U.PORTO

FACULDADE DE CIÊNCIAS
UNIVERSIDADE DO PORTO

Departamento de Química

Estudos sobre a Matéria Orgânica Dissolvida na Albufeira do Caldeirão

Dissertação para Doutoramento em Química

Pedro Miguel dos Santos Melo Rodrigues

Mestre em Química pela Universidade de Coimbra

Porto, 2007

Biblioteca
Faculdade de Ciências
Universidade do Porto
D000119543

U.PORTO

FACULDADE DE CIÊNCIAS
UNIVERSIDADE DO PORTO

Departamento de Química

Estudos sobre a Matéria Orgânica Dissolvida na Albufeira do Caldeirão

Dissertação para Doutoramento em Química

FACULDADE DE CIÊNCIAS
BIBLIOTECA
Sala
Coloc.
9637

Pedro Miguel dos Santos Melo Rodrigues

Mestre em Química pela Universidade de Coimbra

Porto, 2007

À memória do amigo e colega,

Jorge Amado

Índice geral

1 INTRODUÇÃO 1

1.1 Génese do trabalho 3

1.1.1 Evolução histórica 3

1.1.2 Matéria orgânica 7

1.1.3 Substâncias húmicas 8

1.1.4 Fraccionamento da matéria orgânica 11

1.1.5 Formação das substâncias húmicas 15

1.1.6 Interacção dos iões com a matéria orgânica 16

1.2 Objectivo do trabalho 22

1.3 Organização da tese 23

1.4 Bibliografia 24

2 CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO 29

2.1 Caracterização do território 31

2.1.1 Clima 32

2.1.2 Geologia 33

2.1.3 Geomorfologia 34

2.1.4 Pedologia 35

2.1.5 Valores biológicos 35

2.1.6 Paisagem 36

2.1.7 Hidrologia 37

2.1.8 Rio Mondego 37

2.2 Barragem do Caldeirão 39

2.2.1 Estudo de Impacto Ambiental 42

2.3 Bibliografia 44

3 PARTE EXPERIMENTAL 47

3.1 Desenvolvimento teórico 49

3.1.1 Programa Superquad 50

3.1.2 Método de van den Berg/Ruzic 53

3.1.3 Resolução multivariada de curvas – mínimos quadrados alternantes 56

3.1.4 Método de Stern-Volmer 60

3.1.5 Método de Ryan e Weber 64

3.2 Desenvolvimento experimental 67

3.2.1 Extracção e isolamento da matéria orgânica 67

3.3 Reagentes e equipamento analítico 73

3.3.1 Instrumentação 74

3.4 Simulação laboratorial do processo de desinfecção da água 86

3.5 Bibliografia 88

4 CARACTERIZAÇÃO DAS FRACÇÕES DE MOD 91

4.1 Caracterização das amostras 93

4.1.1 Análise elementar 93

4.1.2 Espectroscopia UV-vis 99

4.1.3 Titulações potenciométricas 103

4.1.4 Espectroscopia de infravermelho 105

4.1.5 Espectroscopia de fluorescência 110

4.1.6 Espectroscopia de RMN 115
4.2 Conclusões 123
4.3 Bibliografia 124
5 FORMAÇÃO DE SUBPRODUTOS DA DESINFECÇÃO 129
5.1 Introdução 131
5.2 Planeamento experimental 133
5.3 Simulação da desinfecção na presença de AF 134
5.3.1 Planeamento factorial fraccionado 134
5.3.2 Planeamento de *Box Behnken* 143
5.4 Simulação da desinfecção na presença de fracções de MOD 150
5.4.1 Comparação dos THM produzidos pelas fracções de MOD 151
5.4.2 Análise das superfícies de resposta para a formação dos quatro THM 154
5.4.3 Análise das superfícies de resposta para a formação dos THM totais 166
5.5 Conclusões 169
5.6 Bibliografia 171
6 COMPLEXAÇÃO DE CATIÕES METÁLICOS PELAS FRACÇÕES DE MOD 175
6.1 Introdução 177
6.2 Estudos potenciométricos da interacção de catiões com AF 178
6.2.1 Calibração dos eléctrodos 178
6.2.2 Caracterização do complexo AF-catião por potenciometria 180
6.3 Estudos de fluorescência da interacção de catiões com AF 188
6.3.1 Interacção dos AF com Cu(II) 188
6.3.2 Interacção dos AF com Hg(II) 190
6.3.3 Interacção dos AF com Al(III) 191
6.3.4 Perfis de *quenching* e *enhancement* dos complexos formados 193
6.4 Estudos da interacção do UO_2^{2+} com as fracções de MOD 198
6.5 Conclusões 203
6.6 Bibliografia 205
7 ESPECIAÇÃO QUÍMICA 207
7.1 Introdução 209
7.2 Programa CHEAQS 210
7.2.1 Modelo de Cabaniss e Shuman 213
7.3 Simulação computacional da especiação química 219
7.3.1 Parâmetros de qualidade da água da albufeira do Caldeirão 219
7.3.2 Configuração do programa CHEAQS 220
7.4 Resultados e discussão 222
7.4.1 Influência dos AF da albufeira do Caldeirão na especiação química 222
7.4.2 Influência do modelo de Cabaniss e Shuman na especiação química 231
7.5 Conclusões 235
7.6 Bibliografia 236
8 CONCLUSÕES GERAIS 239

Agradecimentos

Uma tese de doutoramento é uma obra que, pela sua natureza, tem o contributo de muitas pessoas. Assim, cabe-me aqui agradecer a inestimável colaboração de todos quantos contribuíram para a sua realização, sem os quais teria sido mais difícil chegar até este momento:

- Ao Professor Doutor Joaquim C. G. Esteves da Silva, orientador desta tese, a disponibilidade, acompanhamento, e empenho que sempre aportou no seu desenvolvimento. Aos conhecimentos técnicos e científicos transmitidos a que ficarei eternamente agradecido.

- À Cláudia Pereira e Alícia Latorre Fernandez pela colaboração na determinação das constantes de estabilidade por espectroscopia de fluorescência molecular.

- Ao Dilson Pereira e Stefan Platikanov pela colaboração nos estudos de simulação da desinfecção da água.

Gostaria ainda de agradecer todo o apoio e amizade de que sempre fui rodeado.

- Ao Professor Doutor Alfeu Sá Marques, responsável pelo meu início da carreira académica no Instituto Politécnico da Guarda e pela preocupação e esforço sempre desenvolvido em prol da minha formação e valorização académica e científica.

- Aos colegas do Departamento de Engenharia Civil da Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico da Guarda, nomeadamente à secção de Hidráulica e Recursos Hídricos: Jorge Amado, Helena Simão, Ana Maria Ferreira, Lígia Amado e Nuno Melo.

Resumo

Foram isoladas fracções de matéria orgânica dissolvida (MOD) presentes na água da albufeira do Caldeirão (Guarda), nomeadamente ácidos fúlvicos (AF), colóides, transfílicas e hidrofóbicas. Estas fracções foram caracterizadas e foram efectuados estudos sobre o desenvolvimento de subprodutos da desinfecção da água com cloro e da capacidade de complexação com alguns catiões metálicos.

Fazendo uso de diferentes técnicas de separação, nomeadamente osmose reversa, resinas (XAD4 e XAD8) e diálise, procedeu-se à concentração, extracção e isolamento da MOD. De modo semelhante, foi ainda extraída matéria orgânica dos solos adjacentes à albufeira. As percentagens das fracções de MOD na água foram estimadas como: fracção coloidal – 37%; fracção transfílica – 16 %; e fracção hidrofóbica - 25%.

A caracterização das fracções de MOD por potenciometria com eléctrodos selectivos a iões (ESI) e técnicas espectroscópicas (UV-Vis, FTIR, RMN e fluorescência molecular) colocou em evidência a presença de compostos de elevado peso molecular nos quais se encontram presentes estruturas químicas características destas substâncias como, por exemplo, grupos fenólicos, carboxílicos ou hidroxílicos.

A simulação laboratorial do processo de desinfecção da água com cloro demonstrou a influência da MOD na formação dos subprodutos da desinfecção, nomeadamente trihalometanos (THM). Assim, foi possível verificar a contribuição positiva para a formação de THM, de factores, como a presença de fracções de MOD (AF, colóides, transfílicas e hidrofóbicas) e dose de cloro.

Os grupos funcionais presentes nas fracções de MOD conferem às moléculas propriedades que permitem a formação de complexos estáveis, com iões metálicos presentes em solução, como verificado com ESI e fluorescência molecular. Assim, por potenciometria foram obtidos para os AF do solo (duas amostras denominadas As1 e

As2), a pH 6, as seguintes constantes de estabilidade condicionais: As1 (Cu(II) - 5,95; Cd(II) – 5,96; Pb(II) – 6,04); As2 (Cu(II) - 5,95; Cd(II) – 5,49; Pb(II) – 5,86). Para os AF com origem na água (duas amostras denominadas AFa1 e AFa2) foram obtidas as seguintes constantes condicionais: AFa1 (Cu(II) - 6,08; Cd(II) – 5,01; Pb(II) – 5,97); AFa2 (Cu(II) - 5,90; Cd(II) – 5,41; Pb(II) – 5,47). Por fluorescência molecular as constantes de complexação condicionais obtidas foram: AFs2 (Fe(III) – 4,65 (pH 4); Fe(III) – 4,22 (pH 3); Al(III) – 6,42 (pH 5); Al(III) – 4,55 (pH 4)); AFa1 (Cu(II) – 4,46 (pH 6); Cu(II) – 3,72 (pH 4)); AFa2 (Hg(II) – 4,68 (pH 6); Cu(II) – 4,17 (pH 6); Cu(II) – 3,74 (pH 4); Fe(III) – 4,83 (pH 4); Fe(III) – 3,66 (pH 3); Al(III) – 6,65 (pH 5); Al(III) – 4,63 (pH 4)). Foi ainda realizado um estudo da complexação entre as fracções de MOD e o catião UO_2^{2+}, tendo sido obtidas as seguintes constantes de formação condicionais a pH 6: colóides (0,92); transfílicos (0,99); e hidrofóbicos (0,79).

Por fim, foram efectuadas análises à água da albufeira do Caldeirão para determinação da concentração de catiões e aniões. Estas concentrações foram necessárias para a realização de simulações computacionais, com o programa CHEAQS Pro, da especiação química na água da albufeira. Estas simulações, para além das concentrações das espécies químicas, tiveram por base as constantes de estabilidade calculadas para os metais estudados. A simulação permitiu verificar a contribuição da MOD para a complexação dos metais dissolvidos na água, alterando a sua biodisponibilidade. Este efeito é mais expressivo à medida que a concentração da MOD aumenta, especialmente para o Cu(II), Cd(II) e Pb(II).

Abstract

Dissolved organic matter (DOM) fractions from Caldeirão dam water (Guarda, Portugal) were isolated, including fulvic acids (FA), colloids, transphylic and hydrophobic fractions. These fractions were characterized and studied to determine their developmental capacity for water disinfection by-products with chlorine and their complexation ability with some metallic cations.

The concentration, extraction and isolation of DOM were carried out through various separation techniques, namely reverse osmosis, XAD4 and XAD8 resin and dialysis. The further extraction of organic matter from the adjacent lagoon soils was similarly performed. The percentages of DOM fractions from the Caldeirão water were estimated as follows: colloidal fraction - 37%; transphylic fraction - 16%, and hydrophobic fraction - 25%.

The characterization of DOM fractions using potentiometry with ion selective electrodes (ISE) and spectroscopic techniques (UV-vis, FTIR, NMR and molecular fluorescence) revealed the presence of molecular weight structures such as phenolic, carboxylic or hidroxylic groups.

The laboratory simulation of the water disinfection process with chlorine showed the DOM influence in the formation of disinfection by-products, specifically trihalomethanes (THM). Thus, verification was evident of the presence of DOM fractions factors (FA as well as transphylic and hydrophobic colloids) and the chlorine dose as a positive contribution for THM formation.

The functional groups present in DOM fractions give molecules properties which allow the formation of stable complexes with metal ions present in solution as found with ISE and molecular fluorescence. Thus, the following conditional stability constants were obtained using potentiometry for the FA soil (two samples designated As1 and As2), at pH 6: As1 (Cu (II) – 5,95; Cd (II) – 5,96 ; Pb (II) – 6,04); As2 (Cu (II) –

5,95; Cd (II) – 5,49; Pb (II) – 5,86). For FA originating from water (two samples designated AFa1 and AFa2), the following conditional constants were obtained: AFa1 (Cu (II) – 6,08; Cd (II) – 5,01; Pb (II) – 5,97); AFa2 (Cu (II) – 5,90; Cd (II) – 5,41; Pb (II) – 5,47). As for molecular fluorescence, the conditional complexation constants obtained were: AFs2 (Fe (III) – 4,65 (pH 4), Fe (III) – 4,22 (pH 3), Al (III) – 6,42 (pH 5), Al (III) – 4,55 (pH 4)); AFa1 (Cu (II) – 4.46 (pH 6), Cu (II) – 3,72 (pH 4)); AFa2 (Hg (II) – 4,68 (pH 6), Cu (II) – 4,17 (pH 6), Cu (II) – 3,74 (pH 4), Fe (III) – 4,83 (pH 4); Fe (III) – 3,66 (pH 3), Al (III) – 6,65 (pH 5), Al (III) – 4,63 (pH 4)). A complexation study was also conducted between the DOM fractions and the uranyl cation (UO_2^{2+}), obtaining the following conditional constants at pH 6: colloids (0,92); transphylic (0,99), and hydrophobic (0,79).

Finally, tests were conducted on Caldeirão dam water to determine cation and anion concentration. These concentrations were necessary to carry out chemical speciation simulations with the CHEAQS Pro computational program. These simulations, in addition to the concentrations of chemical species, were based on the stability constants of the metals studied. The simulation showed the DOM contribution to the complexation of water dissolved metals and thus its contribution to the change in its bioavailability. This effect is especially significant as the DOM concentration increases, especially for Cu (II), Cd (II) and Pb (II).

Résumé

On a isolé des fractions de matière organique dissoute (MOD), présentes dans l'eau de la lagune du Caldeirão (Guarda): acides fulviques (AF), colloïdes, transphiliques et hydrophobes. Ces fractions ont été caractérisées et on a effectué des études sur le développement de sous-produits de la désinfection de l'eau avec du chlore et la capacité de complexation avec quelques cations métalliques.

En utilisant différentes techniques de séparation – l'osmose inverse, les résines (XAD4 et XAD8) et la dialyse -, on a procédé à la concentration, à l'extraction et à l'isolement de MOD. De manière semblable, on a ainsi extrait de la matière organique des sols adjacents à la lagune. Les pourcentages des fractions de MOD dans l'eau ont été estimés de la façon suivante: fraction colloïdale - 37% ; fraction transphilique - 16 %; et, fraction hydrophobe - 25%.

La caractérisation des fractions de MOD par potentiométrie, avec des électrodes sélectives à ions (ESI), et des techniques spectroscopiques (Uv-vis, IRTF, RMN et fluorescence moléculaire) a mis en évidence la présence de structures d'un poids moléculaire élevé dans lesquelles on trouve des structures chimiques caractéristiques de ces substances comme, par exemple, des groupes phénoliques, carboxyliques ou hydroxyles.

La simulation en laboratoire du processus de désinfection de l'eau avec du chlore, a démontré l'influence de MOD dans la formation des sous-produits de la désinfection, à savoir trihalométhanes (THM). Ainsi, on a pu vérifier la contribution positive pour la formation de THM, de facteurs comme la présence de fractions de MOD (AF, colloïdes, transphilique et hydrophobes) et la dose de chlore.

Les groupes fonctionnels présents dans les fractions de MOD confèrent aux molécules des propriétés qui permettent la formation de complexes stables, avec ions métallique présents en solution, comme cela a été vérifié avec ESI et la fluorescence

moléculaire. Ainsi, par potentiométrie ils ont été obtenus pour les AF du sol (deux échantillons nommés As1 et As2), à pH 6, les constantes suivantes de stabilité conditionnelles: As1 (Cu(II) – 5,95 ; Cd(II) – 5,96 ; Pb(II) - 6,04) ; As2 (Cu(II) – 5,95 ; Cd(II) – 5,49 ; Pb(II) - 5,86). Pour les AF avec origine dans l'eau (deux échantillons nommés AFa1 et AFa2) on a obtenue les constants conditionnels suivants: AFa1 (Cu(II) – 6,08 ; Cd(II) – 5,01 ; Pb(II) - 5,97) ; AFa2 (Cu(II) – 5,90 ; Cd(II) – 5,41 ; Pb(II) - 5,47). Par fluorescence moléculaire les constantes de complexation conditionnelles obtenue ont été : AFs2 (Fe(III) – 4,65 (pH 4) ; Fe (III) – 4,22 (pH 3) ; Al (III) – 6,42 (pH 5) ; Al (III) – 4,55 (pH 4)) ; AFa1 (Cu(II) – 4,46 (pH 6) ; Cu (II) – 3,72 (pH 4)) ; AFa2 (Hg(II) – 4,68 (pH 6) ; Cu (II) – 4,17 (pH 6) ; Cu (II) – 3,74 (pH 4) ; Fe (III) – 4,83 (pH 4) ; Fe (III) – 3,66 (pH 3) ; Al (III) – 6,65 (pH 5) ; Al (III) – 4,63 (pH 4)). On a ensuite réalisé une étude de la complexation entre les fractions de MOD et le cation urane (UO_2^{2+}), ayant au préalable obtenu les constantes de formation conditionnelles suivantes à pH 6: colloïdes (0,92) ; transphilique (0,99) ; et hydrophobes (0,79).

Enfin, pour déterminer la concentration de cations et d'anions, on a effectué des analyses à l'eau de la lagune du Caldeirão. Ces concentrations ont été nécessaires pour la réalisation de simulations informatiques avec le programme CHEAQS Pro de l'especiation chimique dans l'eau de la lagune. Ces simulations, outre les concentrations des espèces chimiques, ont eu par base les constantes de stabilité calculées pour les métaux étudiés. La simulation a permis de vérifier la contribution de MOD à la complexation des métaux dissous dans l'eau, la biodisponibilité s'en trouvant modifiée. Cet effet est plus expressif au fur et à mesure que la concentration de MOD augmente, surtout pour Cu(II), Cd(II) et Pb(II).

Abreviaturas

AF – Ácidos fúlvicos.
AH – Ácidos húmicos.
ANOVA – Análise de variância.
CG – Cromatografia gasosa.
CI – Cromatografia iónica.
COD – Carbono orgânico dissolvido.
DME – Estimativa do desvio médio.
EAA – Espectroscopia de absorção atómica.
ECD – Detector de captura de electrões.
EDP – Energias de Portugal.
EIA – Estudos de Impacto Ambiental.
Em. – Emissão.
ETA – Estação de tratamento de águas de abastecimento.
Ex. – Excitação.
FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy.*
HMQC – *Heteronuclear multiple quantum correlation.*
IHSS – *International humic substance society.*
IV – Infravermelho.
kD – kilodaltons.
kPa - kilopascal
kWh – Quilowatts por hora.
MCR-ALS – Resolução Multivariada de curvas – mínimos quadrados alternantes.
MEE – Matriz de excitação-emissão.
min – minutos.
NIST – *National Institute of Standards and Technology*
MOD – Matéria orgânica dissolvida.
MON – Matéria orgânica natural.
OR – Osmose reversa.
ORP – Potencial de oxidação redução.
PCA – Análise de componentes principais.
PNSE – Parque Natural da Serra da Estrela.
RMN – Resonância magnética nuclear.
s – segundo.
SH – Substâncias húmicas.
SQR – Soma dos quadrados dos resíduos.
TCOSY – *Total correlation spectroscopy.*
THM – Trihalometanos.
TMS – Tetrametilssilano.
UV-vis – Ultravioleta visível.
XAD – Resina não iónica de estireno divinilbenzeno.

1 INTRODUÇÃO

1.1 GÉNESE DO TRABALHO

1.1.1 EVOLUÇÃO HISTÓRICA

As substâncias húmicas (SH) têm sido objecto de estudo desde alguns séculos a esta parte, podendo ser definidas, à luz do conhecimento actual, como sendo substâncias orgânicas de origem natural geralmente possuindo uma coloração amarelo acastanhada, de elevado peso molecular e refractárias (Aiken *et al.*, 1985). Um marco histórico geralmente apontado sobre o início da investigação científica sobre a temática das SH são os trabalhos do alemão *Achard*, por volta de 1786, com a lavagem de uma amostra de solo com solução alcalina e posterior formação de um precipitado amorfo, de cor castanha, após acidificação, e ao qual se atribuiu a designação genérica de ácidos húmicos (Stevenson, 1982). Desenvolveu também o primeiro esquema de isolamento e classificação das SH, cuja designação deriva da palavra latina *humus* e que significa solo ou terra. *Saussure*, em 1804, usou a palavra húmus para descrever o material orgânico de cor castanha do solo, o qual era mais rico em C e pobre em H e O do que os tecidos das plantas de que derivavam (Steinberg, 2003). O primeiro estudo acerca da origem e natureza química das SH foi conduzido por *Sprengel*, tendo sido adoptados os procedimentos por ele desenvolvidos na preparação de ácidos húmicos do solo (pré tratamento do solo com solução ácida e posterior extracção com solução alcalina). Mas o seu grande legado foi a realização de extensos estudos sobre a natureza ácido-base destes compostos (Stevenson, 1982).

Durante o século XIX, a maior contribuição para o estudo das SH é atribuída ao sueco *Berzelius* pelo estudo das suas propriedades físico-químicas. Como resultado dos seus trabalhos ficou claro que as SH não eram compostos individuais e bem definidos mas uma mistura de moléculas capazes de interagir entre si. Esta descoberta acabou por diminuir o interesse sobre este tipo de substâncias, de tal forma que a segunda metade do século é marcada pela proliferação de esquemas de classificação e isolamento de novos produtos resultantes da decomposição de restos de plantas, solo,

e de misturas produzidas em laboratório. Apenas no início do século XX se voltaram a registar avanços significativos com os trabalhos de *Aschan*, o qual isolou por processos de precipitação química as SH, realizando a primeira análise elementar a estes compostos. Os trabalhos de *Óden* entre 1914 e 1922 puseram em evidência o papel das SH no transporte de catiões nos ecossistemas aquáticos bem como a sua contribuição para a própria cor das águas naturais. Propôs também a divisão das SH em húmus, ácidos húmicos, e ácidos fúlvicos, a qual se mantém ainda hoje válida (Steinberg, 2003). A origem do material húmico constituiu também um assunto de grande interesse na primeira metade do século XX. Duas teorias prevaleceram, uma advogando a origem a partir de tecidos lenhosos e outros resíduos de plantas, a outra considerando como principais fontes a celulose e os hidratos de carbono. *Maillard* (1912, 1913) a partir das suas investigações sobre a formação de materiais ou "pigmentos" amarelos acastanhados e castanhos-escuros através de refluxos de soluções de glicose e lisina defendia a tese de que as SH eram sintetizadas a partir de compostos simples resultantes da decomposição de restos de plantas (a qual está de acordo com a visão moderna sobre a formação de SH), nomeadamente por reacções de condensação entre açúcares e aminoácidos (Ikan *et al.*, 1996). O conceito de *Trusov* e *Kononova* postulava um conjunto de reacções sequenciais de humificação: decomposição com formação de substâncias simples de natureza aromática, oxidação destas últimas com formação de quinonas, e condensação das quinonas em SH (Stevenson, 1982). Ao contrário do postulado por *Maillard*, esta última teoria considerava a actividade microbiológica como fundamental no desenvolvimento de cada uma das etapas.

A introdução de métodos instrumentais de análise, como a espectroscopia de infravermelho, UV-Vis, fluorescência, cromatografia, análise elementar e análise de grupos funcionais permitiu um aumentou considerável do conhecimento sobre as SH. Estas técnicas permitiram diferenciar as SH de origem aquática e dos solos, servindo também para compreender os processos de humificação nas diferentes componentes

ambientais (Stevenson, 1982). Deste modo, a visão actual sobre a matéria orgânica ou o húmus inclui um largo conjunto de constituintes orgânicos, subdivididos em substâncias não húmicas e substâncias húmicas (Stevenson, 1982). As últimas décadas foram também marcadas pelo aparecimento de novas metodologias de isolamento e purificação das SH que permitiram a sua obtenção com um menor grau de contaminação, possibilitando uma melhor caracterização das suas propriedades físico-químicas (Leenheer *et al.*, 2001; Croué, 2004). Também a descoberta da formação de subprodutos da desinfecção, nomeadamente Trihalometanos (Clorofórmio, bromodiclorometano, clorodibromometano, e bromofórmio) nas águas de consumo da cidade de Roterdão (Rook, 1974), abriu um novo campo de investigação. Em 1976 o Instituto Nacional do Cancro dos Estados Unidos da América (EUA) publica um relatório onde estabelece uma forte ligação entre o clorofórmio e o aparecimento de neoplasias em animais de laboratório. Diferentes publicações científicas aduziram também a ocorrência de muitos outros compostos resultantes da reacção da matéria orgânica natural (MON) com os desinfectantes da água, muitos dos quais também apresentavam características teratogénicas, mutagénicas e/ou carcinogénicas (Fawell e Hunt, 1988; Horth, 1989; Holborn, 1990; Kronberg *et al.*, 1991). Na década de noventa surgiram igualmente estudos epidemiológicos que associavam os subprodutos resultantes da cloragem das águas com o aparecimento de abortos espontâneos, baixo peso em recém-nascidos e mal formações fetais (Mills *et al.*, 1998). Não podemos deixar de referir, no entanto, que estes estudos epidemiológicos têm sido apontados como inadequados para demonstrar de forma definitiva a correlação entre os subprodutos da desinfecção e as consequências que lhe estão normalmente atribuídas (Graves *et al.*, 2001). Actualmente, uma das grandes áreas de investigação das SH está focada precisamente no estudo dos potenciais perigos para a saúde pública, resultantes da desinfecção das águas (Liao *et al.*, 2001) e na forma de evitar o aparecimento dos seus subprodutos. Importante correlação entre a MON e o seu potencial para gerar THM, após a adição de desinfectante, foi demonstrada por Chang

et al. (1998) e que tem sido associada com estruturas aromáticas com cadeias laterais oxigenadas em posição meta ou a estruturas alifáticas como anéis de ciclohexano com estruturas do tipo cetona (Uyguner *et al.*, 2004). Apesar da formação de subprodutos, a desinfecção constitui um dos maiores triunfos das políticas de defesa da saúde pública do século XX. Antes da sua utilização em larga escala, milhares de pessoas morriam devido a doenças infecciosas de origem hídrica, tais como a febre tifóide ou a cólera. Ainda recentemente em *Milwaukee* (Wisconsin, EUA), a contaminação das águas de consumo público pelo protozoário *cryptosporidium* provocou a infecção de mais de quatrocentas mil pessoas, das quais mais de cem acabaram por falecer (Maier *et al.*, 2000). Em contra ponto, o poder desinfectante que permite a eliminação dos microrganismos presentes na água é, igualmente responsável pela oxidação da MON presente na água levando à formação dos subprodutos da desinfecção. Cloro, ozono, dióxido de cloro, e cloroaminas são os desinfectantes mais frequentemente usados nas estações de tratamento de água (ETA) sendo que cada um deles gera os seus subprodutos característicos na água final. Aproximadamente 600 a 700 subprodutos foram divulgados na literatura e, no caso do tratamento com ozono ou cloro, mais de sessenta por cento dos compostos gerados no processo são ainda desconhecidos (Richardson, 2003). A desinfecção de piscinas públicas tem também merecido a atenção da comunidade científica nos últimos anos, pois o processo de tratamento é análogo ao efectuado nas ETA, com a agravante que a água é recirculada permitindo que a concentração dos THM atinja valores muito superiores aos verificados para as águas de consumo. Além do mais o clorofórmio pode ser absorvido pelos banhistas através da pele ou por inalação (Erdinger, *et al.*, 2004). Por fim, é de referir, que os THM constituem também um problema ambiental, pois não sendo biodegradáveis, podem ser encontrados, por exemplo, em águas subterrâneas (Shemer *et al.*, 2005).

Outra área de investigação mais recente prende-se com as alterações climáticas, visíveis, por exemplo, no aquecimento global, na precipitação de chuvas ácidas e no aumento da radiação ultravioleta. As causas não são amplamente

conhecidas e o debate sobre a preponderância das causas antropogénicas, relativamente a possíveis manifestações decorrentes da variabilidade climática natural, continuam (Corti *et al.*, 1999). Contudo, independentemente das causas, estas alterações irão deixar a sua marca nos ecossistemas, principalmente naqueles que são mais sensíveis. As alterações climáticas afectam a vegetação, o solo, as condições hidrológicas e, subsequentemente o balanço de carbono orgânico nos solos e nas águas. Ou seja, uma alteração da quantidade e qualidade da MOD ocorrerá nas massas de água, a qual irá induzir variações na capacidade de penetração da luz solar, nos ecossistemas aquáticos. Maiores quantidades de MOD podem fornecer uma protecção biogeoquímica natural contra os raios ultravioletas (Hessen e Faerovig, 2001), podendo as SH funcionar como escudos protectores contra a radiação (Campbell *et al.*, 1997), ou pelo contrário, os radicais de oxigénio actuarem sobre a superfície celular danificando-a. A influência das alterações climáticas na reciclagem dos materiais, em especial da matéria orgânica, constitui actualmente um vasto campo para a investigação na área da química ambiental.

1.1.2 MATÉRIA ORGÂNICA

A expressão matéria orgânica natural (MON) tem sido utilizada para designar toda a matéria orgânica existente nos diferentes reservatórios da biosfera, a qual difere da matéria orgânica viva e dos compostos com origem antrópica. Cerca de vinte por cento da MON encontrada nos ecossistemas consiste em compostos cuja estrutura química é perfeitamente definida e conhecida, tal como hidratos de carbono, aminoácidos, ou ácidos gordos. Os restantes oitenta por cento correspondem a matéria orgânica detritiva com uma estrutura química indefinida (Thurman, 1985). Semelhante distribuição, baseada em valores médios para solos agrícolas, é feita por Schnitzer (1991) onde aproximadamente 70% da matéria orgânica são SH e os restantes 30% são distribuídos por substâncias lipídicas, compostos azotados e hidratos de carbono. A matéria orgânica presente no ambiente, nomeadamente nas

águas e no solo, apresenta uma composição química diversa e com níveis de complexidade variáveis. As estruturas químicas relativamente mais simples são, por norma, de fácil assimilação, pelo que, o tempo de permanência no meio ambiente é relativamente curto. Outros compostos, como por exemplo as SH resultantes da decomposição incompleta de restos de animais e plantas, pelo contrário, apresentam uma maior estabilidade, permanecendo no meio por períodos de tempo mais longos, sendo frequentemente designados por matéria orgânica refractária, com um tempo médio de residência entre centenas e milhares de anos (Allison, 1973; Buffle, 1990). A noção de matéria orgânica refractária ou inerte tem que ser aqui entendida sob o ponto de vista da sua permanência e estabilidade no meio ambiente, em virtude da sua difícil degradação química e microbiológica, e não sob o ponto de vista da capacidade de interacção química ou biológica. Em resumo, a diferenciação é realizada com base em critérios de composição química. As substâncias não húmicas são de natureza definida, tal como os aminoácidos, os hidratos de carbono, proteínas ou ácidos orgânicos. Pelo contrário, as SH são moléculas complexas e como tal constituem um grupo de compostos moleculares heterogéneos sem uma estrutura química perfeitamente definida.

1.1.3 SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

As substâncias húmicas constituem um grande grupo de compostos orgânicos formados no ambiente, nomeadamente no solo e na água, que em virtude da sua complexidade estrutural são tipicamente definidos como incluindo todos os compostos orgânicos do solo, da água e dos sedimentos com excepção das proteínas, polisacarideos e lípidos (Buffle, 1990). Uma vez que os organismos vivos são constituídos por uma grande diversidade de compostos orgânicos, a sua degradação e recombinação dos produtos resultantes pode levar à formação de uma variedade imensa de diferentes estruturas orgânicas, não sendo pois de estranhar as propriedades que estas substâncias apresentam.

As SH são operacionalmente divididas em três fracções designadas de ácidos fúlvicos, húmicos e huminas. Os ácidos fúlvicos são, entre as SH, a fracção que é solúvel sob qualquer condição de pH, os ácidos húmicos consistem na fracção que é precipitada em solução aquosa a pH inferior a 2 e as huminas correspondem à fracção que não é solúvel para qualquer valor de pH (Aiken *et al.*, 1985). Uma das propriedades comum às SH é o seu elevado peso molecular o qual pode variar entre aproximadamente os 500 até mais de 100000 Daltons (Hedges, 1988) explicando em parte a complexidade estrutural destes compostos químicos. Os ácidos fúlvicos representam a fracção com menor peso molecular (algumas centenas a milhares de Daltons) enquanto os ácidos húmicos apresentam um peso entre os milhares e as centenas de milhares de Daltons (Buffle, 1990). Uma vez que as moléculas bioquímicas tais como os hidratos de carbono, aminoácidos ou ácidos gordos apresentam pesos moleculares inferiores a 500 Daltons, pode-se inferir que as SH resultam de processos de polimerização, bióticos ou abióticos, desses precursores. As SH apresentam também uma grande diversidade química, onde podemos encontrar estruturas alifáticas e aromáticas, nomeadamente grupos carboxílicos, hidroxílicos e fenólicos (Bollarg *et al.*, 1998).

A procura de uma estrutura para as substâncias húmicas pode dizer-se que teve várias fases desde a introdução de conceitos e nomenclaturas até à apresentação de fórmulas estruturais detalhadas. Dragunov *et al.* (1948) propuseram um modelo com anéis aromáticos ligados por várias pontes, como apresentado na Figura 1.1, e onde os grupos funcionais das SH são os mesmo das substâncias não húmicas como, por exemplo, hidratos de carbono e aminoácidos.

Apesar de muitas décadas de investigação não existe, ainda hoje, uma estrutura universalmente aceite, surgindo uma variedade de estruturas como a indicada na Figura 1.2 com a fórmula molecular $C_{342}H_{388}O_{124}N_{12}$ e uma massa molecular de aproximadamente 6650 $gmol^{-1}$, proposta por Schnitzer e Schulten (1998). A composição final destas macromoléculas está dependente de diversos factores,

entre os quais destacamos a sua origem, o tempo de degradação e factores abióticos tais como as condições climáticas.

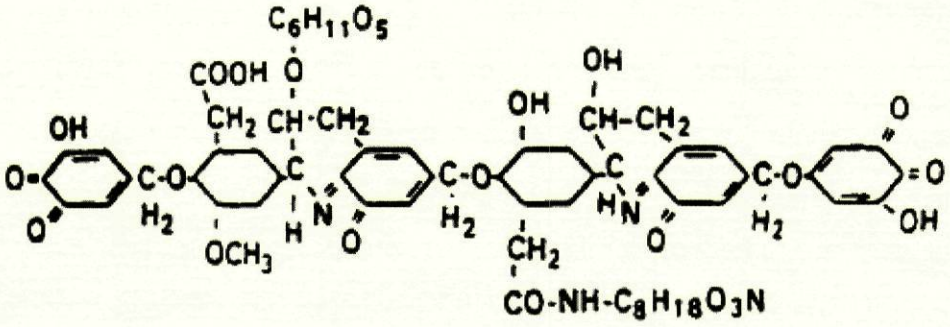


Figura 1.1 Modelo estrutural proposto para os ácidos húmicos de acordo com Dragunov *et al.* (1948).

As SH são importantes do ponto de vista ambiental pois representam a principal forma de matéria orgânica distribuída no planeta, sendo encontradas não apenas no solo, mas também nas águas naturais, pântanos, sedimentos aquáticos e marinhos. As propriedades físico-químicas dos solos e sedimentos são, em grande medida, controladas por este tipo de compostos. O facto de serem estruturas moleculares heterogéneas leva a que estas possuam, normalmente, uma boa capacidade tampão na variação do pH, permitindo igualmente um controlo químico sobre o meio. Dependendo das condições do meio são capazes de influenciar a redução de espécies metálicas, adsorver compostos orgânicos e inorgânicos, complexar iões metálicos e dessa formar influenciar o transporte, acumulação, toxicidade, biodisponibilidade de espécies químicas e nutrientes para plantas e outros organismos. As SH, nomeadamente os ácidos fúlvicos e húmicos quando presentes nas águas para consumo humano reagem com o cloro livre, normalmente utilizado como processo de desinfecção, conduzindo à formação de compostos orgânicos halogenados, genericamente designados como subprodutos da desinfecção.

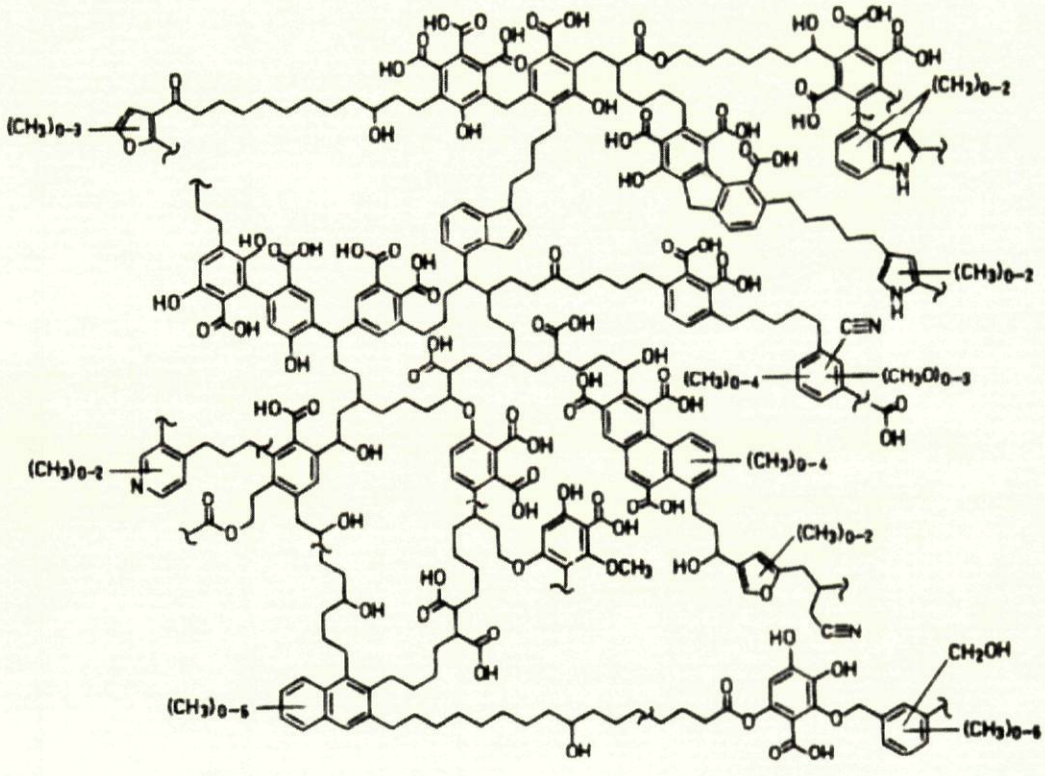


Figura 1.2 Modelo estrutural proposto para as substâncias húmicas (Schulten e Schnitzer, 1992).

1.1.4 FRACCIONAMENTO DA MATÉRIA ORGÂNICA

Como referido anteriormente, a matéria orgânica presente nos solos e sedimentos consiste numa mistura de produtos, em estágios de decomposição distintos, resultantes da degradação química e biológica de resíduos de vegetais e animais, além da actividade metabólica dos microrganismos. A matéria resultante é designada de húmus, na qual podemos englobar as substâncias húmicas e as substâncias não húmicas.

As SH apresentam uma estrutura química de grande dimensão contendo um elevado número de grupos funcionais e com uma elevada complexidade tridimensional. Contudo, evidências recentes mostram que estas super estruturas são na realidade pequenas biomoléculas associadas entre si através de forças dispersivas

fracas (ligações hidrofóbicas, ou ligações de hidrogénio) e que são responsáveis pela aparente grande dimensão das moléculas. Deste grupo fazem parte os ácidos fúlvicos (AF), os ácidos húmicos (AH), e as huminas (Steinberg, 2003). O fraccionamento das SH nestes três grupos não é baseado na composição química de cada um deles mas nas diferenças de solubilidade a pH ácido ou alcalino (Figura 1.3). Sob condições ácidas, os grupos carboxílicos não se encontram dissociados, podendo as moléculas adsorver a uma estrutura hidrofóbica como, por exemplo, uma resina do tipo XAD. A utilização de técnicas de extracção através de resinas não iónicas do tipo XAD e/ou resinas trocadoras iónicas mais especificas, constituem uma aproximação mais global que permite a distinção de diferentes classes de compostos no seio da matéria orgânica dissolvida.

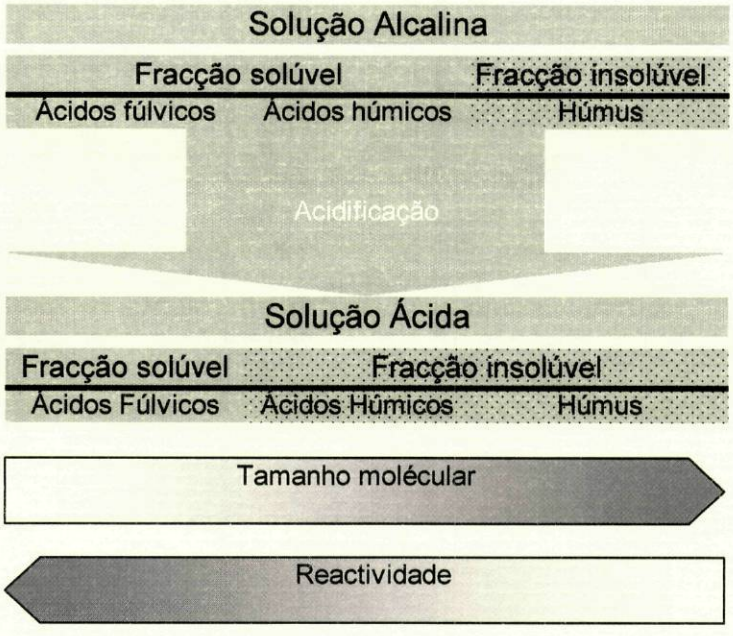


Figura 1.3 Fraccionamento das substâncias húmicas em função da sua solubilidade para meios ácidos, neutros e alcalinos. Adaptado de Steinberg (2003).

As bases orgânicas, em meio ácido, não podem ser adsorvidas a uma resina hidrofóbica uma vez que os grupos amina ($-NH_2$) se encontram protonadas ($-NH_3^+$), sendo no entanto adsorvidas à resina sob condições de pH neutro ou básico (Figura

1.4). Os ácidos orgânicos, pelo contrário, serão adsorvidos sob condições ácidas e não alcalinas ou neutras. O método de extracção proposto por Thurman e Malcolm (1981) assenta nas propriedades de solubilidade (polaridade, massa molecular) dos compostos orgânicos presentes na água. Este permite distinguir duas grandes fracções: os compostos ditos hidrofóbicos, adsorvidos na resina XAD8 a pH ácido e representados essencialmente pelas substâncias húmicas; e os compostos hidrofílicos que englobam a MOD não adsorvida pela mesma resina. Os compostos de baixo peso molecular (inferior a 1 kD) incluem tipicamente ácidos gordos, açúcares e aminoácidos. A fracção de elevado peso molecular (superiores a 1 kD) inclui maioritariamente substâncias húmicas e em menor quantidade proteínas e hidratos de carbono e outras macromoléculas não húmicas.

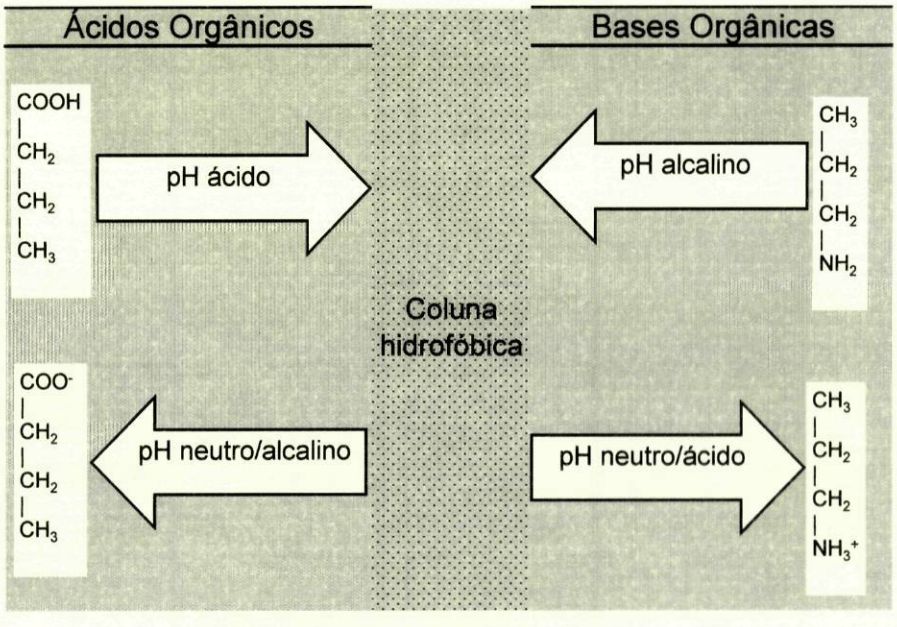


Figura 1.4 Fenómeno de adsorção e desadsorção das substâncias húmicas em função do pH do meio. Adaptado de Steinberg (2003).

Novos métodos de fraccionamento da matéria orgânica presente na água foram recentemente propostos (Leenheer *et al.*, 2001; Croué, 2004) de forma a permitir a separação de diferentes fracções da matéria orgânica. O processo permite a

obtenção de quatro fracções principais, a fracção colóide, hidrofóbica, transfílica e hidrofílica. Os colóides incorporam as estruturas de matéria orgânica de maior peso molecular que no caso concreto da proposta de fraccionamento de Leenheer e Croué representam as moléculas de peso molecular superior a 3,5 kD. A fracção transfílica representa a componente orgânica que possui características intermédias entre as fracções hidrofóbicas e hidrofílicas. Em geral, 20 a 30% da matéria orgânica dissolvida nas águas naturais é constituída por componentes hidrofílicas que não são passíveis de ficar adsorvidas em resinas do tipo XAD8 e XAD4 (Gaffney *et al.*, 1996). O processo de fraccionamento consiste na acidificação da solução a pH 1 e a sua colocação em saco de diálise com capacidade de poro de 3,5 kD permitindo desta forma a retenção nos sacos de diálise da fracção coloidal. A solução dialisada é depois eluída sequencialmente através de resinas XAD8 e XAD4. A extracção da amostra retida nas resinas permite obter a fracção hidrofóbica e transfílica, respectivamente. A partir da solução eluída pelas resinas e após diversas etapas é possível obter a componente hidrofílica ácida e neutra e a componente hidrofílica básica (Figura 1.5).

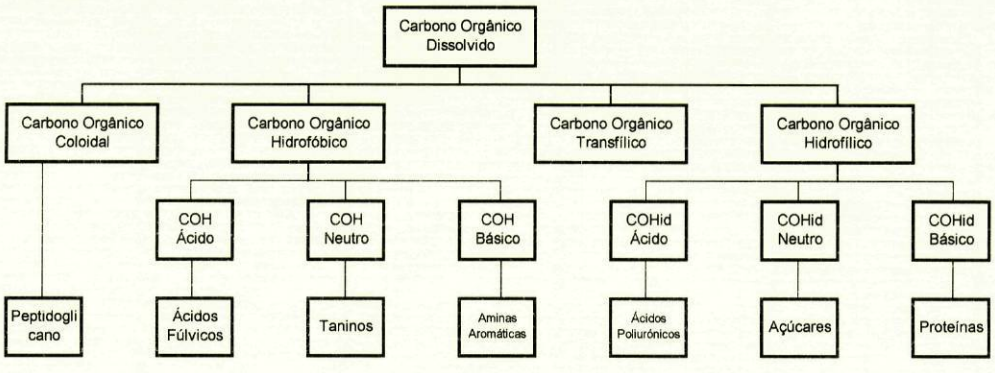


Figura 1.5 Fraccionamento da matéria orgânica dissolvida na água segundo Leenheer (2004).

1.1.5 FORMAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

As substâncias húmicas são ubiquitárias o que indica que muitos precursores e muitas vias de formação existem, das quais apenas algumas delas são conhecidas e compreendidas. De acordo com o tradicional ponto de vista do processo de humificação, existem duas vias pelas quais as SH se podem formar. Uma via degradativa, na qual as macromoléculas resultantes de restos de animais e plantas são parcialmente degradadas em SH e uma via de condensação e polimerização.

De acordo com a via degradativa, as plantas vasculares e não vasculares, os microrganismos e os animais, são decompostos. Durante a degradação as macromoléculas lábeis, como os hidratos de carbono e as proteínas, são degradadas e perdidas enquanto os compostos refractários ou os biopolímeros, como por exemplo a lenhina, macromoléculas parafínicas, melaninas e cutinas, são selectivamente transformadas para produzir precursores de humina com grande massa molecular. A oxidação subsequente destes materiais gera um aumento dos grupos funcionais contendo átomos de oxigénio. A continuação deste processo permite que as moléculas se tornem mais pequenas e hidrofílicas e consequentemente mais solúveis (Figura 1.6).

A via alternativa é baseada na ideia da condensação e polimerização. Esta teoria sugere que os biopolímeros provenientes dos restos de animais e plantas são inicialmente degradados dando origem a moléculas mais pequenas, as quais são novamente polimerizadas para formar substâncias húmicas. A consequência deste esquema é que os ácidos fúlvicos serão os precursores dos ácidos húmicos e depois das huminas (sequência inversa à preconizada pela teoria degradativa). Esta hipótese pode explicar a considerável semelhança das substâncias húmicas formadas a partir de diversas macromoléculas precursoras, em diferentes ambientes.

As duas teorias descritas embora por caminhos reactivos diferentes podem ambas representar e explicar a formação das substâncias húmicas, sendo que cada uma delas assume uma maior ou menor importância consoante o ambiente envolvente. Por exemplo, a hipótese degradativa pode predominar em sedimentos e

no meio aquático em geral, enquanto em solos sujeitos a um clima continental a teoria da condensação e polimerização representa, de forma predominante, os processos biogeoquímicos que se desenrolam.

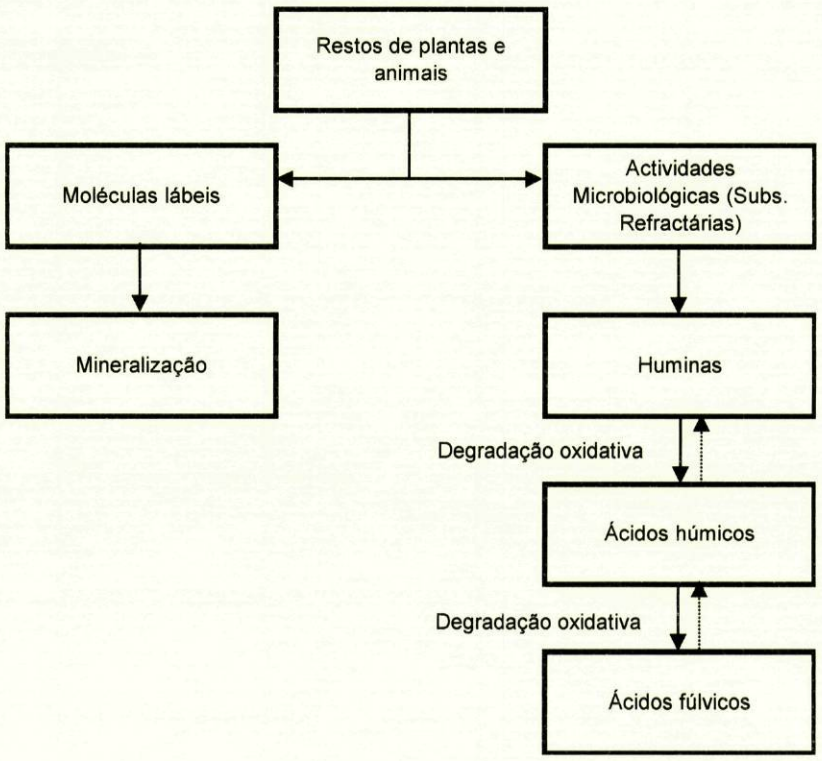


Figura 1.6 Formação das huminas, ácidos húmicos e ácidos fúlvicos segundo a teoria degradativa (→) e segundo a via de condensação e polimerização (----→). Adaptado de Steinberg (2003).

1.1.6 INTERACÇÃO DOS IÕES COM A MATÉRIA ORGÂNICA

A exploração extensiva dos recursos naturais, nomeadamente dos solos e subsolos, para assegurar o desenvolvimento das sociedades modernas, tem conduzido a uma alteração significativa dos ciclos biogeoquímicos. Como consequência, observam-se descargas de resíduos das mais diversas origens para a atmosfera, solo e água, os quais acabam por se acumular em toda a biosfera e consequentemente nos

organismos. De entre estas substâncias podemos destacar os metais traço, os quais são necessários em quantidades diminutas para o perfeito funcionamento dos sistemas vivos (Odum, 2001). Uma das funções destes metais é a participação como catalisadores ou cofactores em processos enzimáticos fundamentais para a célula (Weil, 2000). Apesar de estes serem essenciais para a actividade biológica, muitos deles são tóxicos quando presentes em concentrações elevadas. Para alguns deles a faixa de concentração entre a classificação de essencial e de elemento tóxico é na realidade muito estreita (Luoma, 1983). Factor importante a ter em consideração é o fenómeno de bioacumulação e de bioamplificação que se traduz na acumulação dos metais tóxicos a partir de níveis tróficos mais baixos. Os organismos produtores que estão na base das teias alimentares concentram nos seus organismos estes elementos químicos que irão fluir ao longo de toda a cadeia alimentar e que se encontrarão em concentrações mais elevadas nos organismos de níveis tróficos superiores e que podem ser centenas de vezes maiores às encontradas nas águas ou no ar (Krebs, 2001). Nos ambientes aquáticos a toxicidade dos metais depende mais da espécie química em que se encontra presente do que propriamente da sua concentração total. Um conjunto de processos ambientais e biológicos influencia a acessibilidade dos metais aos organismos, afectando assim a sua biodisponibilidade e toxicidade. Factores ambientais como a salinidade, pH, força iónica, dureza da água (Lores e Pennock, 1998; Cao *et al.*, 2004) e a presença de matéria orgânica (Gorbi *et al.*, 2002) são capazes de alterar a biodisponibilidade e consequentemente a toxicidade dos metais no meio ambiente. Diferentes estudos colocam em relevo a influência dos AF na toxicidade dos iões metálicos (McKnight, 1981; Reuter e Perdue, 1977; Saar e Weber, 1982). Estes podem reduzir a disponibilidade biológica, a sua toxicidade e podem apresentar um comportamento de tampão iónico. Assim, é de toda a relevância compreender os factores que influenciam a especiação dos elementos químicos nas águas naturais. Uma vez que um dos agentes complexantes mais importantes são as SH e dentro destas os AF, que sendo solúveis para qualquer valor

de pH contribuem para a sua dispersão, é importante conhecer as condicionantes que influenciam a interacção dos metais com este tipo de moléculas, especialmente quando a formação do complexo afecta o transporte e a biodisponibilidade dos metais no ambiente. Embora a ligação do metal à matéria orgânica reduza a biodisponibilidade, na verdade os AF aumentam a sua mobilidade facilitando o movimento através do solo e da água.

Se as propriedades químicas dos AF são muito importantes na explicação da sua interacção com iões metálicos também as propriedades dos próprios iões são relevantes para a explicação dos complexos formados e da toxicidade inerente. Os metais foram classificados em três classes distintas (Nieboer e Richardson, 1980) de acordo com as suas características iónicas ou covalentes (Figura 1.7). Assim foi considerada a classe A (ácidos fortes, ligações fortes a grupos de oxigénio), classe B (ácidos fracos, ligações fortes a grupos azoto e enxofre) e uma classe intermédia ou ambivalente. Em geral, é considerado que, para um dado valor fixo de raio iónico a toxicidade aumenta com o aumento do índice covalente e para um dado valor do índice covalente a toxicidade aumenta com o aumento do índice iónico (Elkins e Nelson, 2002).

Muitos iões metálicos no estado livre estão a aparecer em maiores concentrações nas águas naturais como consequência das chuvas ácidas (Elkins e Nelson, 2002) e outros processos ambientais e industriais (explorações mineiras e processamento de metais). Um exemplo é o alumínio, que se apresenta como o segundo elemento metálico mais abundante da crosta terrestre (8%) e sob condições normais de pH (6 a 9) se encontra na fase mineral, sob a forma de gibsite e caulinite (Stumm e Morgan, 1981). O ião alumínio afecta marcadamente os sistemas biológicos (Martin, 1996; Nelson, 1996; Corain *et al.*, 1996), tendo sido demonstrada em vivo e *in vitro* (Williams, 2002; Berthon, 1996, 2002) a sua influência no desenvolvimento de doenças do foro neurológico.

O aumento da concentração do cobre no meio natural está intimamente relacionado com a utilização deste elemento em diversas actividades industriais como a produção de cabos eléctrico e ligas metálicas. É também usado como aditivo nas tintas e preservante para madeira, dada a sua acção no controlo do crescimento de algas, bactéria e fungos (Crosby, 1998; Newman e Unger, 2003). O cobre é um elemento traço encontrado naturalmente no meio ambiente e que é necessário, em pequenas concentrações, para o desenvolvimento dos organismos vivos, sendo pois um micro nutriente essencial nos animais, para a síntese da hemoglobina e nas plantas para a síntese da clorofila, estando também presente nos citocromos da cadeia respiratória. No entanto, em concentrações mais elevadas o cobre é responsável por efeitos deletérios diversos (Newman e Unger, 2003). Embora tóxico em elevadas concentrações, para valores baixos de pH, é facilmente complexado pela matéria orgânica dissolvida (Esteves da Silva *et al.*, 1997; Wolf, 1999) dada a sua fácil ligação com grupos carboxílicos, fenólicos, hidroxílicos e carbonílicos (Senesi, 1992), o que reduz a fracção biodisponível e consequentemente a sua toxicidade.

O chumbo é ubiquitário e um dos mais largamente distribuídos, devido à sua grande utilização nos combustíveis, soldaduras, pigmentos, tintas, cerâmicas entre muitas outras aplicações (Baird, 1999). A exposição crónica ao chumbo é responsável por inúmeras disfunções neuronais, mal formações dos tecidos ósseos, baixo peso em recém-nascidos, disfunções do sistema endócrino (Ronis *et al.*, 2001) entre outros efeitos negativos no desenvolvimento dos mamíferos. A regulamentação que eliminou a adição de chumbo às gasolinas e a eliminação deste elemento das canalizações tem contribuído para uma diminuição dos níveis de chumbo nos tecidos humanos nas últimas décadas (Manahan, 2002).

O cádmio é um agente tóxico e carcinogénico (Lauwerys *et al.*, 1990; Gomes *et al.*, 2005), muito utilizado na produção de ligas metálicas, como estabilizador plástico, em pigmentos, baterias e outros numerosos produtos. Encontra-se muito associado ao elemento zinco, pelo que qualquer actividade ou produto onde o este seja utilizado o

cádmio encontra-se também presente. Em termos biológicos tem relevância a ligação do cádmio a grupos sulfidrílicos em proteínas e à sua acção como disruptor endócrino (Chedrese *et al.*, 2006; Takiguchi e Yoshihara, 2006).

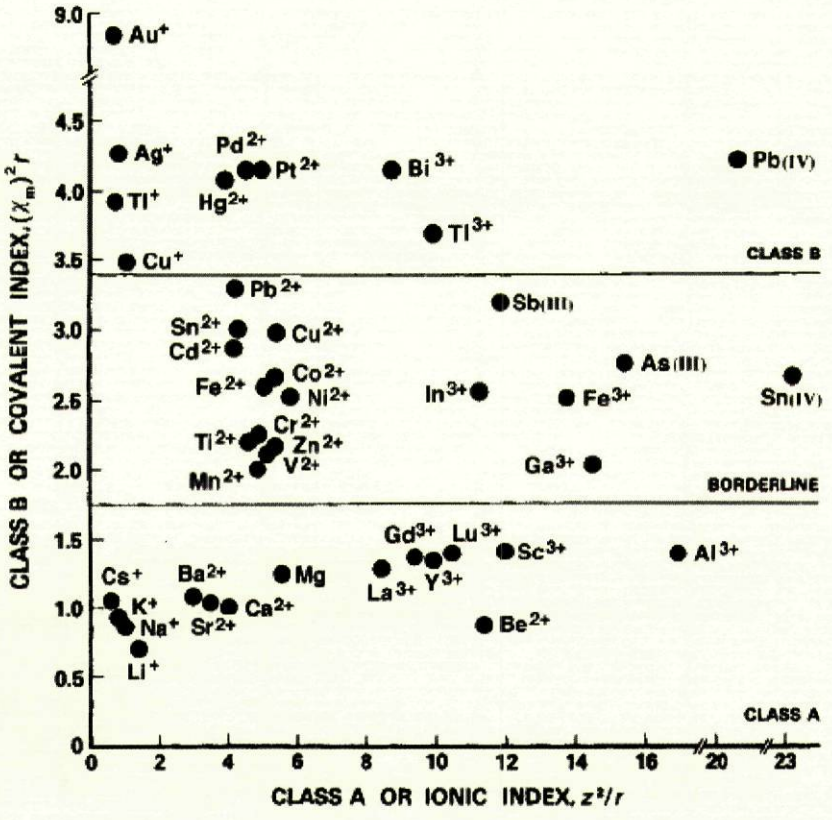


Figura 1.7 Diagrama de separação de iões metálicos e metalóides: classe A, classe B e ambivalente. (segundo Nieboer e Richardson, 1980). Onde χ_m representa a electronegatividade de Pauli, r o raio iónico e z a carga iónica formal.

O mercúrio é emitido para o meio ambiente através de fontes naturais e antropogénicas, tendo estas últimas aumentado no decorrer do último século. As emissões antropogénicas incluem fontes localizadas (diversas actividades industriais) e geograficamente dispersas (deposições atmosféricas provenientes de combustíveis fósseis e incineração de resíduos). O mercúrio é usado na indústria electrónica e na indústria química como catalisador. O seu lançamento para o meio ambiente pode ser feito através da descarga de resíduos provenientes de laboratórios químicos, baterias,

aplicação de fungicidas e produtos farmacêuticos (Manahan, 2002). O ambiente químico e físico afecta a especiação e a biodisponibilidade, o que tem influência na transferência trófica através da teia alimentar. Enquanto a maioria do mercúrio emitido para o meio ambiente está sob a forma inorgânica, o metilmercúrio é a forma dominante encontrado nos peixes (Bloom, 1992). Os factores que controlam o processo de metilação são pois críticos no desenvolvimento da exposição dos organismos ao risco. A biometilação ocorre nos sedimentos de lagos, rios, estuários e outras massas de água. Os microrganismos, entre os quais bactérias redutoras de enxofre, podem proceder à metilação do mercúrio em ambientes aeróbios e anaeróbios, embora a taxa de metilação seja muito superior em condições anaeróbias (Maier *et al.*, 2000). O baixo valor de pH e a concentração elevada de matéria orgânica dissolvida estão associados ao aumento da produção de metilmercúrio e biodisponibilidade para os peixes em água doce (Driscoll *et al.*, 1995; Jaffé *et al.*, 1997). A formação de metilmercúrio aumenta a solubilidade na água assim como a volatilidade e biodisponibilidade.

O ferro aparece no solo e nas rochas, principalmente sob a forma insolúvel, em especial sulfureto de ferro e carbonato ferroso. Os principais minérios de ferro são a magnetite, hematite e a limonite (Mendes e Oliveira, 2004). O teor de ferro no meio ambiente é variável e está dependente das condições físicas e químicas, além dos efeitos antropogénicos. É um elemento essencial à vida, uma vez que faz parte da molécula da hemoglobina, de algumas ferroproteínas e de alguns sistemas de oxidação biológica. Efeitos tóxicos foram apenas encontrados em crianças e com alguns efeitos do foro digestivo. Contudo, e embora o ferro constitua o metal de transição mais abundante no corpo humano e esteja associado ao metabolismo celular, alguns estudos apontam para que o excesso de ferro possa ser indutor de células tumorais (Stevens e Kalkwart, 1990).

