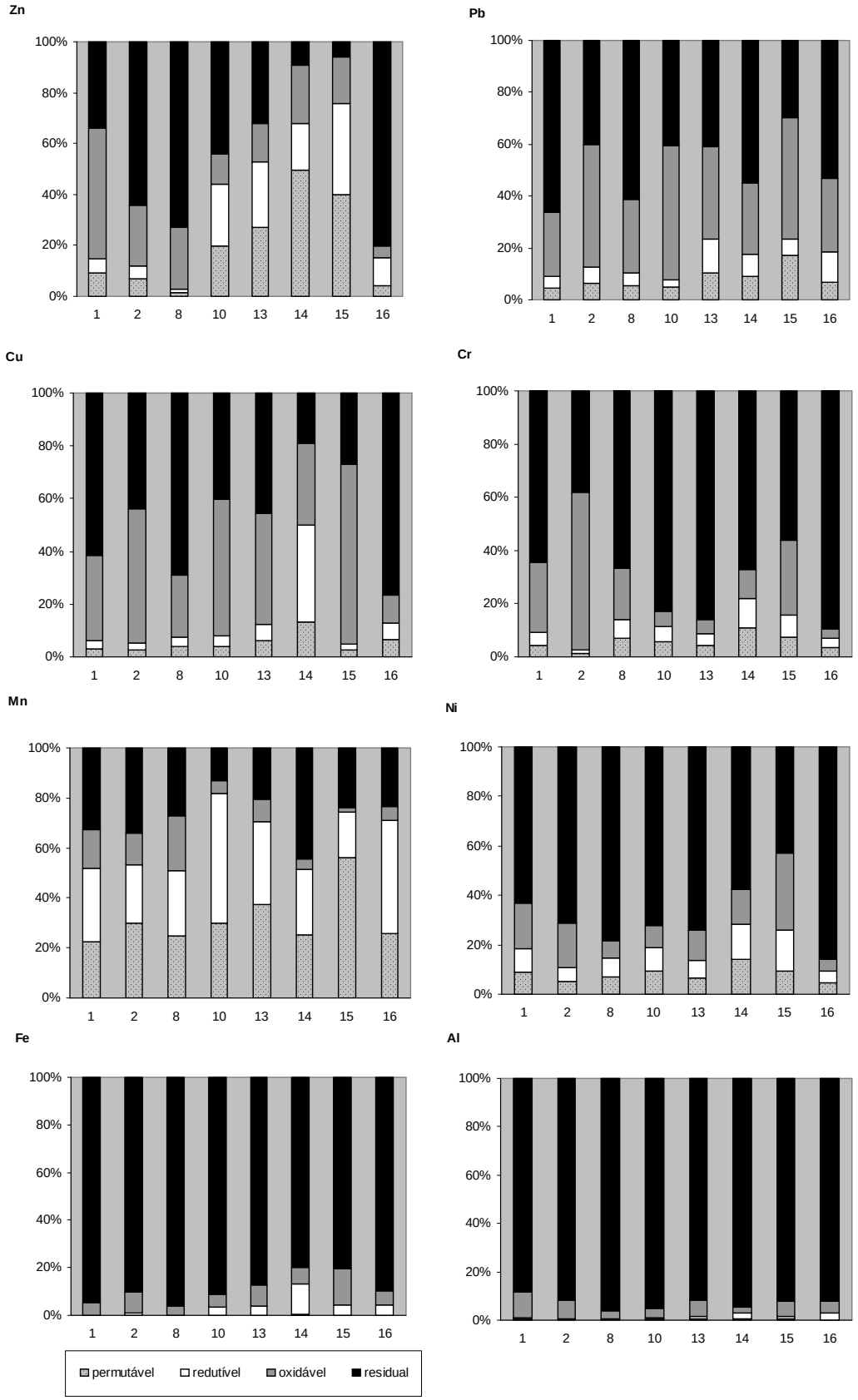


Figura 4.5 Distribuição dos metais Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al pelas diferentes fracções do processo de extracção sequencial BCR (amostragem de Setembro de 2004)

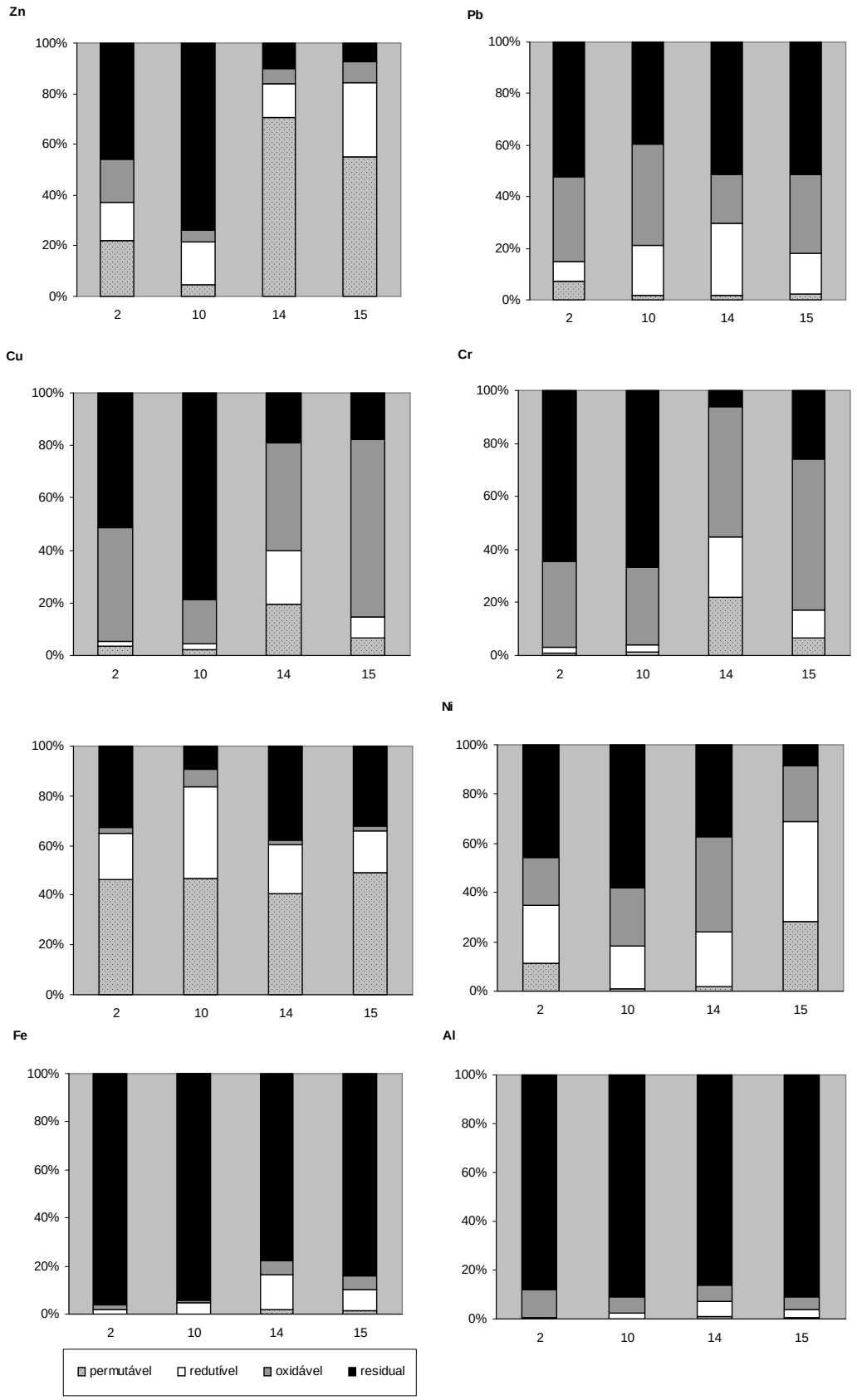


Figura 4.6 Distribuição dos metais Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al pelas diferentes fracções do processo de extracção sequencial BCR (amostragem de Maio de 2005)

Zinco

Relativamente ao zinco, as amostras de sedimentos apresentaram comportamentos distintos na distribuição do metal entre as diferentes fracções. Na campanha de Maio, a gama de valores determinada para o teor pseudototal variou entre 72 e 549 mg kg^{-1}. Estes valores são genericamente mais elevados do que os encontrados na campanha de Setembro (48-1 143 mg kg^{-1}), à excepção da estação 15 com um valor de 1 143 mg kg^{-1}. O Zn aparece maioritariamente nas duas últimas fracções do processo de extracção sequencial (cerca de 80%) para as amostras 1, 2, 8 e 16, na campanha de Maio e para a amostra 10, na campanha de Setembro. Valores superiores a 80% de Zn nas fracções oxidável e residual foram encontrados por Tüzen (2003) na aplicação do procedimento BCR a sedimentos de rio. Na amostra 2, o Zn apresenta-se distribuído de uma forma significativa pelas 4 fracções (22,0% na fracção 1, 15,1% na fracção 2, 16,8% na fracção 3 e 46,0% na fracção residual), na campanha de Setembro, comportamento idêntico ao apresentado pela amostra referência CRM-601. Resultados similares para a distribuição do Zn foram obtidos na campanha de Maio, para as amostras 10 e 13 que apresentam 26% e 24%, respectivamente, na fracção redutível e mais de 20% na fracção permutável, e o restante distribuído pelas últimas duas fracções. Nas amostras 14 e 15, cerca de 40% de Zn está na fracção permutável a que corresponde, respectivamente, 245 e 214 mg kg^{-1}, e na fracção redutível encontraram-se, respectivamente, 19% (93 mg kg^{-1}) e 36% (192 mg kg^{-1}). Na campanha de amostragem de Setembro para estas estações, a fracção 1 foi predominante, 55,2% (699,3 mg kg^{-1}) e 70,5% (161,7 mg kg^{-1}) e a maior parte do metal está distribuída entre as fracções 1 e 2 (84,4% e 84,0%), respectivamente. Estudos aplicando a mesma metodologia a sedimentos de rio e sedimentos costeiros apresentaram também elevadas quantidades de Zn na forma instável, ligado a carbonatos, facilmente removidas em meio ácido (Usero *et al.*, 1998; Svete *et al.*, 2001; Akcay *et al.*, 2003). Relativamente à potencial contaminação das águas superficiais por Zn, as áreas de maior risco correspondem aos locais de amostragem Milagres (14) e Amor (15). A ribeira dos Milagres engloba a maior concentração de suiniculturas da bacia, cujos efluentes apresentam concentrações elevadas de Zn provenientes dos chorumes e das rações e apresenta ainda dispersa um pouco por toda a sub-bacia indústrias metalomecânicas. Segundo o EPER (2004), o factor de emissão médio de Zn é de $6{,}98 \times 10^{-4}$ kg $animal^{-1}$ d^{-1}. O colector Amor recebe as águas provenientes das ribeiras que atravessam a zona mais industrial da bacia, a Marinha Grande, e ainda possui um número significativo de pocilgas. Sendo assim, apesar dos teores de Zn nestas águas não ultrapassarem os limites legais, poderão surgir

potenciais riscos da permuta deste elemento entre os sedimentos e as águas, em condições de redução do pH. Vários mecanismos foram propostos para explicar a retenção de metais pelas superfícies de calcite (carbonatos de cálcio): adsorção, permuta iónica, complexação, precipitação, dependendo de factores como, o raio iónico, a energia de solvatação dos catiões, concentração do metal em solução, velocidade de recristalização da calcite, etc.. No caso específico do Zn concluiu-se que a adsorção na calcite ocorre principalmente por permuta do Zn^{2+} e do $ZnOH^{+}$ com o Ca^{2+} na camada de hidratação adsorvida na superfície da calcite, e o complexo superficial que se forma tem um carácter covalente acentuado (Zachara *et al.*, 1988; Miguel *et al.*, 2005). Assim, a dessorção do Zn da superfície dos carbonatos a pH moderadamente baixo é atribuída à reversibilidade dos processos de sorção. Este facto indica que o Zn é susceptível de ser removido dos sedimentos e incorporado na fase aquosa.

Chumbo

Relativamente ao chumbo, a gama de valores determinada para o teor pseudototal na bacia do Lis variou entre 18,9 e 35 mg kg^{-1} na campanha de Maio e 8,1-46 mg kg^{-1} na campanha de Setembro. O chumbo apresenta uma distribuição idêntica em todas as amostras de sedimento analisadas, com valores elevados no conjunto das fracções residual e oxidável, nas duas campanhas de amostragem A fracção residual representa cerca de 80% do total de metal presente nas amostras. Foram encontrados resultados semelhantes na literatura (Usero *et al.*, 1998; Tüzen, 2003; Akcay *et al.*, 2003; Morillo *et al.*, 2004). O chumbo merece um especial destaque devido à sua elevada toxicidade. A quantidade encontrada na fracção solúvel em ácido é muito pequena, não ultrapassa os 7,4 mg kg^{-1}, mas a soma das quantidades extraídas nas 3 etapas mobilizáveis é significativa. Na estação 10 (rio Lena) cerca de 21 mg kg^{-1} está na fracção oxidável. Apesar desta fracção englobar também a quantidade de metais ligada aos sulfuretos, o valor de SVA nas amostras de sedimentos encontra-se abaixo do limite de detecção de 0,01 mg S kg^{-1}, pelo que o Pb nesta fracção se encontra essencialmente ligado à matéria orgânica. O metal presente nesta fracção poderá ser libertado para o ambiente em condições mais oxidantes.

Cobre

O teor de cobre nos sedimentos na campanha de Maio variou entre 20-61 mg kg^{-1}, valores significativamente superiores aos encontrados na campanha de Setembro, 9,4-73 mg kg^{-1}, à excepção das amostras 15 e 16. O cobre aparece predominantemente, à excepção da amostra recolhida na estação Milagres, no conjunto das fracções oxidável e residual (acima de 80%).

Elevadas concentrações de cobre na fracção residual, como as encontradas nas estações da bacia do Lis (superiores a 40%), também foram encontradas em sedimentos de rio por Budimir e Marko (1995) (citados por Yuan *et al.*, 2004). A presença do cobre na fracção residual deve-se à sua associação a minerais argilosos. Percentagens equivalentes de cobre (40%) foram extraídas na fracção ligada à matéria orgânica, destacando-se em quantidade a estação de Amor nas duas campanhas de amostragem, (53,3 mg kg^{-1}em Setembro e 41 mg kg^{-1}em Maio). Este resultado está de acordo com o tipo de sedimento, mais contaminado com matéria orgânica. O cobre forma facilmente complexos com a matéria orgânica devido à elevada constante de estabilidade dos compostos orgânicos de cobre (Morillo *et al.*, 2004). A presença de Cu complexado com compostos orgânicos foi também evidente nos estudos, aplicando o procedimento BCR a sedimentos de água doce, efectuados por diversos autores (Ure *et al.*, 1993; Tokalioğlu *et al.*, 2000; Akcay *et al.*, 2003; Tüzen, 2003; Peng *et al.*, 2004). As amostras provenientes da ribeira dos Milagres (estação 14) apresentam uma pequena percentagem extraída na fracção residual e quantidades significativas extraídas nas fracções mais facilmente mobilizáveis, com concentrações máximas de 10,1 mg kg^{-1} na fracção permutável, 28 mg kg^{-1} na fracção redutível e 24 mg kg^{-1} na fracção oxidável. A ribeira dos Milagres revela-se o caso mais problemático em toda a bacia no que diz respeito à capacidade de contaminação das águas por cobre a partir dos sedimentos. Este tipo de contaminação nesta sub-bacia provém essencialmente dos efluentes sector suinícola com teores significativos de Cu devido à baixa eficiência de remoção dos sistemas de tratamento. O factor de emissão médio de Cu é de $9{,}51 \times 10^{-5}$ kg $animal^{-1}$ d^{-1} (EPER, 2004).

Crómio

A gama de valores da concentração pseudototal de crómio foi 13,3-59 mg kg^{-1}, na campanha de Setembro, e 18,9-199 mg kg^{-1} na campanha de Maio. Nesta campanha, o crómio encontrava-se predominantemente na fracção residual (60 %) e ligado à matéria orgânica, com excepção da estação 2 (Olhalvas) que apresenta 59% (109 mg kg^{-1}) de crómio associado à matéria orgânica e apenas 38,2% na fracção residual. Em todas as amostras analisadas, a quantidade de Cr associada às fracções redutível e permutável não ultrapassa 11% (6 mg kg^{-1}). Na campanha de Setembro, as amostras da estação 2 (Olhalvas) e da estação 10 (Ponte Mil Homens) apresentaram comportamento idêntico ao discutido anteriormente. Nas amostras de Milagres (estação 14) e Amor (estação 15), o metal encontrava-se predominante na fracção oxidável (49% e 57% respectivamente), mas apenas a estação Amor apresenta uma

concentração significativa de Cr ligada à matéria orgânica (34,9 e 41 mg kg^{-1} nas duas campanhas). A estação de Milagres apresentou um teor pseudototal de Cr abaixo do limite com efeitos toxicológicos (USEPA-26 mg kg^{-1}), pelo que a concentração distribuída pelas diferentes fracções também é baixa. Na literatura (Martin *et al.*, 1998; Yuan *et al.*, 2004) é referido que o crómio aparece predominantemente na fracção residual em sedimentos contaminados de rio e mar (cerca de 90%). Os metais associados à fracção residual estão incorporados em minerais com silicatos de alumínio e dificilmente são transferidos para a água. O facto de estar pouco associado à fracção permutável/ácido solúvel (carbonatos) pode ser explicado pela tendência do crómio para formar complexos fortes à superfície dos óxidos ou silicatos de alumínio ou precipitados de hidróxido de crómio (III). A adsorção do crómio à superfície dos sedimentos é tão forte que o ácido acético não o consegue remover. O crómio associado à matéria orgânica e aos sulfuretos (fracção oxidável), cujo teor é elevado na estação 2 (Olhalvas), poderá reflectir a situação de contaminação associada à descarga de efluente tratado proveniente da ETAR-Olhalvas, uma vez que esta estação de tratamento recebe para além dos efluentes domésticos, alguns efluentes industriais, nomeadamente do sector de tratamento de superfícies (Dados SIMLIS, 2005). Relativamente à estação 15 (Amor), esta concentra 95% da actividade industrial da bacia, pelo que o impacto dos efluentes industriais nas águas superficiais e sedimentos poderá ser significativo. Tendo em conta a toxicidade deste elemento para o ecossistema aquático há risco potencial de contaminação da água na vizinhança da estação de Olhalvas, no rio Lis, e da estação Amor, no colector de Amor.

Manganês

O teor de manganês nos sedimentos da bacia variou entre 174-614 mg kg^{-1}, na campanha de Setembro, e 194-788 mg kg^{-1}, na campanha de Maio. Em Maio, este elemento aparece distribuído, numa percentagem superior a 50%, nas fracções permutável e redutível, em todas as amostras analisadas da bacia do rio Lis. Destacam-se as quantidades particularmente elevadas na fracção permutável nas estações 15 (Amor), com 56,2% (147 mg kg^{-1}), 16 (Carreira), com 25,8% (241 mg kg^{-1}) e 10 (Ponte Mil Homens), com 29,9% (212 mg kg^{-1}). Relativamente à quantidade presente na fracção redutível destacam-se as estações 1 (Fontes), com 29,6 % (140 mg kg^{-1}), 10 (Ponte Mil Homens), com 51,6% (365 mg kg^{-1}) e 16 (Carreira), com 45,2% (423 mg kg^{-1}). A percentagem na fracção orgânica não ultrapassa os 20%, ficando o restante na fracção residual. Resultados idênticos para a distribuição do Mn foram encontrados na campanha de Setembro, da qual se realça apenas as quantidades mais elevadas

extraídas na amostra 10 (rio Lena), nas fracções permutável (326 mg kg^{-1}) e redutível (258 mg kg^{-1}). Com base em dados da literatura (Tokalioğlu *et al.* 2000; Marin *et al.* 2001; Ngiam and Lim 2001; Yuan *et al.* 2004) uma quantidade significativa de manganês aparece na fracção solúvel em ácido em vários tipos de amostras de sedimento, incluindo amostras de rio. Nesta fracção, o manganês encontra-se ligado à superfície do sedimento através de forças electrostáticas fracas, podendo facilmente dissociar-se da fase Mn-carbonatos por processos de permuta iónica. Assim, uma quantidade considerável de Mn poderá passar para a água em condições ácidas. Por outro lado, a quantidade de Mn associada à fracção redutível (na forma de óxidos) poderá ser libertada se o sedimento for sujeito a condições redutoras. Marin *et al.* (2001) verificaram que, nalgumas amostras de sedimentos, a percentagem na fracção residual é menor e aumenta o teor na fracção redutível. A quantidade na fracção redutível pode atingir 35 a 70% nas camadas de sedimentos óxicos, onde a quantidade de Mn é elevada, o que confirma que o enriquecimento de Mn sólido resulta da diagénese de minerais do tipo MnO_2. Em condições redutoras, o Mn associado à fracção redutível baixa cerca de 10% relativamente ao teor total devido à redução dos óxidos de manganês. A fracção oxidável (associada à matéria orgânica e sulfuretos) permanece constante (abaixo de 3-6%), revelando uma fraca tendência do Mn se associar à matéria orgânica ou aos sulfuretos.

Níquel

Em relação ao níquel, a gama de valores nos sedimentos variou entre 5,3 e 35 mg kg^{-1}, na campanha de Setembro, e entre 8,3 e 46 mg kg^{-1}, na campanha de Maio. Este elemento encontra-se predominantemente na fracção residual (>65%), com excepção da estação 15 (Amor) onde apenas 43,2% estão nesta fracção. A quantidade de Ni nas duas primeiras etapas do processo extractivo não ultrapassa 1,5 mg kg^{-1}. A restante quantidade de Ni aparece na fracção orgânica, com o máximo de 30,7% (11,9 mg kg^{-1}) na amostra de Amor. Resultados similares foram obtidos na campanha de Setembro, com proporções mais baixas na fracção residual e ligeiro aumento nas fracções potencialmente mobilizáveis, associado ao facto dos valores de concentração pseudototal serem significativamente mais baixos, o que conduz à extracção de quantidades mais baixas nas diferentes etapas do processo extractivo, estando muitos valores próximos do limite de detecção da técnica analítica, o que origina maiores erros na determinação. A proporção dominante de níquel na fracção residual está de acordo com dados da literatura para amostras de sedimentos contaminadas (Yuan et al., 2004, Martin et al., 1998, Mester et al., 1998) e com os resultados da análise factorial, em que o Ni está incorporado na fracção de aluminossilicatos.

Ferro

O teor de ferro variou entre um mínimo de 7 666 mg kg^{-1} e um máximo de 31 274 mg kg^{-1}, nas amostras colhidas em Setembro, e de um mínimo de 12 052 mg kg^{-1} e um máximo de 42 215 mg kg^{-1}, nas amostras colhidas em Maio. A maior parte do Fe aparece na fracção residual, variando de 77,9 % a 96,0% em ambas as campanhas. Percentagens elevadas (acima de 80%) na fracção residual são atribuídas à estrutura geoquímica do maciço original e estão de acordo com dados publicados por diversos autores (Usero *et al.*, 1998; Tokalioğlu *et al.*, 2000; Marin *et al.*, 2001; Morillo *et al.*, 2004; Yuan *et al.*, 2004). Baixas quantidades de Fe (< 6 mg kg^{-1}) estão associadas à fracção solúvel em ácido para todas as amostras. De salientar que as estações que apresentam os maiores teores de matéria orgânica nos sedimentos (Carreira e Amor) apresentam elevadas quantidades de Fe na fracção oxidante (2 330 mg kg^{-1} e 1 438 mg kg^{-1}, respectivamente). O maior teor de Fe foi determinado na estação 16 (Carreira), no entanto, 90% está na fracção litogénica. A amostra de Milagres apresenta também uma quantidade elevada na fracção oxidável (3 421 mg kg^{-1}) o que poderá estar associado à forte contaminação orgânica das águas superficiais nesta sub-bacia.

Alumínio

Em relação ao teor pseudototal, os valores encontrados para o alumínio variaram entre um mínimo de 6 692 mg kg^{-1} e um máximo de 21 681 mg kg^{-1}, em Setembro de 2004, e entre 9 923 e 37 403 mg kg^{-1}, em Maio de 2005. Tal como para o Fe, a maioria do Al aparece na fracção residual, variando entre 86,4% e 92%. Estes resultados estão de acordo com os apresentados por Usero *et al.* (1998), Yuan *et al.* (2004) e Morillo *et al.* (2004), que associam este elemento à fracção litológica do sedimento. Não se encontram, nas fracções facilmente mobilizáveis das amostras analisadas, teores de Al que coloquem em risco a vida aquática (USEPA-14 000 mg kg^{-1}).

4.8 Conclusões

O procedimento de extracção sequencial de referência BCR mostrou ser uma ferramenta útil, relativamente rápida e pouco dispendiosa para avaliar o risco de mobilidade dos metais dos sedimentos para o meio aquático.

A distribuição dos diferentes metais estudados, pelas diferentes fracções que compõem os sedimentos, reflecte alguns problemas associados a contaminação crónica de origem antropogénica, em alguns locais da bacia hidrográfica do rio Lis.

Apesar da variação dos teores pseudototais de alguns metais nas diferentes campanhas de amostragem, não foram observadas diferenças significativas na distribuição dos metais nas amostras 2, 10, 14 e 15 (amostras comuns nas duas campanhas de monitorização submetidas a BCR-SEP).Verificou-se que os metais presentes em maior percentagem na fracção permutável/ácido solúvel foram o zinco e o manganês, o que poderá ser explicado pela associação destes metais a carbonatos, de acordo com o descrito na literatura. O comportamento do manganês é idêntico em todas as amostras analisadas; em relação ao zinco, apenas as estações 14 (Milagres) e 15 (Amor) apresentaram percentagens elevadas distribuídas nesta fracção. Pode-se prever uma contaminação da água por zinco nestes locais, uma vez que a ligação dos metais aos carbonatos é lábil e facilmente destruída em condições mais ácidas. Relativamente aos elementos metálicos Pb, Cu, Cr e Ni, as concentrações obtidas na fracção permutável/ácido solúvel é, em geral, baixa; apresentam quantidades significativas associadas à matéria orgânica existente nos sedimentos e, em geral, superiores às quantidades distribuídas na fracção redutível. Os elementos metálicos presentes maioritariamente na fracção residual são Fe, Al, Pb, Ni e Cr para a generalidade das amostras analisadas.

Fontes antropogénicas de poluição são dominantes para a contaminação dos sedimentos no colector de Amor (Zn e Cu), no rio Lis em Olhalvas (Cr) e na ribeira dos Milagres (Zn e Cu) cujos valores encontrados nas fracções mais mobilizáveis estão acima dos critérios de qualidade mínima de sedimentos (USEPA) para cada um dos metais referido.

Em suma, a contaminação pelos vários metais na bacia hidrográfica do rio Lis, tendo em conta a quantidade de metal na fracção permutável/ácido solúvel, a que corresponde uma maior mobilidade e biodisponibilidade para as águas superficiais, decresce do seguinte modo: Mn>Zn>Al>Fe>Cu>Pb > Cr> Ni.

4.9 Referências

Ackermann, F., Bergmann, M. e Schleichert, G.U., (1983), Monitoring of Heavy Metals in Coastal and Estuarine Sediments- a Question of Grain: < 20 μm versus < 60 μm., *Environ. Technol. Lett.*, **4**, 317-328.

Akcay, H., Oguz, A. e Karapire, C., (2003), Study of Heavy Metal Pollution and Speciation in Buyak Menderes and Gediz River Sediments, *Water Res.*, **37**, 813-822.

Alarcón, P., (1990), Aplicatión de técnicas espectrofotométricas al análisis del agua y sedimentos del rio Henares, *Bol. Geol. Min.*, 93-185.

Allen, H.E., Fu, G. e Deng, B., (1993), Analysis of Acid-Volatile Sulphide (AVS) and Simultaneously Extracted Metals (SEM) for the Estimation of Potential Toxicity in Aquatic Sediments, *Environ. Toxicol. Chem.*, **12**, 1441-1453.

Ariza, J.L.G., Giráldez, I., Rodas, D.S. e Morales, E., (2000), Selectivity Assessment of a Sequential Extraction Procedure for Metal Mobility Characterization using Model Phases, *Talanta*, **52**, 545-554.

Batley, G., (1994), *Approaches to the Assessment of Sediment Quality*, CSIRO Division of Coal and Energy Technology, Centre for Advanced Analytical Chemistry- Investigation Report CET/IR274, NSW.

Budimir, S. e Marko, B, (1995), Distribution of Cd, Pb, Cu e Zn in Carbonate Sediments from the Krka River Estuary obtained by Sequential Extraction, *Sci. Total Environ.*, **170**, 101-118.

Cheung, K.C., Poon, B H.T., Lan, C.Y. e Wong, M.N., (2003), Assessment of Metal and Nutrient Concentrations in River Water and Sediment Collected from the Cities in the Pearl River Delta, South China, *Chemosphere*, **52**, 1431-1440.

Consórcio AMBIO/CHIRON/PROFABRIL/DRENA/HLC/FBO, (2001), Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lis, Instituto da Água, Direcção Regional do Ambiente do Centro.

Criasceri, L.S., Gvenberg, A.E. e Eaton, A.D, (2000), American Public Health Association (APA), American Water Work Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF), *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 20 th edition.

Crommentuijn, T., Sijm, D., Bruijn, J., Van Den Hoop, M., Van Leeuwen, K. e Van de Plassche, E., (2000), Maximum Permissible and Negligible Concentrations of Metals and Metalloids in the Netherlands, Taking into Account Background Concentrations. *J. Enviro. Manage.*, **60**, 121-143.

Diário da República Portuguesa, (1998), Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de Agosto.

Environment Canada, (2002), Canadian Environmental Quality Guidelines: Summary Table, http://www.ccme.ca/assets/pdf/e1_06.pdf.

EPER (2004), Registo Europeu das Emissões de Poluentes, Relatório de 2004, Agência Portuguesa do Ambiente.

Instituto do Ambiente, (2005), Prevention and Integrated Control of the Pollution on National Intensive Pig Breeding. Report of register under IPPC directive. 2003-2005, European Pollutant Emission Register (EPER), Portugal.

Estèben, A., Boundries, H., Mouchel J.M. e Thevenot, D.R., (1997), Urban Runoff Impacts on Particulate Metal and Hydrocarbon Concentrations in River Seine. *Water Sci. Technol*., **36**, 185-193.

European Sediment Research Network – SEDNET, (2003), *The Opinion of SEDNET on Environmentally, Socially and Economically Viable Sediment Management*, 8.

European Standard, EN 13137. (2001). *Characterization of Waste – Determination of Total Organic Carbon (TOC) in Waste, Sludges and Sediments*. European Committee for Standardization (CEN).

Fernández, R.S., Cave, M.R. e Hill, S.J., (2006), Trace Metal Distribution in the Arosa Estuary (N. W. Spain): The Application of a Recently Developed Sequential Extraction Procedure for Metal Partitioning, *Anal. Chim. Acta*, **557**, 344-252.

Förstner, U., (1993), Metal speciation - General Concepts and Applications, *J. Environ. Chem.*, **51**, 5-23.

Förstner, U. e Salomons, W., (1980), Trace Metal Analysis on Polluted Sediments. Assessment of Sources and Intensities, *Environ. Technol. Lett.*, **1**, 494-505.

Foster, I.D.L. e Charlesworth, S.M., (1996), Heavy Metals in the Hydrological Cycle: Trends and Explanations, *Hydrol. Process.*, **10**, 227-261.

Foster, I.D.L., Charlesworth, S.M. e Proffitt S.B., (1996), Sediment-Associated Heavy Metal Distribution in Urban Fluvial and Limnic Systems; a case study of the River Sowe, UK, *Arch. Hydrobiol. Spe. Issues Adv. Limnol.*, **47**, 537-545.

Fytianos, K. e Lourantou, A., (2004). Speciation of Elements in Sediment Samples Collected at Lakes Volvi and Koronia, N. Greece, *Environ. Int.*, **30**, 11-17.

Giannini, P.C. e Riccomini, C., (2000), *Sedimentos e Processos Sedimentares*. Em: Decifrando a Terra, Teixeira, W. (Ed.), São Paulo, Universidade de São Paulo, Oficina de Textos, p 169.

Gundacker, C., (2000), Comparison of Heavy Metal Bioacumulation in Freshwater Molluscs of Urban River Habitats in Vienna, *Environ. Pollut.*, **110**, 61-71.

Hart, B., (1982), Uptake of Trace Metals by Sediments and Suspended Particulates: a Review, *Hydrobio.*, **91**, 299-313.

Kaiser, H.F., (1958), The Varimax Criterion for Analytic Rotation in Factor Analysis, *Psychometrica*, **23**, 187-200.

MacDonald, D.D., Smith, S.L., Wong, M.P. e Mudroch, P., (1992), *The Development of Canadian Marine Environmental Quality Guidelines*, Report prepared for the Interdepartmental Working Group on Marine Environmental Quality Guidelines and the Canadian Council of Ministers of the Environment, Environment Canada.

Marin, B. e Giresse, P., (2001), Particulate Manganese and Iron in Recent Sediments of the Gulf of Lions Continental Margin (north-western Mediterranean Sea): Deposition and Diagenetic process, *Mar. Geol.*, **172**, 147-165.

Martin, R., Sanchez, D.M. e Gutierrez, A.M., (1998), Sequential Extraction of U, Th, Ce, La and some Heavy Metals in Sediments from Ortigas River, Spain, *Talanta*, **46**, 1115-1121.

Mester, Z., Cremisini, C., Ghiara, E. e Morabito, R., (1998), Comparison of Two Sequential Extraction Procedures for Metal Fractionation in Sediment Samples, *Anal. Chim. Acta*, **359**, 133-142.

Method D, (1986), *Methods for the Determination of Metals in Soils, Sediments and Sewage Sludge and Plants by Hydrochloric-Nitric Acid Digestion with a note on the Determination of the Insoluble Metal Contents*, London Her Majesty's Stationary Office.

Miguel, E., Charlesworth, S. Ordóñez, A. e Seijas, E., (2005), Geochemical Fingerprints and Controls in the Sediments of an Urban River: River Manzanares, Madrid (Spain), *Sci. Total Environ.*, **340**, 137-148.

Miller, J.N. e Miller, J.C., (2000), *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, Fourth edition, Pearson Education Limited, England, 1-18, 107-147.

Minissi, S., Caccese, D., Passafiume, F., Grella, A., Cicotti, E. e Rizzoni, M., (1998), Mutagenicity (Micronucleus Test in Cicia Faba Root Tips), Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Heavy Metal Content of Sediments Collected in Tiber River and its Tributaries within the Urban Area of Rome, *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ.*, **420**, 77-84.

Morillo, J., Usero, J. e Garcia, I., (2004), Heavy Metal Distribution in Marine Sediments from the Southwest Coast of Spain, *Chemosphere*, **55**, 431-442.

Moss, A. E e Constanzo, S., (1998), *Levels of Heavy Metals in the Sediments of Queensland Rivers, Estuaries and Coastal Waters*, Environmental technical report, Nº. 20, Quensland Government, Department of Environment.

Nascimento, M.R.L., (2003), *Preposição de Valores de Referência para Concentração de Metais e Metalóides em Sedimentos Limnicos e Fluviais da Bacia Hidrográfica do Rio Tietê, SP*, Tese de Doutoramento em Ciências, Universidade Federal de São Carlos, SP.

Ngiam, L. e Lim P., (2001), Speciation Patterns of Heavy Metals in Tropical Estuarine Anoxic and Oxidized Sediments by Different Sequential Extraction Schemes. *Sci. Total Environ.*, **275**, 53-61.

Nriagu, J.O., (1990), Global Metal Pollution, *Enviro.*, **32**, 7-34.

Painter, S., Cameron, E., Allan, R. e Rouse, J., (1994), Reconnaissance Geochemistry and its Environmental Relevance, *J. Geochem. Explor.*, **51**, 213-246.

Peng, S.H., Wang, W.X., Li, X. e Yen, Y.F., (2004), Metal Partitioning in River Sediments Measured by Sequential Extraction and Biomimetic Approaches, *Chemosphere*, **57**, 839-851.

Pustisek, N., Milacic, R., e Veber, M., (2001), Use of the BCR Three-Step Sequential Extraction Procedure for the Study of the Partitioning of Cd, Pb and Zn in Various Soil Samples, *J. Soils Sediments*, **1**, 25.

Quevauviller, Ph., Rauret, G., López-Sánchez, J.-F., Rubio, R., Ure, A. e Muntau, H., (1997), Certification of Trace Metal Extractable Contents in a Sediment Reference Material (CRM 601) Following a Three-step Sequential Extraction Procedure, *Sci. Total Environ.*, **205**, 223-234.

Quevauviller, Ph., Rauret, G., López-Sánchez, J.-F., Rubio, R., Ure, A.M. e Muntau, H., (1996), *The Certification of Extractable Contents (mass fractions) of Cd, Cr, Ni, Pb and Zn in Sediment Following a Three-step Sequential Extraction Procedure*, EUR 17554 EN, European Commission, Brussels.

Raksasataya, M., Langdon, A.G. e Kim, N.D., (1996), Assessment of the Extent of Lead Redistribution During Sequential Extraction by Two Different Methods, *Anal. Chim. Acta*, **332**, 1-14.

Rauret, G., López-Sánchez, J.F., Sahuquillo, A., Rubio, R., Davidson, C., Ure, A. e Quevauviller, Ph., (1999), Improvement of the BCR Three Step Sequential Extraction Procedure Prior to the Certification of New Sediment and Soil Reference Materials, *J. Environ. Monit.*, **1**, 57-61.

Riba, A. G., Sahuquillo, A., Rubio, R. e Rauret, G., (2004), Assessment of Metal Mobility in Dredged Harbour Sediments from Barcelona, Spain, *Sci. Total Environ.*, **321**, 241-255.