O urânio é utilizado na produção de energia nuclear e na produção de equipamentos militares e armamento (Fifield e Haines, 2000). Os óxidos de urânio são

também usados na produção de cerâmica e vidro (Crosby, 1998; Domingo, 2001; Newman e Unger, 2003). A exposição ao urânio pode resultar em efeitos tóxicos químicos e radiológicos (Hindin *et al.*, 2005). O principal efeito químico associado com a exposição ao urânio e seus compostos ocorre ao nível dos rins, ossos e pulmões e sistema reprodutor (Domingo, 2001) tendo sido também relatados efeitos tumorais em células humanas (Miller *et al.*, 1998; Miller *et al.*, 2002), efeitos teratogénicos e acções miméticas de estrogénios em ratos (Hindin *et al.*, 2005). O efeito tóxico pode estar associado à respiração de ar contendo poeiras de urânio ou pela ingestão de substâncias contendo urânio e que depois entra na corrente sanguínea. Uma vez na corrente sanguínea o urânio é filtrado nos rins onde se irá acumular e exercer os seus efeitos negativos sobre a saúde. Os isótopos de urânio emitem radiação do tipo α, as quais têm pouca capacidade de penetração pelo que o maior problema surge quando as partículas de urânio são inaladas ou ingeridas. A exposição prolongada a este elemento aumenta a probabilidade de desenvolvimento de neoplasias.

1.2 OBJECTIVO DO TRABALHO

Embora as SH sejam conhecidas há décadas, somente nos últimos 30 anos tem aumentado o interesse pelo estudo destas substâncias. Este interesse recente explica-se principalmente, pela consciencialização sobre a importância de manter e melhorar a qualidade química das águas de consumo humano e em consequência conhecer os ciclos e destinos finais dos poluentes lançados no ambiente. Neste contexto, o entendimento dos mecanismos pelos quais as SH interferem no tratamento de águas, o conhecimento dos fenómenos que regem o transporte, labilidade e complexação de metais e compostos orgânicos antropogénicos são importantes do ponto de vista ambiental. Do conjunto de SH, merece atenção especial para os sistemas aquáticos, em virtude da sua solubilidade, os ácidos fúlvicos (AF) e as fracções de MOD. Os AF interactuam com praticamente tudo o que existe na água, incluindo metais vestigiais,

óxidos metálicos, carbonatos de cálcio, herbicidas, hidrocarbonetos, proteínas, entre outros. São suficientemente hidrofílicos para serem facilmente transportados, afectando a distribuição das substâncias a eles associados.

É assim objectivo deste trabalho proceder à caracterização da matéria orgânica do solo e da água da albufeira do Caldeirão, nomeadamente dos AF e da fracção colóide, hidrofóbica e transfílica da água. Para que tal objectivo seja atingido diversas técnicas espectroscópicas, potenciométricas, bem como a análise elementar serão utilizadas. Estas técnicas serão também usadas na quantificação das capacidades complexantes dos AF com alguns catiões metálicos, tais como Cu(II), Cd(II), Pb(II), Hg(II), Fe(III), Al(III) e UO_2^{2+}. É também nosso objectivo a simulação do processo de tratamento da água para consumo humano, nomeadamente do processo de desinfecção, no sentido de se conhecerem as variáveis mais importantes na formação dos subprodutos da desinfecção, em concreto dos trihalometanos previstos no Decreto-Lei 243/2001 de 5 de Setembro (clorofórmio, bromofórmio, dibromoclorometano, e bromodiclorometano). No final serão também efectuadas algumas simulações de especiação química em função da capacidade complexante dos AF com os catiões estudados.

1.3 ORGANIZAÇÃO DA TESE

Esta tese de dissertação está estruturada em oito partes. Nesta primeira parte, introdução, é apresentada uma breve referência histórica acerca do desenvolvimento do estudo sobre as SH, as definições e propriedades destes compostos químicos, e os objectivos do presente trabalho.

Na segunda parte é feita uma breve caracterização do território onde se insere a albufeira do Caldeirão, focando aspectos como o clima, geologia e geomorfologia, paisagem e valores biológicos. São também referidas as principais características da albufeira e do rio Mondego que a abastece.

Na terceira parte é focada a metodologia experimental, os métodos de extracção dos AF e da fracção colóide, transfílica e hidrofóbica, os reagentes e os equipamentos usados no desenvolvimento do trabalho experimental.

Na quarta parte, a caracterização das fracções de MOD (AF, fracção colóide, hidrofóbica e transfílica) é realizada através de técnicas como análise elementar, potenciometria e espectroscopia (UV-Vis, Infravermelho, Fluorescência e RMN).

A quinta parte, é dedicada ao estudo da formação de subprodutos da desinfecção, através da simulação laboratorial do processo de desinfecção da água, contendo quantidades conhecidas de MOD e a análise factorial dos factores que afectam a formação dos THM.

A sexta parte desta dissertação foca a complexação de catiões metálicos pela fracção de MOD, analisando as propriedades ácido-base das fracções de MOD e da sua interacção com iões metálicos, nomeadamente dos catiões Cu(II), Cd(II), Pb(II), Hg(II), Al(III), Fe(III) e UO_2^{2+}, através do uso de técnicas potenciométricas e de fluorescência molecular.

Na sétima parte, são realizadas simulações computacionais, utilizando o programa CHEAQS Pro, visando a interacção da matéria orgânica com catiões metálicos tendo por base as constantes de estabilidade condicionais obtidas no ponto anterior e na análise físico-química das águas da albufeira.

Finalmente, na oitava e última parte, são referidas as conclusões resultantes do trabalho prático desenvolvido e dos resultados obtidos.

1.4 BIBLIOGRAFIA

Aiken, G. R., McKnight, D. M., Wershaw, R. L., MacCarthy, P. (1985) An introduction to humic substances in soil sediment and water. John Wiley and Sons, New York (USA).

Allison, F. E. (1973) Soil Organic Matter and Its Role in Crop Production, Elsevier Scientific Publishing, Amsterdam (Holland).

Baird, C. (1999) Environmental Chemistry, 2th edition, Freeman and Company, New York (USA).

Berthon, G. (1996) Chemical speciation studies in relation to aluminium metabolism and toxicity, Coord. Chem. Rev., 149, 241-280.

Berthon, G. (2002) Aluminium speciation in relation to aluminium bioavailability, metabolism and toxicity, Coord. Chem. Rev., 228, 319-341.

Bloom, N. S. (1992) On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissue. Can. J. Fish Aquat. Sci., 49, 1010-1017.

Bollag, J. M., Dec, J., and Huang, P.M. (1998) Formation mechanisms of complex organic structures in soil habitats, Adv. in Agronomy, 63, 237-266.

Buflle. J. (1990) The analytical challenge posed by fulvic and humic compounds, Anal. Chim. Acta, 232, 1-2.

Campbell, P. G. C., Twiss, M. R., Wilkinson, K. J. (1997) Accumulation of natural organic matter on the surfaces of living cells: implication of toxic solutes with aquatic biota. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 54, 2543-2554.

Cao, J., Lam, K. C., Dawson, R. W., Liu, W. X., Tao, S. (2004) The effect of pH, ion strength and reactant content on the complexation of Cu^{2+} by various natural organic ligands from water and soil in Hong Kong, Chemosphere, 54, 507–514.

Chang E. E., Chiang, P.C., Lin, T. F. (1998) Development of surrogate organic contaminant parameters for source water quality standards in Taiwan. Chemosphere, 37, 593 – 606.

Chedrese, P. J., Piasek, M., Henson, M. C. (2006) Cadmium as an Endocrine Disruptor in the Reproductive System, Immunology, Endocrine and Metabolic Agents - Med. Chem., 6, 27-35.

Corain, B., Bombi G. G., Tapparo, A., Perazzolo, M., Zatta, P. (1996) Aluminium toxicity and metal speciation: established data and open questions, Coord. Chem. Rev., 149, 11-22.

Corti, S., Molteni, F., Palmer, T. N. (1999) Signature of recent climate change in frequencies of natural atmospheric circulation regimes. Nature, 398, 799-802.

Crosby, D. G. (1998) Environmental Toxicology and Chemistry, Oxford University Press, New York (USA).

Croué, J. P. (2004) Isolation of humic and non-humic NOM fractions: Structural Characterization, Environ. Monit. Assess., 92, 193–207.

Domingo, J. L. (2001) Reproductive and development toxicity of natural and depleted uranium: a review, Reprod. Toxicol., 15, 603-609.

Dragunov, C. C., Zhelokhovtseva, H. H., Strelkova, E. J. (1948) A comparative study of soil and peat humic acids, Pochvovedenie, 7, 409-420.

Driscoll, C. T., Blette, V., Yan, C., Schofield, C. L., Munson, R., Holsapple, J. (1995) The role of dissolved organic carbon in the chemistry and bioavailability of mercury in remote Adirondack lakes, Water Air Soil Poll., 80, 499-508.

Elkins, K. M., Nelson, D. J. (2002) Spectroscopic approaches to the study of the interaction of aluminum with humic substances, Coord. Chem. Rev., 228, 205-225.

Erdinger, L., Kuhn, K. P., Kirsch, F., Feldhues, R., Frobel, T., Nohynek, B., and Gabrio T. (2004) Pathways of trihalomethane uptake in swimming pools, Int. J. Hyg. Environ. Health, 207, 571-575.

Esteves da Silva, J. C. G., Machado, A. A.S. C., Pinto, M. S. S. D. S. (1997) Study of the complexation of Cu(II) by fulvic acids extracted from a sewage sludge and its compost, Fresenius J. Anal. Chem., 357, 950–957.

Fawell J. K., Hunt S. (1988) Chloroform and trihalomethanes In Environmental Toxicology: Organic Pollutants. Chichester, West Sussex (UK).

Fifield, F. W., Haines, P. J. (2000) Environmental Analytical Chemistry, 2th edition, Blackwell Science, London (England).

Gaffney, J. S., Marley, N. A., Clark, S. B. (1996) Humic and fulvic acids: isolation, structure, and environmental role, American Chemical Society, Washington (USA).

Gomes, D. S., Riger, C. J., Pinto, M. L. C., Panek, A. D., Eleutherio, E. C. A. (2005) Evaluation of the role of Ace1 and Yap1 in cadmium absorption using the eukaryotic cell model Saccharomyces cerevisiae, Environ. Toxicol. Pharmacol., 20, 383–389.

Gorbi, G, Corradi, M. G., Invidia, M., Rivara, L., Bassi, M. (2002) Is Cr(VI) toxicity to Daphnia magna modified by food availability or algal exudates? The hypothesis of a specific chromium/algae/exudates interaction, Water Res., 36, 1917–1926.

Graves, C. G., Matanoski, G. M., and Tardiff, R. G. (2001) Weight of Evidence for an Association between Adverse Reproductive and Developmental Effects and Exposure to Disinfection By-products: A Critical Review, Regul. Toxicol. Pharmacol., 34, 103 – 124.

Hedges, J. I. (1988) Polymerization of humic substances in natural environments, 45-58, F.H. Frimmel and R.F Christman (eds.) Humic substances and Their Role in the Environment. John Wiley and Sons, Chichester (UK).

Hessen, D. O., Faerovig, P. J. (2001) The photoprotective role of humus – DOC for Selenastrum and Daphnia, Plant. Ecol., 154, 263-273.

Hindin, R., Brugge, D., Panikkar, B. (2005) Teratogenicity of depleted uranium aerosols: a review from an epidemiologoical perspective, Environ. Health, 4, 17-36.

Holbom B. (1990) Mutagenic compounds in chlorinated pulp bleaching waters and drinking waters. In Complex Mixtures and Cancer Risk. Lyon International Agency for Research on Cancer, IARC.

Horth, H. (1989) Identification of mutagens in drinking water, Aqua, 38, 80-100.

Ikan, R., Y., Rubinsztain, Y., Nissenbaum, A., and Kaplan, R. (1996) Geochemical Aspects of the Maillard Reaction in: The Maillard Reaction: Consequences for the Chemical and Life Sciences. John Wiley and Sons, Chichester (UK).

Jaffé, R., Cai, Y., Morales, W. T., Jones, R. D. (1997) Occurrence of Methylmercury in lake Valencia, Venezuela, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 59, 99-105

Krebs, C. J. (2001) Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance, 5th edition, Benjamin Cummings, New York (USA).

Kronberg L., Christman R. F., Singh R. and Ball L. M. (1991) Identification of oxidized and reduced forms of the strong bacterial mutagen (z)-2-chloro-3-(dichloromethyl)-4-oxobutenoic acid (MX) in extracts of chlorine-treated water., Environ. Sci. Technol. 25, 99-104.

Lauwerys, R., Amery, A., Bernard, A., Bruaux., P., Buchet, J. P., De Plaen, F. C. P., Ducoffre, G., Fagard, R., Lijnen, P., Nick, L., Roels, H., Rondia, D., Saint-Remy, A., Sartor, F., Staessent, J. (1990) Health Effects of Environmental Exposure to Cadmium: Objectives, Design and Organization of the Cadmibel Study: A Cross-Sectional Morbidity Study Carried Out in Belgium from 1985 to 1989, Environ. Health Perspect., 87, 283-289.

Leenheer, J. A. (2004) Comprehensive assessment of precursors, diagenesis, and reactivity to water treatment of dissolved and colloidal organic matter, Water Sci. Technol., 4, 1-9.

Leenheer, J. A., Rostad, C., and Barber, L. B. (2001) Nature and Chlorine Reactivity of Organic Constituents from Reclaimed Water in Groundwater, Los Angeles County, California, Environ. Sci. Technol., 35, 3869-3876.

Liao, C. H., Lu, M. C., Su, S. H. (2001) Role of cupric ions in the H_2O_2/UV oxidation of humic acids, Chemosphere, 44, 913-919.

Lores, E. M., Pennock, J. R. (1998) The effect of salinity on binding of Cd, Cr, Cu, and Zn to dissolved organic matter, Chemosphere, 37, 861-874.

Luoma, S. N. (1983) Bioavailability of trace metals to aquatic organisms – A review, Sci. Total Environ., 28, 1-22.

Maier, R. M., Pepper, I. L., Gerba, C. P. (2000) Environmental Microbiology, Academic Press, San Diego (USA).

Maillard, L. C. (1912) Action des acides mines sur les sucres: formation des melanoidines par voie methodologique, C. R. Acad. Sci., 154, 66-68.

Maillard, L. C., (1913) Formation de matieres humiques par action de polypeptides sur sucres, C.R. Acad. Sci. l56, 148-149.

Manahan, S. E. (2002) Environmental Chemistry, 7th Ed., Lewis Publishers, Boca Raton (USA).

Martin, R. B. (1996) Ternary complexes of Al^{3+} and F^- with a third ligand, Coord. Chem. Rev., 141, 23-32.

McKnight, D. (1981) Chemical and Biological Processes Controlling the Response of a Freshwater Ecosystem to Copper Stress: A Field Study of the $CuSO_4$ Treatment of Mill Pond Reservoir, Burlington, Massachusetts, Limnol. Oceanogr., 26, 518-531.

Mendes, B., Oliveira, J. F. S. (2004) Qualidade da água para consumo humano, Lidel, Lisboa (Portugal).

Miller, A. C., Blakely, W. F., Livengood, D., Whittaker, T., Xu, J., Ejnik, J. W., Hamilton, M. M., Parlette, E., St John, T., Gerstenberg, H. M., Hsu, H. (1998) Transformation of Human Osteoblast Cells to the Tumorigenic Phenotype by Depleted Uranium-Uranyl Chloride, Environ. Health Perspect., 106, 8, 465-471.

Miller, A. C., Stewart, M., Brooks, K., Shi, L., Page, N. (2002) Depleted uranium-catalyzed oxidative DNA damage: absence of significant alpha particle decay, J. Inorg. Biochem., 91, 246–252.

Mills, C. J., Bull, R. J., Cantor, K. P., Reif, J., Hrudey, S. E., Huston, P. (1998) Health Risks of Drinking Water Chlorination By-products: Report of an Expert Working Group, Chronic Dis. Can., 19, 91-102

Nelson, D. J. (1996) Aluminum complexation with nucleoside di- and triphosphates and implication in nucleoside binding proteins, Coord. Chem. Rev., 149, 95-111.

Newman, M. C, Unger, M. A. (2003) Fundamentals of Ecotoxicology, 2º ed., Lewis Publishers, Boca Raton (USA).

Nieboer, E., Richardson, D. H. S. (1980) The replacement of the nondescript term "heavy metals" by a biologically and chemically significant classification of metal ions, Environ. Pollut., 1, 3–26.

Odum, E. P. (2001) Fundamentos de Ecologia, 6º Edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa (Portugal).

Portugal (2001) Decreto-Lei 243/2001, Diário da República 206 Série I-A de 5 de Setembro de 2001, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território, Aprova normas relativas à qualidade da água destinada ao consumo humano.

Reuter, J. H., Perdue, E. M. (1977) Importance of heavy metal-organic matter interactions in natural waters, Geochim. Cosmochim. Acta, 41, 325-334.

Richardson, S. D. (2003) Disinfection by-products and other emerging contaminants in drinking water, Trends Anal. Chem., 22, 666-684.

Ronis, M. J. J., Aronson, J., Gao, G. G., Hogue, W., Skinner, R. A., Badger, T. M., Lumpkin, C. K. (2001) Skeletal effects of developmental lead exposure in rats, Toxicol. Sci., 62, 321–329.

Rook, J.J. (1974) Formation of Haloforms During Chlorination of Natural Waters, Water Treat. Exam., 23, 234-243.

Saar, R. A., Weber, J. H. (1982) Fulvic acid: modifier of metal-ion chemistry, Environ. Sci. Technol., 16, 510-517.

Schnitzer, M., (1991) Soil organic matter: The next 75 years, Soil Sci., 151, 41-58.

Schnitzer, M., Schulten, H. R. (1998) New ideas on the chemical make-up of soil humic and fulvic acids in: P.M. Huang, D.L. Sparks and S.A. Boyd (eds.) Future Prospects for Soil Chemistry, SSSA Special Publication, 55, Soil Sci. Soc. Am., Madison (USA).

Schulten, H. R., Schnitzer, M. (1992) Structural Studies on Soil Humic Acid by Curie-Point Pyrolysis-Gas Chromatography Mass-Sepctrometry, Soil Sci., 153, 205-224.

Senesi, N. (1992) Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances, Sci. Total Environ., 123, 63-76.

Shemer, H., Narkis, N. (2005) Effect of various reaction parameters on THMs aqueous sonolysis, Chemosphere, 59, 1317-1321.

Steinberg, C. E. W (2003) Ecology of Humic Substances in Freshwaters. Spring-Verlag, Berlin (Germany).

Stevens, R. G., Kalkwarf, D. R. (1990) Iron, Radiation, and Cancer, Environ. Health Perspect., 87, 291-300.

Stevenson, F. J. (1982) Humus Chemistry – Genesis, Composition, Reaction. John Wiley and Sons, New York (USA).

Stumm, W., Morgan, J. J. (1981) Aquatic chemistry: An introduction emphasizing chemical equilibrium in natural waters, John Wiley and Sons, New York (USA).

Takiguchi, M., Yoshihara, S. (2006) New aspects of cadmium as endocrine disruptor, Environ. Sci., 13, 107-116.

Thurman, E. M. (1985) Organic geochemistry of Natural Waters. Niyhof Junk Publishers, Boston (USA).

Thurman, E. M., Malcolm R. I. (1981) Preparative isolation of aquatic humic substances, Environ. Sci. Technol., 15, 436-466.

Uyguner, C. S., Hellriegel, C., Otto, W., Larive, C. K. (2004) Characterization of humic substances: Implications for trihalomethane formation, Anal Bioanal. Chem., 378, 1579-1586.

Weil, J. H. (2000) Bioquímica Geral, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa (Portugal).

Williams, R. J. P. (2002) Recent aspects of aluminium chemistry and biology: a survey, Coord. Chem. Rev., 228, 93-96.

Wolf, M., Teichmann, G., Hoque, E., Szymczak, W., Schimmack, W. (1999) Copper speciation in aqueous solutions of fulvic acid and related molecular weight distributions, Fresenius J. Anal. Chem., 363, 596–599.

2 CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO

2.1 CARACTERIZAÇÃO DO TERRITÓRIO

A zona da albufeira do Caldeirão situa-se no limite interior do Parque Natural da Serra da Estrela (PNSE), na região centro do país, sendo esta a mais importante montanha de Portugal continental, constituindo a sua posição e morfologia o factor de separação das bacias do Mondego, Douro e Tejo. A sua situação relativamente próxima do oceano Atlântico e a elevada altitude confere a toda a zona de montanha uma grande diversidade climática e consequentemente uma elevada biodiversidade.

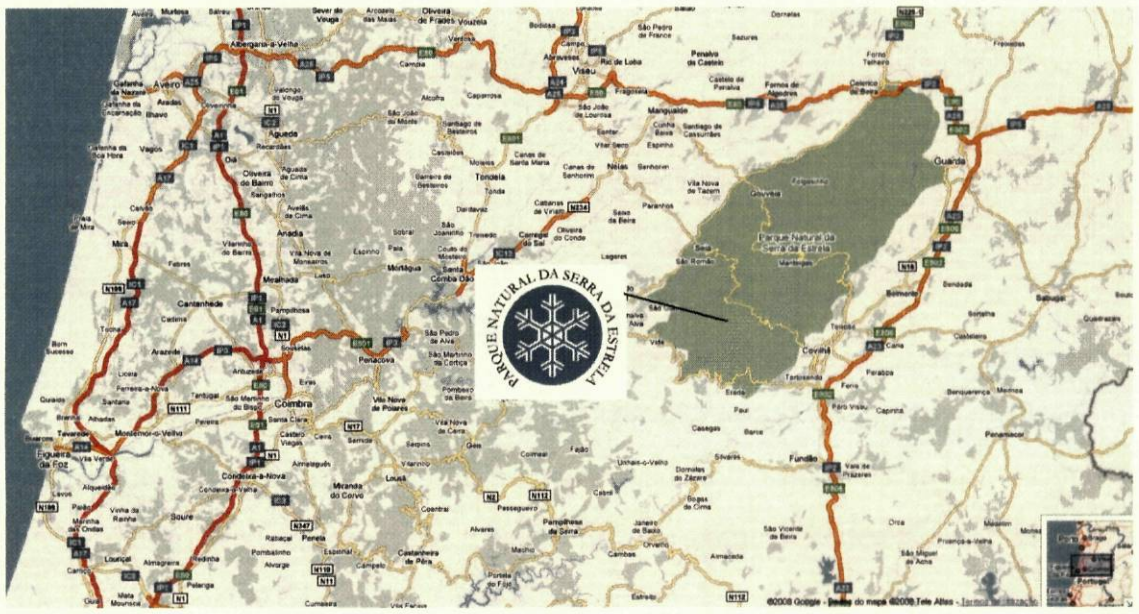


Figura 2.1 Localização do Parque Natura da Serra da Estrela. Baseado na imagem retirada do sítio da Internet do Google – http://maps.google.com/maps?ll=40.689625,-7.4876808&z=8&t=h&hl=pt. (acesso em 28/10/2007).

A Serra da Estrela representa uma extensa área, mais densamente povoada na sua periferia e cujo processo de povoamento se iniciou há mais de oito mil anos, sendo refúgio de campanhas contra múltiplos invasores. A zona de montanha está contida no PNSE, área de aproximadamente 100000 ha que se caracteriza por conter paisagens naturais, seminaturais e humanizadas de interesse nacional, o qual integra um

conjunto de freguesias de seis concelhos: Manteigas, Celorico da Beira, Guarda, Covilhã, Seia e Gouveia. O PNSE foi classificado como área protegida através do Decreto-lei nº 557/76, de 16 de Julho, alterado pelo Decreto-lei nº 167/79, de 4 de Junho, tendo sido reclassificado pelo Decreto Regulamentar nº 50/97, de 20 de Novembro. O plano de ordenamento do PNSE em vigor foi aprovado com a publicação da Portaria nº 583/90 de 25 de Julho.

2.1.1 CLIMA

O clima da Serra da Estrela e toda a sua envolvente é condicionado pela sua altitude, massa, relevo e relativa proximidade do oceano (cerca de 100 km). Os ventos de oeste, carregados de humidade, penetram pela bacia do Mondego e alimentam de chuva ou neve a serra, principalmente a sua vertente oeste ou noroeste. Os vales mais interiores, portanto menos afectados pelas massas de ar húmido apresentam normalmente temperaturas mais suaves e menor precipitação. No planalto central os valores médios de precipitação anuais situam-se entre os 2000 e os 2500 mm, ocorrendo precipitações muito vezes inferiores a 1000 mm, no vale do Mondego, na zona da Guarda e entre Seia e Gouveia (Santos *et al.*, 2001). A precipitação é muito irregular, ocorrendo a maior queda pluviométrica entre os meses de Novembro e Março, sendo que esta aumenta com a altitude e é sempre mais elevada nas vertentes noroeste e oeste do que nas vertentes leste e sudeste (Tomás *et al.*, 2002). Relativamente à temperatura, existem vastas zonas da serra onde a média anual não ultrapassa os 8 ^{o}C, verificando-se no Inverno médias mensais abaixo dos 0 ^{0}C, sendo Dezembro, Janeiro e Fevereiro os meses mais frios (Vieira *et al.*, 2003). Os meses mais quentes são Julho e Agosto, onde a temperatura média, normalmente, não ultrapassa os 20 ^{0}C (Santos *et al.*, 2001). A temperatura do ar oscila de forma significativa durante o dia, o mês e o ano e principalmente em função da altitude (Tomás *et al.*, 2002). A humidade relativa do ar varia entre os 55 e os 60% em Junho e os 85 e 90% entre

Dezembro e Janeiro. Os ventos são frequentemente fortes, com 45 dias por ano com velocidades superiores a 55 km/h na lagoa comprida, 18 dias nas Penhas da Saúde e 3 na Guarda (Plano Zonal Agro-Ambiental do Parque Natural da Serra da Estrela, 2002). Os dias de nevoeiro ascendem a 161 na lagoa comprida, 109 nas Penhas da Saúde e 100 na Guarda. A permanência de neve no solo em vinte anos de registos é de 60 dias por ano na lagoa comprida, 38 nas Penhas da Saúde e 6 na Guarda. Em termos de disponibilidade hídrica, a neve contribui para o armazenamento de água no solo, favorecendo o rebentamento da vegetação herbácea de Primavera. Relativamente às plantas lenhosas assim como para a generalidade da comunidade florística e faunística, as rigorosas condições climatéricas descritas, constituem um factor limitativo para a sua vitalidade.

2.1.2 GEOLOGIA

Em termos geológicos a serra é dominada por granitos com alguns afloramentos xistosos, cujo aparecimento rondará os 340 a 280 milhões de anos (Teixeira *et al.*, 1963), e os quais se instalaram sobre metasedimentos muito mais antigos, relativos ao complexo xisto-grauváquico, resultando daí intrusões e zonas de contacto entre rochas graníticas, os xistos e grauvaques (Marques, 1996; Ferreira e Vieira, 1999). O granito da Serra da Estrela é um granito moscovítico, na generalidade de grão médio, e com pequenas diferenças de idade. Assim, é de referir a existência do granito de Celorico da Beira, Estrela, Curral do Vento, Pedrices, Covilhã, Seia, Covão do Corral, Manteigas, Mizarela e Mesquitela (Ferreira e Vieira, 1999). De uma forma geral, os solos formados a partir dos granitos apresentam um polimórfismo muito acentuado e fortemente erosionáveis, em zonas muito declivosas e despidas de vegetação encontram-se quase sempre as fases esqueléticas e delgadas destes solos (Ferreira e Vieira, 1999). Pelo contrário, nas zonas planas e pouco sujeitas ao processo de erosão, os solos são profundos e ricos em matéria orgânica (Marques, 1996).

São em muito menor número e dimensão as rochas xistosas da serra, dado que a camada xistosa é muito inferior à dos granitos e ainda porque os terrenos, geologicamente mais antigos são constituídos por xistos argilosos, barros e pedra solta e desagregada. Tal como os solos graníticos, os solos xistosos são ricos em húmus quase sempre ácido ou muito ácido, sendo no entanto menos erosionáveis. Importantes afloramentos xistosos (livrarias xistosas) encontram-se na margem direita do rio Mondego, junto à ribeira da Corujeira, no Caldeirão (Cotelo Neiva *et al.*, 1994)

O relevo é resultante das forças de compressão que em períodos diferenciados da história geológica, com início no Mesozóico, elevaram o relevo a partir de uma superfície aplanada, erguendo-se sobre planos de falhas, responsáveis pelo relevo em escadaria (Ferreira e Vieira, 1999).

2.1.3 GEOMORFOLOGIA

Uma parte importante da Serra da Estrela esteve coberta por calotes glaciares provenientes das sucessivas glaciações, a última das quais ocorreu há cerca de vinte mil anos, sendo que existem estimativas que apontam para que as zonas mais planas do planalto central estivessem cobertas por calotes de gelo que atingiam os 80 metros (Ferreira e Vieira, 1999). Esta massa de gelo alimentava sete diferentes glaciares (Zêzere, Alforfa, Estrela, Alvoco, Loriga, Covão Grande, Covão do Urso) que deslizando pela montanha actuava como um imenso rio de gelo moldando as rochas. Assim, uma significativa parcela das áreas mais elevadas é constituída por rocha nua, pois o material resultante da erosão foi arrastado pelo gelo (Ferreira e Vieira, 1999). Em cotas menos elevadas são frequentes os anfiteatros mais ou menos circulares que constituíam zonas de acumulação de neve e gelo que alimentavam os vales glaciares, designados de covões, e que frequentemente vieram a originar lagoas, lagoachos e turfeiras (Marques, 1996). Assim, a grande maioria das zonas húmidas da Serra da Estrela teve a sua origem no decorrer dos períodos de glaciação.

2.1.4 PEDOLOGIA

O tipo de solo presente na Serra da Estrela é o chamado litossolo ou leptosolo, que se caracteriza pela pouca profundidade (menos de 30 cm), assente sobre rocha dura. O pouco volume que este solo apresenta permite que seque ou se alague com facilidade, ou inclusivamente que seja arrastado (Ferreira, 2000). Este solo deriva da desagregação do granito, sendo composto quase exclusivamente pelos elementos minerais, por norma de granulometria grosseira, com origem na rocha mãe. Em zonas de acumulação, como nos covões, margens de linhas de água e certos depósitos de glaciares, encontra-se outro tipo de solo com horizontes definidos e alguma matéria orgânica superficial (Marques, 1996).

2.1.5 VALORES BIOLÓGICOS

O Parque Natural da Serra da Estrela congrega uma diversidade de espécies de flora e fauna cujo valor foi reconhecido através da concessão do estatuto de Reserva Biogenética pelo Conselho da Europa e pela inclusão nos anexos da Convenção de Berna e na Directiva 92/43/CEE – Directiva Habitats. Pinto da Silva e Teles (1980) considera a existência de três andares, o andar basal (até 800 m), o intermédio (800 – 1600 m) e o superior (acima dos 1600 m). No andar basal é de salientar alguns povoamentos de azinheiras (*Quercus rotundifolia*), azereiro (*Prunus lusitannica*, espécies de interesse comunitário), a esteva (*Cistus ladanifer*), o zambujeiro (*Olea europaea*) e o medronheiro (*Arbutus unedo*). O andar intermédio regista-se a presença de carvalhais (*Quercus pyrenaica*), soutos (*Castanea sativa*), pinhal (*Pinus pinaster*) e matas mistas. No andar superior aparece um agrupamento de formações vegetais como giestais (*Cytisus multflorus*), urgeirais (*Erica australis*), piornais (*Cytisus purgans, Cytisus multiflorus*) e zimbrais (*Juniperus communis*). As linhas de água, muitas delas bem conservadas, têm grande importância para a lontra (*Lutra lutra*), toupeira-de-água (*Galemys pyrenaicus*), lagarto-de-água (*Lacerta schreiberi*), e salamandra

lusitânica (*Chioglossa lusitanica*). Esta área alberga também populações reduzidas e ameaçadas como a lagartixa-da-montanha (*Lacerta monticola*), espécie endémica da Península Ibérica. É de salientar ainda a presença de mamíferos como o javali (*Sus srofa*), gineta (*Genetta genetta*), raposa (*Vulpes vulpes*), fuinha (*Martes foina*), texugo (*Meles meles*), gato-bravo (*Felis silvestris*) e o lobo (*Canis lupus*).

2.1.6 PAISAGEM

A Serra da Estrela é uma montanha de blocos assimétricos que se prolonga a Nordeste pelo planalto da Guarda e a Sudoeste pela coluna de xisto da Serra do Açor. A Este e Oeste a montanha apresenta encostas abruptas associadas a sistemas de falhas e onde se destacam as zonas baixas aplanadas ou onduladas das bacias do Mondego e do Zêzere. A natureza litológica do substrato e a erosão glaciar e fluvial constituem um dos principais elementos de caracterização da paisagem (Turismo Natureza - Enquadramento Estratégico do Parque Natura da Serra da Estrela, 2001). A grande altitude a que se encontra o maciço central da Serra da Estrela, permite o desenvolvimento do único meio subalpino de Portugal continental, o qual se conjuga com encostas e escarpas de grande valor paisagístico. A variedade de formas, texturas e a diversidade de vegetação e da ocupação do solo por espécies folhosas autóctones e de resinosas assim como o meio arbustivo que povoa as cotas mais elevadas, a par de relvões naturais constituem paisagens únicas e deslumbrantes. É de referir ainda o património construído de índole agrícola, como são os edifícios ou abrigos em alvenaria de granito ou xisto e coberturas em colmo ou lousa que abrigava antigos pastores, ou os muros de suporte em socalcos típicos da exploração agrícola em montanha (Marques, 1996).

2.1.7 HIDROLOGIA

A região apresenta características geológicas, geomorfológicas e climáticas que condicionam directamente o ciclo hidrológico regional, nomeadamente no que diz respeito à recarga e circulação de águas subterrâneas e consequentemente, a disponibilidade dos recursos hídricos. Estes incluem águas subterrâneas (normais e termominerais) e águas superficiais (Afonso *et al.*, 2006).

A precipitação sob a forma de chuva e neve é particularmente importante, sendo relativamente frequente a existência de grandes massas de neve até meados de Maio, cujo degelo alimenta as linhas de água, pequenos regatos, lagoas e charcos. A água apresenta características maioritariamente ácidas, aparentemente como consequência da litologia granítica como referido anteriormente. As águas apresentam por norma uma elevada transparência, baixos valores de clorofila, fosfatos e níveis de oxigénio dissolvido normalmente elevados (Boavida e Gliwicz, 1994; Costa *et al.*, 2004). A abundância dos recursos hídricos bem como o grande desnível do terreno e a existência de zonas de acumulação natural, relativamente fechadas, desde cedo atraiu o interesse pelo aproveitamento do potencial energético. Deste modo, uma parte das linhas de água e das lagoas naturais acabaram por se artificializar como é o caso, por exemplo, da Lagoa Comprida, Vale do Rossim e Lagoacho.

2.1.8 RIO MONDEGO

Dos rios portugueses, o Mondego é o mais longo e o que apresenta a maior bacia hidrográfica com aproximadamente 6670 km^2 e também o de maior escoamento anual médio $3430x10^6$ m^3 (Quintela, 2006). O rio percorre cerca de 240 km desde a nascente, entre torgas e penedos graníticos, na vertente oriental da Serra da Estrela a uma altitude próxima de 1425 m, até desaguar no oceano Atlântico junto à Figueira da Foz (Figura 2.2). No seu percurso inicial, o Mondeguinho como é designado o rio no seu troço junto à nascente, cava o seu leito sinuoso seguindo uma orientação SW-NE,

recebendo pequenos afluentes que o vão engrossando até à confluência da ribeira da Corujeira, junto à actual barragem do Caldeirão. A partir deste ponto o vale alonga-se e o rio espraia-se entre o Porto da Carne e Celorico da Beira, passando neste ponto à orientação de NE-SW e acompanhando a serra de forma mais ou menos paralela.

A alimentação do rio Mondego é constituída por águas de fontes, nascentes, afluentes, chuvas e fusão da neve que precipita na sua bacia. O caudal é normalmente fraco e bastante irregular e, embora corra sempre à superfície durante o Verão, a verdade é que pouca água transporta. No Outono o caudal aumenta de forma significativa devido às chuvadas de Novembro e Dezembro, voltando no entanto a diminuir o caudal no Inverno, embora menos que no Verão devido às fontes e águas de infiltração do Outono. Na Primavera, principalmente em Março e Abril, costuma elevar ao máximo o seu caudal, pelas chuvadas e fusão das neves que caíram no Outono e principalmente, no Inverno.

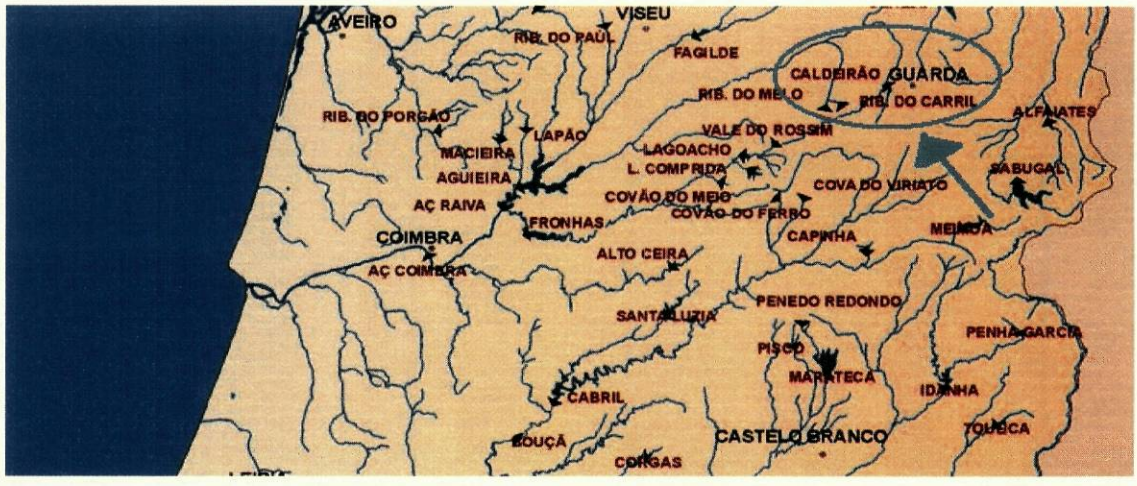


Figura 2.2 Mapa das barragens existentes na zona centro de Portugal. Fonte: INAG (http://cnpgb.inag.pt/gr_barragens/gbportugal/Mapacentro.htm em 28/10/2007). Albufeira do Caldeirão, latitude 40° 32' 3'' N, longitude 7° 20' 19'' W)

2.2 BARRAGEM DO CALDEIRÃO

O comportamento irregular do rio Mondego está registado ao longo da história das povoações ribeirinhas, não só pelos estragos que provoca com as inundações mas também pelas secas que o rio não consegue, por norma, compensar. É desta forma antigo, o desejo das populações em controlar o rio para evitar secas e inundações. Remonta a 1899 o primeiro aproveitamento hidroeléctrico do alto Mondego, com a construção da central do Pateiro pela Empresa da Luz Eléctrica da Guarda, a qual vai permitir no mesmo ano a inauguração oficial da iluminação eléctrica da cidade (CPPE, 1998). Em 1934 é constituída na Lousã a Companhia Eléctrica das Beiras, a qual acaba por comprar em 1948 a Empresa da Luz Eléctrica da Guarda que havia recebido o alvará de licença para estudo e construção de um aproveitamento hidroeléctrico na ribeira do Caldeirão. No entanto o projecto datado de 1952 para a construção da barragem nunca chegou a ser efectuado. Entre os anos quarenta e sessenta, sucessivos organismos estatais apresentam projectos e planos que culminam em 1962 com o Plano Geral de Aproveitamento Hidráulico da Bacia do Mondego, o qual dá ênfase apenas ao baixo Mondego relegando para segundo plano o aproveitamento do alto Mondego. Esse plano visava a regularização fluvial e a defesa contra as cheias, as obras de rega e de enxugo, a produção de energia eléctrica, o abastecimento de água às populações e a diminuição da salinidade dos campos envolventes ao estuário.

Em 1969 com a fusão das empresas concessionárias da rede primária, surge a Companhia Portuguesa de Electricidade. A criação desta empresa permite que finalmente arranque todo o aproveitamento hidroeléctrico do rio Mondego. A companhia apresentou o seu Plano que foi superiormente aprovado e permitiu o início imediato das obras de aproveitamento da Aguieira e Raiva e do açude–ponte em Coimbra. Mais a montante arranca também o processo relativo ao aproveitamento da ribeira do Caldeirão. Todo este processo é atravessado pelo período de nacionalizações tendo sido o sector da produção, transporte e distribuição de

electricidade corporizado na criação da empresa estatal Electricidade de Portugal (EDP), actualmente designada de Energias de Portugal. Assim, apenas no início da década de noventa o aproveitamento de fins múltiplos do Caldeirão está concluído (Figura 2.3 e Figura 2.4).

Este empreendimento resultante de diversos interesses permitiu satisfazer várias necessidades de utilização da água, em especial o consumo humano, a produção de energia eléctrica, a agricultura local (nomeadamente do vale do Mondego entre Porto da Carne e Celorico da Beira), o lazer (pesca desportiva, canoagem, entre outras) e o combate a incêndios. Foram necessários praticamente cinquenta anos para resolver as aspirações legítimas de uma região, a qual se encontrava muito dependente de captações de água num troço de características acentuadamente torrenciais do rio Mondego e com reduzidos caudais na época estival. Não podemos deixar de referir o quão paradoxal foi esta situação, pois a cidade e o concelho estão situados no maior manancial de água exclusivamente português, a Serra da Estrela. Basta lembrar que esta zona se situa na confluência de três bacias hidrográficas: a bacia do Mondego, Tejo (rio Zêzere) e Douro (rio Côa).

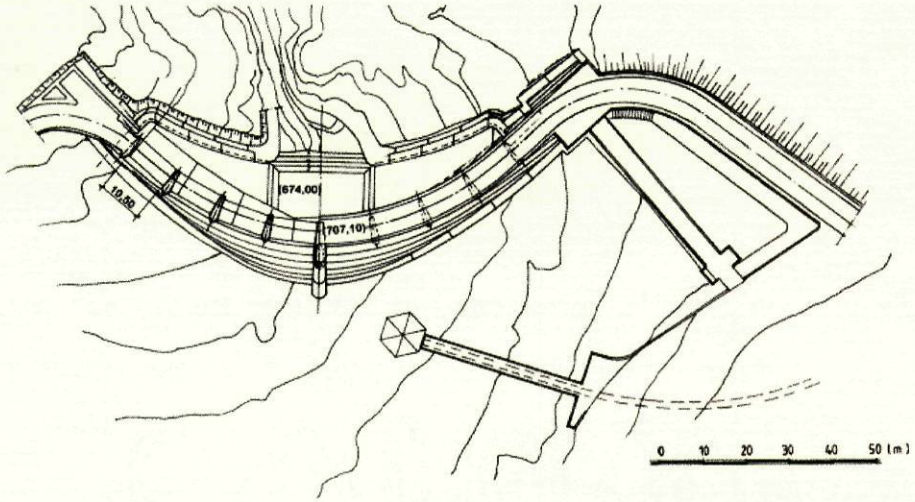


Figura 2.3 Planta geral da barragem do Caldeirão (CPPE, 1998). http://Cnpgb.inag.pt/gr_barragens/gbportugal/caldeirao.htm (acesso em 28/10/2007).

O aproveitamento de fins múltiplos da barragem do Caldeirão (Tabela 2.1) apresenta potencialidades tão diversas como a produção energética (44 milhões de kWh em ano médio), o abastecimento de 1 milhão de m^3 de água por ano à cidade e concelho da Guarda (previsão de 7 milhões para o ano horizonte de 2030), o desenvolvimento de actividades turísticas e desportivas, além da ajuda ao combate de fogos florestais. Este aproveitamento tira partido do troço inicial do rio Mondego e da ribeira do Caldeirão, seu afluente da margem direita. O volume de caudais próprios da ribeira do caldeirão é relativamente pequeno, cerca de 21 milhões de m^3, em ano médio. Como tal, foi necessária a derivação da água do rio Mondego para a ribeira, à qual acrescenta, em ano médio, cerca de 95 milhões de m^3 de água. As águas represadas do rio Mondego, num pequeno açude com 8000 m^2, são conduzidas por um túnel com 2700 m de comprimento que desemboca na ribeira do caldeirão. A barragem de betão, localizada numa zona conhecida por "garganta do Caldeirão" permitiu a criação de uma albufeira que, no seu nível de pleno armazenamento, à cota de 702 m, tem um volume de 5,5 milhões de m^3 e um plano de água com 660000 m^2 de superfície. A captação de água para abastecimento público situa-se nas proximidades da margem direita e a cerca de 150 m da estação de tratamento (ETA). No essencial é constituída por uma torre que mergulha na albufeira, na qual estão instalados grupos de bombagem submergíveis ligados por conduta à estação de tratamento.

Tabela 2.1 Características principais da albufeira do Caldeirão. Fonte: INAG (http://cnpgb.inag.pt/gr_barragens/gbportugal/FICHAS/Caldeiraoficha.htm).

Linha de água:	Rib. Caldeirão	Concelho:	Guarda
Bacia hidrográfica:	Mondego	Freguesia:	Pêro Soares
Tipo de barragem:	Arco Abóbada	Comprimento do coroamento:	122 m
Altura da barragem:	39 m	Capacidade do descarregador:	240 m^3s^{-1}
Capacidade total:	5520 (10^3 m^3)	Cota do nível máximo de cheia:	703,7 m
Capacidade útil	3470 (10^3 m^3)	Cota de nível mínimo de exploração:	695 m
Valor morto:	2050 (10^3 m^3)	Cota do nível de pleno armazenamento:	702 m
Superfície inundável:	66 ha	Perímetro:	9 km

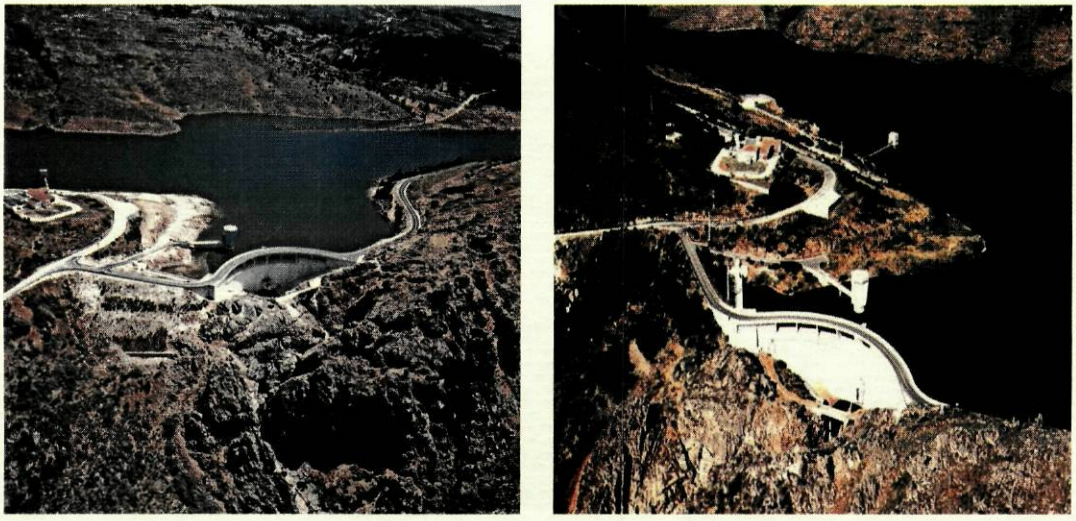


Figura 2.4 Fotografia aérea da albufeira do Caldeirão onde se evidencia a barragem de betão do tipo abóbada de dupla curvatura com 39 metros de altura e uma extensão de 122 metros. Torre de tomada de água para a produção de energia eléctrica. Torre de captação de água e ETA do Caldeirão. Fonte: INAG http://cnpgb.inag.pt/gr_barragens/gbportugal/Caldeirao.htm (acesso em 28/10/2007).

2.2.1 ESTUDO DE IMPACTO AMBIENTAL

O aproveitamento de fins múltiplos da barragem do Caldeirão está inserido no limite nordeste do Parque Natural da Serra da Estrela, numa zona de elevado interesse no que se refere aos valores naturais, nomeadamente ecológicos e paisagísticos. A repercussão ambiental da construção da barragem do Caldeirão levou à elaboração de um Estudo de Impacto Ambiental (EIA), o qual foi adjudicado à Empresa Geral de Fomento. A realização do EIA permitiu a definição das estratégias de enquadramento, a identificação de aspectos positivos, negativos e a formulação de medidas tendentes a mitigar os aspectos negativos decorrentes do empreendimento.

Do ponto de vista geológico, o aproveitamento iria ocupar uma zona de contacto entre xistos e granitos, sendo que no vale da albufeira adquirem alguma expressão as formações de natureza aluvionar que deram origem a solos com boa aptidão agrícola. Relativamente ao troço do rio Mondego a afectar, este era caracterizado por apresentar um regime permanente e torrencial devido aos fortes declives do relevo, sendo os caudais médios da ordem dos 3 m^3s^{-1} (CPPE, 1998). A

ribeira do Caldeirão, pelo contrário, apresentava registos de escoamentos exíguos, principalmente no período de Maio a Outubro. Sob o ponto de vista da qualidade da água ambos os cursos foram considerados na altura como aptos para uso humano mediante tratamento prévio.

Ao nível da paisagem ressaltam os aspectos relacionados com as encostas com declives acentuados onde se encaixam as linhas de água. Em termos ecológicos a vertente mais importante desenvolvia-se a partir das linhas de água, nomeadamente na ribeira do Caldeirão onde a fauna aquática era de pequena expressão devido à quase ausência de água no período estival. No caso do rio Mondego, a fauna aquática era constituída basicamente por trutas (*Oncorhynchus mykiss*) e barbos (*Barbus bocagei*), sendo os respectivos habitats constituídos fundamentalmente por vegetação marginal como amieiros (*Almus rubra*), salgueiros (*Salix alba*) e freixos (*Fraxinus excelsior*), capazes de suportar uma comunidade constituída por diversas aves e pequenos mamíferos. Em altitude as áreas do território são ocupadas por giestal, urze, tojos, fetos a par de floresta (pinheiro, carvalho e castanheiro) e terrenos de cultivo. A área envolvente ao empreendimento era uma zona sujeita a fraca pressão demográfica, dominada por povoamentos dispersos com expressão urbana apenas na cidade da Guarda. A receptividade à construção da barragem era, na generalidade boa.

Do ponto de vista socioeconómico, a actividade agrícola apresentava alguma expressão nas margens da ribeira do Caldeirão, com explorações do tipo familiar. Do ponto de vista do uso agrícola do solo, os 66 ha submersos pela albufeira eram ocupadas por culturas arvenses de regadio e sequeiro com produção de batata, milho, feijão e forragens (14 ha), pomares de macieiras (5 ha), lameiros (22 ha) e incultos com pastagem (25 ha). Outra actividade económica considerada no EIA, embora com pequena expressão, foi a componente do turismo dado o seu enquadramento no PNSE. Do desenvolvimento do EIA ressaltaram da construção e subsequente exploração da albufeira os seguintes impactos negativos:

- Alteração do regime hidrológico do rio Mondego;

- Criação de zonas inter-níveis devido à oscilação da cota de água na albufeira;
- Criação de depósitos de escombros, principalmente na abertura dos túneis; e
- Inviabilização ou redução das explorações agrícolas.

Do mesmo estudo foram ainda escrutinados para além dos aspectos negativos, importantes aspectos positivos decorrentes da realização da obra, assim foram destacados:

- Produção de energia eléctrica que em ano médio é de 44 milhões de kWh;
- Abastecimento de água à cidade e concelho da Guarda;
- Melhoria das condições de rega dos terrenos a jusante do aproveitamento;
- Melhoria das condições ecológicas para a fauna aquática na albufeira;
- Possibilidade de desenvolvimento de actividades piscícolas;
- Aumento das potencialidades turísticas e geração de emprego; e
- Beneficiação da rede de estradas locais.

Com base no EIA foram feitas algumas recomendações para minorar os impactes negativos da obra, nomeadamente para a defesa da qualidade da água de abastecimento público foram enunciadas as seguintes acções a desenvolver:

- Limpeza de vegetação do vale a inundar;
- Fiscalização e controlo dos focos poluentes para a albufeira;
- Regulamentação do uso lúdico da albufeira;
- Manutenção de um caudal ecológico a jusante do açude; e
- Estabilização de taludes nas margens da albufeira.

2.3 BIBLIOGRAFIA

Afonso, M. J., Espinha, J. M., Marques, J. M., Carreira, P. M., Fonseca, P. E., Gomes, A., Martins Carvalho, J., Samper, J., Sodré Borges, F., Rocha, F. T., Chaminé, H. I. (2006) Caracterização multidisciplinar dos recursos hídricos subterrâneos em áreas urbanas e montanhosas (Norte e Centro de Portugal): metodologia e técnicas, Actas do II Fórum Ibérico de Águas Engarrafadas e Termalismo, Porto (Portugal).

Boavida, M. J., Gliwicz, Z. M. (1994) Limnologia de algumas lagoas da Serra da Estrela, Comunicação no II Seminário técnico conservação da natureza na Serra da Estrela, Guarda (Portugal).

Comunidade Europeia (1992) Directiva 92/43/CEE, Conselho das Comunidades Europeias de 21 de Maio de 1992, Relativo à preservação dos habitats naturais e da fauna e da flora selvagens.

Costa, L. T., Fidalgo, J. P., Neves, R., Rufino, R. (2004) Lagoas do Planalto Superior da Serra da Estrela, Instituto da Conservação da Natureza/ Centro de Zonas húmidas, Lisboa (Portugal).

Cotelo Neiva, J. M., Lima, C., Plasencia, N. (1994) Geology and geotechnics of the rock of the Caldeirão dam site, 7th International IAEG Congress, 5, 3859-3867, Lisboa (Portugal).

CPPE (1998) Companhia Portuguesa de Produção de Electricidade, S.A., Direcção da Produção Hidráulica, Centro de Produção Tejo-Mondego.

Ferreira, A. M. P. J. (2000) Tese de Doutoramento, Universidade de Aveiro, Aveiro (Portugal).

Ferreira, N., Vieira, G. (1999) Guia Geológico e Geomorfológico do Parque Natural da Serra da Estrela, ICN – Instituto da Conservação da Natureza, Lisboa (Portugal).

Marques, C. A. (1996) A Serra da Estrela – Estudo Geográfico, Assírio e Alvim, Lisboa (Portugal).

Pinto da Silva, A. R., Teles, A. N. (1980) A flora e a vegetação da Serra da Estrela, Colecção Parques Naturais, Serviços Nacional de Parques Reservas e Patrimínio Paisagístico, Lisboa (Portugal).

Portugal (2001) Turismo de Natureza, Enquadramento Estratégico, Parque Natural da Serra da Estrela 2000-2006, Instituto da Conservação da Natureza, Lisboa.

Portugal (1976) Decreto-Lei 557/1976, Diário da República 165 Série I de 16 de Julho de 1976, Presidência do Conselho de Ministros, Aprova a criação do Parque Natural da Serra da Estrela.

Portugal (1979) Decreto-Lei 167/1979, Diário da República 128 Série I de 4 de Junho de 1979, Ministério da Habitação e Obras Públicas, Secretaria de Estado do Ordenamento Físico, Recursos Hídricos e Ambiente, Aprova os limites do Parque Natural da Serra da Estrela.

Portugal (1990) Portaria 583/1990, Diário da República 170 Série I de 25 de Julho de 1990, Ministério das Finanças e do Ambiente e Recursos Naturais, Aprova o plano de ordenamento do Parque Natural da Serra da Estrela.

Portugal (1997) Decreto Regulamentar 50/1997, Diário da República 269 Série I-B de 20 de Novembro de 1997, Estabelece a reclassificação do Parque Natural da Serra da Estrela.

Portugal (2002) Plano Zonal Agro-Ambiental do Parque Natural da Serra da Estrela, Ministério da Agricultura, Lisboa.

Quintela, A. C. (2006) A utilização e o domínio da água na bacia hidrográfica do rio Mondego – Problemas e soluções ao longo do tempo, Centro de Estudos de Hidrossistemas – CEHIDRO, DECivil, Instituto Superior Técnico, Lisboa (Portugal).

Santos, F. D., Forbes, K., Moita, R. (2001) Climate Change in Portugal Scenarios, impacts and adaptation measures – SIAM Project, Gradiva, Lisboa (Portugal).

Teixeira, C., Martins, J. A., Medeiros, A. C., Pilar, L., Mesquita, L. P., Ferro, M. N., Fernandes, A. P., Rocha, A. (1963) Carta Geológica de Portugal - notícia explicativa da folha 18-C (Guarda), Direcção Geral de Minas e Serviços Geológicos, Serviços Geológicos de Portugal. Lisboa (Portugal).

Tomás, L., Martins, A., Brites, A. P. C. M., Matos, F. M. G., Neiva, R. F., Batista, A. S. O., Neves, M. F. T. R. (2002) Plano Zonal Agro Ambiental do Parque Natural da Serra da Estrela.

Vieira, G. T., Mora, C., Ramos, M. (2003) Ground temperature regimes and geomorphological implications in a Mediterranean mountain (Serra da Estrela, Portugal), Geomorphology, 52, 57-72.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 DESENVOLVIMENTO TEÓRICO

No cálculo das constantes de estabilidade condicionais dos complexos formados entre os AF e os catiões foram utilizadas duas técnicas analíticas, a potenciometria com utilização de eléctrodos sensíveis à presença do analito em solução e a espectroscopia de fluorescência. A potenciometria, ao possibilitar a determinação de espécies livres, em concentrações relativamente baixas e numa gama de várias unidades logarítmicas, tornou-se um método amplamente utilizado. Além do mais é uma técnica não destrutiva que não altera nem perturba o equilíbrio resultante da formação de complexos entre o ião metálico e a molécula complexante. Uma solução contendo o ligando (ou o metal), é titulada com uma solução do ião metálico (ou do ligando), sendo a concentração do catião não complexado, determinada directamente, do potencial medido da curva de calibração (Rodrigues, 2001). Na espectroscopia de fluorescência, ao contrário da potenciometria, o sinal obtido resulta do estado molecular do agente complexante (AF), não sendo directamente influenciado pela presença de catiões metálicos, pelo que a sua utilização é bastante versátil. No entanto, a fluorescência molecular apenas é capaz de detectar a complexação que envolve estruturas fluorescentes não se registando o sinal das estruturas que, embora contribuam para a complexação não apresentam fluorescência. Deste modo, a presença de estruturas complexantes não fluorescentes introduzirão um erro não quantificável no cálculo dos parâmetros de equilíbrio, o qual constitui uma limitação importante para o método.

Para a determinação das constantes de acidez dos AF foi utilizado o programa informático *Superquad* que permite, não apenas a determinação das constantes de estabilidade mas também, dos modelos químicos que melhor se ajustam aos resultados experimentais. Na determinação das constantes de estabilidade dos complexos foi usado, para os dados potenciométricos, o método de van den

Berg/Ruzic e para os dados obtidos por fluorescência molecular, o método de Stern-Volmer e o método de Ryan-Weber. Os dados de fluorescência são previamente tratados fazendo uso de metodologia quimiométrica, nomeadamente de resolução multivariada de curvas – mínimos quadrados alternantes (MCR-ALS).

3.1.1 PROGRAMA SUPERQUAD

Este programa destina-se ao tratamento de dados de titulações potenciométricas, para a obtenção de constantes de equilíbrio assim como para a previsão da estequiometria das espécies químicas formadas. O tratamento dos dados da titulação é efectuado usando a metodologia dos mínimos quadrados não lineares. De acordo com Gans e Vacca (1985), existe uma série de pressupostos no funcionamento deste programa. Assim, para cada espécie química (A_a, B_b, ...) em equilíbrio, presente em solução, existe uma constante de formação que é expressa em termos dum quociente de concentrações (3.1). Onde A e B são os reagentes e [A] e [B] são as suas concentrações livres e onde as cargas são omissas, por uma questão de simplificação.

$$\beta_{ab\ldots} = \frac{[A_a B_b \ldots]}{[A^a][B^b]\ldots} \qquad (3.1)$$

Em termos termodinâmicos, a constante de ionização é definida como um quociente de actividades das espécies químicas envolvidas no equilíbrio. Uma vez que, as experiências decorrem num meio de força iónica controlada e elevada, a constante de ionização pode ser calculada através da concentração de cada uma das espécies, assumindo que os coeficientes de actividade são constantes. Para os dados obtidos por via potenciométrica é necessário que o eléctrodo exiba um comportamento nernstiano como indicado em (3.2). Onde [A] representa a concentração do catião, E o

potencial medido, $E^{0'}$ o potencial formal, e m o declive da recta de calibração e que num comportamento puramente nernstiano será igual a RT/nF, onde R é a constante de gases perfeitos, T a temperatura (°k), F a constante de Faraday e n o número de electrões envolvidos na reacção.

$$E = E^{0'} + m\log[A] \tag{3.2}$$

O programa baseia-se no princípio de que os erros sistemáticos estão ausentes dos dados e como tal, os erros associados ao desenvolvimento experimental terão que ser minimizados. Relativamente à variável independente é assumido que o erro apresenta uma distribuição normal. Como foi referenciado, o programa permite não apenas a determinação das constantes de equilíbrio mas também seleccionar o modelo estequiométrico que melhor se ajusta aos dados experimentais. Este modelo é especificado por uma série de coeficientes (a, b, ...), um para cada uma das espécies químicas envolvidas.

No algoritmo de refinamento, a variável é o volume de titulante sendo a variável dependente o potencial. As leituras do potencial efectuadas na região próxima ao ponto de equivalência podem ser menos exactas, uma vez que, um pequeno erro no volume adicionado ao titulante, pode corresponder a um efeito significativo no valor do potencial. Para o cálculo desse erro, é usada a fórmula de propagação de erros (3.3), onde σ^2 é a variância calculada, σ_E^2 e σ_V^2 são as variâncias estimadas do potencial do eléctrodo e do volume, respectivamente, e $\delta E/\delta V$ é o declive da recta de calibração.

$$\sigma^2 = \sigma_E^2 + \left(\frac{\delta E}{\delta V}\right)^2 \sigma_V^2 \tag{3.3}$$

Desta forma pode-se atribuir um peso a cada ponto da titulação, inversamente proporcional à variância dada pela equação para cada ponto. Assim, a pontos próximos do ponto final, onde $\delta E/\delta V$ é maior, são atribuídos pesos menores que aos restantes pontos da titulação. O valor do declive da curva de titulação, para cada ponto, é determinado pelo ajuste de uma equação polinomial aos pontos experimentais da titulação.

A solução das equações não lineares dos balanços mássicos é obtida através do método de Newton-Raphson. Neste método a curva (y=F(x)) é aproximada pela sua tangente e a intersecção desta com o eixo dos xx é tomada como o novo valor de aproximação ao zero da função. Então, dada uma estimativa inicial (x_0), este método gera uma sucessão de x_k que presumivelmente convergirão para o zero da função. Este método converge quadraticamente, sendo o refinamento protegido contra possíveis divergências, através do parâmetro *marquardt* (Sabatini *et al.*, 1992; Gans *et al.*, 1996). O cálculo das concentrações livres é um processo interactivo pelo que, são necessárias estimativas iniciais para as constantes a determinar. No primeiro ponto da curva de titulação são usados valores arbitrários para as espécies presentes no modelo químico, com excepção da concentração livre da espécie, para a qual o eléctrodo apresenta uma resposta em termos de potencial. Este processo é efectuado para cada ponto da curva de titulação, sendo os desvios dos resíduos (δ[A], δ[B]) na concentração total (δT_A, δT_B) obtidos através da equação (3.4).

$$\begin{bmatrix} [A]\frac{\delta T_A}{\delta [A]} & [B]\frac{\delta T_A}{\delta [B]} & \cdots \\ [A]\frac{\delta T_A}{\delta [A]} & [B]\frac{\delta T_A}{\delta [B]} & \cdots \\ \cdots & \cdots & \cdots \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \frac{\delta [A]}{[A]} \\ \frac{\delta [B]}{[B]} \\ \cdots \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \delta T_A \\ \delta T_B \\ \cdots \end{bmatrix} \qquad (3.4)$$

As derivadas da parte esquerda da equação são obtidas a partir das equações dos balanços mássicos:

$$T_A = [A] + \sum_K a_K \beta_{a_K b_K} \ldots [A]^a [B]^b \ldots$$
$$T_B = [B] + \sum_K b_K \beta_{a_K b_K} \ldots [A]^a [B]^b \ldots \quad (3.5)$$

No processo de refinamento pode surgir como cálculo final, uma constante de ionização negativa. Esta situação pode ocorrer quando os modelos químicos considerados são incorrectos ou quando as espécies químicas postuladas se encontram em concentrações muito baixas ou apresentam um efeito negligenciável no potencial observado. Neste caso, o modelo é rejeitado sendo necessário propor outro alternativo, de acordo com as expectativas experimentais.

3.1.2 MÉTODO DE VAN DEN BERG/RUZIC

A interacção entre o catião, designado de forma simplificada por M, e a matéria orgânica presente no meio, nomeadamente AF, representada por L, pode ser traduzida pela equação química de equilíbrio (3.6) em que, por simplificação, as cargas foram omitidas. A constante de complexação condicional de equilíbrio (K) para a reacção pode ser expressa como indicado em (3.7) considerando apenas a formação de um complexo com uma estequiometria do tipo 1:1, admitindo um valor fixo de pH, uma determinada concentração para os AF (L) e para o catião (M). Onde [ML], [L] e [M] representam a concentração de equilíbrio molar do complexo formado entre o AF e o metal, o AF no seu estado livre e a concentração do ião metálico não complexado, respectivamente.

$$M + L \leftrightarrows ML \quad (3.6)$$

$$K = \frac{[ML]}{[M][L]} \tag{3.7}$$

Os balanços de materiais do catião metálico e do ligando para a reacção descrita em (3.6) podem ser expressos de acordo com as expressões indicadas em (3.8) e (3.9).

$$[M]_T = [M] + [ML] \tag{3.8}$$

$$[L]_T = [L] + [ML] \tag{3.9}$$

Tendo em consideração as equações dos balanços mássicos e a constante de estabilidade condicional (3.7), a equação pode ser reescrita da seguinte forma:

$$K = \frac{[M]_T - [M]}{[M]\,[L]} = \frac{[L]_T - [L]}{[M]\,[L]} \tag{3.10}$$

A adição de uma pequena quantidade de catião metálico à solução, contendo em equilíbrio o ligando e o metal, vai provocar um aumento da concentração total do metal, de valor igual a ΔM, o qual pode ser representado matematicamente pela equação (3.11), onde o parâmetro $\{[M]_T+\Delta[M]\}$ corresponde à nova concentração total do catião metálico.

$$\{[M]_T + \Delta[M]\} - [M] = K[M]\,[L] \tag{3.11}$$

Esta última equação pode ser reformulada e escrita da seguinte forma:

$$\Delta[M] = K[M]\,[L] - [M]_T + [M] \tag{3.12}$$

Considerando a equação (3.10) e a divisão do numerador e denominador pela concentração do ligando ([L]) obtém-se a expressão indicada em (3.13).

$$K = \frac{\frac{[L]_T}{[L]} - 1}{[M]} \Leftrightarrow \frac{[L]_T}{[L]} = K[M] + 1 \Leftrightarrow [L] = \frac{[L]_T}{K[M] + 1} \tag{3.13}$$

Substituindo o valor de [L] na equação (3.12) pelo valor encontrado em (3.13) resulta a expressão descrita em (3.14).

$$\Delta[M] = \frac{[L]_T}{1 + \frac{1}{K[M]}} - [M]_T + [M] \tag{3.14}$$

Reorganizando a equação colocando $[M]_T$ e [M] no primeiro termo e dividindo tudo por [M] obtém-se a equação:

$$\frac{\{[M]_T + \Delta[M]\} - [M]}{[M]} = \frac{[L]_T}{[M] + \frac{1}{K}} \tag{3.15}$$

A relação de van den Berg/Ruzic (3.16) é obtida invertendo a equação (3.15), onde [M] representa a concentração molar do ião no estado livre, $[M]_T$ a concentração molar total do catião adicionado ao sistema e $[L]_T$ a concentração molar total de AF no sistema.

$$\frac{[M]}{\{[M]_T + \Delta[M]\} - [M]} = \frac{1}{K[L]_T} + \frac{1}{[L]_T}[M] \tag{3.16}$$

Através da representação gráfica da equação da recta (3.16), é possível determinar a concentração do ligando total (declive igual a $1/[L]_T$) e a constante de complexação (ordenada na origem igual a $1/K[L]_T$) (Esteves da Silva e Oliveira, 2001). A determinação do valor da constante condicional permite executar diversas simulações experimentais. Assim, quando se considera apenas a formação de complexos com uma relação estequiométrica do tipo 1:1 (catião:ligando), a relação entre K, [M], $[M]_T$, e $[L]_T$ é dada por uma equação como a indicada em (3.17). Deste modo, a concentração do ião metálico no estado livre ([M]) pode ser encontrada através da resolução da equação de segundo grau.

$$K[M]^2 + [M](-K[M]_T + 1 + K[L]_T) - [M]_T = 0 \qquad (3.17)$$

Por outro lado, como a calibração dos eléctrodos deve ser efectuada com a solução de AF no decorrer da titulação, a curva de titulação deverá conter uma zona onde a concentração total de catião metálico seja aproximadamente igual à sua concentração livre, o que só é possível se a concentração do ligando for relativamente baixa. Como tal, esta técnica está condicionada à utilização de soluções relativamente diluídas de AF.

3.1.3 RESOLUÇÃO MULTIVARIADA DE CURVAS – MÍNIMOS QUADRADOS ALTERNANTES

Uma das características da moderna instrumentação analítica é o número de variáveis que podem ser medidas simultaneamente numa única amostra. A geração de quantidades muito elevadas de dados torna necessário o seu tratamento com ferramentas matemáticas mais sofisticadas para que se possa extrair a informação mais relevante. A espectroscopia de fluorescência é hoje uma importante ferramenta de caracterização das propriedades e reactividade das moléculas, através da obtenção

de matrizes de excitação-emissão (MEE). Na verdade as MEE contêm muita informação, a qual só pode ser extraída e tratada através de métodos quimiométricos. A técnica de resolução multivariada de curvas, baseada nos mínimos quadrados alternantes (MCR-ALS), permite a geração de informação útil, na análise dos espectros de MEE de amostras de AF (Esteves da Silva *et al.*, 2006).

Um espectro de MEE representa a intensidade de fluorescência registada pela medição de espectros de emissão, a vários comprimentos de onda de excitação. Uma vez que os AF correspondem a misturas, contendo vários fluoróforos, a MEE corresponde ao somatório da contribuição individual de cada fluoróforo mais a contribuição do sinal de fundo ou ruído. O número de fluoróforos (n_f) com propriedades distintas presentes numa MEE pode ser determinado pela análise de componentes principais (PCA). Este método matemático pretende, quando existe correlação entre os dados, representar da melhor forma possível a estrutura de dados obtidos, de modo a que o máximo da informação seja recolhida, no menor número de dimensões, como se pode ver de forma esquemática pela Figura 3.1 (Brereton, 2003; Miller e Miller, 2005).

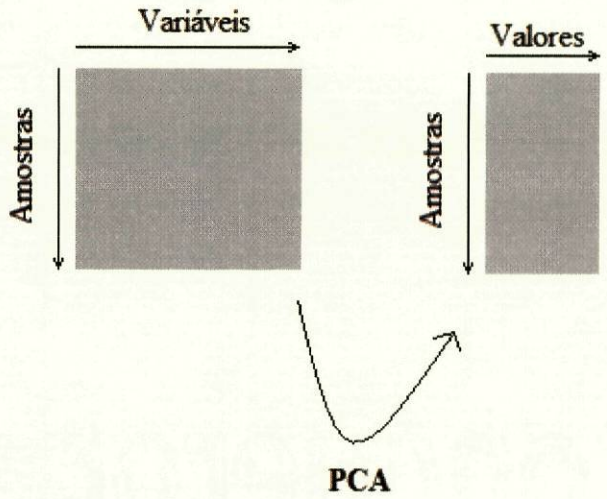


Figura 3.1 O PCA como forma de redução de variáveis.

A fluorescência de um fluoróforo pode sofrer um *quenching* devido à presença de uma espécie química particular (*quecher*). Assim, um *quenching* corresponde à diminuição da intensidade de uma banda fluorescente, que no entanto não sofre qualquer alteração no seu formato (o mesmo raciocínio é aplicado quando se verifica o fenómeno de *enhancement*). Em consequência o número de componentes obtidos de uma MEE na presença ou na ausência de um *quecher* deve ser igual. Contudo, a magnitude dos componentes (valores singulares) deve diminuir à medida que aumenta a concentração do *quecher*. Se o fluoróforo não sofre *quenching* então a magnitude do componente não é afectada. A análise gráfica dos valores singulares das MEE obtidas em função da concentração de *quenching* fornece importantes informações sobre o fenómeno de *quenching* em estudo. Nas amostras ambientais nomeadamente de SH existem muitos metais que induzem o fenómeno de *quenching* (estático) como consequência da formação de complexos estáveis entre o fluoróforo e os iões metálicos (Esteves da Silva *et al.*, 2006; Antunes *et al.*, 2007).

O objectivo da MCR-ALS é determinar as características do número de fluoróforos presentes (n_f) o qual pode ser feito pela decomposição das MEE através de modelos lineares. Considerando várias amostras, temos que K na Figura 3.2 representa as diferentes amostras analisadas, com diferentes concentrações do ião. Cada matriz representa o espectro de uma amostra que possui I linhas, no qual, cada linha representa os comprimentos de onda de excitação do espectro de fluorescência. Cada linha I possui J colunas, que por sua vez representam os comprimentos de emissão (3.18).

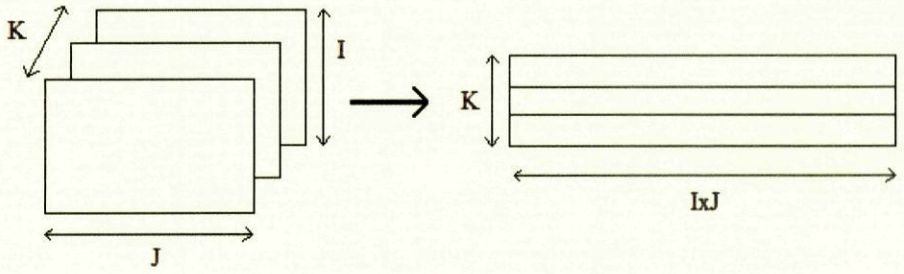


Figura 3.2 Representação do desdobramento realizado para cada uma das matrizes de K dados com I linhas e J colunas, resultando em uma matriz de dados única com K linhas e IxJ colunas.

$$I = S^{ex} S^{emT} + E \tag{3.18}$$

Onde as matrizes $S^{ex}(n_{ex}, n_f)$ e $S^{em}(n_{em}, n_f)$ contêm o espectro de excitação e emissão dos n_f locais ligantes. A matriz de valores residuais $E(n_{ex}, n_{em})$ descreve as variáveis não explicáveis pela matriz $S^{ex}S^{emT}$. É de referir que n_{ex} e n_{em} representa o número de onda do espectro de excitação e de emissão experimental, respectivamente. Os espectros de EEM adquiridos no decurso do processo de complexação podem ser arranjados numa matriz-coluna aumentada de dados (I_g), que permite a sua análise simultânea por MCR-ALS (Antunes e Esteves da Silva, 2005; Esteves da Silva *et al.*, 2006):

$$I_g = \begin{bmatrix} I_1 \\ I_2 \\ \\ \\ I_{nc} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} S_1^{ex} \\ S_2^{ex} \\ \\ \\ S_{nc}^{ex} \end{bmatrix} \times \left[\left(S^{emT}\right)\right] + E_g \tag{3.19}$$

O MCR é baseado no método dos Mínimos Quadrados Alternados (ALS), no qual, a partir dos resultados da análise de factores, o processo de optimização é realizado resolvendo iterativamente as equações (3.20) e (3.21).

$$S^{ex} = I \times S^{emT} \tag{3.20}$$

$$S^{em} = S^{ex} \times I \tag{3.21}$$

Para cada iteração de optimização, novas matrizes S^{ex} e S^{em} são estimadas e obtidas sucessivamente. Uma forma de estimar se o modelo consegue descrever os dados experimentais pode ser conseguida pela seguinte expressão:

$$lof\% = \sqrt{\frac{\sum_{i,j}\left(I_{i,j} - \hat{I}_{i,j}\right)^2}{\sum_{i,j} I_{i,j}^2}} \times 100 \tag{3.22}$$

Na equação (3.22) $I_{i,j}$ e $\hat{I}_{i,j}$ representam a intensidade de fluorescência para o espectro i e comprimento de onda j, na matriz experimental e na matriz calculada, respectivamente. A partir dos perfis dos parâmetros de complexação, a constante condicional e a capacidade da ligação podem ser calculadas.

O decréscimo da intensidade de fluorescência, devido ao *quenching* estático, na presença de sinais de fluorescência constantes (*background*), correspondente a fluoróforos que não são locais ligantes ou que não estão acessíveis para a complexação, podem ser obtidas pela equação modificada de Stern-Volmer.

3.1.4 MÉTODO DE STERN-VOLMER

A extinção de fluorescência é um processo no qual a intensidade de fluorescência de uma dada espécie diminui devido a processos de transferência de energia, formação de complexos e colisões entre moléculas (Lakowicz, 2006). Quando um ligando apresenta fluorescência os seguintes fenómenos ocorrem:

$$L + h\nu \rightarrow L^* \tag{3.23}$$

$$L^* \rightarrow L + h\nu \quad (3.24)$$

$$L^* \rightarrow L \quad (3.25)$$

Onde a primeira reacção representa a absorção de radiação, a segunda a emissão de radiação e a terceira um decaimento não radiativo. A extinção de fluorescência pode ser estática, quando ocorre a formação de um complexo não fluorescente entre o fluoróforo e a substância que promove a diminuição da fluorescência (extintor), ou dinâmica quando apenas ocorre colisão ou uma passagem muito próxima de um grupo fluorescente no estado excitado pelo extintor, que lhe provoca uma diminuição na fluorescência. No caso da extinção de fluorescência ser dinâmica, a colisão tem de se verificar durante o tempo de vida do estado excitado do grupo fluorescente, que volta ao estado fundamental após a colisão, sem a emissão de qualquer fotão. A extinção estática de fluorescência é representada pela equação linear de Stern-Volmer que pode ser deduzida da seguinte forma: quando ocorre a complexação entre um ligante (L) fluorescente e um catião metálico (M), com formação de um complexo (ML) não fluorescente, a equação que traduz a reacção pode ser escrita como descrito em (3.6) à qual corresponde a constante de equilíbrio de complexação definida em (3.7) e os respectivos balanços de massa do catião (3.8) e do ligando (3.9).

Sendo a fluorescência proporcional à concentração do ligando, podemos estabelecer a relação que se indica na equação (3.26).

$$\frac{F_0}{F} = \frac{[L]_T}{[L]} \quad (3.26)$$

Em que F_0 e F correspondem à intensidade de fluorescência na ausência e na presença do catião, respectivamente. Combinando a equação (3.7), (3.9) e (3.26) obtemos a seguinte expressão matemática:

$$\frac{F_0}{F} = \frac{[L]+[ML]}{[L]} = \frac{[L]+K[L][M]}{[L]} = 1+K[M] \qquad (3.27)$$

Para valores de $[M]_T$ muito superiores a $[L]_T$ e/ou para valores baixos de K, [M] é aproximadamente igual a $[M]_T$, pelo que a anterior equação pode ser reformulada como se indica em (3.27), conhecida como equação linear de Stern-Volmer. A extinção dinâmica de fluorescência é também representada pela equação (3.28) substituindo K por $K_{dinâmico}$ que representa não uma complexação efectiva (formação [ML]) mas uma constante colisional.

$$\frac{F_0}{F} = 1+K[M]_T \qquad (3.28)$$

É importante salientar que a linearidade da equação não prova a existência de extinção estática de fluorescência, já que a extinção dinâmica também origina um gráfico Stern-Volmer linear. A equação modificada de Stern-Volmer permite analisar a extinção de fluorescência no caso de existirem dois tipos de locais ligantes fluorescentes na molécula, um acessível ao catião e outro inacessível (Lakowicz, 2006). Neste caso, o gráfico de Stern-Volmer apresenta um encurvamento no sentido do eixo das abcissas, para concentrações elevadas do catião metálico, ou seja, quando os locais ligantes da molécula ficam saturados e deixam de emitir fluorescência, a intensidade observada é apenas devida aos locais inacessíveis ao catião.

Representando F_{0a} como o sítio ligante fluorescente da molécula acessível ao catião e F_{0i} o inacessível, a intensidade de fluorescência total na ausência do catião em solução (F_0) é dado pela expressão (3.29).

$$F_0 = F_{0a} + F_{0i} \qquad (3.29)$$

A fracção de fluoróforos acessíveis ao catião é dada por:

$$f = \frac{F_{0a}}{F_0} = \frac{F_{0a}}{F_a + F_{oi}} \tag{3.30}$$

Na presença do catião metálico, a intensidade de fluorescência da fracção acessível diminui, enquanto a fracção inacessível não sofre extinção de fluorescência, pelo que podemos escrever:

$$F = \frac{F_{0a}}{1 + K[M]} + F_{0i} \tag{3.31}$$

Em que K é a constante de estabilidade de complexos com a fracção acessível. Subtraindo a equação (3.29) à equação (3.31) obtemos:

$$\Delta F = F_0 - F = F_{0a} \frac{K[M]}{1 + k[M]} \tag{3.32}$$

Invertendo a equação anterior e multiplicando pela equação (3.29) obtemos a seguinte expressão:

$$\frac{F_0}{\Delta F} = \left(\frac{1 + K[M]}{K[M]} \right) \left(\frac{F_{0a} + F_{0i}}{F_{0a}} \right) \tag{3.33}$$

Tendo em consideração a equação (3.30) obtemos:

$$\frac{F_0}{\Delta F}=\left(\frac{1}{f\times K}\right)\frac{1}{[M]}+\frac{1}{f} \qquad (3.34)$$

Aplicando as condições descritas para a equação (3.26) pode nesta última equação substituir-se [M] por $[M]_T$:

$$\frac{F_0}{\Delta F}=\left(\frac{1}{f\times K}\right)\frac{1}{[M]_T}+\frac{1}{f} \qquad (2.35)$$

A representação linear permite obter o declive (1/fK) e a ordenada na origem (1/f).

3.1.5 MÉTODO DE RYAN E WEBER

Como referido anteriormente, a adição de um metal a uma solução contendo um ligando fluorescente, forma um complexo, provocando a redução (*quenching*) ou o aumento (*enhancement*) da fluorescência, a qual é proporcional à concentração de ligando livre. A intensidade de fluorescência experimental da solução (F) é igual à soma da intensidade de fluorescência do ligando no estado livre e do ligando complexado (equação 3.36).

$$F=F_L+F_{ML} \qquad (3.36)$$

Onde F_L e F_{ML} representam, respectivamente, a intensidade de fluorescência do ligando livre e do complexo. Se F_L representam a intensidade no início da titulação, onde o metal não está presente, e F_{ML} representa a intensidade de fluorescência no final da titulação, onde todo o ligando está complexado, a fracção do ligando total complexado em qualquer ponto da titulação (X_{ML}) é dado pela equação 3.37.

$$X_{ML} = \frac{[ML]}{[L]_T} = \frac{F_L - F}{F_L - F_{ML}} \tag{3.37}$$

Tendo em consideração os balanços de materiais do ligando (equação 3.38) e do catião metálico (equação 3.39), a estabilidade condicional (K) para um valor de pH constante e uma estequiometria do complexo do tipo 1:1 é dada pela equação (3.40).

$$[L]_T = [L] + [ML] \tag{3.38}$$

$$[M]_T = [M] + [ML] \tag{3.39}$$

$$K = \frac{[ML]}{[L]\,[M]} \tag{3.40}$$

A fracção do ligando complexado pode ser expressa em termos da constante de estabilidade condicional (K) e da concentração do ião metálico livre ([M]) como se pode constatar pela seguinte equação:

$$X_{ML} = \frac{K[M]}{K[M]+1} = \frac{K([M]_T - X_{ML}[L]_T)}{K([M]_T - X_{ML}[L]_T)+1} \tag{3.41}$$

Esta última expressão define a curva de titulação, ião metálico total em função da fracção do ligando complexado. Esta equação pode ser transformada numa função quadrática em relação a X_{ML} como se expressa na seguinte equação:

$$X_{ML} = \frac{1}{2K[L]_T}\left[(K[L]_T + K[M]_T + 1) - \sqrt{(K[L]_T + K[M]_T + 1)^2 - 4K^2[L]_T[M]_T}\right] \tag{3.42}$$

Exprimindo os resultados experimentais para que F_L seja igual a 100, obtém-se, tendo em consideração a equação (3.37), a seguinte expressão:

$$X_{ML} = \frac{I_{ML} - 100}{2K[L]_T} \times \left[(K[L]_T + K[M]_T + 1) - \sqrt{(K[L]_T + K[M]_T + 1)^2 - 4K^2[L]_T[M]_T} \right] + 100 \qquad (3.43)$$

Nos casos em que existem evidências experimentais de que o complexo formado entre o ligando e o ião metálico não é fluorescente, então F_{ML} é igual a zero e a equação pode ser simplificada para:

$$X_{ML} = 100 - \frac{100}{2K[L]_T} \times \left[(K[L]_T + K[M]_T + 1) - \sqrt{(K[L]_T + K[M]_T + 1)^2 - 4K^2[L]_T[M]_T} \right] \qquad (3.44)$$

Estas duas últimas equações podem ser resolvidas para K, $[L]_T$ e I_{ML} pelo ajuste por regressão não linear dos perfis de extinção de fluorescência, calculados pelo método simplex modificado (Machado e Esteves da Silva, 1993; Esteves da Silva e Machado, 1995). A qualidade do ajuste é avaliada por duas funções de erro, a soma dos quadrados do resíduo (SQR) e o desvio médio das estimativas (DME).

$$SQR = \sum \left(I_{exp} - I_{cal} \right) \qquad (3.45)$$

$$DME = \frac{\sum \left(I_{exp} - I_{cal} \right)}{n_p} \qquad (3.46)$$

Os somatórios são efectuados com o número de pontos usados no cálculo (n_p), I_{exp} é a intensidade de fluorescência experimental e I_{cal} é a intensidade de fluorescência calculada.

3.2 DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

3.2.1 EXTRACÇÃO E ISOLAMENTO DA MATÉRIA ORGÂNICA

A recolha de amostras do solo foi efectuada em dois pontos distintos da margem da albufeira, uma na envolvente da zona de captação da água para a estação de tratamento de águas de consumo (ETA), onde também foram realizadas as colheitas de água, e outra nas proximidades do túnel de ligação do rio Mondego à albufeira (Figura 3.3).

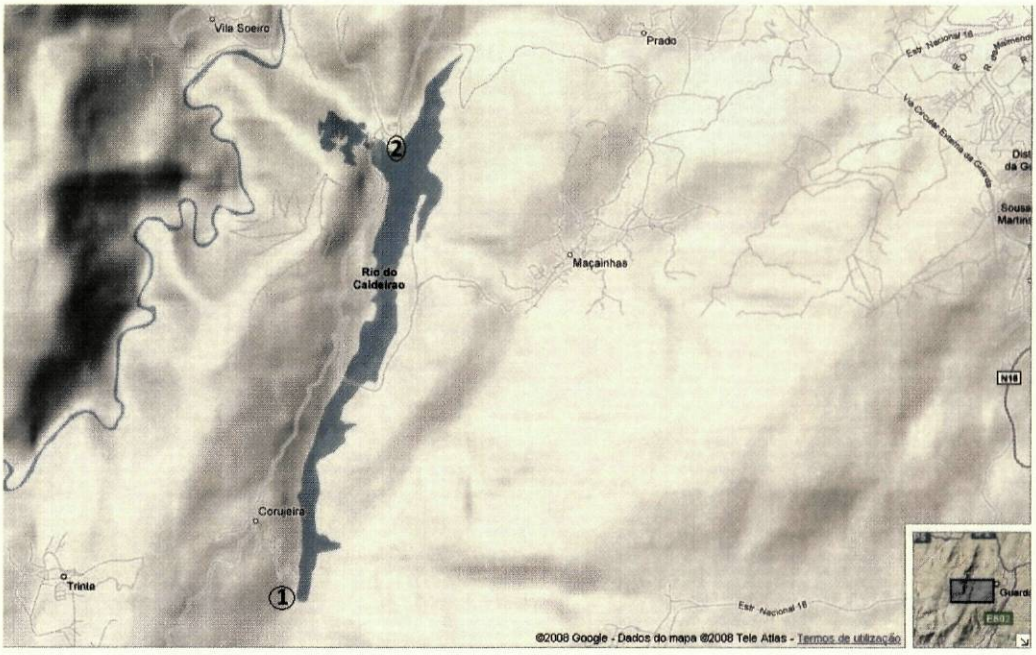


Figura 3.3 Imagem da zona da albufeira do caldeirão. Baseado na imagem retirada do sítio da Internet do Google http://maps.google.com/maps?ll=40.689625,-7.4876808&z=8&t=h&hl=pt. (1) Zona de recolha da amostra AFs2. (2) Zona de recolha das amostras AFs1, AFa1 e AFa2.

A extracção dos AF das amostras de solo e de água foram realizadas segundo os métodos recomendados pela *International Humic Substances Society* (IHSS), conforme indicação esquemática na Figura 3.4 (Thurman, 1988). As amostras de solo, designadas por AFs1 e AFs2, assim como as amostras de água AFa1 e AFa2 (Tabela 3.1), foram

submetidas a um pré-tratamento antes da execução do processo de extracção. Assim, as amostras de solo foram acidificadas pela adição de uma solução de ácido clorídrico a 0,1 $molL^{-1}$ (pH<2), numa proporção aproximada de 10 ml por cada grama seca de solo. A solução resultante foi agitada durante aproximadamente duas horas tendo repousado durante a noite. O sobrenadante da solução foi decantado e depois filtrado.

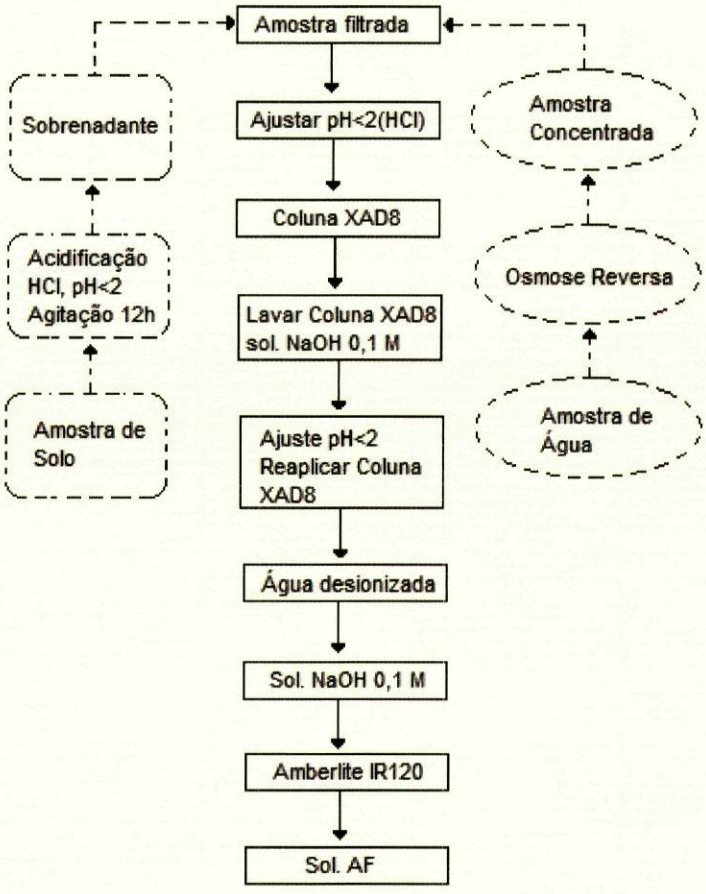


Figura 3.4 Esquema das etapas de pré-tratamento das amostras e extracção dos AF a partir de amostras de solo e água.

Tabela 3.1 Designação, origem e métodos de extracção dos AF presente no solo e na água da albufeira do Caldeirão.

Designação	Origem e método de extracção
AFs1	AF do solo obtido junto à ETA. Metodologia da IHSS.
AFs2	AF do solo obtido junto ao túnel. Metodologia da IHSS.
AFa1	AF da água obtida junto à ETA. Metodologia da IHSS.
AFa2	AF da água obtida junto à ETA. Pré-concentração com OR.

A amostra de água (AFa2) foi submetida a um processo de concentração através da utilização de um sistema de osmose reversa (Serkiz e Perdue, 1990) como exemplificado na Figura 3.5, tendo sido posteriormente filtrada e acidificada. Este sistema, construído no Departamento de Química da Universidade do Porto, é composto por uma bomba eléctrica da marca Topway Global Inc. (modelo 8821142120), resinas desionizadoras (ATS), manómetro de pressão (Precision) e uma coluna de osmose reversa. A amostra AFa1 foi apenas filtrada e acidificada, não tendo sido efectuado o processo de pré-concentração.

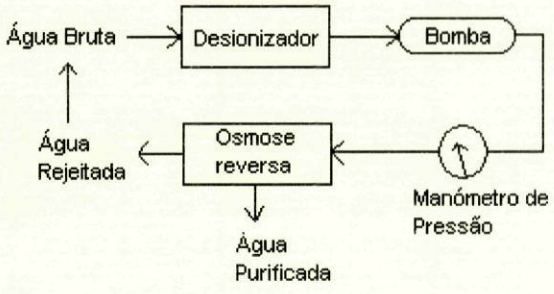


Figura 3.5 Sistema de osmose reversa utilizado na concentração da MOD da água.

Todas as amostras acidificadas foram eluídas através de uma coluna contendo uma resina não iónica de éster acrílico do tipo XAD8 (Fluka), onde os AF, na sua forma ácida, ficaram adsorvidos (Figura 3.6). Procedeu-se à lavagem dos AF retidos na resina com água ultra-pura para remoção dos iões associados. A remoção dos AF foi

efectuada através da passagem de uma solução de NaOH a 0,1 $molL^{-1}$, sendo os AF eluídos recolhidos numa solução ácida, contendo ácido clorídrico e fluorídrico. Os AF assim obtidos foram novamente eluídos na coluna de XAD8 repetindo-se o processo anterior com excepção da etapa final já que, após a eluição com NaOH, a solução com a amostra foi imediatamente transferida para uma coluna com uma resina trocadora catiónica (H^+) do tipo Amberlite IR-120 (Sigma). A solução de AF resultante foi congelada e posteriormente liofilizada (B-Braun, Christ LDC-1). As resinas não iónicas do tipo XAD, são macro porosas e possuem uma grande superfície de contacto, na qual o efeito hidrofóbico é o principal factor de adsorção, o qual está dependente do pH da solução.

Solo / Água	1	Equilibrar o pH da amostra, cerca de 200 g de solo, para um valor entre 1 e 2 por adição de 100 ml de solução de HCl a 1 $molL^{-1}$.
	2	Adição de ácido clorídrico (0,1 $molL^{-1}$) numa proporção de 10 ml de solução por grama seca de solo.
	3	Agitar a solução durante um período mínimo de uma hora.
	4	Deixar a solução em repouso durante uma noite, após o qual se procede à decantação e filtração (Whatmann nº 41).
	5	A solução filtrada passa-se através de uma coluna contendo uma resina XAD8 previamente lavada.
	6	Após a adsorção dos ácidos fúlvicos à coluna, esta é lavada com água desionizada (cerca de 50 ml).
	7	Faz-se a eluição da coluna com cerca de 70 ml de uma solução de NaOH a 0,1 $molL^{-1}$ e com 210 ml de água desionizada. Os AF são arrastados pela solução e colhidos num frasco com uma mistura de 5 ml de HCl (6 $molL^{-1}$) e 100 ml de uma solução constituída por 0,1 $molL^{-1}$ de HCl e 0,3 $molL^{-1}$ de HF.
	8	Após lavagem da coluna com cerca de 210 ml de água desionizada, passa-se novamente a solução contendo os AF pela coluna com resina XAD8.
	9	Lavagem da coluna com os ácidos AF com 4 ml de água desionizada.
	10	Repetiu-se o passo 7 e imediatamente a seguir passou-se o eluato por uma coluna contendo um permutador catiónico na forma ácida (Amberlite IR-120).
	11	A solução assim obtida foi imediatamente congelada e posteriormente liofilizada.

Figura 3.6 Processo pormenorizado utilizado na extracção dos AF do solo e da água da albufeira do Caldeirão.

A pH baixo, ocorre a protonação dos ácidos orgânicos com a consequente adsorção à resina. Para soluções com pH neutro ou alcalino, os ácidos orgânicos são

ionizados e o fenómeno inverso ocorre. Durante os processos de extracção, especialmente no decorrer da lavagem com solução de NaOH, os AF ficam sujeitos à quebra de diversas ligações ou interacções químicas, podendo estas causar modificações estruturais irreversíveis. As alterações estruturais promovidas pelo processo de extracção podem em último caso constituir um factor limitativo na interpretação das propriedades químicas e das funções dos AF no ambiente. Como tal, é fundamental que estes processos decorram no mais curto espaço de tempo de forma a minorar os danos estruturais na molécula.

Além do processo clássico aprovado pela IHSS sobre a extracção e isolamento da matéria orgânica do solo em 3 constituintes, em concreto ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e huminas, foi recentemente proposto o fraccionamento da matéria orgânica presente na água em diversas fracções (Leenheer *et al.*, 2001; Croué, 2004). Assim, é possível fraccionar a MOD na água em 4 fracções com propriedades físicas e químicas distintas, a fracção colóide, hidrofóbica, transfílica e hidrofílica. Antes do processo de fraccionamento, aproximadamente 200 L de água colhida da albufeira foi concentrada em cerca de um litro através de um sistema de osmose reversa (OR) esquematizado na Figura 3.5. No fraccionamento da MOD usou-se o seguinte procedimento: (i) acidificação da solução concentrada a pH 1 e a sua colocação num saco de diálise (Spectrum, Spectra/Por), com um *cutoff* de 3,5 kDa; (ii) imersão durante 36 horas em 3 x 4 L de solução 0,1 $molL^{-1}$ de HCl (Merck); (iii) imersão do saco de diálise numa solução de HF com uma concentração igual a 0,2 $molL^{-1}$ e posterior imersão em vários copos com água desionizada para remoção do excesso de ácido. No saco de diálise ficou retida a fracção coloidal, a qual foi congelada para posterior liofilização; (iv) A solução dialisada foi eluída sequencialmente por uma resina não iónica de éster acrílico, XAD8 (Fluka), e uma resina não iónica de estireno-divenilbenzeno, XAD4 (Sigma), permitindo obter, por adsorção, a fracção hidrofóbica e transfílica, respectivamente (Figura 3.7).

A eluição das fracções hidrofóbica e transfílica, adsorvidas nas resinas XAD8 e XAD4, foi efectuada com uma mistura de acetonitrilo (Merck) e água, numa proporção em volume de 75% e 25%, respectivamente. As soluções com as respectivas fracções foram congeladas e liofilizadas (B. Braun, Christ LDC-1). A Figura 3.8 mostra as matrizes de excitação-emissão (MEE) de fluorescência da solução dialisada antes e depois de passar pelas duas resinas. Como a fracção hidrofóbica e transfílica ficaram adsorvidas nas resinas, a intensidade de fluorescência da solução eluída através das colunas diminuiu, porque a solução apenas contem a fracção hidrofílica (Figura 3.8 B). Na amostra estudada, e considerando que a intensidade de fluorescência é proporcional à concentração em massa das fracções, a fracção hidrofílica corresponde a cerca de 35% das três fracções que passaram pelo saco de diálise.

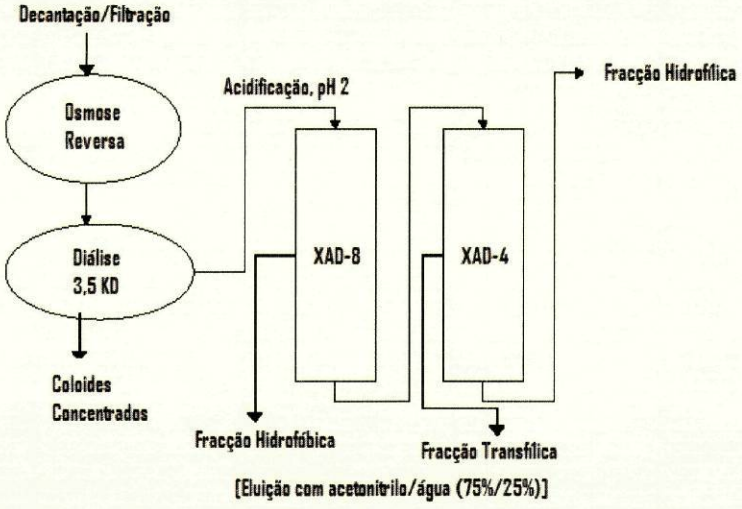


Figura 3.7 Esquema relativo ao protocolo de isolamento das fracções de MOD da água. Adaptado de Croué (2004).

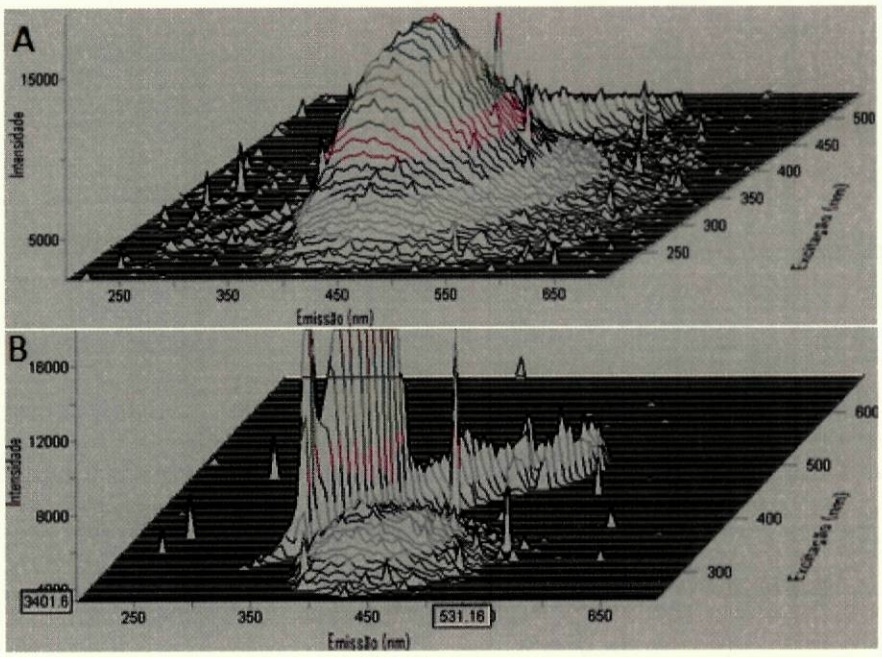


Figura 3.8 Espectro de fluorescência da solução de HCl (0,1 molL^{-1}) resultante do processo de diálise antes (A) e depois (B) da eluição.

3.3 REAGENTES E EQUIPAMENTO ANALÍTICO

Os reagentes usados foram de qualidade p.a. ou superior. Na preparação dos reagentes e das diluições foi usada água ultra pura produzida a partir de um sistema Millipore (RO 5 plus e Milli Q plus, USA). As soluções de AF utilizadas nas titulações potenciométricas foram preparadas por pesagem e diluição rigorosa com solução aquosa de nitrato de potássio 0,1 molL^{-1}. O nitrato de potássio (Merck) foi previamente submetido a duas recristalizações e seco a 100 °C sob vácuo. As soluções de hidróxido de potássio 0,02 molL^{-1} e de cloreto de potássio 1,0 molL^{-1} foram preparadas por pesagem em balança analítica e posterior diluição em balões apropriados, com água ultra-pura. O ácido nítrico 0,01 molL^{-1} foi preparado a partir de uma solução de 0,1 molL^{-1}.

3.3.1 INSTRUMENTAÇÃO

3.3.1.1 ANÁLISE ELEMENTAR

A análise elementar foi efectuada nos laboratórios do Instituto Superior Técnico em Lisboa (Portugal).

3.3.1.2 ESPECTROSCOPIA UV-VIS

Os espectros das soluções de AF, com concentração aproximadamente igual a 20 mgL^{-1} por diluição dos AF em hidrogenocarbonato de sódio (Panreac) 0,1 $molL^{-1}$, foram obtidos na gama de comprimentos de onda entre os 200 e os 800 nm, com uma resolução de 2 nm, através de um espectrofotómetro UV-Vis, modelo Cintra 40 (GBC), de duplo feixe e lâmpada de deutério, controlado por computador e software Spectral versão 1.5 (GBC). As medições das soluções de AF foram efectuadas em células de quartzo (Specac) de percurso óptico de 1 cm.

Os espectros UV-Vis das soluções aquosas das fracções de MOD (colóide, transfílica e hidrofóbica) foram obtidos de forma semelhante ao anteriormente descrito para os AF. Assim, foram preparadas as fracções de MOD com uma concentração aproximadamente igual a 20 mgL^{-1} e força iónica ajustada com uma solução de $NaHCO_3$ (Merck) a 0,1 $molL^{-1}$. Os espectros foram obtidos num espectrofotómetro Hewlett-Packard (modelo 8452A) utilizando uma cuvete de quartzo com 1 cm de percurso óptico (Hellma) e numa gama de comprimento de onda entre os 240 e os 800 nm.

3.3.1.3 POTENCIOMETRIA

Para as titulações potenciométricas de ácido-base foi usado um eléctrodo de pH de vidro ROSS modelo 8104 (Orion) e uma sonda de temperatura modelo T201 (Radiometer) ligados a um milivoltímetro modelo Tritralab TIM 900 (Radiometer). As titulações foram realizadas através de um titulador automático programável modelo ABU 901 (Radiometer), com bureta de capacidade volúmica de 10 e 20 ml e resolução

de 0,5 e 1,0 μL, respectivamente. A titulação foi controlada por computador através de software específico TimTalk 9 versão 2.0 (LabSoft). As titulações potenciométricas foram realizadas num vaso de reacção de parede dupla modelo 61414010 (Metrohm) associado a um banho de água termostatizado, modelo 12B da Julabo, e regulado para uma temperatura no vaso de 25 °C. As titulações ácido-base foram realizadas com uma solução aquosa descarbonatada de KOH 0,1 $molL^{-1}$ (Dilut-It, J.T. Baker) previamente diluída com água fervida. As soluções padrão de pH a 25 °C e força iónica ajustada a 0,1 $molL^{-1}$, nomeadamente solução tampão de bórax (pH=9,043), solução tampão de fosfato (pH=6,784) e solução de ftalato (pH=3,883) foram preparadas como indicado em Meites (1963) e Vasconcelos (1983).

No estudo dos complexos formados entre os catiões metálicos Cu(II), Cd(II) e Pb(II) com o ligando AF, por potenciometria, foi usada uma solução de nitrato de cobre hidratado (J.T. Baker), solução de nitrato de cádmio tetrahidratado (J.T. Baker), e solução de nitrato de chumbo (J.T. Baker), respectivamente. As soluções aquosas foram preparadas por pesagem e diluição rigorosa em água ultra-pura e aferidas com solução de EDTA 0,02 $molL^{-1}$ (Dilut-It, J.T. Baker). As titulações potenciométricas foram efectuadas a pH constante e igual a 6, por adição de uma solução de KOH ou de HCl, ambas da J.T. Baker (Dilut-It), de acordo com o referido na Tabela 3.2. Para medir e controlar o pH da solução experimental, foi usado um eléctrodo de pH ROSS modelo 8104 (Orion) e uma sonda de temperatura modelo T201 (Radiometer) ligados a um milivoltímetro modelo Tritralab TIM 900 (Radiometer). Os estudos de complexação dos catiões com os AF foram efectuados através de métodos potenciométricos indirectos uma vez que cada uma das sondas apenas detecta o respectivo ião no estado livre, sendo incapaz de detectar a espécie química no estado complexado. A metodologia utilizada foi semelhante à descrita para as titulações ácido-base, recorrendo ao uso de eléctrodos selectivos ao ião Cu(II) (ref. ISE 25Cu-9) e ao ião Pb(II) (ISE 25Pb-9) e respectivo eléctrodo de referência de calomelanos (ref. 451), todos da Radiometer. A

determinação do ião Cd(II) foi efectuada com um eléctrodo combinado, modelo 96-48 da Thermo Orion.

Tabela 3.2 Condições experimentais usadas na titulação de AF com os catiões Cu(II), Cd(II) e Pb(II).

Parâmetro	Valores
Titulação com solução de Cu(II)	
pH	6
[AF], mgL^{-1}	20-30
Volume inicial AF, ml	50
[Cu(II)], $molL^{-1}$ (titulante)	$8,1x10^{-3}$ e $8,1x10^{-2}$
[Cu(II)], $molL^{-1}$ (titulado)	$4,1x10^{-8} - 1,8x10^{-3}$
[KNO_3], $molL^{-1}$	$1x10^{-1}$
[KOH]	$1x10^{-1}$
[HCl]	$1x10^{-1}$
Titulação com solução de Cd(II)	
pH	6
[AF], mgL^{-1}	20-30
Volume inicial AF, ml	50
[Cd(II)], $molL^{-1}$ (titulante)	$6,0x10^{-3}$ e $5,6x10^{-2}$
[Cd(II)], $molL^{-1}$ (titulado)	$2,4x10^{-7} - 7,0x10^{-4}$
[KNO_3], $molL^{-1}$	$1x10^{-1}$
[KOH]	$1x10^{-1}$
[HNO_3]	$1x10^{-1}$
Titulação com solução de Pb(II)	
pH	6
[AF], mgL^{-1}	20-30
Volume inicial AF, ml	50
[Pb(II)], $molL^{-1}$ (titulante)	$7,0x10^{-3}$ e $7,8x10^{-2}$
[Pb(II)], $molL^{-1}$ (titulado)	$2,4x10^{-7} - 1,3x10^{-4}$
[KNO_3], $molL^{-1}$	$1x10^{-1}$
[KOH]	$1x10^{-1}$
[HNO_3]	$1x10^{-1}$

A determinação do potencial de oxidação–redução (ORP) foi efectuada com um eléctrodo combinado de platina da Radiometer, modelo MC3051PT-9 ligado a um equipamento portátil de pH (PHM 203, Radiometer) o qual também foi utilizado para a determinação do pH da água através do uso de uma sonda de pH HI1332 (Hanna Instruments). A condutividade foi determinada com uma sonda CDC545ST ligada a um condutivimetro CDM 206, ambos da Radiometer. Para a determinação do oxigénio dissolvido foi usado um medidor OXM 208 com uma sonda DOX288 (Radiometer).

3.3.1.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO

Os espectros de IV das amostras de AF no estado sólido (5% de KBr) foram adquiridos para comprimentos de onda entre os 1000 e os 3500 cm^{-1} com um espectrofotómetro FTIR, modelo Vector 22 (Bruker) controlado por computador e software OPUS NT versão 3.1 (Bruker), por acumulação de 200 espectros e uma resolução de 1 cm^{-1}. Na determinação espectroscópica por IV, o reagente KBr (Specac) foi previamente seco a 50 °C sob vácuo e guardado em excicador antes da sua utilização.

Os espectros de IV das fracções de MOD (colóide, hidrofóbica e transfílica) foram adquiridos para comprimentos de onda entre os 1000 e os 3500 cm^{-1} com um espectrofotómetro FTIR da marca Jasco (modelo FT/IR-460 Plus), com a acumulação de 35 espectros e uma resolução de 4 cm^{-1}.

3.3.1.5 FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

Os espectros de fluorescência molecular foram obtidos com um espectrofluorímetro Spex 3D com detector CCD (Horiba Jobin Yvon), utilizando uma célula de quartzo com 1 cm, à temperatura ambiente. Os espectros de excitação foram obtidos entre 200 e 675 nm e os de emissão entre 200 e 700 nm, ambos colhidos a cada 5 nm e um tempo de aquisição de 10 s.

A solução de Al(III) foi preparada por pesagem e diluição rigorosa de sulfato de alumínio em solução de ácido sulfúrico (Pronalabo) $1x10^{-3}$ $molL^{-1}$ de forma a obter uma solução de aproximadamente 0,02 $molL^{-1}$. As condições de realização dos ensaios de titulação dos AF com solução do ião Al(III) por espectroscopia de fluorescência molecular encontram-se descritas na Tabela 3.3.

A solução de Fe(III) foi preparada por pesagem de cloreto de ferro trihidratada e diluída com solução de ácido nítrico (Merck) 0,1 $molL^{-1}$, de modo a que a concentração da solução resultante apresentasse um valor aproximado de $5,0x10^{-3}$

$molL^{-1}$. Os AF foram preparados por pesagem em balança analítica e diluição com solução aquosa de nitrato de potássio (Merck) 0,1 $molL^{-1}$.

Tabela 3.3 Condições experimentais usadas na titulação de AF com o catião Al(III).

Parâmetro	Valores	
pH	4	5
[AF], mgL^{-1}	42,3 – 43,0	42,3 – 43,0
Volume inicial AF, ml	30	30
[Al(III)], $molL^{-1}$ (titulante)	$2,37x10^{-2}$	$2,37x10^{-2}$
[Al(III)], $molL^{-1}$ (titulado)	$4,96x10^{-6} - 2,06x10^{-4}$	$1,93x10^{-7} - 3,56x10^{-5}$
[NaOH], $molL^{-1}$	$1,0x10^{-3}$	$1,0x10^{-3}$
[HNO_3], $molL^{-1}$	$1,0x10^{-3}$	$1,0x10^{-3}$

A solução de Hg(II) a 0,01 $molL^{-1}$ foi preparada por pesagem em balança analítica (Mettler) de cloreto de mercúrio (sigma) e diluição em balão de 25 ml com nitrato de potássio 0,1 $molL^{-1}$. As condições experimentais da titulação dos AF com o ião Fe(III) encontram-se indicadas na Tabela 3.4. Preparou-se uma série de soluções contendo 40 mgL^{-1} de AF e diferentes concentrações de ião Hg(II), no intervalo de concentrações entre $1X10^{-4}$ e $1,0x10^{-6}$ $molL^{-1}$, em KNO_3 0,1 $molL^{-1}$ (Tabela 3.5). As soluções foram ajustadas a pH 6 usando uma solução de NaOH 0,02 $molL^{-1}$ descarbonatada, utilizando um medidor de pH da marca Crison MicropH 2002 com agitador crison-microST20039 e um eléctrodo de pH de vidro (Mettler 373-90-WTE-ISES7/105-120) e respectivo eléctrodo de referência de Ag/AgCl. A medição foi efectuada num vaso de reacção de parede dupla 6.1418.220 e a temperatura de medição foi regulada com um banho termostatizado (yellow line ET basic). Os valores de pH foram seleccionados para evitar a hidrólise dos iões metálicos utilizados no estudo. Os espectros foram registados 24 horas depois de preparação das soluções para assegurar que o equilíbrio químico era atingido.

Tabela 3.4 Condições experimentais usadas na titulação de AF com o catião Fe(III).

Parâmetro	Valores	
pH	3	4
[AF], mgL^{-1}	42,3 – 43,0	42,3 – 43,0
Volume inicial AF, ml	30	30
[Fe(III)], $molL^{-1}$ (titulante)	$5.15x10^{-3}$	$5,15x10^{-3}$
[Fe(III)], $molL^{-1}$ (titulado)	$2,03x10^{-6} – 3,94x10^{-5}$	$2,11x10^{-6} – 3,71x10^{-5}$
[NaOH], $molL^{-1}$	$1,0x10^{-3}$	$1,0x10^{-3}$
[HNO_3], $molL^{-1}$	$1,0x10^{-3}$	$1,0x10^{-3}$

Tabela 3.5 Condições experimentais usadas na titulação de AF com o catião Hg(II).

Parâmetro	Valores
pH	6
[AF], mgL^{-1}	43,0
Volume inicial AF, ml	30
[Hg(II)], $molL^{-1}$ (titulante)	$1,0x10^{-3}$ e $1,0x10^{-2}$
[Hg(II)], $molL^{-1}$ (titulado)	$1,0x10^{-6} – 1,0x10^{-4}$
[NaOH], $molL^{-1}$	$2,0x10^{-2}$

No estudo dos sistemas AF-Cu(II), foi usada uma solução de cobre preparada por diluição de nitrato de cobre hidratado (J.T. Baker) previamente aferida com solução de EDTA 0,02 $molL^{-1}$ (Dilut-It, J.T. Baker), e ajustada a pH 4 e 6 com solução de hidróxido de potássio (Tabela 3.6). Na determinação das constantes de estabilidade condicionais dos complexos formados entre a espécie química UO_2^{2+} e as fracções de MOD foi preparada uma solução de nitrato de uranilo ($5x10^{-6}$ $molL^{-1}$), a qual foi titulada com uma solução de fracção de MOD (colóide, transfílica e hidrofóbica) numa gama de concentrações entre 0 e 1 mgL^{-1} (Tabela 3.7).

Tabela 3.6 Condições experimentais usadas na titulação de AF com o catião Cu(II).

Parâmetro	Valores	
pH	4	6
[AF], mgL^{-1}	50,0	50,0
Volume inicial AF, ml	25	25
[Cu(II)], $molL^{-1}$ (titulante)	$1.0x10^{-2}$	$1,0x10^{-2}$
[Cu(II)], $molL^{-1}$ (titulado)	$2,0x10^{-6} – 6,0x10^{-3}$	$1,0x10^{-7} – 7,01x10^{-4}$
[KOH], $molL^{-1}$	$5,0x10^{-2}$	$5,0x10^{-2}$

Tabela 3.7 Condições experimentais usadas na titulação de AF com o catião UO_2^{2+}.

Parâmetro	Valores
pH	6
[Fracção de MOD], mgL^{-1}	0 – 1
Volume inicial UO_2^{2+}, ml	25
$[UO_2^{2+}]$, $molL^{-1}$	$5x10^{-6}$
[NaOH], $molL^{-1}$	$1,0x10^{-1}$
$[HNO_3]$, $molL^{-1}$	$1,0x10^{-1}$

3.3.1.6 RMN

Os espectros de RMN foram determinados no Departamento de Química da Universidade de Santiago de Compostela (Espanha) através de um espectrofotómetro DRX-500 (Bruker) com uma frequência de 500 MHz. Na preparação das soluções para determinação de RMN, as soluções de AF foram diluídas em água deuterada e NaOD, ambos da Sigma-Aldrich.

3.3.1.7 CROMATOGRAFIA GASOSA

A análise por cromatografia gasosa foi realizada com um cromatógrafo Chrompack CP9003 GC equipado com um detector de captura de electrões (ECD) com ^{63}Ni e injector com sistema de *split/splitless*. A coluna cromatográfica usada, constituída em sílica fundida, foi uma Chrompack CP-Sil 13CB (25 m x 0,32 mm, 1,2 μm) (Kuivinen e Johnsson, 1999). Os parâmetros utilizados na configuração de funcionamento do cromatógrafo (GC-ECD) bem como os parâmetros de análise utilizados na técnica de *Headspace* estão referidos na Tabela 3.8. Todos os cálculos foram realizados usando as áreas dos picos, obtidos através do registo em programa informático Chrompack CP-Maitre I/II (versão 2.5). Na simulação efectuada sobre a formação de THM nas águas sujeitas a desinfecção por adição de cloro, todos os reagentes usados foram de qualidade analítica com excepção do hipoclorito de sódio que foi preparado a partir de uma solução comercial (100 mgL^{-1}). A calibração do cromatógrafo gasoso foi efectuada com padrões em solução aquosa, na gama de

concentrações entre 0,5 a 10 μgL^{-1}, a partir de uma solução padrão de THM ($CHCl_3$, clorofórmio; $CHBrCl_2$, bromodiclorometano; $CHBr_2Cl$, dibromoclorometano; e $CHBr_3$, bromofórmio), em metanol, de concentração 200 μL^{-1} (SUPELCO, Bellefonte, EUA). Na Figura 3.9 exemplificam-se as curvas de calibração obtidas para os THM analisados, cuja linearidade obtida é superior a 0,99.

Tabela 3.8 Parâmetros instrumentais do cromatógrafo GC-ECD utilizados na determinação dos THM (clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano, bromofórmio).

Parâmetro	Valor
Parâmetros do CG:	
Temperatura de injecção em modo *split/splitless* (°C)	200
Temperatura do ECD (°C)	280
Volume de amostra injectada (ml)	1
Gás de arraste	Hélio (1 ml min^{-1})
Pressão do gás de arraste (kPa)	175
Makeup de gás	Azoto (50 ml min^{-1})
Programa do Forno:	
Temperatura inicial, primeiros 3 minutos (°C)	60
Taxa de incremento da temperatura até 70 ºC (°C min^{-1})	4
Temperatura constante durante 2 minutos (°C)	70
Taxa de aumento da temperatura até 100 ºC (°C min^{-1})	4
Temperatura constante durante 5 minutos (°C)	100
Análise de *Headspace*:	
Volume de amostra (ml)	20
Volume de solução saturada de Na_2SO_4 adicionada (ml)	1
Volume do frasco (ml)	40
Temperatura (°C)	30
Tempo (min)	30

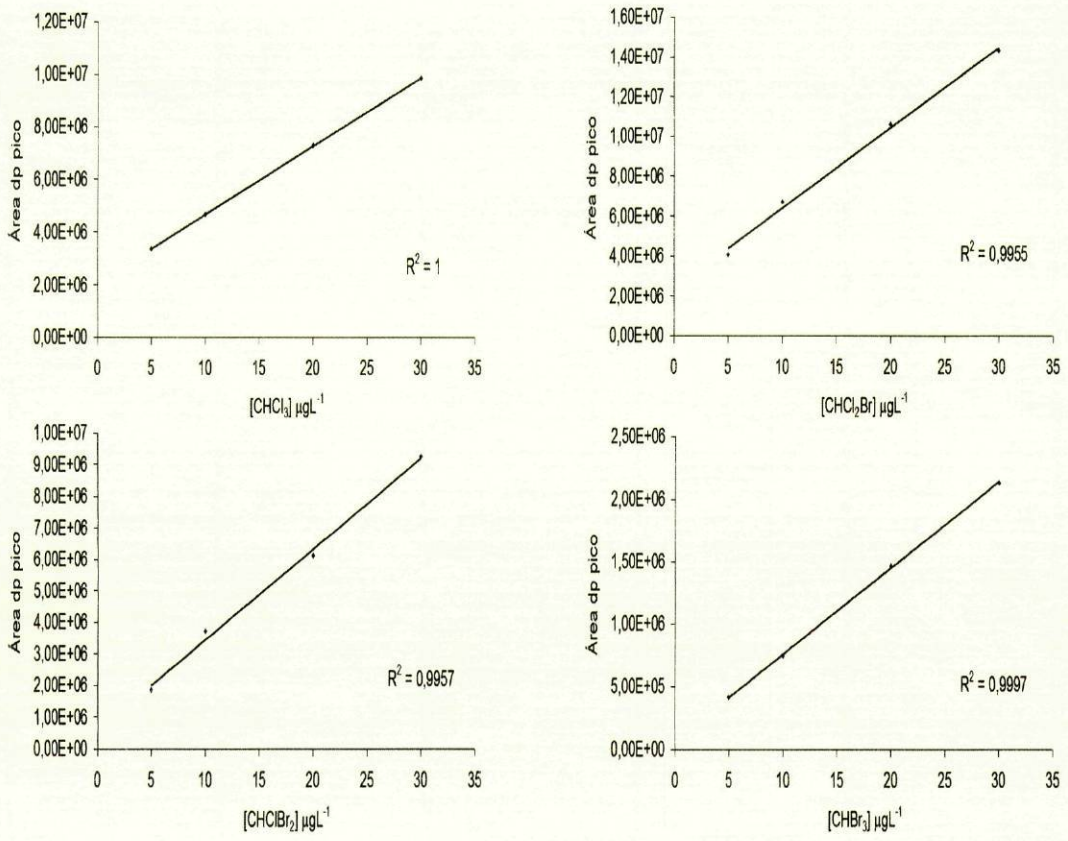


Figura 3.9 Curvas de calibração obtidas para o clorofórmio, bromodiclorometano, clorodibromometano e bromofórmio através de cromatografia de fase gasosa.

3.3.1.8 CROMATOGRAFIA IÓNICA

A determinação da concentração dos aniões presentes na água da albufeira do Caldeirão foi efectuada com recurso à cromatografia iónica (CI), modelo DX120 (Dionex). A determinação dos aniões foi efectuada com utilização de uma coluna IonPac AS14 (4x250 mm), e uma pré-coluna IonPac AG14 (4x50 mm), ambas da Dionex, o que, possibilitou a determinação simultânea dos aniões fluoreto, cloreto, brometo, nitrito, nitrato, fosfato e sulfato, cujas curvas de calibração estão indicadas na Figura 3.10. Ligado à coluna cromatográfica foi ainda usado um supressor de condutividade ASRS (Dionex). O tratamento dos dados foi efectuado através do programa informático PeakNet 5.1 (Dionex). A preparação dos padrões de calibração para determinação por CI foi realizada por secagem em estufa sob vácuo, durante pelo menos 24 horas a 105

°C, dos seguintes reagentes de qualidade pró análise: $NaNO_3$ (Fluka), $NaNO_2$, NaF e NaBr (Riedel-deHagen), KH_2PO_4, NaCl, e Na_2SO_4 (Panreac).

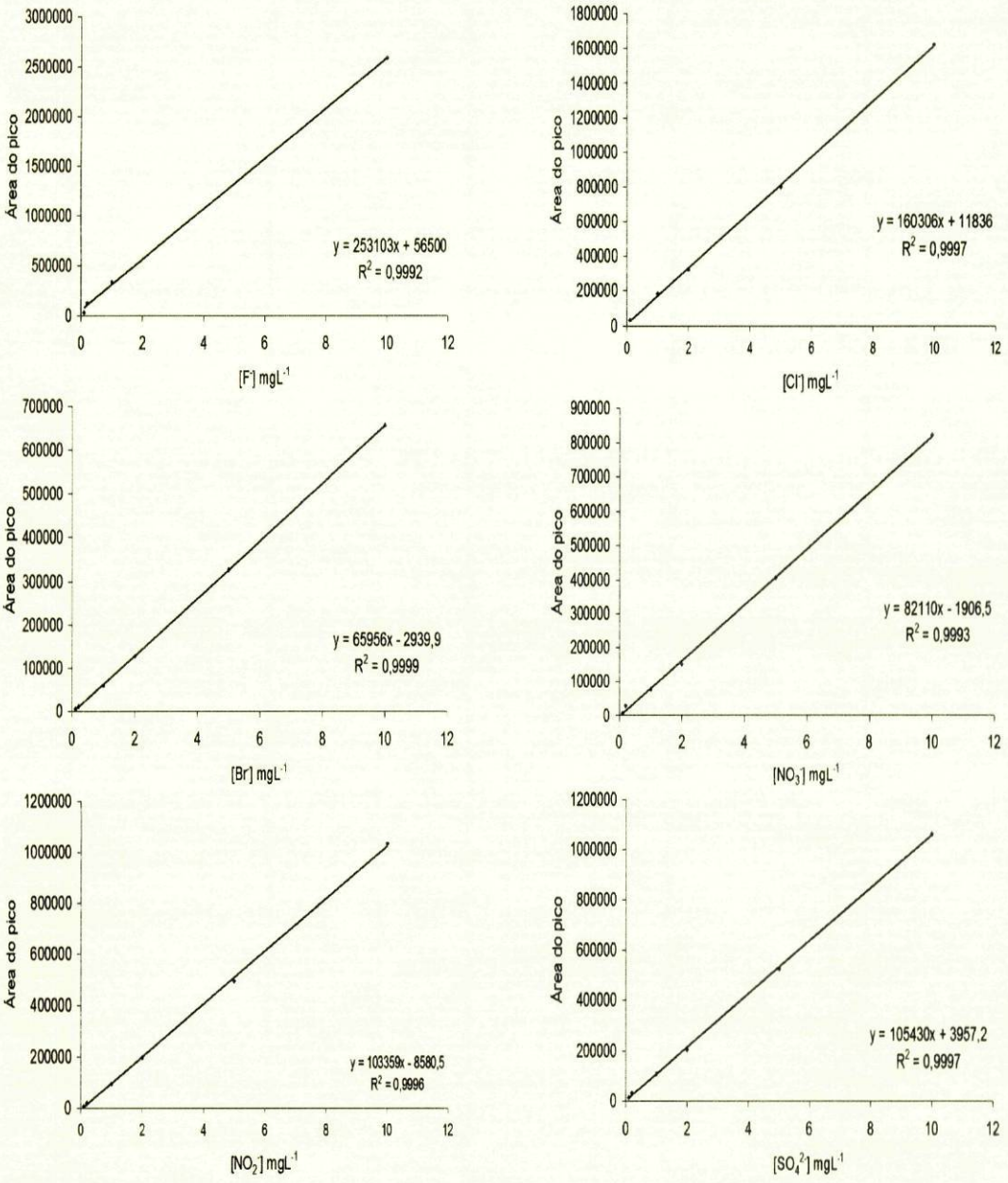


Figura 3.10 Curvas de calibração obtidas para os aniões F^-, Cl^-, Br^-, NO_3^-, NO_2^-, e SO_4^{2-} através de cromatografia iónica.