Rubio, R., López-Sánchez, J.F. e Rauret, G., (1991), La Especiation Sólida de Trazas de Metales en Sedimentos. Aplicación a Sedimentos muy Contaminados, *An. Quim.*, **87**, 599-605.

Sahuquillo, A., López-Sánchez, J.-F., Rubio, R., Rauret, G., Thomas, R. P., Davidson, C.M. e Ure, A.M., (1999), Use of a Certified Reference Material of Extractable Trace Metals to Assess Sources of Uncertainty in the BCR Three-stage Sequential Extraction Procedure, *Anal. Chim. Acta*, **382**, 317-327.

Salomons, W. e Förstner, U., (1984), U. *Metals in Hydrocycle*. Springer-Verlag, Berlin.

Salomons, W., (1980), Trace Metal Analysis on Polluted Sediments. Part II: Evolution of Environmental Impact, *Environ. Technol. Lett.*, **1**, 506-517.

SIMLIS, (2005), Sistema Integrado de Tratamento de Águas Residuais da Bacia Hidrográfica do rio Lis, Relatório de avaliação do Sistema de Tratamento.

Sutherland, R.A., (2000), A Comparison of Geochemical Information Obtained from two fluvial Bed Sediments Fractions, *Environ. Geol.*, **39**, 330-341.

Sutherland, R.A. e Tack, F.M.G., (2002), Determination of Al, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn in Certified Reference Materials Using the Optimized BCR Sequential Extraction Procedure, *Anal. Chim. Acta*, **454**, 249-257.

Svete, P., Milacic, R. e Pihlar, B., (2001), Partitioning of Zn, Pb and Cd in River Sediments from a Lead and Zinc Mining Area Using the BCR Three-step Sequential Extraction Procedure, *J. Environ. Monit.*, **3**, 586-590.

Tessier, A. e Campbell, P.G.C. (1987), Partitoning of Trace Metals in Sediments: Relationships with Bioavailability, *Hydrobiol.*, **149**, 43-52.

Tessier, A., Campbell, P.G.C. e Bisson, M., (1979), Sequential Extraction Procedures for the Speciation of Particulate Trace Metals, *Anal. Chem.*, **51**, 844-851.

Tokalioğlu, Ş., Kartal, Ş. e Elçi, L., (2000), Determination of Heavy Metals and their Speciation in Lake Sediments by Atomic Absorption Spectrometry after a Four-stage Sequential Extraction Procedure, *Anal. Chim. Acta*, **413**, 33-40.

Tüzen, M., (2003), Determination of Trace Metals in the River Yeşillrmak Sediments in Tokat, Turkey using Sequential Extraction Procedure, *Microchem. J.*, **74**, 105-110.

Ure, A.M., Quevauviller, Ph., Muntau, H. e Griepink, B., (1993), Speciation of Heavy Metals in Solids and Sediments. An Account of the Improvement and Harmonization of Extraction Techniques Under taken the Auspices of the BCR of the Commission of the European Communities, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **51**, 135-151.

US *Environmental Protection Agency*, (1999), Screening Level Ecological Risk Assessment Protocol for Hazardous Waste Combustion Facilities, Volume 3. Appendix E: Toxicity reference Values. EPA 530-D99-001C. http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/combust/eco-risk/volume3/appx-e.pdf.

Usero, J., Gamero, M., Morillo, J. e Garcia I., (1998), Comparative Study of three Sequential Extraction Procedures for Metals in Marine Sediments, *Environ. Int.*, **24**, 487-496.

Vignati, D., Pardos, M., Diserens, M., Ugazio, G., Thomas, R. e Dominik, J., (2003), Characterization of Bed Sediments and Suspension of the River Po (Italy) during Normal and High Flow Conditions, *Water Res.*, **37**, 2847-2864.

Wang, C., Li, X.C., Ma, H.T., Qian, J. e Zhai., J.B., (2006), Distribution of Extractable Fractions of Heavy Metals in Sludge During the Wastewater Treatment Process, *J. Hazard. Mater.*, **A137**, 1277-1283.

Widianarko, B., Verwij, R.A., Van Gestel, C.A.M. e Van Straalen, N.M., (2000), Spatial Distribution of Trace Metals in Sediments from Urban Streams of Semarang, Central Java, Indonesia, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **46**, 95-100.

Yuan, C., Shi, J., Bin, H., Liu J., Liang L. e Jiang G., (2004), Speciation of Heavy Metals in Marine Sediments from the East China Sea by ICP-MS with Sequential Extraction, *Environ. Int.*, **30**, 769-783.

Zachara, J.M., Kittrick, J.A. e Harsh, J.B., (1988), The Mechanism of Zn^{2+} Adsorption on Calcite, *Geochim. CosmoChim. Acta*, **52**, 2281-91.

5. Estudo da Depuração das Águas Superficiais da Ribeira dos Milagres: Degradação da Matéria Orgânica e Nitrificação.

Na avaliação da qualidade da água de um rio é importante que, para além da quantificação dos nutrientes e da matéria orgânica presentes, se conheça o seu comportamento no sistema aquático ao longo do tempo.

A bacia Hidrográfica do rio Lis apresenta problemas de poluição resultantes de cargas poluentes provenientes do sector suinícola fortemente implementado na região. Neste capítulo é estudado o processo de nitrificação e de remoção da matéria orgânica nas águas superficiais da ribeira dos Milagres, onde está concentrada grande parte das suiniculturas, com o objectivo de avaliar a capacidade de autodepuração das águas.

5.1 Introdução

A descarga de efluentes não tratados ou mal tratados em meios hídricos naturais causa problemas ambientais severos, incluindo a deterioração dos ecossistemas, pelo que, a eliminação e redução do azoto e matéria orgânica das águas residuais constitui um problema que requer resolução rápida a fim de se restabelecer o equilíbrio ecológico

A remoção de compostos orgânicos de um determinado meio aquático poderá envolver processos abióticos, como hidrólise, fotólise, adsorção e volatilização para a atmosfera; no entanto, a sua conversão em compostos inorgânicos resulta da actividade microbiana. Este processo conduz à formação de CO_2, H_2O, sais inorgânicos, biomassa e metabolitos (Quiroga *et al.*, 1999).

Os compostos de azoto, nomeadamente amónio e nitrato, são poluentes das águas superficiais e estão associados ao processo de eutrofização que leva à proliferação excessiva de algas, que, além de provocarem efeitos sobre o oxigénio dissolvido e o pH, ao entrarem em decomposição levam ao aumento do número de microrganismos e à consequente deterioração da qualidade da água (rios, lagos, baías, estuários, etc.).

Das várias implicações ecológicas da inserção de elevadas cargas de amónio no ambiente está o consumo de oxigénio dissolvido no meio, devido à nitrificação, uma vez que para oxidar 1 mg de NH_4^+ são necessários cerca de 4,3 mg de O_2. Em relação ao nitrato formado a partir das reacções de nitrificação, a legislação Portuguesa (Decreto-Lei nº 306/2007) estabelece padrões de potabilidade, pois, embora não cause danos directos na saúde, o nitrato é reduzido facilmente a nitrito no sistema digestivo, tornando-se nocivo devido ao seu efeito cancerígeno (Kieling, 2004).

A legislação Portuguesa (Decreto-Lei n.º 236/98) limita a concentração de amónio, nitritos e nitratos, com a finalidade de proteger o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos seus principais usos (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 Critérios de qualidade da água considerando as espécies de azoto para protecção do meio aquático em função dos usos da água (Decreto-Lei 236/98)

	Usos da Água						
Parâmetros	Produção de água para consumo humano			Fins aquícolas			Rega
		VMR	VMA		VMR	VMA	VMR
Nitratos ***(mg NO_3 L^{-1})***	A1	25	50	Salmonídeos			50
	A2		50	Ciprinídeos			
	A3		50				
Nitritos ***(mg NO_2 L^{-1})***	A1			Salmonídeos	0,01		
	A2			Ciprinídeos	0,03		
	A3						
Azoto amoniacal ***(mg NH_4 L^{-1})***	A1	0,05		Salmonídeos	0,04	1	
	A2	1,00	1,50	Ciprinídeos	0,20	1	
	A3	2,00	4,00				

VMR – Valor máximo recomendado; VMA – Valor máximo admissível; Classe A1 – Tratamento Físico e desinfecção; Classe A2 – Tratamento físico e químico e desinfecção; Classe A3 – Tratamento físico e químico de afinação e desinfecção.

A bacia do rio Lis, nos últimos trinta anos, tem sido sujeita a constantes desastres ecológicos devido às descargas de efluentes fortemente contaminados, e devido ao aumento das exigências ambientais, coloca-se o desafio de procurar alternativas para o controlo da concentração de compostos de azoto de águas residuais descarregadas. Apesar da Portaria n.º 810/90 (Normas de descarga de águas residuais de explorações de suiniculturas) não considerar os compostos de azoto, o Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 Agosto, limita a descarga do azoto total a 15,0 mg N L^{-1}, de azoto amoniacal a 10,0 mg NH_4 L^{-1}e de nitratos a 50,0 mg NO_3 L^{-1} (Valores limite de emissão (VLE) para descarga de águas residuais).

As estratégias para a remoção deste nutriente são baseadas no controlo das concentrações do azoto total pela adição e/ou pelo consumo de alguns substratos específicos no processo de nitrificação ou desnitrificação (Villaverde *et al.*, 2001).

Tendo em vista a importância da remoção do azoto, frente aos rigorosos padrões ambientais, as pesquisas recentes em tratamento biológico de efluentes visam melhorar a eficiência de remoção do azoto e identificar o grupo de microrganismos capazes de converter o azoto na forma amoniacal e nitrito a outras formas de azoto como nitrato e azoto gasoso.

5.2 Processo de Nitrificação

O processo de nitrificação envolve a oxidação microbiológica do azoto amoniacal (NH_4^+) a nitrato (NO_3^-) via nitrito (NO_2^-) e desempenha um papel biogeoquímico fundamental nos ecossistemas individuais e no ciclo global do azoto. Este processo é particularmente significativo nas águas e sedimentos de rios, ribeiras, lagoas e estuários, que em condições anaeróbias frequentemente ocorrem também perdas de azoto por desnitrificação. Em estuários, os processos acoplados de nitrificação/desnitrificação conseguem remover uma percentagem substancial (10 a 80%) do azoto proveniente de fontes antropogénicas. Apesar da evidente relevância da nitrificação nos ecossistemas naturais, existe pouco conhecimento sobre os microrganismos que participam neste processo (Beman e Francis, 2006).

As reacções envolvidas, segundo Liu (2004), podem ser resumidas da seguinte forma:

$$1/_6\, NH_4^+ + 1/_4\, O_2 \longrightarrow 1/_6\, NO_2^- + 1/_3\, H^+ + 1/_6\, H_2O \qquad -\Delta G = 240 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ a } 350 \text{ kJ mol}^{-1} \tag{5.1}$$

$$1/_2 NO_2^- + 1/_4 O_2 \longrightarrow 1/_2 NO_3^- \qquad -\Delta G = 65 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ a } 90 \text{ kJ mol}^{-1} \tag{5.2}$$

Aproximadamente 95% da energia gerada é transformada em calor, sendo a restante utilizada para a síntese celular. As equações que descrevem o processo global (obtenção de energia e crescimento) são as seguintes:

$$55NH_4^+ + 76O_2 + 109HCO_3^- \longrightarrow C_5H_7O_2N + 54NO_2^- + 57H_2O + 104H_2CO_3 \tag{5.3}$$

$$400NO_2^- + NH_4^+ + 4H_2CO_3 + HCO_3^- + 195O_2 \longrightarrow C_5H_7O_2N + 400NO_3^- + 3H_2O \tag{5.4}$$

As reacções indicam que o processo de nitrificação requer consumo de oxigénio e provoca decaimento do pH devido ao consumo da alcalinidade.

A concentração de azoto presente em águas poluídas por esgoto doméstico e esgoto proveniente de agro-pecuárias excede o requerido pelos microrganismos para oxidar a quantidade de carbono presente, e apenas uma parte do azoto é removida por actividade

heterotrófica convencional, sendo incorporada na biomassa microbiana. O excesso de azoto estimula a actividade autrotrófica.

Os microrganismos nitrificantes apresentam desvantagens competitivas (Prosser, 1989 citado por Nogueira, 2002; Bodelier *et al.*, 1996) em relação aos microrganismos heterotróficos, nomeadamente: crescimento lento, baixo rendimento celular, necessidade elevada de oxigénio e baixa afinidade para o oxigénio (constante de afinidade do modelo de Monod para o oxigénio superior) (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 Constantes cinéticas dos microrganismos oxidantes de amónio, nitrito e carbono orgânico, determinadas a 20 ºC (reproduzido de Nogueira, 2002)

Parâmetro	Microrganismos oxidantes		Microrganismos heterotróficos aeróbios
	Amónio	Nitrito	
μ_{max} (d^{-1})	0,77	1,08	7,2
$Y_{biomassa/substrato}$ ($g\ g^{-1}$)	0,147	0,042	0,43
$Y_{oxigénio/substrato}$ ($g\ g^{-1}$)	3,16	1,1	0,6
$k_{substrato}$ ($g\ m^{-3}$)	0,7	1,3	100
$k_{oxigénio}$ ($g\ m^{-3}$)	0,3	1,1	0,08

μ_{max} – taxa específica máxima de crescimento; Y – rendimento em biomassa; k – constante de afinidade do modelo de Monod para o crescimento microbiano (valores obtidos a pH 8). A biomassa está expressa em sólidos suspensos voláteis, e o substrato, em azoto para os microrganismos oxidantes de amónio ($N\text{-}NH_4^+$) e de nitrito ($N\text{-}NO_2^-$), e em carência química de oxigénio para os microrganismos heterotróficos.

5.2.1 Microrganismos Nitrificantes

As bactérias oxidantes de amónio e as oxidantes do nitrito pertencem à mesma família, *Nitrobacteraceae*, e dependem da mesma fonte de carbono (CO_2), e as bactérias oxidantes do nitrito dependem do produto produzido pelas bactérias oxidantes de amónio (Ciudad *et al.*, 2006). Todos os membros da família *Nitrobacteraceae* são quimioautotróficos gram-negativos, hábeis em utilizar o azoto como fonte de energia, através da via não assimilável, pelo que apenas uma pequena quantidade de biomassa é produzida (Gray, 1992).

No processo de nitrificação, a conversão de amónio em nitrito é efectuado pelas bactérias oxidantes de amónio dos géneros *Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrosospira, Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio* (Hagopian e Riley, 1998) sendo as mais estudadas as *Nitrosomonas.* Os estudos realizados sobre o metabolismo envolvido sugerem que o amoníaco, e não o amónio, é utilizado como substrato (Suzuki *et al.*, 1974; Chen *et al.*, 2006*)*. Para este género

de bactérias, a oxidação de amoníaco a nitrito ocorre em duas etapas, com formação de hidroxilamina como intermediário (Bock *et al.*, 1991, citado por Nogueira, 2002).

$$NH_3 + 1/_2\, O_2 \xrightarrow{AMO} NH_2OH$$

$$NH_2OH + H_2O \xrightarrow{HAO} HNO_2 + 4\, H^+ + 2e^- \qquad (5.5)$$

A primeira reacção catalisada pela enzima amónio-monoxigenase (AMO), que se situa na membrana, é termodinamicamente desfavorável, e a segunda reacção, catalisada pelo complexo enzimático hidroxilamina oxidoreductase (HAO), localizado no espaço periplásmico, produz a energia necessária para a reacção global (Nogueira, 2002).

Os microrganismos oxidantes de amónio formam dois grupos filogeneticamente distintos (Koops e Pommering-Röser, 2001), um pertence à subclasse *γ-Proteobacteria*, representado apenas por um único género, *Nitrosococcus*, e o seu habitat preferido é o mar, e o segundo grupo pertence à subclasse *β-Proteobacteria*, constituído pelos géneros *Nitrosomonas* e *Nitrosospira* e pode encontrar-se nos mais variados habitats (águas residuais, água doce, salobra e salgada, solo e sedimentos). Do ponto de vista filogenético, as diferentes espécies do género *Nitrosomonas* agrupam-se em linhas de descendência distintas, que se podem relacionar com as respectivas características fisiológicas (afinidade para o substrato, actividade da urease e necessidade de sal) e com o tipo de habitat em que se encontram (Tabela 5.3).

A espécie *Nitrosomonas europaea*, das bactérias oxidantes de amónio, tem sido a mais abundantemente citada e estudada (Hagopian e Riley, 1998). Foi identificada como género dominante em ambientes com grandes oscilações de oxigénio dissolvido. É frequente em solos e sedimentos (Smorczewski e Schmidt, 1991), na forma de pequenos bastonetes (1-2μm) e não apresenta mobilidade.

Tabela 5.3 Características fisiológicas das bactérias oxidantes de amónio e habitat preferido (Koops e Pommering-Röser, 2001)

Espécie	**Parâmetros fisiológicos**			Habitat
	sal	**urease**	**$K_{N\text{-}NH3}$ (mgL^{-1})**	
Nitrosomonas europaea *Nitrosomonas eutropha* *Nitrosomonas halophila* *Nitrosomonas mobilis*	Tolerante ou alófilo moderado	–	0,42 – 0,85	ETAR's Água doce (ambiente eutrófico) Água salobra
Nitrosomonas communis *Nitrosomonas sp. I* *Nitrosomonas sp. II*	Não necessita	–	0,20 – 0,60	Solo (não ácido)
Nitrosomonas nitrosa	Não necessita	–	0,27 – 0,64	Água doce (ambiente eutrófico)
Nitrosomonas ureae *Nitrosomonas oligotropha*	Não necessita	+	0,03 – 0,06	Água doce (ambiente oligotrófico) Solo (não ácido)
Nitrosomonas marina *Nitrosomonas sp. II* *Nitrosomonas aestuarii*	halófilo obrigatório	+	0,70 – 0,73	Ambientes marinhos
Nitrosomonas cryotolerans	halófilo obrigatório	+	0,60 – 0,83	Ambientes marinhos
Nitrosolobus multiformis *Nitrosovibrio tenuis* *Nitrosospira sp. I*	Não necessita	+/–		Solo (não ácido) Solo, rocha e água doce
Nitrosococcus oceani *Nitrosococcus halophilus*	halófilo obrigatório	+/–		Ambientes marinhos

Os microrganismos oxidantes de nitrito formam quatro grupos filogeneticamente distintos (Koops e Pommering-Röser, 2001). O maior grupo pertence à subclasse *α-Proteobacteria*, representado apenas por um único género, *Nitrobacter*, e pode encontrar-se nos seguintes habitats: água doce, solo, rochas e lagos alcalinos. Os dois grupos de microrganismos pertencentes às subclasses *γ-Proteobacteria* e *δ-Proteobacteria* são representados por bactérias marinhas. As duas espécies do género *Nitrospira*, *Nitrospira marina* e *Nitrospira moscoviensis*, pertencem a um *phylum* distinto (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 Características fisiológicas das bactérias oxidantes de nitrito e habitat preferido (Koops e Pommering-Röser, 2001)

Espécie	**Parâmetros fisiológicos**	**Habitat**
Nitrobacter alkalicus	Alcalófilos e halotolerantes	Lagos alcalinos
Nitrobacter winogradskyi		
Nitrobacter vulgaris	Não necessita	Água doce, solo e rocha)
Nitrobacter hamburgensis		
Nitrococcus mobilis	Halófilo obrigatório	Ambientes marinhos
Nitrospina gracilis	Halófilo obrigatório	Ambientes marinhos
Nitrospira marina	Halófilo obrigatório	Ambientes marinhos
Nitrospira moscoviensis	Não necessita	Água doce

O nitrito é oxidado a nitrato pelas bactérias oxidantes de nitrito, *Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrospira* e *Nitrospina* (Hagopian e Riley, 1998). As *Nitrobacter* são as mais estudadas e foram isoladas em amostras recolhidas nos mais diversos habitats, solo, sedimentos e água, doce, salobra e salgada, residual doméstica (Chen *et al.*, 2006). Até 1996, todos os livros de texto e publicações científicas, na área de tratamento de efluentes, consideravam a *Nitrobacter* como o microrganismo responsável pela oxidação do nitrito (Mobarry *et al.*, 1996; Metcalf & Eddy, 2003). No entanto vários investigadores, recorrendo à técnica de FISH acrónimo de "Fluorescence *In Situ* Hybridization" (Burrell *et al.*, 1998; Juretschko *et al.*, 1998; Schramm *et al.*, 1998, 1999; Nogueira, 2002), quantificaram como dominantes as bactérias do género *Nitrospira*, sendo estas as responsáveis pela conversão de nitrito a nitrato, e raramente foram encontradas espécies *Nitrobacter* nos sistemas de nitrificação estudados (lamas activadas, biofilmes, aquários de água doce). O estudo da microbiologia da espécie *Nitrospira* é ainda muito limitado (Kim e Kim, 2006) devido à dificuldade de isolar *Nitrospira* em cultura pura a partir dos sistemas biológicos mencionados, desconhecendo-se os requisitos nutricionais e as condições ambientais para o seu crescimento.

As duas espécies pertencentes ao género *Nitrospira* referidas na literatura (Schramm *et al.*, 1998), *Nitrospira marina* e *Nitrospira moscoviensis*, foram isoladas em habitats distintos, respectivamente, em amostras de água do mar e do interior de um tubo parcialmente corroído, pertencente a um sistema de aquecimento de água. Estas bactérias crescem mais lentamente do que as espécies pertencentes ao género *Nitrobacter*, em cultura pura (Watson, 1989).

Estudos fisiológicos com bactérias oxidantes de nitrito mostraram que em condições aeróbias as espécies de bactérias *Nitrospira* apenas utilizam o carbono inorgânico e piruvato, enquanto que muitas espécies de bactérias *Nitrobacter* são capazes de crescer em meio mixotrófico na

presença de compostos orgânicos como o etanoato (acetato), butanoato e propanoato (Kim e Kim, 2006). Em condições anóxicas, as bactérias *Nitrospira* não utilizam qualquer fonte de carbono, as bactérias *Nitrobacter* utilizam o piruvato (Daims *et al.*, 2001). Desta forma as bactérias *Nitrobacter* apresentam vantagem competitiva relativamente às *Nitrospira* porque conseguem utilizar componentes orgânicos em ambas as condições, aeróbias e anaeróbias. A oxidação a nitrito é realizada pela enzima nitrito-oxidoreductase.

Com base na revisão bibliográfica efectuada, conclui-se que a predominância em bactérias do género *Nitrospira* ocorre quando a concentração de nitrito ou de oxigénio é limitante. Segundo Schramm *et al.* (1998 e 1999), as bactérias do género *Nitrospira* podem competir com as bactérias do género *Nitrobacter* em ambientes onde exista baixa concentração de substrato (nitrito ou oxigénio), porque apresentam maior afinidade para o substrato. Por outro lado, as bactérias do género *Nitrobacter* são mais competitivas na presença de concentrações elevadas de substrato porque a sua velocidade específica de crescimento é superior à das bactérias do género *Nitrospira.*

Sharma e Ahlert (1977) indicaram um intervalo de pH óptimo para a nitrificação compreendido entre 7,5 e 8,5. A oxidação de amónio poderá resultar num decréscimo significativo do pH e consequente inibição do processo de nitrificação, se a alcalinidade do meio for muito baixa (Gray, 1992).

Hagopian e Riley (1998) sugeriram que a temperatura óptima para o processo de nitrificação é 25 ºC. A actividade das bactérias oxidantes de amónio aumenta linearmente com a temperatura na gama 7 - 35 ºC, mas para as bactérias oxidantes do nitrito, os valores são mais baixos. Hunik *et al.* (1994) descreveram o efeito da temperatura na velocidade específica de crescimento dos microrganismos nitrificantes em suspensão, segundo a lei de Arrhenius (Nogueira, 2002). A energia de activação para o crescimento de *Nitrosomonas europaea*, 65 kJ mol^{-1}, é superior à de *Nitrobacter winogradskyi*, 45 kJ mol^{-1}, o que significa que para temperaturas elevadas, *Nitrobacter* não poderá competir com *Nitrosomonas*, em termos de velocidade específica de crescimento. As velocidades de nitrificação diminuem drasticamente para valores de temperatura acima dos 42 ºC e para valores abaixo dos 5 ºC (Painter, 1970).

Em culturas puras, Hunik *et al.* (1994) determinaram valores da constante de afinidade do modelo de Monod para o oxigénio para o crescimento microbiano de 0,16 mg L^{-1} para *Nitrosomonas europaea*, e 0,54 mg L^{-1} para *Nitrobacter agilis*. Numa cultura contínua de

Nitrosomonas europaea e *Nitrobacter winogradskyi*, Laanbroek e Gerards (1993) determinaram que a constante de afinidade para o oxigénio de *Nitrosomonas europaea*, 0,014 mg L^{-1}-0,21 mg L^{-1}, é sempre inferior à de *Nitrobacter winogradskyi*, 0,31 mg L^{-1}-2,33 mg L^{-1}, independentemente da concentração de oxigénio dissolvido a que a cultura esteve exposta durante o crescimento. Observaram também que diminuindo a concentração de oxigénio no meio, a afinidade de ambas as bactérias para o oxigénio aumentava (Nogueira, 2002).

De acordo com Bock *et al*. (1991), o crescimento óptimo dos microrganismos oxidantes de amónio ocorre para uma concentração de amónio entre 28 mg L^{-1} e 700 mg L^{-1}, e segundo Watson *et al.* (1989), a maioria das bactérias oxidantes de nitrito cresce mais rapidamente na presença de uma concentração de nitrito compreendida entre 28 mg L^{-1} e 420 mg L^{-1}. Anthonisen *et al.* (1976) determinaram zonas de inibição dos microrganismos oxidantes de amónio e de nitrito pelo amoníaco e ácido nitroso, respectivamente, em cultura suspensa. O fenómeno de inibição das bactérias nitrificantes pelo amoníaco aparece descrito por vários autores (Fdz-Polanco *et al.*, 1994; Yoon and Kim, 2003; Kim *et al.*, 2006). As bactérias oxidantes de nitrito são mais sensíveis à concentração de amoníaco (0,1-1,0 mg L^{-1}) do que as bactérias oxidantes de amónio (inibição na gama 10-150 mg L^{-1}).

Hunik *et al.* (1993) determinaram a cinética de *Nitrobacter agilis* sob concentrações extremas de substrato (NO_2^-) e produto (NO_3^-), para vários valores de pH. Os parâmetros de afinidade para o substrato e inibição para o produto, combinados com efeitos do pH, foram derivados da equação de Michaelis-Menten para cinética enzimática. A constante de afinidade para o substrato (Ks) apresentou uma diminuição em função do pH num intervalo de 8,5 a 6,5 (de 1,11 a 0,29 mmol NO_2^- L^{-1}), demonstrando que a actividade de *Nitrobacter agilis* decresce com o a diminuição do pH.

As variações de pH, temperatura, concentração de oxigénio dissolvido, concentração de CO_2, presença de metais e concentração de amoníaco na água podem influenciar a actividade e a velocidade de crescimento das bactérias nitrificantes (Ramirez *et al.*, 2003). Para o melhor desempenho das bactérias nitrificantes, autotróficas, a relação CQO:N da água deve ser menor do que 3, a concentração de OD maior que 3,5 mg L^{-1} e a temperatura entre 28 e 36ºC (Metcalf & Eddy, 2003).

As bactérias nitrificantes constituem uma percentagem muito pequena da microflora total em solos, sedimentos e águas naturais contaminadas com efluentes. As concentrações nos oceanos correspondem a cerca de 10^4 cel L^{-1}, em sistemas de tratamento de esgotos domésticos, apenas 0,2-2% da biomassa é nitrificante (Hagopian e Riley, 1998) e em biofiltros de recirculação de efluentes de aquacultura, com concentração elevada de azoto amoniacal, as bactérias nitrificantes representam apenas 20% das eubactérias totais (Hovanec e DeLong, 1996).

5.3 Modelos Cinéticos que Descrevem Processos de Biodegradação

São referidas na literatura (Gee *et al*, 1990; Nenov e Kamenski, 2004; Hagopian e Riley, 1998; Quiroga *et al.*, 1999; Chandran e Smets, 2001) diferentes cinéticas de biodegradação, descritas por várias expressões matemáticas, mais ou menos complexas, considerando maior ou menor número de variáveis.

Os processos de degradação biológica podem ser descritos tendo em conta duas perspectivas diferentes: a) – Modelos de crescimento de microrganismos; b) – Modelos de consumo de substrato.

5.3.1 Modelos de crescimento de microrganismos

A cinética de degradação de um determinado substrato relacionando-o com a cinética de crescimento da população de microrganismos foi estudada por diversos autores (Bayley e Ollis, 1986). O método clássico sugerido por Monod (Monod, 1949) é utilizado extensivamente porque é simples, utiliza apenas dois parâmetros, os quais descrevem uma cinética de transição entre uma cinética de ordem zero e uma cinética de primeira ordem, característica dos processos de fermentação quando diminui, no meio, o nível de substrato. No entanto, o modelo de Monod não é baseado num mecanismo claro; relaciona a velocidade específica de crescimento com a concentração de substrato limitante. Desta forma não é quantificada a influência da concentração inicial no crescimento, não é considerado o estado fisiológico e o historial da população dos microrganismos e não são consideradas todas as fases de crescimento dos microrganismos (a fase *lag* e a fase de morte não são descritas) (Quiroga *et al*., 1999). Outros modelos usados para descrever o crescimento bacteriano,

apesar de se basearem no modelo de Monod, introduziram alguns dos factores mencionados anteriormente (Contois, 1959; Andrews, 1968).

Os modelos logísticos são considerados modelos clássicos e são também aplicados em processos de biodegradação. Xia *et al.* (2004) estudaram o processo de nitrificação em águas naturais (rio Yellow-China) com elevado teor de sólidos em suspensão recorrendo ao modelo logístico para determinar a cinética da reacção. No entanto, este tipo de modelo é menos utilizado do que o modelo de Monod pelas seguintes razões: não considera o mecanismo das reacções biológicas implicadas; não é definida a relação entre μ (velocidade específica de crescimento) e S (concentração de substrato); o crescimento bacteriano é expresso em termos da biomassa viável presente no meio; e não considera a fase de declínio da população bacteriana. Esta última lacuna foi remediada por Volterra (Bayley e Ollis, 1986) ao introduzir um factor que considera a influência da história da população na velocidade de crescimento, no entanto é um factor difícil de estimar.

Os modelos baseados no crescimento bacteriano apresentam alguns inconvenientes: não consideram os mecanismos das reacções envolvidas, dependem das condições de operação, do tipo de substrato usado e dos microrganismos envolvidos. Nenhum deles descreve globalmente o fenómeno da biodegradação.

5.3.2 Modelos de consumo de substrato

O estudo da cinética do processo de biodegradação não considerando as cinéticas do crescimento microbiano, passa por propor um mecanismo de reacção global e a partir daí desenvolver as equações cinéticas correspondentes. Este tipo de modelo considera um único parâmetro “S”, o qual é facilmente quantificável. No entanto, o facto da degradação da matéria orgânica ser um processo heterogéneo, e os microrganismos envolvidos na biodegradação não serem culturas puras, dificulta o desenvolvimento deste tipo de modelos.

A descrição da cinética de degradação do substrato é muitas vezes baseada numa equação de primeira ordem para o consumo de substrato, ou para a produção de CO_2, durante o processo de biodegradação (Larson e Payne, 1981). Este modelo é aceite por diversos autores, tendo em conta um termo de aclimatação inicial dos microrganismos aos efeitos inibitórios (Battersby, 1990). A aplicação de equações cinéticas de primeira ordem a resultados de experiências laboratoriais é fiável; no entanto, a sua aplicação em ambiente natural é mais

complicada, pois as transformações químicas que ocorrem nas águas superficiais dependem da dimensão da população microbiana, o que conduz a cinéticas de segunda ordem ou de pseudo-primeira ordem. Muitas vezes nos processos de biodegradação estudados em laboratório que representam substrato (S) vs. tempo, são observadas curvas cinéticas que representam equações de pseudo-primeira ordem. Segundo Larson (1980) a velocidade de formação de um produto ou consumo do substrato é função não só da concentração de produto ou substrato, mas também do tempo (sendo o tempo dependente da concentração de microrganismos). Se de facto a velocidade é função das concentrações do substrato e de bactérias, essas duas variáveis, e não o tempo, devem ser incluídas no segundo termo da equação, e a equação diferencial resultante deverá ser integrada (Quiroga *et al.*, 1999).

5.3.3 Cinética de nitrificação

Na cinética de nitrificação surgem algumas dificuldades quando se estuda separadamente o processo envolvendo cada grupo de bactérias (Ciudad *et al.*, 2006). Na maioria dos dados da literatura, as cinéticas de nitrificação são estudadas com base, apenas, num dos grupos de bactérias (Gernaey *et al.*, 2001; Ciudad *et al.*, 2006). Em águas residuais com concentrações de azoto baixas (<50mg $N\text{-}NH_4^+$ L^{-1}), a cinética da reacção é considerada apenas em termos de conversão de azoto amoniacal em nitrito, assumindo que é o passo limitante da velocidade da reacção de nitrificação. Para águas com elevada carga de azoto (>200mg $N\text{-}NH_4^+$ L^{-1}) a simplificação anterior não é possível, pois o nitrito é acumulado durante a nitrificação. Neste caso a conversão de nitrito a nitrato é responsável pela cinética global de nitrificação (Gernaey *et al.*, 2001; Langergraber *et al.*, 2003; Ciudad *et al.*, 2006).

Encontram-se na literatura modelos matemáticos que simulam reacções de nitrificação muito variados. O' Conner (1967) propôs um modelo de simulação do processo considerando uma cinética de primeira ordem, Stratton e McCartry (1967) propuseram um modelo baseado nas equações de Monod, Wezernack e Gannon (1967) propuseram um modelo cinético autocatalítico e Huang e Hopson (1974), através de medições efectuadas em laboratório, consideraram a nitrificação como uma reacção com uma cinética de ordem zero. A divergência quanto ao tipo de cinética está relacionada com vários factores. Os processos de nitrificação estão associados a determinadas espécies microbiológicas que variam consoante o tipo de águas e também com as formas de azoto presentes no sistema. A velocidade de nitrificação depende da concentração dos substratos, amónioe nitrito.

Numa cultura pura sob uma simples condição limitante de substrato, a cinética de remoção do substrato é descrita pela equação de Monod (Rittmann e McCartry, 1980):

$$R = \mu_{\max} \frac{X}{Y_S} \frac{S}{K_S + S} \tag{5.6}$$

R: velocidade de consumo do substrato (g m^{-3} d^{-1})
X: concentração de biomassa (g m^{-3})
S: concentração do substrato limitante (g m^{-3})
μ_{max}: velocidade específica máxima de crescimento (d^{-1})
K_S: constante de saturação ou constante de Monod (g m^{-3})
Y_S: rendimento biológico (biomassa produzido/substrato eliminado) (g g^{-1})

A velocidade específica máxima de crescimento é a velocidade obtida em condições não limitantes. A constante de Monod (K_S) é a concentração do substrato limitante para a qual a velocidade de crescimento é metade da velocidade de crescimento máxima e representa a afinidade do organismo para o substrato.

A cinética de crescimento dos microrganismos nitrificantes pode ser expressa pela equação de Monod (Mauret *et al.*, 1996; Liu, 2004, Chen *et al.*, 2006), assumindo que o amónio é o substrato limitante para as bactérias *Nitrosomonas* e o nitrito é o substrato limitante para as bactérias *Nitrobacter*. No entanto, devido à baixa velocidade de crescimento e ao baixo rendimento de síntese celular, é muito difícil estimar os parâmetros cinéticos. Na literatura (Chen *et al.*, 2006) aparece descrito que a taxa de crescimento de *Nitrobacter* é superior à taxa de crescimento de *Nitrosomonas*, e a oxidação de amónio é a reacção limitante no processo de nitrificação. É comum considerar que o amoníaco, e não o ião amónio, é usado como substrato para os organismos nitrificantes, mas na equação de Monod o substrato considerado é a soma do amoníaco e do ião amónio. Os valores para a velocidade específica máxima de crescimento (μ_{max}) e constante de Monod (K_S), referidos na literatura, são 0,34-2,21 d^{-1} e 0,06-5,6 mg N L^{-1}, respectivamente (Liu, 2004).

Nas ferramentas de modelação da qualidade da água, em geral, assume-se que a nitrificação ocorre na coluna de água e que o processo segue uma cinética de 1ª ordem, calculando os parâmetros cinéticos em função da quantidade de amónio presente na coluna de água

(O´Conner, 1967, Brown e Barnwell, 1987; McCutcheon, 1987; Scott e Abumoghli, 1995; Pauer e Auer, 2000). Outros autores (Matulewich *et al.*, 1978; Cooper, 1984) consideraram que o processo de nitrificação ocorria preferencialmente na interface água-sedimento, seguindo uma cinética de ordem zero. Segundo Gujer (1977) os modelos de modelação de qualidade da água devem considerar o processo combinado de nitrificação (águas e sedimentos). Os estudos sobre o processo de nitrificação efectuados por Pauer e Auer (2000) revelaram a importância do processo na interface água/sedimento. A importância dos sedimentos no processo de nitrificação está associada à capacidade dos microrganismos nitrificantes se aglomerarem na sua superfície. Quantidades elevadas de bactérias oxidantes de amónio foram detectadas em sedimentos e reservatórios aquáticos por Wilczac *et al*. (1996).