Após conveniente secagem e arrefecimento em excicador foi efectuada a pesagem e diluição rigorosa de modo a produzir as soluções padrão. O eluente foi

preparado por pesagem de 25,4 g de Na_2CO_3 (Panreac) e de 25,2 g de $NaHCO_3$ (Panreac), previamente seco sob as condições anteriormente referidas e diluído num litro de água ultra-pura. A solução resultante foi diluída cem vezes, de modo a produzir uma solução com 0,0024 $molL^{-1}$ de Na_2CO_3 e 0,003 $molL^{-1}$ de $NaHCO_3$.

3.3.1.9 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ATÓMICA

Para a determinação da concentração de alguns dos catiões presentes na água da albufeira do Caldeirão foi utilizada a espectrofotometria de Absorção Atómica (EAA) da marca GBC (modelo 906AA). Na determinação do elemento químico alumínio, ferro, chumbo, cádmio, manganésio, níquel e cobre foi usada a EAA por forno de grafite. Na determinação do mercúrio foi usada a EAA por geração de hidretos (HG3000) com concentrador (MC3000), ambos da GBC, e que permite a detecção para valores de concentração na gama dos ppt (partes por trilião). Para a determinação dos metais alcalinos e alcalino-terrosos foi usada a EAA por chama.

A preparação dos padrões de calibração foi efectuada por diluição com água ultrapura (Milli RO-5 e Mili Q-plus), acidificada a 1% com HNO_3 (J. T. Baker) ou HCl (J. T. Baker), de padrões comerciais (1000 μgml^{-1}) em 5% de HNO_3 (Johnson Matthey GmBH). As amostras de água da albufeira e os brancos foram previamente acidificadas com ácido nítrico (1%). Na determinação do mercúrio foram usadas duas soluções, uma solução redutora constituída por boro hidreto e hidróxido de sódio (solução de 3 $molL^{-1}$) e outra de ácido clorídrico (3 $molL^{-1}$). As curvas de calibração para os metais de transição, metais pesados e metais alcalinos e alcalino-terrosos estão considerados na Figura 3.11 e Figura 3.12. Como se pode observar a linearidade é superior a 0,999 para a maioria dos catiões considerados e para a gama de concentrações utilizadas.

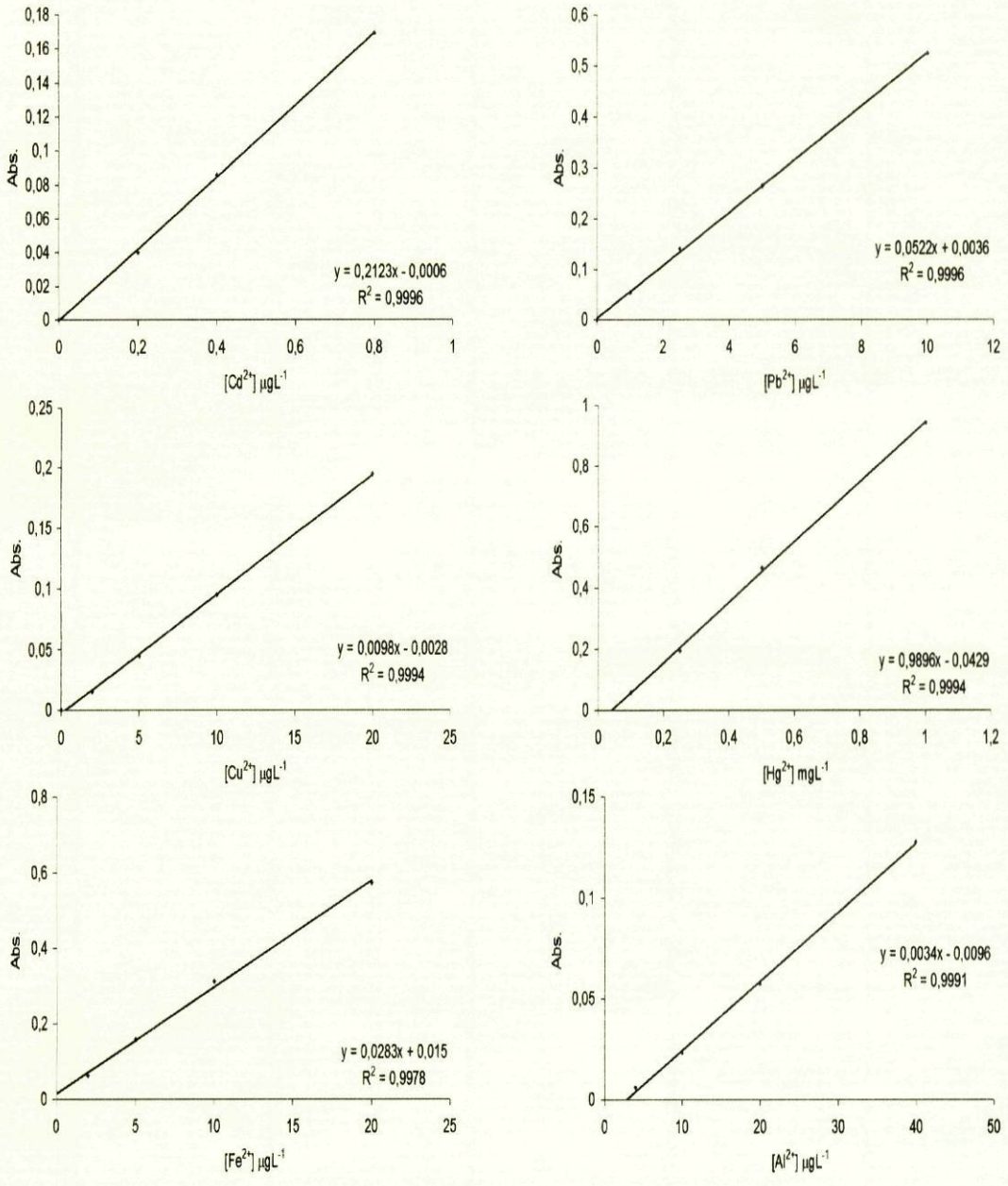


Figura 3.11 Curvas de calibração obtidas para os catiões Cd(II), Pb(II), e Cu(II) através de EAA por câmara de grafite.

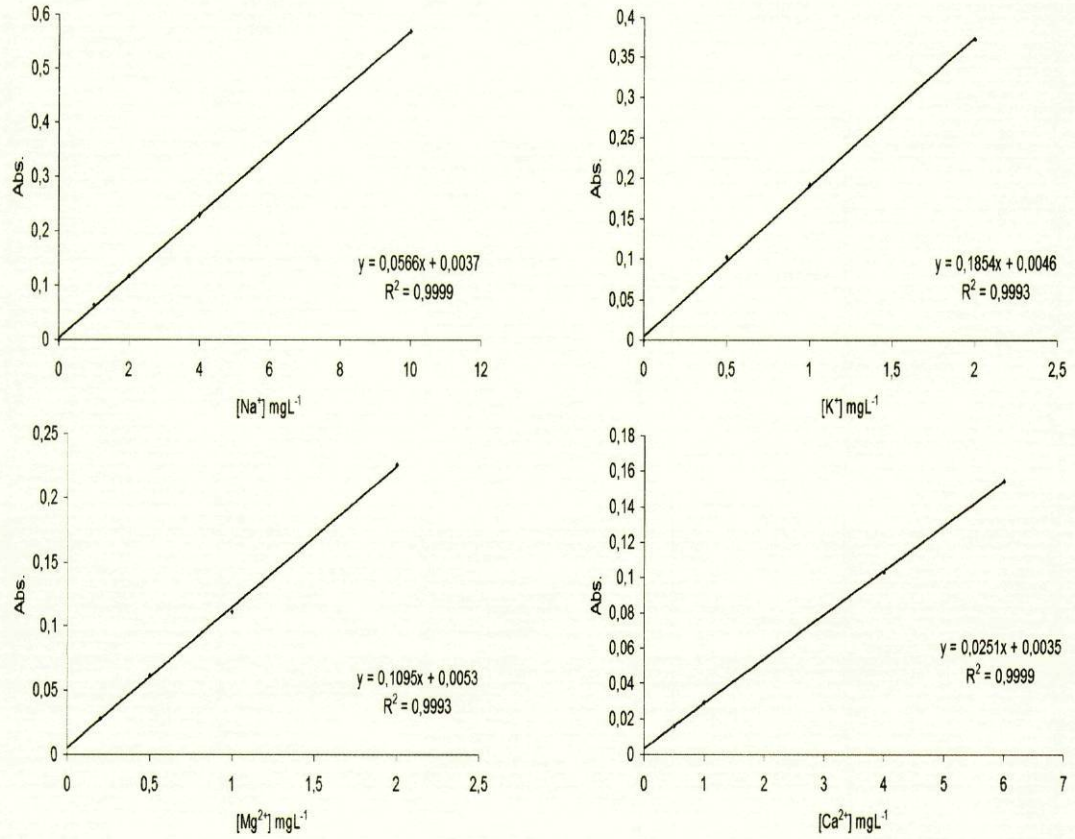


Figura 3.12 Curvas de calibração obtidas para os catiões Na^+, K^+, Mg^{2+} e Ca^{2+} através de EAA por chama.

3.4 SIMULAÇÃO LABORATORIAL DO PROCESSO DE DESINFECÇÃO DA ÁGUA

As fracções de MOD foram extraídas da albufeira do Caldeirão utilizando os procedimentos recomendados pela IHSS, já referido no ponto 3.2.1 deste mesmo capítulo, e que consistem resumidamente numa pré-concentração por osmose reversa seguida de uma extracção com uma resina do tipo XAD8. A fracção de AF assim obtida é classificada como hidrofóbica (Leehneer e Croué, 2003; Hiradate e Yonezawa, 2006). Além desta fracção da MOD, também a fracção coloidal, transfílica e hidrofílica influenciam de forma significativa a formação de THM (Leehneer e Croué, 2003; Hiradate e Yonezawa, 2006). Com o objectivo de identificar os factores mais relevantes e como estes influenciam a produção de THM foi usada uma estratégia de análise

factorial (Esteves da Silva *et al.*, 2001; Pinheiro e Esteves da Silva, 2005; Deming e Morgan, 1997). Dois desenhos experimentais, um baseado no planeamento factorial de cinco factores (concentração de AF, dose de cloro, temperatura, pH e concentração do ião brometo) e o planeamento de *Box Behnken* para a análise de três factores (concentração de AF, dose de cloro e temperatura), foram usados para identificar as componentes mais importantes na produção dos quatro THM e no cálculo da correspondente resposta de superfície. O planeamento de *Box Behnken* foi seleccionada porque permite o estudo preciso do efeito de diversos factores e a obtenção de uma superfície de resposta com, relativamente poucas experiências e com apenas três níveis de factores em análise.

A simulação laboratorial do processo de desinfecção da água contendo MOD seguiu as seguintes etapas: (a) Foi colocado um vaso de reacção de 250 ml, com uma solução aquosa de AF (com uma concentração 0,5; 2,7; e 5 mgL^{-1}), num banho de água a temperatura constante; (b) adição à solução de AF dum volume de NaCl de modo que a concentração final de iões cloreto fosse de 10 mgL^{-1} e dum volume pré determinado de KBr (concentração final de 0,1; 0,6; e 1,1 mgL^{-1}); (c) ajustou-se o pH com HCl e/ou NaOH para uma valor pré determinado (pH 6,0; 7,0 e 8,0); (d) após o qual foi feita a adição de uma quantidade seleccionada de hipoclorito de sódio (NaClO) para se iniciar o processo de desinfecção; (e) a amostra foi mantida a temperatura constante no banho de água sendo removidos 20,00 mL no tempo zero (após a adição do hipoclorito de sódio), 15 e 60 minutos para determinação da quantidade formada de THM (após cada colheita foi adicionado 30 μL de solução aquosa de tiosulfato de sódio ($Na_2S_2O_3$) 2 $molL^{-1}$ para eliminar o cloro livre); (f) o cloro livre foi analisado usando um kit com um fotómetro portátil (ELE International). O planeamento experimental e as correspondentes análises de efeitos (ANOVA) e os respectivos diagramas de superfície foram realizados com o programa informático *The Unscramble* versão 9.2 (CAMO PROCESS AS, Noruega).

3.5 BIBLIOGRAFIA

Antunes, M. C. G., Esteves da Silva, J. C.G. (2005) Multivariate curve resolution analysis excitation-emission matrices of fluorescence of humic substances, Anal. Chim. Acta, 546, 52–59.

Antunes, M. C. G., Pereira, C. C.C., Esteves da Silva, J. C. G. (2007) MCR of the quenching of the EEM of fluorescence of dissolved organic matter by metal ions, Anal. Chim. Acta, 595, 1-2, 9-18.

Brereton, R. G. (2003) Chemometrics: Data analysis for the laboratory and chemical plant, John Wiley and Sons, Chichester (UK).

Croué, J. P. (2004) Isolation of humic and non-humic NOM fracctions: Structural Characterization, Environ. Monit. Assess., 92, 193–207.

Deming, S. N., Morgan, S. L. (1997) Experimental Design: a Chemometric Approach, Elsevier, Amsterdam (Holland).

EDP (1992) Electricidade de Portugal, S. A., Direcção Operacional de Equipamento Hidráulica, Departamento de Informação e Relações Públicas.

Esteves da Silva, J. C. G., Dias, J. R. M., Magalhães, J. M. C. S. (2001) Factorial analysis of a chemiluminescence system for bromate detection in water, Anal. Chim. Acta, 450, 175-184.

Esteves da Silva, J. C. G., Machado, A. A. S. C. (1995) Evolving factor analysis of synchronous fluorescence spectra of humic substances in the presence of Cu(II), Chemom. Intell. Lab. Syst., 27, 115-128.

Esteves da Silva, J. C. G., Oliveira, C. J. S. (2001) Assessment of graphical methods for the study of the interactions of metal ions with soil and water organic matter, Port. Electr. Acta, 19, 85-98.

Esteves da Silva, J. C.G., Tavares, M. J.C.G., Tauler, R. (2006) Multivariate curve resolution of multidimensional excitation–emission quenching matrices of a Laurentian soil fulvic acid, Chemosphere 64, 1939–1948.

Gans, P., Sabatini, A., Vacca, A. (1996) Investigation of equilibria in solution. Determination of equilibrium constants with the HYPERQUAD suite of programs, Talanta, 43, 1739-1753.

Gans, P., Vacca, A. (1985) SUPERQUAD: an improved general program for computation of formation constants from potentiometric data, J. Chem. Soc. Dalton Trans., 1195-1199.

Hiradate, S., Yonezawa, T., Takesako, H. (2006) Isolation and purification of hydrophilic fulvic acids by precipitation, Geoderma, 132, 196-205.

Kuivinen, J., Johnsson, H. (1999) Determination of trihalomethanes and some chlorinated solvents in drinking water by headspace technique with capillary column gas chromatography, Water Res., 33, 1201-1208.

Lakowicz, J. R. (2006) Principles of Fluorescence Spectroscopy, Springer Science, New York (USA).

Leehneer, J. A., Croué, J. P. (2003) Characterizing dissolved aquatic organic matter, Environ. Sci. Technol., 37, 18A-26A.

Leenheer, J. A., Rostad, C., and Barber, L. B. (2001) Nature and Chlorine Reactivity of Organic Constituents from Reclaimed Water in Groundwater, Los Angeles County, California, Environ. Sci. Technol., 35, 3869-3876.

Machado, A. A. S. C., Esteves da Silva, J. C. G. (1993) Factor analysis of molecular fluorescence data of marine and soil fulvic acids, Chemom. Intell. Lab. Syst., 19, 155-167.

Meites L. (1963) Handbook of Analytical Chemistry, McGraw-Hill Book Company, New York (USA).

Miller, J. N., Miller, J. C. (2005) Statistics and chemometrics for analytical chemistry, 5th edition, Pearson Education Limited, Essex (UK).

Pinheiro, P. B. M., Esteves da Silva, J. C. G. (2005) Detection of 2,4,6-tricholoroanisole in chlorinated water at nanogram per litre levels by SPME-GC-ECD, Anal. Bioanal. Chem., 382, 341-346.

Rodrigues, P. M. S. M. (2001) Estudos de complexação de poli-éteres macrocíclicos com iões dos metais alcalinos e alcalino-terrosos por potenciometria em solvents não aquosos, Tese de Mestrado, Universidade de Coimbra, Coimbra (Portugal).

Sabatini, A., Vacca, A., Gans, P. (1992) Mathematical algorithms and computer programs for the determination of equilibrium constants from potentiometric and spectrophotometric measurements, Coord. Chem. Rev., 120, 389-405.

Serkiz, S. M., Perdue, E. M. (1990) Isolation of Dissolved Organic Matter from the Suwannee River Using reverse osmosis, Wat. Res., 24, 911-916.

Thurman, E. M. (1988) Isolation of Soil and Aquatic Humic Substanes (Group Report) Humic Substances and Their Role in the Environment. New York (USA).

Vasconcelos, M.T.S.D. (1983) Materiais húmicos: interacção com catiões metálicos, Tese de Doutoramento, Universidade do Porto, Porto (Portugal).

4 CARACTERIZAÇÃO DAS FRACÇÕES DE MOD

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Como referido no primeiro capítulo desta tese de dissertação, as SH são um conjunto muito heterogéneo de moléculas cuja constituição química não é definida. Assim, o fraccionamento das SH é originado pelo protocolo de separação, baseado na solubilidade nos solventes aquosos. Como tal, não existe um único AF perfeitamente definido mas, pelo contrário, a constituição molecular está dependente do material orgânico que lhe deu origem e das condições ambientais a que foi submetido. Face à incerteza na estrutura molecular dos AF que podem resultar do seu processo de extracção, isolamento e purificação é necessário, tanto quanto possível, proceder à sua caracterização química, nomeadamente a determinação da sua constituição elementar (C, H, N, O), grupos funcionais e características ácido-base.

4.1.1 ANÁLISE ELEMENTAR

A análise elementar é frequentemente usada para caracterizar as fracções de MOD, permitindo a obtenção de informação sobre a composição geral e os limites para uma possível composição molecular. Infelizmente, este método analítico não permite prever a fórmula molecular absoluta, possibilitando no entanto a determinação da sua fórmula molecular empírica.

4.1.1.1 ÁCIDOS FÚLVICOS

A composição elementar e as razões atómicas N/C, H/C e O/C das amostras de AF apresentam-se na Tabela 4.1. Nesta análise não foi determinada a percentagem de humidade e cinza, por limitação na quantidade de amostra disponível para o ensaio. Como se pode observar, os elementos presentes em maior percentagem são o carbono e o oxigénio, este último obtido pela diferença relativa ao somatório da composição elementar (C, N, S e H), admitindo que não existem outros elementos

presentes e omitindo a contribuição das cinzas. O resultado obtido permite verificar que o carbono e o oxigénio são os elementos principais destes compostos com percentagens que variam de 41 a 47% e de 46 a 52%, respectivamente. A percentagem para os outros elementos presentes varia da seguinte forma: entre 4 e 5% para o hidrogénio, 1 a 2% para o azoto e 0,3 a 4% para o enxofre. Relativamente a este último elemento, constatamos que para a amostra AFa2 o elemento enxofre se encontra presente numa proporção cerca de dez vezes superior (4%) às restantes amostras. Esta diferença na composição elementar pode estar relacionada com a concentração prévia da MOD da água por OR, efectuada antes do processo de isolamento e extracção dos AF.

Tabela 4.1 Composição elementar (% em massa) e razão atómica das amostras AFs1, AFs2, AFa1 e AFa2.

Amostra	%					Razão atómica N/C	Razão atómica H/C	Razão atómica O/C
	C	N	H	S	O*			
AFs1	43,77	1,47	4,12	<0,30	50,34	0,029	1,12	1,15
AFs2	42,63	1,46	3,90	0,49	51,52	0,029	1,09	1,21
AFa1	47,47	1,51	4,86	0,49	45,67	0,027	1,22	0,96
AFa2	41,41	1,45	3,92	4,06	49,16	0,030	1,13	1,19

* [100-(C+N+H+S)].

Nos processos de concentração por OR existe a tendência para que a amostra resultante do processo de extracção apresente, na sua composição elementar, uma percentagem inferior de carbono e uma maior percentagem de azoto, relativamente à mesma amostra obtida nas mesmas condições mas, sem a concentração prévia da matéria orgânica (Serkiz e Perdue, 1990). Se de facto podemos constatar que relativamente à amostra AFa2 existe uma menor percentagem de carbono, quando comparada com a amostra AF1 (sem concentração por OR), a grande diferença existe, no entanto, na composição percentual de enxofre. Esta diferença pode ser explicada pela maior proporção de compostos polares alifáticos retidos, como hidratos de

carbono e polipeptídeos, e pelo facto da OR promover também a concentração de iões entre os quais os sulfatos (Maurice *et al.*, 2002). Pelo contrário, a passagem apenas por coluna contendo resina XAD8, tende a isolar preferencialmente substâncias com características mais hidrofóbicas e de maior massa molecular (Maurice *et al.*, 2002). Com excepção do enxofre, não se verifica para os restantes elementos das amostras analisadas variações significativas na percentagem de carbono (43,82±2,62), oxigénio (49,17±2,53), azoto (1,49±0,03) e hidrogénio (4,20±0,45).

As amostras apresentam também uma relação atómica N/C, H/C e O/C muito semelhante e dentro de valores normalmente observados para os AF (Esteves da Silva *et al.*, 1998; Kalbitz *et al.*, 1999; Baddi *et al.*, 2004). A razão atómica H/C determinada, tendo por base as percentagens relativas de cada um dos elementos presentes na amostra, permite concluir que existe uma pequena variação entre as amostras (0,096±0,005) e consequentemente um grau de aromaticidade semelhante (Gaffney *et al.*, 1995). No entanto, e como se pode observar pela Figura 4.1, que correlaciona a relação entre as razões atómicas N/C, H/C e O/C, existe uma maior proximidade entre as amostras de AF obtidas do solo (AFs1 e AFs2) e a amostra de AF proveniente da água e concentrado por OR (AFa2). Esta correlação permite concluir que em termos de composição molecular a utilização da OR, no isolamento e extracção dos AF dissolvidos na água, aproxima-os da composição elementar dos AF do solo.

Na Tabela 4.2 estão indicadas as fórmulas moleculares empíricas de cada uma das amostras de AF do solo e da água de acordo com os dados obtidos por análise elementar (Tabela 4.1). A presença de oxigénio e azoto nas amostras de AF é consequentemente um indicador que certos grupos funcionais estão presentes nestas moléculas, nomeadamente grupos carboxílicos, fenólicos, álcoois, carbonilos, cetonas, grupos aminas, entre outros. São estes grupos que individual ou colectivamente possibilitam que os AF apresentem reacções ou interacções específicas com outras espécies químicas de natureza orgânica ou inorgânica. Atribuindo a estes compostos

características tão importantes como a capacidade de complexação ou o efeito tampão em águas e solos.

Tabela 4.2 Fórmula empírica das amostras AFs1, AFs2, AFa1 e AFa2.

Amostra	Fórmula empírica
AFs1	$C_{400}N_{11}H_{456}O_{344}S$
AFs2	$C_{180}N_5H_{195}O_{160}S$
AFa1	$C_{200}N_5H_{245}O_{145}S$
AFa2	$C_{35}NH_{39}O_{31}S$

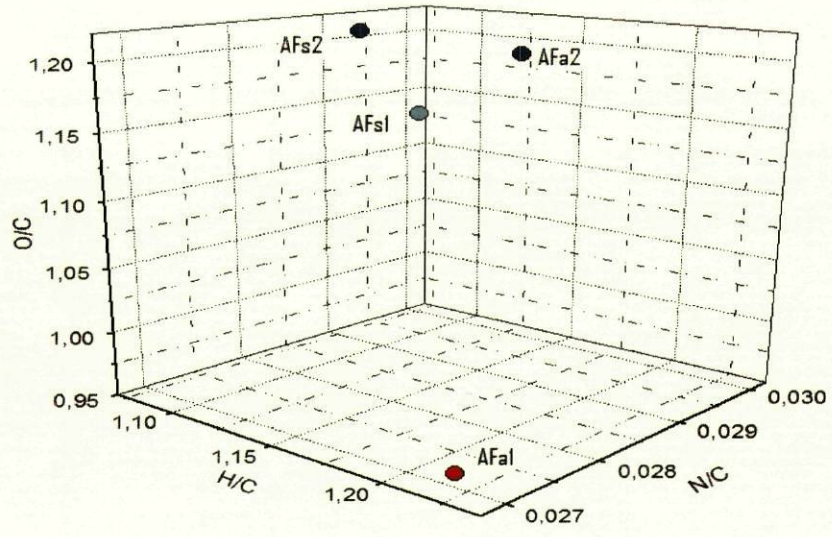


Figura 4.1 Correlação entre a relação atómica N/C, H/C e O/C para as amostras AFs1, AFs2, AFa1 e AFa2.

4.1.1.2 FRACÇÕES DA MOD

Relativamente às fracções de MOD obtidas de acordo com a metodologia referida por Leenher *et al.* (2000), é possível retirar algumas conclusões quantitativas. Assim, a análise da Tabela 4.3 e da Figura 4.2, que representam os resultados da análise quantitativa das quatro fracções, mostra que a fracção coloidal é a que se encontra em maior quantidade (aproximadamente 37%). Relativamente à fracção hidrofóbica, transfílica e hidrofílica as percentagens são cerca de 25%, 16% e 22%,

respectivamente. Para a fracção hidrofílica a massa e respectiva percentagem foram estimadas a partir das intensidades de fluorescência das amostras dialisadas, antes e depois de passarem pelas resinas XAD8 e XAD4, como descrito no ponto 3.2.1 do capítulo 3, e das massas obtidas para a fracção hidrofóbica e transfílica.

Tabela 4.3 Massa e razões de massa (relativamente à fracção transfílica) das fracções de MOD obtidas a partir de 200 L de água da albufeira do Caldeirão.

Fracção	Massa (mg)	Razão de massas *	%**
Colóide	62	2,4	37
Hidrofóbica	41	1,6	25
Transfílica	26	1,0	16
Hidrofílica **	36	1,4	22
Total	165	Concentração ≈ 82,5 mg/100 L	

* Relativa à massa da fracção transfílica

** Estimativa com base nas intensidades de fluorescência (ver secção 3.2.1 do capítulo 3).

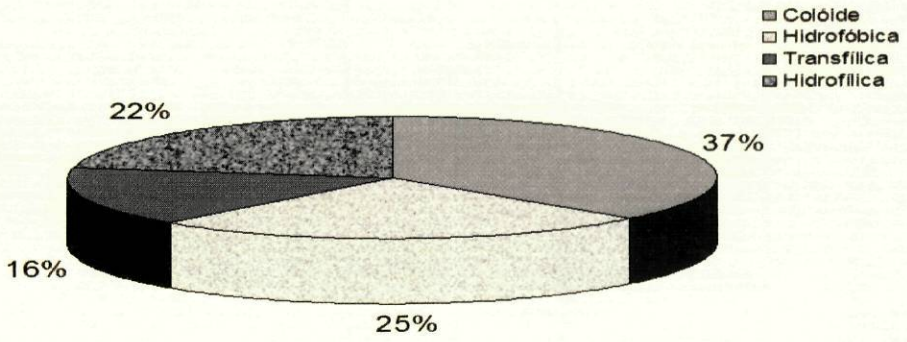


Figura 4.2 Percentagem, em massa, das fracções da MOD existentes na água da albufeira do Caldeirão.

A composição elementar e as razões atómicas N/C, H/C e O/C das fracções de MOD apresentam-se na Tabela 4.4. O resultado obtido para a composição elementar de cada uma das fracções está de acordo com o referido normalmente na literatura (Leenheer *et al.*, 2000; Croué, 2004; Wershaw, 2005), sendo que o carbono e o oxigénio são os elementos percentualmente mais significativos, tal como seria de esperar e como tinha sido já observado para os AF, com valores que variam de 40% a 56% e 36% a 49%, respectivamente. A fracção coloidal é normalmente diferente das

restantes fracções, sendo esta dominada por estruturas de hidratos de carbono e grupos funcionais azotados (Croué, 2004) como fica patente pela sua percentagem de oxigénio e azoto. É também possível observar que esta fracção, com um peso molecular mais elevado, apresenta um menor conteúdo de carbono e, pelo contrário, uma maior presença de azoto, relativamente às restantes fracções. Verifica-se também que a fracção colóide é a que apresenta um maior grau de saturação enquanto os hidrofóbicos apresentam um menor grau de saturação.

Na Tabela 4.5 estão indicadas as fórmulas moleculares empíricas de cada uma das fracções de acordo com os dados obtidos por análise elementar. É de realçar a semelhança verificada na fórmula empírica do AFa1 e a fracção hidrofóbica, a qual poderá ser justificada pela metodologia operacional utilizada na obtenção de cada uma destas parcelas da MOD.

Tabela 4.4 Composição elementar (% em massa) e razão atómica da fracção transfílica, colóide e hidrofóbica da MOD.

Amostra	%					Razão atómica N/C	Razão atómica H/C	Razão atómica O/C
	C	N	H	S	O*			
Transfílica	54,4	3,1	6,6	<0,3	35,6	0,049	1,46	0,49
Colóide	40,2	4,3	5,6	0,9	49,0	0,093	1,67	0,91
Hidrofóbica	56,2	1,3	5,9	0,7	35,9	0,020	1,26	0,48

* [100-(C+N+H+S)].

Tabela 4.5 Fórmula empírica da fracção transfílica, colóide, e hidrofóbica.

Amostra	Fórmula empírica
Transfílica	$C_{500}N_{22}H_{733}O_{244}S$
Colóide	$C_{113}N_{10}H_{186}O_{103}S$
Hidrofóbica	$C_{235}N_5H_{295}O_{110}S$

4.1.2 ESPECTROSCOPIA UV-VIS

A absorção de radiação na região do UV-Vis resulta das transições electrónicas envolvendo os electrões ligantes, pelo que uma forte absorção nesta zona do espectro é esperada para as fracções de MOD que contêm grupos aromáticos. Na Figura 4.3 estão indicados os espectros de UV-Vis das amostras de AF. Estes espectros caracterizam-se por apresentar uma banda larga e mal definida, onde não se verifica a existência de máximos ou mínimos, sendo que a absorvância aumenta com a diminuição do comprimento de onda, atingindo-se um máximo entre os 210 nm e os 240 nm, como é típico para a generalidade das SH, entre as quais os AF. A forte absorvância registada para comprimentos de onda pequenos como verificado, por exemplo, para valores próximos dos 210 nm, pode ser atribuída a carboxifenois (Baes e Bloom, 1990) e grupos substituintes heterogéneos que provocam a sobreposição das bandas dos diferentes grupos cromóforos. Os grupos cromóforos não aromáticos presentes nos AF podem também contribuir para a absorção verificada nos espectros. Dupla ligação do tipo C=C, C=O, e N=N, explicam a absorção de energia nesta zona do UV (Schnitzer, 1991), onde podemos referir as cetonas e dicarbonilos insaturados, especialmente p-benzoquinonas, que absorvem fortemente na zona do UV e fracamente para comprimentos de onda curtos na região do visível.

Bandas de absorção discretas na região do UV-Vis podem ser de grande interesse na caracterização dos AF, nomeadamente a relação entre a absorção medida a 265 nm e 465 nm (E2/E4) e a absorção medida a 465 nm e a 665 nm (E4/E6). O coeficiente de extinção molar ao comprimento de onda de 280 nm pode também ser um importante factor de caracterização dos AF. Na Tabela 4.6 apresentam-se os valores da relação E2/E4 e E4/E6 (indicador do grau de humificação) e as estimativas do peso molecular e do grau de aromaticidade das amostras de AF determinadas com base nas absorvâncias para o comprimento de onda de 280 nm, tendo por base as equações (3.1) e (3.2), onde ε representa o coeficiente de extinção molar. As equações

aqui expressas surgiram através da sua aplicação a dados experimentais particulares tendo em consideração que a absorção a 280 nm é atribuída a transições electrónicas do tipo π-π^* em estruturas químicas como as que se encontram presentes, por exemplo, em compostos fenólicos, ácido benzóico e hidrocarbonetos aromáticos policiclicos (Chin *et al.*, 1994).

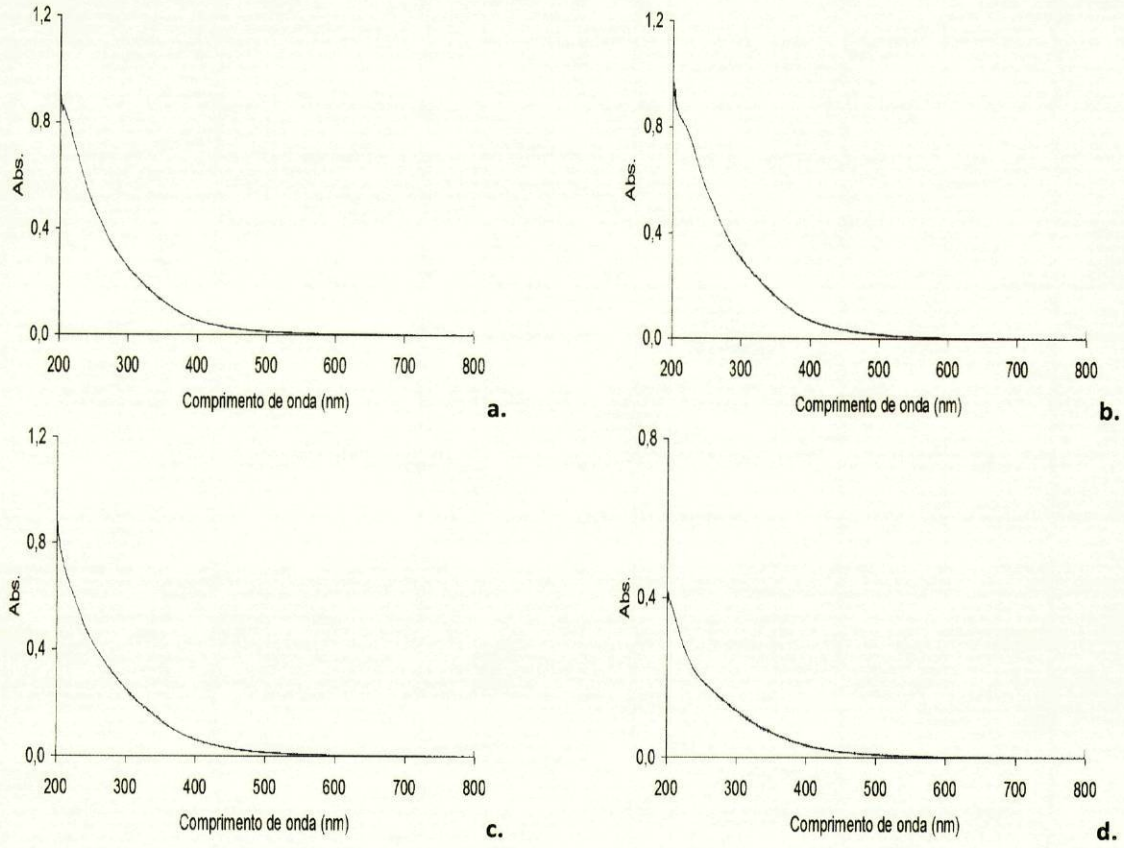


Figura 4.3 Espectros de absorção UV-Vis (200 a 800 nm) para as amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d).

$$\%\ Aromaticidade = 0{,}05\varepsilon_{280} + 6{,}74 \qquad (3.1)$$

$$M.M. = 3{,}99\varepsilon_{280} + 490 \qquad (3.2)$$

Sendo estas equações obtidas para um conjunto particular de amostras, não existem, como tal, garantias que os resultados obtidos tenham qualquer significado. Contudo, estas equações permitem converter a informação contida nos espectros de

UV-Vis em valores numéricos que possibilitam a comparação entre cada um deles. A relação E2/E4 e E4/E6 permite obter, além de um índice de humificação dos AF, o grau de aromaticidade das estruturas moleculares. Assim, quanto maior a razão E2/E4 e E4/E6 menor a quantidade de aromáticos condensados que se podem associar à humificação do material orgânico. Os valores observados para a relação E2/E4 e E4/E6 (Tabela 4.6) encontram-se dentro de valores normalmente encontrados para os AF provenientes do solo e da água (Esteves da Silva *et al.*, 1998; Oliveira, 2000; Chen, *et al.*, 2002). A Tabela 4.6 mostra também que existe uma pequena diferença entre as amostras de AF provenientes do solo e da água, o qual poderá ser explicado pela frequente submersão dos solos da margem (origem das amostras de solo) em virtude da variação das cotas de água na albufeira. Podemos ainda concluir que o AFa2 apresenta uma maior quantidade de compostos aromáticos condensados o qual pode ser explicado por fenómenos de condensação de grupos carboxílicos com grupos álcool e formação de ésteres, dada a elevada concentração de MOD obtida por OR e à acidificação da solução resultante (Maurice *et al.*, 2002). A comparação do grau de aromaticidade permite concluir que os AF do solo têm uma maior percentagem de grupos aromáticos o que pode estar associado às condições ambientais a que o solo está sujeito, com frequentes inundações, as quais podem influenciar o processo de humificação da matéria orgânica.

Tabela 4.6 Relação E2/E4, E4/E6, massa molecular e grau de aromaticidade das amostras de AF do solo e da água da albufeira do Caldeirão.

Amostra	E2/E4	E4/E6	Massa Molecular	% Aromaticidade
AFs1	17,5	14,7	1669	22
AFs2	16,0	9,6	2904	37
AFa1	15,2	10,4	1601	21
AFa2	11,9	7,7	1115	15

Relativamente aos espectros UV-Vis obtidos para as fracções da MOD, os espectros das três fracções isoladas evidenciam um comportamento semelhante

verificando-se um decréscimo de absorção à medida que o comprimento de onda aumenta (Figura 4.4). Apesar do espectro apresentar uma banda larga, não evidenciando máximos ou mínimos, tal como verificado para os AF (Figura 4.3), a absorvência varia com as fracções de MOD. Por análise da Figura 4.4 e da Tabela 4.7 (principalmente a absorvência a 285 nm) verifica-se que a fracção coloidal apresenta uma menor absorvância relativamente às fracções hidrofóbica e transfílica, o que sugere que esta fracção possui uma menor quantidade de compostos aromáticos e polifenólicos (colóides < transfílicos < hidrofóbicos). A fracção hidrofóbica apresenta o maior valor para as razões E2/E4 e E4/E6, o que permite concluir que esta fracção possui uma maior massa molecular e maior condensação aromática, do que a fracção transfílica.

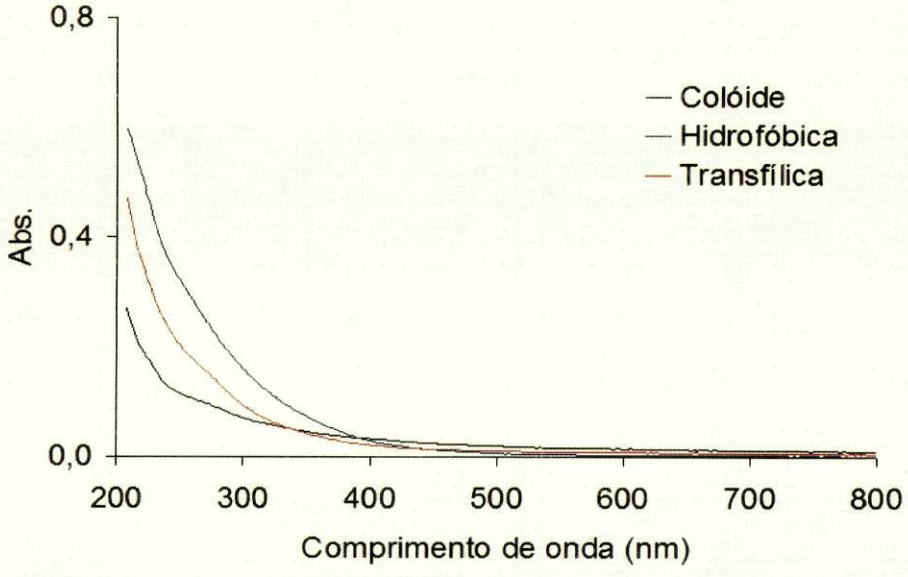


Figura 4.4 Espectros de absorção UV-Vis (200 a 800 nm) da fracção colóide, hidrofóbica e transfílica.

Este resultado é esperado porque, tanto o aumento da massa molecular como o aumento da condensação aromática leva a um aumento das propriedades hidrofóbicas. No caso da fracção coloidal, como não tem uma origem semelhante às das outras fracções de MOD (substâncias húmicas), as suas propriedades de UV-Vis

não poderão ser interpretadas com os critérios de massa molecular e condensação aromática, descritos atrás porque estas relações foram desenvolvidas para substâncias húmicas de solos e águas (Chin *et al.*, 1994, Saab e Martin-Neto, 2007; Kalbitz *et al.*, 1999).

Tabela 4.7 Relação E2/E4 e E4/E6 para a fracção colóide, hidrofóbica e transfílica.

Fracção	E2/E4	E4/E6
Coloidal	4,5	1,7
Hidrofóbica	26,1	5,0
Transfílica	12,6	1,9

4.1.3 TITULAÇÕES POTENCIOMÉTRICAS

As SH no geral e os AF em particular desempenham no meio ambiente importantes acções na regulação do pH, além de influenciarem a biodisponibilidade dos catiões. Como se pode observar pela Figura 4.5, onde se exemplificam as curvas de titulação ácido-base obtidas para as amostras de AF do solo e da água. Podemos constatar que o formato das curvas de titulação é bastante semelhante, apresentando simultaneamente uma boa capacidade tampão na zona ácida e apenas um ponto de equivalência bastante bem definido para valores próximos da neutralidade que poderá corresponder a um grupo de ácidos com valores de pK_a relativamente próximos. Estas características potenciométricas são idênticas a muitas outras referidas na literatura (Ricart *et al.*, 1996, Esteves da Silva *et al.*, 1997; Garnier *et al.*, 2004). Como os AF são estruturas químicas complexas, é muito difícil, se não mesmo impossível uma interpretação inequívoca das respectivas titulações ácido-base. Do ponto de vista analítico o facto da informação recolhida nestas curvas ser escasso, resulta da falta de poder de resolução do solvente. Concretamente, em soluções aquosas, dois grupos ácidos são titulados simultaneamente, se a diferença entre os seus pK_a's for inferior a cerca de 2,5 (o qual está dependente da concentração de cada um dos grupos ácidos).

Embora a informação que se pode retirar das curvas de titulação seja escassa, estas permitem ainda o cálculo do número total de grupos ácidos, na medida em que grupos ácidos fortes proporcionam um salto considerável do valor de pH, o que permite a sua detecção, nomeadamente para valores de pH próximos de 7. O ponto final detectado na proximidade de pH neutro permite ainda a determinação do número equivalentes ácidos. Estes incluem estruturas ácidas com pK_a's inferiores a 7, nomeadamente estruturas do tipo salicílico, grupos carboxílicos e hidroxílicos (Cabaniss, 1991; Machado e Esteves da Silva, 1992), os quais, devido à estrutura irregular dos AF não são quimicamente idênticos (Gamble, 1970). Na Tabela 4.8 encontram-se os valores dos pK_a's das amostras de AF e dos respectivos números de equivalentes ácidos, calculados para cada uma das amostras através do programa informático *Superquad* (Gans, 1992), referido anteriormente no ponto 3.1.1.

Tabela 4.8 Valores de pK_{a1}, pK_{a2} e número de equivalentes ácidos para as amostras AFs1 (0,06-0,11 gL^{-1}), AFs2 (0,03-0,06 gL^{-1}), AFa1 (0,03 gL^{-1}) e AFa2 (0,01-0,05 gL^{-1}).

Amostra	pK_{a1}	pK_{a2}	N_{eq} (mmol H^+/g)
AFs1	1,92	4,44	6,6 ± 0,5
AFs2	2,10	7,44	6,9 ± 0,7
AFa1	4,42	7,86	3,8 ± 0,6
AFa2	1,86	7,65	4,7 ± 0,2

A utilização de processos numéricos para optimização, pelo método dos mínimos quadrados, como o caso do *Superquad*, permitiu-nos determinar os valores de pK_a até ao ponto final da titulação (pH 7). Assim, para os cálculos foi considerado um modelo de dois ácidos monopróticos, uma vez que se pode considerar na caracterização das propriedades ácido-base dos AF este tipo de modelo simplificado (Esteves da Silva, 1988). Como se pode observar pelos resultados obtidos, as amostras de AF do solo contêm um maior número de grupos ácidos que os AF extraídos da água. Um valor elevado para a acidez total indica uma grande capacidade de troca catiónica e uma forte capacidade complexante. Mais uma vez se verifica uma maior proximidade

entre os valores obtidos para a amostra AFa2 e as amostras de AF extraídas do solo (AFs1 e AFs2), o que confirma os resultados obtidos por análise elementar.

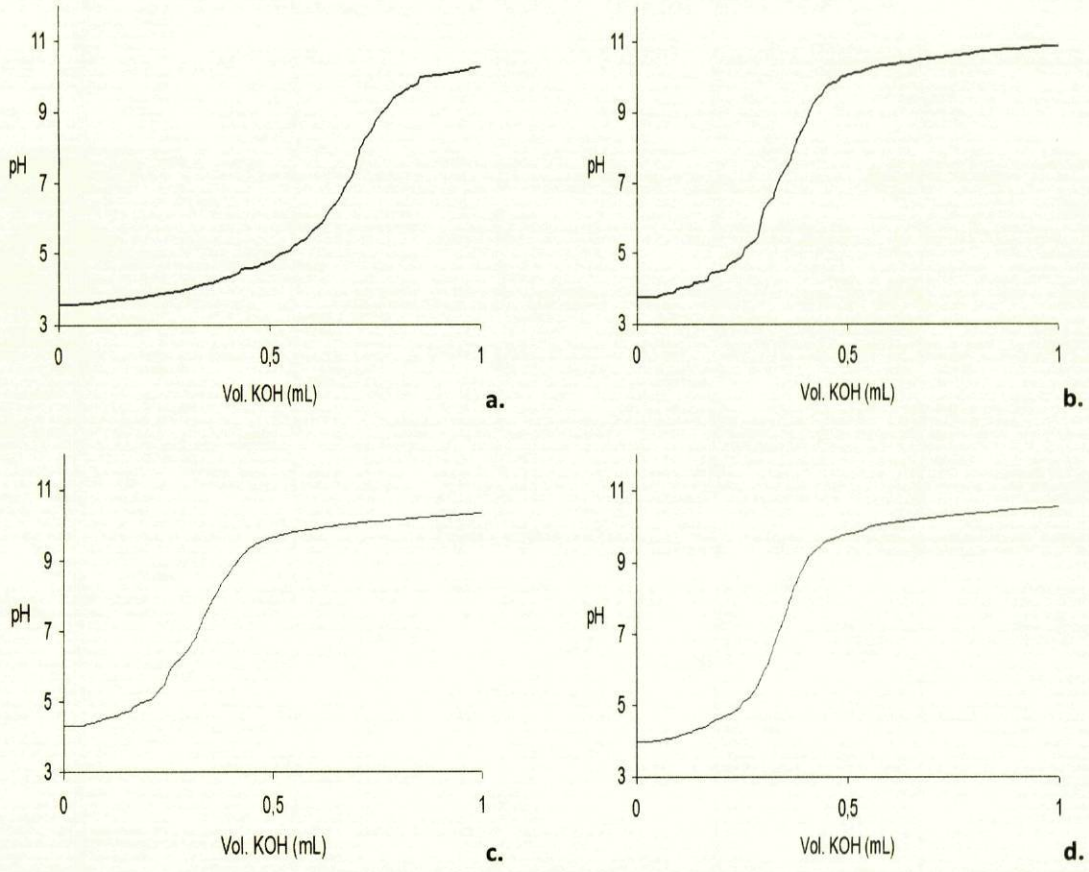


Figura 4.5 Titulação ácido-base das amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d).

4.1.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO

Os espectros de IV são particularmente úteis na caracterização da matéria orgânica no que diz respeito à existência de grupos funcionais, principalmente os que contêm oxigénio. Contudo, existe uma baixa dependência entre a informação obtida através dos espectros de IV e a origem da MOD, não invalidando no entanto, os dados que deles se podem obter, nomeadamente sobre a presença ou ausência de certos

grupos funcionais (Esteves da Silva *et al.*, 1998). Na Figura 4.6 e Figura 4.7 estão representados os espectros de IV das amostras de AF extraídos do solo e da água da albufeira do Caldeirão para o número de onda entre os 3500 e os 1000 cm^{-1}. Os espectros são globalmente semelhantes entre si, permitindo identificar a presença de vários grupos funcionais comuns, visíveis pela presença das mesmas bandas espectrais, como por exemplo para os comprimentos de onda de 1400 cm^{-1}, 1620 cm^{-1}, ou 2920 cm^{-1}. O aparecimento deste tipo de bandas comuns às amostras de AF aquáticos e do solo sugerem a existência de estruturas químicas similares partilhadas por estas moléculas. As bandas de IV são aqui interpretadas de acordo com o referido por Stevenson (1982); Baddi *et al.* (2004); Sierra *et al.* (2005) e Baglieri *et al.* (2007). A região 3300-3500 cm^{-1} está associada ao alongamento de grupos OH em fenóis, álcoois, grupos carboxílicos e também ao alongamento N-H em amidas e aminas. As bandas para o número de onda próxima dos 2920 cm^{-1} e entre 2860 e 2850 cm^{-1} correspondem ao alongamento vibracional simétrico e assimétrico de ligações C-H em grupos metilo e metileno. As bandas entre 1725 cm^{-1} e 1710 cm^{-1} são atribuídas ao alongamento de grupos C=O, principalmente dos grupos carboxílicos, mas também de grupos carbonilo como cetonas e aldeídos. As bandas entre os 1660 e os 1600 cm^{-1} estão associadas a vibrações C=C em estruturas aromáticas, possivelmente conjugadas com vibrações de grupos C=O. Outros grupos podem também contribuir para o aparecimento de bandas nesta região, como o alongamento de C=O em quinonas, cetonas e grupos amida. A zona entre 1540 cm^{-1} e 1510 cm^{-1} é associada ao alongamento de grupos C=C e/ou ao encurvamento vibracional de grupos N-H e ao alongamento de C=N. A região 1170-1120 cm^{-1} está associada a vibração de grupos álcool, aparecendo por volta de 1080-1030 cm^{-1} o alongamento de C-O de polisacarideos.

Na Figura 4.8 são apresentados os espectros das três fracções MOD (colóides, hidrofóbicas e transfílicas). Uma primeira análise destes espectros mostra diferenças bastante significativas entre eles, o que poderá ser utilizado como uma técnica de

impressão digital para a identificação das diferentes fracções. O espectro de IV da fracção coloidal apresenta o seguinte conjunto de bandas características que correspondem aos seguintes grupos funcionais: amida primária (1660 cm^{-1}); amida secundária (1550 cm^{-1}); grupos hidroxilo (banda larga a cerca de 3320 cm^{-1}). A banda localizada a 1050 cm^{-1} deve-se a grupos CO e é particularmente importante porque estes grupos são indicadores da presença de N-acetilglucosamina (Croué, 2004), formada a partir da oxidação de hidratos de carbono com grupos amina provenientes da estrutura da parede bacteriana (Hwang *et al.*, 2001; Leenheer, 2004). No caso da fracção hidrofóbica e transfílica observa-se uma maior intensidade de banda para valores próximos de 1720 cm^{-1} a qual sugere uma maior abundância de grupos carbonilo. A comparação dos espectros destas duas amostras, com base em Stevenson (1982), Baddi *et al.* (2004), Sierra *et al.* (2005) e Baglieri *et al.* (2007), mostra que o espectro da fracção transfílica tem um conjunto de bandas bem definidas nos seguintes números de onda: 2930 cm^{-1} (alongamentos vibracionais simétricos e assimétricos das ligações C-H em grupos metilo e metileno); 1720 cm^{-1} (alongamentos de grupos C=O principalmente grupos carboxílicos); 1130 cm^{-1} (vibrações de grupos álcool); e 1080 cm^{-1} (associados a alongamentos C-O em polisacarideos). Por outro lado, o espectro da fracção hidrofóbica não apresenta uma resolução fina e o espectro é semelhante à fracção de AF e que está presente abundantemente nos solos e na água (Rodrigues e Esteves da Silva, 2005).

A espectroscopia de IV permite pois identificar a presença de vários grupos funcionais nos AF, os quais são consistentes com a presença de unidades químicas esperadas, como são o caso de grupos fenólicos, alifáticos, carbonilo e carboxílico, havendo também a evidência de grupos aromáticos e duplas ligações em unidades alifáticas.

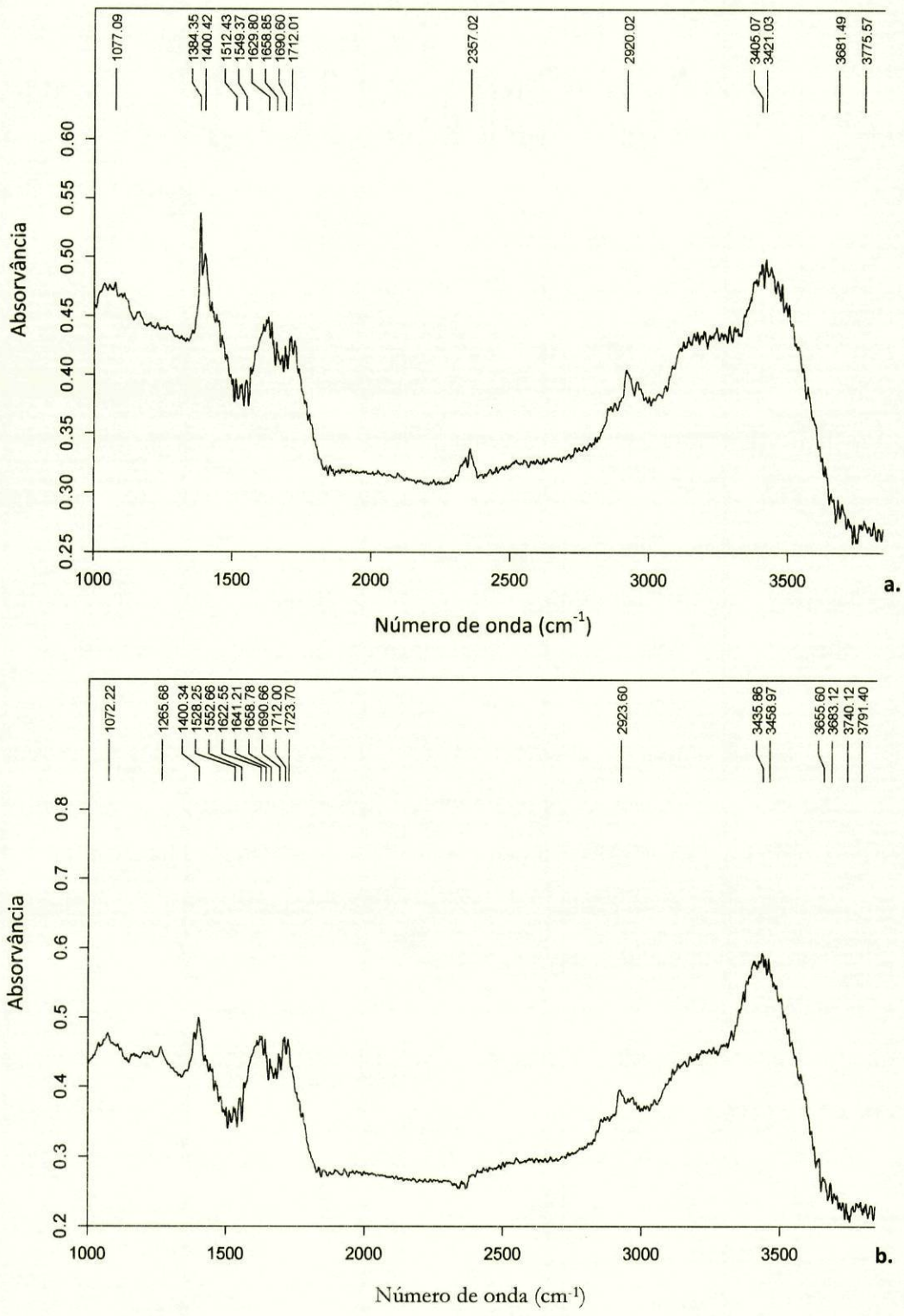


Figura 4.6 Espectros de infravermelho das amostras AFs1 (a) e AFs2 (b).

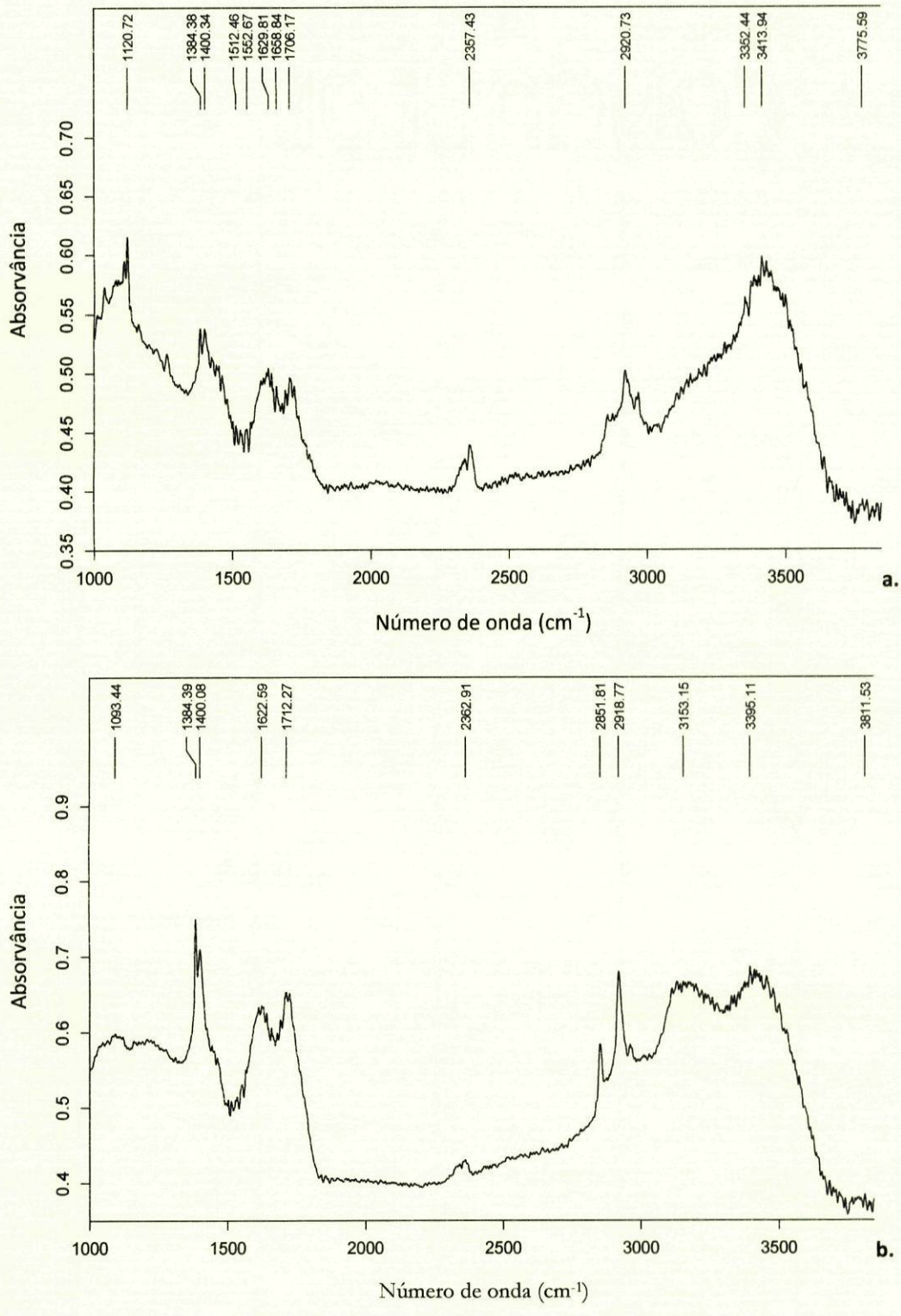


Figura 4.7 Espectros de infravermelho das amostras AFa1 (superior) e AFa2 (inferior).

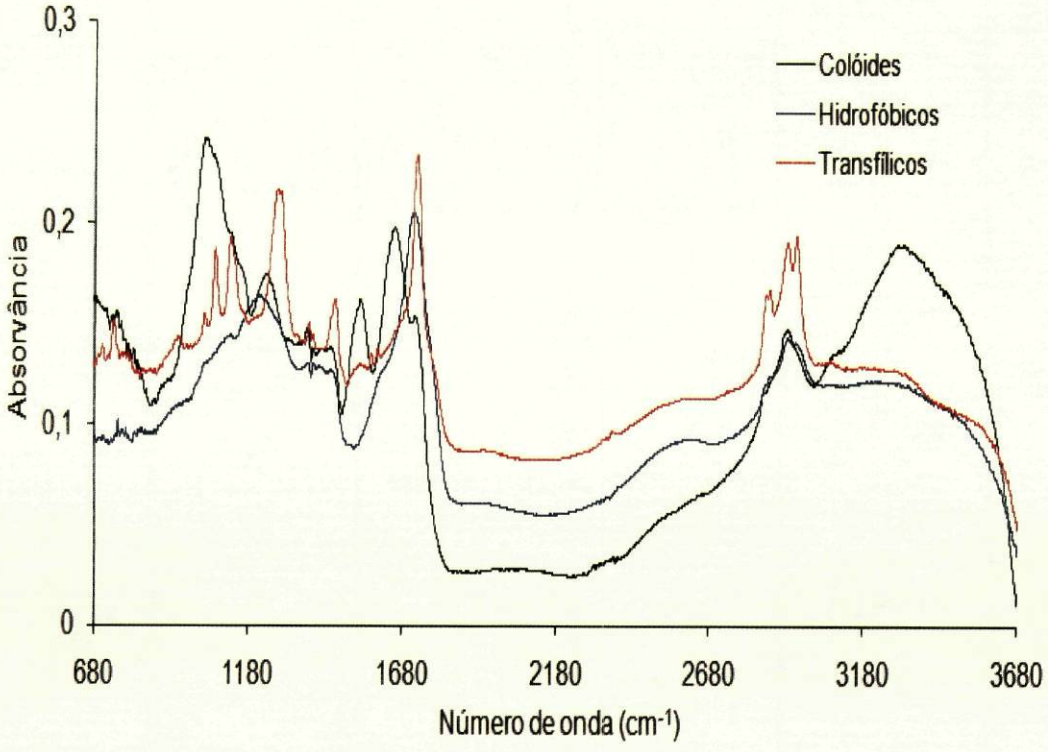


Figura 4.8 Espectros de infravermelho da fracção colóide, hidrofóbica e transfílica.

4.1.5 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA

Os espectros de fluorescência resultam da contribuição de diferentes fluoróforos, principalmente compostos aromáticos presentes nas moléculas tais como, por exemplo, os AF ou as fracções da MOD (Esteves da Silva e Machado, 1995; Esteves da Silva *et al.*, 1997). Deste modo, esta técnica pode constituir um meio auxiliar no reconhecimento da proveniência da MOD (Santos *et al.*, 2000). Na Figura 4.9 e Figura 4.10 estão representadas as matrizes de excitação-emissão de fluorescência molecular (MEE) das amostras de AF extraídas do solo e da água da albufeira, na gama de comprimentos de onda 200-600 nm e 200-700 nm, para o espectro de excitação e de emissão, respectivamente. Podemos observar um comportamento muito semelhante para as quatro amostras em questão, onde para um comprimento de onda de excitação máximo de aproximadamente 320 nm corresponde um comprimento de

onda de emissão máximo na ordem dos 450 nm (pico na zona do visível), o qual corresponde a uma zona MEE típica deste tipo de compostos (Parlanti *et al.*, 2002; Antunes e Esteves da Silva, 2005; Sierra *et al.*, 2005) e normalmente designado de pico C (Patel-Sorrentino, 2002). Podemos ainda observar outras bandas de fluorescência para comprimentos de onda inferiores e superiores, o que indicia a existência de diversas estruturas com propriedades de fluorescência. Contudo, e ao contrário do ocorre para as outras amostras, verifica-se para a amostra AFa2 o aparecimento de uma segunda banda de emissão a 390 nm. Este resultado poderá evidenciar a existência de uma diversidade de substâncias orgânicas na amostra em resultado da utilização da OR no processo de concentração da MOD.

Nas Figura 4.11 e Figura 4.12 são apresentadas as MEE e espectros de emissão de fluorescência das quatro fracções da MOD. A MEE da fracção coloidal (Figura 4.11) é caracterizada por apresentar uma banda de dispersão relativamente elevada e por uma fluorescência molecular praticamente inexistente. Este resultado confirma a menor quantidade de compostos aromáticos e polifenólicos desta fracção observada por UV-Vis. Por outro lado, a intensa banda de dispersão é típica da presença de colóides em solução, que originam um efeito de dispersão de Tyndall. A Figura 4.12 apresenta as matrizes da fracção hidrofóbica, transfílica e hidrofílica. Estas MEE apresentam uma única banda de emissão caracterizada pelos seguintes comprimentos de excitação (Ex.) e de emissão (Em.) máximos: hidrofóbica, Ex. 332 nm e Em. 452 nm; transfílica, Ex. 329 nm e Em. 438 nm; hidrofílica, Ex. 315 nm e Em. 420 nm. Observa-se um desvio para maiores energias no comprimento de onda da excitação das fracções de MOD o que poderá evidenciar uma diminuição da condensação de estruturas aromáticas à medida que as fracções se tornam mais hidrofílicas. Este resultado confirma o obtido pela análise da razão E4/E6 das fracções hidrofóbicas e transfílicas. A intensidade máxima da banda de emissão das fracções hidrofóbica e transfílica é de 27638 e 18399, respectivamente. Este resultado mostra que a fracção hidrofóbica é mais fluorescente que a transfílica, o que traduz uma maior concentração de

estruturas aromáticas nas sua moléculas (Chen *et al.*, 2003). Este resultado confirma também a maior quantidade de compostos aromáticos e polifenólicos da fracção hidrofóbica observada por UV-Vis.

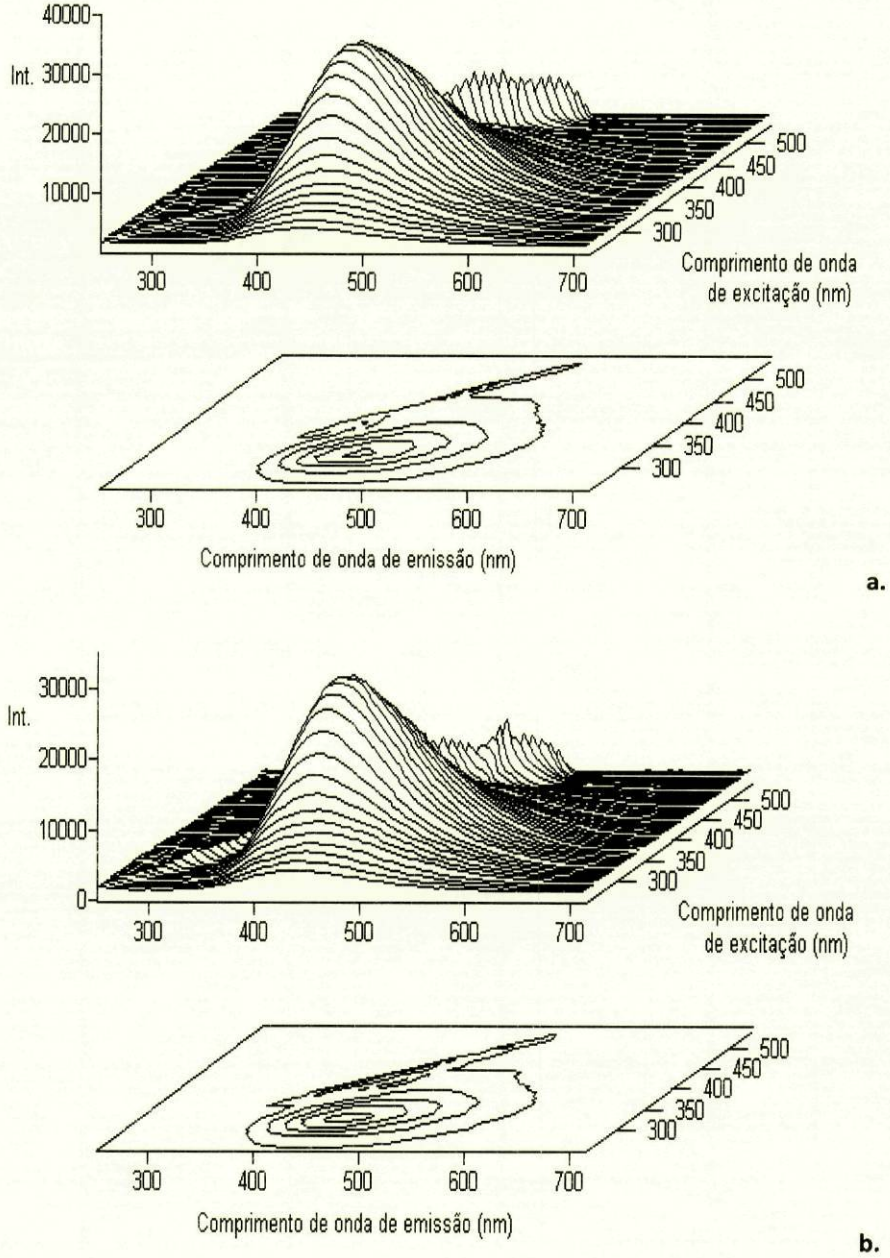
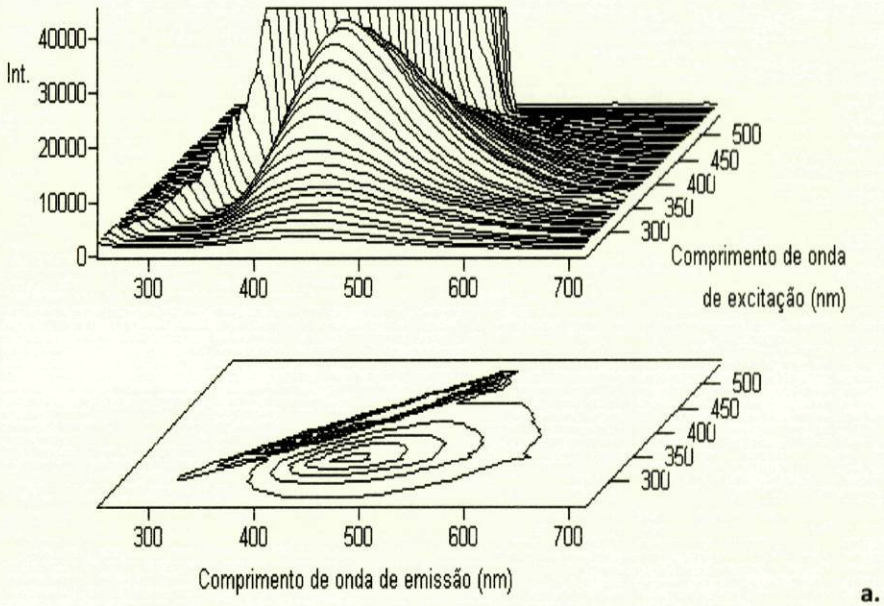
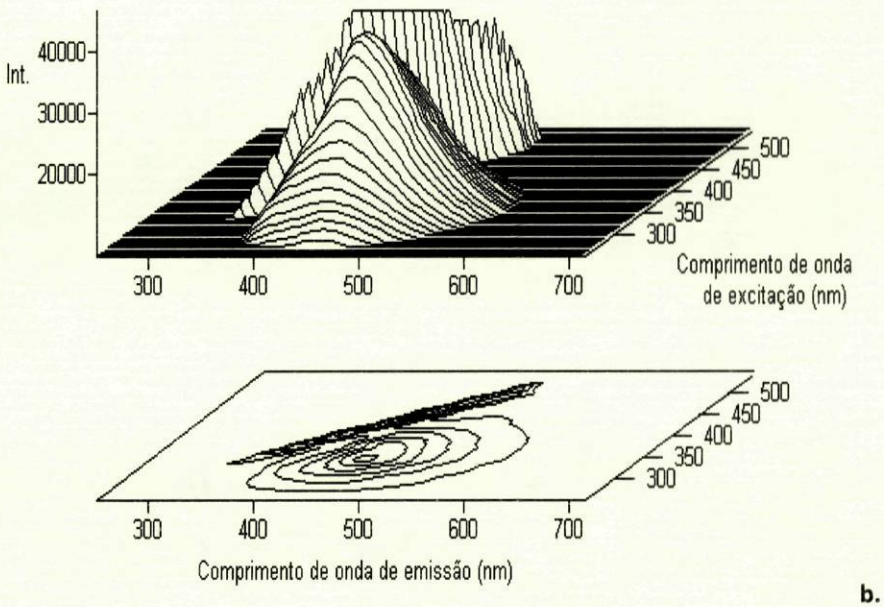


Figura 4.9 Espectros de fluorescência das amostras AFs1 (a) e AFs2 (b).



a.



b.

Figura 4.10 Espectros de fluorescência das amostras AFa1 (a) e AFa2 (b).

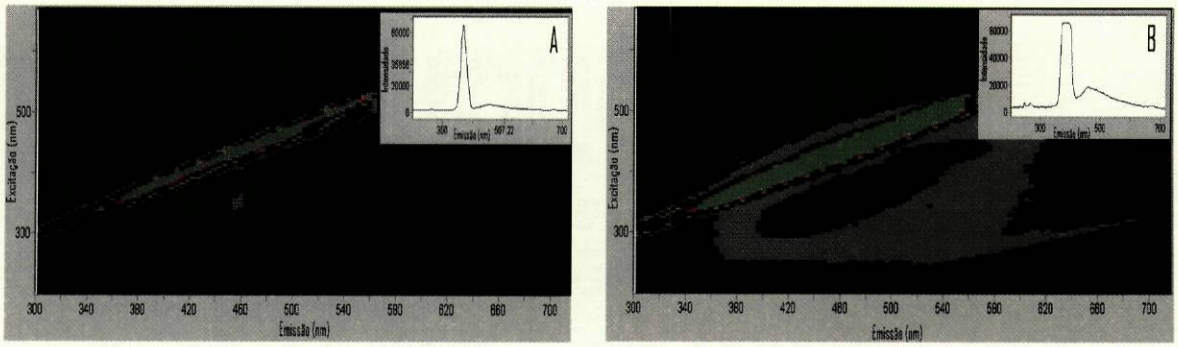


Figura 4.11 MEE e espectro de emissão de fluorescência (janela no canto superior direito) da fracção colóide com tempo de aquisição 10 s (A) e de 40 s (B).

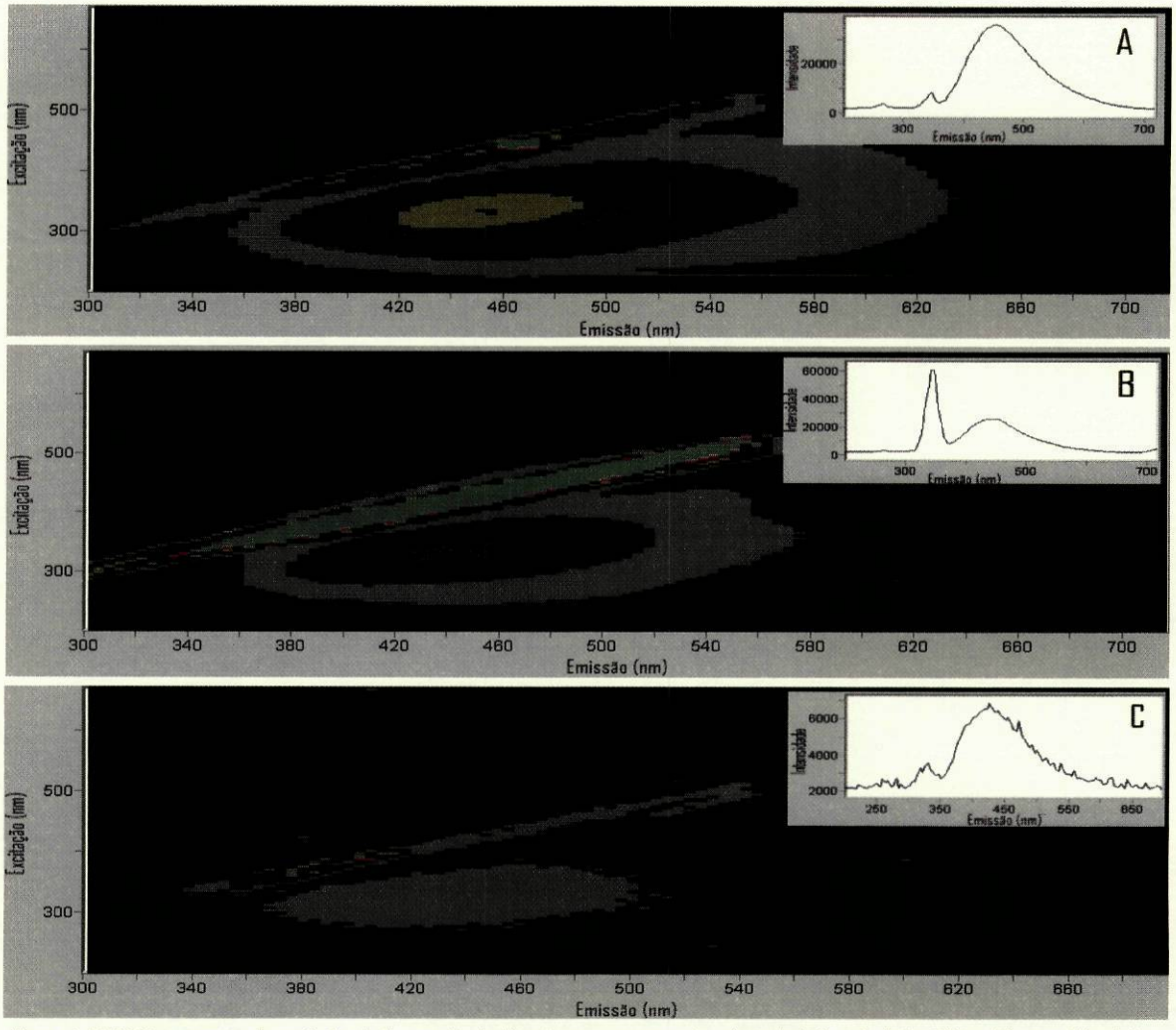


Figura 4.12 MEE e espectro de emissão de fluorescência (janela no canto superior direito) da fracção hidrofóbica (A), transfílica (B) e hidrofílica (C).

4.1.6 ESPECTROSCOPIA DE RMN

A determinação dos espectros de RMN dos AF foi realizada apenas para as amostras extraídas da água (AFa1 e AFa2). Isto porque o principal objectivo é a caracterização dos AF da água da albufeira do Caldeirão, e os resultados obtidos através das técnicas anteriormente referidas possibilitou a recolha de informação abundante sobre os AF do solo. Essa informação mostrou também que não existem diferenças substâncias entre os AF extraídos do solo e da água, pelo que não se considerou fundamental a realização dos espectros de RMN para os AF do solo.

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma das técnicas mais poderosas, nomeadamente os espectros de 1H e 13C, que permitem uma elucidação da estrutura química e possibilitam, além da análise qualitativa, uma análise quantitativa dos grupos presentes. A Figura 4.13 e Figura 4.14 representam os espectros de 1H RMN das amostras AFa1 e AFa2, respectivamente. Como se pode constatar, os espectros apresentam uma grande semelhança, podendo subdividir-se em duas regiões, a região alifática (desvios químicos entre 0,8 e 4 ppm) e a região aromática (desvios químicos entre 4 e 11 ppm). A espectroscopia de 1H RMN é a mais sensível na caracterização das SH, mas o sinal intenso provoca uma sobreposição dos sinais tornando a sua interpretação mais complexa. Apesar da utilização de um solvente deuterado (D_2O) a verdade é que o pico da água (desvio químico próximo de 4,7 ppm relativamente ao TMS) constitui um obstáculo à interpretação dos sinais formados na sua proximidade. Na realidade o pico observado constitui um sinal de HDO resultante da troca de protões entre o solvente e o AF (Cook, 2004). Na Tabela 4.9 estão indicados os desvios químicos observados para as amostras AFa1 e AFa2 e os grupos químicos associados, segundo a interpretação fornecida por Wershaw e Mikita (1987). Como se pode constatar os principais grupos detectados por outras técnicas antes referidas, nomeadamente a espectroscopia de IV, são aqui também confirmadas. É de referir os grupos metilo e metileno em cadeias alifáticas e cíclicas, os grupos carboxílicos e hidroxilos.

Tabela 4.9 Associação entre os desvios químicos observados para as amostras de AF (AFa1 e AFa2) e grupos funcionais nos espectros de 1H RMN. (Wershaw e Mikita, 1987).

Desvios químicos (ppm)	Grupos funcionais	Ressonâncias observadas	
		AFa1	AFa2
0,8 – 1,0	Metilo (-CH_3).	0,769	0,806 0,981
1,0 – 1,4	Metileno (=CH_2) em cadeias de metilenos.	1,100 1,183	1,133
1,4 – 1,7	Metilenos de compostos aliciclicos.	1,441	1,478
1,7 – 2,0	Protões de metilos e metilenos associados a anéis aromáticos.	1,806 1,952	1,826
2,0 – 3,3	Protões de grupos metilo e metileno associados a anéis aromáticos ou grupos carboxílicos.	2,066 2,326 2,511 3,243	2,095 2,229 3,252
3,3 – 5,0	Protões associados de grupos oxigénio, hidratos de carbono.	3,697	3,713 4,048
5,0 – 6,5	Olefinas.	6,443	
6,5 – 8,1	Protões aromáticos, quinonas, fenóis.	6,848 7,241	6,503 7,761 7,866
8,1 – 9,0	Protões em aromáticos.	8,356	8,376

É também de sinalizar para a amostra AFa2 uma maior intensidade dos picos com o desvio químico associado à presença de protões em anéis aromáticos (8,4 ppm), a oxigénios ligados a hidratos de carbono (3,7 ppm) e grupos carboxílicos (3,3 ppm).

Na Figura 4.15 apresentam-se os resultados da caracterização por RMN bidimensional com correlação $^1H/^1H$ (TCOSY – *Total COrrelation SpectroscopY*) das duas amostras de AF extraídos da água (AFa1 e AFa2). A análise comparativa dos espectros TCOSY que se encontram resumidos na Tabela 4.10, mostra que o espectro da amostra AFa2 contém mais informação do que o da amostra AFa1, nomeadamente a existência de estruturas contendo protões ligados a oxigénios. Este resultado poderá evidenciar uma maior concentração de hidratos de carbono assim como grupos éster na amostra AFa2, o que está de acordo com os dados evidenciados na análise UV-Vis. Por outro lado, e atendendo às correlações observadas na região alifática ambas as

amostras de AF contêm cadeias alifáticas eventualmente ligadas a estruturas aromáticas.

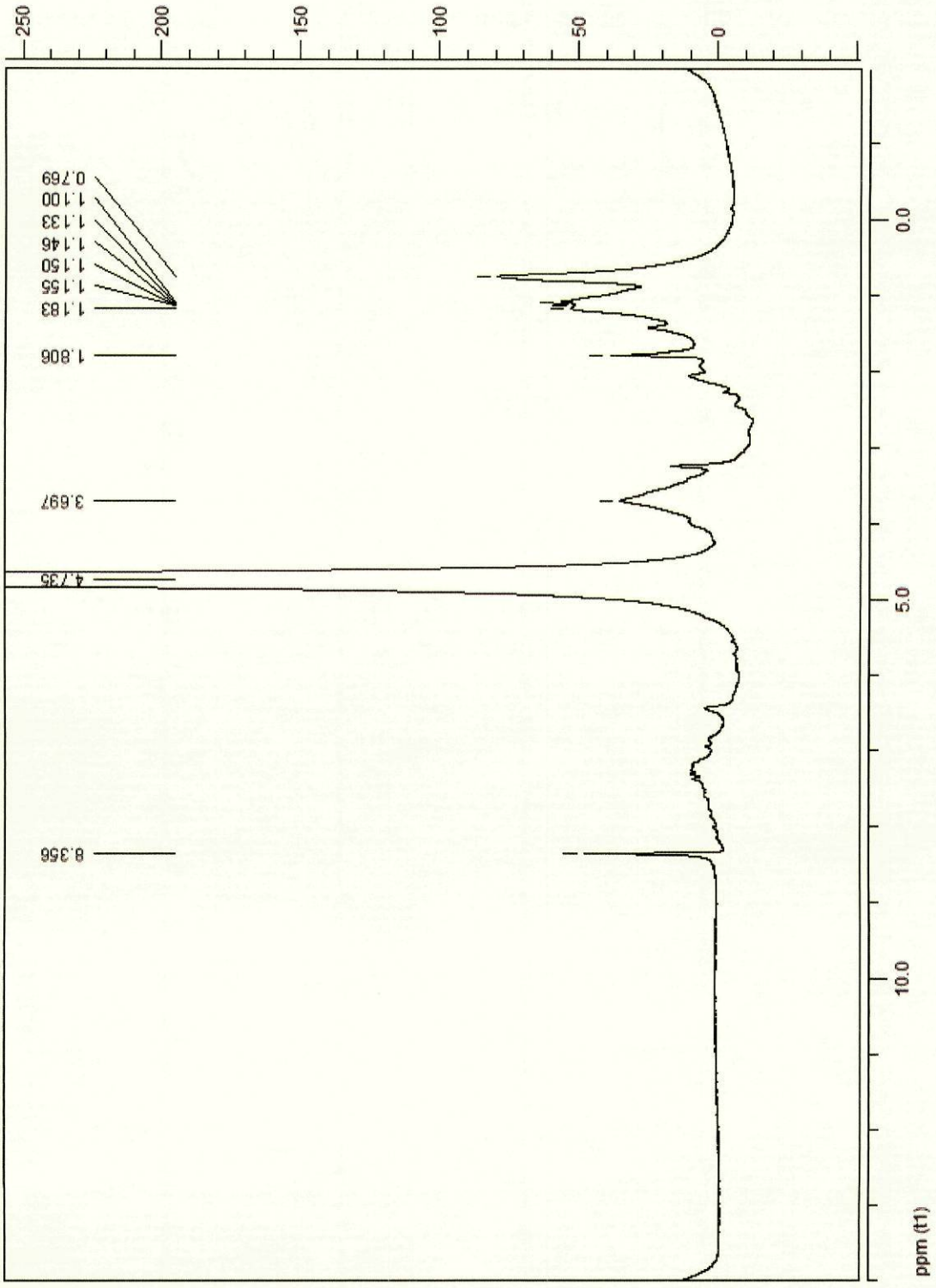


Figura 4.13 Espectro de ^{1}H RMN da amostra AFa1.

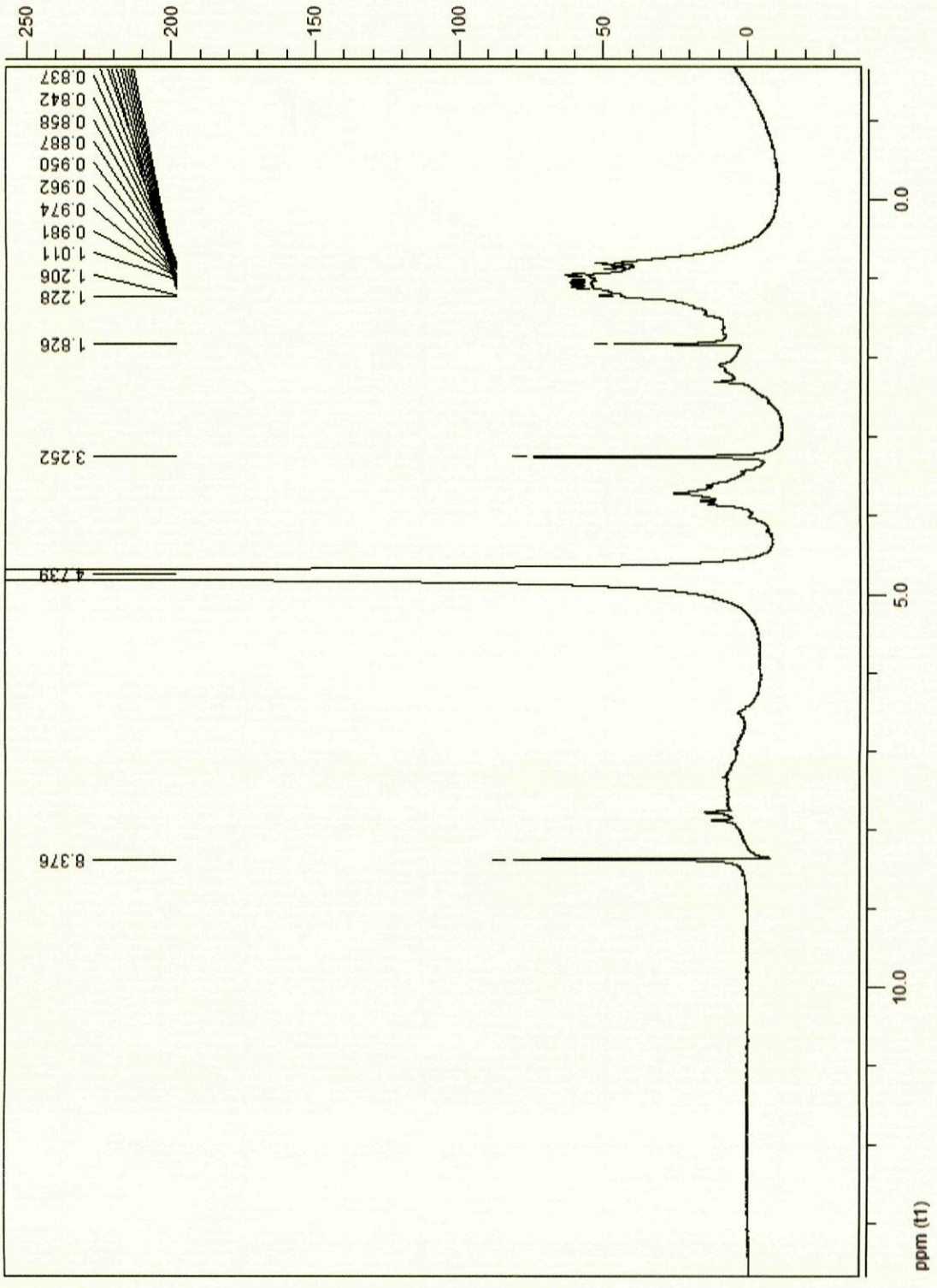


Figura 4.14 Espectro de ^{1}H RMN da amostra AFa2.

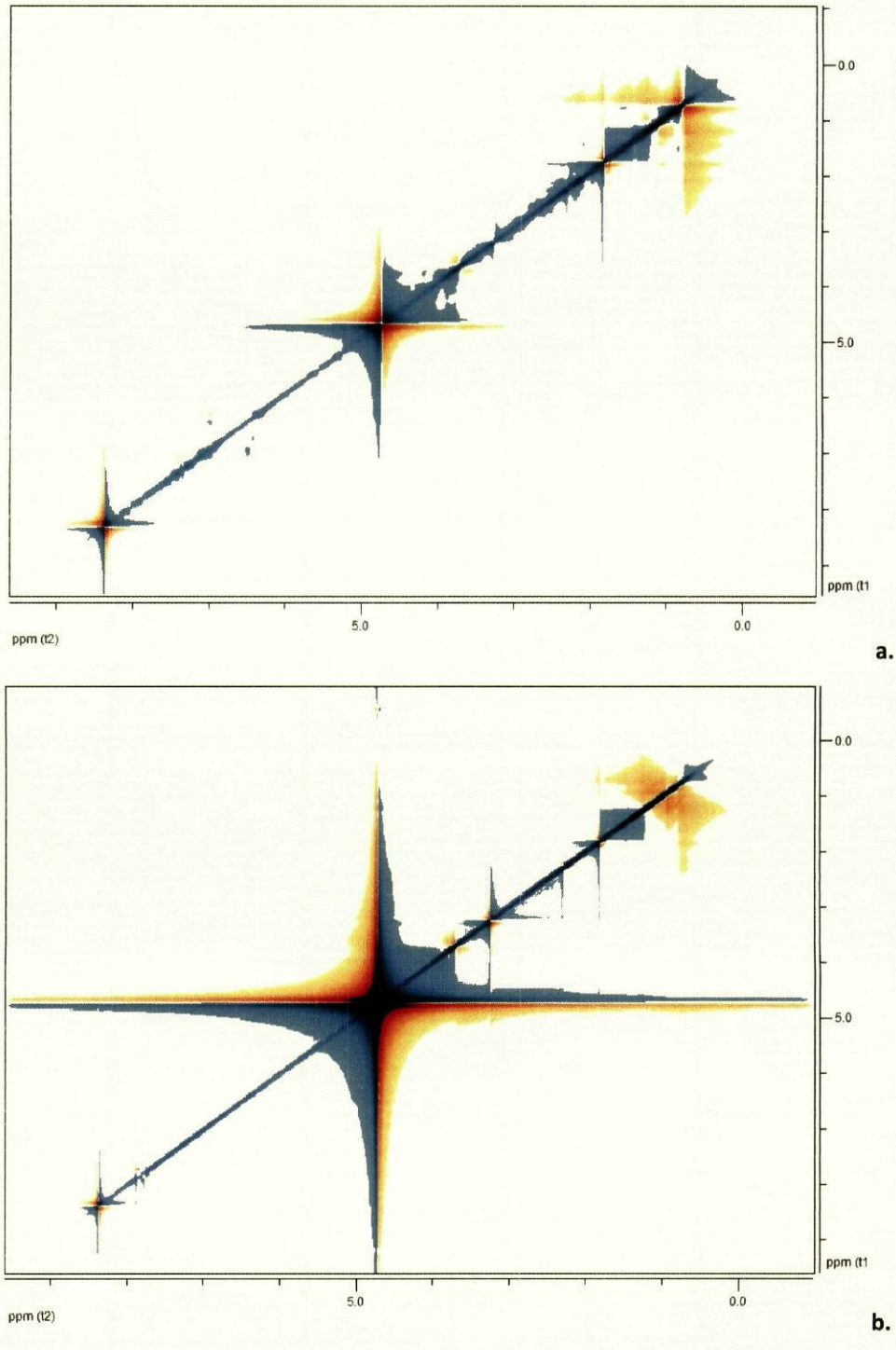


Figura 4.15 Espectro bidimensional TCOSY das amostras AFa1 (a) e AFa2 (b).

Na Tabela 4.10 estão indicadas as correlações observadas para os espectros TCOSY e respectivos grupos funcionais associados. Das correlações existentes pode-se

constatar que a informação obtida é, no essencial, concordante com a que consta dos espectros unidimensionais de ^{1}H RMN e da Tabela 4.9. Na Figura 4.16 estão representados os espectros bidimensionais relativos às correlações de $^{1}H/^{13}C$ (HMQC - *Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*). A análise comparativa dos espectros HMQC mostra grandes correlações entre átomos de carbono e de hidrogénio, existentes em estruturas aromáticas e hidratos de carbono, para ambas as amostras de AF. Embora a análise destes espectros revele que as duas amostras de AF apresentam uma composição semelhante, observa-se uma maior concentração de hidratos de carbono na amostra de AFa2.

Tabela 4.10 Correlações observadas nos espectros TCOSY e grupos funcionais associados para as amostras AFa1 e AFa2.

Desvios químicos (ppm)	Amostra		Grupos funcionais
^{1}H	AFa1	AFa2	
0,2	X	X	Protões de grupos metilo (-CH_3).
0,8	X	X	
1,2	X	X	Protões de grupo metilo (-CH_3).
1,8	X	X	Protões de grupos metilo (-CH_3) e metileno (=CH_2) directamente ligados a anéis aromáticos.
3,2		X	Protões em carbonos directamente ligados a oxigénio, hidratos de carbono.
7,75		X	Protões em carbonos directamente ligados a oxigénios, hidratos de carbono.
7,9		X	Protões em anéis aromáticos incluindo grupos quinona e fenóis.
8,4	X	X	Protões em anéis aromáticos.

Este resultado, que confirma as observações dos espectros TCOSY, pode ser uma consequência do processo de pré-concentração da água da albufeira por OR, que provoca um aumento da concentração dos hidratos de carbono naturais na água, antes da passagem pelas resinas XAD8, sendo que estas, eventualmente, retém parte dos hidratos de carbono juntamente com os AF. Como a amostra AFa1 é obtida por passagem directa da água da albufeira pela resina XAD8, a concentração de hidratos de carbono é demasiado baixa para que haja retenção significativa dessas substâncias.

Por outro lado, e eventualmente em consequência desta justificação, nos AFa1 detecta-se uma maior concentração de estruturas alifáticas mais simples.

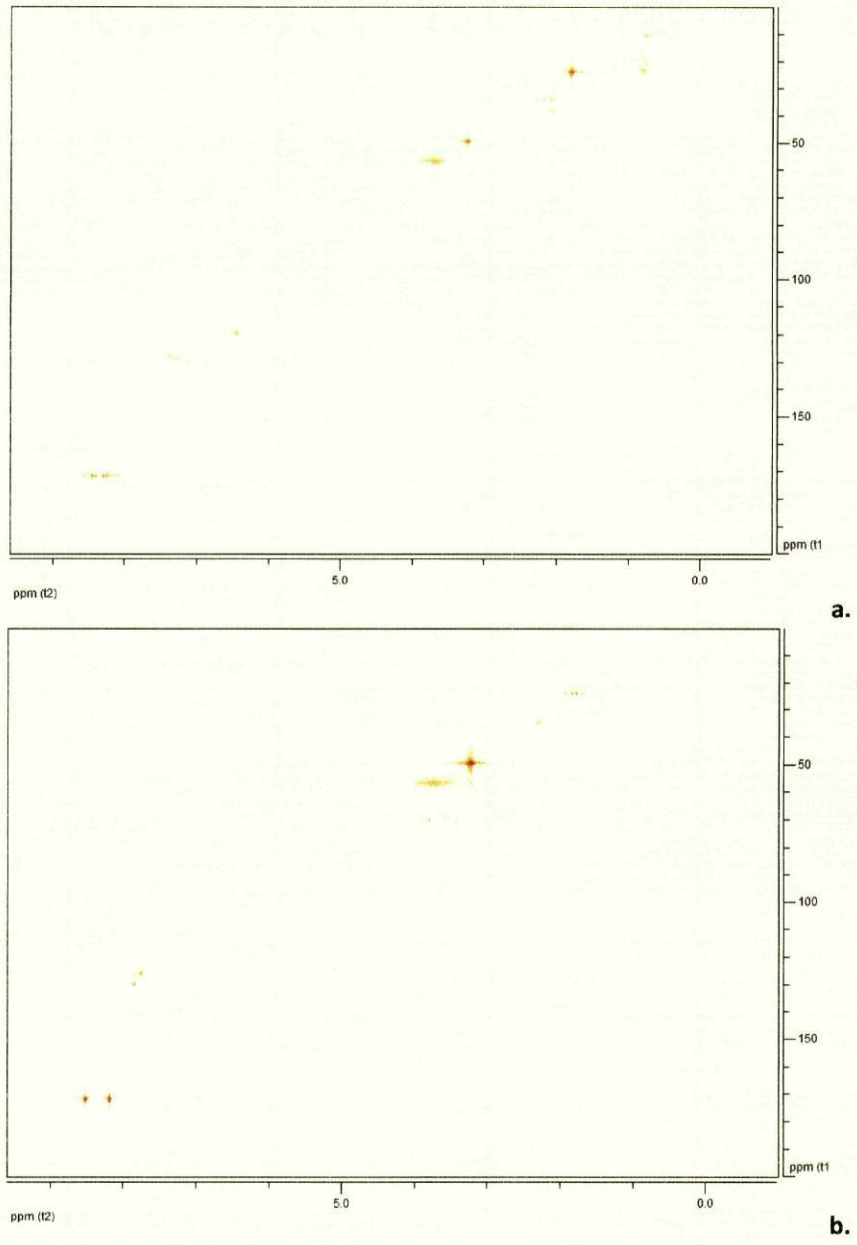


Figura 4.16 Espectro bidimensional HMQC das amostras AFa1 (a) e AFa2 (b).

Tabela 4.11 Correlação entre bandas de ^{13}C e ^{1}H observadas no espectro HMQC e grupos funcionais associados para as amostras AFa1 e AFa2.

Desvios químicos (ppm)		Amostra		Grupos funcionais
^{13}C	^{1}H	AFa1	AFa2	
10; 22; 24	0,7	X		Grupos metilo (-CH_2).
24	1,6-2,0	X	X	Grupos (–CH_2) directamente ligados a anéis aromáticos e ligados a cadeias alifáticas com mais de dois carbonos.
34	1,8-2,2	X	X	
50	3,2	X	X	Grupos –OCH_3, hidratos de carbono
57	3,5-4,0	X	X	Hidratos de carbono, álcoois secundários.
72	3,5 e 3,8		X	
118	6,4	X		Estruturas aromáticas incluindo quinonas e fenóis.
126	7,7		X	
130	6,8-7,8	X	X	
171	8,0-8,6	X	X	Grupos do tipo carboxílicos, éster e amida em estruturas aromáticas.

A Tabela 4.11 representa a correlação existente entre ^{13}C e ^{1}H, com a indicação dos respectivos grupos funcionais associados, que resultam da observação dos espectros bidimensionais HMQC. Tal como para os espectros TCOSY verifica-se o aparecimento de estruturas alifáticas e aromáticas, grupos funcionais típicos como os grupos carboxílicos, fenólicos e amidas. A informação contida nos espectros bidimensionais de RMN (TCOSY e HMQC) revelam que as amostras de AF contêm uma mistura complexa de estruturas e grupos funcionais orgânicos às quais correspondem hidrogénios e carbonos com desvios químicos de RMN que cobrem toda a gama deste tipo de espectros, quer na região das estruturas aromáticas quer na zona das estruturas alifáticas.

4.2 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através das diferentes técnicas utilizadas para a caracterização dos AF permitem afirmar globalmente que, embora existam diferenças entre os AF com origem nos solos e na água, a verdade é que estas não são muito significativas. Tal pode ser, em parte, explicado pelo facto da albufeira apresentar uma

utilização com fins múltiplos, nomeadamente a produção de energia eléctrica e o abastecimento público de água. Isto obriga a uma considerável variação das cotas de água da albufeira, podendo estas variar com relativa facilidade 4 a 5 metros. Tal significa que as margens, onde foram realizadas as colheitas de solo, estão muitas vezes inundadas permitindo um contacto estreito entre a massa de água e o solo.

Dos resultados, é também possível afirmar que as características químicas dos AF aquáticos, obtidos através da utilização prévia da OR e posterior extracção com resina XAD8, são semelhantes com os obtidos utilizando apenas a extracção com a resina XAD8. No entanto, verifica-se de uma forma geral, uma maior proximidade das características químicas do AFa2 aos AFs1 e AFs2.

O fraccionamento da MOD presente na água permite constatar que no meio hídrico a matéria orgânica pode ser subdividida em fracções com propriedades químicas distintas. Destas, a fracção coloidal com características mais alifáticas encontra-se em maior percentagem na água relativamente às restantes fracções, enquanto a fracção mais hidrofóbica apresenta uma composição com uma maior condensação de estruturas aromáticas polifenólicas. A presença destas estruturas constitui um factor a ter em consideração nas diferentes etapas de tratamento da água para consumo humano, uma vez que compostos fenólicos apresentam todas as características para o possível desenvolvimento de subprodutos da desinfecção. A caracterização da fracção coloidal, hidrofóbica e transfílica revelam também a presença de grupos funcionais comparáveis aos evidenciados nos AF. Assim, é natural que estas fracções possam desempenhar um papel importante na interacção com espécies químicas orgânicas ou inorgânicas presentes no meio ambiente.

4.3 BIBLIOGRAFIA

Antunes, M. C. G., Esteves da Silva, J. C.G. (2005) Multivariate curve resolution analysis excitation-emission matrices of fluorescence of humic substances, Anal. Chim. Acta, 546, 52–59.

Baddi, G. A., Hafidi, M., Cegarra, J., Alburquerque, J. A., Gonzálvez, J., Gilard, V., Revel, J. C. (2004) Characterization of fulvic acids by elemental and spectroscopic (FTIR and 13C-NMR) analyses during composting of olive mill wastes plus straw, Bioresour. Technol., 93, 285–290.

Baes, A. U., Bloom, P. R. (1990) Fulvic acid ultraviolet-visible spectra: Influence of solvent and pH, Soil Sci. Soc. Am. J., 54, 1248-1254.

Baglieri, A., Ioppolo, A., Nègre, M., Gennari, M. (2007) A method for isolating soil organic matter after the extraction of humic and fulvic acids, Org. Geochem., 38, 140-150.

Cabaniss, S. E. (1991) Carboxylic acid content of a fulvic acid determined by potentiometry and aqueous Fourier Transform Infrared Spectrometry, Anal. Chim. Acta, 255, 23-30.

Chen, J., Gu, B., LeBoeuf, E. J., Pan, H., Dai, S. (2002) Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions, Chemosphere, 48, 59-68.

Chen, J., LeBoeuf, E.J., Dai, S., Gu, B. (2003) Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions, Chemosphere, 50, 639–647

Chin, Y. P., Aiken, G., Longhlin, E.O. (1994) Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances, Environ. Sci. Technol., 28, 1853-1858.

Cook, R. L. (2004) Coupling NMR to NOM, Anal. Bioanal. Chem., 378, 1484-1503.

Croué, J. F. (2004) Isolation of humic and non-humic NOM fractions: Structural characterization, Environ. Monit. Assess., 92, 193–207.

Esteves da Silva, J. C. G. (1988) Utilidade de misturas sintéticas e de modelos computacionais no estudo de equilíbrios de ácido-base e de complexação de ácidos fúlvicos por potenciometria, Provas de aptidão pedagógica e capacidade científica. Universidade do Porto, Porto (Portugal).

Esteves da Silva, J. C. G., Machado, A. A. S. C. (1995) Self-modelling curve resolution analysis of synchronous fluorescence spectroscopy data for characterization of acid mixtures and of acid-base equilibria, Analyst, 120, 2553-2560.

Esteves da Silva, J. C. G., Machado, A. A. S. C., Ferreira, M. A., Rey, F. (1998) Method for the differentiation of leaf litter extracts and study of their interaction with Cu(II) by molecular fluorescence, Can. J. Chem., 76, 1197-1209.

Esteves da Silva, J. C. G., Machado, A. A. S. C., Oliveira, C. J. S. (1997) Study of the interaction of Al(III) with a soil fulvic acid in the acid pH range by self-modeling mixture analysis of synchronous fluorescence spectral data, Anal. Chim. Acta, 349, 23-31.

Gaffney, J. S., Marley, N. A., Clark, S. B. (1995) Humic and fulvic acids – isolation, structure, and environmental role, American Chemical Society, Washington (USA).

Gamble, D. S. (1970) Titration curves of fulvic acid: The analytical chemistry of a weak acid polyelectrolyte, Can. J. Chem., 48, 2662-2669.

Gans, P. (1992) Data Fitting in the Chemical Sciences, John Wiley and Sons, Chichester (UK).

Garnier, C., Mounier S., Benaim, J. Y. (2004) Influence of dissolved organic carbon content on modeling natural organic matter acid–base properties, Water Res., 38, 3685–3692.

Hwang, C. J., Krasner, S.W., Sclimenti, M. J., Amy, G. L., Dickenson, E., Bruchet, A., Prompsy, C., Filippi, G., Croué, J. P., Violleau, D., Leenheer, J. L. (2001) Polar NOM: Characterization, DBPs, Treatment, AWWA Research Foundation and American Water Works Association (USA).

Kalbitz, K., Geyer, W., Geyer, S. (1999) Spectroscopic properties of dissolved humic substances – a reflection of land use history in a fen area, Biogeochemistry, 47, 219-238.

Leenheer, J. A. (2004) Comprehensive assessment of precursors, diagenesis, and reactivity to water treatment of dissolved and colloidal organic matter, Water Sci. Technol., 4, 1-9.

Leenheer, J., Croué, J. P., Benjamin, M., Korshin, G., Hwang, C., Bruchet, A., Aiken, G. R. (2000) Comprehensive Isolation of Natural Organic Matter from Water for Spectral Characterizations and Reactivity Testing, ACS Symposium Series 76, Washington (USA).

Machado, A. A. S. C., Esteves da Silva, J. C. G. (1992) Study of aqueous acidic properties of fulvic acids by evolving factor analysis of pH + FT-IR titration data, Chemom. Intell. Lab. Syst., 17, 249-258.

Maurice, P. A., Pullin, M. J., Cabaniss, S. E., Zhou, Q., Dejanovic, K. N., Aiken, G. R. (2002) A comparation of surface water natural organic matter in raw filtered water samples, XAD, and reverse osmosis isolates, Wat. Res., 36, 2357-2371.

Oliveira, C. J. S. (2000) Caracterização de Ácidos Fúlvicos Extraídos de Resíduos Reciclados por Actividades Agrícolas, Tese de Doutoramento, Universidade do Porto, Porto (Portugal).

Parlanti, E., Morin, B., Vacher, L. (2002) Combined 3D-spectrofluorometry, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for the characterization of dissolved organic matter in natural waters, Org. Geochem., 33, 221–236.

Patel-Sorrentino, N., Mounier, S., Benaim, J. Y. (2002) Excitation–emission fluorescence matrix to study pH influence on organic matter fluorescence in the Amazon basin rivers, Water Res., 36, 2571–2581.

Ricart, M., Villaescusa, I., de la Torre, F. (1996) Analytical limitations and error sources in complexation studies of Cu(II) with fulvic acids by potentiometric titrations, React. Funct. Polym., 28, 159-165.

Rodrigues, P.M.S.M., Esteves da Silva, J.C.G. (2005) Extracção e caracterização de ácidos fúlvicos da água da albufeira do Caldeirão (Guarda) e dos solos adjacentes, Revista de Ciências Agrárias, 28, 218-227.

Saab, S. C., Martin-Neto, L. (2007) Anéis aromáticos condensados e relação E4/E6: Estudo de ácidos húmicos de gleissolos por RMN de 13C no estado sólido utilizando a técnica CP/MAS desacoplamento defasado, Quim. Nova, 30, 260-263.

Santos, E. B. H., Filipe, O. M. S., Duarte, R. M. B. O., Pinto, H., Duarte, A. C. (2000) Fluorescence as a toll for tracing the organic contamination from pulp mill effluents in surface waters, Acta Hidrochim. Hidrobiol., 28, 264-371.

Schnitzer, M., (1991) Soil organic matter: The next 75 years, Soil Sci., 151, 41-58.

Serkiz, S. M., Perdue, E. M. (1990) Isolation of Dissolved Organic Matter from the Suwannee River Using reverse osmosis, Wat. Res., 24, 911-916.

Sierra, M. M. D., Giovanela, M., Parlanti, E., Esteves, V. I., Duarte, A. C., Fransozol, A., Soriano-Sierra, E. J. (2005) Structural Description of Humic Substances from Subtropical Coastal Environments using Elemental Analysis, FT-IR and 13C-Solid State NMR Data, J. Coastal Res., Special Issue, 42, 370-382.

Sierra, M. M. D., Giovanela, M., Parlanti, E., Soriano-Sierra, E. J. (2005) Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques, Chemosphere, 58, 715–733.

Stevenson, F. J. (1982) Extraction, fractionation and general chemical composition of soil organic matter. Humus Chemistry, Genesis, Composition, Reactions. John Wiley and Sons, New York (USA).

Wershaw, R. L., Leenheer, J. A., Cox, L. (2005) Characterization of dissolved and particulate natural organic matter (NOM) in Neversink Reservoir (New York), Scientific Investigations Report 2005-5108, U.S. Geological Survey, Virginia (USA).

Wershaw, R. L., Mikita, M. A. (1987) NMR of Humic Substances and Coal, Techniques, Problems and Solutions, Lewis, Chelsea (UK).

5 FORMAÇÃO DE SUBPRODUTOS DA DESINFECÇÃO

5.1 INTRODUÇÃO

A desinfecção da água é uma prática universalmente utilizada nas estações de tratamento de águas de consumo (ETA) com o objectivo de reduzir os riscos de contaminação por agentes patogénicos. Contudo, e apesar da relevância desta prática, a verdade é que uma classe de subprodutos da desinfecção foram identificados nas águas de consumo devido à cloragem das águas, os quais constituem um risco para a saúde humana (Richardson, 2003).

A formação de subprodutos da desinfecção constitui nos dias de hoje um tema de relevância uma vez que alguns deles são classificados como carcinogénicos e, mais recentemente, estudos epidemiológicos indicaram que também estão associados a problemas reprodutivos e do desenvolvimento (Nieuwenhuijsen *et al.*, 2000; Attias *et al.*, 1995; Simmons *et al.*, 2002). Particular atenção tem sido dada aos THM (clorofórmio, bromodiclorometano, clorodibromometano e bromofórmio), ácidos haloacéticos, haloacetonitrilos e halocetonas, sendo os dois primeiros os maiores representantes dos subprodutos da desinfecção, formados durante a cloragem das águas. É de referir que o clorofórmio está incluído na lista das substâncias prioritárias no domínio da política da água da União Europeia (anexo II da proposta da directiva do Parlamento Europeu e do Conselho 2006/0129). É também importante referir que dos 600 a 700 subprodutos referidos na literatura apenas uma pequena percentagem foi quantificada nas águas de consumo (Krasner *et al.*, 2006). Estima-se ainda que, mais de 50% dos compostos halogenados formados durante o processo de cloragem são desconhecidos (Richardson, 2003) não só porque alguns desses subprodutos estão presentes em concentrações extremamente baixas mas também devido à variedade de agentes desinfectantes que podem ser usados. Na verdade, e embora exista uma grande diversidade de desinfectantes, o cloro é o mais usado não só porque é um dos mais efectivos mas também porque é relativamente barato. Mas, uma das principais vantagens que faz do cloro o desinfectante mais utilizado é a possibilidade de este se

manter na água sob a forma de cloro residual livre ou combinado, o qual é fundamental para prevenir possíveis contaminações ao longo do sistema de distribuição.

As preocupações com a saúde pública resultantes da exposição aos THM forçou a União Europeia a legislar e aprovar um novo regulamento sobre Qualidade de Água para Consumo humano que alterou o nível máximo de THM totais para 100[1] μgL^{-1} (Nissinen *et al.*, 2002), o qual foi transposto para a legislação nacional pelo Decreto-Lei nº 243/2001 de 5 de Setembro (o qual será revogado a 1 de Janeiro de 2008 pelo Decreto-lei nº306/2007). Contudo, para completar esta directiva o conhecimento sobre a formação de THM nas águas é fundamental, pois só assim é possível adequar as práticas aplicadas nas estações de tratamento de modo a fornecer água potável segura.

MOD, incluindo AF e AH têm sido reconhecidos como precursores dos subprodutos da desinfecção durante o tratamento das águas de consumo com cloro ou seus derivados (Legube *et al.*, 1985; Rostad *et al.*, 2000; Korshin *et al.*, 2002; Westerhoff *et al.*, 2004). Muitos estudos têm focado a reacção dos AF e AH com o cloro e a subsequente formação de THM, nomeadamente a correlação entre características específicas da matéria orgânica, grupos funcionais e regiões aromáticas das moléculas com a formação de THM (Sohn *et al.*, 2004; Radiq e Rodriguez, 2004). Recentemente, foi descoberto que diferentes fracções da MOD (coloidal, hidrofóbica, e transfílica) reagem com o cloro originando diferentes quantitativos de subprodutos (Leehneer *et al.*, 2001; Leehneer, 2004; Kim e Yu, 2005). Além do mais, o ião brometo presente nas águas brutas pode também desempenhar um importante papel uma vez que reage com a matéria orgânica para formar THM bromados (Richardon *et al.*, 2000; Nissinen *et al.*, 2002; Astel *et al.*, 2006). O mesmo sucede com a presença de iodetos,

[1] Quanto à água a que se refere o nº 1, alíneas *a*), *b*), *c*) e *e*), do artigo 7º, este valor (100μg/l) deve ser respeitado, o mais tardar 10 anos civis após a entrada em vigor da Directiva 98/83. O valor de THM de 150μg/l deve ser respeitado no período compreendido entre os 5 e os 10 anos após a entrada em vigor da referida directiva.

normalmente também presente em águas contendo brometos, os quais induzem a formação de THM iodados, tais como dicloroiodometano (Hua e Reckhow, 2007).

Os parâmetros operacionais que aparentemente influenciam o aparecimento dos THM são a dose de cloro, a temperatura da água, o pH e o tempo de reacção (Sohn *et al.*, 2004; Radiq e Rodriguez, 2004). Estes resultados motivaram um intenso processo de investigação nesta área, nos últimos anos com especial ênfase no desenvolvimento de modelos matemáticos que permitam prever a formação dos subprodutos da desinfecção (Sohn *et al.*, 2004; Radiq e Rodriguez, 2004). Contudo, estes modelos têm sido construídos com o objectivo principal de prever a formação de THM totais ou de clorofórmio. Neste caso o objectivo foi desenvolver uma metodologia experimental e uma análise de dados que seja capaz de detectar os factores mais importantes que afectam a formação dos quatro THM durante a simulação da desinfecção com cloro, num protótipo laboratorial.

5.2 PLANEAMENTO EXPERIMENTAL

As fracções de MOD foram extraídas da albufeira do Caldeirão utilizando os procedimentos recomendados pela IHSS, já referidos no ponto 3.2.1 do capítulo 3, e que consistem resumidamente, numa pré-concentração por osmose reversa seguida de uma extracção com uma resina do tipo XAD8. A fracção de AF assim obtida é classificada como hidrofóbica (Leehneer e Croué, 2003; Hiradate e Yonezawa, 2006). A fracção coloidal, hidrofóbica e transfílica foi obtida de acordo com a metodologia também referida no ponto 3.2.1 e que consiste na pré-concentração por OR e colocação em saco de diálise, que por sua vez é mergulhado numa solução de HCl. No saco de diálise fica retida a fracção colóide enquanto a fracção transfílica e hidrofóbica passam do saco de diálise para a solução de HCl, sendo cada uma delas isolada pela eluição da solução, sucessivamente por coluna de XAD8 e XAD4. Com o objectivo de identificar os factores mais relevantes e como estes influenciam a produção de THM

foi usada uma estratégia de análise factorial (Esteves da Silva *et al.*, 2001; Pinheiro e Esteves da Silva, 2005; Deming e Morgan, 1997). A simulação laboratorial do processo de desinfecção foi efectuada de acordo com o descrito no ponto 3.4 do capítulo 3.

5.3 SIMULAÇÃO DA DESINFECÇÃO NA PRESENÇA DE AF

Para a obtenção de informação acerca dos processos de produção de THM, diferentes simulações foram efectuadas, tendo por base dois planeamentos experimentais distintos. Em primeiro lugar foi efectuada uma investigação baseada no planeamento factorial fraccionado, focada na análise de cinco factores: concentração de AF, dose de cloro, temperatura, pH e concentração do ião brometo. Num segundo momento foi realizado um planeamento de *Box Behnken* focado em três factores, dois que apresentam variabilidade natural (concentração de AF e temperatura da água) e o outro que pode ser controlado na ETA (dose de cloro).

5.3.1 PLANEAMENTO FACTORIAL FRACCIONADO

5.3.1.1 ANÁLISE DAS SUPERFÍCIES DE RESPOSTA PARA A FORMAÇÃO DOS QUATRO THM

As soluções aquosas foram preparadas de modo a conter concentrações pré determinadas dos iões cloreto e brometo (Tabela 5.1). A concentração considerada foi baseada nos valores normalmente observados para águas naturais e da informação sobre a composição da água na barragem do Caldeirão. A gama de temperaturas usadas neste estudo (de 8 °C a 25 °C) corresponde à amplitude anual das temperaturas da água que são normalmente observadas na estação de tratamento.

A quantidade de hipoclorito de sódio usado na simulação do processo de desinfecção foi sujeita a um estudo preliminar, para ajustar a sua quantidade, de modo a que no final houvesse uma quantidade em excesso, garantindo a presença de cloro

residual nas amostras após a desinfecção. A quantidade mínima de hipoclorito de sódio foi de 5 μL (correspondente a uma concentração total de 0,4 mgL^{-1}) que originou uma concentração de cloro residual de pelo menos 0,02 mgL^{-1}. Quantidades mais elevadas de hipoclorito de sódio usadas no desenvolvimento experimental do processo de desinfecção estão indicadas na Tabela 5.1. Com estas quantidades de hipoclorito de sódio, a quantidade de cloro residual livre observado após desinfecção (alguns minutos depois da adição do hipoclorito de sódio) situou-se entre os 0,02 e os 0,91 mgL^{-1}. Estes valores não diminuem de forma significativa, após o nono minuto.

Tabela 5.1 Planeamento factorial fraccionado, factores e correspondentes níveis sob investigação.

Factor *		**Valores**	
Planeamento Factorial Fraccionado (16 mais 5 experiências centrais)			
Concentração AF (mgL^{-1})	0,50	2,75	5,00
Concentração do ião brometo (mgL^{-1})	0,10	0,55	1,00
Cloro (μL) **	5	17,5	30
pH	6,0	7,0	8,0
Temperatura (°C)	8,0	16,5	25,0

* Uma concentração constante de 10 mgL^{-1} de cloretos está presente em todas as amostras.

** Este factor corresponde ao volume de solução de hipoclorito de sódio (20 gL^{-1}) adicionada (corresponde a uma concentração de 0,4; 1,4; e 2,4 mgL^{-1}) originando uma concentração final de cloro livre (após desinfecção) entre 0,02 e 0,91 mgL^{-1}.

A análise cromatográfica dos THM presentes nas amostras permite concluir que existe uma significativa variabilidade para a concentração encontrada para os quatro THM: $CHCl_3$ varia a sua concentração entre 0,2 e 7,6 μgL^{-1}; $CHBrCl_2$ varia entre 1,7 e 7,3 μgL^{-1}; $CHBr_2Cl$ varia entre 0,1 e 6,1 μgL^{-1}; e finalmente o $CHBr_3$ varia a sua concentração entre 1,2 e 19 μgL^{-1}. A concentração dos quatro THM em cada amostra não se altera durante os noventa minutos que dura a interacção com o hipoclorito de sódio. Estes resultados estão de acordo com o observado para o cloro residual livre na amostra no mesmo período de tempo e sugerem que a reacção de desinfecção é bastante rápida, resultando na formação dos THM, em poucos minutos após a adição do hipoclorito de sódio.

Nesta primeira análise os cinco factores foram estudados e um planeamento do tipo factorial fraccionado foi usado (16 mais 5 experiências centrais). A Tabela 5.2 mostra a análise dos efeitos dos cinco parâmetros na produção dos quatro THM usando o planeamento experimental factorial fraccionado (erro experimental das réplicas das amostras centrais). A partir da análise desta tabela podemos retirar as seguintes conclusões:

(i) A concentração de AF contribui para o aumento da produção total de THM. Este resultado era esperado porque os AF reagem com o cloro para formar THM (Garcia-Villanova *et al.*, 1997; Nikolaou *et al.*, 2004; Uyguner *et al.*, 2004; van Leeuwen *et al.*, 2005).

(ii) Quanto maior a concentração do ião brometo na solução maior a quantidade de THM bromados e menor a quantidade de clorofórmio formado. Considerando o processo químico por detrás da produção dos THM, o resultado é esperado porque a maior quantidade de brometo corresponde uma maior produção de THM bromados (Richardson *et al.*, 2000; Nissinen *et al.*, 2002; Astel *et al.*, 2006) e consequentemente o clorofórmio é reduzido.

(iii) Quanto maior for a quantidade de cloro usada no processo de desinfecção maior a quantidade de THM formados. Este resultado é similar ao verificado para os AF porque este factor e o cloro são os dois principais contribuintes para a produção de THM, e está de acordo com os resultados referidos na literatura (Garcia-Villanova *et al.*, 1997; Sohn *et al.*, 2004; Radiq e Rodriguez, 2004).

(iv) Apesar do pH da solução não apresentar um efeito claro na produção de THM existe alguma tendência para aumentar com o aumento do pH, o que está de acordo com os resultados obtidos da literatura (Garcia-Villanova *et al.*, 1997; Sohn *et al.*, 2004; Radiq e Rodriguez, 2004).

(v) O aumento da temperatura provoca uma diminuição na concentração de clorofórmio mas um aumento na concentração de THM bromados. Um aumento global da produção de THM com o aumento da temperatura seria de esperar, mas devido à

volatilidade do clorofórmio, este THM escapa da solução antes da realização da análise (Garcia-Villanova *et al.*, 1997; Sohn *et al.*, 2004; Radiq e Rodriguez, 2004). No entanto é possível verificar que a quantidade de THM bromados têm tendência a aumentar, com o aumento da temperatura.

Tabela 5.2 Análise qualitativa do efeito dos cinco parâmetros na produção dos quatro THM através da utilização do planeamento experimental factorial fraccionado (erros experimentais estimados da amostras centrais).

Factor	$CHCl_3$	$CHBrCl_2$	$CHBr_2Cl$	$CHBr_3$
Concentração AF	+	++	+++	++
Concentração de brometos	--	NS	++	+++
Cloro	+	++	+++	+++
pH	+	NS	++	NS
Temperatura	---	NS	++	+

NS – não significativo; o número de sinais + e – indica o grau de significado do factor.

Os resultados da análise ANOVA para a produção individual dos quatro THM estão representados da Tabela 5.3 à Tabela 5.6. Nestas tabelas estão também indicados os coeficientes de regressão beta e os correspondentes desvios padrão resultantes do ajuste ao modelo linear da produção individual de cada um dos quatro THM produzidos. Considerando apenas as variáveis que têm um coeficiente de regressão superior ao desvio padrão, são obtidos os seguintes modelos para a produção de THM:

$CHCl_3$ (μgL^{-1}) = 3,6-0,7Br-0,2T-0,3pHxT

$CHBrCl_2$ (μgL^{-1}) = 2,7+0,2[AF]+0,02Cl+0,4[AF]xCl

$CHBr_2Cl$ (μgL^{-1}) = 1,6+0,3[AF]+0,03Cl+0,5[AF]xCl

$CHBr_3$ (μgL^{-1}) = 4,9+0,5[AF]+5,0Br+0,09Cl+1,0[AF]xBr+1,2[AF]xCl+1,6BrxCl+1,1pHxT

O factor AF e Cl estão presentes em três das quatro equações representadas. A excepção é a equação que simula a produção de clorofórmio. Os coeficientes correspondentes mostram valores aproximados, variando entre 0,2 e 0,5 para o AF e

entre 0,02 e 0,09 para o Cl. Estes resultados mostram que a concentração de AF e a quantidade de cloro afectam a produção dos THM embora, de forma surpreendente, isso não esteja reflectido na equação do clorofórmio. As equações revelam também que a produção do clorofórmio diminui com o aumento da concentração do ião brometo, da temperatura e do pH. Pelo contrário, o bromofórmio aumenta com o aumento dos valores dos parâmetros AF, Br, Cl e pH. Os modelos permitem também pôr em evidência a importância das interacções pHxT, AFxCl, AFxBr, e BrxCl na formação dos THM. A complexidade, sob o ponto de vista do número de parâmetros e interacções associadas a cada equação, aumenta com o aumento dos átomos de brometo nos THM. Embora se possa também observar globalmente, uma falta de ajuste do modelo, a verdade é que a informação sobre os efeitos na produção de THM é válida.