Na literatura aparecem também descritos modelos cinéticos, que envolvem as duas etapas do processo de nitrificação. No modelo proposto por Chandran e Smets (2001), os coeficientes estequiométricos, que relacionam a remoção do azoto, o consumo de oxigénio e a síntese da biomassa, foram estimados por uma equação de balanço de electrões, considerando a cinética em cada etapa da nitrificação (NH_4-N a NO_2-N e NO_2-N a NO_3-N). Ciudad *et al.* (2006) estimaram os parâmetros cinéticos do processo de nitrificação a partir da afinidade ao oxigénio e da transferência de protões para cada uma das etapas, tendo em conta os microrganismos nitrificantes.

5.4 Técnicas Utilizadas para o Estudo de Microrganismos no Ambiente

A grande dificuldade na obtenção de detalhes morfológicos de microrganismos no meio ambiente está relacionada com as técnicas usuais de identificação em meios de cultura específicos, as quais são trabalhosas, morosas e têm associados elevados erros estatísticos e metodológicos. De acordo com a microbiologia clássica no que diz respeito ao estudo dos microrganismos, é necessário isolá-los da matriz inicial, e este isolamento tem de ser feito num determinado meio específico para possibilitar a contagem de colónias formadas. Este tipo de procedimento muitas vezes altera as condições ambientais a que os microrganismos naturalmente estão sujeitos o que afecta a estrutura das comunidades microbianas, não conduzindo a uma completa descrição do ecossistema considerado (Bottari et al., 2006).

Assim, o isolamento e a cultura de microrganismos em meio agar, caracterizando apenas os microrganismos capazes de crescer, de se multiplicar e de formarem colónias num determinado meio selectivo e em determinadas condições (crescimento em placa e número mais provável), não permitem obter informação relativa a toda a comunidade microbiana existente.

Tradicionalmente, a identificação de microrganismos obrigava ao isolamento de culturas puras, seguido da análise de múltiplas características fisiológicas, metabólicas e bioquímicas. Este método apresenta limitações para a análise de amostras ambientais, porque a grande maioria desses microrganismos não cresce nos meios de cultura disponíveis, ou existe de forma viável, mas não cultivável. Amann *et al.* (1995) referiram que a percentagem de bactérias cultiváveis presentes em lamas activadas variava entre 1% e 15%, expressa como a percentagem de bactérias cultiváveis (medidas em unidades formadoras de colónias) em comparação com o número total de células (contadas ao microscópio). Este exemplo mostra que os microrganismos vivem em ambientes dificilmente reproduzíveis no laboratório. No caso particular dos microrganismos nitrificantes, o método do número mais provável pode subestimar o número total de células, porque estes microrganismos formam facilmente agregados. Através desta técnica não é possível saber quais as espécies que estão presentes, sendo necessário proceder-se ao isolamento dos microrganismos presentes na diluição mais elevada, com resultado positivo. Uma outra desvantagem relaciona-se com o longo tempo de espera para se obter um resultado, devido à baixa velocidade específica de crescimento dos microrganismos nitrificantes.

O estudo da ecologia de comunidades microbianas complexas requer o conhecimento da actividade e distribuição dos microrganismos directamente na amostra de forma a minimizar os distúrbios causados (Amann e Kuhl, 1998).

O desenvolvimento de métodos moleculares (baseados no genótipo do microrganismo) para identificar e quantificar os microrganismos existentes em determinado ecossistema, sem recorrer às técnicas de cultura em meio específico, tem sido um área emergente e de extrema importância. Por exemplo, a identificação de microrganismos em sistemas de tratamento biológico eliminou o dogma da oxidação de nitrito ser da única responsabilidade de *Nitrobacter* em sistemas nitrificantes (Juretschko *et al.*, 1998).

O método de contagem directa por epifluorescência tem sido usado em diferentes situações por fornecer maior exactidão na estimativa do valor total de células (incluindo as não viáveis e as viáveis mas não cultiváveis), comparativamente aos métodos tradicionais. Neste método, o número de bactérias determinado depende da técnica de coloração e das características físico-químicas da amostra, mas é bastante usado para a enumeração das bactérias totais em amostras ambientais (Kepner *et al.*, 1994, Saby *et al.*, 1997). A técnica de filtração permite enumerar o total de bactérias, mas não permite a distinção entre espécies e a avaliação da sua viabilidade pode ser problemática. Uma das vantagens da técnica de filtração é a concentração de bactérias o que aumenta a sensibilidade. O fluorocromo mais utilizado é o 4',6-diamidino-2-fenilindole (DAPI). As bactérias são identificadas não só com base na cor mas também pelo tamanho e forma.

Existem diversos estudos que referem a forma como o DAPI se combina com a estrutura do DNA. De acordo com alguns autores (Barcellona *et al.*, 1986; Kepner *et al.*, 1994) o DAPI liga-se ao DNA, não por intercalação, mas por ligação preferencial às bases AT (Adenosina-Timina). Matsuzawa e Yoshikawa (1994) sugerem que as moléculas de DAPI interagem com o DNA via grupos fosfato ao longo de toda a cadeia do DNA.

O DAPI existe na forma protonada com um máximo de emissão de fluorescência a 490 nm e na forma não protonada com um máximo de emissão de fluorescência a 440 nm. Assim, o máximo de fluorescência do DAPI varia entre 440 nm (azul) e 490 nm (azul-verde), dependendo do tipo de ligação estabelecida com a cadeia do DNA (Barcellona *et al.*, 1986; Kepner *et al.*, 1994).

A actividade respiratória de células bacterianas como indicador da actividade metabólica pode ser determinada em amostras naturais pelo método de coloração com CTC (cloreto de 5-ciano-2,3-di-(4-metilfenil)-2H-tetrazólio). A reacção de redução dos sais solúveis em água "tetrazólio" resulta na formação do composto fluorescente formazano, presente nas células (Pyle *et al.*, 1995).

Tendo em consideração as limitações inerentes aos métodos tradicionais baseados nas características fenotípicas, os microrganismos e comunidades microbianas presentes no meio ambiente devem ser detectados, identificados e quantificados directamente no seu habitat natural ou artificial, com recurso a metodologias moleculares (baseadas no genótipo do microrganismo).

5.4.1 Hibridação com sondas genéticas (FISH)

A técnica de FISH, acrónimo de "Fluorescence *In Situ* Hybridization", permite obter informação sobre a abundância e a morfologia celular dos microrganismos presentes numa amostra ambiental, e baseia-se na tendência que as moléculas de DNA e RNA têm para se ligarem especificamente a sequências complementares (hibridar).

A técnica de FISH foi desenvolvida inicialmente para aplicação da biologia em medicina nomeadamente na localização das sequências de DNA nos cromossomas dos mamíferos e posteriormente aplicada à microbiologia e ecologia ambiental.

Actualmente esta técnica é considerada uma ferramenta essencial para diagnóstico, filogenia, ecologia e estudos ambientais na área da microbiologia ambiental. Permite o estudo da simbiose microbiológica e da diversidade microbiana em amostras ambientais e amostras de águas residuais tratadas (Amman *et al.*, 2001). A técnica de FISH combina a precisão da genética molecular com a informação microscópica visual, permitindo a visualização e identificação de células individuais dentro do próprio microhabitat natural, ou seja as sequências dos ácidos nucleicos podem ser examinadas dentro das próprias células sem alteração da sua morfologia ou da integridade dos seus vários compartimentos (Moter e Gobel, 2000; Logue *et al.*, 2008).

No início dos anos 80, descobriu-se que a sequência das moléculas dos ácidos ribonucleicos (RNA), existiam em múltiplas cópias nas células, cerca de 10^4 a 10^5, abrindo caminho para a era da identificação genética. Carl Woese e os seus colaboradores (1987), conseguiram classificar a subunidade menor do RNA ribossomal, a molécula 16S, como sendo um marcador molecular poderoso a nível de identificação e classificação filogenética.

No final dos anos 80, princípio dos anos 90, surgiu um novo método aplicado com sucesso aos estudos ambientais, que consiste na hibridação com marcadores biológicos.

O rRNA é o alvo perfeito para as sondas oligonucleotídicas, devido às suas características: grande número de cópias em cada célula, funções homólogas e presença de secções variáveis e conservadas (Nogueira, 2002). Na técnica de FISH utilizam-se sondas oligonucleotídicas para a detecção de sequências alvo no rRNA 16S ou 23S dos microrganismos que se pretendem identificar.

Os ribossomas são principalmente constituídos por RNA ribossómico e proteínas, e estão envolvidos na síntese proteica. Os ribossomas procarióticos (70S) são constituídos por duas sub-unidades (30S e 50S), que contêm três moléculas de RNA: 16S na sub-unidade menor e 23S e 5S na sub-unidade maior. O rRNA tem secções com sequências conservadas e secções com sequências variáveis. Esta característica permite estabelecer relações filogenéticas entre os microrganismos (Nogueira, 2002).

As sondas oligonucleotídicas são cadeias simples de DNA limitadas a cerca de 15 a 30 nucleótidos (bases) que, numa reacção de hibridação molecular, se ligam às sequências que lhes são complementares no rRNA, denominado rRNA alvo. Os ensaios com sondas oligonucleotídicas podem ser feitos directamente nas células presentes na amostra ambiental (hibridação *in situ*). A detecção da hibridação com o rRNA alvo requer a marcação das sondas, podendo recorrer aos fluorocromos, em que a detecção do sinal de hibridação se faz por microscopia de epifluorescência (Nogueira, 2002; Bottari *et al.*, 2006).

Existem algumas limitações associadas ao uso das sondas e à utilização das moléculas alvo. O 16S rRNA tem de se encontrar bem conservado para se poder distinguir entre populações relacionadas. Espécies diferentes podem ter idênticas sequências de 16S rRNA; nestes casos é preferível usar sequências de 23S rRNA, as quais têm aproximadamente o dobro do comprimento e contêm regiões altamente variáveis e distintas entre espécies similares. A heterogeneidade encontrada por vezes nos operões do rRNA de um simples organismo pode também ser um problema (Nübel *et al.*, 1996). O operão é o gene responsável pelo controlo de uma série de processos bioquímicos, estando muitas vezes adjacente a outro, numa ligação à molécula de DNA. Outra grande limitação é o facto de a diversidade de rRNA só estar ainda parcialmente descrita (Amann e Ludwing, 1995). O inconveniente reside no facto de uma sonda, mesmo que bem construída, poder hibridar microrganismos que ainda não estejam identificados, o que conduz a erros de identificação. O ideal é testar uma população com mais do que uma sonda, pois pode haver organismos do mesmo grupo filogenético, em que a sequência alvo não seja perfeitamente igual.

A especificidade e a sensibilidade das sondas dependem das condições de hibridação. Parâmetros como a temperatura de hibridação, concentração das soluções de lavagem e de hibridação têm de ser optimizados. A maioria das células dos microrganismos é permeável às sondas oligonucleotídicas por fixação com aldeídos (paraformaldeído, glutaraldeído como exemplos) e álcoois (etanol e metanol). A fixação protege as células dos restantes tratamentos

do processo, pois na hibridação as células ficam expostas a elevadas temperaturas, detergentes e grandes gradientes osmóticos.

5.5 Materiais e Métodos

5.5.1 Sistema em estudo

A ribeira dos Milagres é um dos principais afluentes do rio Lis, sendo o comprimento da linha de água de 22,6 km, a área da bacia hidrográfica de 76 km^2 e o perímetro da bacia de 70,85 km e profundidade média inferior a 0, 25 m. A qualidade da água da ribeira dos Milagres é monitorizada, desde 1994, na estação de Milagres, situada 900 m a montante da sua confluência com o Lis (rede de monitorização INAG/CCDR-Centro). Com base nos dados da rede de estações de monitorização da qualidade da água do INAG/CCDR-Centro e nos resultados das campanhas de monitorização levadas a cabo no âmbito deste estudo, concluiu-se que existem nesta ribeira problemas consideráveis de qualidade da água. Foram detectados reduzidos níveis de oxigénio dissolvido, chegando a existir situações de anoxia. No que respeita à matéria orgânica presente no curso de água, recorrendo aos parâmetros Carência Bioquímica de Oxigénio aos 5 dias (CBO_5), Carência Química de Oxigénio, (CQO), Oxidabilidade e Carbono Orgânico Total (COT), a ribeira dos Milagres foi classificada como "extremamente poluída". A avaliação do teor de azoto foi baseada nas séries temporais dos parâmetros azoto amoniacal (NH_4), nitrito (NO_2) e nitrato (NO_3). A estação de Milagres destacou-se das restantes, apresentando 85% dos valores de azoto amoniacal acima dos valores referidos no Decreto-Lei 236/98 para a qualidade mínima das águas, o que conduziu à classificação de rio extremamente poluído.

A ribeira dos Milagres concentra 44% do total de suiniculturas da região da Bacia, ao qual corresponde um efectivo declarado de 91 590 (dados *INE: Recenseamento Geral da Agricultura 1999).* Da avaliação das fontes de contaminação presentes e descritas no capítulo 3, estima-se que 80% da carga total de azoto presente nos cursos de água na bacia seja proveniente do sector das suiniculturas (PBH do rio Lis, 2001), pelo que se esperam impactos significativos para o ecossistema aquático nas linhas água desta sub-bacia. Este facto, pode ser confirmado pelos resultados da monitorização de um efluente de suinicultura proveniente de uma exploração "tipo" com um efectivo animal de 3 625 animais equivalentes, ao qual

correspondia um caudal médio descarregado a partir do reservatório de efluente tratado de $0{,}3x10^{-3}$ m^3 s^{-1}, que revelou teores médios de azoto total de 1 873±278 mg N L^{-1}, de azoto amoniacal 1 783±287 mg N L^{-1}, e de carbono orgânico dissolvido 1 355 mg C L^{-1} (resultados discutidos no capítulo 3).

As amostras de água para o estudo dos processos de biodegradação de matéria orgânica e de azoto amoniacal, foram recolhidas da ribeira dos Milagres, na zona a montante da confluência com o rio Lis junto à Ponte EN 109, em diversos períodos. O transporte para o laboratório foi efectuado em garrafões de plástico de 5 L, devidamente refrigerados em mala térmica. No laboratório as amostras (cerca de 200 mL) foram analisadas de acordo com os métodos descritos no Standard Methods (1998) para os parâmetros azoto amoniacal, nitrito, nitrato, azoto total e carbono orgânico dissolvido, num prazo de 12 horas após a colheita e transferidas para o sistema no qual foi efectuado o estudo do processo de biodegradação.

No local foram monitorizados os parâmetros, temperatura (T °C), pH (escala de Sorensen), condutividade a 20 ºC (C µS cm^{-1}), potencial de oxidação-redução (ORP, mV) e oxigénio dissolvido (OD mgO_2 L^{-1}), recorrendo ao equipamento portátil descrito no capítulo 3 para a monitorização da qualidade das águas.

5.5.2 Processo de biodegradação (nitrificação) em reactor fechado

O estudo do processo de biodegradação foi efectuado no laboratório, num reactor fechado de polimetilmetacrilato (PMMA), capacidade 4 L, no qual foi introduzido um sistema de arejamento e de agitação mecânica. O sistema foi mantido a 20 ± 2 ºC e protegido da luz durante 15 a 20 dias (Figura 5.1). Os níveis de oxigénio dissolvido e pH foram monitorizados regularmente no decorrer das experiências. Periodicamente, foram retiradas amostras (200 mL) do reactor, e analisadas para o teor de carbono orgânico dissolvido(COD, mg C L^{-1}), azoto orgânico total (N-orgânico, mg L^{-1}), azoto amoniacal ($N\text{-}NH_3$, mg L^{-1}), nitrito ($N\text{-}NO_2$, mg L^{-1}) e nitrato ($N\text{-}NO_3$, mg L^{-1}) e biomassa total e nitrificante (cel mL^{-1}).

Figura 5.1 Sistema do Bioreactor para o estudo do processo de biodegradação

5.5.3 Quantificação de microrganismos

O procedimento utilizado para a preparação de soluções e o material necessário ao estudo das populações microbianas está descrito no Apêndice D.1.

5.5.3.1 Quantificação de bactérias totais

Antes de aplicar o procedimento para a quantificação das bactérias totais presentes na amostra, foram optimizadas as condições de dispersão da amostra (minimizar as interferências dos agregados na contagem de bactérias), usando a amostra de trabalho e uma suspensão de bactérias gram-negativas *(Pseudomonas chlororaphis).* Testaram-se diferentes condições: a)-diluição (10 ×) da solução com água pura; b)- diluição (10 ×) da solução com solução salina; c)- agitação no *vortex* durante 15 minutos; d)- adição de uma solução de detergente X-100 (Triton 0,1 % (w/v)); e)- agitação da amostra durante 10 min num banho de

sonicação Transsonic 420 ELMA, 70 W, 35 kHz; f)- agitação da amostra durante 15 s num sonicador SONICS Vibra Cell, Modelo VCX 130 usando uma sonda de 3 mm (1/8) n.º 630-0422. No procedimento de sonicação envolveu-se com gelo para a dissipação do calor, o recipiente contendo a amostra

A amostra (diluída 10 x com solução salina 0,85% e sonicada durante 15 s), agitada vigorosamente durante 15 s foi filtrada sob vácuo (filtros escuros de policarbonato de 0,2 μm), e incubada com 1 mL de DAPI (10 μg mL^{-1}) durante 10 min, à temperatura ambiente, protegida da luz. O volume filtrado teve em conta o número de bactérias mínimo obtido (10-30) em cada campo microscópico de forma a poder contar mais ou menos 20-30 campos ou 500 células (2-5 mL). A contagem das células foi efectuada usando um microscópio de epifluorescência LEICA DM LB2 com lâmpada de mercúrio (HBO 103 W/2), ampliação 1 000 x e filtro nº. A (BP 340-380 nm, LP 425 nm, DM 400 nm), com Software IM 50, LEICA para a aquisição de imagem. A média de células na amostra líquida, com o respectivo desvio padrão, (cel mL^{-1}) foi determinada pela equação:

$$(cel\ mL^{-1}) = \frac{(X \pm \sigma)\ A_{memb}\ d}{A_{campo}\ V} \tag{5.7}$$

onde X e σ são a média e desvio padrão correspondente ao número de células, A_{campo} é a área de cada campo (1×10^{-4} cm^2 com ampliação x 1 000), A_{memb} é a área total da membrana de filtração (2,27 cm^2), V é o volume de amostra filtrado (mL) e d é o factor de diluição.

5.5.3.2 Quantificação de bactérias metabolicamente activas

Num tubo de ensaio colocou-se 5 mL de amostra (diluída e sonicada) e adicionou-se 0,5 mL de R_2B (nutrientes) e 0,5 mL de solução CTC (50 mmol L^{-1}). A amostra foi incubada a 30 ºC durante 4 h no escuro com agitação 120 rpm. Após incubação a amostra foi filtrada (filtros escuros de policarbonato de 0,2 μm). A contagem das células foi efectuada usando um microscópio de epifluorescência LEICA DM LB2 com lâmpada de mercúrio (HBO 103 W/2), com ampliação 1 000 x e filtro nº. N2.1 (BP 515-560 nm, LP 590 nm, DM 580 nm), ,(Software IM 50, LEICA).

5.5.3.3 Identificação e quantificação de grupos de bactérias

O protocolo para a realização da hibridação foi descrito por Amann (1995). Para a detecção e quantificação dos microrganismos presentes nas amostras foram efectuadas hibridações com duas sondas simultaneamente, a sonda específica para a bactéria que se pretende detectar e a sonda que marca todas as bactérias. As sondas oligonucleotídicas 16S e 23S rRNA marcadas com CY3 que foram utilizadas nestes ensaios estão caracterizadas na Tabela 5.5. O funcionamento das sondas foi testado com controlos positivos.

Tabela 5.5 Lista de sondas oligonucleotídicas usadas neste estudo

Sonda	Sequência (5'-3')	Posição no rRNA	Referência
EUB338-I	5'- GCT GCC TCC CGT AGG AGT -3'	16S rRNA 338 - 355	Amann *et al.* (1990)
EUB338-II	5'- GCA GCC ACC CGT AGG TGT -3'	16S rRNA 338 - 355	Daims *et al.* (1999)
EUB338-III	5'- GCT GCC ACC CGT AGG TGT -3'	16S rRNA 338 - 355	Daims *et al.* (1999)
ALF 968	5'- CGT TCG YTC TGA GCC AG -3'	16S rRNA 19-35	Manz *et al.* (1992)
BET42a	5'- GCC TTC CCA CTT CGT TT -3'	23S rRNA 1027-1043	Manz *et al.* (1992)
GAM42a	5'- GCC TTC CCA CAT CGT TT -3'	23S rRNA 1027-1043	Manz *et al.* (1992)
Nso190	5'- CGA TCC CCT GCT TTT CTC C -3'	16S rRNA 189 - 207	Mobarry *et al.* (1996)
Ntspa712	5'- CGC CTT CGC CAC CGG CCT TCC -3'	16S rRNA 712 - 732	Daims *et al.* (2001a)
ARCH917	5'- GTG CTC CCC CGC CAA TTC -3'	16S rRNA 917 - 934	Alm *et al.* (1996)

A comunidade bacteriana presente no bioreactor foi descrita com as sondas EUB338, ALF968, BET42a, GAM42a, Nso190 e Ntspa712. A sonda oligonucleotídica para a detecção das bactérias oxidantes de azoto amoniacal do grupo das *β-Proteobacteria* foi a Nso190 (Gernaey *et al.*, 1998), e para as bactérias oxidantes de nitrito do *phylum Nitrospira* foi a Ntspa712 (Nogueira, 2002). A sonda EUB338 foi usada para determinar o total de bactérias (Okabe *et al.*, 1999), Figura 5.2.

Daims *et al.* (1999) demonstraram que a sonda EUB338, construída para detectar todos os microrganismos do domínio *Bacteria* (Amann *et al.*, 1990), não detecta microrganismos pertencentes aos *phylum Planctomycetales* e *Verrucomicrobia.* A fim de ultrapassar esta lacuna, foram construídas duas sondas adicionais, EUB338-II e EUB-338-III, que foram usadas em conjunto com a sonda EUB-338, em concentrações equimolares (designada por EUBmix338).

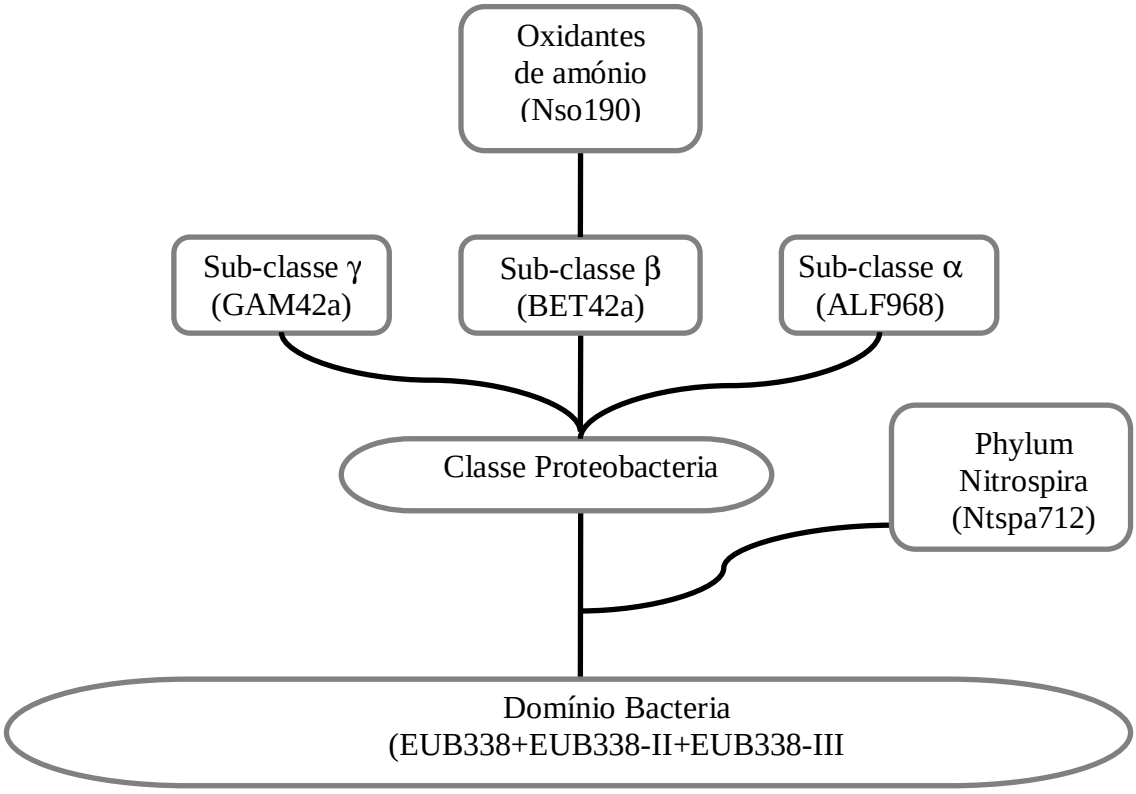


Figura 5.2 Diagrama esquemático de uma árvore que relaciona a especificidade das sondas oligonucleotídicas usadas na identificação in situ de bactérias nitrificantes e heterotróficas com os respectivos níveis taxonómicos.

Técnica de FISH - procedimento experimental

O procedimento experimental consistiu nos seguintes passos:

- Fixação e permeabilização das células para manter a estrutura, permitindo a entrada das sondas;

- Reacção de hibridação entre a sonda oligonucleotídica e a sequência alvo no rRNA;

- Lavagem para remover o excesso de sonda utilizado, e minimizar a fluorescência de fundo;

- Detecção microscópica.

Filtração da amostra: um determinado volume de amostra (50 mL da amostra diluída 10x e sonicada durante 10 min) foi filtrado através de membranas de policarbonato 0,2 μm

(WHATMAN 11114). O filtro foi colocado num *ependorf* e as bactérias lavadas e ressuspensas em 600 μL de tampão fosfato PBS (1x).

Fixação das células: foi adicionado à amostra anterior 800 μL de solução de paraformaldeído e procedeu-se à incubação a 4 ºC durante 3 h. O sobrenadante foi removido da amostra, após 5 minutos de centrifugação a 14 000 rpm, e a amostra foi lavada duas vezes com a solução de PBS (1x) seguindo o mesmo procedimento de centrifugação e remoção do sobrenadante. No final, a amostra foi ressuspensa em PBS (1 mL), adicionando igual volume de etanol (96%). A amostra foi conservada a – 20 ºC.

Hibridação: colocou-se, em lâminas (revestidas com resina epóxi, 75x25x1 mm, com 10 campos de 7mm de diâmetro marca Marienfeld), 10 μL de amostra fixada e seca durante 10 minutos a 46 ºC, de seguida lavada com água Milli-Q. A amostra colocada na lâmina foi desidratada com 20 μL de etanol 50% (v/v), após 3 minutos adicionou-se 20 μL etanol 80% (v/v) e após 3 minutos adicionou-se 20 μL de etanol 96% (v/v), deixando secar à temperatura ambiente. De seguida, foram adicionados à amostra, em cada campo da lâmina, 10 μL de solução de hibridação (35% em formamida, Tabela 5.6), e 1 μL de cada sonda (300 ng mL^{-1}). Para a sonda ALF978 foi utilizada uma solução de hibridação a 20% em formamida, para a sonda Nso190 uma solução de hibridação a 55% em formamida e para a sonda Ntspa712 uma solução de hibridação a 50% em formamida (Apêndice D.2). Cada sonda foi aplicada em duplicado.. As lâminas foram introduzidas numa caixa fechada e recoberta a alumínio, colocando no fundo papel humedecido com a restante solução de hibridação, em seguida foram colocadas numa estufa de hibridação a 46 ºC durante 1,5 horas. Após este período, as lâminas foram transferidas para a solução de lavagem, à qual foram adicionados 15 μL de DAPI (5,5 μg mL^{-1}), deixando-as incubar durante 15 minutos a 48 ºC. A solução de lavagem foi removida com água destilada e as lâminas foram secas a 46 ºC durante 15 minutos. De seguida a lâmina foi recoberta com óleo de imersão, antes da colocação da lamela. A contagem das células foi efectuada usando um microscópio de epifluorescência LEICA DMLB2 com lâmpada de mercúrio (HBO 103 W/2), com ampliação 1000 x e filtro nº. Y3 (BP 545/30 nm, BP 610/75 nm, DM 565 nm) (Software IM 50, LEICA).

Tabela 5.6 Soluções de hibridação (35% de formamida) e de lavagem utilizadas no procedimento experimental para as sondas EUB338, BET42a e GAM42a

Solução de hibridação (35% em formamida)	**Solução de Lavagem**
180 μL de NaCl (5 mol L^{-1}) 20 μL de Tris/HCl (1 mol L^{-1}) 2 μL de SDS (10%) 350 μL de formamida 450 μL de água Milli-Q	800 μL de NaCl (5 mol L^{-1}) 1000 μL de Tris/HCl (1 mol L^{-1}) 50 μL de SDS (10%) 500 μL de EDTA (0,5 mol L^{-1}) Diluir com água Milli-Q até perfazer o volume de 50 mL
Volume Final = 1 mL	Volume final = 50 mL

5.6 Resultados e Discussão

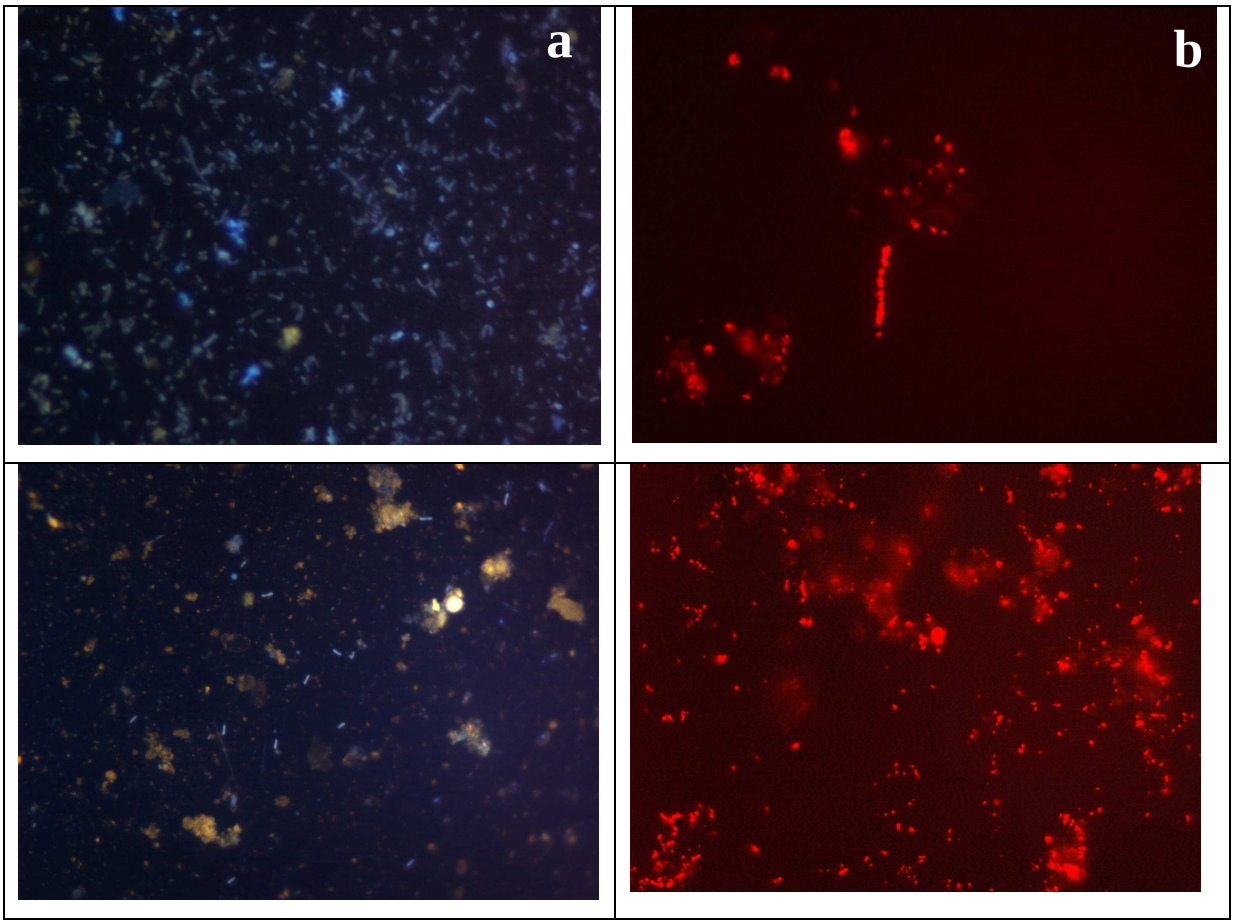
5.6.1 Optimização das condições experimentais

A análise microscópica das amostras de água usando as técnicas de fluorescência revelou a existência de uma grande quantidade de bactérias na forma de agregados, o que dificulta a contagem devido à distribuição não homogénea nas superfícies às quais se encontram ligadas, o que explica a variabilidade nos resultados obtidos para diferentes réplicas. Devido ao elevado número de bactérias presentes nas amostras analisadas foi necessário diluir a amostra (10x). Procedeu-se à diluição com água destilada e com solução salina, e verificou-se que os resultados obtidos para o número total de bactérias foi semelhante, no entanto ainda existiam aglomerados de bactérias. No procedimento de diluição optou-se por diluir as amostras com solução salina para evitar a destruição de células (procedimento adoptado em microbiologia ambiental). Para desagregar a biomassa procedeu-se à agitação da amostra no *vortex*, sonicação em banho ultra-sons e sonicador com sonda acoplada. De acordo com estes resultados (Tabela 5.7 e Figura 5.3), e segundo dados da literatura (Fazi *et al.*, 2007), a sonicação parece ser o melhor procedimento a aplicar para a redução dos agregados e, consequentemente, para diminuir o erro na contagem do número de células. Neste trabalho foi avaliada a resistência das bactérias à sonicação, usando uma suspensão de *Pseudomonas chlororaphis* e verificou-se que as condições que garantiam a integridade das células eram um período de sonicação até 15 s (agitação 5 s em 5s, amplitude de 30%) com a amostra colocada num recipiente com gelo.

Tabela 5.7 Condições de optimização de dispersão da amostra

Condições testadas	Número total de bactérias (cel mL^{-1}) [a]	Número de bactérias metabolicamente activas (cel mL^{-1}) [b]
1	$1{,}0\times10^{5}\pm 4{,}0\times10^{4}$	$4{,}3\times10^{5}\pm 1{,}0\times10^{3}$
2	$9{,}2\times10^{4}\pm 4{,}0\times10^{4}$	$4{,}7\times10^{5}\pm 2{,}0\times10^{4}$
3	$2{,}8\times10^{4}\pm 1{,}0\times10^{4}$	$1{,}0\times10^{4}\pm 2{,}0\times10^{3}$
4	$2{,}9\times10^{5}\pm 7{,}0\times10^{4}$	$2{,}0\times10^{5}\pm 4{,}0\times10^{4}$
5	$4{,}7\times10^{6}\pm 6{,}0\times10^{5}$	$8{,}5\times10^{5}\pm 7{,}0\times10^{4}$
6	$2{,}2\times10^{7}\pm 4{,}0\times10^{6}$	$2{,}0\times10^{6}\pm 3{,}0\times10^{5}$
7	$2{,}1\times10^{7}\pm 1{,}0\times10^{6}$	$1{,}0\times10^{6}\pm 1{,}0\times10^{5}$
8	$4{,}3\times10^{7}\pm 1{,}0\times10^{6}$	$1{,}3\times10^{5}\pm 4{,}0\times10^{4}$

1-Amostra de água sem pré-tratamento, 2-Amostra agitada durante 20 minutos no vortex, 3-Amostra filtrada por membrana estéril de nitrato de celulose 0, 45 µm, Adição de solução de detergente Triton, 0,1 %, 4-Diluição (10x) com água destilada, 5-Diluição (10x) com solução salina de NaCl, 0,85% e agitação no banho ultra-sons durante 15 minutos, 6-Diluição (10x) com solução salina de NaCl, 0,85%, 7-Diluição (10x) com solução salina de NaCl, 0,85% e sonicação durante 15 s a 100 W, 8-Diluição (10x) com solução salina de NaCl, 0,85% e sonicação durante 30 s a 100 W.



(a) – DAPI, (b) – CTC

Figura 5.3 Resultados obtidos para as amostras com e sem sonicação para o total de bactérias e para o número de bactérias metabolicamente activas

Os resultados obtidos para o teor total de bactérias e de bactérias metabolicamente activas, nas amostras estudadas nas 5 experiências realizadas em períodos diferentes, não apresentaram valores muito diferentes, tendo em conta o desvio padrão respectivo. Obtiveram-se valores na ordem de 10^7 cel mL^{-1} para as bactérias totais e 10^5 cel mL^{-1} para as bactérias metabolicamente activas para as amostras analisadas logo após a colheita. A razão entre as bactérias metabolicamente activas/ bactérias totais variou entre 2-5% (Tabela 5.8). Ao longo do processo de biodegradação o valor médio de células manteve-se constante ao longo do tempo, tendo em conta o respectivo desvio padrão.