Tabela 5.3 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHCl_3$ obtida usando o planeamento factorial fraccionado.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	B	SE_β
Model	65,664	15	4,378	3,664	0,0791		
Error	5,974	5	1,195				
Adjusted total	71,638	20	3,582				
Factor							
Intercept	270,722	1	270,722	226,594	0,0000	3,590	0,239
FA	1,156	1	1,156	0,967	0,3705	0,119	0,121
Br	1,756	1	1,756	1,469	0,2796	-0,736	0,607
pH	0,856	1	0,856	0,716	0,4360	0,231	0,273
Cloro	0,856	1	0,856	0,716	0,4360	0,009	0,011
T	55,876	1	55,876	46,768	0,0010	-0,220	0,032
AF x Br	0,226	1	0,226	0,189	0,6820	-0,095	0,219
AF x pH	0,050	1	0,050	0,042	0,8450	-0,045	0,219
AF x Cl	0,331	1	0,331	0,277	0,6213	-0,115	0,219
AF x T	0,008	1	0,008	0,063	0,8114	0,055	0,219
Br x pH	0,141	1	0,141	0,118	0,7455	0,075	0,219
Br x Cl	0,526	1	0,526	0,440	0,5365	-0,145	0,219
Br x T	0,181	1	0,181	0,151	0,7134	-0,085	0,219
pH x Cl	0,0006	1	0,0006	0,0005	0,9826	0,005	0,219
pH x T	2,281	1	2,281	2,076	0,2092	-0,315	0,219
Cl x T	1,156	1	1,156	0,967	0,3705	-0,215	0,219
Model Check							
Main	60,498	5	12,100				
Int	5,166	10	0,517	0,432	0,8786		
Int + Squ	0,000	0	0,000	0,000	0,0000		
Squ	0,000	0	0,000	0,000	0,0000		
Error	5,974	5	1,195				
Lack of Fit							
Lack of Fit	5,682	1	5,682	77,832	0,0009		
Pure Error	0,292	4	0,073				
Total Error	5,974	5	1,195				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.4 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBrCl_2$ obtida usando o planeamento factorial fraccionado.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	B	SE_β
Model	17,484	15	4,378	3,664	0,0791		
Error	7,887	5	1,195				
Adjusted total	25,371	20	3,582				
Factor							
Intercept	157,989	1	157,989	100,157	0,0002	2,743	0,274
FA	4,516	1	4,516	2,863	0,1514	0,236	0,140
Br	0,331	1	0,331	0,210	0,6663	-0,319	0,698
pH	0,951	1	0,951	0,603	0,4727	0,244	0,314
Cloro	5,881	1	5,881	3,728	0,1114	0,024	0,013
T	0,181	1	0,181	0,115	0,7488	0,013	0,037
AF x Br	0,051	1	0,051	0,032	0,8649	-0,045	0,251
AF x pH	0,276	1	0,276	0,175	0,6933	0,105	0,251
AF x Cl	3,516	1	3,516	2,229	0,1957	0,375	0,251
AF x T	0,141	1	0,141	0,089	0,7773	0,075	0,251
Br x pH	0,051	1	0,051	0,032	0,8649	0,045	0,251
Br x Cl	0,391	1	0,391	0,248	0,6399	-0,125	0,251
Br x T	0,226	1	0,226	0,143	0,7208	0,095	0,251
pH x Cl	0,526	1	0,526	0,333	0,5888	0,145	0,251
pH x T	0,226	1	0,226	0,143	0,7208	-0,095	0,251
Cl x T	0,226	1	0,226	0,143	0,7208	0,095	0,251
Model Check							
Main	11,858	5	2,372				
Int	5,626	10	0,563	0,357	0,9223		
Int + Squ	0,000	0	0,000	0,000	0,0000		
Squ	0,000	0	0,000	0,000	0,0000		
Error	7,887	5	1,577				
Lack of Fit							
Lack of Fit	7,059	1	7,059	34,102	0,0043		
Pure Error	0,828	4	0,207				
Total Error	7,887	5	1,577				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.5 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_2Cl$ obtida usando o planeamento factorial fraccionado.

Effect	SS	df	MS	F	p-value	B	SE_β
Model	36,059	15	2,404	0,455	0,8908		
Error	26,393	5	5,279				
Adjusted total	62,452	20	3,123				
Factor							
Intercept	52,488	1	52,488	9,943	0,0253	1,581	0,501
FA	5,881	1	5,881	1,114	0,3395	0,269	0,255
Br	1,756	1	1,756	0,333	0,5891	0,736	1,276
pH	1,051	1	1,051	0,199	0,6742	0,256	0,574
Cloro	10,401	1	10,401	1,970	0,2194	0,032	0,023
T	2,031	1	2,031	0,385	0,5623	0,042	0,068
AF x Br	1,266	1	1,266	0,240	0,6451	0,225	0,460
AF x pH	0,391	1	0,391	0,074	0,7965	0,125	0,460
AF x Cl	6,376	1	6,376	1,208	0,3218	0,505	0,460
AF x T	0,856	1	0,856	0,162	0,7039	0,185	0,460
Br x pH	0,856	1	0,856	0,162	0,7039	0,185	0,460
Br x Cl	1,051	1	1,051	0,199	0,6742	0,205	0,460
Br x T	0,681	1	0,681	0,129	0,7342	0,165	0,460
pH x Cl	0,856	1	0,856	0,162	0,7039	0,185	0,460
pH x T	0,856	1	0,856	0,162	0,7039	0,185	0,460
Cl x T	1,756	1	1,756	0,333	0,5891	0,265	0,460
Model Check							
Main	21,118	5	4,224				
Int	14,941	10	1,494	0,283	0,9576		
Int + Squ	0,000	0	0,000	0,000	0,0000		
Squ	0,000	0	0,000	0,000	0,0000		
Error	26,393	5	5,279				
Lack of Fit							
Lack of Fit	26,225	1	26,225	624,405	0,0000		
Pure Error	0,168	4	0,042				
Total Error	26,393	5	5,279				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.6 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_3$ obtida usando o planeamento factorial fraccionado.

Effect	SS	df	MS	F	p-value	B	SE_β
Model	359,034	15	23,936	1,306	0,4115		
Error	91,644	5	18,329				
Adjusted total	450,678	20	22,534				
Factor							
Intercept	509,122	1	509,122	27,777	0,0033	4,924	0,934
FA	22,326	1	22,326	1,218	0,3200	0,525	0,476
Br	80,551	1	80,551	4,395	0,0902	4,986	2,378
pH	3,516	1	3,516	0,192	0,6797	0,469	1,070
Cloro	74,391	1	74,391	4,059	0,1001	0,086	0,042
T	8,851	1	8,851	0,483	0,5181	0,088	0,126
AF x Br	23,281	1	23,281	1,270	0,3109	0,965	0,856
AF x pH	3,706	1	3,706	0,202	0,6718	0,385	0,856
AF x Cl	34,516	1	34,516	1,883	0,2283	1,175	0,856
AF x T	0,856	1	0,856	0,047	0,8375	0,185	0,856
Br x pH	2,806	1	2,806	0,153	0,7117	0,335	0,856
Br x Cl	61,231	1	61,231	3,341	0,1271	1,565	0,856
Br x T	6,126	1	6,126	0,334	0,5883	0,495	0,856
pH x Cl	1,501	1	1,501	0,082	0,7863	0,245	0,856
pH x T	29,976	1	29,976	1,635	0,2571	1,095	0,856
Cl x T	5,406	1	5,406	0,295	0,6104	0,465	0,856
Model Check							
Main	189,633	5	37,927				
Int	169,401	10	16,940	0,924	0,5738		
Int + Squ	0,000	0	0,000	0,000	0,0000		
Squ	0,000	0	0,000	0,000	0,0000		
Error	91,644	5	18,329				
Lack of Fit							
Lack of Fit	89,656	1	89,656	180,394	0,0002		
Pure Error	1,988	4	0,497				
Total Error	91,644	5	18,329				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

5.3.1.2 ANÁLISE DAS SUPERFÍCIES DE RESPOSTA PARA A FORMAÇÃO DOS THM TOTAIS

A actual legislação da União Europeia e Nacional, sobre a qualidade das águas de consumo, regula não cada um dos THM de *per si* mas sim a soma dos quatro. Consequentemente, o efeito dos factores AF, Br, pH, Cl e T na produção total de THM foi analisado neste estudo. A Tabela 5.7 apresenta os parâmetros ANOVA, calculados de acordo com os resultados da análise dos THM e que são função dos cinco factores do planeamento factorial fraccionado. A Figura 5.1 mostra a superfície de resposta relativa à produção total de THM em função dos cinco factores. Mais uma vez considerando apenas as variáveis que possuem coeficientes de regressão beta maiores do que o correspondente desvio padrão, o seguinte modelo foi obtido:

THM Totais (μgL^{-1}) =12,8+1,2[AF]+4,7Br+0,2Cl+2,2[AF]xT+1,5BrxCl

Esta expressão mostra a importância da quantidade de AF, Cl e Br na formação dos quatro THM. Quanto maior a quantidade de AF, de Cl e de Br maior é a produção de THM totais. Da mesma forma a temperatura também afecta o modelo obtido, sendo que quanto maior, maior a produção de THM totais.

Tabela 5.7 ANOVA para a análise dos efeitos da produção total de THM obtida usando o planeamento factorial fraccionado.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	B	SE_β
Model	712,790	15	47,519	1,046	0,5255		
Error	227,180	5	45,436				
Adjusted total	939,970	20	46,998				
Factor							
Intercept	3461	1	3461	76,177	0,0003	12,838	1,471
FA	107,123	1	107,123	2,358	0,1853	1,150	0,749
Br	70,560	1	70,560	1,553	0,2679	4,667	3,745
pH	23,040	1	23,040	0,507	0,5082	1,200	1,685
Cloro	231,040	1	231,040	5,085	0,0738	0,152	0,067
T	7,023	1	7,023	0,155	0,7104	-0,078	0,198
AF x Br	27,562	1	27,562	0,607	0,4713	1,050	1,348
AF x pH	8,123	1	8,123	0,179	0,6900	0,570	1,348
AF x Cl	117,723	1	117,723	2,591	0,1684	2,170	1,348
AF x T	6,250	1	6,250	0,138	0,7259	0,500	1,348
Br x pH	10,240	1	10,240	0,225	0,6550	0,640	1,348
Br x Cl	56,250	1	56,250	1,238	0,3165	1,500	1,348
Br x T	11,222	1	11,222	0,247	0,6403	0,670	1,348
pH x Cl	8,410	1	8,410	0,185	0,6849	0,580	1,348
pH x T	18,923	1	18,923	0,416	0,5471	0,870	1,348
Cl x T	9,303	1	9,303	0,205	0,6699	0,610	1,348
Model Check							
Main	438,785	5	87,757				
Int	274,005	10	27,401	0,603	0,7682		
Int + Squ	0,000	0	0,000	0,000	0,0000		
Squ	0,000	0	0,000	0,000	0,0000		
Error	220,908	5	45,436				
Lack of Fit							
Lack of Fit	220,908	1	220,908	140,885	0,0003		
Pure Error	6,272	4	1,568				
Total Error	227,180	5	45,436				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

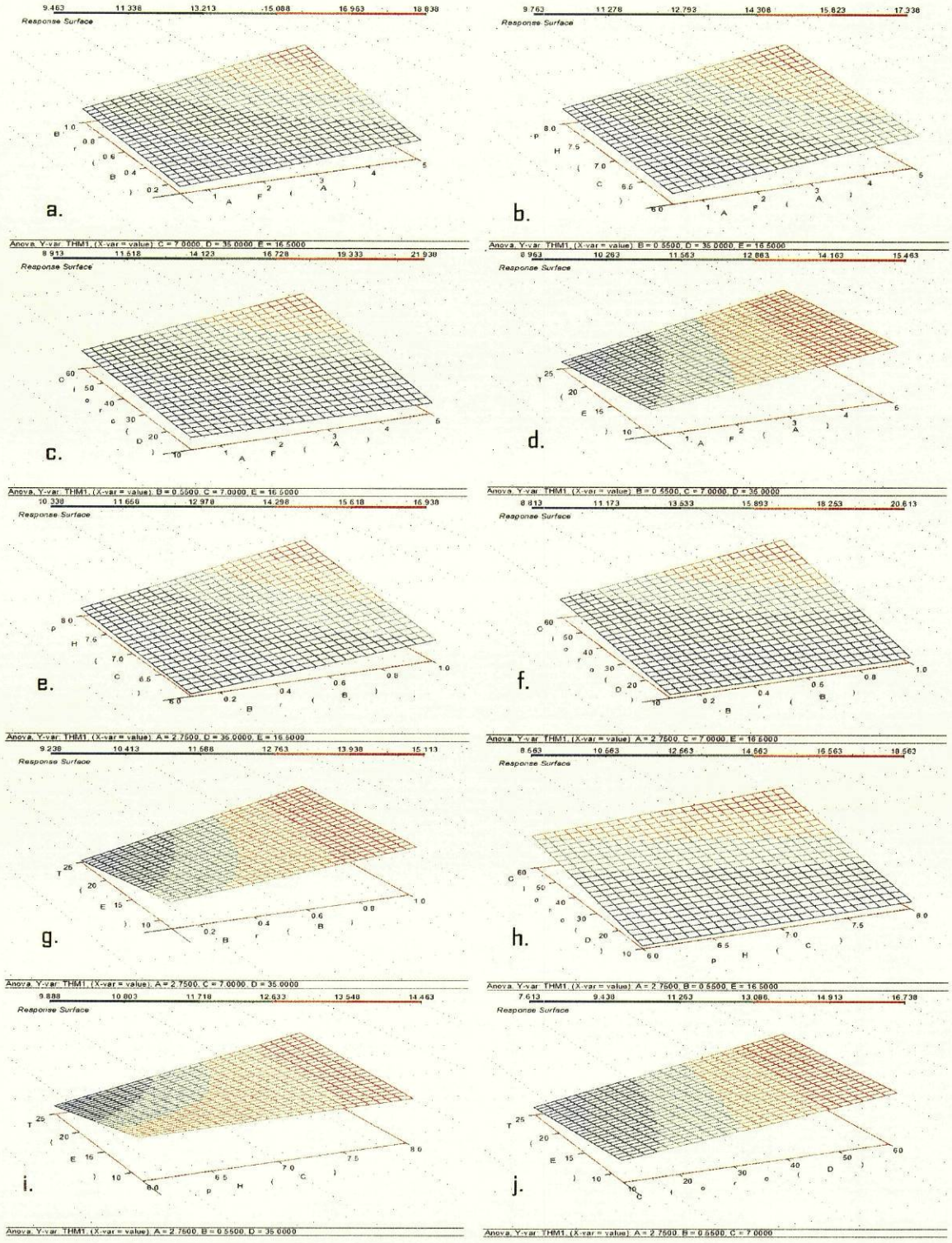


Figura 5.1 Superfícies de resposta para a produção total de THM baseado no planeamento experimental factorial fraccionado. AFxBr; AFxpH; AFxCl; AFxT; BrxpH; BrxCl; BrxT; pHxCl; pHxT; ClxT (a,j).

5.3.2 PLANEAMENTO DE *BOX BEHNKEN*

5.3.2.1 ANÁLISE DAS SUPERFÍCIES DE RESPOSTA PARA A FORMAÇÃO DOS QUATRO THM

Com o objectivo de se obter uma informação mais rigorosa acerca da produção de THM na ETA do Caldeirão, um planeamento do tipo *Box Behnken* foi efectuado para os factores AF, Cl e T (Tabela 5.8). A gama de valores para estes factores é semelhante à usada no planeamento prévio (factorial fraccionado) porque estes são os valores usualmente encontrados para os sistemas reais. A concentração do ião brometo foi mantida constante e com um valor relativamente pequeno (0,10 mgL^{-1}) porque a água da barragem em causa está localizada numa zona montanhosa do interior de Portugal continental onde não existem fontes geológicas que justifiquem o aparecimento de concentrações significativas de brometos.

Tabela 5.8 Planeamento do tipo *Box Behnken*, factores e correspondentes níveis sob investigação.

Factor *	**Valores**		
Planeamento *Box Behnken* (12 mais 3 experiências centrais)			
Concentração AF (mgL^{-1})	0,50	2,75	5,00
Cloro (μL)	5	17,5	30
Temperatura (ºC)	8,0	16,5	25,0

* Uma concentração constante de 10 mgL^{-1} de cloretos está presente em todas as amostras.
** Este factor corresponde ao volume de solução de hipoclorito de sódio (20 gL^{-1}) adicionado (corresponde a uma concentração de 0,4; 1,4; e 2,4 mgL^{-1}) originando uma concentração final de cloro livre (após desinfecção) entre 0,02 e 0,91 mgL^{-1}.

O pH foi mantido constante e para valores próximos da neutralidade (pH 7,0) porque este é o valor operacional normalmente usado na ETA. Da Tabela 5.9 à Tabela 5.12 apresentam-se os resultados ANOVA relativos à produção dos THM individuais. Estas tabelas também incluem os coeficientes de regressão beta e os correspondentes desvios padrão resultantes do ajuste da produção dos THM ao modelo linear. Tendo em consideração apenas as variáveis que apresentam um coeficiente de regressão

beta maior do que o correspondente desvio padrão, obtemos os seguintes modelos para a produção dos quatro THM:

$CHCl_3$ (μgL^{-1}) = 3,5+0,8[AF]+0,02Cl+0,07T–0,3T^2

$CHBrCl_2$ (μgL^{-1}) = 4,5+0,7[AF]+0,04Cl–0,8Cl^2+0,4T^2

$CHBr_2Cl$ (μgL^{-1}) = 4,0+0,4[AF]+0,05Cl+0,1T–0,7AF^2–1,0Cl^2

$CHBr_3$ (μgL^{-1}) = 4,0–0,2[AF]+0,03Cl+0,09T–0,6[AF]xT-0,5$[AF]^2$–0,8Cl^2

Os factores AF e Cl estão presentes nas quatro equações mas os coeficientes correspondentes mostram diferentes tendências. Assim, o coeficiente associado ao parâmetro AF diminui a sua magnitude de 0,8 no caso do $CHCl_3$ para -0,2 no caso do $CHBr_3$. O coeficiente associado ao parâmetro Cl permanece aproximadamente constante. Este resultado mostra que a concentração de AF e a quantidade de Cl afectam a produção dos quatro THM. Contudo, o aumento da concentração de AF provoca um incremento geral da produção dos THM com excepção do bromofórmio que diminui. A análise destes modelos (Tabela 5.9 à Tabela 5.12), permite também mostrar, que apenas para a produção do bromofórmio o termo de interacção entre AF e T é significativo e, consequentemente, para os outros THM, os factores podem ser estudados e optimizados independentemente, um de cada vez. É também mostrado pela observação destes quatro modelos, que a sua complexidade (número de factores significativos e interacções) aumenta com o aumento dos átomos de brometo nos THM. Uma análise global da Tabela 5.9 à Tabela 5.12 mostra uma significativa falta de ajustamento do modelo. Contudo, estes resultados podem ser devidos à elevada precisão na medição da concentração dos THM (Deming e Morgan, 1997). Mesmo não existindo um ajustamento no modelo, a informação acerca dos efeitos na produção de THM mantém-se válida. Também, uma análise comparativa dos modelos obtidos para os quatro THM mostra um aumento da complexidade do modelo, isto é, mais factores significativos e mais interacções, à medida que os brometos aumentam nos THM. A

Figura 5.2 mostra a resposta de superfície, relativa à produção dos THM, em função dos três factores. Uma característica comum nas respostas de superfície é o deslocamento da produção máxima dos THM (do clorofórmio até bromofórmio) para concentrações mais baixas de AF. Este resultado mostra que a redução da concentração dos AF, relativamente à concentração de brometos, aumenta a concentração dos THM.

Tabela 5.9 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHCl_3$ obtida usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	B	SE_β
Model	31,135	9	3,459	3,063	0,1152		
Error	5,647	5	1,129				
Adjusted total	37,781	14	2,627				
Factor							
Intercept	36,715	1	36,715	32,510	0,0023	3,498	0,614
FA	23,134	1	23,134	20,485	0,0062	0,756	0,167
Cl	2,249	1	2,249	1,992	0,2173	0,021	0,015
T	2,926	1	2,926	2,591	0,1684	0,071	0,044
FA x Cl	0,187	1	0,187	0,165	0,7012	0,123	0,304
FA x T	0,701	1	0,701	0,621	0,4663	0,239	0,304
Cl x T	0,395	1	0,395	0,350	0,5798	0,180	0,304
FA x FA	0,068	1	0,068	0,061	0,8154	-0,078	0,316
Cl x Cl	0,421	1	0,421	0,372	0,5684	-0,193	0,316
T x T	1,202	1	1,202	1,064	0,3496	-0,326	0,316
Model Check							
Main	28,310	3	9,437				
Int	1,284	3	0,428	0,379	0,7730		
Int + Squ	1,541	3	0,514	0,455	0,7254		
Squ	1,541	3	0,514	0,455	0,7254		
Error	5,647	5	1,129				
Lack of Fit							
Lack of Fit	5,612	3	1,871	109,125	0,0091		
Pure Error	0,034	2	0,017				
Total Error	5,647	5	1,129				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.10 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBrCl_2$ obtida usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	B	SE_β
Model	42,785	9	4,754	3,294	0,1012		
Error	7,215	5	1,443				
Adjusted total	50,000	14	3,571				
Factor							
Intercept	59,668	1	59,668	41,350	0,0014	4,460	0,694
FA	21,716	1	21,716	15,049	0,0116	0,732	0,189
Cl	7,122	1	7,122	4,935	0,0770	0,038	0,017
T	1,352	1	1,352	0,937	0,3775	0,048	0,050
FA x Cl	0,681	1	0,681	0,472	0,5226	0,236	0,343
FA x T	1,223	1	1,223	0,848	0,3995	-0,316	0,343
Cl x T	0,236	1	0,236	0,164	0,7026	0,139	0,343
FA x FA	0,012	1	0,012	0,082	0,9312	0,032	0,357
Cl x Cl	8,036	1	8,036	5,569	0,0648	-0,843	0,357
T x T	1,734	1	1,734	1,202	0,3229	0,392	0,357
Model Check							
Main	30,190	3	10,063				
Int	2,140	3	0,713	0,494	0,7017		
Int + Squ	10,454	3	3,485	2,415	0,1823		
Squ	10,454	3	3,485	2,415	0,1823		
Error	7,215	5	1,443				
Lack of Fit							
Lack of Fit	7,197	3	2,399	268,804	0,0037		
Pure Error	0,018	2	0,009				
Total Error	7,215	5	1,443				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.11 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_2Cl$ obtida usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	B	SE_β
Model	39,198	9	4,355	5,013	0,0453		
Error	4,344	5	0,869				
Adjusted total	43,542	14	3,110				
Factor							
Intercept	47,897	1	47,897	55,125	0,0007	3,996	0,538
FA	5,811	1	5,811	6,688	0,0491	0,379	0,146
Cl	11,107	1	11,107	12,784	0,0160	0,047	0,013
T	5,591	1	5,591	6,435	0,0521	0,098	0,039
FA x Cl	0,404	1	0,404	0,466	0,5254	0,182	0,266
FA x T	0,229	1	0,229	0,264	0,6296	-0,137	0,266
Cl x T	0,784	1	0,784	0,902	0,3857	0,253	0,266
FA x FA	4,929	1	4,929	5,673	0,0630	-0,660	0,277
Cl x Cl	11,298	1	11,298	13,003	0,0154	-1,000	0,277
T x T	0,007	1	0,007	0,008	0,9339	-0,024	0,277
Model Check							
Main	22,509	3	7,503				
Int	1,418	3	0,473	0,544	0,6732		
Int + Squ	15,271	3	5,090	5,859	0,0431		
Squ	15,271	3	5,090	5,859	0,0431		
Error	4,344	5	0,869				
Lack of Fit							
Lack of Fit	4,222	3	1,407	22,054	0,0419		
Pure Error	0,122	2	0,061				
Total Error	4,344	5	0,869				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.12 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_3$ obtida usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	B	SE_β
Model	23,976	9	2,664	3,255	0,1034		
Error	4,092	5	0,818				
Adjusted total	28,068	14	2,005				
Factor							
Intercept	49,696	1	49,696	60,721	0,0006	4,070	0,522
FA	2,406	1	2,406	2,940	0,1471	-0,244	0,142
Cl	2,975	1	2,975	3,634	0,1149	0,024	0,013
T	4,595	1	4,595	5,615	0,0640	0,089	0,038
FA x Cl	0,006	1	0,006	0,007	0,9370	0,021	0,258
FA x T	4,608	1	4,608	5,631	0,0637	-0,613	0,258
Cl x T	0,176	1	0,176	0,215	0,6625	0,120	0,258
FA x FA	2,385	1	2,385	2,914	0,1485	-0,459	0,269
Cl x Cl	7,159	1	7,159	8,747	0,0316	-0,796	0,269
T x T	0,038	1	0,038	0,046	0,8380	-0,058	0,269
Model Check							
Main	9,976	3	3,225				
Int	4,790	3	1,597	1,951	0,2398		
Int + Squ	9,210	3	3,070	3,751	0,0944		
Squ	9,210	3	3,070	3,751	0,0944		
Error	4,092	5	0,818				
Lack of Fit							
Lack of Fit	4,037	3	1,346	48,922	0,0201		
Pure Error	0,055	2	0,028				
Total Error	4,092	5	0,818				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

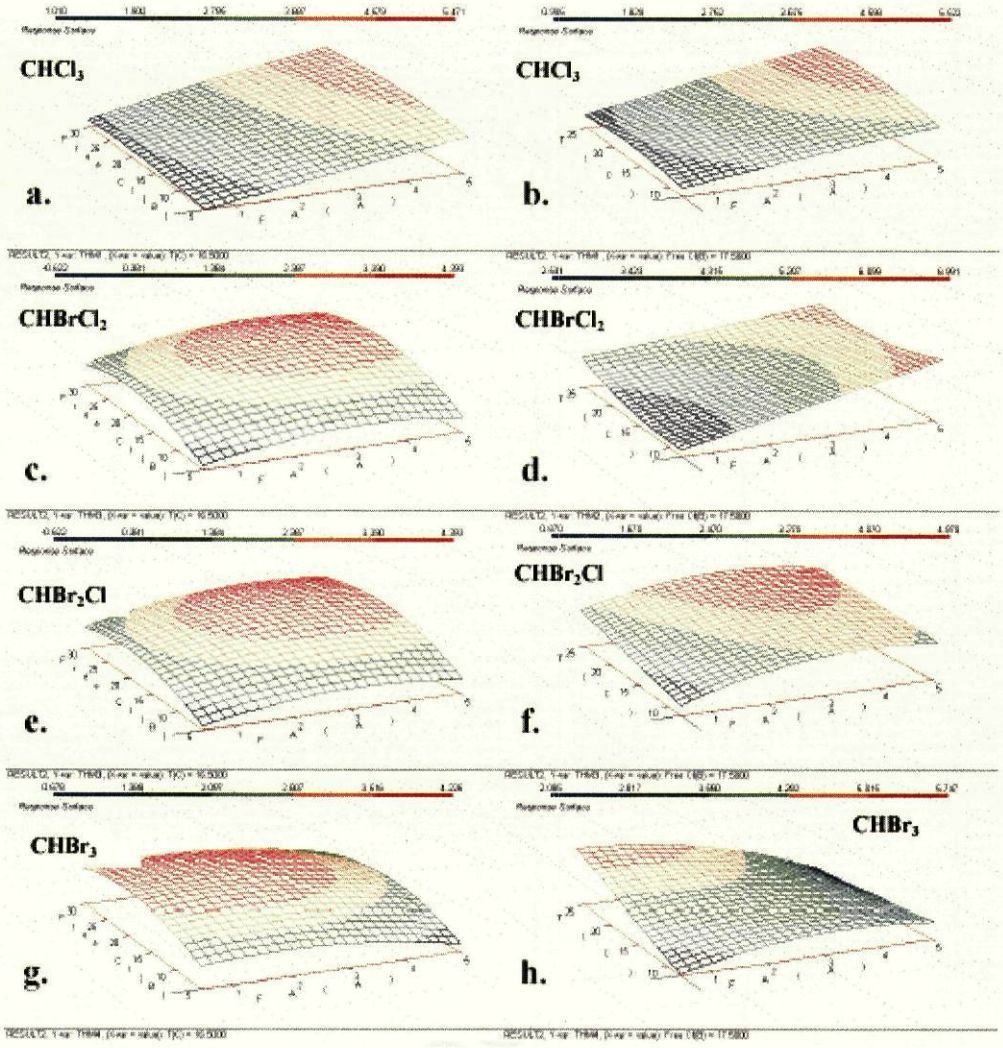


Figura 5.2 Superfícies de resposta para a produção dos quatro THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken*. Cl versus AF (a, c, e, g); T versus AF (b, d, f, h).

5.3.2.2 ANÁLISE DAS SUPERFÍCIES DE RESPOSTA PARA A FORMAÇÃO DOS THM TOTAIS

Apesar da informação anterior ser importante para a compreensão dos factores que afectam individualmente cada um dos THM, a regulação actual da União Europeia considera a soma dos quatro THM e, consequentemente, o efeito dos factores AF, Cl e T na produção total de THM foi analisada. A Tabela 5.13 apresenta a ANOVA dos efeitos da produção total dos THM e a Figura 5.3 mostra a superfície de resposta da

produção total de THM em função dos três factores. Tomando em consideração apenas as variáveis que possuem coeficientes de regressão beta maiores do que o correspondente desvio padrão foi obtido o seguinte modelo para a concentração total de THM:

$$\text{THM Totais } (\mu gL^{-1}) = 16{,}0+1{,}6[AF]+0{,}1Cl+0{,}3T-0{,}8[AF]xT-1{,}2[AF]^2-2{,}8Cl^2$$

A análise da Tabela 5.13 e da Figura 5.3 mostra que a quantidade de AF é o factor mais importante e que quanto maior a concentração maior é a produção de THM totais. Uma dependência de ordem dois da produção de THM totais em relação ao cloro livre é observado, com o valor de Cl máximo para a resposta de superfície por volta de 20 μL. Contudo, mas com menos significado, a temperatura também afecta a produção de THM totais originando produções mais elevadas à medida que aquela aumenta.

Tabela 5.13 ANOVA para a análise dos efeitos da produção total de THM obtida usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	B	SE_β
Model	366,934	9	40,770	4,817	0,0491		
Error	42,317	5	8,463				
Adjusted total	409,251	14	29,232				
Factor							
Intercept	770,298	1	770,232	91,015	0,0002	16,024	1,680
FA	106,698	1	106,698	12,607	0,0164	1,623	0,457
Cl	85,117	1	85,117	10,057	0,0248	0,130	0,041
T	54,487	1	54,487	6,438	0,0521	0,307	0,121
FA x Cl	3,875	1	3,875	0,458	0,5287	0,562	0,831
FA x T	8,373	1	8,373	0,989	0,3656	-0,827	0,831
Cl x T	5,854	1	5,854	0,692	0,4435	0,691	0,831
FA x FA	15,344	1	15,344	1,813	0,2360	-1,165	0,865
Cl x Cl	90,634	1	90,634	10,709	0,0221	-2,831	0,865
T x T	0,112	1	0,112	0,013	0,9130	0,099	0,865
Model Check							
Main	246,302	3	82,101				
Int	18,102	3	6,034	0,713	0,5850		
Int + Squ	102,530	3	34,177	4,038	0,0835		
Squ	102,530	3	34,177	4,038	0,0835		
Error	42,317	5	8,463				
Lack of Fit							
Lack of Fit	42,134	3	14,045	154,008	0,0065		
Pure Error	0,182	2	0,091				
Total Error	42,317	5	8,463				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

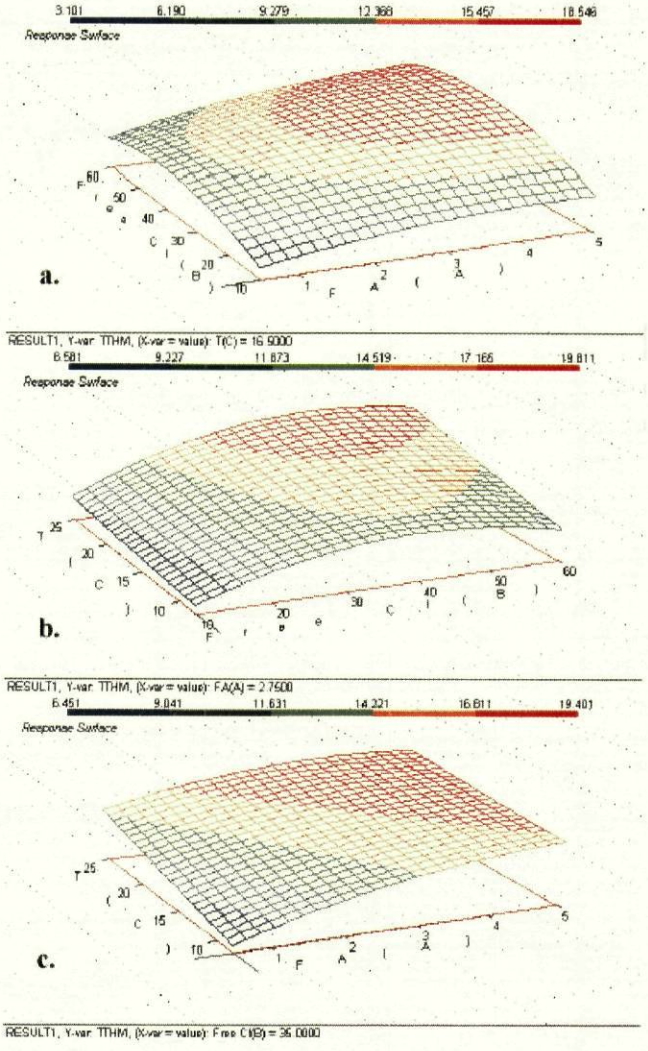


Figura 5.3 Superfícies de resposta para a produção total dos THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken*. Cl versus AF (a); T versus Cl (b); T versus AF (c).

5.4 SIMULAÇÃO DA DESINFECÇÃO NA PRESENÇA DE FRACÇÕES DE MOD

O fraccionamento da MOD presente na água da albufeira do Caldeirão em três fracções com características físicas e químicas distintas, nomeadamente a fracção colóide, hidrofóbica e transfílica, tal como referido no procedimento experimental, permite aprofundar os estudos sobre os processos de desinfecção que ocorrem na ETA e complementar os resultados anteriormente obtidos. Deste modo, é possível o

desenvolvimento de novos estudos sobre o papel que cada uma destas fracções apresenta no desenvolvimento de subprodutos da desinfecção em águas de consumo público, particularmente no que se refere à contribuição de cada uma delas na geração de THM.

5.4.1 COMPARAÇÃO DOS THM PRODUZIDOS PELAS FRACÇÕES DE MOD

Uma vez que os ensaios realizados com as amostras das três fracções de MOD foram efectuados nas mesmas condições experimentais e com as mesmas concentrações de reagentes, é possível efectuar um estudo comparativo entre a fracção colóide, hidrofóbica e transfílica. Assim, e tendo em consideração o rigoroso controlo das condições experimentais, as diferenças na reactividade com o cloro podem ser atribuídas às diferenças na estrutura química das fracções de MOD.

Na Tabela 5.14 e Tabela 5.15 estão apresentadas as concentrações dos quatro THM, geradas por cada uma das fracções de MOD e a concentração dos THM totais, respectivamente. Na Figura 5.4 e Figura 5.5 estão representadas as contribuições percentuais de cada uma das fracções de MOD para a produção dos quatro THM e dos THM totais, respectivamente. Como se pode observar, a fracção coloidal é aquela que menos contribui para a produção de THM. A fracção hidrofóbica induz a geração de maiores quantidades de bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio e a fracção transfílica de clorofórmio.

Os resultados evidenciam pois que a fracção hidrofóbica e transfílica são as componentes das fracções de MOD isoladas que mais contribuem para o aparecimento dos THM na água clorada, sendo responsáveis nas condições operacionais de ensaio por cerca de 75% dos THM totais produzidos.

Tabela 5.14 Concentração (μgL^{-1}) de clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano, bromofórmio, e THM total gerado por cada uma das fracções de MOD (colóide, hidrofóbica, transfílica) nas experiências realizadas segundo o planeamento de *Box Behnken*.

Experiência	Temperatura (°C)	Cloro (μL)	Fracção de MOD (mgL^{-1})	Clorofórmio (μgL^{-1})		
				Colóide	Hidrofóbica	Transfílica
1	10	5	2,75	5,21	2,27	11,70
2	25	5	2,75	4,39	2,41	6,86
3	10	30	2,75	5,20	2,71	21,35
4	25	30	2,75	5,98	2,73	3,95
5	10	17,5	0,5	3,36	1,61	8,57
6	25	17,5	0,5	4,76	1,81	6,33
7	10	17,5	5	5,49	3,78	4,37
8	25	17,5	5	5,10	4,66	6,84
9	17,5	5	0,5	4,90	1,73	6,20
10	17,5	30	0,5	4,40	1,85	9,17
11	17,5	5	5	5,17	3,91	6,25
12	17,5	30	5	5,69	3,89	9,01
13	17,5	17,5	2,75	4,13	3,05	7,76
14	17,5	17,5	2,75	5,53	2,74	5,58
15	17,5	17,5	2,75	4,68	2,66	4,86

Experiência	Temperatura (°C)	Cloro (μL)	Fracção de MOD (mgL^{-1})	Bromodiclorometano (μgL^{-1})		
				Colóide	Hidrofóbica	Transfílica
1	10	5	2,75	3,72	4,91	4,28
2	25	5	2,75	3,61	5,09	4,34
3	10	30	2,75	3,72	6,01	6,04
4	25	30	2,75	4,49	6,69	5,58
5	10	17,5	0,5	3,57	3,82	3,75
6	25	17,5	0,5	3,53	4,42	3,79
7	10	17,5	5	3,62	7,96	4,11
8	25	17,5	5	3,70	10,95	7,09
9	17,5	5	0,5	3,60	3,63	3,76
10	17,5	30	0,5	3,76	4,03	4,09
11	17,5	5	5	3,67	6,40	4,33
12	17,5	30	5	3,93	8,94	7,98
13	17,5	17,5	2,75	3,61	6,78	4,88
14	17,5	17,5	2,75	3,71	6,40	4,81
15	17,5	17,5	2,75	4,25	6,06	6,05

Experiência	Temperatura (°C)	Cloro (μL)	Fracção de MOD (mgL^{-1})	Dibromoclorometano (μgL^{-1})		
				Colóide	Hidrofóbica	Transfílica
1	10	5	2,75	4,30	5,17	5,68
2	25	5	2,75	4,52	5,77	5,78
3	10	30	2,75	4,96	7,53	7,12
4	25	30	2,75	4,91	8,93	7,90
5	10	17,5	0,5	4,03	4,86	4,40
6	25	17,5	0,5	4,18	5,26	4,38
7	10	17,5	5	4,68	10,62	5,51
8	25	17,5	5	4,65	14,95	9,92
9	17,5	5	0,5	4,56	4,27	4,55
10	17,5	30	0,5	4,10	5,15	4,93
11	17,5	5	5	4,04	7,12	5,56
12	17,5	30	5	5,41	11,72	13,16
13	17,5	17,5	2,75	4,41	9,50	6,88
14	17,5	17,5	2,75	4,68	8,76	6,60
15	17,5	17,5	2,75	4,55	8,79	10,38

Experiência	Temperatura (°C)	Cloro (μL)	Fracção de MOD (mgL^{-1})	Bromofórmio (μgL^{-1})		
				Colóide	Hidrofóbica	Transfílica
1	10	5	2,75	3,59	5,46	7,31
2	25	5	2,75	4,46	6,43	4,38
3	10	30	2,75	4,15	8,21	3,21
4	25	30	2,75	4,95	9,80	11,52
5	10	17,5	0,5	3,87	5,12	3,21
6	25	17,5	0,5	3,86	5,83	3,22
7	10	17,5	5	4,48	10,28	5,58
8	25	17,5	5	4,68	12,38	15,73
9	17,5	5	0,5	3,21	5,38	4,24
10	17,5	30	0,5	3,21	5,63	3,21
11	17,5	5	5	3,21	7,92	5,65
12	17,5	30	5	7,17	10,92	5,68
13	17,5	17,5	2,75	3,21	11,40	8,49
14	17,5	17,5	2,75	4,21	10,30	9,00
15	17,5	17,5	2,75	3,21	10,35	16,68

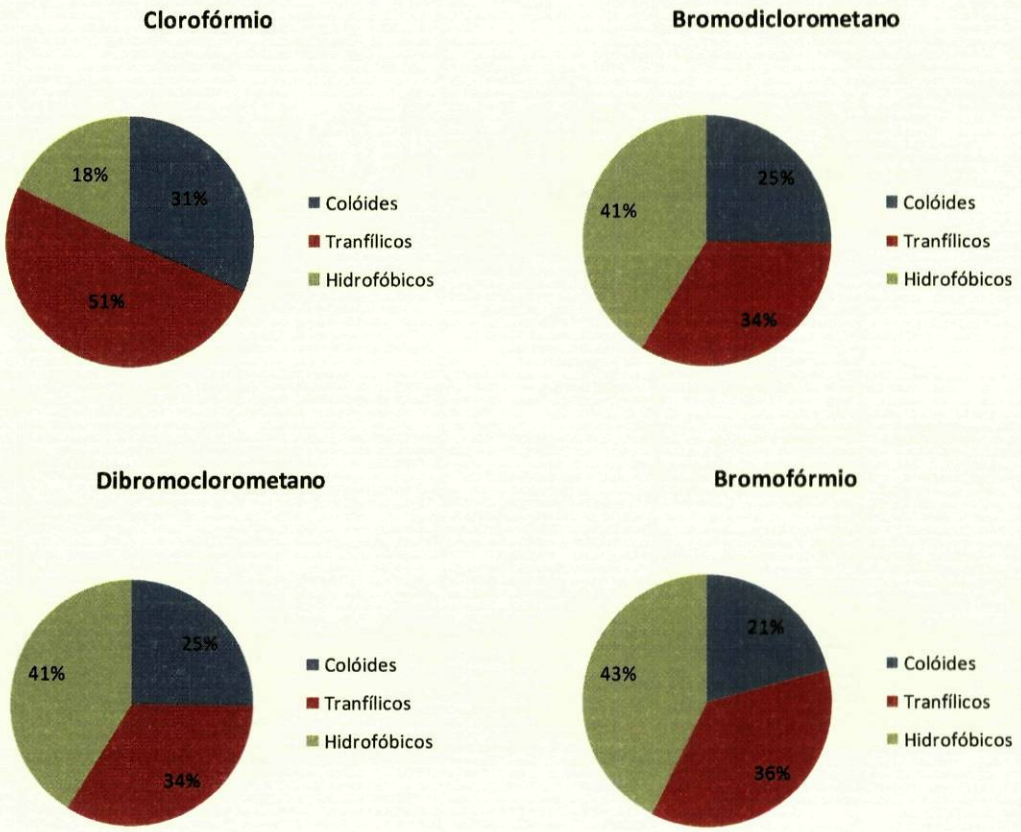


Figura 5.4 Contribuição da fracção colóide, transfílica e hidrofóbica para a produção de clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio.

Tabela 5.15 Concentração (μgL^{-1}) de THM totais gerados por cada uma das fracções de MOD (colóide, hidrofóbica, transfílica) nas experiências realizadas segundo o planeamento de *Box Behnken*.

Experiência	Temperatura (°C)	Cloro (μL)	Fracção de MOD (mgL^{-1})	THM totais (μgL^{-1})		
				Colóide	Hidrofóbica	Transfílica
1	10	5	2,75	16,83	17,81	28,97
2	25	5	2,75	16,99	19,70	21,36
3	10	30	2,75	18,02	24,46	37,73
4	25	30	2,75	20,33	28,15	28,96
5	10	17,5	0,5	14,83	15,42	19,94
6	25	17,5	0,5	16,33	17,33	17,70
7	10	17,5	5	18,27	32,64	19,57
8	25	17,5	5	18,13	42,94	39,59
9	17,5	5	0,5	16,28	15,02	18,74
10	17,5	30	0,5	15,47	16,66	21,39
11	17,5	5	5	16,09	25,36	21,78
12	17,5	30	5	22,20	35,47	35,84
13	17,5	17,5	2,75	15,36	30,74	28,02
14	17,5	17,5	2,75	18,13	28,21	25,99
15	17,5	17,5	2,75	16,69	27,86	37,97

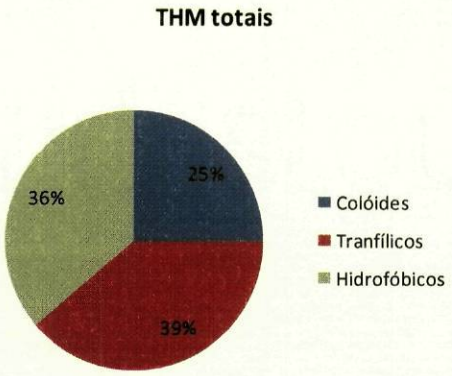


Figura 5.5 Contribuição da fracção colóide, transfílica e hidrofóbica para a produção de THM totais.

A presença de grupos fenólicos é usualmente utilizada como indicador da reactividade entre a MOD e o cloro na geração de THM, pois a presença deste grupo funcional, nomeadamente o grupo hidroxílico favorece a reacção com o cloro originando a formação dos subprodutos da desinfecção (Galapate *et al.*, 1999; Galapate *et al.*, 2001). Estes resultados estão de acordo com os dados obtidos por espectroscopia de fluorescência e UV-Vis e onde se constata que a fracção coloidal apresentava uma menor quantidade de compostos aromáticos e polifenólicos que a fracção transfílica e esta uma menor quantidade que a fracção hidrofóbica.

5.4.2 ANÁLISE DAS SUPERFÍCIES DE RESPOSTA PARA A FORMAÇÃO DOS QUATRO THM

Da mesma forma que foi efectuado um planeamento de *Box Behnken* com os AF, no sentido de se obter informação sobre a influência da temperatura, matéria orgânica e cloro na formação dos THM, foi também executado o mesmo estudo para as fracções de MOD com objectivos semelhantes. As condições experimentais do planeamento experimental foram iguais às efectuadas para os AF pelas razões já anteriormente aduzidas. Da Tabela 5.16 à Tabela 5.27 apresentam-se os resultados

ANOVA relativos à produção dos THM individuais. Estas tabelas incluem os coeficientes de regressão beta e os correspondentes desvios padrão, resultantes do ajuste da produção dos THM ao modelo linear. Tendo em consideração apenas as variáveis que apresentam um coeficiente de regressão beta maior do que o correspondente desvio padrão, obtemos os seguintes modelos para a produção dos quatro THM a partir da fracção coloidal:

$CHCl_3$ (μgL^{-1}) = 4,8+0,2[Col]+0,2TxCl-0,3Tx[Col]+0,2Cl^2

$CHBrCl_2$ (μgL^{-1}) = 3,9+0,01Cl+0,1TxCl-0,1$[Col]^2$

$CHBr_2Cl$ (μgL^{-1}) = 4,5+0,02Cl+0,1[Col]-0,04TxCl+0,3Clx[Col]+0,08Cl^2-0,09$[Col]^2$

$CHBr_3$ (μgL^{-1}) = 3,5+0,05Cl+0,3[Col]+0,6Clx[Col]

Para a fracção hidrofóbica, os modelos obtidos para a produção dos quatro THM são:

$CHCl_3$ (μgL^{-1}) = 2,8+0,02T+0,01Cl+0,5[Hidrof]+0,1Tx[Hidrof]-0,1Cl^2+0,1$[Hidrof]^2$

$CHBrCl_2$(μgL^{-1})=6,4+0,07T+0,06Cl+1,0[Hidrof]+0,3Tx[Hidrof]+0,3Clx[Hidrof]-0,5Cl^2

$CHBr_2Cl$ (μgL^{-1}) = 9,0+0,1T+0,1Cl+1,4[Hidrof]+0,5Clx[Hidrof]-1,2Cl^2

$CHBr_3$ (μgL^{-1}) = 10,7+0,1T+0,1Cl+1,1[Hidrof]+0,4Clx[Hidrof]-0,6T^2-1,2Cl^2-0,7$[Hidrof]^2$

E para a fracção transfílica, os modelos para a produção dos quatro THM são:

$CHCl_3$ (μgL^{-1}) = 6,1-0,4T+0,1Cl-1,8TxCl+1,7Cl^2

$CHBrCl_2$ (μgL^{-1}) = 5,2+0,04T+0,07Cl+0,5[Trans]+0,4Tx[Trans]+0,5Clx[Trans]

$CHBr_2Cl$ (μgL^{-1}) = 8,0+0,09T+0,1Cl+0,9[Trans]+0,6Tx[Trans]+1,0Clx[Trans]-0,7T^2

$CHBr_3$ (μgL^{-1}) = 11,4+0,3T+1,0[Trans]+1,6TxCl+1,5Tx[Trans]-2,0Cl^2-1,8$[Trans]^2$

Os factores fracção de MOD ([Col], [Hidrof], [Trans]) e Cl estão presentes na maioria das quatro equações resultantes da análise ANOVA para as três fracções. Sendo que os coeficientes apresentam a mesma tendência positiva. A fracção colóide é aquela que apresenta os coeficientes associados aos parâmetros Cl e fracção de MOD ([Col]) mais baixos enquanto a fracção hidrofóbica e transfílica apresentam os maiores valores associados a esses mesmos parâmetros. Estes dados estão de acordo com os resultados obtidos para a geração dos THM de cada uma das fracções de MOD, o que mostra que a concentração das fracções de MOD e a quantidade de Cl afectam a produção dos quatro THM. É também possível verificar que o aumento da concentração da fracção coloidal ([Col]), hidrofóbica ([Hidrof]) e transfílica ([Transf]) induzem o aumento dos THM, em especial dos bromados. A mesma tendência é também visível para o aumento da concentração do Cl. A análise destes modelos, permite ainda verificar que a interacção entre fracções de MOD ([Col], [Hidrof], [Trans]) e T ou Cl é significativa, principalmente para os THM bromados. A análise dos resultados ANOVA mostra um fraco ajuste aos modelos, principalmente da fracção coloidal e transfílica. No entanto, as informações disponibilizadas sobre os efeitos na produção de THM continuam perfeitamente válidas para os propósitos apresentados.

Da Figura 5.6 à Figura 5.8 estão representadas as respostas de superfície da interacção entre os factores Txfracção MOD e Clxfracção MOD obtidas para a fracção colóide, transfílica e hidrofóbica, respectivamente. É possível observar que, com excepção do clorofórmio, os restantes THM aumentam a sua produção com o aumento da concentração da fracção de MOD ([Col], [Hidrof], [Trans]) e da T. O facto do clorofórmio apresentar um comportamento distinto ao dos restantes THM pode ser motivado pela volatilização do clorofórmio que vai assim contribuir para uma diminuição da quantidade detectada na análise. Quando se analisa a interacção cloro com a fracção de MOD, na generalidade, podemos afirmar que quanto maior estes dois parâmetros maior produção dos quatro THM.

Tabela 5.16 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHCl_3$ obtida para a solução de colóides, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	4,807	9	0,534	1,733	0,2825		
Error	1,541	5	0,308				
Adjusted total	6,348	14	0,453				
Variable							
Intercept	68,565	1	68,565	222,491	0,0000	4,781	0,321
T	0,117	1	0,117	0,380	0,5645	1,614E-02	2,617E-02
Cl	0,312	1	0,312	1,011	0,3608	1,589E-02	1,570E-02
Coloi	2,020	1	2,020	6,554	0,0506	0,223	8,723E-02
T x Cl	0,641	1	0,641	2,081	0,2087	0,229	0,159
T x Coloi	0,802	1	0,802	2,603	0,1676	-0,256	0,159
Cl x Coloi	0,261	1	0,261	0,848	0,3994	0,146	0,159
T xT	2,546E-03	1	2,546E-03	8,261E-03	0,9311	1,500E-02	0,165
Cl xCl	0,560	1	0,560	1,817	0,2355	0,223	0,165
Coloi x Coloi	6,145E-02	1	6,145E-02	0,199	0,6739	-7,372E-02	0,165
Model Check							
Main	2,448	3	0,816				
Int	1,705	3	0,568	1,844	0,2565		
Int + Squ	0,654	3	0,218	0,707	0,5876		
Squ	0,654	3	0,218	0,707	0,5876		
Error	1,541	5	0,308				
Lack of Fit							
Lack of Fit	0,541	3	0,180	0,361	0,7921		
Pure Error	1,000	2	0,500				
Total Error	1,541	5	0,308				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.17 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBrCl_2$ obtida para a solução de coloides, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	0,691	9	7,682E-02	1,233	0,4299		
Error	0,312	5	6,231E-02				
Adjusted total	1,003	14	7,164E-02				
Variable							
Intercept	44,628	1	44,628	716,193	0,0000	3,857	0,144
T	6,213E-02	1	6,213E-02	0,997	0,3639	1,175E-02	1,177E-02
Cl	0,213	1	0,213	3,415	0,1239	1,305E-02	7,060E-03
Coloi	2,604E-02	1	2,604E-02	0,418	0,5465	2,536E-02	3,922E-02
T x Cl	0,194	1	0,194	3,121	0,1375	0,126	7,132E-02
T x Coloi	3,343E-03	1	3,343E-03	5,364E-02	0,8260	1,652E-02	7,132E-02
Cl x Coloi	2,453E-03	1	2,453E-03	3,936E-02	0,8505	1,415E-02	7,132E-02
T xT	1,132E-02	1	1,132E-02	0,182	0,6877	-3,164E-02	7,423E-02
Cl xCl	2,634E-02	1	2,634E-02	0,423	0,5443	4,826E-02	7,423E-02
Coloi x Coloi	0,145	1	0,145	2,325	0,1878	-0,113	7,423E-02
Model Check							
Main	0,301	3	0,100				
Int	0,200	3	6,676E-02	1,071	0,4400		
Int + Squ	0,190	3	6,337E-02	1,017	0,4588		
Squ	0,190	3	6,337E-02	1,017	0,4588		
Error	0,312	5	6,231E-02				
Lack of Fit							
Lack of Fit	7,593E-02	3	2,531E-02	0,215	0,8797		
Pure Error	0,236	2	0,118				
Total Error	0,312	5	6,231E-02				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.18 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_2Cl$ obtida para a solução de coloides, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	1.981	9	0,220	21,058	0,0018		
Error	5,226E-02	5	1,045E-02				
Adjusted total	2,033	14	0,145				
Variable							
Intercept	62,038	1	62,038	5,936E+03	0,0000	4,547	5,902E-02
T	1,081E-02	1	1,081E-02	1,034	0,3558	4,901E-03	4,819E-03
Cl	0,479	1	0,479	45,824	0,0011	1,957E-02	2,892E-03
Coloi	0,456	1	0,456	43,589	0,0012	0,106	1,606E-02
T x Cl	1,830E-02	1	1,830E-02	1,751	0,2430	-3,865E-02	2,921E-02
T x Coloi	8,281E-03	1	8,281E-03	0,792	0,4142	-2,600E-02	2,921E-02
Cl x Coloi	0,842	1	0,842	80,609	0,0003	0,262	2,921E-02
T xT	2,364E-04	1	2,364E-04	2,262E-02	0,8863	-4,572E-03	3,040E-02
Cl xCl	6,581E-02	1	6,581E-02	6,296	0,0539	7,629E-02	3,040E-02
Coloi x Coloi	8,779E-02	1	8,779E-02	8,400	0,0339	-8,811E-02	3,040E-02
Model Check							
Main	0,945	3	0,315				
Int	0,869	3	0,290	27,717	0,0015		
Int + Squ	0,166	3	5,548E-02	5,308	0,0518		
Squ	0,166	3	5,548E-02	5,308	0,0518		
Error	5,226E-02	5	1,045E-02				
Lack of Fit							
Lack of Fit	1,581E-02	3	5,269E-03	0,289	0,8337		
Pure Error	3,645E-02	2	1,823E-02				
Total Error	5,226E-02	5	1,045E-02				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.19 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_3$ obtida para a solução de coloides, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	12,305	9	1,367	2,437	0,1697		
Error	2,806	5	0,561				
Adjusted total	15,111	14	1,079				
Variable							
Intercept	37,653	1	37,653	67,099	0,0004	3,543	0,432
T	0,437	1	0,437	0,778	0,4181	3,115E-02	3,531E-02
Cl	3,129	1	3,129	5,576	0,0646	5,003E-02	2,119E-02
Coloi	3,635	1	3,635	6,477	0,0516	0,300	0,118
T x Cl	1,357E-03	1	1,357E-03	2,419E-03	0,9627	-1,053E-02	0,214
T x Coloi	1,196E-02	1	1,196E-02	2,132E-02	0,8896	3,125E-02	0,214
Cl x Coloi	3,921	1	3,921	6,987	0,0458	0,566	0,214
T xT	0,544	1	0,544	0,970	0,3700	0,219	0,223
Cl xCl	0,480	1	0,480	0,855	0,3976	0,206	0,223
Coloi x Coloi	0,323	1	0,323	0,576	0,4820	0,169	0,223
Model Check							
Main	7,200	3	2,400				
Int	3,934	3	1,311	2,337	0,1906		
Int + Squ	1,171	3	0,390	0,696	0,5934		
Squ	1,171	3	0,390	0,696	0,5934		
Error	2,806	5	0,561				
Lack of Fit							
Lack of Fit	2,138	3	0,713	2,134	0,3349		
Pure Error	0,668	2	0,334				
Total Error	2,806	5	0,561				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.20 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHCl_3$ obtida para a solução de transfílicos, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	182,123	9	20,236	1,459	0,3536		
Error	69,366	5	13,873				
Adjusted total	251,489	14	17,963				
Variable							
Intercept	110,458	1	110,458	7,962	0,0370	6,068	2,150
T	60,523	1	60,523	4,363	0,0911	-0,367	0,176
Cl	19,464	1	19,464	1,403	0,2895	0,125	0,105
Trans	1,786	1	1,786	0,129	0,7344	-0,210	0,585
T x Cl	39,394	1	39,394	2,840	0,1528	-1,793	1,064
T x Trans	5,571	1	5,571	0,402	0,5541	0,674	1,064
Cl x Trans	1,038E-02	1	1,038E-02	7,485E-04	0,9792	-2,912E-02	1,064
T xT	13,120	1	13,120	0,946	0,3755	1,077	1,108
Cl xCl	33,482	1	33,482	2,413	0,1810	1,721	1,108
Trans x Trans	7,481	1	7,481	0,539	0,4957	-0,813	1,108
Model Check							
Main	81,773	3	27,258				
Int	44,975	3	14,992	1,081	0,4369		
Int + Squ	55,374	3	18,458	1,330	0,3630		
Squ	55,374	3	18,458	1,330	0,3630		
Error	69,366	5	13,873				
Lack of Fit							
Lack of Fit	64,813	3	21,604	9,489	0,0968		
Pure Error	4,553	2	2,277				
Total Error	69,366	5	13,873				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.21 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBrCl_2$ obtida para a solução de transfílicos, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	20,817	9	2,313	4,412	0,0584		
Error	2,621	5	0,524				
Adjusted total	23,438	14	1,674				
Variable							
Intercept	82,608	1	82,608	157,574	0,0001	5,247	0,418
T	0,852	1	0,852	1,624	0,2585	4,350E-02	3,413E-02
Cl	6,119	1	6,119	11,672	0,0189	6,997E-02	2,048E-02
Trans	8,246	1	8,246	15,729	0,0107	0,451	0,114
T x Cl	6,726E-02	1	6,726E-02	0,128	0,7348	-7,410E-02	0,207
T x Trans	2,173	1	2,173	4,144	0,0974	0,421	0,207
Cl x Trans	2,760	1	2,760	5,264	0,0703	0,475	0,207
T xT	0,268	1	0,268	0,511	0,5068	-0,154	0,215
Cl xCl	2,693E-02	1	2,693E-02	5,136E-02	0,8297	4,880E-02	0,215
Trans x Trans	0,316	1	0,316	0,603	0,4726	-0,167	0,215
Model Check							
Main	15,216	3	5,072				
Int	5,000	3	1,667	3,179	0,1226		
Int + Squ	0,601	3	0,200	0,382	0,7708		
Squ	0,601	3	0,200	0,382	0,7708		
Error	2,621	5	0,524				
Lack of Fit							
Lack of Fit	1,656	3	0,552	1,144	0,4978		
Pure Error	0,965	2	0,483				
Total Error	2,621	5	0,524				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.22 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_2Cl$ obtida para a solução de transfílicos, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	df	MS	F	p-value	B	SE_β
Model	76,304	9	8,478	3,089	0,1135		
Error	13,721	5	2,744				
Adjusted total	90,026	14	6,430				
Variable							
Intercept	189,819	1	189,819	69,169	0,0004	7,954	0,956
T	3,474	1	3,474	1,266	0,3117	8,786E-02	7,809E-02
Cl	16,637	1	16,637	6,062	0,0571	0,115	4,686E-02
Trans	31,556	1	31,556	11,499	0,0194	0,883	0,260
T x Cl	0,115	1	0,115	4,204E-02	0,8456	9,704E-02	0,473
T x Trans	4,920	1	4,920	1,793	0,2382	0,634	0,473
Cl x Trans	13,048	1	13,048	4,755	0,0811	1,032	0,473
T xT	4,994	1	4,994	1,820	0,2352	-0,665	0,493
Cl xCl	0,106	1	0,106	3,855E-02	0,8521	-9,673E-02	0,493
Trans x Trans	2,004	1	2,004	0,730	0,4318	-0,421	0,493
Model Check							
Main	51,667	3	17,222				
Int	18,084	3	6,028	2,197	0,2067		
Int + Squ	6,554	3	2,185	0,796	0,5466		
Squ	6,554	3	2,185	0,796	0,5466		
Error	13,721	5	2,744				
Lack of Fit							
Lack of Fit	4,831	3	1,610	0,362	0,7911		
Pure Error	8,890	2	4,445				
Total Error	13,721	5	2,744				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.23 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_3$ obtida para a solução de transfílicos, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	211,717	9	23,524	1,893	0,2497		
Error	62,142	5	12,428				
Adjusted total	273,859	14	19,561				
Variable							
Intercept	389,157	1	389,157	31,312	0,0025	11,389	2,035
T	30,115	1	30,115	2,423	0,1803	0,259	0,166
Cl	0,523	1	0,523	4,207E-02	0,8456	2,045E-02	9,971E-02
Trans	44,048	1	44,048	3,544	0,1185	1,043	0,554
T x Cl	31,587	1	31,587	2,542	0,1718	1,606	1,007
T x Trans	25,747	1	25,747	2,072	0,2096	1,450	1,007
Cl x Trans	0,284	1	0,284	2,285E-02	0,8858	0,152	1,007
T xT	6,005	1	6,005	0,483	0,5180	-0,729	1,048
Cl xCl	45,516	1	45,516	3,662	0,1138	-2,006	1,048
Trans x Trans	37,417	1	37,417	3,011	0,1432	-1,819	1,048
Model Check							
Main	74,686	3	24,895				
Int	57,619	3	19,206	1,545	0,3123		
Int + Squ	79,412	3	26,471	2,130	0,2150		
Squ	79,412	3	26,471	2,130	0,2150		
Error	62,142	5	12,428				
Lack of Fit							
Lack of Fit	20,010	3	6,670	0,317	0,8173		
Pure Error	42,132	2	21,066				
Total Error	62,142	5	12,428				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.24 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHCl_3$ obtida para a solução de hidrofóbicos, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	11,458	9	1,273	19,582	0,0022		
Error	0,325	5	6,502E-02				
Adjusted total	11,784	14	0,842				
Variable							
Intercept	23,822	1	23,822	366,402	0,0000	2,818	0,147
T	0,193	1	0,193	2,967	0,1456	2,070E-02	1,202E-02
Cl	9,031E-02	1	9,031E-02	1,389	0,2916	8,500E-03	7,212E-03
Hidrof	10,643	1	10,643	163,698	0,0001	0,513	4,007E-02
T x Cl	3,110E-03	1	3,110E-03	4,783E-02	0,8355	-1,593E-02	7,29E+01
T x Hidrof	0,116	1	0,116	1,778	0,2399	9,715E-02	7,285E-02
Cl x Hidrof	4,336E-03	1	4,336E-03	6,669E-02	0,8065	-1,88E-02	7,285E-02
T xT	2,655E-02	1	2,655E-02	0,408	0,5509	-4,845E-02	7,583E-02
Cl xCl	0,154	1	0,154	2,362	0,1849	-0,117	7,583E-02
Hidrof x Hidrof	0,198	1	0,198	3,052	0,1411	0,132	7,583E-02
Model Check							
Main	10,926	3	3,642				
Int	0,123	3	4,102E-02	0,631	0,6260		
Int + Squ	0,409	3	0,136	2,098	0,2192		
Squ	0,409	3	0,136	2,098	0,2192		
Error	0,325	5	6,502E-02				
Lack of Fit							
Lack of Fit	0,238	3	7,933E-02	1,822	0,3736		
Pure Error	8,708E-02	2	4,354E-02				
Total Error	0,325	5	6,502E-02				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.25 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de CHBrCl2 obtida para a solução de hidrofóbicos, usando o planeamento de Box Behnken.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	54,568	9	6,063	13,098	0,0056		
Error	2,314	5	0,463				
Adjusted total	56,882	14	4,063				
Variable							
Intercept	123,622	1	123,622	267,063	0,0000	6,419	0,393
T	2,468	1	2,468	5,331	0,0690	7,405E-02	3,207E-02
Cl	3,975	1	3,975	8,586	0,0326	5,639E-02	1,924E-02
Hidrof	42,099	1	42,099	90,947	0,0002	1,020	0,107
T x Cl	6,186E-02	1	6,186E-02	0,134	0,7297	7,106E-02	0,194
T x Hidrof	1,426	1	1,426	3,082	0,1395	0,341	0,194
Cl x Hidrof	1,154	1	1,154	2,493	0,1752	0,307	0,194
T xT	8,078E-02	1	8,078E-02	0,175	0,6935	8,452E-02	0,202
Cl xCl	2,927	1	2,927	6,323	0,0535	-0,509	0,202
Hidrof x Hidrof	0,183	1	0,183	0,395	0,5572	0,127	0,202
Model Check							
Main	48,541	3	16,180				
Int	2,642	3	0,881	1,903	0,2471		
Int + Squ	3,384	3	1,128	2,437	0,1801		
Squ	3,384	3	1,128	2,437	0,1801		
Error	2,314	5	0,463				
Lack of Fit							
Lack of Fit	2,057	3	0,686	5,316	0,1624		
Pure Error	0,258	2	0,129				
Total Error	2,314	5	0,463				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.26 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_2Cl$ obtida para a solução de hidrofóbicos, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	120,646	9	13,405	11,471	0,0076		
Error	5,843	5	1,169				
Adjusted total	126,489	14	9,035				
Variable							
Intercept	243,769	1	243,769	208,598	0,0000	9,014	0,624
T	5,669	1	5,669	4,851	0,0788	0,112	5,096E-02
Cl	15,107	1	15,107	12,928	0,0156	0,110	3,058E-02
Hidrof	77,293	1	77,293	66,141	0,0005	1,381	0,170
T x Cl	0,157	1	0,157	0,134	0,7293	0,113	0,309
T x Hidrof	3,850	1	3,850	3,294	0,1292	0,561	0,309
Cl x Hidrof	3,445	1	3,445	2,948	0,1466	0,530	0,309
T xT	8,770E-02	1	8,770E-02	7,504E-02	0,7951	-8,807E-02	0,321
Cl xCl	14,947	1	14,947	12,790	0,0159	-1,150	0,321
Hidrof x Hidrof	1,481E-02	1	1,481E-02	1,267E-02	0,9148	3,619E-02	0,321
Model Check							
Main	98,070	3	32,690				
Int	7,451	3	2,484	2,125	0,2156		
Int + Squ	15,124	3	5,041	4,314	0,0747		
Squ	15,124	3	5,041	4,314	0,0747		
Error	5,843	5	1,169				
Lack of Fit							
Lack of Fit	5,493	3	1,831	10,470	0,0884		
Pure Error	0,350	2	0,175				
Total Error	5,843	5	1,169				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.27 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_3$ obtida para a solução de hidrofóbicos, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	87,312	9	9,701	13,139	0,0056		
Error	3,692	5	0,738				
Adjusted total	91,004	14	6,500				
Variable							
Intercept	342,616	1	342,616	464,031	0,0000	10,687	0,496
T	3,602	1	3,602	4,879	0,0782	8,947E-02	4,051E-02
Cl	10,925	1	10,925	14,797	0,0120	9,349E-02	2,430E-02
Hidrof	47,709	1	47,709	64,616	0,0005	1,085	0,135
T x Cl	9,675E-02	1	9,675E-02	0,131	0,7322	8,887E-02	0,246
T x Hidrof	0,485	1	0,485	0,675	0,4545	0,199	0,246
Cl x Hidrof	1,890	1	1,890	2,559	0,1706	0,393	0,246
T xT	4,756	1	4,756	6,441	0,0520	-0,649	0,256
Cl xCl	15,926	1	15,926	21,569	0,0056	-1,187	0,256
Hidrof x Hidrof	4,862	1	4,862	6,585	0,0503	-0,656	0,256
Model Check							
Main	62,237	3	20,746				
Int	2,471	3	0,824	1,116	0,4254		
Int + Squ	22,604	3	7,535	10,205	0,0143		
Squ	22,604	3	7,535	10,205	0,0143		
Error	3,692	5	0,738				
Lack of Fit							
Lack of Fit	2,918	3	0,973	2,513	0,2974		
Pure Error	0,774	2	0,387				
Total Error	3,692	5	0,738				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

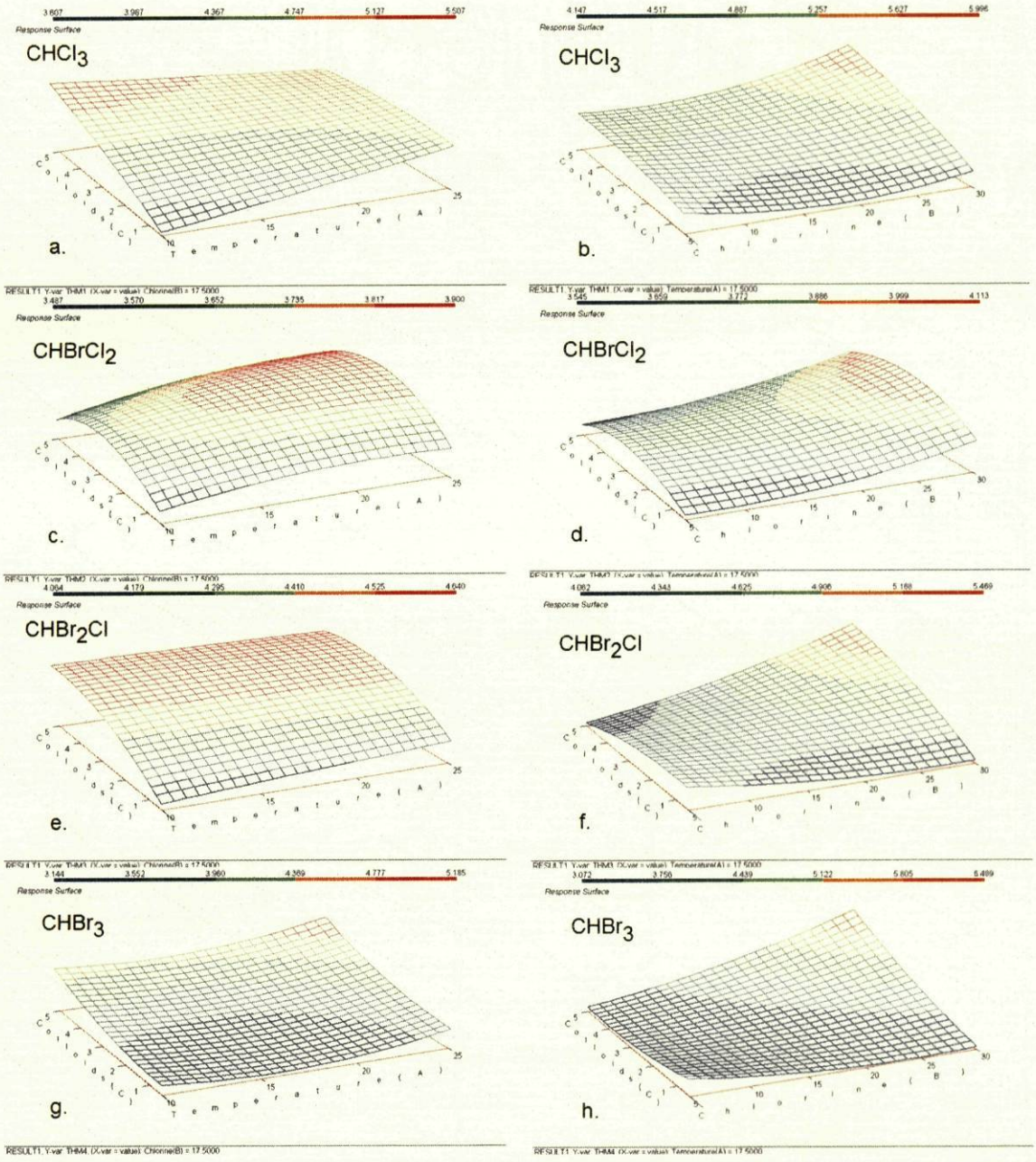


Figura 5.6 Superfícies de resposta para a produção dos quatro THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken*. Col versus T (a, c, e, g); Col versus Cl (b, d, f, h).

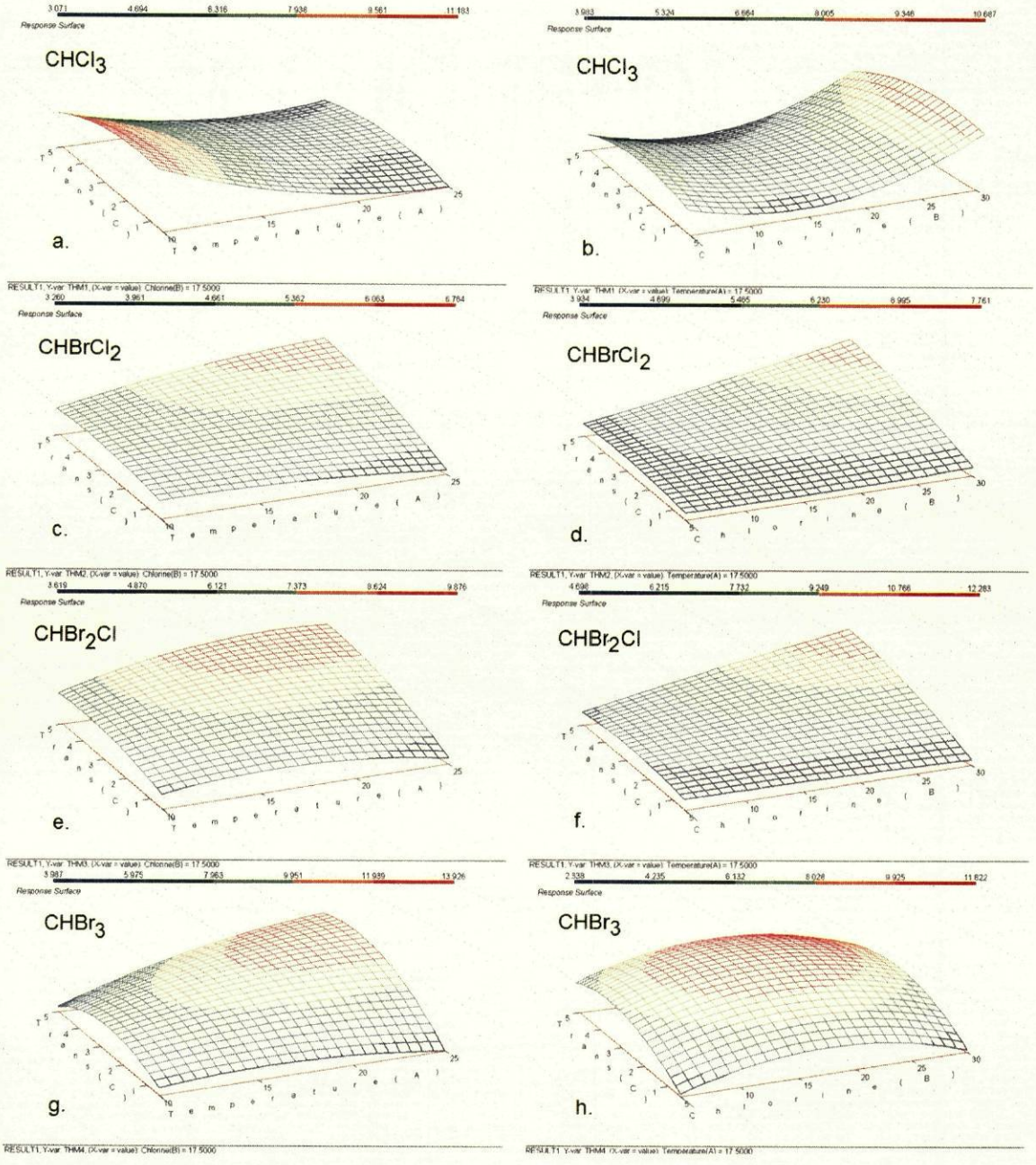


Figura 5.7 Superfícies de resposta para a produção dos quatro THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken*. Transf versus T (a, c, e, g); Trans versus Cl (b, d, f, h).

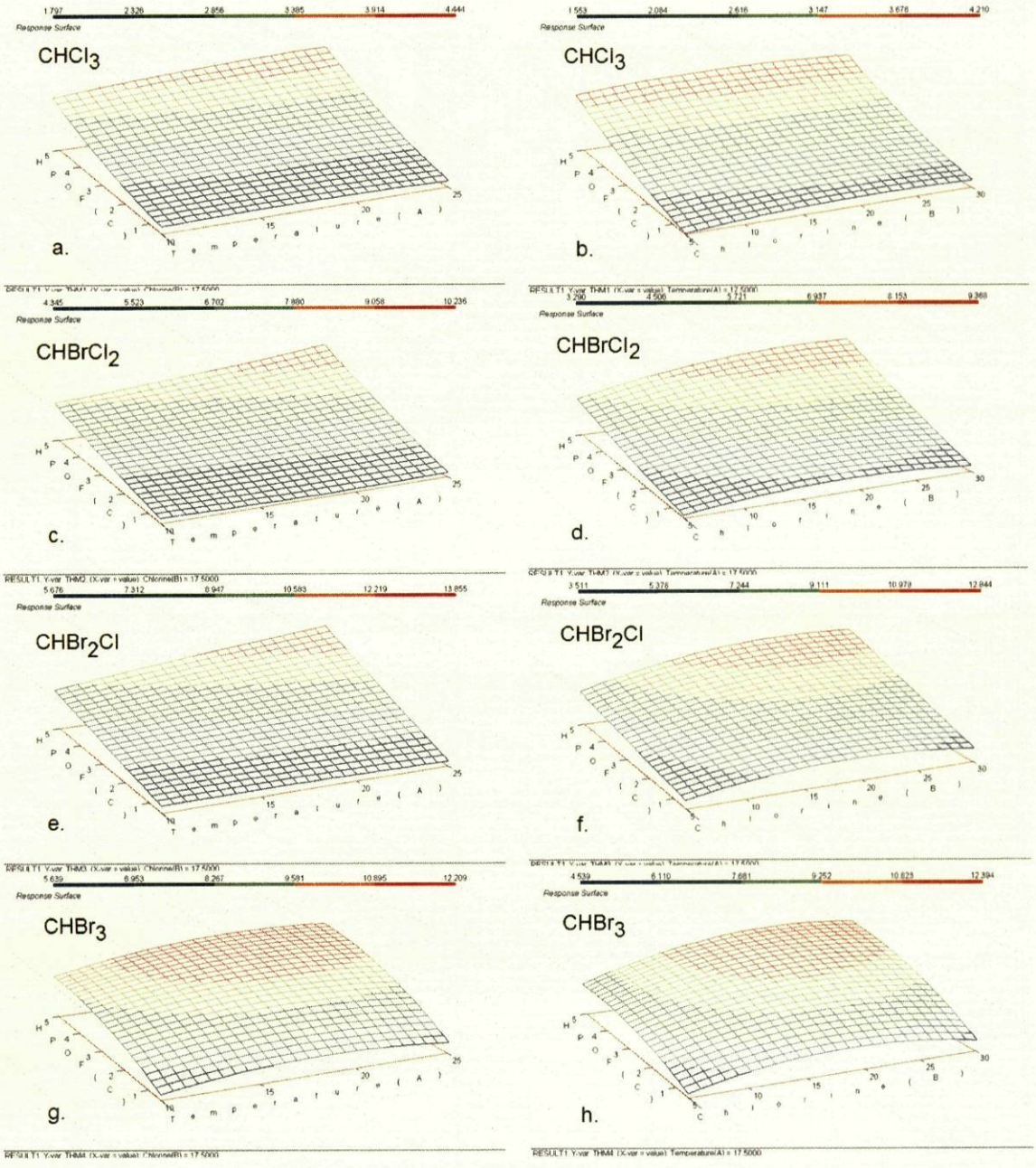


Figura 5.8 Superfícies de resposta para a produção dos quatro THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken*. Hidrof versus T (a, c, e, g); Hidrof versus Cl (b, d, f, h).

5.4.3 ANÁLISE DAS SUPERFÍCIES DE RESPOSTA PARA A FORMAÇÃO DOS THM TOTAIS

Como referido anteriormente a legislação sobre a qualidade da água para consumo humano, actualmente vigente, refere-se não aos THM de uma forma individualizada mas antes ao seu valor global. Deste modo, o procedimento anteriormente referido, foi também aplicado na análise da formação dos THM totais, tendo em consideração a participação de cada fracção de MOD. A Tabela 5.28, Tabela 5.29 e Tabela 5.30 apresentam os dados ANOVA dos efeitos da produção total dos THM da fracção colóide, transfílica e hidrofóbica, respectivamente. Tendo em consideração apenas as variáveis que possuem coeficientes de regressão beta maiores que o correspondente desvio padrão, foi obtido o seguinte modelo para a produção de THM totais a partir de cada uma das fracções de MOD:

THM Totais (μgL^{-1}) =16,7+0,06T+0,1Cl+0,7[Col]+0,3TxCl+1,0Clx[Col]+0,6Cl^2

THM Totais (μgL^{-1}) =30,7+0,3Cl+2,2[Trans]+3,2Tx[Trans]-3,2$[Trans]^2$

THM Totais (μgL^{-1})=28,9+0,3T+0,3Cl+4,0[Hidrof]+1,2Tx[Hidrof]+1,2Clx[Hidrof]-3,0Cl^2

A análise dos resultados mostra que a quantidade de cada uma das fracções de MOD é o factor mais importante, e que quanto maior a sua concentração maior é a produção de THM totais. A mesma tendência é verificada para o factor Cl, embora com um coeficiente menor do que o observado para cada uma das fracções de MOD consideradas neste estudo. O factor T também afecta a produção de THM totais originando produções maiores à medida que esta aumenta, especialmente para a fracção hidrofóbica.

A Figura 5.9, que revela as superfícies de resposta para as interacções T x fracções de MOD ([Col], [Hidrof], [Trans]) e Cl x fracções de MOD ([Col], [Hidrof], [Trans]), mostra de forma clara que a formação de THM totais é, na generalidade dos

casos, maior quanto maior é a concentração de cada uma das fracções de MOD, de Cl e da T.

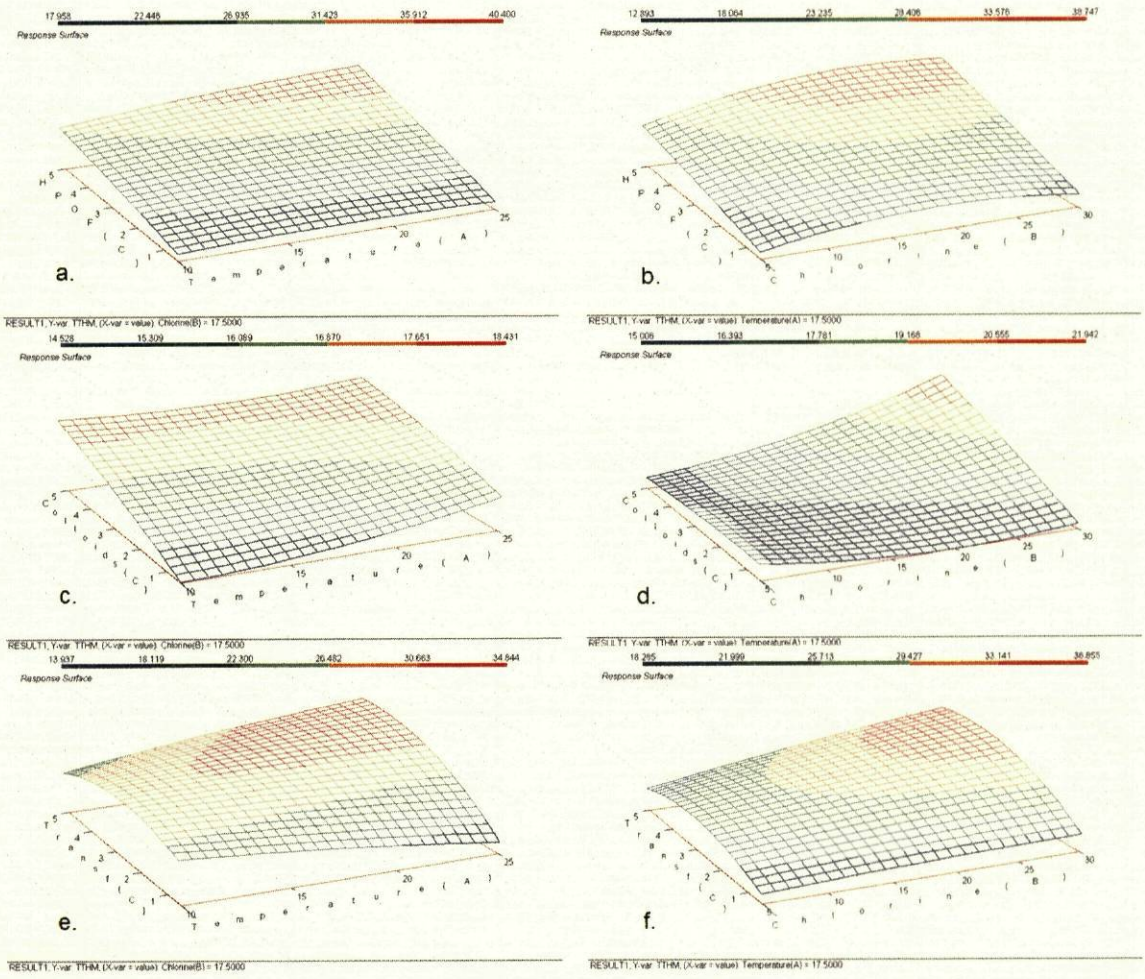


Figura 5.9 Superfícies de resposta para a produção total dos THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken* para a fracção hidrofóbica (a,b), colóide (c,d) e transfílica (e,f). T versus Fracção MOD (a,c,e); Cl versus Fracção MOD (b, d, f).

Tabela 5.28 ANOVA para a análise dos efeitos da produção dos THM totais, obtida para a solução de colóides, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	49,095	9	5,455	6,363	0,0277		
Error	4,287	5	0,857				
Adjusted total	53,381	14	3,813				
Variable							
Intercept	839,462	1	839,462	979,169	0,0000	16,728	0,535
T	1,840	1	1,840	2,146	0,2028	6,394E-02	4,365E-02
Cl	12,113	1	12,113	14,129	0,0132	9,844E-02	2,619E-02
Coloi	17,339	1	17,339	20,224	0,0064	0,654	0,145
T x Cl	1,144	1	1,144	1,335	0,3002	0,306	0,265
T x Coloi	0,672	1	0,672	0,783	0,4167	-0,234	0,265
Cl x Coloi	11,962	1	11,962	13,953	0,0135	0,988	0,265
T xT	0,444	1	0,444	0,518	0,5040	0,198	0,275
Cl xCl	3,459	1	3,459	4,034	0,1008	0,553	0,275
Coloi x Coloi	0,127	1	0,127	0,148	0,7164	-0,106	0,275
Model Check							
Main	31,292	3	10,431				
Int	13,778	3	4,593	5,357	0,0509		
Int + Squ	4,025	3	1,342	1,565	0,3081		
Squ	4,025	3	1,342	1,565	0,3081		
Error	4,287	5	0,857				
Lack of Fit							
Lack of Fit	0,445	3	0,148	7,72E-02	0,9666		
Pure Error	3,842	2	1,921				
Total Error	4,287	5	0,857				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.29 ANOVA para a análise dos efeitos da produção dos THM totais, obtida para a solução de transfílicos, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	601,561	9	66,840	1,452	0,3557		
Error	230,219	5	46,044				
Adjusted total	831,780	14	59,413				
Variable							
Intercept	2,82E+03	1	2,82E+03	61,245	0,0005	30,659	3,918
T	0,245	1	0,245	5,314E-03	0,9447	2,332E-02	0,320
Cl	136,596	1	136,596	2,967	0,1456	0,331	0,192
Trans	190,147	1	190,147	4,130	0,0978	2,167	1,066
T x Cl	0,332	1	0,332	7,203E-03	0,9357	-0,165	1,939
T x Trans	123,797	1	123,797	2,689	0,1620	3,179	1,939
Cl x Trans	32,541	1	32,541	0,707	0,4389	1,630	1,939
T xT	2,498	1	2,498	5,425E-02	0,8251	-0,470	2,018
Cl xCl	1,257	1	1,257	2,731E-02	0,8752	-0,333	2,018
Trans x Trans	117,286	1	117,286	2,547	0,1714	-3,221	2,018
Model Check							
Main	326,987	3	108,996				
Int	156,670	3	52,223	1,134	0,4195		
Int + Squ	117,903	3	39,301	0,854	0,5218		
Squ	117,903	3	39,301	0,854	0,5218		
Error	230,219	5	46,044				
Lack of Fit							
Lack of Fit	147,912	3	49,304	1,198	0,4850		
Pure Error	82,308	2	41,154				
Total Error	230,219	5	46,044				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

Tabela 5.30 ANOVA para a análise dos efeitos da produção dos THM totais, obtida para a solução de hidrofóbicos, usando o planeamento de *Box Behnken*.

Effect	SS	Df	MS	F	p-value	β	SE_β
Model	915,425	9	101,714	14,418	0,0045		
Error	35,273	5	7,055				
Adjusted total	950,698	14	67,907				
Variable							
Intercept	2,512E+03	1	2,512E+03	356,113	0,0000	28,938	1,533
T	39,553	1	39,533	5,607	0,0641	0,296	0,125
Cl	89,990	1	89,990	12,756	0,0160	0,268	7,512E-02
Hidrof	647,681	1	647,681	91,809	0,0002	3,999	0,417
T x Cl	0,809	1	0,809	0,115	0,7486	0,257	0,759
T x Hidrof	17,579	1	17,579	2,492	0,1753	1,198	0,759
Cl x Hidrof	17,970	1	19,790	2,547	0,1714	1,211	0,759
T xT	5,549	1	5,549	0,787	0,4158	-0,701	0,790
Cl xCl	99,190	1	99,190	14,060	0,0133	-2,962	0,790
Hidrof x Hidrof	1,464	1	1,464	0,208	0,6678	-0,360	0,790
Model Check							
Main	777,224	3	259,075				
Int	36,359	3	12,120	1,718	0,2782		
Int + Squ	101,842	3	33,947	4,812	0,0617		
Squ	101,842	3	33,947	4,812	0,0617		
Error	35,273	5	7,055				
Lack of Fit							
Lack of Fit	30,346	3	10,116	4,109	0,2019		
Pure Error	4,924	2	2,462				
Total Error	35,273	5	7,055				

SS – soma dos quadrados; df – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; F- razão de Fisher; p-value – probabilidade de F para condição da hipótese nula; β - coeficiente de regressão para análise de regressão linear múltipla; SE_β - erro padrão de β.

5.5 CONCLUSÕES

A análise factorial do processo de desinfecção revela-se particularmente útil para a compreensão detalhada dos fenómenos envolvidos. Na verdade, a informação obtida confirma a já existente na literatura acerca da desinfecção com cloro, e permitiu saber mais acerca dos modelos subjacentes à produção dos quatro THM. Esta informação sobre o efeito da concentração dos AF e das fracções de MOD é bastante importante. Quanto maior a concentração de AF mais elevada é a produção dos THM menos bromados e menor e a produção dos THM bromados. Este resultado é relevante na análise de avaliação de risco porque os quatro THM têm diferentes toxicidades.

Na verdade, sob um conjunto de condições controladas, o risco pode ser minimizado, ou seja, a concentração de espécies mais tóxicas pode ser diminuída. O factor temperatura é um factor ambiental, com um efeito interessante na produção

dos THM. Aparentemente, aumenta a velocidade da produção de THM. Contudo, também diminui a sua solubilidade, particularmente dos mais voláteis. No Verão, quando a temperatura da água é relativamente elevada (cerca de 20 °C), o simples arejamento da água após a cloragem, deverá reduzir a quantidade dos THM mais voláteis (entre outras espécies de compostos organoclorados, também voláteis). Independentemente da época do ano, esta operação deverá sempre reduzir a quantidade de THM na água distribuída.

A quantidade de cloro livre usada na desinfecção deve ser reduzida ao mínimo porque a produção de THM está positivamente correlacionada com o cloro. Contudo, um valor residual de cloro deve estar presente na água após cloragem, para evitar qualquer contaminação na rede de distribuição. Águas brutas com quantidades relativamente elevadas de brometos, como por exemplo águas subterrâneas perto de zonas costeiras, ou águas dessalinizadas, originarão quantidades apreciáveis de espécies bromadas de THM. Nestes casos, um pré processamento para a remoção selectiva dos iões brometo é recomendada.

Os resultados obtidos com cada uma das fracções de MOD, nomeadamente a fracção colóide, transfílica e hidrofóbica, mostram a relevância destas na produção de THM após a desinfecção da água, em especial a fracção transfílica e hidrofóbica. Os factores mais importantes no desenvolvimento destes subprodutos da desinfecção são os mesmos que foram encontrados para as simulações com AF. Isto é, o aumento da concentração da fracção de MOD e o aumento da concentração de cloro em solução induzem o aumento da concentração dos THM. Estes resultados demonstram igualmente a importância que as etapas prévias têm na diminuição da formação de THM, como seja o processo de coagulação-floculação, o qual é utilizado na remoção de moléculas de maior dimensão, em especial as mais hidrofóbicas.

Deve realçar-se que os modelos encontrados neste trabalho não representam uma situação real, dado que apenas uma fracção da MOD foi analisada. Também, a validação do modelo total deve ser feita através da realização experimental em

estações de tratamento sob condições reais de funcionamento e devidamente controladas.

5.6 BIBLIOGRAFIA

Astel, A., Biziuk, M., Przyjazny, A., Namiesnik , J. (2006) Chemometrics in monitoring spactial and temporal variations in drinking water quality, Water Res., 40, 1706-1716.

Attias, L., Contu, A., Loizzo, A., Massiglia, A., Valente, P., Zapponi, G. A. (1995) Trihalomethanes in drinking water and cancer: risk assessment and integrated evaluation of available data, in animals and humans, Sci. Tot. Environ. 171, 61-68.

Comunidade Europeia (1998) Jornal Oficial das Comunidades Europeias, Directiva 98/83/CE do Conselho de 3 de Novembro relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano.

Comunidade Europeia (2006) Proposta de Directiva do Parlamento Europeu e do Conselho relativa a normas de qualidade ambiental no domínio da política da água e que altera a Directiva 2000/60/CE.

Deming, S. N., Morgan, S. L. (1997) Experimental Design: a Chemometric Approach, Elsevier, Amsterdam (Holland).

Galapate, R. P., Baes, A. U., Ito, K., Iwase, K., Okada, M. (1999) Trihalomethane formation potential prediction using some chemical functional groups and bulk parameters, Water Res., 33, 2555-2560.

Galapate, R. P., Baes, A. U., Okada, M. (2001) Transformation of dissolved organic matter during ozonation: Effects in Trihalomethane formation potential, Water Res., 35, 2201-2206.

Garcia-Villanova, R., Garcia, C., Gomez, J., Garcia, M., Ardanuy, R. (1997) Formation, evolution and modeling of trihalomethanes in the drinking water of a town: I. at the municipal treatment utilities, Water Res., 31, 1299-1308.

Garcia-Villanova, R., Garcia, C., Gomez, J., Garcia, M., Ardanuy, R. (1997) Formation, evolution and modeling of trihalomethanes in the drinking water of a town: II. at the municipal treatment utilities Water Res., 31, 1405-1413.

Hua, G., Reckhow, D. A. (2007) Comparison of disinfection byproduct formation from chlorine and alternative disinfectants, Wat. Res., 41, 1667-1678.

Kim, H. C., Yu, M. J. (2005) Characterization of natural organic matter in conventional water treatment processes for selection of treatment processes focused on DBPs control, Water Res., 39, 4779-4789.

Korshin, G. V., Wu, W. W., Benjamin, M. M., Hemingway, O. (2002) Correlations between differential absorbance and the formation of individual DBPs, Water Res., 36, 3273-3282.

Krasner, S. W., Weinberg, H. S., Richardson, S. D., Pastor, S J., Chinn, R., Sclimenti, M. J., Onstad, G. D., Thruston, A. D. (2006) Occurrence of a new generation of disinfection byprodutcs, Environ. Sci. Technol., 40, 7175-7185.

Leehneer, J. A., Rostad, C. E., Barber, L. B., Schroeder, R. S., Anders, R., Davisson, M. L. (2001) Nature and chlorine reactivity of organic constituents from reclaimed water in groundwater Los Angeles Couny, California, Environ. Sci. Technol., 35, 3869-3876.

Leenheer, J. A. (2004) Comprehensive assessment of precursors, diagenesis, and reactivity to water treatment of dissolved and colloidal organic matter, Water Sci. Technol., 4, 1-9.

Legube, B., Croue, J. P., Doré, M. (1985) Chlorination of humic substances in aqueous solution: Yields of volatile and major non-volatile organic halides, Sci. Tot. Environ., 47, 217-222.

Nieuwenhuijsen, M. J., Toledano, M. B., Eaton, N. E., Fawell, J., Elliott, P. (2000) Chlorination disinfection byproducts in water and their association with adverse reproductive autcomes: a review, Occupat. Environ. Med., 57, 73-85.

Nikolaou, A. D., Golfinopoulos, S. K., Lekkas, T. D., Kostopoulou, M. N. (2004) DBP Levels in chlorinated drinking water: Effect of humic substances, Environ. Monitor. Assess., 93, 301-319.

Nissinen, T. K., Miettinen, I. T., Martikainen, P. J., Vartiainen, T. Disinfection by-products in finnish drinking waters (2002) Chemosphere, 48, 9-20.

Portugal (2001) Diário da Republica, I Série-A, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território, Decreto-Lei nº243/2001 de 5 de Setembro relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano.

Portugal (2007) Diário da Republica, I Série-nº164, Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, Decreto-Lei nº306/2007 de 27 de Agosto relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano, procedendo à revisão do Decreto-Lei nº 243/2001.

Radiq, S., Rodriguez, M. J. (2004) Disinfection by-products (DBPs) in drinking water and predictive models for their ocurrence: a review, Sci. Total Environ., 321, 21-46.

Richardson, S. D. (2003) Disinfection by-products and other emerging contaminants in drinking water, Trends Anal. Chem., 22, 666-684.

Richardson, S. D., Thruston, A. D., Caughran, T. V., Chen, P. H., Collete, T. W., Schenck, K. M., Lykins, B. W., Acha, C. R., Glezer, V. (2000) Identification of new drinking water disinfection by-products from ozone, chlorine dioxide, chloramine, and chlorine, Water air soil pollut., 123, 95-102.

Rostad, C. E., Martin, B. S., Barber, L. B., Leehneer, J. A., Daniel, S. R. (2000) Effect of a constructed wetland on disinfection byproducts: removal processes and production of precursors, Environ. Sci. Technol., 34, 2703-2710.

Simmons, J. E., Richardson, S. D., Speth, T. F., Miltner, R. J., Rice, G., Schenck, K. M., Hunter III, E. S., Teuschler, L. K. (2002) Environ. Health Perspect., 110, 1013-1024.

Sohn, J., Amy, G., Cho, J., Lee, Y., Yoon, Y. (2004) Disinfectant decay and disinfection by-products formation model development: chlorination and ozonation by-products, Water Res. 38, 2461-2478.

Uyguner, C., Hellriegel, C., Otto, W., Larive, C. (2004) Characterization of humic substances: implications for trihalomethane formation, Anal. Bioanal. Chem., 378, 1579-1586.

van Leeuwen, J., Daly, R., Holmes, M. (2005) Modeling the treatment of drinking water to maximize dissolved organic matter removal and minimize disinfection by-product formation, Desalination, 177, 81-89.

Westerhoff, P., Chao P., Mash, H. (2004) Reactivity of natural organic matter with aqueous chlorine and bromine, Water Res., 38, 1502-1513.

Leehneer, J. A., Croué, J. P. (2003) Characterizing dissolved aquatic organic matter, Environ. Sci. Technol., 37, 18A-26A.

Hiradate, S., Yonezawa, T., Takesako, H. (2006) Isolation and purification of hydrophilic fulvic acids by precipitation, Geoderma, 132, 196-205.

Esteves da Silva, J. C. G., Dias, J. R. M., Magalhães, J. M. C. S. (2001) Factorial analysis of a chemiluminescence system for bromate detection in water, Anal. Chim. Acta, 450, 175-184.

Pinheiro, P. B. M., Esteves da Silva, J. C. G. (2005) Detection of 2,4,6-tricholoroanisole in chlorinated water at nanogram per litre levels by SPME-GC-ECD, Anal. Bioanal. Chem., 382, 341-346.

6 COMPLEXAÇÃO DE CATIÕES METÁLICOS PELAS FRACÇÕES DE MOD

6.1 INTRODUÇÃO

Os AF presentes no meio ambiente, nomeadamente no solo e nas águas, possuem a capacidade de influenciar o comportamento ambiental de iões, nomeadamente na sua mobilidade, toxicidade e biodisponibilidade (Gaffney *et al.*, 1996). Assim, o estudo das interacções dos iões metálicos com fracções de MOD representa uma importante área de estudo da Química, em particular da química ambiental. Devido à heterogeneidade e complexidade das fracções de MOD, o mecanismo de complexação com os iões metálicos são uma função complexa que depende de muitos factores, tais como, o pH, a força iónica do meio e a própria concentração da MOD (Larrive *et al.*, 2003). Além do mais, a MOD apresenta na sua estrutura molecular características polifuncionais, polielectrónicas e conformacionais que contribuem para aumentar o grau de complexidade do estudo da formação de complexos e da sua estabilidade com os iões metálicos (Gaffney *et al.*, 1996).

As diversas espécies químicas presentes na MOD permitem o aparecimento de grupos com diferentes forças de ionização dos seus protões (ácidos fortes e ácidos fracos). Os grupos funcionais contendo oxigénio, como os grupos carboxílicos e fenólicos são ubiquitários nas moléculas orgânicas, sendo a sua presença facilmente observada, através de titulações ácido-base. Como referido no capítulo 4 (Caracterização das fracções de MOD), a desprotonação de grupos carboxílicos (pK_a aproximadamente igual a 4) e grupos fenólicos (pK_a aproximadamente igual a 10) induz o desenvolvimento de cargas negativas, responsáveis pelas características polielectrónicas das SH e da carga da macromolécula. Os grupos funcionais contendo oxigénio e a ocorrência de cargas negativas, conferem às moléculas a capacidade de complexar catiões dissolvidos. Uma vez desprotonados, os grupos funcionais contendo oxigénio podem também estabelecer ligações do tipo ponte de hidrogénio, com as moléculas de água que estão na sua envolvente (solvatação). Esta propriedade permite que uma importante fracção de SH se torne solúvel e se transfira do solo para as águas

superficiais e subterrâneas. Estas propriedades intrínsecas à constituição da matéria orgânica permitem desempenhar três importantes acções no meio ambiente: uma acção física (agregação do solo), química (capacidade de troca iónica, acidez e reservatório de metais) e biológica (desintoxicação, transporte de nutrientes, fonte de C e N).

A caracterização das propriedades dos complexos formados pelos AF e os catiões metálicos, nomeadamente com os iões Cu(II), Pb(II), Cd(II), Fe(III), Al(III), e Hg(III), foi efectuada através de duas técnicas distintas: a potenciometria e a espectroscopia de fluorescência. O estudo foi efectuado essencialmente, sobre amostras de AF obtidas da água da albufeira e em alguns casos também de amostras do solo. Contudo, neste tipo de sistemas complexos apenas as constantes de estabilidade condicional podem ser obtidas, as quais dependem de todos os factores experimentais, nomeadamente do pH, concentração de AF e concentração do catião (Esteves da Silva, 2006). Foi também efectuado um estudo exploratório sobre a interacção das fracções de MOD (colóide, hidrofóbica e transfílica) com o catião UO_2^{2+}.

6.2 ESTUDOS POTENCIOMÉTRICOS DA INTERACÇÃO DE CATIÕES COM AF

6.2.1 CALIBRAÇÃO DOS ELÉCTRODOS

Tendo em consideração a equação de Nernst e um sistema potenciométrico com um eléctrodo selectivo imerso numa solução, a variação da concentração do catião metálico (M) nessa solução traduz-se numa alteração proporcional do potencial eléctrico. Contudo, a equação apenas pode ser aplicada sem grandes restrições a sistemas simples e perfeitamente caracterizados, como por exemplo, uma solução aquosa contendo apenas o analito sob estudo. Nestes casos, a representação dos valores do potencial em função da concentração do catião em solução originam rectas com coeficientes de correlação muito próximos da unidade como se pode constatar

para a resposta do eléctrodo selectivo ao Cu(II) em solução aquosa (Figura 6.1.a). É de referir que para os eléctrodos selectivos ao Pb(II) e ao Cd(II) se obtiveram respostas potenciométricas, para a mesma gama de concentrações, com uma linearidade idêntica. Porém, quando se efectuam estudos potenciométricos em soluções não completamente conhecidas como acontece com as soluções de AF, podem surgir outros fenómenos tais como a formação de complexos entre os AF e os catiões presentes em solução ou à superfície da membrana do eléctrodo, o que pode originar potenciais de eléctrodo inferiores ao do próprio branco dificultando, ou mesmo impossibilitando a calibração do sistema. Uma forma de resolver o problema, dado que não existem soluções cuja matriz seja composta por AF, é calibrar o eléctrodo com a própria amostra.

No decorrer das titulações potenciométricas das amostras de AF em solução aquosa com os catiões metálicos regista-se um encurvamento mais ou menos acentuado. Este desvio à linearidade é motivado pelo facto dos eléctrodos serem apenas sensíveis ao ião metálico livre em solução mas não ao ião complexado. Contudo, ao longo da titulação e quando o catião adicionado se encontra em grande excesso relativamente à capacidade de complexação do AF, a sua concentração total é aproximadamente igual à concentração do ião livre. Nestas condições, a representação do potencial do eléctrodo em função da concentração do catião no estado livre adquire uma forma linear com um coeficiente de correlação bastante bom, como se pode constatar pela Figura 6.1.b. Neste último exemplo é perfeitamente visível o encurvamento provocado pelo facto do ião metálico adicionado no início da titulação se encontrar maioritariamente complexado e só quando o ião se encontra em concentração superior à capacidade de complexação do AF, a concentração do ião livre se aproxima da concentração total.

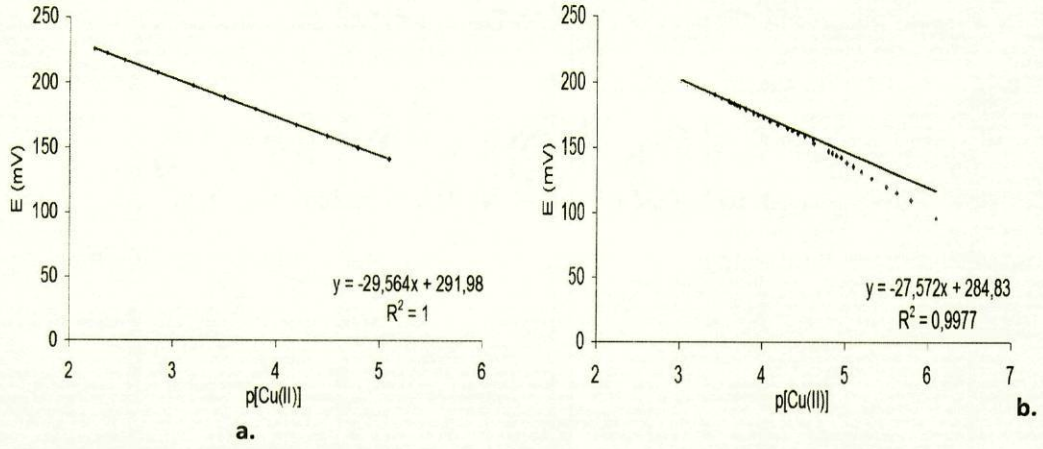


Figura 6.1 Calibração de eléctrodos selectivos em duas matrizes distintas (exemplo para o eléctrodo de cobre): (a) Solução de electrólito inerte de KNO_3 0,1molL^{-1}; (b) Solução de AF com concentração aproximadamente igual a 20 mgL^{-1}.

6.2.2 CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO AF-CATIÃO POR POTENCIOMETRIA

A metodologia de calibração e caracterização dos complexos formados entre os AF e os iões metálicos, estudados por potenciometria, foi efectuada segundo o referido no ponto anterior, fazendo uso dos equipamentos e reagentes referenciados no capítulo 3. Assim, na Figura 6.2 e Figura 6.3 pode-se observar o comportamento típico das curvas de titulação dos AF (extraídos do solo e da água) com solução aquosa de Cu(II), Cd(II) e Pb(II), respectivamente. As curvas são caracterizadas por apresentarem um incremento do potencial do eléctrodo em função do aumento da concentração do ião titulante. Contudo, a curva apresenta duas zonas distintas, no topo da curva, onde as concentrações são mais elevadas, o potencial do eléctrodo é directamente proporcional à concentração do ião metálico na sua forma livre. Na parte inferior da curva, onde as concentrações do catião são mais baixas, observa-se um ligeiro encurvamento. Este desvio é motivado pela complexação do ião metálico ao ligando, pelo que, encurvamentos mais pronunciados correspondem a constantes de estabilidade maiores e/ou a maior número de sítios ligantes na molécula de AF (Oliveira, 2000). Como se pode observar o encurvamento é na generalidade maior para

a titulação dos AF com o ião Cu(II). Como tal, é de esperar que a constante de estabilidade condicional da estrutura Cu(II)-AF seja superior à registada com o Cd(II) e com o Pb(II). De facto, este pressuposto foi verificado, como se pode constatar através da Tabela 6.1, onde estão referenciadas as constantes de estabilidade condicional dos complexos estudados.

A representação gráfica do grau de complexação (α) em função de concentração do catião adicionada à solução ($p([M]_T$) surge como uma forma alternativa para representar a titulação dos AF com os catiões. Se as concentrações do ião total e do ião no estado livre são aproximadamente iguais, então não existe complexação e α é aproximadamente igual a um, ou dito de outra forma, se a concentração do ião no estado complexado é muito inferior à concentração do ião adicionado então a razão das suas concentrações aproxima-se de zero. Como podemos observar pela Figura 6.4 e Figura 6.5 onde está representado o grau de complexação para as titulações das amostras de AF com os iões Cu(II), Cd(II) e Pb(II), é possível verificar que no início da titulação praticamente todo o catião adicionado é complexado e como tal o grau de complexação atinge o valor mais elevado. À medida que a titulação progride e a concentração do ião metálico na solução aumenta, a razão anterior diminui e aumenta a razão entre a concentração do ião livre e do ião total. É também possível verificar que o grau de complexação no início da titulação é maior para o cobre ($\cong$ 0,8) do que para o chumbo ($\cong$ 0,7) ou o cádmio ($\cong$ 0,6). Assim, será de esperar que a constante de estabilidade condicional siga a ordem Cu(II)> Pb(II)> Cd(II). É também necessário referir que, relativamente ao grau de complexação com cada um dos iões, não existem diferenças significativas entre as amostras de AF com origem no solo e na água da albufeira do Caldeirão. A partir dos valores obtidos da titulação da solução de AF com uma solução titulante contendo o catião objecto de estudo, é possível, através da utilização de métodos gráficos obter dados relativos à reacção da complexação entre AF e o ião metálico.

A Figura 6.6 e a Figura 6.7 representam os gráficos de van der Berg/Ruzic para a complexação dos AF com os iões metálicos Cu(II), Cd(II) e Pb(II), respectivamente. A representação de $[M]/\{[M]_T+\Delta[M]\}-[M]\}$ em função de [M] surge com uma forma aproximadamente linear, que nos permite obter, quer a concentração do ligando (através do declive da recta), quer a constante condicional de complexação (ordenada na origem).

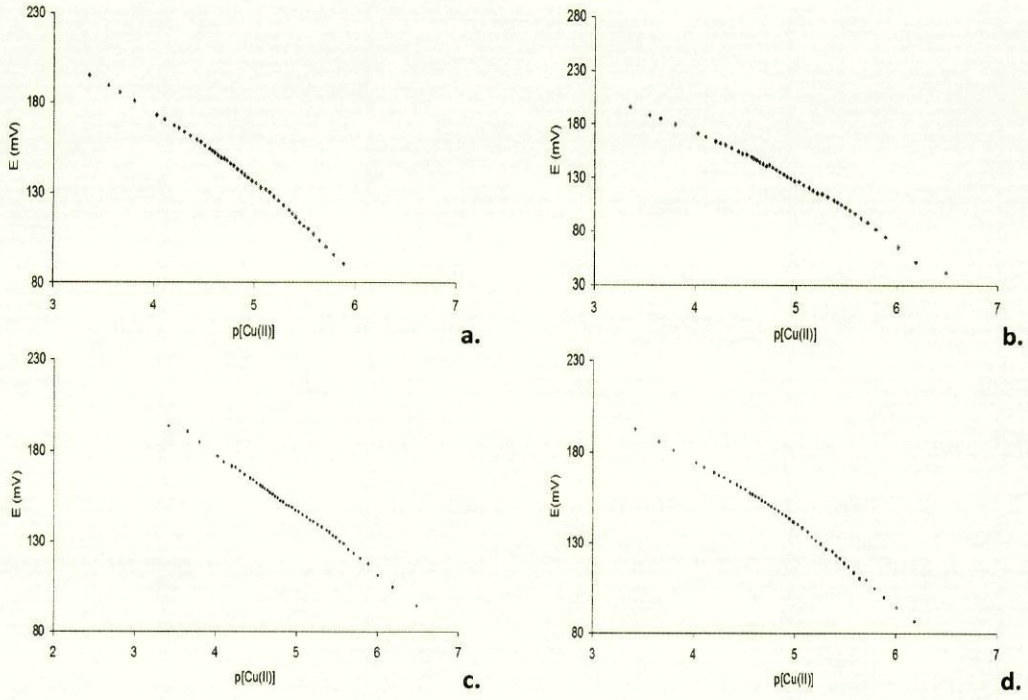


Figura 6.2 Curvas de titulação para as amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) com os iões Cu(II) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

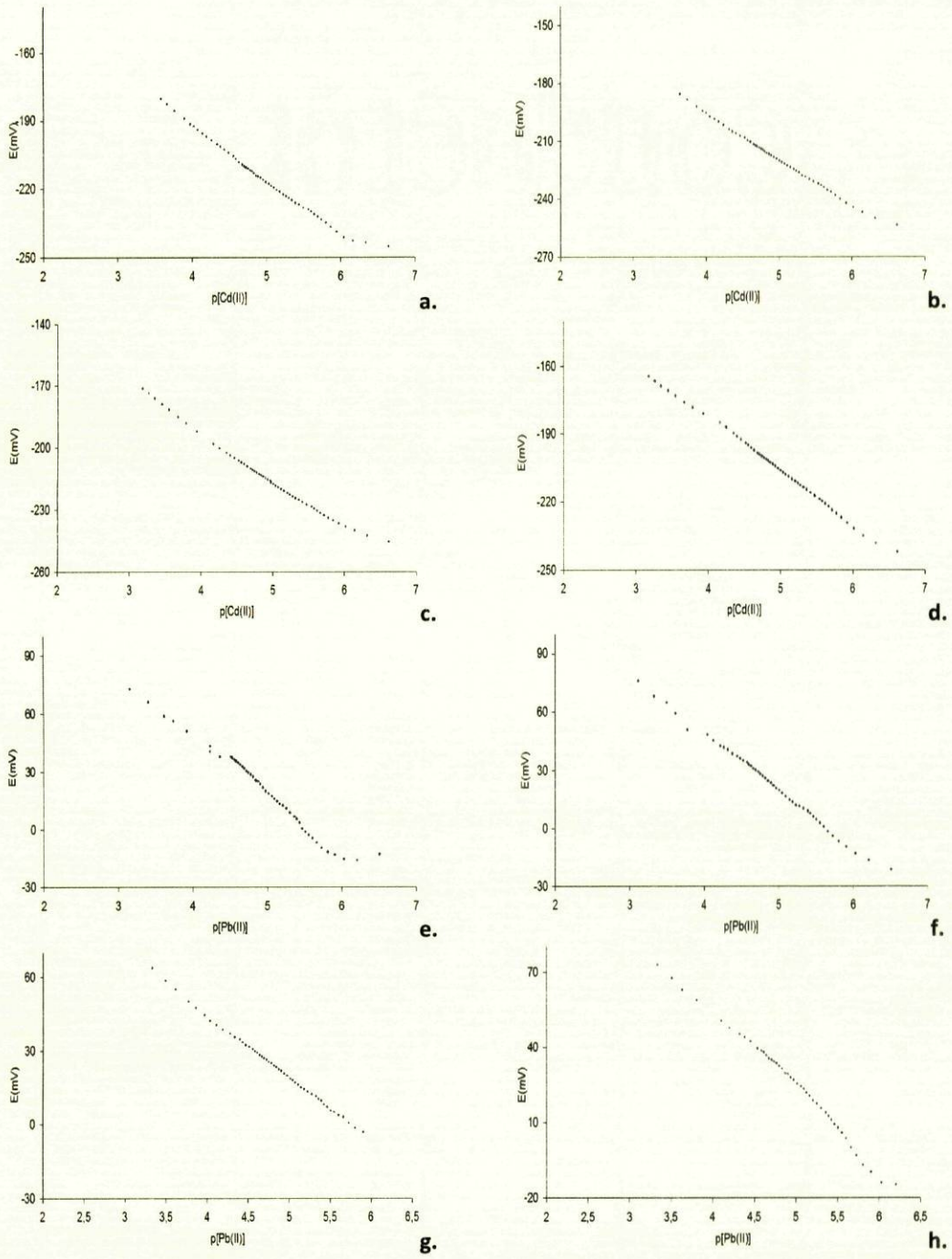


Figura 6.3 Curvas de titulação para as amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) com o ião Cd(II) e das amostras AFs1 (e), AFs2 (f), AFa1 (g) e AFa2 (h) com o ião Pb(II) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

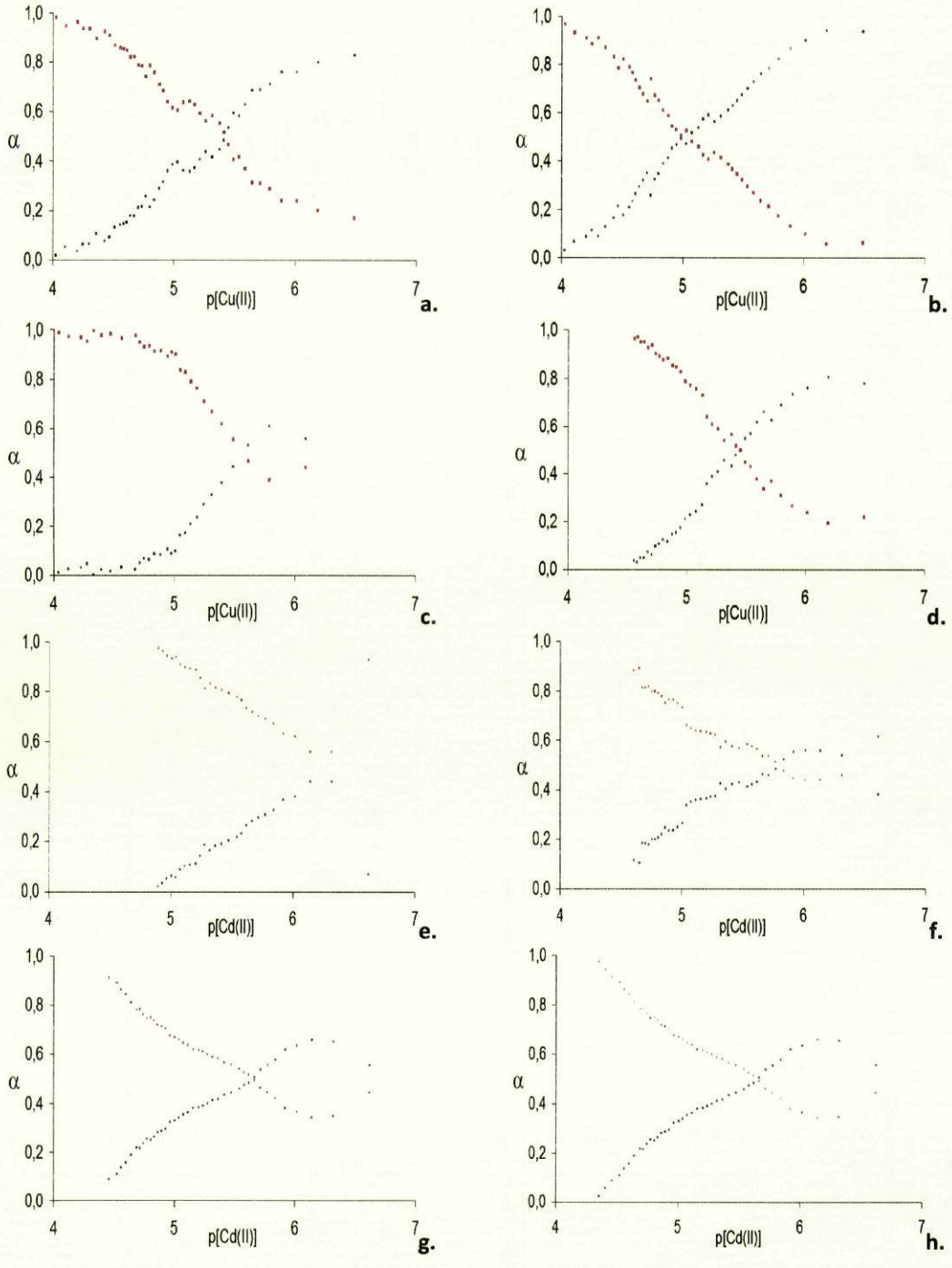


Figura 6.4 Gráfico do grau de complexação em função da concentração de Cu(II) para as amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) e em função da concentração de Cd(II) para as amostras AFs1 (e), AFs2 (f), AFa1 (g) e AFa2 (h) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 $molL^{-1}$). ▪ Razão entre a concentração do ião no estado livre e a concentração total do ião adicionado, • razão entre a concentração do ião complexado e a concentração total do ião adicionado.

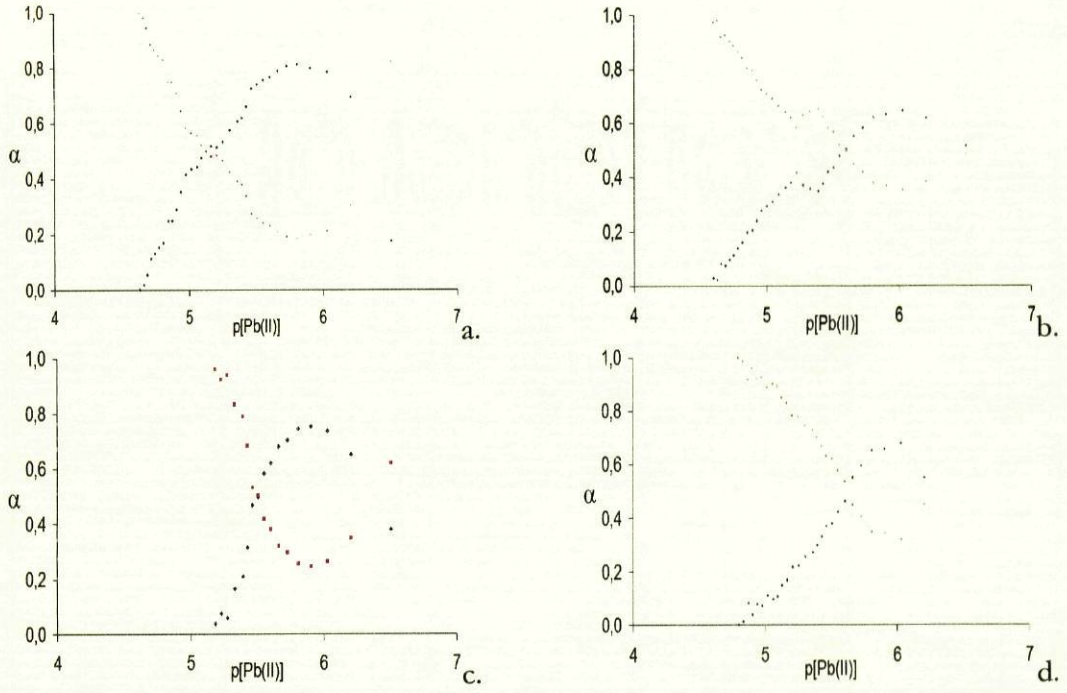


Figura 6.5 Gráfico do grau de complexação em função da concentração de Pb(II) para as amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). ▫ razão entre a concentração do ião no estado livre e a concentração total do ião adicionado, • razão entre a concentração do ião complexado e a concentração total do ião adicionado.

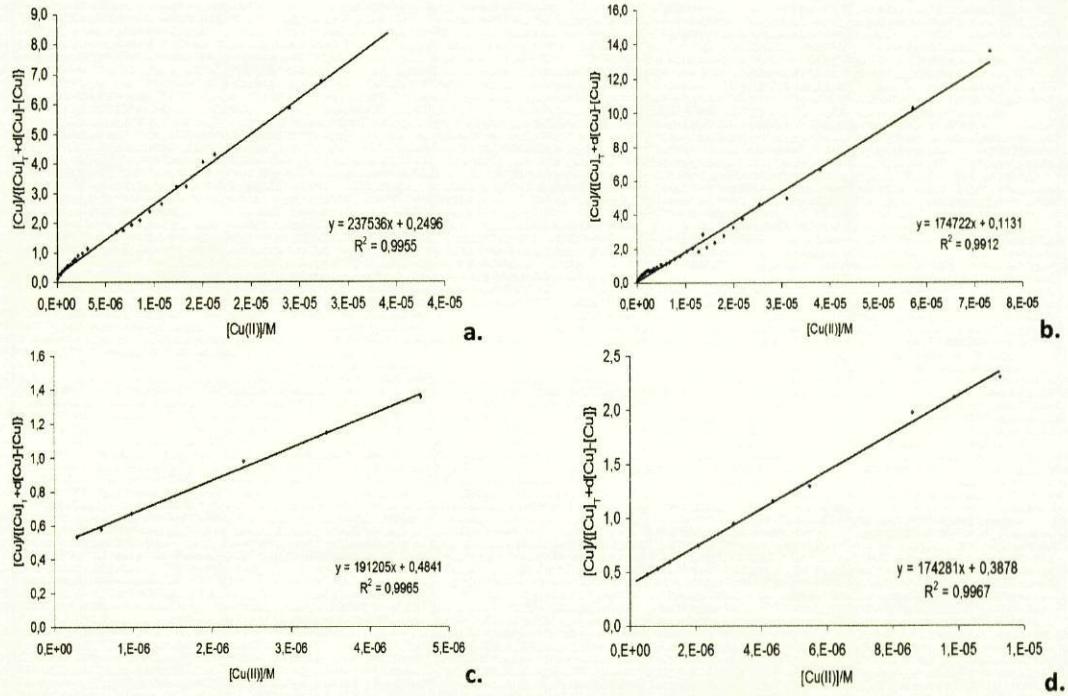


Figura 6.6 Gráficos de van der Berg/Ruzic para as titulações das amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) com o ião Cu(II) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

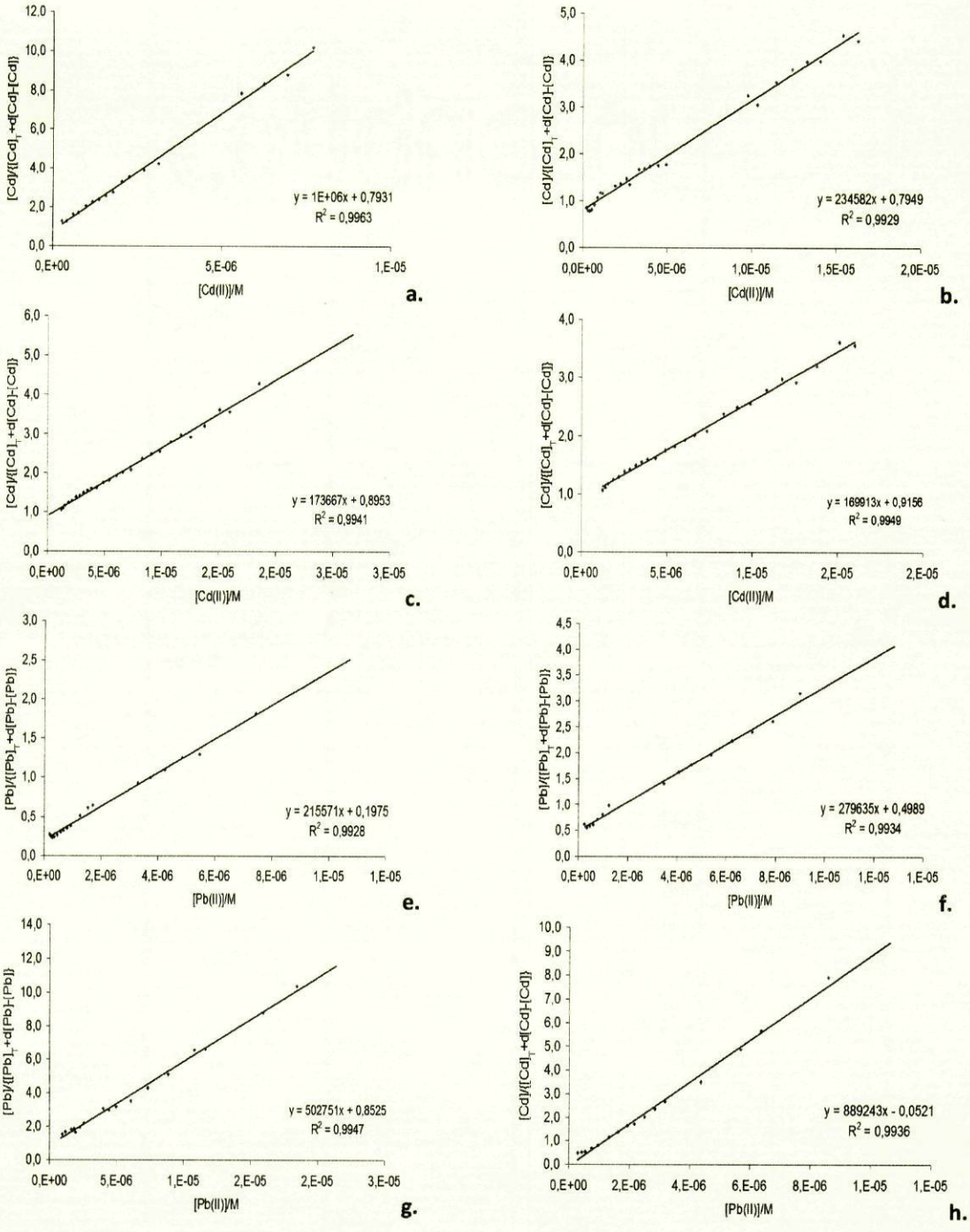


Figura 6.7 Gráficos de van der Berg/Ruzic para as titulações das amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) com o ião Cd(II) e para as titulações das amostras AFs1 (e), AFs2 (f), AFa1 (g) e AFa2 (h) com o ião Pb(II) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

Na Tabela 6.1 apresentam-se os valores das constantes de estabilidade condicionais obtidas a pH 6 através da aplicação do método gráfico de van der

Berg/Ruzic aos dados experimentais. A análise do quadro evidencia a existência de valores globalmente semelhantes, com o complexo Cu(II)-AF a apresentar uma constante de estabilidade condicional superior, em relação aos complexos Pb(II)-AF e Cd(II)-AF. Estes resultados estão de acordo com o observado aquando da caracterização dos AF e que evidenciavam características físico-químicas muito semelhantes para os AF do solo e da água. Em termos absolutos, os valores das constantes de estabilidade condicionais mostram que os AF têm capacidade para complexar de forma quantitativa os catião Cu(II), Cd(II) e Pb(II) que possam existir nas águas ou nos solos. Este comportamento dos AF poderá ser generalizado para outros catiões o que prova o papel activo destas moléculas, ubiquitárias no meio ambiente, nos fenómenos físico-químicos que envolvem os catiões metálicos nos sistemas naturais.