Tabela 5.8 Biomassa quantificada nas amostras analisadas após a colheita (média ± desvio padrão)

Experiências (t0)	*Células totais (DAPI) (cel mL^{-1})*	*Células metabolicamente activas (CTC) (cel mL^{-1})*
1	$2{,}9\times10^7\pm6{,}3\times10^6$	$6{,}1\times10^5\pm3{,}4\times10^4$
2	$3{,}8\times10^7\pm4{,}2\times10^6$	$8{,}4\times10^5\pm3{,}0\times10^4$
3	$3{,}7\times10^7\pm5{,}2\times10^6$	$2{,}3\times10^6\pm3{,}0\times10^5$
4	$3{,}8\times10^7\pm1{,}0\times10^7$	$2{,}2\times10^6\pm7{,}0\times10^4$
5	$1{,}5\times10^7\pm3{,}9\times10^6$	$7{,}5\times10^5\pm1{,}2\times10^4$

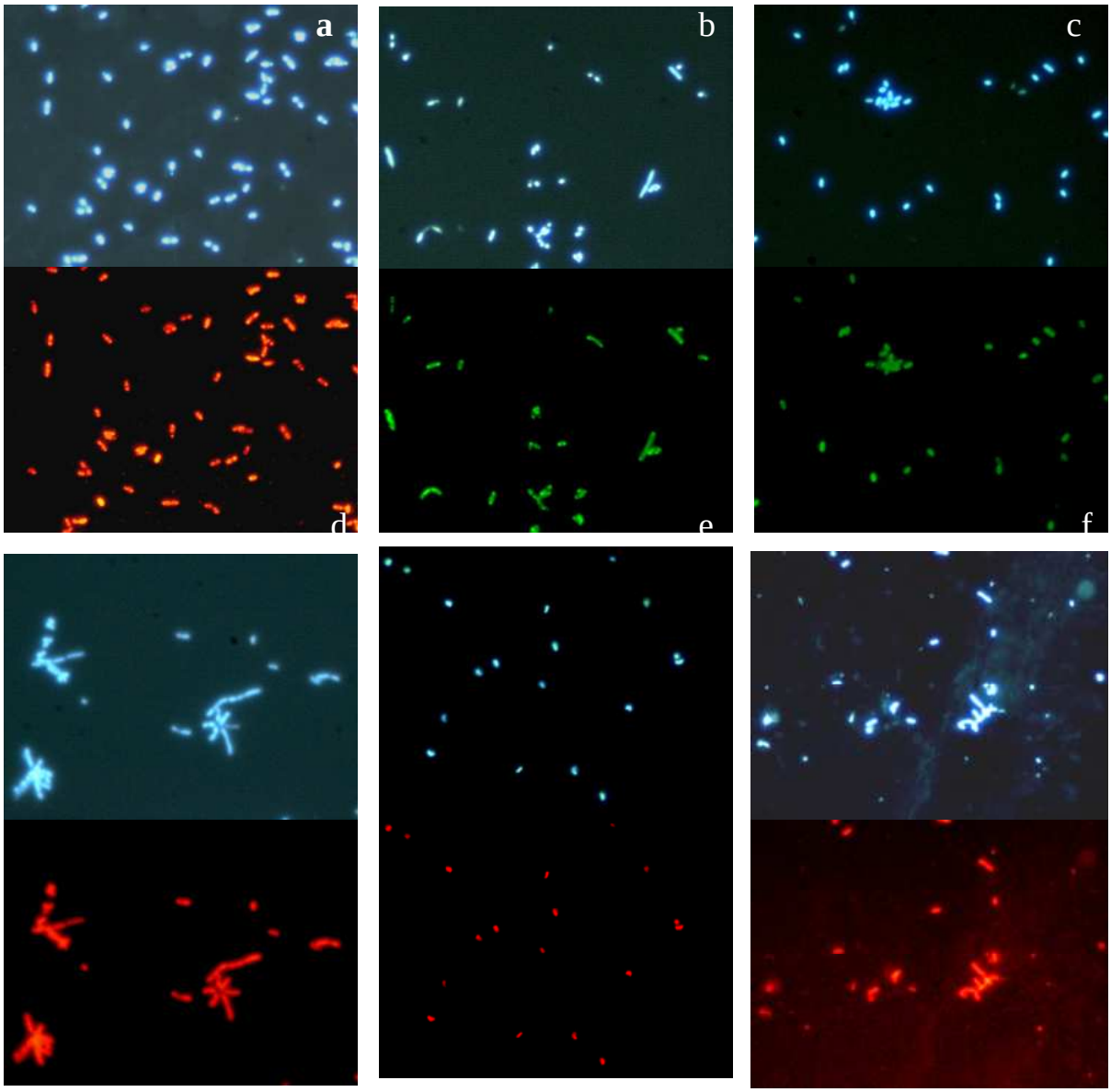
5.6.2 Controlos positivos

A fim de testar a eficiência da hibridação foram utilizadas bactérias específicas (controlos positivos) para cada sonda. A sonda Nso190 foi testada com *Nitrosomonas europaea* (CIP 103999, *Institute Pasteur*), a sonda Ntspa712 com *Leptospirillum ferrooxidants* (DSM 2705), a EUBmix com *Ralstonia basilensis (*FEUP- laboratório de microbiologia*)*, a BET42a com *Ralstonia basilensis*, a GAM42a com *Pseudomonas chlororaphis (*FEUP- laboratório de microbiologia*)* e a ALF968 com *Sphingomonas paucimobilis (*FEUP- laboratório de microbiologia*)* Os resultados obtidos da análise microscópica (Figura 5.4) confirmam que ocorreu hibridação aplicando o procedimento de FISH anteriormente descrito.

As sondas oligonucleotídicas usadas foram marcadas com os fluorocromos Cy3 e FLUOS, cujas características estão representadas na Tabela 5.9.

Tabela 5.9 Características dos fluorocromos utilizados

Fluorocromo	Cor	Absorção máxima nm	Fluorescência máxima, nm	Coeficiente de extinção, I
Cy3	laranja	550	570	150 000
FLUOS	verde	494	518	75 000



(a) – Ralstonia basilensis com EUBmix+DAPI; (b) – Ralstonia basilensis com BET42a+DAPI; (c) – Pseudomonas chlororaphis com GAM42a+DAPI; (d) - Sphingomonas paucimobilis com ALF968+DAPI; (e) – Leptospirillum ferrooxidans com Ntspa712+DAPI, (f) - Nitrosomonas europaea com Nso190+DAPI.

Figura 5.4 Controlos positivos de FISH para cada uma das sondas de oligonucleotídeos marcadas com Cy3 (laranja) ou FLUOS (verde) e com DAPI (azul)

5.6.3 Dinâmica de populações microbianas

Todas as amostras foram fixadas imediatamente após terem sido removidas do reactor de forma a garantir que não sofriam alterações morfológicas ou biológicas significativas.

A composição da comunidade microbiana foi determinada quantitativamente com sondas oligonucleotídicas, com especificidade para diferentes grupos taxonómicos, e expressa em percentagem relativamente ao número total de bactérias determinado por DAPI (células mL^{-1}).

Ao longo do tempo, a percentagem de bactérias obtida com a sonda mixEUB338 variou entre 40 e 45,6% (Figura 5.5), estes valores estão dentro do intervalo de valores encontrados na literatura para habitats aquáticos (Brümmer *et al.*, 2000), e sugerem baixa actividade celular. Poderá assumir-se que uma actividade metabólica baixa está associada a um baixo teor ribossomal e, consequentemente, pode influenciar o processo de hibridação. O sinal emitido pela hibridação das células com sondas fluorescentes é máximo na fase logarítmica do crescimento (Alfreider *et al.*, 1996). A técnica de FISH utilizando sondas oligonucleotídicas com o RNA ribossomal aplicada a amostras ambientais detecta apenas parte do picoplâncton (< 50%), devido ao seu baixo teor de RNA ribossomal (Sekar *et al.*, 2003).

A presença de α, β e γ – *Proteobacteria* varia, ao longo do tempo, entre 7,5-14,4%, 10-15,9% e 7-15%, respectivamente. Nenhuma das três sub-classes revelou ser predominante, ao contrário dos resultados encontrados por Brümmer *et al.* (2000), que detectaram, na análise dos biofilmes formados a partir dos microrganismos presentes nas águas poluídas do rio Elbe, a sub-classe *β*-Proteobacteria como predominante (31%).

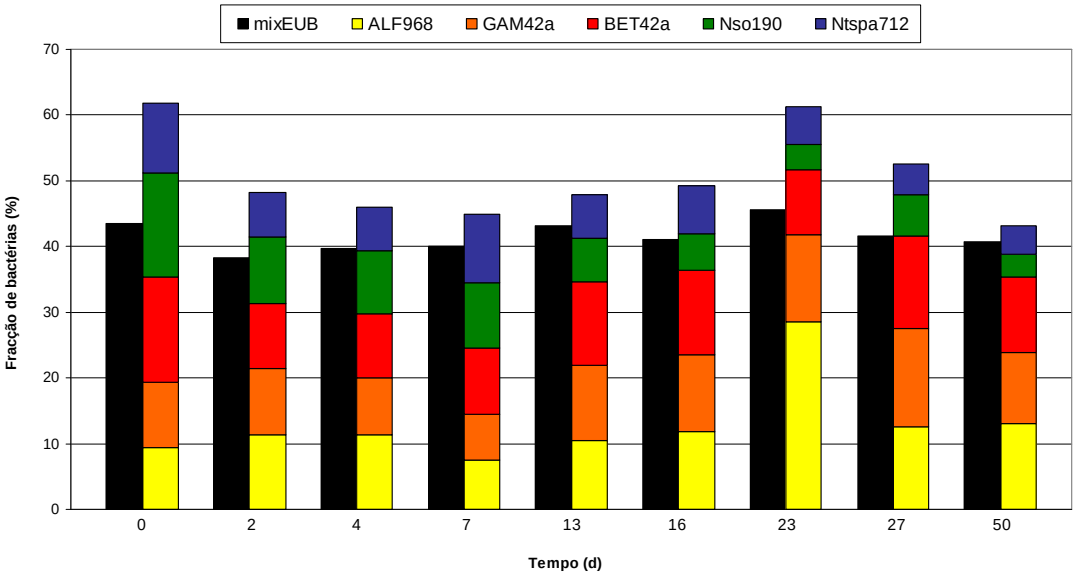


Figura 5.5 Abundância dos grupos filogenéticos presentes na água da ribeira dos Milagres (Novembro de 2006) determinada pela técnica da hibridação in situ de sondas oligonucleotídicas

A presença de microrganismos da subclasse β pode dever-se ao facto de nas águas da ribeira dos Milagres existirem concentrações elevadas de azoto amoniacal, a que estão associadas as bactérias oxidantes de amónio que pertencem a essa sub-classe.

A sonda Nso190 detecta todas as bactérias oxidantes de amónio do grupo *β-Proteobactéria* (géneros *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus*, *Nitrosovibrio*, *Nitrosolobus*). Os resultados obtidos confirmaram a presença de microrganismos oxidantes de amónio. A hibridação *in situ* das amostras com as sondas BET42a e Nso190 indicou que os microrganismos oxidantes de amónio pertenciam à sub-classe *β*-Proteobacteria, sendo que, para os tempos 0 e 7 dias, % bactérias BET42a = % bactérias Nso190, o que exclui a presença de heterotróficos pertencentes à mesma subclasse. No entanto, a partir do 7º dia, a percentagem de bactérias pertencentes à sub classe *β-Proteobacteria* mantém-se e a percentagem de bactérias do género *Nitrosomonas* diminui para cerca de metade, o que indica a presença de heterotróficos pertencentes à subclasse β. O crescimento destas bactérias poderá ser explicado pela utilização dos produtos resultantes da lise celular ou substâncias orgânicas excretadas pelas bactérias *Nitrosomonas* como fonte de energia e de carbono.

A presença de *γ-Proteobacteria* pode estar associada às bactérias *Pseudomonas* frequentemente presentes em sistemas onde ocorrem reacções de biodegradação (Moore *et al.*, 1996).

A presença de *α-Proteobacteria* pode ser um indicador da existência de bactérias oxidantes de nitrito do género *Nitrobacter*, consideradas predominantes em águas naturais, cuja espécie *Nitrobacter winogradskyi* é representativa (Hovanec e DeLong, 1996).

A abundância de microrganismos responsáveis pela oxidação do nitrito foi controlada pela pesquisa de bactérias pertencentes ao *phylum Nitrospira* (Ntspa712). A percentagem de bactérias obtidas é idêntica ao número de oxidantes de amónio. Neste estudo não foi pesquisada a presença de bactérias do género *Nitrobacter* que também podem estar presentes neste tipo de amostras e serem importantes no processo de nitrificação. Cébron e Garnier (2005) identificaram a presença de bactérias do género *Nitrobacter* e *Nitrospira* nas águas e nos sedimentos do rio Seine (França), após a descarga de uma estação de tratamento de efluentes de origem doméstica e no efluente. O género *Nitrobacter* predominou nas amostras de sedimentos e nas amostras ricas em material em suspensão. Nas amostras de água recolhidas perto da zona de descarga da estação de tratamento de águas prevaleceu o género *Nitrospira*.

A variação dos dois grupos de bactérias é similar ao longo do tempo (Figura 5.6). Considerando que a oxidação de amónio a nitrito é a etapa limitante da reacção de nitrificação (Gray, 1992), esperava-se encontrar uma população mais abundante de *Nitrosomonas* do que de *Nitrospira* nas amostras estudadas. No entanto, no estudo de nitrificação em águas do rio Yellow/China, realizado por Xia *et al.* (2004), a quantidade de bactérias oxidantes de nitrito, $1{,}5\times10^{4}$-$1{,}1\times10^{6}$ cel mL^{-1} (determinada pelo método de NMP após incubação 10-14 dias a 28 ºC num meio de cultura apropriado) foi superior à quantidade de bactérias oxidantes de amónio, $3{,}0\times10^{3}$-$1{,}5\times10^{4}$ cel mL^{-1}. No estudo desenvolvido por Cébron e Garnier (2005) já anteriormente mencionado, ao longo do percurso do rio estudado, a concentração de bactérias oxidantes de nitrito foi 10-100 vezes maior do que a de bactérias oxidantes de amónio. Outros estudos mostraram que o número de bactérias oxidantes de nitrito pode ser 3-30 vezes superior ao de bactérias oxidantes de amónio, de acordo com as amostras ambientais analisadas: sedimentos (Altmann *et al.*, 2003), agregados nitrificantes (Schramm *et al.*, 1999) e biofilmes (Gieseke, 2001).

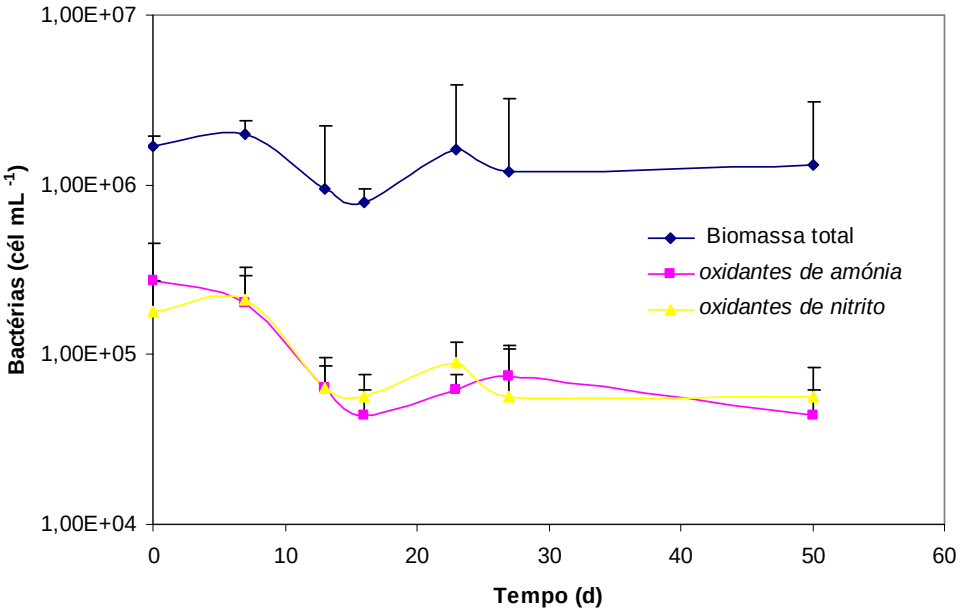


Figura 5.6 Variação da biomassa ao longo do tempo, S_0 = 16,2 mg N-NH_4^+ L^{-1}

Relativamente à comunidade nitrificante (grupo *Nitrosomonas e Nitrospira*), verificou-se ao longo do tempo um aumento do número de agregados, o que introduz maior erro na contagem de bactérias. A associação formada pelos dois grupos de microrganismos foi detectada em várias amostras ambientais (Schramm *et al.*, 1999; Daims *et al.*, 2001a). No entanto, para os microrganismos nitrificantes, ainda não foram encontradas relações do tipo causa-efeito que expliquem a formação de agregados. Alguns factores que poderão contribuir para a aglomeração são: protecção contra outros microrganismos, diminuição das perdas de compostos intermediários (por exemplo, hidroxilamina) por difusão passiva através da membrana celular e limitação pela concentração de substrato.

5.6.4 Variação das espécies de azoto e da biomassa

A Figura 5.7 apresenta os resultados experimentais obtidos no estudo cinético da nitrificação para a concentração inicial de azoto amoniacal de 16,2 mg L^{-1}. Os resultados obtidos para as restantes concentrações iniciais apresentaram variações idênticas. Da análise dos resultados salienta-se o seguinte: (i) - Rápido decréscimo da concentração de azoto amoniacal (5 dias); (ii) - Acumulação transiente de nitrito; (iii) - Produção de nitrato; (iv)- Biomassa total constante (tendo em conta o desvio padrão) e decréscimo da biomassa nitrificante (AOB e

NOB) após 5 dias de incubação, mantendo-se constante após esse tempo. No decorrer do processo de nitrificação a proporção entre AOB e NOB foi de 1:1 (Figura 5.6).

Na simulação em reactor fechado de processos biológicos naturais de remoção de azoto e nitrato em sistemas de drenagem de águas (Hao e Martinez, 1998) foram obtidos resultados idênticos para a variação de azoto amoniacal. No estudo da nitrificação em águas de rio com elevados teores de sólidos suspensos, conduzido por Xia *et al.* (2004), obtiveram-se variações da concentração de azoto semelhantes no tempo para as espécies $N\text{-}NH_4^+$, $N\text{-}NO_2^-$ e $N\text{-}NO_3^-$.

No processo de nitrificação, o nitrato é o produto dominante porque a etapa de conversão do amónio a nitrito é o passo limitante do processo. No entanto, experimentalmente verifica-se uma acumulação temporária de nitrito (42% a 78%) até um valor máximo, quando a concentração de azoto amoniacal decai para o valor correspondente ao limite de detecção da técnica analítica utilizada, o que poderá estar associado à inibição da reacção de conversão de nitrito a nitrato. Vários factores poderão estar na origem desta acumulação: pH elevado e a presença no meio de amoníaco (Fdz-Polanco *et al.*, 1994; Mauret *et al.*, 1996). De acordo com dados da literatura (Mauret *et al.*, 1996; Jianlong e Ning, 2004), concentrações de amoníaco entre 0,1-10 mg N L^{-1} inibem a oxidação do nitrito com a sua consequente acumulação.

No presente estudo, foram quantificadas apenas as bactérias do *philum Nitrospira* e não *Nitrobacter*, envolvidas na reacção de nitrificação e como não foram encontrados estudos fisiológicos envolvendo este grupo de bactérias, não se pode concluir com certeza qual a causa de inactivação. No entanto pode-se especular quanto à presença de *Nitrobacter* no sistema em estudo e também da possível inactivação deste tipo de bactérias pela presença de NH_3 livre associado ao pH elevado (7,6-8,3).

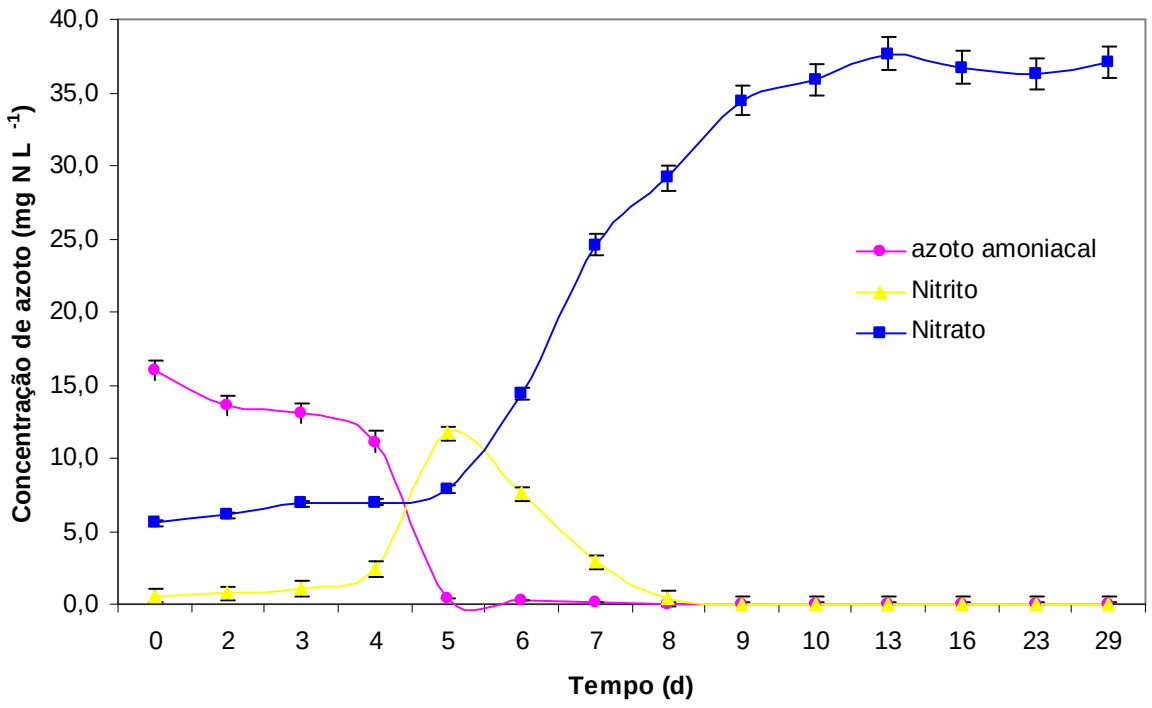


Figura 5.7 Resultados do estudo cinético de nitrificação para S_0=16,2 mg N L^{-1}

O resultado da biomassa total (DAPI) nos 5 ensaios efectuados variou entre $1{,}5\times10^7$ e $3{,}2\times10^8$ cel mL^{-1}. O valor médio dos 5 ensaios é de $1{,}8\times10^8$ cel mL^{-1}. Em relação à biomassa nitrificante, a curva de crescimento das bactérias *Nitrosomonas* não acompanha a variação temporal da concentração de azoto amoniacal e nitrito no sistema em estudo (Figura 5.8). No entanto, estes resultados poderão estar associados ao facto de não ter sido efectuada a determinação deste tipo de bactéria em amostras controladas diariamente, ou até mesmo duas vezes por dia. Apenas com esse controlo se poderia ter a certeza se houve ou não crescimento de bactérias de 0 a 5 dias, período em que o consumo de NH_4^+ decaiu para um valor mínimo, e a produção de nitrito foi máxima. A curva de crescimento das bactérias *Nitrospira* (Figura 1.9) também não apresenta variações significativas no tempo, mesmo para valores elevados de concentração de nitrato produzido. No estudo de nitrificação em águas do rio Yellow/China, realizado por Xia *et al.* (2004), a quantidade de bactérias oxidantes de nitrito (determinadas pelo método de NMP após incubação 10-14 dias a 28 ºC num meio de cultura apropriado), apresentou uma variação temporal pouco significativa. Aumentou ligeiramente no primeiro dia de incubação (0-1 dias) e depois manteve-se constante no tempo, enquanto a concentração de nitrato aumentou significativamente entre os dias 1-3.

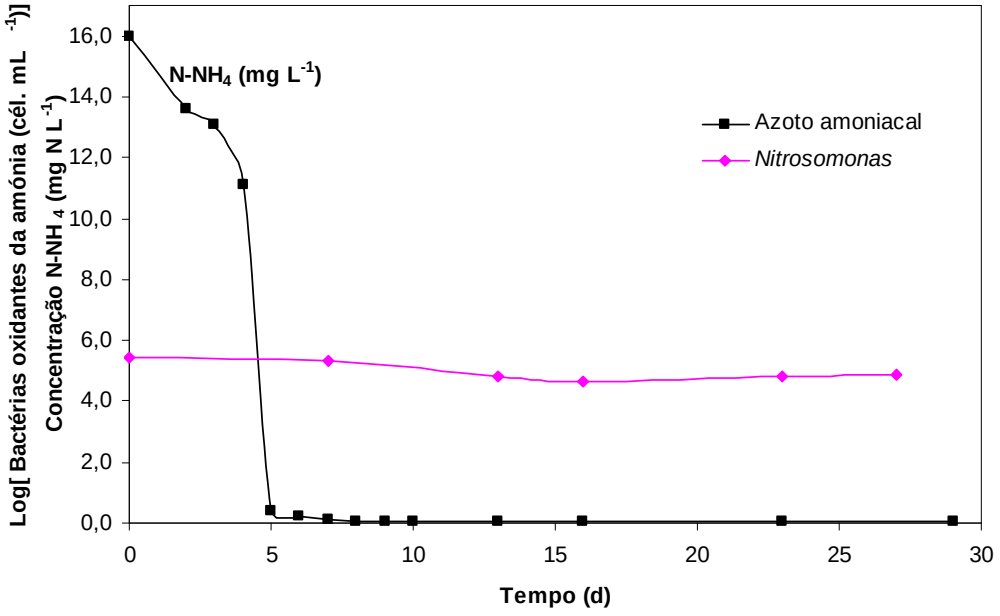


Figura 5.8 Relação entre o crescimento das bactérias oxidantes de amónio e o consumo de azoto amoniacal, S_0 = 16,2 mg N-NH_4^+ L^{-1}

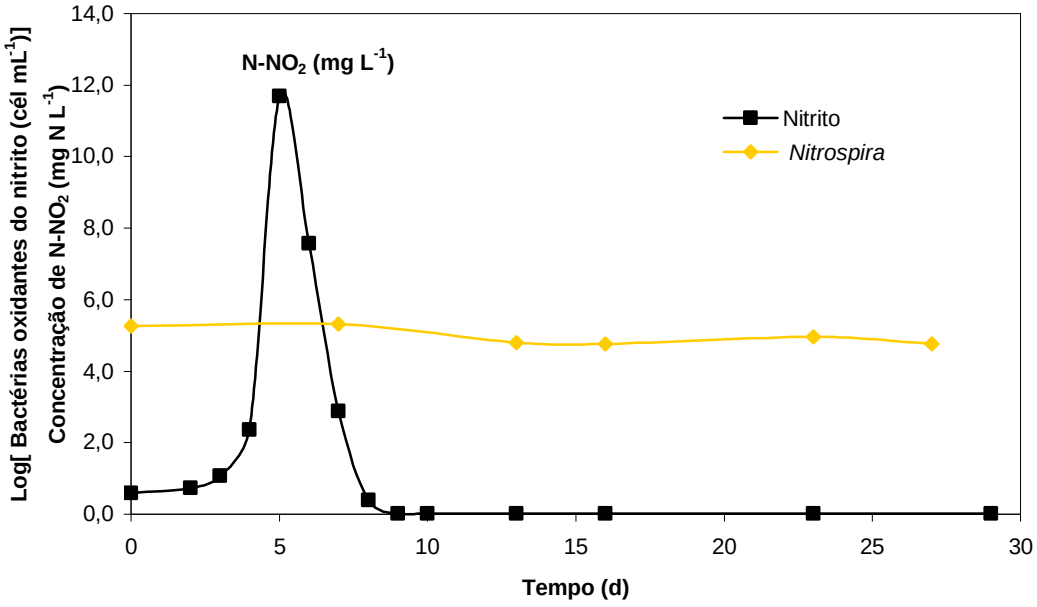


Figura 5.9 Relação entre o crescimento das bactérias oxidantes de nitrito e a concentração de nitrito, S_0 = 16,2 mg N-NH_4^+ L^{-1}

5.6.5 Modelo de consumo de substrato

Foi aplicado o modelo de Quiroga-Sales (Quiroga *et al.*, 1999) aos resultados obtidos no estudo do processo de biodegradação. Este modelo foi desenvolvido para cinéticas de biodegradação da matéria orgânica em água do mar e assume que a velocidade de consumo da matéria orgânica é função da concentração de substrato. O mesmo modelo foi aplicado por Carta-Escobar *et al.* (2005) no estudo cinético dos processos de degradação da matéria orgânica e eliminação de azoto amoniacal por nitrificação em efluentes pecuários (vacarias).

Considerando um reactor descontínuo, com a adição de um substrato orgânico (S), a velocidade de conversão do substrato é lenta no início do teste. Mas no decorrer do processo, devido à multiplicação dos microrganismos, a velocidade da reacção aumenta até atingir um valor máximo. O consumo de substrato decresce gradualmente até se atingir uma velocidade de reacção igual a zero. Este comportamento é característico de um processo auto-catalítico, sendo a velocidade da reacção representada pela seguinte equação:

$$S + n \rightarrow \alpha P + \sigma n \; ; v = -dS/dt = K_v \; S \; n \qquad (5.8)$$

De acordo com a estequiometria da reacção, por cada molécula de substrato (S) consumido, forma-se α moléculas de produto P, e produzem-se σ microrganismos (n) (σ>1). Se a concentração inicial é S_0 e o número inicial de microrganismos é n_0, quando parte do substrato for consumido e a quantidade de substrato que permanece no meio for igual a S, o número de microrganismos "n" será dado pela expressão $\sigma(S_0\text{-}S)$. Assim, para cada instante de tempo, o número de microrganismos presente no meio é dado por $n = \sigma(S_0\text{-}S) + n_0$.
Substituindo n na equação 5.8:

$$-dS/dt = K_v \; S \left[n_0 + \sigma \left(S_0 - S \right) \right] \qquad (5.9)$$

ou

$$-dS/dt = K_v \; \sigma \left[\left(\frac{n_0}{\sigma} + S_0 \right) S - S^2 \right] \qquad (5.10)$$

Nas expressões anteriores assumiu-se que todo o substrato é biodegradável por microrganismos ($S=S_T=S_B$). No entanto, geralmente, há uma proporção de substrato não metabolizável por microrganismos. Assim:

$$S_T=S_B+S_{NB}; \quad S_{0T}=S_{0B}+S_{0NB}; \quad S_{NB}=S_{0NB}$$

Onde: S_T – concentração total de substrato, S_B – concentração de substrato biodegradável, S_{NB} - concentração de substrato não biodegradável, S_{0T} – concentração total inicial (t=0) de substrato, S_{0B} – concentração inicial (t=0) de substrato biodegradável, S_{0NB} – concentração inicial (t=0) de substrato não biodegradável. Substituindo na equação 5.10 obtém-se a seguinte expressão:

$$-dS/dt = K_v\ \sigma \left[\left(\frac{n_0}{\sigma} + \left(S_{0T} - S_{0NB}\right) \right) \left(S_T - S_{NB}\right) - \left(S_T - S_{NB}\right)^2 \right] \tag{5.11}$$

Simplificando a equação anterior obtém-se:

$$-dS/dt = K_2\ S_T^{\ 2} + K_1\ S_T + K_0 \tag{5.12}$$

em que

$$K_2 = -K_v\ \sigma \tag{5.13}$$

$$K_1 = K_v\ \sigma \left(\frac{n_0}{\sigma} + S_{0T} - S_{0NB} + 2S_{NB} \right) \tag{5.14}$$

$$K_0 = -K_v\ \sigma \left(\frac{n_0}{\sigma} S_{NB} + S_{0T}\ S_{NB} - S_{0NB}\ S_{NB} + S^2{}_{NB} \right) \tag{5.15}$$

Integrando a equação 5.12, resulta:

$$\int_0^t dt = \int_{S_0}^{S} -\frac{dS}{K_2 S^2 + K_1 S + K_0} \tag{5.16}$$

$$S = \frac{h\left(S_0 - q\right) - q\left(S_0 - h\right) e^{pt}}{\left(S_0 - q\right) - \left(S_0 - h\right) e^{pt}} \tag{5.17}$$

em que $p = \left| K_1^{\,2} - 4K_2K_0 \right|^{1/2}$ $\quad q = \frac{\left(-K_1 + p\right)}{2\,K_2}$ $\quad h = \frac{\left(-K_1 - p\right)}{2\,K_2}$

Romero (1991) deduziu uma expressão semelhante através de um mecanismo básico considerando a dependência dos microrganismos do substrato ao longo do tempo, atribuindo significado físico aos parâmetros p (velocidade específica máxima de crescimento microbiano), h (concentração máxima de substrato para formação de biomassa) e q (concentração de substrato não biodegradável).

5.6.6 Cinética de nitrificação

A Figura 5.10 apresenta graficamente os resultados obtidos para os 5 ensaios com amostras colhidas no mesmo local, mas em diferentes épocas do ano, e com diferentes concentrações iniciais de azoto amoniacal. Relativamente às espécies químicas de azoto, ao longo do tempo, verificou-se uma diminuição do azoto amoniacal até valores próximos do limite de detecção do método, que variou de 4 a 8 dias, dependendo dos valores da concentração inicial. Obteve-se um decaimento ao fim de 9 dias para uma concentração inicial de 34,4 mg L^{-1} e de 4 dias para uma concentração inicial de 4,9 mg L^{-1}. Assumiu-se que a fixação algal de azoto e nitrato era desprezável, tendo em conta que o sistema estava protegido da luz.

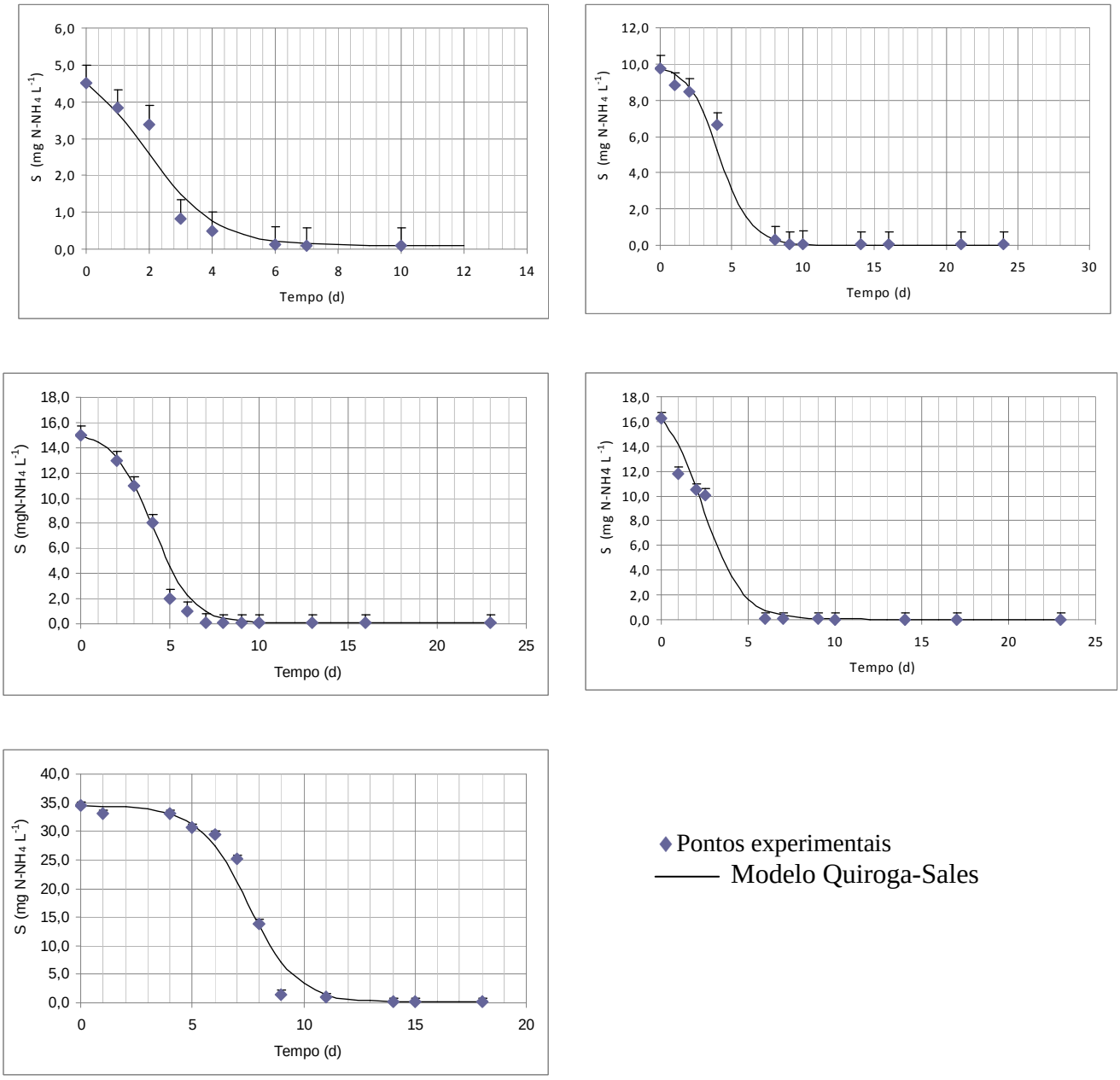


Figura 5.10 Comparação entre os valores experimentais obtidos para a concentração de azoto amoniacal, S, versus tempo e os valores obtidos através do modelo de Quiroga-Sales

Assumindo que a oxidação do amónio é o passo limitante da reacção global de nitrificação, os valores dos parâmetros representados na equação de Quiroga-Sales descrevem o processo (considerando o amónio como substrato). Os valores do coeficiente de correlação (r^2 , $p<0,05$) (Tabela 5.10) indicam um bom ajuste do modelo aos resultados experimentais.

Tabela 5.10 Modelo cinético de Quiroga-Sales aplicado à nitrificação: Parâmetros cinéticos e coeficientes de correlação

S_0, 20ºC (mgC L^{-1})	**p** (d^{-1})	**q** (mg C L^{-1})	**h** (mg C L^{-1})	**- K_2** (L mg^{-1} C·d^{-1})	**K_1** (d^{-1})	**- K_0** (mg C L^{-1} d^{-1})	**r^2**
4,50	0,9	0,09	5,3	0,17	0,93	0,08	0,957
9,76	0,9	0,01	10,0	0,09	0,90	0,01	0,987
15,0	0,9	0,06	15,4	0,05	0,91	0,05	0,982
16,2	0,9	0,04	18,1	0,05	0,90	0,04	0,958
34,4	0,9	0,10	34,5	0,03	0,91	0,09	0,972

Os valores obtidos para o parâmetro h apresentam-se concordantes com os valores obtidos experimentalmente para a concentração inicial de substrato, S_0. As diferenças (o modelo apresenta valores ligeiramente superiores) poderão estar associadas ao facto deste parâmetro incluir também a concentração de biomassa inicial. De acordo com Romero (1991), h é calculado através da seguinte expressão:

$$h = \frac{X_0}{Y} + S_0 \tag{5.18}$$

em que X_0 representa a concentração inicial de microrganismos, Y rendimento em biomassa e S_0 a concentração inicial de substrato.

Os valores obtidos para o parâmetro q (0,01-0,10) representam a concentração de substrato não biodegradável e aproximam-se dos valores experimentais (< 0,10 mg N L^{-1}, Apêndice D.3).

O parâmetro p representa a velocidade específica máxima de crescimento dos microrganismos (0,90 d^{-1}) e aproxima-se dos valores descritos na literatura para as taxas de crescimento das bactérias nitrificantes (Nogueira *et al.*, 2002).

Os valores de K_2, K_1 e K_0 foram calculados a partir dos valores de p, q e h. O valor de K_2 é negativo (varia entre -0,03 e -0,17) e pode ser interpretado como o factor de inibição do crescimento bacteriano pelo substrato (menor produção de biomassa por unidade de consumo

de substrato para valores mais elevados de S_0). O menor valor (K_2=-0,03) foi obtido para a concentração S_0=34,4 mg N L^{-1}. O termo $K_2S_T^2$ na expressão geral é um factor de correcção que reflecte a fase *lag* da actividade microbiana, período de adaptação ao processo de degradação do substrato. Considerando que a rota metabólica dos microrganismos está na dependência do seu sistema enzimático (Ye e Thomas, 2001), parece razoável que num período inicial tenha sido necessária uma readaptação do metabolismo microbiano às novas condições.

Os valores obtidos para K_1 são positivos e próximos de 0,9. De acordo com Quiroga *et al.* (1999), o valor de K_1 aumenta proporcionalmente com a velocidade de biodegradação. A velocidade máxima é atingida quando p=K_1.

Por último, para o termo K_0 obtêm-se valores negativos (valores entre -0,01 e – 0,09) que dependem sobretudo da concentração de substrato não biodegradável presente no meio.

5.6.7 Cinética de biodegradação da matéria orgânica

A velocidade de consumo de um determinado composto orgânico depende da estrutura molecular do composto, dos microrganismos capazes de o utilizar como nutriente e do tempo necessário para que esses microrganismos desenvolvam os mecanismos enzimáticos necessários para procederem à sua biodegradação. Assumiu-se para todas as experiências que o consumo de substrato é representado pela concentração de carbono orgânico dissolvido (COD). Não foram considerados os fenómenos de transporte e difusão nas diferentes fases implicadas (material em suspensão/dissolvido).

A Figura 5.11 apresenta graficamente os resultados obtidos para os 5 ensaios com amostras colhidas no mesmo local, mas em diferentes épocas do ano, e com diferentes concentrações iniciais de carbono orgânico dissolvido (COD). Verifica-se uma diminuição da concentração de COD nos primeiros 2-3 dias de reacção e após este período o teor de COD no bioreactor mantém-se ao longo do tempo.

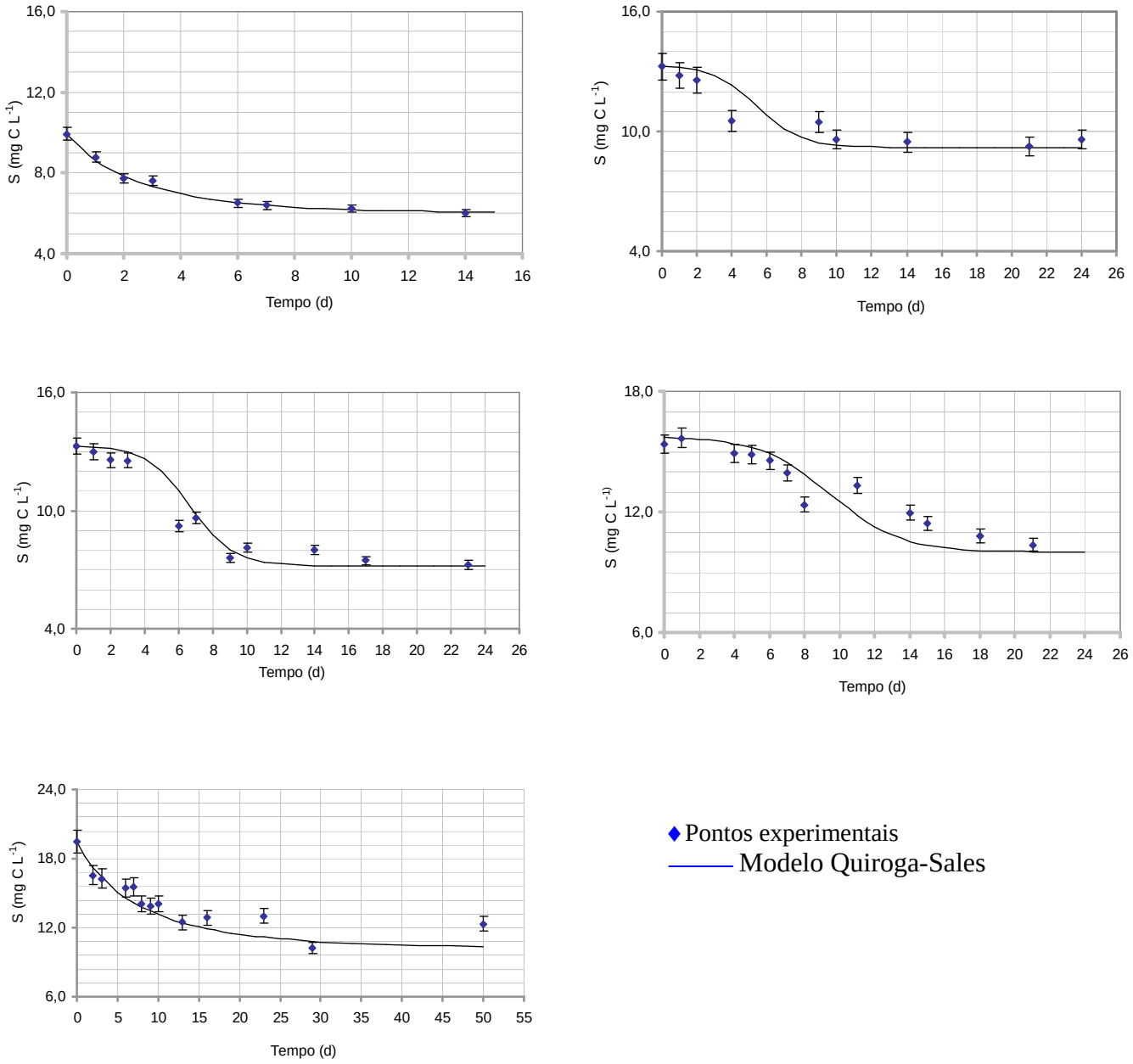


Figura 5.11 Comparação entre os valores experimentais obtidos para a concentração de COD (substrato, S) versus tempo e os valores obtidos através do modelo de Quiroga-Sales

No ajuste dos resultados obtidos pelo modelo de Quiroga-Sales, foram obtidos os valores de p, q, h, K_0, K_1 e K_2 e o coeficiente de correlação apresentados na Tabela 5.11.

Tabela 5.11 Modelo cinético de Quiroga-Sales (1991) aplicado à biodegradação de COD: Parâmetros cinéticos e coeficientes de correlação.

S_0, 20ºC (mgC L^{-1})	**p** (d^{-1})	**q** (mg C L^{-1})	**h** (mg C L^{-1})	**- K_2** (L mg^{-1} C·d^{-1})	**K_1** (d^{-1})	**- K_0** (mg C L^{-1} d^{-1})	**r^2**
9,9	0,2	6,0	10,0	0,062	1,0	3,8	0,978
13,2	0,1	9,2	13,3	0,024	0,6	3,0	0,935
13,3	0,1	7,2	13,5	0,030	0,3	0,8	0,919
15,4	0,1	10,0	15,8	0,021	0,5	3,3	0,830
19,5	0,07	10,2	20,0	0,0072	0,2	1,4	0,971

Os valores obtidos para o parâmetro h apresentam-se concordantes com os valores obtidos experimentalmente para a concentração inicial de substrato, S_0.

O parâmetro q representa a concentração de substrato não biodegradável (6,0-10,2 mg C L^{-1}) ou dificilmente metabolizável pelos microrganismos e os respectivos valores estão de acordo com os obtidos experimentalmente (Apêndice D.3). Verifica-se que a concentração de substrato não biodegradável é tanto maior quanto maior a concentração de substrato inicial, representando, em média, cerca de 60%.

O valor do parâmetro p representa a velocidade de crescimento dos microrganismos (0,07-0,3 d^{-1}) mas é inferior aos valores reportados na literatura (Larson, 1983; Quiroga *et al*, 1999) para a taxa específica máxima de crescimento dos microrganismos envolvidos na degradação de matéria orgânica.

Os valores de K_2, K_1 e K_0 foram calculados a partir dos valores de p, q e h.

O valor de K_2 é negativo e pequeno (varia entre -0,0072 e -0,062) e, tal como já foi referido, pode ser interpretado como o factor de inibição do crescimento bacteriano pelo substrato, para as concentrações estudadas. No entanto, os valores baixos de K_2 parecem indicar que a inibição é pequena.

Os valores de K_1 são positivos e variam entre 0,2 e 1,0, superiores aos obtidos para o parâmetro p. De acordo com Quiroga *et al.* (1999), o valor de K_1 aumenta proporcionalmente com a velocidade de biodegradação.

Por último, para o termo K_0 obtêm-se valores negativos (entre -0,8 e – 3,8mg C L^{-1} d^{-1}) que dependem da concentração de substrato não biodegradável presente no meio..

Os parâmetros cinéticos, p, K_2, K_1 e K_0, referentes à biodegradação do carbono orgânico dissolvido, nas condições estudadas, apresentam diferenças significativas, as quais poderão ser explicadas pela diferente composição, em termos de compostos orgânicos, das amostras estudadas. A velocidade de consumo de um determinado composto orgânico depende da estrutura molecular do composto, dos microrganismos capazes de utilizar esse mesmo composto como nutriente e do tempo necessário para que esses microrganismos desenvolvam os mecanismos enzimáticos necessários para procederem à sua biodegradação (Carta-Escobar, 2005).

5.7 Conclusões

A aplicação da técnica de FISH foi fundamental para o estudo da composição do bacterioplâncton presente nas águas da ribeira dos Milagres. Foram identificados diferentes grupos filogenéticos, predominando as sub-classes beta, alfa e gamma *Proteobacteria*. Foram detectadas também bactérias nitrificantes pertencentes ao género *Nitrosomonas* e philum *Nitrospira*.

As cinéticas de biodegradação de matéria orgânica e nitrificação foram estudadas recorrendo ao modelo matemático proposto por Quiroga-Sales cujos resultados descrevem satisfatoriamente a degradação da matéria orgânica, considerando o carbono orgânico dissolvido e o consumo de azoto amoniacal no bioreactor. A velocidade de degradação do amónio é superior à velocidade de degradação da matéria orgânica (COD) de acordo com os valores obtidos para a velocidade específica máxima de crescimento dos microrganismos envolvidos. A conversão de azoto amoniacal a nitratos foi total para todos os ensaios efectuados. A eliminação total de carbono orgânico dissolvido não se observou em nenhuma das experiências realizadas.

Os processos de biológicos naturais que ocorrem em águas muito poluídas desempenham um papel fundamental na capacidade de autodepuração desses sistemas. Com base na teoria e nos resultados apresentados ao longo deste estudo, pode-se concluir que a nitrificação é um processo biológico fundamental na remoção de azoto amoniacal e nitrito.

Referências

Alfreider, A., Pernthaler, J., Amann, R., Sattler, B., Glöckner, F.-O., Wille, A. e Psenner, R., (1996), Community Analysis of Bacterial Assemblages in the Winter Cover and Pelagic Layers of a High Mountain lake by *In Situ* Hybridization, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 2138-2144.

Alm, E.W., Oerther, D.B., Larsen, N., Stahl, D.A. e Raskin, L., (1996), The Oligonucleotide Probe Database, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 3557-3559.

Altmann, D., Stief, P., Amann, R., De Beer, D. e Schramm, A., (2003), *In Situ* Distribution and Activity of Nitrifying Bacteria in Fresh Sediment, *Environ. Microbiol.*, **5**, 798-803.

Amann R.I., Fuchs, B.M. e Beherens, S., (2001), The Identification of Microorganisms by Fluorescence In Situ Hybridization, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **12**, 231-236.

Amann R.I., Binder B.J., Olson R.J., Chisholm S.W., Devereux R. e Stahl D.A., (1990), Combination of 16S rRNA-targeted Oligonucleotide Probes with Flow Cytometry for Analyzing Mixed Microbial Populations, *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1919-1925.

Amann R.I. e Kuhl, M., (1998), In Situ Methods for Assessment of Microorganisms and their Activities, *Curr. Opin. Microbiol.*, **1**, 352-358.

Amann R.I., Ludwig, W. e Schleifer K.H., (1995), Fluorescent-Oligonucleotide Probing of Whole cells for Determinative, Phylogenetic, and Environmental Studies in Microbiology, *J. Bacteriol.*, **172**, 762-770.

Andrews, J.F., (1968), A Mathematical Model for the ContinuousCulture of Microorganisms Utilizing Inhibitory Substrates, *Biotechnol. Bioeng.*, **10**, 707-712.

Anthonisen, A.C., Loehr, R.C., Prakasam, T.B.S. e Srinath, E.G., (1976), Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid, *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, **48**, 835-852.

Bayley, J.M. e Ollis, D.F., (1986), *Biochemical Engineering Fundamentals*, McGraw-Hill, Inc., New York.

Barcellona M.L., Favilla R., Berger J.V., Avitabile M., Ragusa N. e Masotti L., (1986), DNA-4',6-diamidine-2-phenylindole Interactions: a Comparative Study Employing Fluorescence and Ultraviolet Spectroscopy, *Arch. Biochem. Biophys.*, **250**, 48-53.

Battersby, N.S., (1990), A Review of Biodegradation Kinetics in the Aquatic Environment, *Chemosphere*, **21**, 1243-1284.

Beman, J.M. e Francis, C.A., (2006), Diversity of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria in the Sediments of a Hypernutrified Subtropical Estuary: Bahía del Tóbari, Mexico, *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**, 7767-7777.

Bodelier, P.L.E., Libochant, J.A., Blom, C.W.P.M. e Laanbroek, H.J., (1996), Dynamics of Nitrification in Root-Oxigenated Sediments and Adaptation of Ammonia-Oxidizing Bacteria to Low-Oxygen or Anoxic Habitats, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 4100-4107.

Bock, E., Koops H.P., Harms, H e Ahlers, B, (1991), The Biochemistry of Nitrifying Organisms, *In*: J. M. Shively e L. L. Barton (Eds.), *Variations in Autotrophic Life*, 171-200. Academic Press Ltd., London, England.

Bottari, B., Ercolini, D., Gatti, M. e Neviani, E., (2006), Application of FISH Technology for Microbiological Analysis: Current State and Prospects, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **73**, 485-494.

Brown, L.C. e Barnwell, T.O., (1987), Computer Program for the Enhanced Stream Water Quality Model QUAL2E, EPA, USEPA.

Brümmer, I.H.M., Fehr, W. e Wagner-Döbler I., (2000), Biofilm Community Structure in Polluted Rivers: Abundance of Dominant Phylogenetic Groups over a Complete Annual Cycle, *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 3078-3082.

Burrell, P.C., Keller, J. e Blackall, L.L., (1998), Microbiology of a Nitrite-Oxidizing Biorector, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 1878-1883.

Carta-Escobar, F., Pereda-Marín, J., Álvarez-Mateos, P., Romero-Guzmán, F., Durán-Barrantes, M.M. e Barriga-Mateos, F., (2005), Aerobic Purification of dairy Wastewater in Batch Reactors: Kinetic Study of the Influence of a Pre-storage Stage without Aeration in the Degradation of Organic Matter and Ammonium Consumption by Nitrification, *Process Biochem.*, **40**, 549-556.

Cébron, A. e Garnier, J., (2005), *Nitrobacter* and *Nitrospira* genera as Representatives of Nitrite-oxidizing bacteria: Detection, Quantification and Growth along the Lower River Seine (France), *Water Res.*, **39**, 4979-4992.

Chandran, K. e Smets, B.F., (2001), Estimating Biomass Yield Coefficients for Autotrophic Ammonia and Nitrite Oxidation from Batch Respirograms, *Water Res.*, **35**, 3153-3156.

Chen, S., Ling, J. e Blancheton, J-P, (2006), Nitrification Kinetics of Biofilm as Affected by Water Quality Factors, *Aquacult. Eng.*, **34**, 179-197.

Ciudad, G., Werner, A., Bornhardt, C., Muñoz, C. e Antileo C., (2006), Differential Kinetics of Ammonia-and Nitrite-Oxidizing Bacteria: A Simple Kinetic Study Based on Oxygen Affinity and Proton Release during Nitrification, *Process Biochem.*, **41**, 1764-1772.

Consórcio AMBIO/CHIRON/PROFABRIL/DRENA/HLC/FBO, (2001), Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lis, Instituto da Água, Direcção Regional do Ambiente do Centro.

Cooper, A.B., (1984), Activities of Benthic Nitrification in Streams and their Role in Oxygen Consumption, *Microb. Ecol.*, **10**, 317-334.

Contois, D.E., (1959), Kinetics of Bacterial Growth, Relationships between Population Density and Specific Growth of Continuous Culture, *J. Gen. Microbiol.*, **21**, 40-46.

Daims H., Brühl A., Amann R., Schleifer K.-H. e Wagner M., (1999), The Domain-Specific Probe EUB338 is Insufficient for the Detection of all Bacteria: Development and Evaluation of a more Comprehensive Probe Set, *Syst. Appl. Microbiol.*, **22**, 434-444.

Daims H., Nielsen J.L., Nielsen P.H., Schleifer K.H. e Wagner M., (2001a), In Situ Characterization of Nitrospira-Like Nitrite-Oxidizing Bacteria Active in Wastewater Treatment Plants, *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 5273-5284.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de Agosto, 1998.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de Agosto, 2007.

Diário da República Portuguesa. Decreto-Lei n.º 209/90 de 10 de Setembro, 1990; Portaria nº 810/90.

Fazi, S., Amalfitano, S., Pizzetti, I. e Pernthaler, J., (2007), Efficiency of Fluorescence *in Situ* Hybridization for Bacterial Cell Identification in Temporary River Sediments with Contrasting Water Content, *Sys. Appl. Microbiol.*, **30**, 463-470.

Fdz-Polanco, F., Villaverde, S. e Garcia, A., (1994), Temperature Effect on Nitrifying Bacteria Activity in Biofilters: Activation and Free Ammonia Inhibition, *Wat. Sci. Tech.*, **30**, 121-130.

Gee, C.S., Suidan, M.T. e Pfeffer, J.T., (1990), Modeling of Nitrification under Substrate-Inhibiting Conditions, *J. Environ. Eng.*, **116**, 18-31.

Gee, C.S., Pfeffer, J.T. e Suidan, M.T., (1990), *Nitrosomonas* and *Nitrobacter* Interactions in Biological Nitrification, *J. Environ. Eng.*, **116**, 4-17.

Gernaey, A.K., Bogaert, H., Vanrolleghem, P., Massone, A., Rozzi, A. e Verstraete, W., (1998), A Titration Technique for On-Line Nitrification Monitoring in Activated Sludge, *Water Sci. Technol.*, **37**, 103-110.

Gernaey, A.K., Petersen, B., Ottoy, J.P. e Vanrolleghem, P., (2001), Activated Sludge Monitoring with Combined Respirometric-Titrimetric Measurements, *Water Res.*, **35**, 1280-1294.

Gieseke, A., Bjerrum, L., Wagner, M. e Amann, R., (2003), Structure and Activity of Multiple Nitrifying Bacterial Populations Co-existing Biofilm, *Environ. Microbiol.*, **5**, 355-369.

Gray, N.F., (1992), *Biology of Wastewater Treatment*, Oxford University Press. New York, US.

Gujer, W., (1977), Discussion of Nitrification in Natural Streams, by M. K. Bansal, *J. Water Pollut. Contr. Fed.*, **49**, 873-874.

Hagopian, D.S. e Riley, J. G., (1998), A Closer Look at the Bacteriology of Nitrification, *Aquacult. Eng.*, **18**, 223-244.

Hao, X. e Martinez, J., (1998), Removing Nitrate and Ammonium from Drainage Water by Simulation of Natural Biological Processes, *Wat. Res.*, **32**, 936-943.

Hovanec, T.A. e DeLong, E.F., (1996), Comparative Analysis of Nitrifying Bacteria Associated with Freshwater and Marine Aquaria, *Appl. Env. Microbiol.*, **62**, 2888-2896.

Huang, C.-S. e Hopson, N.E., (1974), Nitrification Rate in Biological Process, *J. Environ. Eng. Div.*, **100**, 409-422.

Hunik, J.H., Tramper, J. e Wijffels, R.H., (1994), A Strategy to Scale up Nitrification Processes with Immobilized Cells of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter agilis*, *Bioprocess. Eng.*, **11**, 73-82.

INE, Recenseamento Geral da Agricultura, (1999), Ribatejo e Oeste, Instituto Nacional de Estatística Portugal, www.ine.pt.

Jianlong, W. e Ning, Y., (2004), Parcial Nitrification under Limited Dissolved Oxygen Conditions, *Process Biochem.*, **39**, 1223-1229.

Juretschko S., Timmermann G., Schmid M., Schleifer K.H., Pommerening-Röser A., Koops H.P. e Wagner M., (1998), Combined Molecular e Conventional Analyses of Nitrifying Bacterium Diversity in Activated Sludge: *Nitrosococcus mobilis* e *Nitrospira*- Like Bacteria as Dominant Populations, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 3042-3051.

Kepner R.L., Jr. e Pratt J.R., (1994), Use of Fluorochromes for Direct Enumeration of Total Bacteria in Environmental Samples: Past and Present, *Microbiol. Rev.*, **58**, 603-615.

Kim D-J., Lee D-I e Keller, J., (2006), Effect of Temperature and Free Ammonia on Nitrification and Nitrite Accumulation in Landfill Leachate and Analysis of Its Nitrifying Bacterial Community by FISH, *Bioresour. Technol.*, **97**, 459-468.

Kim D-J. e Kim S-H., (2006), Effect of Nitrite Concentration on the Distribuition and Competition of Nitrite-Oxidizing Bacteria in Nitratation Reactor Systems and their Kinetic Characteristics, *Water Res.*, **40**, 887-894.

Koops, H.P. e Pommerening-Röser, A., (2001), Distribution and Ecophysiology of the Nitrifying Bacteria Emphasizing Cultured Species, *FEMS Microbiol. Ecol.*, **1225**, 1-9.

Laanbroek H.J. e Gerards, S., (1993), Competition for Limiting Amounts of Oxygen between *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter winogradskyi* Grow in Mixed Continuous Cultures, *Arch. Microbiol.*, **159**, 453-459.

Langergraber, G., Wuchty, M., Fleischmann, N e Lechner, M., (2003), Rapid Automated Detection of Nitrification Kinetics Using Respirometry, *Water Sci. Technol.*, **47**, 149-155.

Larson, R.J., (1980), *Role of Biodegradation Kinetics in Predicting Environmental Fate. In Biotransformation and Fate of Chemicals in the Aquatic Environment*, Ed. by Moki, A.W., Dikson, K.L. & Cairns, J., pp 67-86, American Society for Microbiology: Washington.

Larson, R.J., (1983), Comparison of Biodegradation Rates in Laboratory Screening Studies with Rates in Natural Waters, *Res. Rev.*, **85**, 159-171.

Larson, R.J. e Payne, A.G., (1981), Fate of the Benzene Ring of Linear Alkilbenzene Sulfonate in Natural Waters, *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 621-627.

Liu, S., 2004, *Nitrification Investigation and Modeling in the Chloraminated Drinking Water distribution System*, Ph. D. Thesis, in the Department of Civil and Environmental Engineering Department in the College of Engineering and Computer Science at the University of Central Florida.

Logue, J.B., Bürgmann, H. e Robinson, C., (2008), Progress in the Ecological Genetics and Biodiversity of Freshwater Bacteria, *BioScience*, **58**, 111.

Maixner F., Noguera D. R., Anneser B., Stoecker K., Wegl G., Wagner M. e Daims H., (2006), Nitrite Concentration Influences the Population Structure of Nitrospira-like Bacteria, *Environ. Microbiol*., **8**, 1487-1495.

Manz W., Amann R., Ludwig W., Wagner M. e Schleifer K. H., (1992), Phylogenetic Oligonucleotide Probes for the Major Subclasses of *Proteobacteria*: Problems and Solutions, *Syst. Appl. Microbiol.*, **15**, 593-600.

Matsuzawa Y. e Yoshikawa K., (1994), Change of the Higher Order Structure in a Giant DNA Induced by 4',6-Diamidine-2-phenylindole as a Minor Groove Binder and Ethidium Bromide as an Intercalator, *Nucleosides Nucleotides*, **13**, 1415-1423.

Matulewich, V.A., Strom, P.F. e Finstein, M.S., (1978), Distribution of Autotrophic Nitrifying Bacteria in a Polluted River, *Appl. Environ. Microbiol.*, **35**, 67-71.

Mauret, M., Paul, E., Puech-Costes, E., Maurette, M.T. e Baptiste, P., (1996), Application of Experimental Research Methodology to the Study of Nitrification in Mixed Culture, *Wat. Sci. Tech.*, **34**, 245-252.

McCutcheon, S., (1987), Laboratory and in-Stream Nitrification Rates for Selected Streams, *J. Environ. Eng.*, **113**, 628-646.

Metcalf & Eddy, 2003, *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*, Fourth Edition, McGraw-Hill, Inc., New York.

Mobarry B.K., Wagner M., Urbain V., Rittmann B.E. e Stahl D.A., (1996), Phylogenetic Probes for Analyzing Abundance and Spatial Organization of Nitrifying Bacteria, *Appl. Environ. Microbiol*., **62**, 2156-2162.

Monod, J., (1949), The Growth of Bacterial Cultures, *Annu. Rev. Microbiol.*, **3**, 371-394.

Moore, E.R.B., Mau, M., Arnscheidt, A., Böttger, E.C., Hutson, R.A., Collins, M.D., Van de Peer, A., Wachter, R. e Timmis, K.N., (1996), The Determination and Comparation of the 16S rRNA Gene Sequences os Species of the Genus Pseudomonas (sensu strictu) and Estimation of the Natural Intrageneric Relationships, *Syst. Appl. Microbiol.*, **1515**, 1-15.

Moter, A. e Gobel, U.B., (2000), Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) for Direct Visualization of microorganisms, *J. Microbiol. Methods*, **41**, 85-112.

Nenov, V. e Kamenski, D., (2004), Model Based Study of the First Stage of Biological Nitrification (NH_4^+ oxidation to NO_2^-), Environ. Modell. Software, **19**, 517-524.

Nogueira, R, Melo L.F., Purkhold U., Wuertz S. e Wagner M., (2002), Nitrifying and Heterotrophic Population Dynamics in Biofilm Reactors: Effects of Hydraulic Retention Time and the Presence of Organic Carbon, *Water Res.*, **36**, 469-481.

Nogueira, R., 2002, *Biofilmes Nitrificantes: Estudo da Cinética e da Dinâmica de Populações em Reactores de Leito Circulante*, Tese de Doutoramento, Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho.

Nüebel, U., Engelen, B., Felske, A., Snairdr, J., Wieshuber, A., Amann, R.I., Ludwing, W. E Backhaus, H., (1996), Sequence Heterogeneities of Genes Enconding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by Temperature Gradient Gel Electrophoresis, *J. Bacteriol.*, **178**, 5636-5643.

O' Conner, D.J., (1967), The Temporal and Spatial distribution of Dissolved Oxygen in Streams, *Water Resour. Res.* **3**, 65-78.

Okabe, S., Satoh, H. e Watanabe, Y., (1999), *In Situ* Analysis of Nitrifying Biofilms as Determined by *In Situ* Hybridization and the Use Microelectrodes, *Appl. Environ Microbiol.*, **65**, 182-191.

Painter, H.A., (1970), A Review of Literature on Inorganic Nitrogen Metabolism in Microorganisms, *Water Res.*, **4**, 393-450.

Pauer, J.J. e Auer, M.T., (2000), Nitrification in the Water Column and Sedinent of a Hypereutrophic Lake and Adjoining River System, *Water Res.*, **34**, 1247-1254.

Prosser, J.I., (1989), Autotrophic nitrification in Bacteria, *Adv. Microb. Physiol.*, **30**, 125-181.

Pyle B.H., Broadaway S.C. e McFeters G.A., (1995), A Rapid, Direct Method for Enumerating Respiring Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in Water, *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 2614-2619.

Quiroga, J.M. e Sales, D., (1991), Surfactant Biodegradation in Sea Water, *Tenside Surfactants Detergents*, **28**, 200-203.

Quiroga, J.M., Perales, J.A., Romero, L.I. e Sales, D., (1999), Biodegradation Kinetics of Surfactants in Seawater, *Chemosphere*, **39**, 1957-1969.

Rittmann, B.E. e McCarty, P.L., (1980), Model of Steady-State-Biofilm Kinetics. *Biotechnol. Bioeng.*, **22**, 2343-2357.

Romero, L.I., (1991), *Desarrollo de um Modelo Matemático General para los Processos Fermentivos: Cinética de la Degradação anaerobia*, Ph.D. Thesis, Universidad de Cádiz (Spain), Cádiz.

Saby S., Sibille I., Mathieu L., Paquin J.L. e Block J.C., (1997), Influence of Water Chlorination of the Counting of Bacteria with DAPI (4',6-diamidine-2-phenylindole), *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 1564-1569.

Sekar, R., Pernthaler, A., Warnecke, F., Posch, T. E Amann, R., (2003), An Improved Protocol for Quantification of Freshwater *Actinobacteria* by Fluorescence *In Situ* Hybridization, *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 2928-2935.

Sharma, B. e Ahlert, R., (1977), Nitrification and Nitrogen Removal, *Wat. Res.*, **11**, 897-925.

Schramm, A., Beer, D., Wagner, M. e Amann, R., (1998), Identification and Activities *in situ* of Nitrosospira e Nitrospira spp. As Dominant Populations in a Nitrifying Fluidized Bed Reactor, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 3480-3485.

Schramm, A., Beer, D., Heuvel, J.C., Ottengraf, S. e Amann, R., (1999), Microscale Distribution of Populations and Activities of Nitrosospira e Nitrospira spp. Along a Macroscale Gradient in a Nitrifying Bioreactor: Quantification by *in situ* Hybridization and the Use of Microelectrode, *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 3690-3696.

Scott, J.A. e Abumoghli, I., (1995), *Modelling Nitrification in the River Zarkan of Jordan*, Water Res., 29, 1121-1125.

Smorczewski, W.T. e Schmidt, E.L., (1991), Numbers, Activities, and Diversity of Autotrophic Ammonia-oxidizing Bacteria in a Freshwater, Eutrophic Lake Sediment, *Can. J. Microbiol.*, **37**, 828-833.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, (1998), APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association) e WEF (Water Environment Federation), 20th ed., eds Greenberg, A.H., Clesceri, L.S. e Eaton, A.D., APHA; Washington, DC.

Stratton, F.E. e McCarty, P.L., (1967), Prediction of Nitrification Effects on the Dissolved Oxygen Balance of Streams, *Environ. Sci. Technol.*, **1**, 405-410.

Suzuki, I., Dular, U. e Kwok, S.C., (1974), Ammonia or Ammonium Ion as Substrate for Oxidation by *Nitrosomonas europaea* Cells and Extracts, *J. Bacteriol.*, **120**, 556-558.

Villaverde, S., Garcia-Ensina, P. e Lacalle, M.L., (2001), Nitrification-Denitrification of UASB Efluents Highly Loaded with Nitrogen in an Actived Sludge Reactor Operated with Short Cycled Aeration. *Water Sci. Technol.*, **44**, 279-286.

Watson, S.W., Bock, E., Harms, H, Koops, H.P. e Hooper, A.B., (1989), Nitrifying Bacteria, em: Staley, J.T., Bryant, M.T., Pfenning, N.e Holt, J.H. (Eds.), *Bergey's manual of Sistematic Bacteriology*, vol.3, 1808-1834. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.

Wilczac, A., Jacangelo, J.G., Marcinko, J.P., Odell, L.H., Kirmeyer, G.J. e Wolfe, R.L., (1996), Occurrence of Nitrification in Chloraminnated Distribution Systems. *J. Amer. Water Works Assoc.*, **88**, 74-85.

Watson, S.W., Bock, E., Harms, H., Koops, H.P. e Hooper, A.B., (1989), *Nitrifying Bacteria*, In: J.T. Staley, M.P. Bryant, N. Pfenning, e J.G. Holt (Eds.), Bergy's Manual of Systematic Bacteriology, **vol. 3**, 1808-1834, Williams & Wilkins, Baltimore.

Wezernak, C.T. e Gannon, J.J., (1967), Oxygen-Nitrogen Relationships in Autotrophic Nitrification, *Appl. Microbiol.*, **15**, 1211-1215.

Woese, C.R., (1987), Bacterial Evolution, *Microbiol. Rev*., **51**, 221-271.

Ye, R.W. e Thomas, S.M., (2001), Microbial Nitrogen Cycles: Physiology, Genomics and Aplication, *Curr. Opin. Microbiol.*, **4**, 307-312.

Yoon, H.J. e Kim, D.J., (2003), Nitrification and Nitrite Accumulation Characteristics of High Strength Ammonia Wastewater in a Biological Aerated Filter, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **78**, 377-383.

Xia, X.H., Yang, Z.F., Huang, G.H., Zhang, X.Q., Yu, H. e Rong, X., (2004), Nitrification in Natural Waters with High Suspended-Solid Content- A Study for the Yellow River, *Chemosphere*, **57**, 1017-1029.

6. Conclusões e Sugestões de Trabalho Futuro

6.1 Conclusões

A bacia hidrográfica do rio Lis, apesar da sua pequena dimensão, é uma das mais conhecidas pela publicitação de que tem sido alvo devido aos frequentes “desastres ecológicos” que se têm manifestado essencialmente através da morte de peixes no troço do rio Lis entre Leiria e a praia de Vieira de Leiria, de relevante utilização turística e de lazer. Ao longo desse troço localiza-se uma das mais antigas regiões hidroagrícolas do país que utiliza água para rega directamente do rio. Também a cidade de Leiria é parcialmente abastecida a partir de uma captação directa no rio Lis, localizada a montante da cidade. De realçar todo o potencial paisagístico dos rios Lena e Lis, principalmente nos centros das cidades de Leiria, Batalha e Porto de Mós, as quais devem proporcionar um ecossistema estável, limpo e sustentável.

Na área geográfica da bacia do rio Lis coexistem diversas actividades industriais, algumas delas concentradas em determinados concelhos e freguesias. Das linhas de água da bacia, destaca-se o rio Lena, sujeito a poluição, uma vez que nas freguesias em seu redor existem actividades potencialmente poluentes como é o caso da indústria das bebidas, da produção de óleos vegetais e animais e suiniculturas, a ribeira dos Milagres, igualmente alvo de fortes pressões essencialmente derivadas da localização de um grande número de suiniculturas e o colector de Amor que recebe as linhas de água provenientes das freguesias mais industrializadas da bacia. Para além dos riscos de poluição de origem industrial e

agro-industrial, existem também os riscos de poluição de origem doméstica, neste caso associados às descargas das ETARs municipais, tendo em consideração a eventualidade de avarias ou interrupções no seu funcionamento. Para além do insuficiente nível de drenagem e tratamento de efluentes na maioria dos concelhos, as situações mais precárias estarão associadas à baixa capacidade de carga dos meios receptores e, consequentemente, a uma exigência de níveis de tratamento mais elevados nas ETARs.

As águas superficiais da bacia hidrográfica do rio Lis apresentam problemas graves de poluição associados essencialmente a contaminação orgânica (CQO, CBO_5), nutrientes (azoto amoniacal, azoto orgânico, nitritos e nitratos e fósforo total) e contaminação fecal, nomeadamente no troço mais a jusante, após as afluências do rio Lena e ribeira dos Milagres. O colector de Amor também contribui com uma carga significativa de matéria orgânica, fósforo e coliformes fecais. O rio Lena apresenta os maiores problemas de qualidade da água na zona da Batalha e sofre uma ligeira melhoria no troço mais a jusante (Mil Homens - Ponte das Mestras). Em relação à qualidade ecológica da água, os afluentes, rio de Fora, ribeira do Sirol e rio Lena, apresentam uma qualidade das águas duvidosa, com evidentes efeitos de contaminação.

A análise estatística multivariada aplicada aos parâmetros de qualidade da água obtidos em 6 campanhas de amostragem permitiu concluir que a origem de poluição na bacia do Lis é maioritariamente pontual, devida à descarga de efluentes domésticos, pecuários e industriais. A contribuição associada a fenómenos naturais como variações no clima, precipitação e tipo de solos e às características geomorfológicas da bacia e poluição difusa é menos significativa.

A análise grupal, considerando as estações de amostragem do rio Lis, mostra uma nítida distinção entre o grupo de estações situadas a montante (Fontes, Ponte dos Caniços, Arrabalde) e as estações situadas a jusante das confluências dos principais afluentes (Ponte das Necessidades, Ponte Metálica e Ponte da Bajanca), o que revela a importância da carga poluente associada ao rio Lena, ribeira dos Milagres, colector de Amor e rio de Fora. A análise grupal efectuada à sub-bacia do rio Lena define três grupos de estações: as estações situadas mais a jusante do rio Lena (Ponte Mil Homens, Ponte das Mestras e Lena), a estação Batalha (o troço mais poluído do rio Lena está na área abrangida por esta estação), a jusante da cidade, e a estação situada próximo da nascente do rio Lena (Porto de Mós), que corresponde a uma zona pouco poluída.

O modelo QUAL2Kw mostrou ser uma ferramenta adequada para a previsão da qualidade da água nos cenários considerados. Os resultados da modelação matemática provaram que a calibração foi eficiente na previsão da qualidade da água do rio Lis, que apresenta os mais graves problemas de poluição no troço mais a jusante, a partir das entradas do rio Lena, ribeira dos Milagres e colector de Amor, não cumprindo os objectivos ambientais de qualidade mínima para águas superficiais, nomeadamente em termos de oxigénio dissolvido, CBO_5 e azoto total. Os valores de coliformes fecais também estão acima dos valores admissíveis para fins balneares, com especial preocupação para a foz do rio (Praia da Vieira de Leiria). Com base nos resultados obtidos e nas previsões da modelação matemática, conclui-se que é necessário tomar medidas correctivas a curto prazo para melhorar a qualidade das águas do rio Lis, de forma a manter o equilíbrio saudável do ecossistema aquático. Essas medidas passam pela diminuição da carga pontual descarregada no rio, nomeadamente a de efluentes não tratados, incidindo, em particular, no aumento da percentagem de atendimento da população servida por drenagem e tratamento de efluentes domésticos e na implementação de uma sistema de tratamento dos efluentes suinícolas. O arejamento artificial do rio e o aumento do caudal no período de Verão, à custa da armazenagem de água nos períodos de maior caudal, podem ser considerados como medidas complementares que contribuiriam para a melhoria da qualidade das águas.

O estudo do processo de nitrificação e de degradação da matéria orgânica nas águas contaminadas da ribeira dos Milagres demonstrou a capacidade do sistema em converter biologicamente o azoto amoniacal, extremamente tóxico para a vida aquática, em nitratos. Relativamente à dinâmica da população microbiana, foi identificada a presença de bactérias nitrificantes do género *Nitrosomonas,* pertencentes à subclasse *ß-proteobacterias,* e *Nitrospira*, pertencentes ao *phylu*m *Nitrospira*. Foram ainda identificadas *α-proteobacterias e γ-proteobacterias.* As cinéticas de biodegradação de matéria orgânica e nitrificação foram estudadas recorrendo ao modelo matemático proposto por Quiroga-Sales cujos resultados descrevem satisfatoriamente a degradação da matéria orgânica, considerando o carbono orgânico dissolvido e o consumo de azoto amoniacal no bioreactor. A velocidade de degradação do amónio é superior à velocidade de degradação da matéria orgânica (COD) de acordo com os valores obtidos para a velocidade específica máxima de crescimento dos microrganismos envolvidos.

Os processos de biológicos naturais que ocorrem em águas muito poluídas desempenham um papel fundamental na capacidade de autodepuração desses sistemas. Com base na teoria e nos

resultados apresentados ao longo deste estudo, pode-se concluir que a nitrificação é um processo biológico fundamental na remoção de azoto amoniacal e nitrito.

Em relação ao estudo da qualidade dos sedimentos, o procedimento de extracção sequencial de referência BCR mostrou-se uma ferramenta útil, relativamente rápida e pouco dispendiosa para avaliar o risco de mobilidade dos metais dos sedimentos para o meio aquático. A distribuição dos diferentes metais estudados, pelas diferentes fracções que compõem os sedimentos, reflecte alguns problemas associados a contaminação crónica de origem antropogénica, em alguns locais da bacia hidrográfica do rio Lis. Apesar da variação dos teores pseudototais de alguns metais nas diferentes campanhas de amostragem, não foram observadas diferenças significativas na distribuição dos metais. Verificou-se que os metais presentes em maior percentagem na fracção permutável/ácido solúvel (facilmente mobilizável) foram o zinco e o manganês. Relativamente aos restantes elementos metálicos (Pb, Cu, Cr e Ni, Fe e Al), as concentrações nesta fracção são, em geral, baixas. As fontes antropogénicas de poluição são dominantes para a contaminação dos sedimentos no colector de Amor (Zn e Cu), no rio Lis, em Olhalvas, (Cr) e na ribeira dos Milagres (Zn e Cu). As concentrações encontradas nas fracções mais mobilizáveis estão acima dos critérios de qualidade mínima de sedimentos para os metais citados. A contaminação pelos vários metais, tendo em conta a quantidade de metal presente na fracção permutável/ácido solúvel, decresce do seguinte modo: Mn>Zn>Al>Fe>Cu>Pb > Cr> Ni.

6.2 Sugestões para Trabalho Futuro

Aproveitando a experiência adquirida, poderá ser interessante, no futuro, dar continuidade a este trabalho, na perspectiva de esclarecer alguns aspectos e complementar os resultados e conclusões obtidas. Nesse sentido, sugere-se o seguinte:

a) Calibrar o modelo QUAL2Kw para o rio Lis com os dados obtidos nos restantes períodos monitorizados e aplicá-lo ao caso particular do rio Lena, que foi monitorizado em 5 locais diferentes.

b) Implementar um programa de monitorização para avaliar a qualidades das águas do rio Lis, nomeadamente nos troços mais a jusante, após a entrada em funcionamento do subsistema de saneamento Norte, situado na freguesia de Coimbrão, a montante

da estação de amostragem Ponte da Bajanca. Este sistema foi projectado para a recepção e tratamento de efluentes domésticos (220 685 e. p.) e efluentes suinícolas (280 m^3 d^{-1}).

c) Avaliar, a mais longo prazo, o efeito da entrada em funcionamento do sistema integrado de tratamento de efluentes das suiniculturas, com uma capacidade de cerca de 1 500 m^3 d^{-1} e que está actualmente em fase de avaliação de impacte ambiental.

d) Identificar as formas em que se apresentam os metais tóxicos nos sedimentos de locais que revelaram maior preocupação nomeadamente pelo conteúdo de Cr, Zn, Cu e Pb, através de estudos de especiação.

e) Estudar a comunidade biológica nitrificante ao nível do género e da espécie, nomeadamente para as bactérias *Nitrobacter* e determinar a proporção de bactérias *Nitrospira*/*Nitrobacter*.

f) Calibrar o modelo de nitrificação para maiores concentrações de amónia e diferentes temperaturas e verificar o seu efeito nos parâmetros cinéticos e na população microbiana.

A. Caracterização da Bacia Hidrográfica do Rio Lis

A.1 Desastres ecológicos noticiados

Efluentes de suiniculturas geram polémica em Amor (Jornal de Leiria 2007)

Helena Simão

A decisão ainda não foi tomada, mas já está a gerar contestação. A Junta de Freguesia de Amor, em Leiria, está contra a construção de uma estação de tratamento de águas residuais na localidade, um dos três locais possíveis para a instalação da infra-estrutura, considerada crucial para resolver os problemas de poluição da bacia do rio Lis, causados pelas suiniculturas. David Neves, presidente da Recilis, empresa responsável pela gestão do projecto, garante que o estudo de impacte ambiental, que se encontra em elaboração, "dará a resposta final". O tesoureiro da Junta lamenta, por outro lado, ter sido informado sobre o assunto por "portas travessas". "Foi a população que nos veio avisar porque havia movimentações por causa de terrenos", contou Daniel Almeida, ao JN. Os responsáveis tentaram, então, junto da SIMLIS (empresa multimunicipal que gere o saneamento da bacia do rio Lis) perceber o que se passava. "Garantiram-nos que nada seria decidido contra a população, mas já fomos apanhados de surpresa uma vez", garante. Daniel Almeida defende-se, dizendo que "Amor não produz efluentes de suiniculturas". "Já somos demasiado sacrificados. Estamos a ficar sem acessibilidades e fazemos fronteira com a zona urbana de Leiria. Sentimos que nos querem tirar a qualidade de vida", critica. Sem respostas, o tesoureiro assegura que a Junta não vai ficar de braços cruzados. Para já, adianta, o executivo vai aguardar, mas se o processo for concluído sem que a Junta seja devidamente contactada, os elementos eleitos ponderam "entregar a chave" "Não ficamos cá a fazer nada". O presidente da Recilis explica que são três os locais possíveis para a localização da ETAR dos Milagres Marrazes, Ortigosa e Amor. David Neves admite que a última hipótese é, do ponto de vista da empresa, "a mais viável porque reúne condições excelentes", mas frisa que caberá ao estudo concluir sobre qual a melhor localização. Até ao final da próxima semana, essa fase ficará concluída, revela, iniciando-se a partir daí um período de discussão pública. Lembra David Neves que o projecto assume "uma importância extrema para a região" e que não pretende "criar mais problemas".

DESCARGA POLUENTE

Praia da Vieira interditada

Agência Lusa (14:42 / 15 de Junho 03)

A praia da Vieira, na costa de Leiria, foi hoje interditada pelos bombeiros devido a uma descarga poluente de uma suinicultura que deverá atingir o mar a partir do meio da tarde, disse à Lusa o vice-presidente da Câmara local.

De acordo com Armando Constâncio, a descarga de uma exploração de suinicultura no rio Lis ocorreu pelas 6:00 desta madrugada.

Os serviços municipais decidiram suspender os banhos na praia como medida de precaução, apesar de se prever que os «milhares de metros cúbicos de dejectos» só cheguem ao mar ao final da tarde.

Só depois da maré-alta, ás 16:00 é que «a porcaria vai chegar à praia», explicou o autarca, indignado com o facto de «toda a gente saber o perigo que são as suiniculturas e ninguém

fazer nada».

«Já contactámos várias entidades oficiais mas nunca tivemos qualquer resposta», lamentou.

Os bombeiros estão a aconselhar as pessoas a não irem ao banho e muitos populares decidiram abandonar a praia.

Não há Milagres na ribeira

Agência Lusa (15:34 / 25 de Julho 03)

Uma nova descarga de efluentes suinícolas na ribeira dos Milagres, em Leiria, surpreendeu hoje os residentes. A GNR de Leiria, que esteve no local, confirmou a apresentação de uma queixa de uma nova descarga suinícola. Não foram identificados quaisquer suspeitos.

A Ribeira dos Milagres não faz jus ao nome. Cerca das 22:00 de quinta-feira foi identificada uma nova descarga de efluentes suinícolas. A GNR e o Ministério do Ambiente estiveram no local.

Esta manhã a cor escura e o cheiro intenso da ribeira dos Milagres era bem visível, conta a Lusa. Os populares não poupam críticas ao comportamento de alguns suinicultores, que ignoram os problemas ambientais causados.

A descarga de hoje também surpreendeu os serviços da Câmara de Leiria, que enviaram alguns técnicos ao terreno para tentar encontrar os autores, explicou Neusa Magalhães, vereadora do Ambiente.

«Lamento que estas coisas continuem a acontecer, principalmente num momento em que tantos organismos estão empenhados em resolver o problema», afirmou. Esta responsável revelou ainda que houve uma reunião recentemente com empresários do sector para regularizar o espalhamento dos efluentes suinícolas (já secos) em terrenos agrícolas.

SUINICULTURAS

Risco de acidente ambiental em Leiria

Agência Lusa (22:26 / 05 de Maio 04)

As águas da ribeira do Sirol, no Rio Lis, correm o risco de ficar contaminadas devido às condições deficientes da Estação de Tratamento de Águas Residuais (ETAR) da Raposeira, alerta a Protecção Civil.

A Protecção Civil de Leiria está preocupada com a possibilidade de contaminação das linhas de água que vão dar à ribeira do Sirol, no Rio Lis, devido ao mau funcionamento da ETAR da Raposeira.

A GNR já tinha detectado rupturas na tela isolante da lagoa, o que indicia que uma catástrofe pode estar à vista.

O delegado municipal de Protecção Civil de Leiria, Nuno Cunha Lopes, admite que há risco de um acidente ambiental, que pode ter consequências idênticas às de Julho de 2003.

«Defendo que aquela lagoa seja esvaziada para retirarmos o factor de risco que neste momento está presente no local, uma vez que não existem constantes cuidados operacionais que permitam manter a lagoa em funcionamento», frisou.

Suinicultores garantem que risco será minimizado

A Associação de Suinicultores de Leiria garante que o risco vai ser minimizado e que a solução técnica definitiva ficará operacional em 2006. A decisão foi tomada, esta quarta-feira, numa reunião com o Governo, avançou David Neves, da associação.

«Em função daquilo que está neste momento determinado e previsto teremos soluções de tratamento a funcionar durante o primeiro trimestre de 2006», assegurou.

A associação admite no entanto que é impossível garantir que até 2006 não vão existir problemas relacionados com as explorações de suínos.

Nova descarga no rio Lis 05-04-2004 16:50 Portugal Diário

Foi descoberta uma descarga de efluentes suinícolas na ribeira dos Milagres. Populares que chamaram a GNR.

Uma descarga de efluentes suinícolas foi identificada esta segunda-feira à tarde na ribeira dos Milagres, em Leiria, por populares que chamaram a GNR para tentar encontrar o responsável.

De acordo com José Carlos Faria, representante da Comissão de Ambiente e de Defesa da Ribeira dos Milagres, em Leiria, a descarga ocorreu depois do almoço e terá sido causada por um tractor que despejou directamente sobre o curso de água.

«Não sabemos quem foi mas o cheiro e a cor da água provam que foi uma descarga de grandes dimensões», explicou José Carlos Faria.

De acordo com este morador na freguesia dos Milagres, as descargas costumam ocorrer durante a noite, mas nas últimas semanas têm aumentado de intensidade.

«Por volta da meia-noite é o momento pior, mas é impossível identificar o culpado porque os acessos são muito maus», explicou.

Fonte da GNR contactada pela Agência Lusa confirmou a presença de agentes no local, adiantando que os responsáveis não foram identificados.

Recentemente foi criada pelas autarquias e suinicultores da região a empresa RECILIS, que vai gerir todo o processo de saneamento do sector.

Até 2006, data em que o sistema deverá estar a funcionar, os suinicultores estão autorizados a fazer somente espalhamento nos terrenos de efluentes por tratar ou a realizar despejos pré-tratados em estações de tratamento próprias.

A região de Leiria tem cerca de 400 mil suínos, que produzem dejectos equivalentes aos gerados por 1,2 milhões de pessoas.

O rio Lis tem recebido sucessivas descargas ilegais de efluentes, situação que tem motivado o descontentamento das populações, autarcas e ambientalistas.

GNR já identificou "vários" autores de descargas suinícolas

Agência LUSA 2005-07-01 18:35:01

A GNR de Leiria já identificou alguns autores de descargas de efluentes suinícolas na ribeira dos Milagres, revelou a Câmara local hoje, no final de uma reunião onde foi acordado reforçar a fiscalização junto daquele curso de água.

Após uma "reunião de análise e balanço da situação", as autoridades informaram a autarquia que foram levantados "diversos autos pela GNR na sequência da identificação de vários autores de descargas poluentes", refere um comunicado da Câmara Municipal de Leiria.

De acordo com as informações da GNR, recolhidas pela autarquia, "para encontrar os prevaricadores foi determinante a limpeza efectuada naquele curso de água no ano de 2004", que custou 108 mil euros.

Contudo, "perante a continuada acção criminosa de alguns suinicultores, que põe em causa a qualidade de vida das populações e a qualidade das águas do rio Lis, foi resolvido reforçar a vigilância sobre a Ribeira dos Milagres", mobilizando os meios da Câmara, Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional do Centro, GNR e Recilis (empresa responsável pelo saneamento do sector).

Nesse sentido, "foi acordado um sistema de avisos, para que qualquer das entidades que tome conhecimento de descargas poluentes alerte as outras", permitindo que "as investigações possam ser mais eficientes", acrescenta o documento.

Além destas medidas de fiscalização, a autarquia apelou aos munícipes, "sobretudo aos que vivem mais próximo dos cursos de água", para que colaborem com "as entidades envolvidas nestas acções, junto das quais devem denunciar todas as situações anómalas que detectem".

"O sucesso da vigilância sobre a Ribeira dos Milagres depende, em primeira linha, da acção atempada das entidades fiscalizadoras", conclui o comunicado.

A ribeira dos Milagres tem recebido sucessivas descargas de efluentes suinícolas, um cenário que se mantém apesar dos esforços da Associação de Suinicultores de Leiria em promover um sistema de saneamento das explorações do sector.

No entanto, esse sistema só estará operacional em 2007 e até lá, as explorações suinícolas da região de Leiria, com capacidade para cerca de 300 mil porcos, têm autorizações apenas para fazer espalhamento de efluentes em terrenos agrícolas e água pré-tratada nos cursos de água.

Nova ETAR anunciada hoje em Leiria. Solução para suiniculturas de Leiria passa por Milagres 04.01.2006 - 09h00, Alexandra Barata (PÚBLICO)

A freguesia de Milagres, no concelho de Leiria, deverá ter em funcionamento uma Estação de Tratamento de Águas Residuais (ETAR) no segundo semestre de 2008. Uma obra que permitirá tratar os resíduos produzidos por cerca de 350 suiniculturas dos concelhos de Leiria, Batalha e Porto de Mós. O consórcio vencedor será anunciado hoje de tarde no Governo Civil de Leiria.

Um comunicado do Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional limita-se a adiantar que "a escolha da tecnologia para o tratamento deste tipo de efluentes recaiu sobre os processos de digestão anaeróbia com valorização energética do biogás gerado, uma energia renovável e com consequências positivas a nível da redução dos gases com efeito de estufa". Uma solução proposta por três dos oito consórcios em concurso, que tiveram ontem conhecimento dos resultados. O presidente da Recilis, David Neves, disse que a escolha do vencedor foi consensual e que a avaliação dos projectos se baseou em parâmetros técnicos, económicos e ambientais. O processo de digestão anaeróbia consiste no tratamento dos efluentes suinícolas através de bactérias que só vivem na ausência de oxigénio e que decompõem a matéria orgânica, permitindo separar as lamas, da "água suja" e do gás. As lamas serão tratadas por um processo semelhante à compostagem e produzirão um adubo parecido com o usado na agricultura. A "água suja" será tratada na ETAR dos Milagres e lançada num emissário da Simlis, juntamente com os esgotos domésticos, até entrar em funcionamento a ETAR do Norte. E o gás será canalizado para os motores de combustão e permitirão a produção de energia eléctrica.
"É um tratamento muito saudável pois converte o metano, que contribui para o efeito de estufa, em vapor de água e dióxido de carbono. Contribuímos 21 vezes menos para o efeito de estufa do que se o libertarmos para a atmosfera", assegura o engenheiro do ambiente Cláudio de Jesus. Segundo ele, a ETAR dos Milagres é a "melhor solução", pois permitirá tratar a totalidade dos efluentes das explorações suinícolas da região, já que terá capacidade para tratar 1500 metros cúbicos diários de efluentes, produzidos por 200 mil suínos - o equivalente

a 600 mil pessoas. Nesse sentido, fica para já adiada a construção de uma ETAR na Batalha, inicialmente prevista. David Neves disse que esta opção teve em conta a sustentabilidade económica do projecto, já que 85 por cento do caudal de efluentes a tratar se situa no concelho de Leiria. Satisfeito com o desfecho deste processo, o também presidente da Associação de Suinicultores de Leiria acredita que os resultados do modelo de gestão adoptado até então provam que, apesar das dificuldades económicas do sector, se deram passos positivos. "Há dois anos a ribeira dos Milagres era um esgoto a céu aberto. Hoje, temos descargas esporádicas. É certamente um dos afluentes do rio Lis mais limpo." A cerimónia de apresentação da melhor proposta será presidida pelo ministro do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, Francisco Nunes Correia, que irá anunciar o financiamento a fundo perdido de 30 por cento do projecto.

QUARTA-FEIRA, 18 DE JULHO DE 2007

Abaixo-assinado reclama fim de poluição suinícola no Rio Lis

Mais de três centenas de pessoas já subscreveram um abaixo-assinado distribuído na freguesia de Vieira de Leiria (Marinha Grande) e na Praia do Pedrógão (Leiria), que reclama o fim da poluição suinícola no Rio Lis.

“Não queremos o Rio Lis como uma ETAR (Estação de Tratamento de Águas Residuais)", refere o abaixo-assinado que foi distribuído por Armando da Luz Ferreira, um morador em Vieira de Leiria que espera contar com o empenho da população numa "causa que é de todos".

No abaixo-assinado, que vai ser enviado ao Presidente da República, ao primeiro-ministro, ao ministro do Ambiente e à Comissão Europeia, os subscritores assumem a "defesa do Rio Lis e seus afluentes" face aos vários problemas de poluição que se verificam. "Começámos a distribuir o abaixo-assinado no dia 13 e as pessoas estão a aderir", afirmou Armando da Luz Ferreira, que critica a impunidade dos autores das descargas poluidoras no rio.

"Todas as semanas há problemas (com poluição no rio), mas parece que ninguém se preocupa", desabafou Armando Ferreira, que teve a iniciativa de distribuir este abaixo-assinado para "mostrar a vontade das pessoas daqui em resolver o problema".

B. Qualidade das Águas Superficiais da Bacia Hidrográfica do rio Lis

B.1 Resultados Experimentais

Nas tabelas seguintes são apresentados os resultados obtidos nas 6 campanhas de amostragem realizadas para a totalidade dos parâmetros monitorizados.

Tabela B.1 Valores de caudais medidos (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) na campanha de Novembro de 2006

Estações de amostragem	Caudal ($m^3 s^{-1}$)
1	2,48
3	2,40
4	2,62
5	5,34[(a)]
6	6,75[(a)]
7	7,90[(a)]
8	0,51
9	0,90
10	1,81
11	1,14
12	1,14[(a)]
13	0,99
14	0,75
15	1,48
16	0,49
17	0,50

(a) Valores de caudais estimados de acordo com o descrito no Capítulo 3.

Tabela B.2 Valores de pH (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
pH	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	7,9±0,1	7,9±0,1	7,8±0,1	7,6±0,1	7,9±0,1	7,7±0,1	7,0±0,1	7,5±0,1	7,6±0,1	7,8±0,1	8,0±0,1	7,8±0,1	7,6±0,1	7,4±0,1	6,9±0,1	6,9±0,1
(2ª)	7,6±0,1	7,7±0,1	7,8±0,1	8,1±0,1	7,8±0,1	7,8±0,1	7,4±0,1	8,1±0,1	7,8±0,1	7,7±0,1	7,7±0,1	8,0±0,1	7,8±0,1	7,3±0,1	7,2±0,1	6,9±0,1
(3ª)	7,9±0,1	8,1±0,1	8,2±0,1	7,8±0,1	7,8±0,1	7,8±0,1	7,8±0,1	8,3±0,1	8,3±0,1	8,3±0,1	8,2±0,1	8,2±0,1	7,7±0,1	7,6±0,1	6,9±0,1	6,7±0,1
(4ª)	7,6±0,1	7,6±0,1	8,0±0,1	7,8±0,1	7,8±0,1	7,6±0,1	7,1±0,1	7,5±0,1	7,8±0,1	8,2±0,1	8,2±0,1	8,0±0,1	7,9±0,1	7,6±0,1	7,2±0,1	7,4±0,1
(5ª)	7,8±0,1	8,3±0,1	8,3±0,1	7,9±0,1	7,9±0,1	7,8±0,1	7,5±0,1	7,8±0,1	7,7±0,1	8,2±0,1	7,6±0,1	8,1±0,1	7,6±0,1	7,2±0,1	7,4±0,1	7,1±0,1
(6ª)	7,8±0,1	7,5±0,1	8,2±0,1	8,3±0,1	7,8±0,1	7,7±0,1	7,6±0,1	8,3±0,1	8,3±0,1	8,2±0,1	8,1±0,1	8,0±0,1	7,8±0,1	7,3±0,1	7,5±0,1	7,2±0,1

Tabela B.3 Valores de alcalinidade (pH 4,6) expressos em mg $CaCO_3$ L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
Alcal. (pH4,6)	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	236±2	219±2	215±2	229±2	225±2	196±1	220±2	348±3	318±2	234±2	245±2	183±1	193±1	150±1	27,5±0,5	84±1
(2ª)	260±2	259±2	256±2	257±2	241±2	202±1	431±4	243±2	255±2	252±2	240±2	201±1	167±1	119±1	40±1	44±1
(3ª)	251±2	212±2	224±2	226±2	202±1	91±1	214±2	251±2	259±2	261±2	254±2	202±1	165±1	116±1	34±1	25,0±0,5
(4ª)	249±2	228±2	224±2	229±2	208±1	168±2	203±1	258±2	258±2	268±2	235±2	196±1	220±2	110±1	34±1	74±1
(5ª)	232±2	232±2	234±2	272±2	259±2	240±2	206±1	328±2	333±3	334±3	258±2	257±2	187±1	176±1	48±1	48±1
(6ª)	240±2	242±2	230±2	280±2	255±2	210±2	250±2	284±2	297±2	330±3	254±2	200±1	178±1	158±1	37±1	45±1

Tabela B.4 Valores de temperatura, ºC (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
T	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	17,1±0,1	18,8±0,1	20,5±0,1	19,1±0,1	19,2±0,1	20,6±0,1	16,8±0,1	20,2±0,1	19,0±0,1	18,9±0,1	18,0±0,1	17,6±0,1	16,6±0,1	19,4±0,1	18,7±0,1	18,2±0,1
(2ª)	15,7±0,1	14,6±0,1	14,7±0,1	13,8±0,1	13,5±0,1	13,4±0,1	15,4±0,1	14,2±0,1	14,2±0,1	13,5±0,1	15,5±0,1	16,4±0,1	15,0±0,1	15,2±0,1	15,0±0,1	15,2±0,1
(3ª)	15,9±0,1	14,8±0,1	15±0,1	14,1±0,1	14,2±0,1	14,1±0,1	15,4±0,1	15,0±0,1	14,9±0,1	14,7±0,1	8,9±0,1	10,0±0,1	7,4±0,1	7,9±0,1	9,0±0,1	11,3±0,1
(4ª)	16,2±0,1	16,2±0,1	17,3±0,1	15,5±0,1	16,9±0,1	16,0±0,1	16,1±0,1	13,8±0,1	16,0±0,1	14,8±0,1	13,0±0,1	13,2±0,1	11,8±0,1	13,4±0,1	13,6±0,1	13,3±0,1
(5ª)	17,4±0,1	19,3±0,1	20,7±0,1	19,5±0,1	19,3±0,1	21,8±0,1	16,4±0,1	21,5±0,1	20,0±0,1	19,0±0,1	21,1±0,1	19,6±0,1	19,8±0,1	23,5±0,1	22,1±0,1	22,3±0,1
(6ª)	13,7±0,1	14,6±0,1	14,7±0,1	14,8±0,1	14,5±0,1	14,9±0,1	15,6±0,1	15,6±0,1	15,3±0,1	15,2±0,1	15,3±0,1	15,7±0,1	15,9±0,1	15,5±0,1	15,9±0,1	15,8±0,1

Tabela B.5 Valores de condutividade expressos em mS cm^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
C	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	535±10	471±10	548±10	986±22	1 156±35	1 044±30	526±10	1 352±25	955±20	818±18	809±15	399±8	507±10	614±12	256±8	1 309±37
(2ª)	450±10	476±10	475±10	501±10	499±10	744±15	382±8	486±10	517±10	475±10	572±10	391±10	536±10	477±10	251±8	602±12
(3ª)	469±10	410±10	424±10	531±10	516±10	815±18	335±8	440±10	462±10	483±10	542±10	360±10	442±10	443±10	255±8	306±8
(4ª)	477±10	495±10	439±10	670±15	642±10	737±15	347±8	665±13	760±15	768±18	582±10	361±10	447±10	348±10	201±8	1 312±37
(5ª)	520±10	542±10	578±10	1010±27	1 051±35	939±20	371±8	909±16	909±20	848±18	882±20	585±10	527±10	611±12	242±8	984±22
(6ª)	520±10	527±10	513±10	790±20	762±12	750±15	427±10	538±10	648±12	533±10	567±10	548±10	536±10	517±10	255±8	609±13

Tabela B.6 Valores de potencial de oxidação-redução expressos em mV (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
ORP	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	168±2	147±2	128±2	125±2	158±2	157±2	200±2	82±2	100±2	102±2	134±2	150±2	158±2	190±2	200±2	34±2
(2ª)	170±2	153±2	137±2	147±2	162±2	198±2	204±2	90±2	105±2	85±2	148±2	145±2	150±2	201±2	211±2	168±2
(3ª)	174±2	156±2	161±2	120±2	158±2	160±2	245±2	198±2	211±2	205±2	163±2	149±2	143±2	160±2	142±2	121±2
(4ª)	88±2	83±2	104±2	180±2	157±2	126±2	130±2	138±2	143±2	131±2	220±2	199±2	177±2	180±2	226±2	20±2
(5ª)	56±2	72±2	77±2	86±2	95±2	126±2	59±2	85±2	100±2	95±2	188±2	130±2	120±2	151±2	162±2	189±2
(6ª)	56±2	79±2	84±2	89±2	88±2	132±2	62±2	72±2	132±2	100±2	197±2	120±2	132±2	150±2	150±2	164±2

Tabela B.7 Valores de oxigénio dissolvido expressos em mg O_2 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
OD	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	7,6±0,3	7,0±0,3	7,4±0,3	3,7±0,3	3,0±0,3	6,2±0,3	5,8±0,3	0,6±0,1	3,9±0,3	5,8±0,3	6,4±0,3	7,7±0,3	5,1±0,3	5,0±0,3	5,1±0,3	5,1±0,3
(2ª)	9,6±0,3	9,2±0,3	9,4±0,3	8,9±0,3	7,0±0,3	8,4±0,3	9,1±0,3	9,8±0,3	9,9±0,3	10±0,3	8,2±0,3	8,5±0,3	7,5±0,3	4,8±0,3	8,1±0,3	5,6±0,3
(3ª)	8,6±0,3	9,6±0,3	9,2±0,3	8,6±0,3	7,3±0,3	8,7±0,3	9,5±0,3	9,7±0,3	9,6±0,3	10,2±0,3	10,5±0,3	9,6±0,3	11,4±0,3	7,7±0,3	11,0±0,3	5,9±0,3
(4ª)	7,5±0,3	8,3±0,3	8,5±0,3	7,2±0,3	5,4±0,3	7,2±0,3	7,1±0,3	6,7±0,3	7,2±0,3	10,4±0,3	10,5±0,3	9,6±0,3	8,6±0,3	3,7±0,3	9,6±0,3	6,1±0,3
(5ª)	6,6±0,3	6,5±0,3	7,8±0,3	4,4±0,3	3,6±0,3	4,6±0,3	6,0±0,3	4,3±0,3	5,7±0,3	8,9±0,3	5,5±0,3	7,6±0,3	5,1±0,3	0,6±0,3	6,4±0,3	3,9±0,3
(6ª)	6,8±0,3	7,4±0,3	9,2±0,3	7,8±0,3	4,6±0,3	5,2±0,3	6,4±0,3	9,1±0,3	7,9±0,3	8,9±0,3	7,9±0,3	8,8±0,3	9,1±0,3	3,4±0,3	7,8±0,3	10,2±0,3

Tabela B.8 Valores de turvação expressos em NTU (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
Turv.	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	1,5±0,1	9,8±0,3	10,3±0,3	10,1±0,4	20,0±0,6	17,7±0,3	0,89±0,05	60±1	4,1±0,1	4,9±0,1	5,5±0,2	5,1±0,1	10,2±0,3	8,1±0,3	9,8±0,3	63±1
(2ª)	10,3±0,3	22,8±0,6	25,2±0,4	36,3±0,5	60±1	43,1±0,9	2,0±0,1	5,9±0,1	10,8±0,3	15,9±0,3	199±2	105±2	128±2	38,6±0,6	60±1	16,9±0,3
(3ª)	9,5±0,3	25,6±0,6	46±1	60±1	41,5±0,9	39,1±0,6	2,8±0,1	25,3±0,6	43,6±0,9	64±1	13,4±0,3	10,6±0,3	15,8±0,5	15,1±0,3	12,9±0,3	9,9±0,3
(4ª)	3,9±0,1	7,7±0,3	7,1±0,3	7,4±0,3	9,8±0,3	26,2±0,6	0,9±0,05	4,0±0,1	1,5±0,1	2,3±0,1	4,6±0,1	9,5±0,3	33,7±0,6	21,1±0,5	6,5±0,1	22,6±0,3
(5ª)	2,1±0,1	8,1±0,3	6,1±0,3	5,5±0,3	30,0±0,6	28,0±0,6	1,6±0,1	15,0±0,3	11,0±0,3	6,8±0,2	3,3±0,1	2,6±0,1	26±0,6	13,2±0,3	12±0,3	33±0,5
(6ª)	3,8±0,1	18±0,6	12,8±0,4	12,5±0,3	45,0±0,9	23,4±0,3	1,0±0,1	12,5±0,3	14,4±0,3	7,2±0,2	9,5±0,3	3,2±0,1	22±0,6	14,8±0,3	10±0,3	22,0±0,3

Tabela B.9 Valores de sólidos suspensos totais expressos em mg L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
SST	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	1,9±0,3	12,4±0,3	12,3±0,3	8,1±0,3	20,6±0,3	15,7±0,3	0,7±0,1	47,8±0,3	3,8±0,3	4,5±0,3	5,7±0,3	3,9±0,2	12,3±0,3	7,1±0,3	9,7±0,3	55,6±0,3
(2ª)	8,4±0,3	19,0±0,3	21,4±0,3	39,2±0,3	73,5±0,3	46,0±0,3	1,5±0,3	11,9±0,3	23,2±0,3	30,8±0,3	164±1	110,2±0,6	114±1	27,6±0,3	43,8±0,3	12,5±0,3
(3ª)	6,5±0,3	30,5±0,3	29,3±0,3	36,5±0,3	32,6±0,3	28,0±0,3	2,1±0,3	21,5±0,3	54,4±0,4	106,9±0,4	12,7±0,3	8,8±0,3	15,6±0,3	12,8±0,3	23,5±0,3	13,7±0,3
(4ª)	3,3±0,3	8,4±0,3	9,9±0,3	10,0±0,3	33,5±0,3	12,2±0,3	0,6±0,1	4,8±0,3	2,2±0,3	2,4±0,2	10,8±0,3	10,5±0,3	37,0±0,3	20,2±0,3	9,1±0,3	26,6±0,3
(5ª)	1,8±0,3	10,1±0,3	7,2±0,3	5,4±0,3	33,0±0,3	27,0±0,3	1,9±0,3	20,0±0,3	18,0±0,3	12,0±0,3	6,9±0,3	6,6±0,3	22,4±0,3	18,0±0,3	9,8±0,3	31,0±0,3
(6ª)	4,6±0,3	12,0±0,3	8,3±0,3	2,5±0,3	15,3±0,3	30,3±0,3	1,3±0,3	38,0±0,3	6,0±0,3	24,0±0,3	19,1±0,3	8,1±0,3	41,5±0,3	23,0±0,3	10,2±0,3	22,5±0,3

Tabela B.10 Valores de CQO expressos em mg O_2 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
CQO	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	15±1	6,1±0,8	15±1	35±1	22±1	30±1	2,5±05	47±1	26±1	45±1	36±1	10±1	48±1	35±1	2,5±0,5	28±1
(2ª)	19±1	22±1	17±1	10±1	14±1	18±1	5,8±0,8	7,0±0,8	10±1	15±1	22±1	25±1	52±1	31±1	20±1	18±1
(3ª)	6±0,8	12±1	9±1	14±1	16±1	17±1	2,5±0,5	6,0±0,8	9±1	10±1	9±1	13±1	25±1	23±1	8,2±0,8	7±1
(4ª)	2,5±0,5	2,5±0,5	6,0±0,8	9±1	9±1	11±1	2,5±0,5	13±1	11±1	12±1	24±1	7,1±0,8	82±2	29±1	2,5±0,5	15±1
(5ª)	2,5±0,5	7,6±0,8	10±1	30±1	23±1	19±1	2,5±0,5	29±1	25±1	27±1	20±1	10±1	33±1	47±1	7,0±0,8	19±1
(6ª)	2,5±0,5	6,1±0,8	10±1	22±1	31±1	23±1	6,0±0,8	26±1	11±1	27±1	14±1	10±1	54±1	38±1	10±1	12±1

Tabela B.11 Valores de CBO_5 expressos em mg O_2 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
CBO_5	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	1,0±0,2	2,0±0,2	7,8±0,2	6,4±0,2	6,9±0,2	5,1±0,2	1,0±0,2	22,3±0,3	11,9±0,2	12,3±0,2	10,5±0,2	1,0±0,2	4,2±0,2	10,1±0,2	1,0±0,2	5,0
(2ª)	12±0,2	12,8±0,3	8,4±0,2	5,5±0,2	6,5±0,2	5,1±0,2	1,0±0,2	1,0±0,2	2,7±0,2	3,6±0,2	6,3±0,2	10,0±0,2	10,7±0,2	4,2±0,2	2,7±0,2	1,0±0,2
(3ª)	1,0±0,2	4,9±0,2	4,2±0,2	11,9±0,3	12,3±0,2	7,8±0,2	1,0±0,2	1,0±0,2	2,1±0,2	4,3±0,2	8,6±0,2	8,6±0,2	9,1±0,2	12,5±0,2	1,0±0,2	1,0±0,2
(4ª)	1,0±0,2	2,6±0,2	2,7±0,2	2,5±0,2	4,3±0,2	4,1±0,2	1,0±0,2	7,8±0,2	2,6±0,2	3,1±0,2	15,1±0,2	6,8±0,2	51,0±0,3	5,9±0,2	1,0±0,2	2,8±0,2
(5ª)	1,0±0,2	2,0±0,2	2,9±0,2	8,3±0,2	9,4±0,2	7,4±0,2	1,0±0,2	11,0±0,2	5,6±0,2	8,7±0,2	10,0±0,2	3,9±0,2	8,3±0,2	13,5±0,2	2,4±0,2	3,5±0,2
(6ª)	1,0±0,2	2,0±0,2	3,0±0,2	6,0±0,2	12,0±0,2	8,6±0,2	1,0±0,2	11,0±0,2	5,8±0,2	8,7±0,2	6,0±0,2	3,0±0,2	8,0±0,2	12,9±0,2	3,9±0,2	2,6±0,2

Tabela B.12 Valores de oxidabilidade expressos em mg O_2 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
Oxid.	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	1,0±0,1	2,4±0,2	4,4±0,2	1,0±0,1	1,9±0,2	1,9±0,1	0,5±0,1	3,2±0,2	6,2±0,2	6,6±0,2	4,4±0,1	1,6±0,1	16,0±0,3	7,2±0,2	3,2±0,1	10,0±0,2
(2ª)	1,2±0,1	2,4±0,2	2,4±0,1	3,8±0,2	4,7±0,2	5,8±0,2	1,3±0,2	2,0±0,1	2,1±0,1	5,1±0,2	12,0±0,2	15,0±0,3	19,0±0,3	16,2±0,3	13,0±0,2	13,0±0,3
(3ª)	1,0±0,1	4,6±0,2	4,0±0,2	6,1±0,2	7,3±0,2	9,1±0,2	0,8±0,1	4,2±0,2	4,6±0,1	7,2±0,2	7,2±0,2	5,3±0,2	14,0±0,2	16,1±0,3	5,7±0,2	6,6±0,2
(4ª)	0,8±0,1	2,0±0,2	2,1±0,1	4,5±0,2	5,8±0,2	6,3±0,2	0,5±0,2	4,9±0,2	4,2±0,1	4,7±0,2	6,1±0,2	5,2±0,2	22,7±0,3	11,5±0,3	5,2±0,2	8,9±0,2
(5ª)	0,7±0,1	2,5±0,1	2,6±0,1	7,4±0,2	9,3±0,2	8,0±0,2	0,5±0,1	9,7±0,2	7,7±0,1	7,4±0,2	6,6±0,2	3,1±0,1	13,0±0,2	14,3±0,2	3,9±0,2	9,3±0,2
(6ª)	0,5±0,1	2,8±0,2	3,2±0,1	3,9±0,2	8,8±0,2	6,0±0,2	0,5±0,1	2,2±0,1	3,2±0,1	6,8±0,2	6,2±0,2	2,2±0,1	19,8±0,3	13,9±0,2	3,9±0,2	8,5±0,2

Tabela B.13 Valores de carbono orgânico total expressos em mg C L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
COT	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	1,0±0,05	1,0±0,05	1,0±0,05	2,9±0,1	2,9±0,1	1,4±0,1	1,0±0,05	10,7±0,4	4,0±0,2	4,0±0,2	1,2±0,2	1,0±0,05	9,6±0,2	18,7±0,7	3,3±0,2	3,4±0,2
(2ª)	5,0±0,1	4,4±0,1	3,5±0,1	2,6±0,1	3,8±0,2	4,7±0,1	1,0±0,05	1,0±0,05	1,0±0,05	1,0±0,05	5,1±0,2	6,0±0,3	15,6±0,6	10,1±0,4	9,1±0,3	7,1±0,3
(3ª)	1,2±0,05	4,1±0,1	5,5±0,2	6,1±0,2	7,1±0,3	6,2±0,2	2,5±0,2	3,5±0,2	3,6±0,2	5,3±0,2	1,4±0,1	2,3±0,2	7,5±0,3	7,4±0,3	5,3±0,2	4,8±0,2
(4ª)	2,2±0,1	2,8±0,1	5,7±0,2	4,1±0,2	4,9±0,2	5,1±0,2	2,9±0,2	5,5±0,3	10,1±0,3	6,4±0,2	5,2±0,2	4,2±0,2	12,4±0,5	9,2±0,3	4,4±0,2	7,1±0,3
(5ª)	2,2±0,1	3,6±0,1	4,2±0,2	8,0±0,3	8,9±0,3	7,8±0,3	1,8±0,2	9,9±0,4	7,7±0,3	9,0±0,3	4,2±0,2	3,3±0,2	10,8±0,4	13,1±0,4	2,8±0,2	6,2±0,3
(6ª)	1,0±0,05	4,0±0,1	4,8±0,2	3,2±0,1	3,9±0,2	8,3±0,3	1,0±0,05	1,4±0,1	1,6±0,1	1,9±0,2	2,1±0,2	2,0±0,2	19,5±0,7	10,8±0,3	3,1±0,2	6,2±0,3

Tabela B.14 Valores de azoto orgânico expressos em mg N L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
N-orgânico	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	8±1	7±1	6±1	15±1	12±1	10±1	2±1	44±2	19±1	18±1	18±1	10±1	17±1	23±1	10±1	45±2
(2ª)	6±1	6±1	6±1	7±1	6±1	8±1	1±1	12±1	10±1	15±1	16±1	8±1	15±1	10±1	6±1	20±1
(3ª)	6±1	6±1	7±1	9,0±1	10±1	10±1	1±1	14±1	10±1	15±1	18±1	8±1	16±1	10±1	6±1	20±1
(4ª)	5±1	6±1	6±1	11±1	13±1	13±1	1±1	18±1	16±1	17±1	23±1	10±1	17±1	14±1	12±1	36±1
(5ª)	5±1	7±1	7±1	31±2	34±2	21±2	2±1	24±1	26±1	28±1	25±1	9±1	18±1	20±1	9±1	60±2
(6ª)	5±1	7±1	7±1	10±1	12±1	13±1	1±1	16±1	14±1	15±1	17±1	10±1	20±1	16±1	10±1	27±1

Tabela B.15 Valores de azoto amoniacal expressos em mg NH_3 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem							
N-NH_4	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
(1ª)	0,05±0,01	0,05±0,01	1,5±0,04	3,3±0,1	3,3±0,1	3,0±0,1	0,08	12±1
(2ª)	0,09±0,01	0,46±0,03	0,44±0,03	0,87±0,03	0,74±0,03	0,68±0,03	0,05±0,01	0,23±0,01
(3ª)	0,05±0,01	0,31±0,01	0,24±0,01	2,3±0,1	2,0±0,1	2,0±0,1	0,05±0,01	0,36±0,01
(4ª)	0,05±0,01	0,12±0,01	0,09±0,01	1,4±0,1	1,5±0,1	1,5±0,1	0,05±0,01	1,7±0,1
(5ª)	0,05±0,01	0,12±0,01	0,24±0,01	11±1	10±1	9,7±0,2	0,05±0,01	14±1
(6ª)	0,05±0,01	0,2±0,01	0,5±0,03	4,3±0,1	5,6±0,2	3,5±0,1	0,05±0,01	0,12±0,01
	10	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	0,61±0,03	1,2±0,1	1,3±0,1	0,06±0,01	7±0,1	10,0±0,8	0,2±0,01	0,19±0,01
(2ª)	0,24±0,01	0,43±0,01	0,68±0,03	0,08±0,01	6,9±0,1	1,6±0,1	0,14±0,01	0,1±0,01
(3ª)	0,32±0,01	0,53±0,01	1,8±0,1	2,0±0,1	8,0±0,1	4,0±0,1	0,42±0,01	0,17±0,01
(4ª)	0,1±0,01	0,11±0,01	0,5±0,01	1,1±0,1	17±1	4,5±0,1	0,4±0,01	0,48±0,01
(5ª)	0,29±0,01	0,22±0,01	0,7±0,03	0,52±0,01	7,0±0,1	17±1	0,33±0,01	0,15±0,01
(6ª)	0,1±0,01	0,25±0,01	0,15±0,01	0,06±0,01	19±1	9,8±0,1	0,37±0,01	0,15±0,01

Tabela B.16 Valores de nitrito expressos em mg NO_2 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem							
N-NO_2	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
(1ª)	0,05±0,01	0,05±0,01	0,15±0,01	1,53±0,06	1,14±0,02	1,20±0,02	0,05±0,01	0,49±0,01
(2ª)	0,05±0,01	0,06±0,01	0,07±0,01	0,21±0,01	0,27±0,01	0,27±0,01	0,05±0,01	0,16±0,01
(3ª)	0,05±0,01	0,20±0,01	0,23±0,01	0,65±0,01	0,59±0,01	0,39±0,01	0,05±0,01	0,1±0,01
(4ª)	0,05±0,01	0,17±0,01	0,17±0,01	0,54±0,01	0,59±0,01	0,59±0,01	0,05±0,01	0,96±0,01
(5ª)	0,05±0,01	0,10±0,01	0,45±0,01	1,23±0,01	1,24±0,01	1,3±0,02	0,05±0,01	0,36±0,01
(6ª)	0,05±0,01	0,05±0,01	0,24±0,01	0,65±0,01	0,68±0,01	0,88±0,01	0,05±0,01	0,15±0,01
	10	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	1,36±0,03	2,65±0,03	0,96±0,01	0,05±0,01	2,2±0,06	0,1±0,01	0,05±0,01	0,26±0,01
(2ª)	0,26±0,01	0,33±0,01	0,75±0,01	0,13±0,01	1,4±0,03	0,72±0,03	0,11±0,01	0,07±0,01
(3ª)	0,13±0,01	0,18±0,01	0,66±0,01	0,40±0,01	0,62±0,01	0,34±0,01	0,11±0,01	0,05±0,01
(4ª)	0,27±0,01	0,79±0,01	0,98±0,01	0,40±0,01	0,60±0,01	0,46±0,01	0,11±0,01	0,46±0,01
(5ª)	0,38±0,01	0,22±0,01	0,17±0,01	0,08±0,01	3,0±0,06	0,05±0,01	0,12±0,01	0,1±0,01
(6ª)	0,15±0,01	0,36±0,01	0,30±0,01	0,14±0,01	1,9±0,06	0,3±0,01	0,10±0,01	0,15±0,01

Tabela B.17 Valores de nitrato expressos em mg NO_3 L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
N-NO_3	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	19±1	14±1	14±1	17±1	12±1	13±1	19±1	9±1	29±1	29±1	20±1	14±1	18±1	4±1	10±1	23±1
(2ª)	16±1	16±1	17±1	18±1	19±1	20±1	9±1	12±1	14±1	15±1	16±1	15±1	20±1	14±1	12±1	19±1
(3ª)	22±1	20±1	21±1	25±1	26±1	24±1	8±1	11±1	13±1	14±1	27±1	18±1	24±1	21±1	17±1	41±1
(4ª)	17±1	15±1	16±1	17±1	17±1	17±1	11±1	16±1	23±1	23±1	21±1	14±1	14± 1	12±1	12±1	22±1
(5ª)	15±1	14±1	12±1	17±1	12±1	12±1	11±1	5±1	10±1	12±1	20±1	13±1	15±1	2±1	7±1	14±1
(6ª)	16±1	16±1	19±1	20±1	20±1	24±1	10±1	17±1	20±1	21±1	20±1	18±1	24± 1	9±1	10±1	20±1

Tabela B.18 Valores de fósforo total expressos em mg P L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem							
P-total	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
(1ª)	0,05±0,01	0,13±0,01	0,45±0,01	0,84±0,03	0,81±0,03	0,87±0,03	0,05±0,01	1,38±0,06
(2ª)	0,05±0,01	0,22±0,01	0,24±0,01	0,54±0,03	0,46±0,01	0,49±0,03	0,05±0,01	0,17±0,01
(3ª)	0,05±0,01	0,22±0,01	0,15±0,01	0,52±0,03	0,67±0,03	0,26±0,01	0,05±0,01	0,09±0,01
(4ª)	0,05±0,01	0,12±0,01	0,09±0,01	0,48±0,03	0,48±0,01	0,48±0,01	0,05±0,01	0,43±0,01
(5ª)	0,11±0,01	0,34±0,01	0,34±0,01	1,08±0,06	1,07±0,06	1,10±0,06	0,05±0,01	1,57±0,06
(6ª)	0,05±0,01	0,15±0,01	0,26±0,01	0,58±0,03	0,8±0,03	0,75±0,03	0,05±0,01	0,05±0,01
	10	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	0,35±0,01	0,2±0,01	0,41±0,01	0,05±0,01	1,95±0,06	1,85±0,06	0,12±0,01	0,11±0,01
(2ª)	0,19±0,01	0,42±0,01	0,43±0,01	0,54±0,03	3,05±0,08	0,83±0,03	0,39±0,01	0,15±0,01
(3ª)	0,19±0,01	0,29±0,01	0,16±0,01	0,07±0,01	0,31±0,01	0,27±0,01	0,11±0,01	0,05±0,01
(4ª)	0,36±0,01	0,48±0,01	0,47±0,01	0,29±0,01	3,60±0,08	0,83±0,03	0,09±0,01	0,11±0,01
(5ª)	1,11±0,06	1,73±0,06	1,10±0,06	0,73±0,03	2,00±0,06	3,10±0,08	0,38±0,01	0,76±0,03
(6ª)	0,05±0,01	0,12±0,01	0,1±0,01	0,05±0,01	2,00±0,06	1,20±0,06	0,24±0,01	0,09±0,01

Tabela B.19 Valores de cloreto expressos em mg Cl L^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
Cloreto	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	47±1	42±1	53±1	95±2	127±1	110±1	15±1	165±5	132±2	122±2	110±2	47±1	42±1	127±3	53±1	95±4
(2ª)	19±1	25±1	45±1	37±1	42±1	90±1	11±1	34±1	36±1	43±1	15±1	30±1	47±1	52±1	53±1	105±4
(3ª)	28±1	31±1	32±1	58±1	61±1	100±1	9±1	29±1	30±1	34±1	69±1	31±1	46±1	54±1	44±1	49±1
(4ª)	34±1	34±1	35±1	64±1	72±1	130±3	11±1	94±2	83±2	88±2	72±1	30±1	45±1	45±1	40±1	341±5
(5ª)	43±1	41±1	46±1	162±5	175±5	133±3	13±1	97±2	103±2	117±3	112±2	46±1	47±1	68±1	43±1	237±5
(6ª)	40±1	49±1	44±1	100±2	86±1	146±3	18±1	102±2	130±2	95±2	88±2	44±1	47±1	74±1	42±1	100±4

Tabela B.20 Valores de clorofila a expressos em $\mu g\ L^{-1}$ (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem							
Clorofila a	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
(1ª)	0,79±0,03	2,58±0,06	3,47±0,08	5,20±0,08	5,67±0,06	5,78±0,06	3,1±0,06	28,2±0,1
(2ª)	1,40±0,06	0,68±0,03	2,4±0,06	0,73±0,03	4,63±0,06	1,54±0,06	1,2±0,06	9,34±0,08
(3ª)	1,13±0,06	4,43±0,08	8,07±0,08	6,14±0,08	5,7±0,06	6,36±0,08	3,8±0,06	5,42±0,06
(4ª)	0,74±0,03	2,64±0,06	4,09±0,06	3,89±0,06	3,95±0,06	4,16±0,06	1,10±0,06	6,57±0,06
(5ª)	1,20±0,06	1,40±0,06	2,1±0,06	5,2±0,06	5,7±0,06	4,90±0,06	8,18±0,06	29,1±0,1
(6ª)	1,40±0,06	2,00±0,06	2,4±0,06	3,00±0,06	6,75±0,06	4,76±0,06	4,19±0,06	14,8±0,1
	10	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	18,7±0,1	3,94±0,06	2,9±0,06	1,10±0,06	1,74±0,06	5,29±0,08	1,08±0,03	3,28±0,06
(2ª)	7,22±0,08	1,89±0,06	2,02±0,06	3,02±0,06	4,61±0,08	1,17±0,06	3,64±0,06	1,27±0,06
(3ª)	10,21±0,08	2,49±0,06	0,95±0,03	1,42±0,06	1,53±0,06	4,52±0,06	1,39±0,03	1,19±0,06
(4ª)	6,96±0,08	3,66±0,06	13,5±0,1	5,97±0,08	24,2±0,1	4,03±0,06	2,61±0,06	11,27±0,09
(5ª)	62,1±0,1	45,0±0,1	21,5±0,1	1,67±0,06	2,4±0,06	9,91±0,08	2,14±0,06	8,12±0,08
(6ª)	8,42±0,08	6,91±0,08	4,45±0,06	2,84±0,06	4,96±0,08	10,8±0,08	3,11±0,06	9,34±0,08

Tabela B.21 Valores de coliformes totais expressos em ufc/mL (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem							
CT	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
(1ª)	$(6,1\pm0,1)\times10^{4}$	$(3,5\pm0,1)\times10^{4}$	$(2,7\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,1\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,1\pm0,1)\times10^{5}$	$(4,5\pm0,1)\times10^{4}$	$(6,1\pm0,1)\times10^{3}$	$(1,8\pm0,1)\times10^{6}$
(2ª)	$(2,4\pm0,1)\times10^{4}$	$3,8\pm0,1)\times10^{4}$	$(3,2\pm0,1)\times10^{4}$	$(3,0\pm0,1)\times10^{5}$	$(9,0\pm0,1)\times10^{5}$	$(9,5\pm0,1)\times10^{5}$	$(3,7\pm0,1)\times10^{3}$	$(1,5\pm0,1)\times10^{5}$
(3ª)	$(9,3\pm0,1)\times10^{2}$	$(6,8\pm0,1)\times10^{4}$	$(9,4\pm0,1)\times10^{4}$	$(2,8\pm0,1)\times10^{5}$	$(2,8\pm0,1)\times10^{5}$	$(3,4\pm0,1)\times10^{4}$	$(2,9\pm0,1)\times10^{3}$	$(1,6\pm0,1)\times10^{50}$
(4ª)	$(1,2\pm0,1)\times10^{4}$	$(5,7\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,0\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,0\pm0,1)\times10^{5}$	$(7,0\pm0,1)\times10^{4}$	$(5,0\pm0,1)\times10^{4}$	$(8,9\pm0,1)\times10^{2}$	$6,7\pm0,1)\times10^{5}$
(5ª)	$(5,5\pm0,1)\times10^{4}$	$(8,0\pm0,1)\times10^{4}$	$(5,5\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,8\pm0,1)\times10^{6}$	$(1,3\pm0,1)\times10^{6}$	$(1,5\pm0,1)\times105$	$(1,9\pm0,1)\times10^{2}$	$(2,1\pm0,1)\times10^{5}$
(6ª)	$(1,8\pm0,1)\times10^{3}$	$(5,9\pm0,1)\times10^{3}$	$(1,1\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,2\pm0,1)\times10^{6}$	$(1,0\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,0\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,2\pm0,1)\times10^{3}$	$(6,4\pm0,1)\times10^{4}$
	10	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	$(2,6\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,5\pm0,1)\times10^{4}$	$(8,7\pm0,1)\times10^{4}$	$(3,4\pm0,1)\times10^{4}$	$(4,2\pm0,1)\times10^{4}$	$(2,2\pm0,1)\times10^{3}$	$(1,6\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,0\pm0,1)\times10^{4}$
(2ª)	$(1,5\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,9\pm0,1)\times10^{5}$	$(6,0\pm0,1)\times10^{5}$	$(2,1\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,6\pm0,1\times10^{5}$	$(1,1\pm0,1)\times10^{5}$	$(3,7\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,1\pm0,1)\times10^{4}$
(3ª)	$(6,8\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,1\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,1\pm0,1)\times10^{5}$	$(7,9\pm0,1)\times10^{5}$	$(2,1\pm0,1)\times10^{4}$	$(9,0\pm0,1)\times10^{4}$	$(5,7\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,2\pm0,1)\times10^{3}$
(4ª)	$(4,1\pm0,1)\times10^{4}$	$(2,0\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,9\pm0,1)\times10^{4}$	$(2,1\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,6\pm0,1)\times10^{5}$	$(2,1\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,1\pm0,1)\times10^{4}$	$(6,2\pm0,1)\times10^{3}$
(5ª)	$(1,4\pm0,1)\times10^{4}$	$(8,0\pm0,1)\times10^{4}$	$(4,6\pm0,1)\times10^{4}$	$(3,4\pm0,1)\times10^{4}$	$(7,6\pm0,1)\times10^{5}$	$(3,6\pm0,1)\times10^{6}$	$(1,3\pm0,1)\times10^{4}$	$(2,8\pm0,1)\times10^{5}$
(6ª)	$(1,0\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,5\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,4\pm0,1)\times10^{4}$	$(5,0\pm0,1)\times10^{4}$	$(5,0\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,5\pm0,1)\times10^{5}$	$(3,0\pm0,1)\times10^{4}$	$(1,5\pm0,1)\times10^{5}$

Tabela B.22 Valores de coliformes fecais expressos em ufc/mL (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem							
CF	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
(1ª)	$(2{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(2{,}4\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}5\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(9{,}5\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(1{,}2\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(3{,}2\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}4\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(7{,}0\pm0{,}1)\times10^{4}$
(2ª)	$(1{,}3\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(5{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(5{,}4\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}6\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(4{,}9\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}3\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}4\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(4{,}6\pm0{,}1)\times10^{3}$
(3ª)	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}6\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(3{,}0\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(6{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(7{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(8{,}6\pm0{,}1)\times10^{1}$	$(2{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$
(4ª)	$(4{,}9)\pm\times10^{2}$	$(5{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(5{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}4\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(3{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}3\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(1{,}5\pm0{,}1)\times10^{5}$
(5ª)	$(4{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(1{,}4\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(4{,}5\pm0{,}1)\times10^{5}$	$(1{,}4\pm0{,}1)\times10^{5}$	$(1{,}4\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(5{,}7\pm0{,}1)\times10^{1}$	$(2{,}6\pm0{,}1)\times10^{3}$
(6ª)	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(2{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}6\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}1\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(3{,}9\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(3{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$
	10	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	$(4{,}3\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(5{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(2{,}2\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(2{,}2\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(2{,}5\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(8{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$
(2ª)	$(6{,}6\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}6\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(2{,}1\pm0{,}1\times10^{5}$	$(2{,}2\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(5{,}1\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(6{,}2\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(4{,}6\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(8{,}4\pm0{,}1)\times10^{2}$
(3ª)	$(4{,}3\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(5{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}2\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(5{,}1\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(2{,}7\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$
(4ª)	$(2{,}3\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(9{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}3\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(5{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$
(5ª)	$(2{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}5\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(3{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(2{,}8\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(1{,}4\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(4{,}1\pm0{,}1)\times10^{5}$	$(2{,}6\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}5\pm0{,}1)\times10^{4}$
(6ª)	$(2{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(5{,}9\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(6{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}7\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(1{,}1\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(2{,}4\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(9{,}8\pm0{,}1)\times10^{2}$

Tabela B.23 Valores de estreptococos fecais expressos em ufc/mL (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem							
EF	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
(1ª)	$(1{,}6\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(2{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}1\pm0{,}1)\times10^{5}$	$(1{,}4\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(6{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}7\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(1{,}7\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}2\pm0{,}1)\times10^{3}$
(2ª)	$(1{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}2\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}4\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(7{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}7\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}9\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(8{,}6\pm0{,}1)\times10^{1}$	$(4{,}4\pm0{,}1)\times10^{3}$
(3ª)	$(6{,}5\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(8{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(6{,}6\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}9\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(6{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}9\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(3{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$
(4ª)	$(7{,}9\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(5{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}3\pm0{,}1)\times10^{1}$	$(1{,}2\pm0{,}1)\times10^{4}$
(5ª)	$(8{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(2{,}2\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(5{,}5\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(3{,}5\pm0{,}1)\times10^{5}$	$(5{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(9{,}5\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(2{,}2\pm0{,}1)\times10^{1}$	$(5{,}3\pm0{,}1)\times10^{3}$
(6ª)	$(2{,}7\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(2{,}4\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(6{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(6{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(2{,}3\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(8{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(7{,}0\pm0{,}1)\times10^{1}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$
	10	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	$(3{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(2{,}4\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(5{,}2\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}4\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(4{,}9\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(2{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(8{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(2{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$
(2ª)	$(4{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}4\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(2{,}4\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(4{,}3\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(2{,}5\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(4{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}2\pm0{,}1)\times10^{3}$
(3ª)	$(9{,}8\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(8{,}3\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}3\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(4{,}2\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(1{,}4\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(5{,}9\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}6\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}2\pm0{,}1)\times10^{2}$
(4ª)	$(1{,}9\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(2{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}7\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(5{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(3{,}2\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(1{,}7\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(9{,}5\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(8{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$
(5ª)	$(3{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(6{,}5\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(6{,}7\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(2{,}0\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(3{,}5\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(2{,}2\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(2{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}4\pm0{,}1)\times10^{4}$
(6ª)	$(2{,}0\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(1{,}0\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(9{,}8\pm0{,}1)\times10^{2}$	$(4{,}8\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(1{,}3\pm0{,}1)\times10^{4}$	$(2{,}4\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(2{,}1\pm0{,}1)\times10^{3}$	$(5{,}7\pm0{,}1)\times10^{2}$

Tabela B.24 Valores de zinco expressos em $\mu g\ mL^{-1}$ (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
Zn	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	15,5±0,3	14,0±0,3	16,7±0,3	38,1±0,5	10,4±0,3	24,6±0,4	10,1±0,3	21,7±0,4	9,3±0,3	60,0±0,8	10,0±0,3	5,8±0,2	220±5	67,7±0,8	8,7±0,3	14,6±0,3
(2ª)	26,6±0,5	24,5±0,4	33,5±0,5	77,6±0,7	20,9±0,4	48,6±0,5	14,3±0,3	44,4±0,5	6,2±0,3	10,1±0,3	16,1±0,3	9,7±0,3	413±7	110±2	17,5±0,3	48,6±0,5
(3ª)	35,7±0,5	44,1±0,5	21,5±0,4	9,8±0,3	39,1±0,5	17,1±0,3	5,7±0,2	23,8±0,4	9,1±0,3	45,0±0,5	59,0±0,5	21,8±0,3	129±5	140±2	12,6±0,3	7,1±0,3
(4ª)	30,0±0,5	25,0±0,4	25,4±0,4	26,0±0,4	25,2±0,5	12,4±0,3	10,1±0,3	25,2±0,4	10,0±0,3	30,0±0,5	33,0±0,5	15,3±0,3	70,4±0,8	68,0±0,7	10,0±0,3	10,0±0,3
(5ª)	32±0,5	30,0±0,5	30,0±0,5	36,0±0,5	30,0±0,5	22,3±0,3	10,1±0,3	65,4±0,7	10,2±0,3	34,0±0,5	35,0±0,6	12,8±0,3	68,2±0,8	74,0±0,8	12,0±0,3	10,0±0,3
(6ª)	25,4±0,4	30,0±0,5	30,0±0,5	90±1	51,1±0,8	37,4±0,5	15,2±0,3	59,0±0,7	10,0±0,3	41,0±0,7	27,0±0,5	10,2±0,3	110±2	100±1	10,0±0,3	10,0±0,3

Tabela B.25 Valores de cobre expressos em $\mu g\ mL^{-1}$ (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
Cu	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	14,0±0,3	10,0±0,3	5,7±0,2	21,0±0,3	11,0±0,3	10,3±0,3	10,1±0,3	44,1±0,7	10,4±0,3	16,0±0,3	16,0±0,3	10,1±0,3	25,1±0,6	27,2±0,6	10,1±0,3	10,1±0,3
(2ª)	10,0±0,3	28,0±0,4	2,1±0,2	37,1±0,4	22,1±0,4	10,3±0,3	12,2±0,3	9,0±0,3	45,0±0,5	27,0±0,5	27,4±0,6	10,1±0,3	50±1	49,3±0,8	9,7±0,3	10,1±0,3
(3ª)	1,0±0,3	12,2±0,3	2,2±0,2	21,0±0,4	10,0±0,2	11,2±0,3	14,0±0,3	16,2±0,3	22,0±0,3	30,2±0,5	33,0±0,6	57,0±0,6	39±1	28,1±0,5	18,1±0,6	11,4±0,3
(4ª)	21,0±0,4	10,0±0,3	6,8±0,3	13,1±0,3	14,0±0,2	8,9±0,3	10,2±0,3	22,1±0,5	10,2±0,3	13,0±0,3	15,0±0,3	10,0±0,3	26±1	54,1±0,7	9,6±0,3	10,1±0,3
(5ª)	15,3±0,3	10,0±0,3	10,2±0,3	10,0±0,3	10,0±0,2	10,0±0,3	12,0±0,3	34,0±0,7	10,2±0,3	10,0±0,3	10,0±0,3	10,0±0,3	67±2	56,2±0,7	10,4±0,3	11,2±0,3
(6ª)	8,0±0,3	21,2±0,4	10,1±0,3	27,1±0,4	27,2±0,4	12,5	10,0±0,3	63,4±0,9	13,0±0,3	18,1±0,4	14,0±0,3	10,5±0,3	25,2±0,5	28,1±0,4	10,1±0,3	10,0±0,3

Tabela B.26 Valores de chumbo expressos em $\mu g\ mL^{-1}$ (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
Pb	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	1,7±0,1	4,0±0,1	3,3±0,1	2,2±0,1	2,4±0,1	2,1±0,1	4,4±0,1	2,0±0,1	4,2±0,1	3,3±0,1	3,3±0,1	1,4±0,1	1,9±0,1	2,4±0,1	3,5±0,1	1,2±0,1
(2ª)	1,6±0,1	5,7±0,1	5,8±0,1	6,3±0,1	4,8±0,1	3,2±0,1	3,9±0,1	2,3±0,1	2,3±0,1	6,1±0,1	6,1±0,1	1,1±0,1	3,2±0,1	4,1±0,1	7,1±0,1	2,3±0,1
(3ª)	1,1±0,1	1,2±0,1	12,2±0,1	1,8±0,1	3,9±0,1	3,6±0,1	2,8±0,1	3,1±0,1	4,6±0,1	3,1±0,1	3,1±0,1	3,5±0,1	7,5±0,1	9,8±0,3	6,8±0,1	2,6±0,1
(4ª)	5,7±0,1	2,4±0,1	13,0±0,1	2,0±0,1	6,3±0,1	4,1±0,1	2,5±0,1	2,0±0,1	2,1±0,1	5,0±0,1	3,0±0,1	2,0±0,1	5,0±0,1	10,2±0,3	5,4±0,1	4,9±0,1
(5ª)	8,4±0,1	5,1±0,1	5,0±0,1	5,0±0,1	5,2±0,1	3,2±0,1	3,4±0,1	5,3±0,1	5,2±0,1	5,1±0,1	3,2±0,1	3,0±0,1	5,0±0,1	7,8±0,3	4,8±0,1	5,1±0,1
(6ª)	2,9±0,1	5,7±0,1	5,0±0,1	5,2±0,1	5,5±0,1	3,1±0,1	3,1±0,1	2,2±0,1	13,2±0,3	5,1±0,1	5,1±0,1	2,0±0,1	5,2±0,1	12,4±0,3	5,3±0,1	5,1±0,1

Tabela B.27 Valores de mânganes expressos em μg mL^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
Mn	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	15,0±0,5	17,0±0,5	15,0±0,5	92±1	26,0±0,7	30,0±0,7	31,0±0,7	10,0±0,5	33,1±0,5	36,0±0,5	36,0±0,5	50,0±0,5	78,0±0,8	23,0±0,3	50,0±0,5	50,0±0,5
(2ª)	20,0±0,5	19,0±0,5	226±1	23,0±0,7	78,0±0,7	30,0±0,7	15,0±0,5	15,0±0,5	44,0±0,5	64,0±0,8	64,0±0,5	25,0±0,5	100±1	57,0±0,5	25,0±0,5	25,0±0,5
(3ª)	15,0±0,5	19,0±0,5	38,0±0,7	42,0±0,7	130±1	56,0±0,7	15,0±0,5	60,0±0,5	50,0±0,5	17,2±0,3	17,0±0,3	50,0±0,5	87,0±0,8	65,0±0,5	25,0±0,5	25,0±0,5
(4ª)	15,0±0,5	35,1±0,9	51,0±0,7	50,0±0,7	64,0±0,7	43,0±0,7	15,0±0,5	15,0±0,5	38,0±0,5	80,1±0,8	80,0±0,8	25,0±0,5	30,0±0,5	111±1	50,0±0,5	50,0±0,5
(5ª)	20,0±0,5	15,0±0,5	19,0±0,5	150±1	160±1	78,0±0,9	21,0±0,5	160±1	20,0±0,5	170±1	170±1	25,0±0,5	120±1	115±1	50,0±0,5	50,0±0,5
(6ª)	18,0±0,5	15,0±0,5	28,0±0,7	62,0±0,7	65,0±0,7	30,0±0,7	26,0±0,5	200±1	59,0±0,5	150±1	170±1	50,0±0,5	160±1	220±1	25,0±0,5	25,0±0,5

Tabela B.28 Valores de ferro expressos em μg mL^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) obtidos nas 6 campanhas de monitorização realizadas

	Estações de Amostragem															
Fe	**1**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**
(1ª)	160±3	200±3	740±5	270±5	370±5	240±5	77±1	100±5	310±7	410±7	410±7	110±3	110±3	280±5	100±3	100±3
(2ª)	50,0±0,7	140±3	400±5	280±5	480±5	200±5	120±5	100±5	120±3	280±5	280±5	100±3	900±7	540±7	50,0±0,7	50,0±0,7
(3ª)	50,0±0,7	180±3	170±5	250±5	890±7	190±5	50,0±0,7	120±5	110±3	120±5	140±5	100±3	980±7	610±7	50,0±0,7	50,0±0,7
(4ª)	50,0±0,7	50,0±0,7	210±5	540±7	480±5	200±5	100±5	100±5	120±3	300±7	300±7	100±3	950±7	120±3	100±3	100±3
(5ª)	160±3	50,0±0,7	120±5	680±7	740±7	200±5	100±5	100±5	200±5	270±7	170±7	100±3	1400±10	230±5	100±3	100±3
(6ª)	50,0±0,7	50,0±0,7	510±7	280±3	350±5	150±5	100±5	270±5	190±5	220±7	220±7	100±3	1200±10	360±5	50,0±0,7	50,0±0,7

B.2 Modelação Matemática (QUAL2Kw)

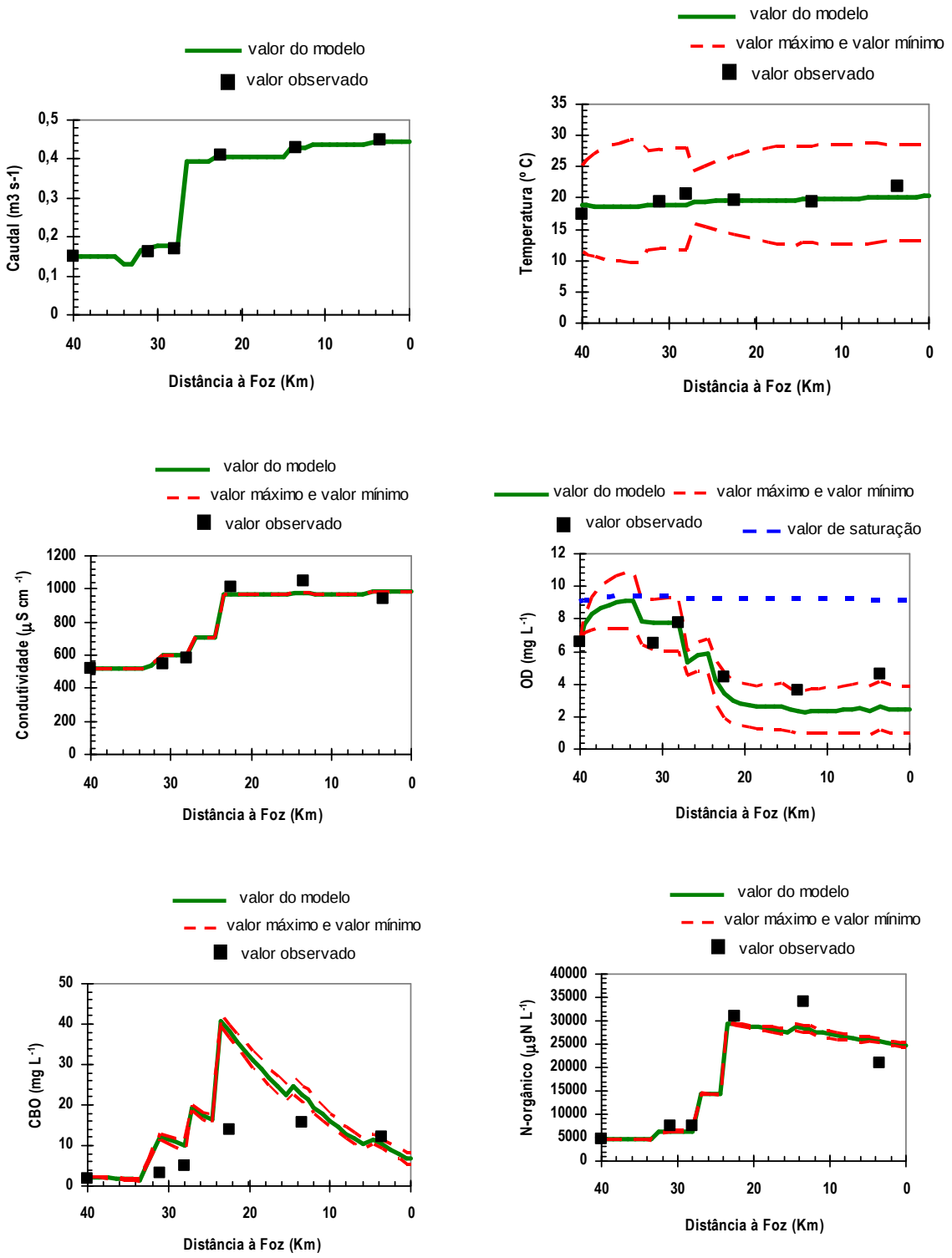


Figura B.1 Resultados da calibração (caudal, temperatura, condutividade, OD, CBOC e N-orgânico) para o rio Lis (Julho de 2004), com os parâmetros cinéticos resultantes da auto-calibração (situação A)

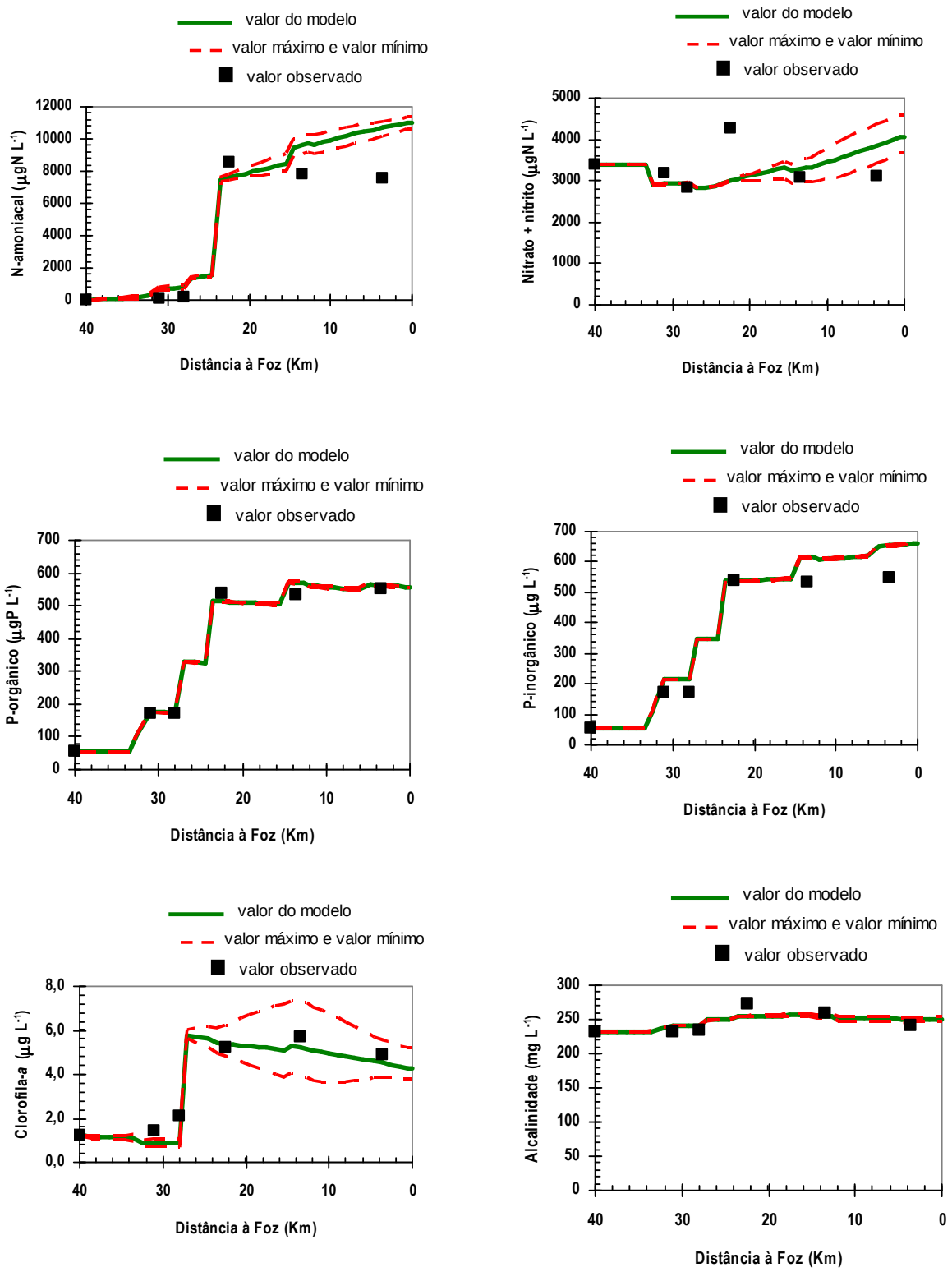


Figura B.2 Resultados da calibração (N-amoniacal, nitrato+nitrito, P-orgânico, P-inorgânico, Clorofila-a e alcalinidade) para o rio Lis (Julho de 2004), com os parâmetros cinéticos resultantes da auto-calibração (situação A)

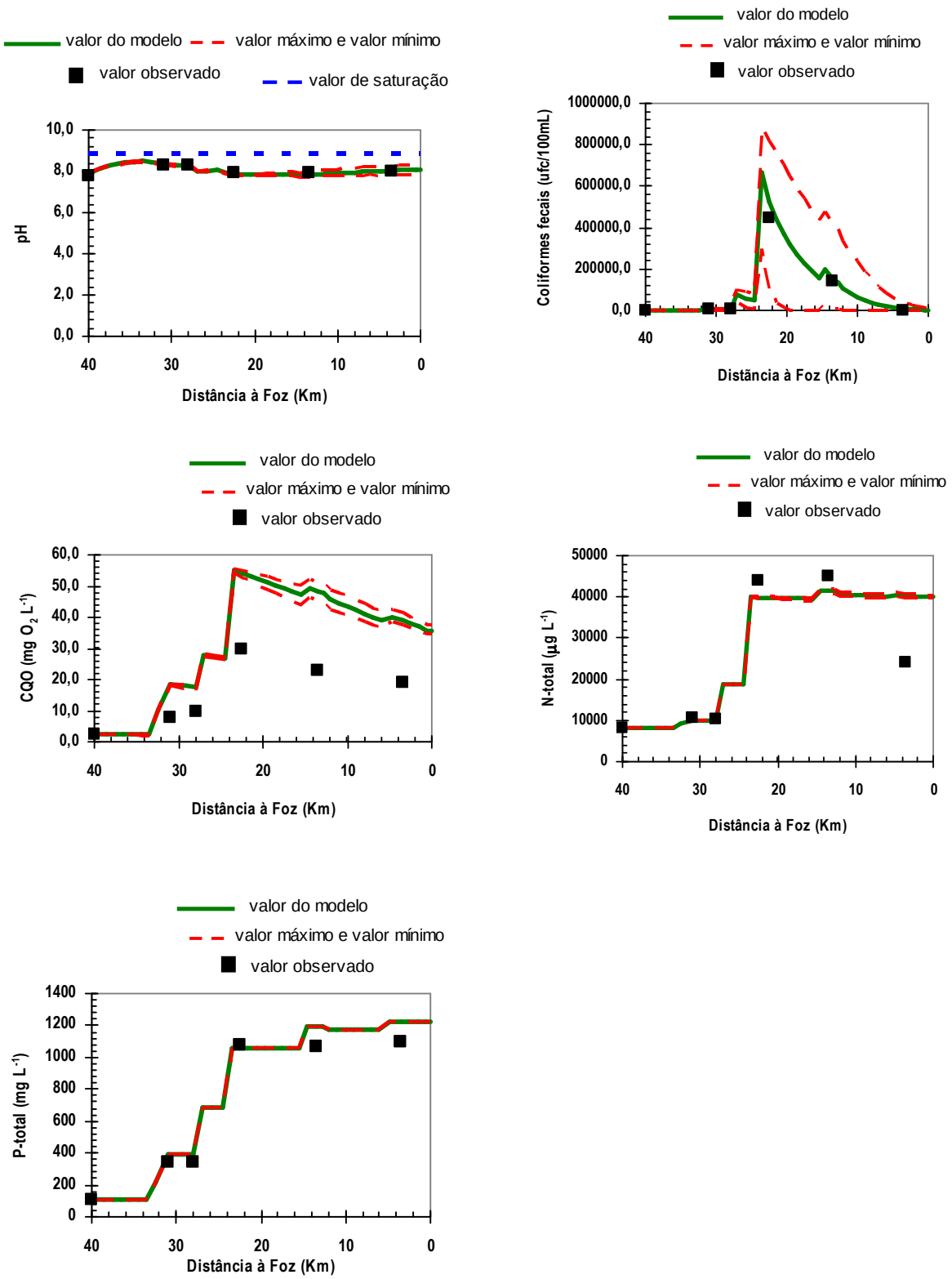


Figura B.3 Resultados da calibração (pH, coliformes fecais, CQO, N-total e P-totalal) para o rio Lis (Julho de 2004), com os parâmetros cinéticos resultantes da auto-calibração (situação A)

C. Contaminação dos Sedimentos na Bacia Hidrográfica do Rio Lis

C.1 Soluções utilizadas no procedimento de extracção sequencial

As soluções utilizadas no processo de extracção (BCR-SEP) foram preparadas da seguinte forma:

- Solução de ácido acético 0,11 mol L^{-1}: na hotte adicionou-se 25 ±0,2 mL de ácido acético glacial puro (Merck) a 500 mL de água destilada, e perfez-se 1 L em balão volumétrico com água destilada (solução de 0,43 mol L^{-1}). A partir da solução anterior mediram-se 250 mL e diluiu-se a 1 L com água destilada. A solução foi guardada durante um mês em frasco de polietileno.

- Solução de cloreto de hidroxilamónio 0,1 mol L^{-1}: dissolveram-se 6,95 g de cloreto de hidroxilamina (Merck) em 900 mL de água destilada e acidificou-se com HNO_3 (65%) a pH 2 e perfez-se o volume de 1L com água destilada. A solução foi preparada no dia da extracção.

- Solução de H_2O_2 8,8 mol L^{-1}: Utilizou-se a solução comercial de peróxido de hidrogénio (Fluka).

C.2 Resultados da Extracção Sequencial em Sedimentos

Tabela C.1 Resultados experimentais obtidos para os diferentes parâmetros de qualidade de sedimentos monitorizados na bacia do rio Lis

Parâmetros		Estações de Amostragem								
		1	**2**	**7**	**8**	**10**	**13**	**14**	**15**	**16**
Zn (mg kg^{-1})	Dez-03	46	-	-	54	57	-	290	178	111
	Set-04	48	74	48	60	86	56	230	1 138	100
	Mai-05	72	100	80	92	87	84	424	549	107
Pb (mg kg^{-1})	Dez-03	14	-	-	7,9	13,8	-	9,9	13,3	11,8
	Set-04	16	46	22,3	8,0	23	33	26	34	25
	Mai-05	32	27	25	28	35	19,3	18,9	29	27
Cu (mg kg^{-1})	Dez-03	13,7	-	-	15,5	25	-	57	52	22
	Set-04	14,6	27	20,5	9,0	20	19,5	34	73	23
	Mai-05	40	50	24	32	32	22	61	51	19,5
Cr (mg kg^{-1})	Dez-03	24	-	-	26	18,1	-	8,9	19,3	22
	Set-04	40	42	16,1	28	35	37	12,5	59	44
	Mai-05	54	199	48	32	37	52	18,9	52	62
Mn (mg kg^{-1})	Dez-03	190	-	-	240	254		91	294	189
	Set-04	231	202	359	178	614	174	180	189	303
	Mai-05	383	281	377	256	567	297	194	217	788
Ni (mg kg^{-1})	Dez-03	8,1	-	-	13,2	7,3	-	2,4	9,8	11,2
	Set-04	10,1	35	13,8	8,7	26	17,5	5,3	28	13,4
	Mai-05	12,1	25	9,6	14,1	11,3	21	8,3	46	32
Fe (mg kg^{-1})	Dez-03	9 642	-	-	13 488	14 153	-	7 762	18 001	17 730
	Set-04	13 062	14 550	17 631	7 666	26 024	13 739	9 737	21 827	31 274
	Mai-05	12 028	16 076	12 500	12 052	15 321	13 865	13 729	21 273	42 215
Al (mg kg^{-1})	Dez-03	11 361	-	-	16 097	12 204	-	7 741	19 698	13 954
	Set-04	7 481	11 666	6 566	8 157	16 918	12 674	5 046	20 052	21 439
	Mai-05	9 923	19 460	9 800	13 760	15 467	11 766	12 404	32 784	37 403
MV (%)	Dez-03	6,4	7,0	ND	6,5	3,1	6,5	5,9	9,4	8,8
	Set-04	4,7	3,2	5,4	9,6	5,7	3,0	5,5	10,8	10,7
	Mai-05	7,2	8,7	5,8	9,0	5,8	6,6	9,5	10,7	10,7
TOC (%)	Dez-03	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Set-04	2,8	2,4	3,4	5,4	2,6	1,4	3,2	3,9	3
	Mai-05	3,7	3,6	3,8	5,7	2,4	2,5	4,0	3,6	3,1

Tabela C.2 Distribuição dos metais Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al pelas diferentes fracções do processo de extracção sequencial BCR (Setembro de 2004) (valor médio ± intervalo com 95% de confiança)

		Estações de amostragem			
Metal (mg kg^{-1})	**Fracção**	**2**	**10**	**14**	**15**
Zn					
	1	19,7±0,7	4,2±0,3	161,7±6	699±10
	2	13,5±0,7	14,9±0,7	31±3	370±6
	3	15,0±0,7	3,9±0,3	13,6±0,7	105±2
	4	41±3	65,2±5	23,2±0,7	90±2
Pb	*1*	3,0±0,7	*2,0±0,7*	*2,0±0,7*	*2,0±0,7*
	2	3,0±0,7	6,2±0,7	7,3±0,7	5,6±0,7
	3	13,6±0,9	12,5±0,7	5,0±0,7	11,3±0,7
	4	21±10	12,5±0,7	13,6±0,7	18,7±0,7
Cu	*1*	*1,5±0,9*	*1,5±0,9*	7,2±0,9	5,2±0,9
	2	*1,5±0,9*	*1,5±0,9*	7,5±0,9	6,4±0,8
	3	12,1±0,9	3,8±0,9	15,2±1,6	53±2
	4	14,4±1,3	17,9±1,6	7,1±0,9	14±1
Cr	*1*	*2,5±1,1*	*2,5±1,1*	2,8±1,1	4,2±1,1
	2	*2,5±1,1*	*2,5±1,1*	2,9±1,1	6,4±1,1
	3	13,8±1,4	10,2±1,1	6,3±1,1	35±4
	4	28±4	23±4	*2,5±1,1*	16±2
Ni	*1*	3,8±1,2	*1,5±1,0*	*1,5±1,0*	8,1±1,4
	2	8,1±1,3	4,5±1,3	*1,5±1,0*	11,7±1,6
	3	6,5±1,3	6,1±1,3	2,1±1,1	6,5±1,4
	4	15,6±1,9	14,8±1,6	2,0±1,1	2,5±1,2
Mn	*1*	91±3	326±6	75±3	93±3
	2	37±2	258±6	36±3	32±3
	3	5±1	48±2	3,0±1,1	4,0±1,1
	4	64±3	65±3	70±3	61±3
Fe	*1*	11±2	5,0±1	171±14	315±12
	2	296±16	801±25	1 433±27	2 140±30
	3	349±18	167±14	556±22	1 438±27
	4	15 812±100	16 353±100	7 615±68	20 371±30
Al	*1*	*55±3*	55±3	*55±3*	116±14
	2	55±3	*55±3*	284±14	650±14
	3	1 415±15	294±12	302±14	1 071±15
	4	11 074±100	766±20	3 972±20	18 229±100

Tabela C.3 Distribuição dos metais Zn, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe e Al pelas diferentes fracções do processo de extracção sequencial BCR (Maio de 2005) (valor médio ± intervalo com 95% de confiança)

		Estações de amostragem							
Metal (mg kg^{-1})	Fracção	**1**	**2**	**8**	**10**	**13**	**14**	**15**	**16**
Zn	1	6,7±0,7	6,6±0,7	1,3±0,7	22±3	23±3	245±6	214±6	4,9±0,7
	2	4,0±0,7	5,2±0,7	1,3±0,7	27±3	22±3	93±2	192±6	13,4±0,7
	3	38±2	22±1	23±1	13,7±0,9	12,8±0,9	112±3	97±2	5,4±0,7
	4	25±1	63±5	69±5	49±5	27±3	46±3	33±1	97±2
Pb	1	2,0±1,0	2,0±1,0	2,0±1,0	2,0±1,0	2,0±1,0	2,0±1,0	5,4	2,0±1,0
	2	2,0±1,0	2,0±1,0	2,0±1,0	2,0±1,0	2,6±1,0	2,0±1,0	2,0±1,0	3,5±1,0
	3	10,9±0,9	15±3	11±3	21±5,0	7±1	6±1	15±1,0	8,5±1,0
	4	29±9	13±3	24±5	17±3	8±1	12±3	9,4±1,0	16±3
Cu	1	1,5±1,0	1,5±1,0	1,5±1,0	1,5±1,0	1,5±1,0	10,1±1,0	1,5±1,0	1,5±1,0
	2	1,5±1,0	1,5±1,0	1,5±1,0	1,5±1,0	1,5±1,0	28±3	1,5±1,0	1,5±1,0
	3	15±3	29±2	9,1±1,0	20±1	10,2±1,0	24±1	41±3	2,5±1,0
	4	30±2	25±1	27±2	15±1	11,1±1,0	14,6±1,0	16±2	18±2
Cr	1	2,5±1,1	2,5±1,1	2,5±1,1	2,5±1,1	2,5±1,1	2,5±1,1	3,8±1,1	2,5±1,1
	2	2,8±1,1	2,5±1,1	2,6±1,1	2,5±1,1	2,5±1,1	2,5±1,1	4,3±1,1	2,5±1,1
	3	14,8±1,5	109±5	7±1,1	2,5±1,1	3,2±1,1	2,5±1,1	14,5±1,1	2,5±1,1
	4	36±4	70±4	24±3	36±2	50±2	15,4±1,6	29±3	64±4
Ni	1	1,5±1,1	1,5±1,1	1,5±1,1	1,5±1,1	1,5±1,1	1,5±1,1	3,7±1,1	1,5±1,1
	2	1,5±1,1	1,5±1,1	1,5±1,1	1,5±1,1	1,5±1,1	1,5±1,1	6,4±1,1	1,5±1,1
	3	3,1±1,1	5,0±1,1	1,5±1,1	1,5±1,1	2,8±1,1	1,5±1,1	11,9	1,5±1,1
	4	10,4±1,3	19,8±1,6	16,1±1,4	11,6±1,1	16,4±1,3	6,1±1,1	16,7±1,3	27±2
Mn	1	105±3	98±3	80±3	212±3	116±3	63±3	147±3	241±5
	2	140±3	78±3	83±3	365±3	102±3	65±3	47±3	423±6
	3	71±3	42±3	70±3	37±3	28±3	9,5±1,0	5,3±1,2	53±3
	4	155±3	112±3	87±3	93±3	63±3	110±3	62±3	218±5
Fe	1	3,6±1,3	4,9±1,3	2,8±1,3	5,1±1,3	5,4±1,3	110±3	48±3	24±3
	2	16,2±0,9	152±18	10,3±1,3	545±5	658±5	1 954±5	995±5	1 626±5
	3	587±21	1 731±25	385±3	879±5	1 408±5	1 054±5	3 420±7	2 329±7
	4	10 943±125	17 283±130	10 343±125	14 511±120	14 091±122	12 490±120	18 411±130	34 342±160
Al	1	55±3	55±3	55±3	55±3	55±3	55±3	99±5	55±3
	2	55±3	55±3	55±3	61±3	150±5	300±5	412±45	1 044±20
	3	1 244±16	1 423±16	514±20	490±20	971±16	333±25	2 208±16	1 815±16
	4	10 546±45	16 742±45	16 104±45	12 045±45	12 992±45	12 436±45	32 780±45	34 479±45

Fracções 1,2,3 e 4 resultantes da aplicação do método BCR-SEP descrito por Quevauviller *et al.* (1997).

D. Estudo da Purificação Aeróbia das Águas Superficiais da Ribeira dos Milagres: Degradação da Matéria Orgânica e Nitrificação

D.1 Soluções utilizadas na quantificação de microrganismos (FISH)

Todo o material utilizado foi autoclavado, durante 20 minutos a 121 ºC, para não haver interferências de microrganismos externos às amostras em estudo.

Em todas as soluções foi utilizada água, Milli-Q, que foi preparada da seguinte forma: primeiro a água desionizada foi filtrada num filtro esterilizado (0,2 μm), e posteriormente foi autoclavada durante 15 minutos a 121 ºC.

As soluções necessárias foram preparadas da seguinte forma:

- Soluções de NaOH 1 mol L^{-1} e NaCl 5 mol L^{-1}: estas soluções foram preparadas com água Milli-Q e posteriormente filtradas, com um filtro esterilizado de 0,2 μm.

- Solução de Tampão PBS (3×): Pesaram-se 8 g de NaCl, 0,2 g de KCl, 1,44 g de $Na_2HPO_4.2H_2O$ e 0,24 g de KH_2PO_4 e foi adicionada água desionizada até perfazer, o volume de 1 L, e ajustou-se a pH 7,4 com NaOH 8 mol L^{-1}. A solução foi filtrada com um filtro esterilizado de 0,2 μm e posteriormente autoclavada durante 15 minutos a 121 ºC.

- Solução de PBS (1×): Pesaram-se 2,4 g de NaCl, 0,06 g de KCl, 0,43 g de $Na_2HPO_4.2H_2O$ e 0,072 g de KH_2PO_4 e foi adicionada água desionizada até perfazer, o volume de 1 L, e ajustou-se a pH 7,4 com NaOH 8 mol L^{-1}. A solução foi filtrada com um filtro esterilizado de 0,2 μm e posteriormente autoclavada durante 15 minutos a 121 ºC.

- Solução de paraformaldeído a 4%: Diluiu-se 2 g de paraformaldeído em 30 mL de água Milli-Q e foi adicionado 100 μL de NaOH 1 mol L^{-1}. Esta solução foi aquecida, até completa dissolução. De seguida, foi adicionado 13,3 mL de solução de PBS (3×), ajustou-se o pH a 7,0±0,2 com 1 μL de HCl (37%) e adicionou-se água Milli-Q até perfazer o volume de 50 mL.

- Solução de Tris/HCl 1 mol L^{-1}: Dissolveu-se 12,1 g de Tris em 80 mL de água pura e ajustou-se o pH a 8,0±0,2 com HCl concentrado (37%, Merck). Adicionou-se água pura até perfazer o volume de 100 mL e autoclavou-se.

- Solução de SDS 10%: Dissolveu-se 5 g de SDS em 100 mL de água Milli-Q. Esta solução foi aquecida a 40 ºC para dissolver. De seguida, ajustou-se o pH a 7,0±0,2 com HCl (37%, Merck) e filtrou-se com um filtro esterilizado de 0,2 μm.

- Solução de EDTA 0,5 mol L^{-1}: Dissolveu-se 9,3 g de EDTA em 50 mL de água pura. Esta solução foi submetida a agitação vigorosa até dissolução, ajustou-se o pH a 8,0±0,2 com NaOH (pastilhas, Merck) e autoclavou-se.

- Tampão fosfato 200 mmol L^{-1}: preparou-se a solução de NaH_2PO_4 por dissolução de 27,6 g em 1 L de água pura e a solução de Na_2HPO_4 por dissolução de 35,6 g em 1 L de água pura. A solução final foi preparada misturando as duas soluções na proporção de (1:4, v/v).

- Solução de DAPI (0,01 g L^{-1}): Dissolveu-se 1 mg de DAPI em 100 mL de água Milli-Q. A solução foi guardada em frasco escuro, protegida da luz e mantida no frigorífico até ser utilizada.

- Solução de CTC ((50 mmol L^{-1}).): Dissolveu-se 0,1 g de CTC em 15,2 mL de água Milli-Q. A solução foi guardada em frasco escuro, protegida da luz e mantida no frigorífico até ser utilizada.

- Meio de cultura R_2B: dissolveu-se 0,5 g de extracto de levedura (Merck), 0,5 g de peptona (Merck) , 0,5 g de caseína hidrolisada (Merck), 0,5 g de glucose(Merck) , 0,5 g de amido solúvel (Merck) , 0,3 g de hidrogenofosfato de potássio (Merck) e 0,05 g de sulfato de magnésio (Merck) em 1 L de água pura. Ajustou-se o a pH 7,2 ±0,2 e autoclavou-se a 121 ºC.

- Solução salina de NaCl, 0,85%: Dissolveram-se 8,5 g de NaCl (Merck) em 1 L de água pura e autoclavou-se a solução a 121 ºC.

D.2 Soluções de hibridação e de lavagem (FISH)

Tabela D.1 Soluções de hibridação e de lavagem utilizadas no procedimento experimental para o procedimento de hibridação com a sonda Nso190

Solução de hibridação (55% em formamida)	**Solução de Lavagem**
180 μL de NaCl (5 mol L^{-1})	200 μL de NaCl (5 mol L^{-1})
20 μL de Tris/HCl (1 mol L^{-1})	1000 μL de Tris/HCl (1 mol L^{-1})
2 μL de SDS (10%)	50 μL de SDS (10%)
550 μL de formamida	500 μL de EDTA (0,5 mol L^{-1})
250 μL de água Milli-Q	Diluir com água Milli-Q até perfazer o volume de 50 mL
Volume Final = 1 mL	Volume final = 50 mL

Tabela D.2 Soluções de hibridação e de lavagem utilizadas no procedimento experimental para o procedimento de hibridação com a sonda Ntspa712

Solução de hibridação (50% em formamida)	**Solução de Lavagem**
180 μL de NaCl (5 mol L^{-1})	280 μL de NaCl (5 mol L^{-1})
20 μL de Tris/HCl (1 mol L^{-1})	1000 μL de Tris/HCl (1 mol L^{-1})
2 μL de SDS (10%)	50 μL de SDS (10%)
500 μL de formamida	500 μL de EDTA (0,5 mol L^{-1})
300 μL de água Milli-Q	Diluir com água Milli-Q até perfazer o volume de 50 mL
Volume Final = 1 mL	Volume final = 50 mL

Tabela D.3 Soluções de hibridação e de lavagem utilizadas no procedimento experimental para o procedimento de hibridação com sonda ALF968

Solução de hibridação (20% em formamida)	**Solução de Lavagem**
180 μL de NaCl (5 mol L^{-1})	2250 μL de NaCl (5 mol L^{-1})
20 μL de Tris/HCl (1 mol L^{-1})	1000 μL de Tris/HCl (1 mol L^{-1})
2 μL de SDS (10%)	50 μL de SDS (10%)
200 μL de formamida	500 μL de EDTA (0,5 mol L^{-1})
600 μL de água Milli-Q	Diluir com água Milli-Q até perfazer o volume de 50 mL
Volume Final = 1 mL	Volume final = 50 mL

D.3 Resultados experimentais das reacções de biodegradação estudadas

Tabela D.4 Resultados da concentração (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) de azoto amoniacal, nitrito, nitrato e carbono orgânico dissolvido, S_0 (N-NH_4) = 34,4 mg N L^{-1} e S_0 (COD) = 15,4 mg N L^{-1}

Tempo (d)	**N-NH_4**	**(mg N L^{-1})**	**N-NO_2**	**(mg N L^{-1})**	**N-NO_3**	**(mg N L^{-1})**	**COD**	**(mg N L^{-1})**
0	34,4	±1,0	0,17	±0,015	3,9	±0,25	15,4	±0,5
1	33,1	±1,0	0,17	±0,015	3,9	±0,25	15,7	±0,5
4	33,1	±1,0	0,24	±0,015	3,9	±0,25	14,9	±0,5
5	30,6	±1,0	0,36	±0,015	6,4	±0,5	14,9	±0,5
6	29,4	±1,0	0,75	±0,028	6,9	±0,5	14,6	±0,4
7	25,1	±1,0	2,24	±0,037	10,6	±0,5	14,0	±0,4
8	13,8	±0,5	9,73	±0,039	18,7	±1,2	12,4	±0,4
9	0,15	±0,02	14,4	±0,058	29,7	±1,2	13,3	±0,4
11	0,15	±0,05	11,5	±0,058	35,0	±1,2	12,0	±0,4
14	0,13	±0,05	0,15	±0,015	45,9	±1,2	11,4	±0,3
15	0,13	±0,05	0,12	±0,012	45,5	±1,2	10,8	±0,3
18	0,13	±0,05	0,03	±0,008	46,4	±1,2	10,4	±0,3

Tabela D.5 Resultados da concentração (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) de azoto amoniacal, nitrito, nitrato e carbono orgânico dissolvido, S_0 (N-NH_4) = 9,8 mg N L^{-1} e S_0 (COD) = 13,3 mg N L^{-1}

Tempo (d)	N-NH_4	(mg N L^{-1})	N-NO_2	(mg N L^{-1})	N-NO_3	(mg N L^{-1})	COD	(mg N L^{-1})
0	9,8	±0,5	0,13	±0,015	3,4	±0,25	13,3	±0,4
1	8,8	±0,3	0,16	±0,015	3,5	±0,25	12,8	±0,4
2	8,5	±0,3	0,17	±0,015	3,7	±0,25	12,6	±0,4
4	6,6	±0,3	0,22	±0,015	3,7	±0,25	10,5	±0,3
8	0,31	±0,05	6,55	±0,022	6,0	±0,5	10,5	±0,3
9	0,10	±0,05	6,58	±0,022	5,8	±0,5	9,6	±0,3
10	0,06	±0,05	6,58	±0,022	6,4	±0,5	9,5	±0,3
14	0,06	±0,05	3,67	±0,027	7,3	±0,5	9,2	±0,3
16	0,06	±0,05	1,25	±0,027	8,0	±0,5	9,2	±0,3
21	0,06	±0,05	0,03	±0,005	12,8	±0,8	9,2	±0,3
24	0,06	±0,05	0,03	±0,005	12,8	±0,8	9,2	±0,3

Tabela D.6 Resultados da concentração (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) de azoto amoniacal, nitrito, nitrato e carbono orgânico dissolvido, S_0 (N-NH_4) = 16,3 mg N L^{-1} e S_0 (COD) = 13,3 mg N L^{-1}

Tempo (d)	N-NH_4	(mg N L^{-1})	N-NO_2	(mg N L^{-1})	N-NO_3	(mg N L^{-1})	COD	(mg N L^{-1})
0	16,3	±0,7	0,16	±0,015	3,7	±0,25	13,3	±0,4
1	11,8	±0,5	0,18	±0,015	3,9	±0,25	13,0	±0,4
2	10,5	±0,5	0,30	±0,015	4,0	±0,25	12,6	±0,4
2,5	10,1	±0,5	0,92	±0,015	3,9	±0,25	12,5	±0,4
6	0,10	±0,05	9,69	±0,032	5,8	±0,25	9,2	±0,4
7	0,10	±0,05	9,36	±0,032	6,3	±0,25	9,6	±0,3
9	0,10	±0,05	5,52	±0,022	11,1	±0,8	7,6	±0,3
10	0,10	±0,05	1,76	±0,027	13,2	±0,8	8,1	±0,2
14	0,10	±0,05	0,03	±0,005	15,9	±0,8	8,0	±0,2
17	0,10	±0,05	0,01	±0,005	16,9	±0,8	7,5	±0,2
23	0,10	±0,05	0,01	±0,005	18,2	±1,2	7,3	±0,2

Tabela D.7 Resultados da concentração (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) de azoto amoniacal, nitrito, nitrato e carbono orgânico dissolvido, S_0 (N-NH_4) = 4,55 mg N L^{-1} e S_0 (COD) = 9,9 mg N L^{-1}

Tempo (d)	N-NH_4	(mg N L^{-1})	N-NO_2	(mg N L^{-1})	N-NO_3	(mg N L^{-1})	COD	(mg N L^{-1})
0	4,55	±0,07	0,44	±0,015	3,9	±0,25	9,9	±0,2
1	3,83	±0,07	0,60	±0,015	3,9	±0,25	8,8	±0,2
2	3,39	±0,07	1,09	±0,015	3,5	±0,25	7,7	±0,2
3	0,83	±0,05	2,33	±0,015	5,1	±0,25	7,6	±0,2
4	0,10	±0,05	1,55	±0,020	6,5	±0,25	6,5	±0,2
6	0,09	±0,05	0,02	±0,005	7,8	±0,25	6,4	±0,2
7	0,09	±0,05	0,02	±0,005	7,7	±0,25	6,3	±0,2
10	0,09	±0,05	0,02	±0,005	7,9	±0,25	6,0	±0,2

Tabela D.8 Resultados da concentração (valor médio ± intervalo com 95% de confiança) de azoto amoniacal, nitrito, nitrato e carbono orgânico dissolvido, S_0 (N-NH_4) = 15,0 mg N L^{-1} e S_0 (COD) = 19,5 mg N L^{-1}

Tempo (d)	N-NH_4	(mg N L^{-1})	N-NO_2	(mg N L^{-1})	N-NO_3	(mg N L^{-1})	COD	(mg N L^{-1})
0	15,0	±0,7	0,59	±0,015	5,5	±0,25	19,5	±0,6
2	13,0	±0,5	0,74	±0,015	6,1	±0,25	16,5	±0,5
3	11,0	±0,5	1,08	±0,015	6,9	±0,25	16,3	±0,5
4	8,0	±0,5	2,37	±0,015	7,0	±0,25	15,4	±0,5
5	2,00	±0,05	11,70	±0,035	7,8	±0,25	15,5	±0,5
6	1,00	±0,05	7,56	±0,025	14,4	±0,8	14,0	±0,4
7	0,10	±0,05	2,89	±0,015	24,6	±0,8	13,9	±0,4
8	0,06	±0,05	0,39	±0,015	29,2	±1,0	12,6	±0,4
9	0,06	±0,05	0,02	±0,005	34,4	±1,2	12,5	±0,4
10	0,06	±0,05	0,02	±0,005	35,9	±1,2	12,9	±0,4
13	0,06	±0,05	0,02	±0,005	37,6	±1,2	11,0	±0,3
16	0,06	±0,05	0,02	±0,005	36,7	±1,2	10,2	±0,3
23	0,06	±0,05	0,02	±0,005	36,3	±1,2	10,2	±0,3

Tabela D.9 Composição da comunidade microbiana na amostra de água com concentração de azoto amoniacal, S_0 (N-NH_4) = 34,4 mg N L^{-1} determinada com sondas oligonucleotídicas e expressa em cel mL^{-1} (valor médio ± intervalo com 95% de confiança)

t (d)	DAPI	EUBmix 338	ARCH 917	ALF968	GAM42a	BET42a	Nso190	Ntspa712
0	$(1,7\pm0,2)\times10^{7}$	$(7,4\pm0,5)\times10^{5}$	$(6,9\pm0,3)\times10^{4}$	$(1,6\pm0,2)\times10^{5}$	$(1,7\pm0,2)\times10^{5}$	$(2,7\pm0,2)\times10^{5}$	$(2,7\pm0,2)\times10^{5}$	$(1,8\pm0,2)\times10^{5}$
7	$(2,0\pm0,2)\times10^{6}$	$(8,0\pm0,5)\times10^{5}$	$(6,9\pm0,3)\times10^{4}$	$(1,5\pm0,2)\times10^{5}$	$(1,4\pm0,2)\times10^{5}$	$(2,0\pm0,2)\times10^{5}$	$(2,0\pm0,1)\times10^{5}$	$(2,1\pm0,3)\times10^{5}$
13	$(9,5\pm0,5)\times10^{5}$	$(4,1\pm0,5)\times10^{5}$	$(4,3\pm0,4)\times10^{4}$	$(9,9\pm1,0)\times10^{4}$	$(1,1\pm0,3)\times10^{5}$	$(1,2\pm0,05)\times10^{5}$	$(6,3\pm0,3)\times10^{4}$	$(6,3\pm0,2)\times10^{4}$
16	$(7,8\pm0,7)\times10^{5}$	$(3,2\pm0,4)\times10^{5}$	$(3,2\pm0,4)\times10^{4}$	$(9,2\pm1,0)\times10^{4}$	$(0,9\pm0,2)\times10^{5}$	$(1,0\pm0,05)\times10^{5}$	$(4,4\pm0,5)\times10^{4}$	$(5,7\pm0,3)\times10^{4}$
23	$(1,6\pm0,1)\times10^{6}$	$(7,3\pm0,5)\times10^{5}$	$(6,5\pm0,5)\times10^{4}$	$(2,3\pm0,5)\times10^{5}$	$(2,1\pm0,3)\times10^{5}$	$(1,0\pm0,1)\times10^{5}$	$(6,2\pm0,3)\times10^{4}$	$(9,0\pm0,3)\times10^{4}$
27	$(1,2\pm0,1)\times10^{6}$	$(5,0\pm0,5)\times10^{5}$	$(4,3\pm0,5)\times10^{4}$	$(1,5\pm0,3)\times10^{5}$	$(1,8\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,7\pm0,1)\times10^{5}$	$(7,5\pm0,4)\times10^{4}$	$(5,7\pm0,5)\times10^{4}$
50	$(1,3\pm0,1)\pm10^{6}$	$(5,3\pm0,5)\times10^{5}$	$(5,2\pm0,5)\times10^{4}$	$(1,7\pm0,2)\times10^{5}$	$(1,4\pm0,1)\times10^{5}$	$(1,5\pm0,2)\times10^{5}$	$(4,4\pm0,3)\times10^{4}$	$(5,7\pm0,6)\times10^{4}$