Tabela 6.1 Valores médios da constante de estabilidade (log K) e desvio padrão para o complexo formado pelo o ião Cu(II), Cd(II) e Pb(II) com as amostras de AF obtidas do solo e da água pelo método de van der Berg/Ruzic a pH 6, 25°C (μ=0,1 molL^{-1}). *

Ião	Log K	$[L]_T$	R^2	N_p	Δ[M] (molL^{-1})
AFs1:					
Cu(II)	5,95 (0,06)	$4,2x10^{-6}$	0,9962	16	$3,2x10^{-7} - 1,8x10^{-3}$
Cd(II)	5,96 (0,03)	$1,8x10^{-6}$	0,9943	8	$2,4x10^{-7} - 7,0x10^{-4}$
Pb(II))	6,04 (0,10)	$4,6x10^{-6}$	0,9928	18	$3,1x10^{-7} - 7,0x10^{-4}$
AFs2:					
Cu(II)	5,95 (0,13)	$4,3x10^{-6}$	0,9948	15	$3,2x10^{-7} - 1,3x10^{-3}$
Cd(II)	5,49 (0,10)	$4,1x10^{-6}$	0,9957	20	$2,4x10^{-7} - 2,3x10^{-4}$
Pb(II))	5,86 (0,08)	$2,0x10^{-6}$	0,9956	10	$3,1x10^{-7} - 7,7x10^{-4}$
AFa1:					
Cu(II)	6,08 (0,14)	$2,2x10^{-6}$	0,9964	8	$3,2x10^{-7} - 1,1x10^{-3}$
Cd(II)	5,01 (0,16)	$4,3x10^{-6}$	0,9915		$2,4x10^{-7} - 6,6x10^{-4}$
Pb(II)	5,97 (0,16)	$2,4x10^{-6}$	0,9948	13	$3,1x10^{-7} - 7,6x10^{-4}$
AFa2:					
Cu(II)	5,90 (0,25)	$4,7x10^{-6}$	0,9969	12	$4,1x10^{-8} - 1,1x10^{-3}$
Cd(II)	5,41 (0,19)	$3,8x10^{-6}$	0,9961	17	$2,4x10^{-7} - 6,6x10^{-4}$
Pb(II)	5,47 (0,09)	$2,3x10^{-6}$	0,9984	15	$2,4x10^{-7} - 6,6x10^{-4}$

* As constantes de formação para o ião Cu(II) foram obtidos a partir da realização de 7 titulações. As constantes para o ião Cd(II) e Pb(II) foram obtidos a partir da realização de 3 titulações.

6.3 ESTUDOS DE FLUORESCÊNCIA DA INTERACÇÃO DE CATIÕES COM AF

Os espectros de fluorescência dos AF contêm informação que permite relacionar a sua estrutura, grupos funcionais, conformação e heterogeneidade, assim como propriedades dinâmicas, como a sua capacidade de interacção intramolecular e intermolecular (Chen *et al.*, 2003). Assim, o facto da fluorescência ser uma técnica não destrutiva e que simultaneamente apresenta grande sensibilidade e simplicidade de utilização, torna possível e acessível o seu uso no estudo das interacções entre os AF e os catiões capazes de induzir alteração do perfil de intensidade da fluorescência molecular (Esteves da Silva *et al.*, 2006). A presença de iões metálicos, e dependendo do comprimento de onda seleccionado, induz um aumento (*enhancement*) ou uma diminuição (*quenching*) da intensidade de fluorescência, para um ou mais comprimentos de ondas particulares da matriz de excitação – emissão (MEE), motivados pela complexação do ião com sítios ligantes, com propriedades fluorescentes. Nesta dissertação foram objecto de estudo, por fluorescência molecular, as interacções entre as fracções de MOD (AF, colóide, hidrofóbica e transfílica) e alguns catiões, nomeadamente o Cu(II), Hg(II), Al(III), Fe(III) e UO_2^{2+}.

6.3.1 INTERACÇÃO DOS AF COM Cu(II)

Muitos iões, em especial os paramagnéticos como o Cu(II), são capazes de provocar fenómenos de *quenching* na intensidade do sinal de fluorescência dos sítios ligantes dos AF, através de dois mecanismos: o *quenching* estático que depende principalmente da fracção de sítios ligantes ocupados pelo ião metálico e o *quenching* dinâmico que está correlacionado com a concentração do ião (Plaza *et al.*, 2005). A natureza da alteração do espectro de fluorescência ao longo da titulação do AF com o Cu(II) permite avaliar a capacidade de complexação do AF e a respectiva constante de estabilidade do complexo Cu(II)-AF. Na Figura 6.8 estão representados os espectros de emissão (465 nm), para um comprimento de onda de excitação de 345nm,

correspondentes à titulação das amostras AFa1 e AFa2 com o ião Cu(II), para valores de pH 4 e 6. Como se pode observar a presença do ião induz um fenómeno de *quenching* dos espectros de emissão dos AF. É também possível verificar que o fenómeno de *quenching* ocorre na mesma região, revelando uma semelhança entre as amostras e sugerindo que o ião Cu(II) provoca o *quenching* de fluorescência, em estruturas de ligação similares nas quatro amostras. Esta diminuição resulta fundamentalmente da formação de complexos não fluorescentes entre os sítios ligantes com propriedades fluorescentes dos AF e os iões. Os espectros evidenciam a capacidade dos AF para formar complexos com o Cu(II) e desta forma condicionar a sua distribuição no meio natural. Estes resultados estão de acordo com os dados obtidos por espectroscopia e potenciometria, os quais revelaram a presença de grupos funcionais com presença, nomeadamente de átomos de oxigénio que podem conferir a estas moléculas a capacidade de formar complexos com catiões. Os locais ligantes dos AF com propriedades fluorescentes e que formam complexos estáveis com o catião Cu(II) são na realidade estruturas do tipo salicílico, anéis aromáticos com grupo carboxílico em posição orto, relativamente a um grupo hidroxílico (Esteves da Silva *et al.*, 1996a; Smith e Kramer, 2000).

A partir da informação obtida nestes espectros, através dos perfis de *quenching* e da equação de Weber e Ryan, é possível determinar a constante de estabilidade condicional do complexo Cu(II)-AF. A equação de Weber e Ryan assume que a estequiometria metal-ligando é do tipo 1:1 e que a relação entre a fracção dos sítios ligantes totais da molécula, que estão complexados com o ião metálico e a intensidade de fluorescência, segue uma relação linear.

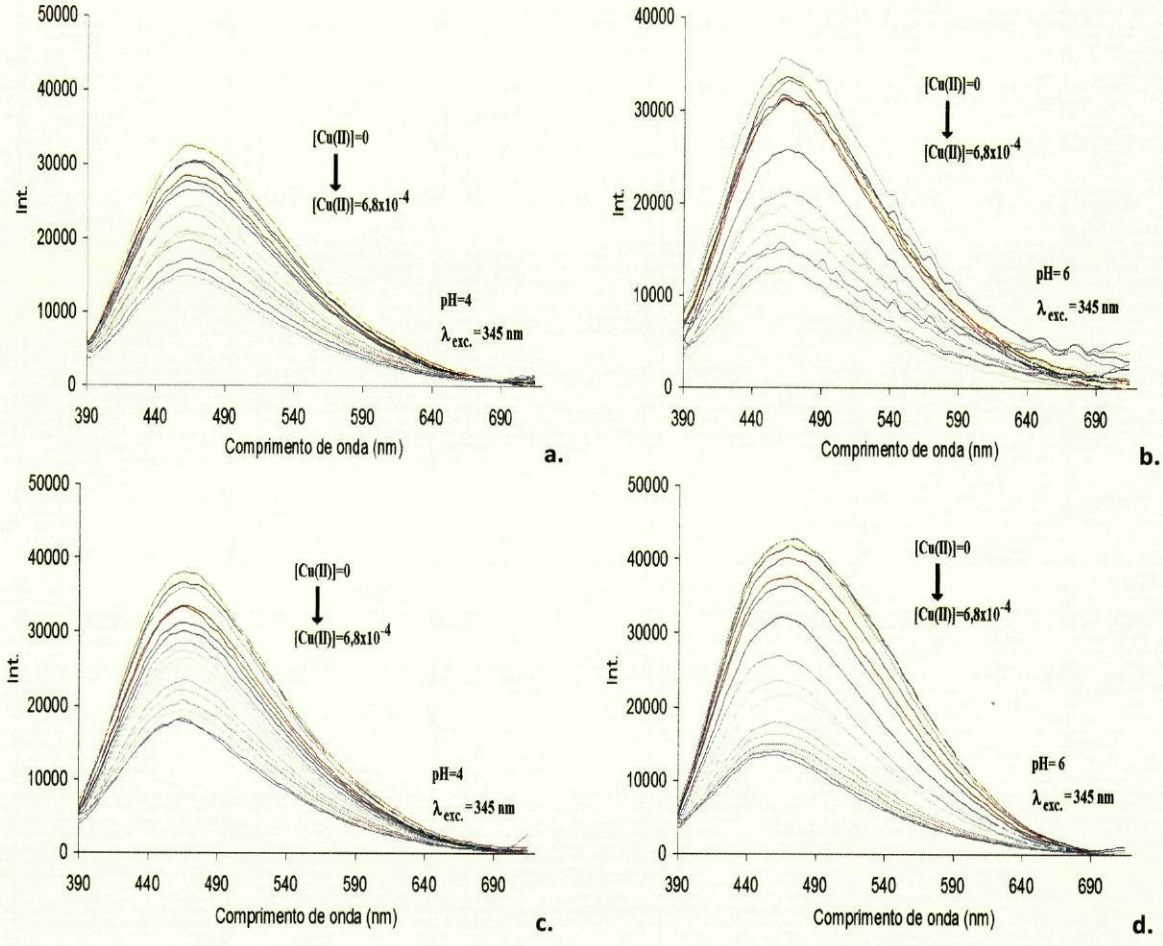


Figura 6.8 Espectros de emissão de fluorescência da amostra AFa1 a pH 4 (a) e pH 6 (b), e da amostra AFa2 a pH 4 (c) e pH 6 (d) em função da concentração do ião Cu(II), a 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

6.3.2 INTERACÇÃO DOS AF COM Hg(II)

Procedimento idêntico ao referido no ponto anterior foi também efectuado para a titulação do AF extraído da água da albufeira do Caldeirão (AFa2) com uma solução de Hg(II) a pH constante e igual a 6. Como se pode observar pela Figura 6.9 também nesta titulação com Hg(II) se verifica um fenómeno de *quenching* da fluorescência dos AF à medida que a concentração do catião aumenta na solução (de 0 a 1,4x10^{-4} molL^{-1}).

De acordo com a classificação de ácido duro - ácido mole, o Hg(II), comparativamente ao Al(III), apresenta características de ácido mole ou intermédio, apresentando assim uma maior afinidade por bases moles, compostas principalmente pelo elemento enxofre. No entanto, os AF compreendem uma variedade de sítios ligantes com estruturas compostas, principalmente por átomos de oxigénio. Como ficou evidenciado pela análise elementar, os AF apresentam maioritariamente grupos contendo átomos de oxigénio, sendo a presença de enxofre e azoto minoritária. Como tal, mesmo para o catião Hg(II), serão as interacções com grupos ligantes constituídos por átomos de oxigénio a dominarem o fenómeno de complexação Hg(II)-AF.

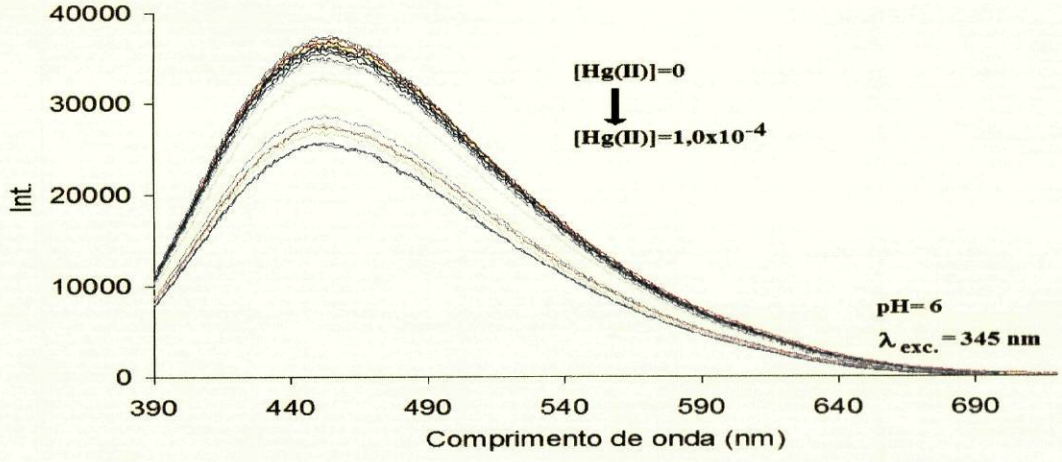


Figura 6.9 Espectros de emissão de fluorescência da amostra AFa2 em função da concentração do ião Hg(II) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

6.3.3 INTERACÇÃO DOS AF COM Al(III)

A titulação da amostra AFa2 com o Al(III) provoca um aumento da intensidade de fluorescência (*enhancement*) como se pode observar pela Figura 6.10, a qual representa os espectros de fluorescência da amostra AFa2 com o ião alumínio para valores de pH de 4 e 5. A escolha destes valores de pH teve em consideração o facto de que a pH 4 todo o catião se encontra no estado livre, enquanto para valores próximos

de 6 as espécies químicas predominantemente formadas são hidróxidos de alumínio que, além de insolúveis são instáveis (Elkins e Nelson, 2002). Existe pois no meio aquoso uma competição entre os hidróxidos e os AF e é de esperar que para valores de pH superiores a 4, mesmo para baixas concentrações, haja a formação de precipitados, que põem em risco a utilização da técnica espectroscópica. Contudo, quando os AF estão presentes e quando a concentração do ião é relativamente baixa, devido ao fenómeno de complexação, é possível a realização do ensaio para valores de pH um pouco superiores, permitindo a sua execução também a pH 5. Para valores superiores a este último observa-se que os dados obtidos não são reprodutíveis (Esteves da Silva *et al.*, 1997).

Iões diamagnéticos como o Al(III) podem, em determinadas condições experimentais, provocar o aumento da intensidade de fluorescência (Elkins e Nelson, 2002), embora existam excepções como o caso do Hg(II) que, como se analisou no ponto anterior, apresenta um efeito de *quenching* na complexação com AF. O incremento na intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do catião resulta do aumento da rigidez da molécula de AF que em consequência da ligação do pequeno mas carregado ião Al(III), resulta na diminuição da probabilidade de dissipação da energia não radiativa (Lakshman *et al.*, 1996; Elkins e Nelson, 2001; Elkins e Nelson, 2002). A ligação do ião metálico, e tendo em consideração a zona de comprimentos de onda de excitação e emissão, está associada a compostos do tipo fenólicos ou derivados (Esteves da Silva e Machado, 1996b; Elkins e Nelson, 2001). Isto está inteiramente de acordo com as observações feitas por muitos investigadores, de que os compostos fenólicos estão associados à fluorescência observada na região considerada da MEE (Esteves da Silva *et al.*, 1996a; Chen *et al.*, 2003; Bertoncine *et al.*, 2005). Tal como para o cobre e o mercúrio também para o alumínio o *enhancement* ocorre na mesma gama de comprimentos de onda, sugerindo que o mesmo tipo de estrutura molecular é também responsável pela interacção do Al(III) com a molécula de AF.

A partir dos espectros de fluorescência de emissão para o ião Al(III) é também possível observar que o grau de *enhancement* da fluorescência para pH 4 e 5 é substancialmente diferente. Uma vez que a espécie química de alumínio predominante a pH 4 e 5 não se altera de forma significativa, essa diferença poderá ser atribuída a alterações no estado de ionização de alguns grupos funcionais como, por exemplo, alguns grupos carboxílicos, com a consequente alteração conformacional da molécula (Larrivee, 2003).

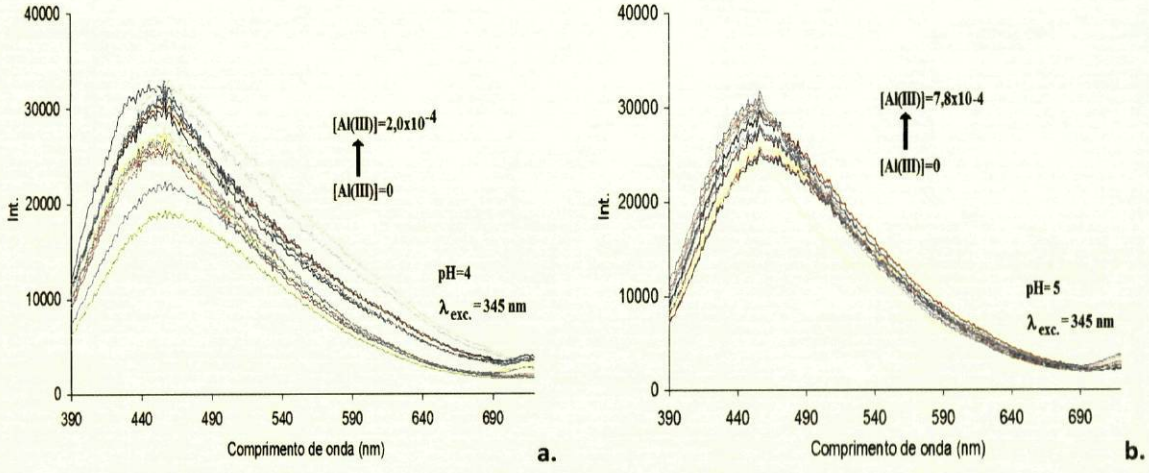


Figura 6.10 Espectros de emissão de fluorescência da amostra AFa2 em função da concentração do ião Al(III) a pH 4 (a) e a pH 5 (b), 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

6.3.4 PERFIS DE *QUENCHING* E *ENHANCEMENT* DOS COMPLEXOS FORMADOS

Da Figura 6.11 à Figura 6.14 mostram-se os perfis de *quenching* típicos para os sistemas complexos formados pelo AF com os catiões Cu(II), Fe(III) e Hg(II), respectivamente. As medições efectuadas com o ião Fe(III) foram executadas a pH 3 e 4 pois para valores superiores os resultados apresentam pouca reprodutibilidade, provavelmente devido a reacções redox, que interferem com o processo de complexação (Esteves da Silva *et al.*, 1998a). Perfis obtidos com estes iões são caracterizados por uma diminuição acentuada da fluorescência e posterior estabilização. Esta estabilização para valores não nulos mostra que nas moléculas de

AF existem outras estruturas fluorescentes (em princípio serão estruturas aromáticas) que não participam nas reacções de complexação com os iões referidos quer porque estas não se encontram acessíveis quer porque não têm propriedades complexantes (Esteves da Silva, 1994; Oliveira, 2000). Pelo contrário, o perfil para a complexação com o ião Al(III) (Figura 6.13) apresenta um aumento da fluorescência em função do efeito de *enhancement*, registando-se igualmente uma tendência para a estabilização, por razões idênticas às anteriormente referidas. É de salientar ainda o facto dos perfis de *enhancement* apresentarem o mesmo tipo de formato indiciando que as estruturas que participam na complexação do ião Al(III) são as mesmas, ou possuem as mesmas propriedades de fluorescência.

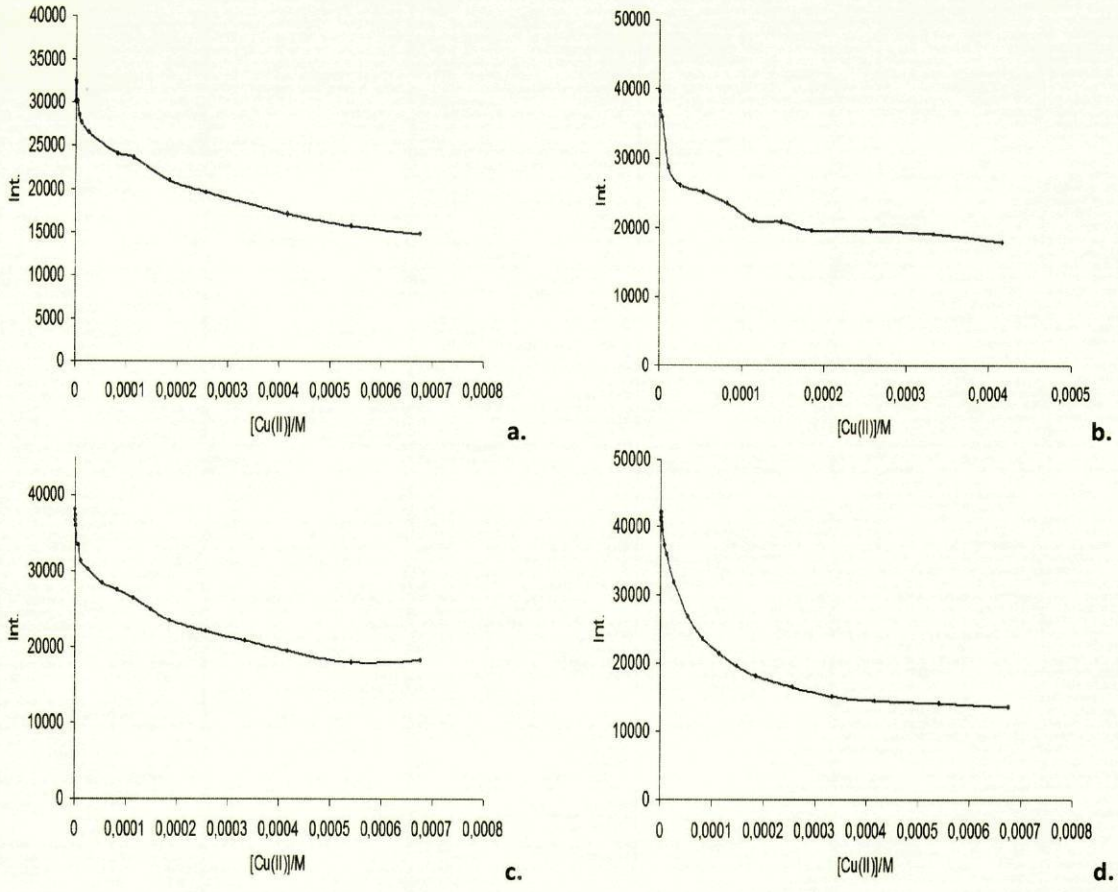


Figura 6.11 Perfis de *quenching* de fluorescência da amostra AFa1 a pH 4 (a) e pH 6 (b) e da amostra AFa2 a pH 4 (c) e pH 6 (d) em função da concentração do ião Cu(II), 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

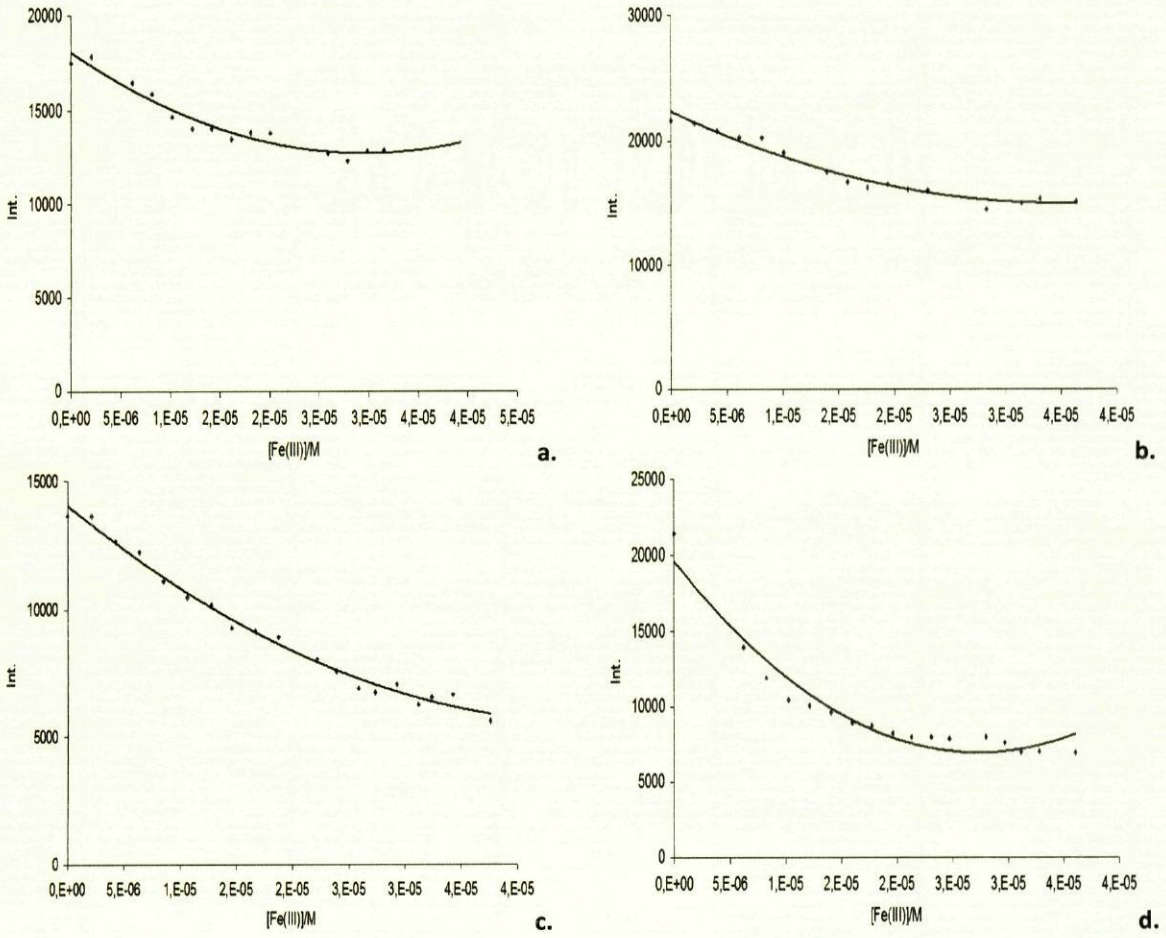


Figura 6.12 Perfis de *quenching* de fluorescência da amostra AFa2 a pH 3 (a) e pH 4 (b) e da amostra AFs2 a pH 3 (C) e pH 4 (d) em função da concentração de ião Fe(III), 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

O ajuste dos perfis de *quenching* e de *enhacement* através do método de Stern-Volmer e de Weber e Ryan permite estimar as constantes de complexação condicionais. Como se observa pela Figura 6.15 e Figura 6.16 esta equação origina representações lineares, que podem ser ajustadas ao modelo traduzido pela equação de Stern-Volmer.

Na Tabela 6.2 apresentam-se os resultados obtidos por aplicação do método gráfico de Stern-Volmer e pelo método de Weber e Ryan. A análise dos resultados presentes permite concluir que, para as amostras em análise e para todos os iões considerados, as constantes de formação condicional são mais elevadas, para maiores valores de pH. Este facto reflecte o aumento da desprotonação dos sítios ligantes, os

quais se tornam mais disponíveis para a complexação com os catiões (Casassas *et al.*, 1995; Esteves da Silva, *et al.*, 1997), nomeadamente grupos carboxílicos (Esteves da Silva e Machado, 1995; Esteves da Silva *et al.*, 1998b). Isto significa também que os iões e os protões competem pelos mesmos sítios ligantes na molécula de AF. As constantes de complexação obtidas permitem afirmar que os AF desempenham no meio ambiente uma importante função na mobilidade e na neutralização ou diminuição da toxicidade destes catiões, tal como já tinha ficado patente na caracterização das fracções de MOD.

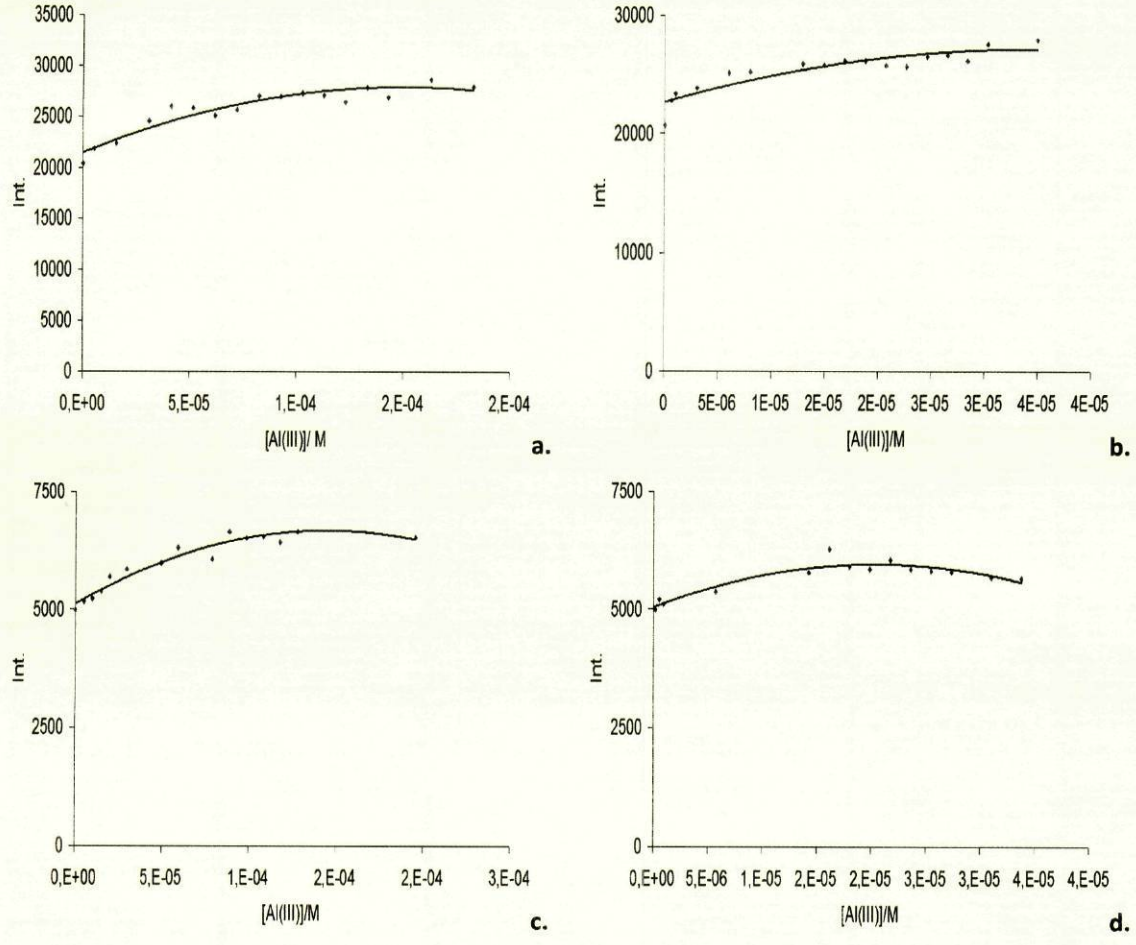


Figura 6.13 Perfis de *quenching* de fluorescência da amostra AFa2 a pH 4 (a) e pH 5(b) e da amostra AFs2 a pH 4 (C) e pH 5 (d) em função da concentração do ião Al(III), 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

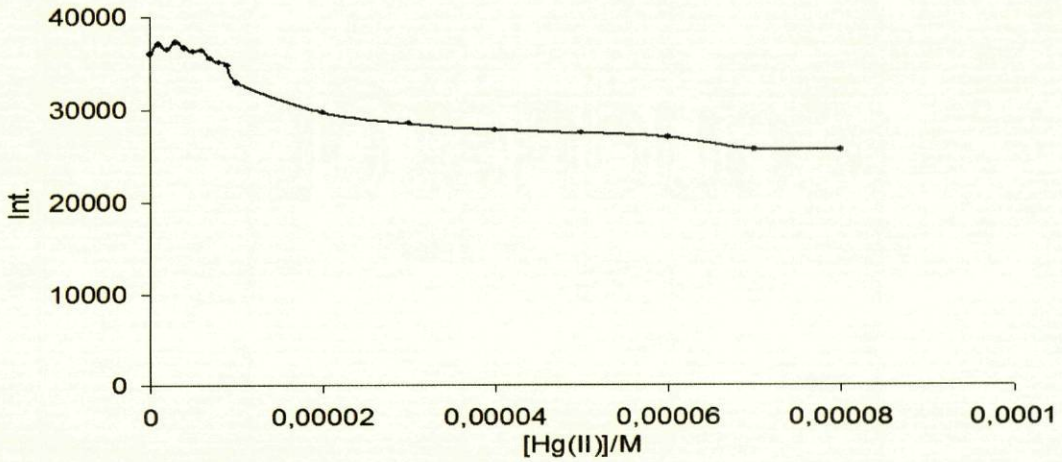


Figura 6.14 Perfis de *quenching* de fluorescência da amostra AFa2 a pH 6 em função da concentração do ião Hg(II), 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

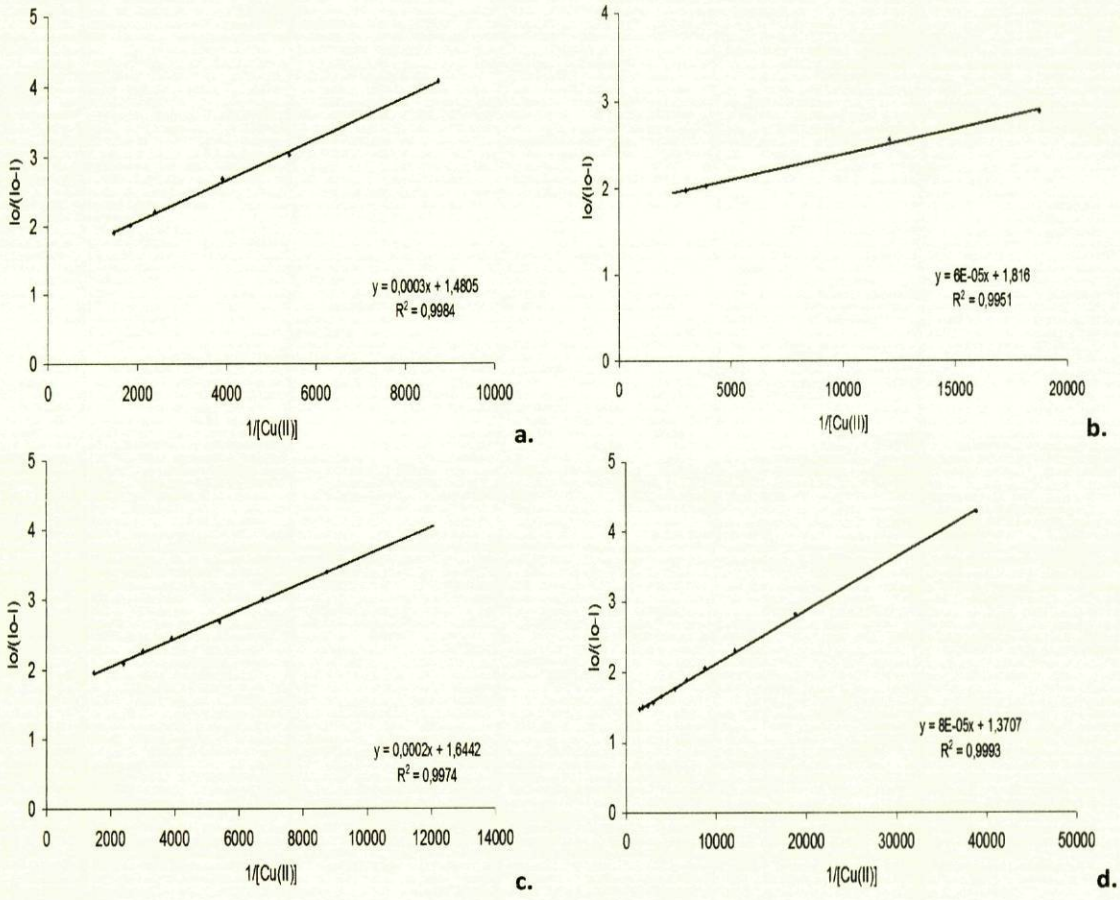


Figura 6.15 Representação de Stern-Volmer da amostra AFa1 a pH 4(a) e pH 6 (b) e da amostra AFa2 a pH 4 (c) e pH 6 (d), 25°C (μ=0,1 molL^{-1}).

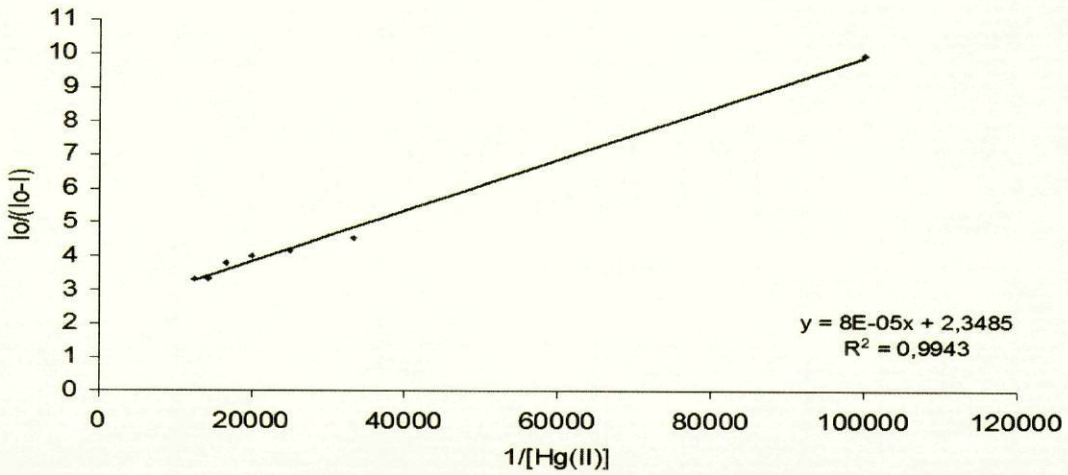


Figura 6.16 Representação de Stern-Volmer da amostra AFa2 a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

Tabela 6.2 Valores médios das constantes condicionais (log K) e respectivos desvios padrão para as amostras AFa1 e AFa2 a pH 4 e 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). *

Ião	Método	pH	Log K	R^2	Np	Δ[M] (M)	F	I_{ML}	C_L
AFs2:									
Fe(III)	Stern-Volmer	4	4,65 (0,33)	0,99	17	0 - 3,9x10^{-5}	1,07 (0,36)	-	-
Fe(III)	Stern-Volmer	3	4,22 (0,03)	0,99	16	0 - 3,8x10^{-5}	1,39 (0,37)	-	-
Al(III)	Ryan-Weber	5	6,42 (0,37)	-	13	0 - 9,5x10^{-5}	-	97	1,7x10^{-4}
Al(III)	Ryan-Weber	4	4,55 (0,15)	-	16	0 - 2,0x10^{-4}	-	51	1,4x10^{-5}
AFa1:									
Cu(II)	Stern-Volmer	6	6,08 (0,05)	0,99	9	0 - 6,8x10^{-4}	0,59 (0,02)	-	-
Cu(II)	Stern-Volmer	4	3,72 (0,03)	0,99	11	0 - 6,8x10^{-4}	0,65 (0,03)	-	-
AFa2:									
Hg(II)	Stern-Volmer	6	4,68 (0,07)	0,99	9	0 - 1,0x10^{-4}	0,34 (0,02)	-	-
Cu(II)	Stern-Volmer	6	5,90 (0,11)	0,99	11	0 - 6,8x10^{-4}	0,69 (0,07)	-	-
Cu(II)	Stern-Volmer	4	3,74 (0,26)	0,99	9	0 - 6,8x10^{-4}	0,54 (0,09)	-	-
Fe(III)	Stern-Volmer	4	4,83 (0,27)	0,99	16	0 - 3,9x10^{-5}	0,64 (0,02)	-	-
Fe(III)	Stern-Volmer	3	3,66 (0,12)	0,99	14	0 - 3,9x10^{-5}	0,79 (0,19)	-	-
Al(III)	Ryan-Weber	5	6,65 (0,08)	-	12	0 - 3,6x10^{-5}	-	103	7,4x10^{-4}
Al(III)	Ryan-Weber	4	4,63 (0,05)	-	13	0 - 7,8x10^{-4}	-	75	1,1x10^{-5}

* As constantes de formação para o ião Cu(II) foram obtidos a partir da realização de 7 titulações. As constantes para o ião Fe(III) são obtidas a partir de 3 titulações e para o Al(III) 4 titulações.

6.4 ESTUDOS DA INTERACÇÃO DO UO_2^{2+} COM AS FRACÇÕES DE MOD

Tendo em consideração o fraccionamento da MOD (fracção colóide, transfílica e hidrofóbica) e a pequena quantidade de cada uma das fracções que ainda ficou disponível após a caracterização elementar e a realização de estudos de simulação dos

processos de desinfecção, optou-se por fazer uma análise exploratória da capacidade das fracções de MOD para formarem complexos com o ião UO_2^{2+}. Este estudo teve em consideração o facto da região da Guarda se situar numa zona em que outrora se explorou um grande número de minas de urânio, com a consequente geração de grandes quantidades de resíduos com impacto ambiental no solo e nas águas da região. Além da acção antropogénica, o urânio encontra-se especialmente associado aos granitos hercínicos porfiroides tardi-orogénicos (formados entre os 345 e 230 milhões de anos), vulgarmente designados por granitos da Beira (Pereira *et al.*, 1999) constituindo assim a geologia da região uma fonte natural deste elemento químico.

O urânio apresenta-se geralmente na forma de óxidos insolúveis ou na forma de UO_2^{2+}, podendo estas espécies químicas complexar com a MOD ou outros compostos inorgânicos como, por exemplo, carbonatos (Bednar *et al.*, 2007). Os complexos com a MOD podem constituir um factor de mobilidade do UO_2^{2+} no meio ambiente e consequentemente um factor relevante na qualidade da água para consumo humano. Deste modo, reveste-se de relevância o conhecimento, quer sob o ponto de vista ambiental quer sobre o ponto de vista da saúde pública, do papel que cada uma das fracções desempenha na formação dos complexos UO_2^{2+}-MOD.

Na Figura 6.17 está representado o espectro de emissão resultante da titulação da solução de UO_2^{2+} ($5{,}0\times10^{-6}$ $molL^{-1}$) com a fracção colóide, numa variação de concentração desta última entre 0 e 0,9 mgL^{-1}, para um pH constante e igual a 6. A opção por realizar os ensaios a pH 6, decorre do facto das águas na região apresentarem, na generalidade dos casos, um carácter ácido com variações entre 5,5 e 6,5. Para as fracções transfílica e hidrofóbica os efeitos são semelhantes aos observados para a fracção colóide.

Como se pode observar, o aumento da concentração da fracção de MOD induz um fenómeno de *quenching* dos espectros de emissão do ião UO_2^{2+}. O fenómeno de *quenching* resulta da formação de complexos não fluorescentes entre o ião e sítios ligantes da fracção colóide, como grupos carboxílicos e hidroxílicos (Esteves da Silva *et*

al., 1996a; Esteves da Silva *et al.*, 1998C). O mesmo comportamento é obtido para a fracção transfílica e hidrofóbica, dado que para ambas as fracções a interacção com o uranilo é efectuada através do mesmo tipo de grupos funcionais.

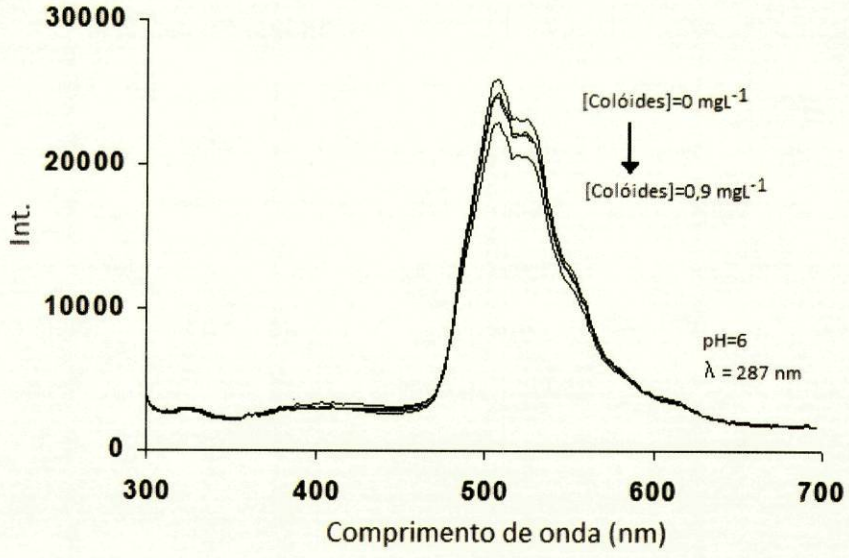


Figura 6.17 Espectros de emissão de fluorescência do ião UO_2^{2+} ($5{,}0\times10^{-6}$ molL^{-1}) em função da concentração da fracção colóide.

A Figura 6.18 mostra um exemplo dos perfis de *quenching* obtidos para os complexos formados pelas fracções de MOD com o UO_2^{2+} a pH 6. Os perfis mostram uma diminuição ligeira da fluorescência, sendo que os perfis de *quenching* permitem estimar as constantes de complexação condicionais. Como se observa pela Figura 6.19, esta equação origina representações lineares, embora com um fraco ajuste, que podem ser aplicadas à equação de Stern-Volmer.

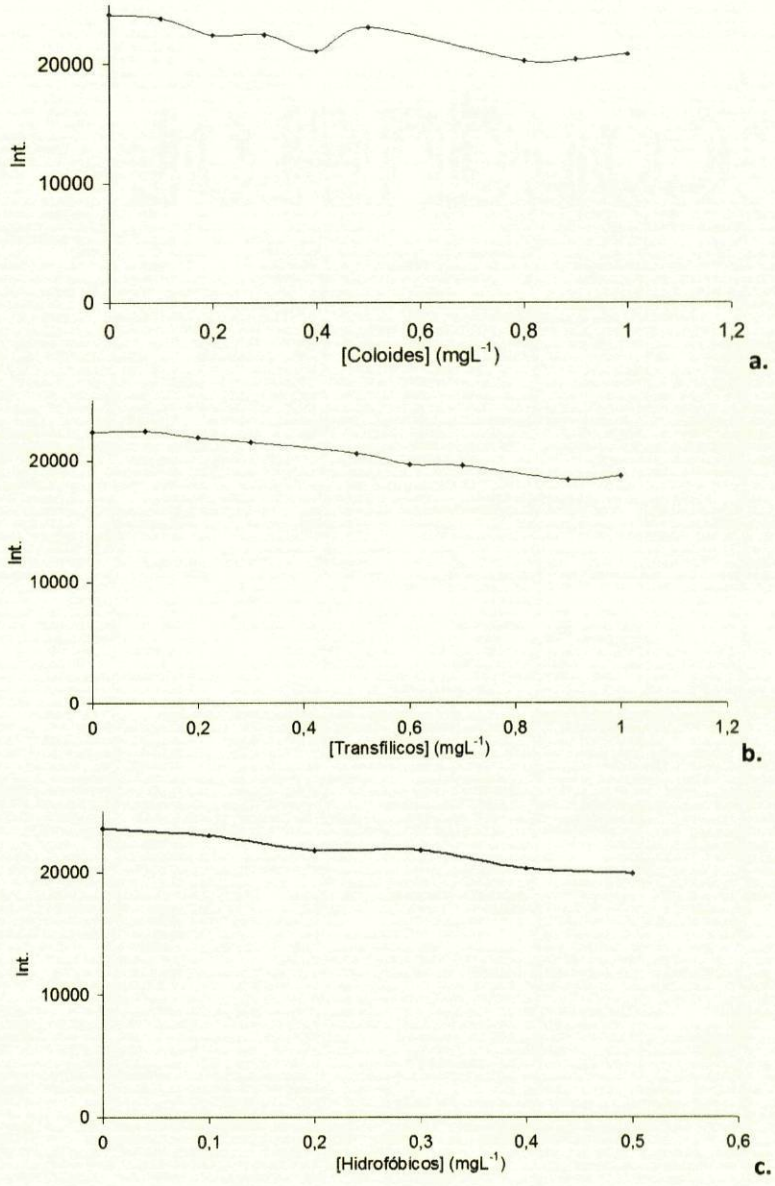


Figura 6.18 Perfis de *quenching* do ião UO_2^{2+} em função da concentração da fracção colóide (a), transfílica (b) e hidrofóbica (C) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

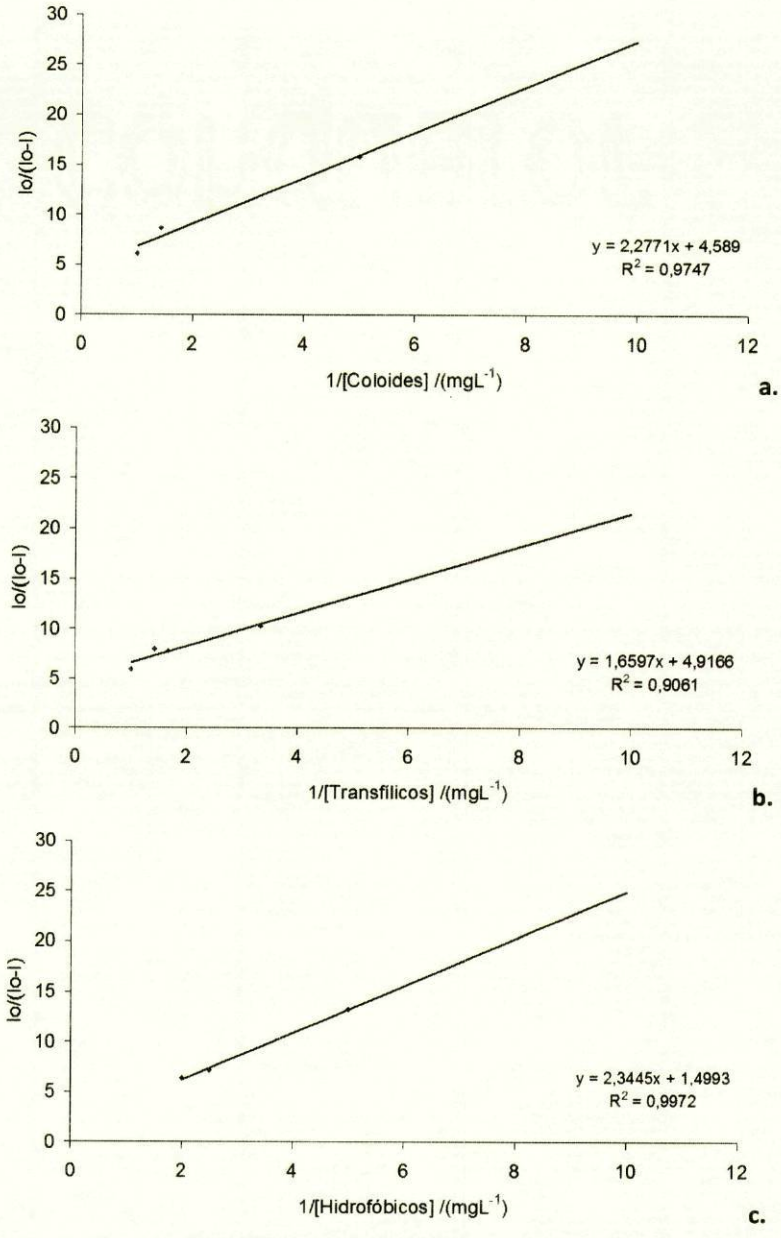


Figura 6.19 Representação de Stern-Volmer das fracções de MOD: colóide (a), transfílica (b) e hidrofóbica (c) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}).

Na Tabela 6.3 apresentam-se os resultados obtidos por aplicação do método gráfico em que a análise dos resultados permite concluir que as constantes de formação condicional são relativamente baixas não sendo previsível que a complexação com estas fracções desempenhe um papel relevante na mobilidade do uranilo no meio ambiente, pelo menos para valores de pH 6. É que, para este pH, o ião

encontra-se hidrolisado, sendo a espécie química predominante $(UO_2)_2(OH)_2^{2+}$, a qual pode ser precipitada em solução ou ser adsorvida a sólidos ou a espécies colóides (Choppin, 2005).

Tabela 6.3 Valores médios das constantes de estabilidade condicional (log K) e respectivos desvios padrão para o complexo formado pelo ião UO_2^{2+} (5.0×10^{-6} M) com as fracções de MOD pelo método de Stern-Volmer a pH 6, 25 °C (μ=0,1 $molL^{-1}$). *

Fracção de MOD	Log K	R^2	Np	Δ[MOD] (mgL^{-1})
Colóide	0,92 (0,07)	0,97	5	0,1 – 0,9
Transfílica	0,99 (0,12)	0,91	5	0,1 – 0,9
Hidrofóbica	0,79 (0,04)	0,99	5	0,1 – 0,9

* As constantes de formação para o ião UO_2^{2+} foram obtidas a partir da realização de 3 titulações.

6.5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que os AF presentes no solo (AFs1 e AFs2) e na água (AFa1 e AFa2) apresentam constantes de estabilidade condicionais elevadas com os iões estudados (Cu(II), Cd(II), Pb(II), Fe(III), Al(III), e Hg(II)). Tal permite afirmar que estas moléculas podem desempenhar um papel relevante na complexação destes catiões livres no meio ambiente, principalmente para valores de pH mais elevados. Tendo em consideração a solubilidade dos AF para qualquer valor de pH e a estabilidade dos complexos formados podemos também constatar a importância destas moléculas na distribuição dos iões pelo meio ambiente e a sua acção numa eventual diminuição da toxicidade, por "sequestro" dos elementos químicos, por longos períodos de tempo. É de prever também, que para outros catiões, pelo menos com propriedades químicas análogas, os AF apresentem comportamento idêntico. A complexação dos catiões metálicos com os AF pode facilitar a mobilidade dos iões metálicos através do meio ambiente e também para as ETA com a consequente perda de qualidade e o aumento do risco para a saúde pública.

Dos resultados, é ainda possível verificar, que as constantes de estabilidade condicional dos complexos formados com o ião Cu(II), obtidas por métodos electroquímicos, são superiores às obtidas por fluorescência. Este facto mostra que no processo de complexação dos iões participam, além de grupos funcionais com propriedades fluorescentes, outros grupos que não as possuem e que, como tal não podem ser detectadas e contabilizadas no cálculo para a determinação da constante. É que, para além de estruturas ligantes aromáticas, existem nas moléculas de AF estruturas ligantes alifáticas não fluorescentes. Pelo contrário, a técnica potenciometria ao detectar de forma indirecta, por determinação da concentração do ião livre, a concentração do ião complexado, permite a contabilização de todos os grupos funcionais que participam na ligação (Esteves da Silva e Oliveira, 2002). Assim, as estimativas obtidas por fluorescência molecular serão sempre mais pequenas porque apenas se referem a uma fracção dos sítios ligantes dos AF.

Outro aspecto relevante dos resultados prende-se com o facto de que, as constantes de estabilidade obtidas para as amostras de AF do solo e da água apresentarem valores muito semelhantes. Tal pode ser um indício de que, embora os AF possam ter origem diversa (solo ou água), os processos de humificação apresentam vias semelhantes que originam estruturas reactivas do mesmo tipo, com a presença do mesmo tipo de grupos funcionais embora em proporções variáveis.

Relativamente às constantes de estabilidade condicional obtidas para os complexos formados entre as fracções de MOD e o UO_2^{2+} e dado que estas apresentam valores relativamente pequenos para as condições experimentais em que os ensaios decorreram, não é de prever que a MOD desempenhe um papel muito relevante na mobilidade deste catião no meio ambiente.

6.6 BIBLIOGRAFIA

Bednar, A. J., Medina V. F., Ulmer-Scholle, D. S., Frey, B. A., Johnson, B. L., Brosto, W.N., Larson, S.L. (2007) Effects of organic matter on the distribution of uranium in soil and plant matrices, Chemosphere, 70, 237–247.

Bertoncini, E. I., D'Orazio, V., Senesi, N., Mattiazzo, M. E. (2005) Fluorescence analysis of humic and fulvic acids from two Brazilian oxisols as affected by biosolid amendment, Anal. Bioanal. Chem., 381, 1281–1288.

Casassas, E., Marques, I., Tauler, R. (1995) Study of acid-base properties of fulvic acids using fluorescence spectrometry and multivariate curve resolution methods, Anal. Chim. Acta, 310, 473-484.

Chen, J., LeBoeuf, E. J., Dai, S., Gu, B. (2003) Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions, Chemosphere, 50, 639–647.

Choppin, G. R. (2005) Actinide Science: Fundamental and Environmental Aspects, J. Nucl. Radiochem. Sci., 6, 1-5.

Elkins, K. M., Nelson, D. J. (2001) Fluorescence and FT-IR spectroscopic studies of Suwannee river fulvic acid complexation with aluminum, terbium and calcium, J. Inorg. Biochem., 87, 81-96.

Elkins, K. M., Nelson, D. J. (2002) Spectroscopic approaches to the study of the interaction of aluminum with humic substances, Coord. Chem. Rev., 228, 205-225.

Esteves da Silva, J. C. G. (1994) Acid-Base and metal ion complexation properties of humic susbtances studied by chemometric analysis of spectroscopic-potentiometric hyphenated data, Tese de Doutoramento, Universidade do Porto, Porto (Portugal).

Esteves da Silva, J. C. G., Machado, A. A. S. C. (1995) Evolving factor analysis of synchronous fluorescence spectra of humic substances in the presence of Cu(II), Chemom. Intell. Lab. Syst., 27, 115-128.

Esteves da Silva, J. C. G., Machado, A. A. S. C., Silva, C. S. P. C. O. (1996a) Simultaneous use of evolving factor analysis of fluorescence spectral data and analysis of pH titration data for comparison of the acid-base properties of fulvic acids Anal. Chim. Acta, 318, 365-372.

Esteves da Silva, J. C. G., Machado, A. A. S. C. (1996b) Characterization of the binding sites for Al(III) and Be(II) in a sample of marine fulvic acids, Mar. Chem., 54, 293-302.

Esteves da Silva, J. C. G., Machado, A. A. S. C., Oliveira, C. J. S. (1997) Study of the interaction of Al(III) with a soil fulvic acid in the acid pH range by self-modeling mixture analysis of synchronous fluorescence spectral data, Anal. Chim. Acta, 349, 23-31.

Esteves da Silva, J. C. G., Herrero, A. I., Machado, A. A. S. C., Barrado, E. (1998a) Effect of the pH on the Complexation of Cu(II), Ni(II) and Fe(III) Ions by a Vine Leaf Litter Extract by Fluorescence Quenching, Mikrochim. Acta, 130, 63-69.

Esteves da Silva, J. C. G., Machado, A. A. S. C., Ferreira, M. A., Rey, F. (1998b) Study of the acid-base properties of leaf litter extracts, Fresenius J. Anal. Chem., 361, 479–486.

Esteves da Silva, J. C. G., Machado, A. A. S. C., Ferreira, M. A., Rey, F. (1998c) Method for the Differentiation of Leaf Litter Extracts and Study of Their Interaction with Cu(II) by Molecular Fluorescence, Can. J. Chem., 76, 1197-1209.

Esteves da Silva, J. C. G., Oliveira, C. J. S. (2002) Metalion complexation properties of fulvic acids extracted from composted sewage sludge as compared to a soil fulvic acid, Water Res., 36, 3404-3409.

Esteves da Silva, J. C. G., Tavares, M. J. C. G., Tauler, R. (2006) Multivariate curve resolution of multidimensional excitation–emission quenching matrices of a Laurentian soil fulvic acid, Chemosphere, 64, 1939–1948.

Gaffney, J. S., Marley, N. A., Clark, S. B. (1996) Humic and fulvic acids: isolation, structure, and environmental role, American Chemical Society, Washington (USA).

Lakshman, S., Mills, R., Fang, F., Patterson, H., Cronan, C. (1996) Use of fluorescence polarization to probe the structure and aluminum complexation of three molecular weight fractions of a soil fulvic acid, Anal. Chim. Acta, 321, 113-119.

Larrivee, E. M., Elkins, K. M., Andrews, S. E., Nelson, D. J. (2003) Fluorescence characterization of the interaction of Al^{3+} and Pd^{2+} with Suwannee River fulvic acid in the absence and presence of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, J. Inorg. Biochem., 97, 32–45.

Oliveira, C. J. S. (2000) Caracterização de Ácidos Fúlvicos Extraídos de Resíduos Reciclados por Actividades Agrícolas, Tese de Doutoramento, Universidade do Porto, Porto (Portugal).

Pereira, A. J. S. C., Neves, L. J. P. F., Godinho, M. M. (1999) Suportes do urânio no granito das Beiras – Implicações para o potencial de emanação do radão, II Congresso Ibérico de Geoquímica – XI Semana de Geoquímica, Lisboa (Portugal).

Plaza, C., D'Orazio, V., Senesi, N. (2005) Cooper(II) complexation of humic acids from the first generation of EUROSOILS by total luminescence spectroscopy, Geoderma, 125, 177-186.

Smith, D. S., Kramer, J. R. (2000) Multisite metal binding to fulvic acid determined using multiresponse fluorescence, Anal. Chim. Acta, 416, 211–220.

7 ESPECIAÇÃO QUÍMICA

7.1 INTRODUÇÃO

A composição química dos sistemas aquáticos é bastante complexa uma vez que estes podem conter uma grande variedade de substâncias químicas de origem orgânica e inorgânica. Os constituintes presentes vão desde iões inorgânicos hidratados até colóides hidrofóbicos e hidrofílicos passando por macroestruturas químicas de origem animal e vegetal e seus produtos de degradação que desempenham um papel fundamental na regulação química da água. Nos sistemas naturais qualquer ião metálico pode ser encontrado sob diferentes formas, nomeadamente no estado livre (hidratado), complexado por ligandos (inorgânicos ou orgânicos) ou por estruturas macromoleculares de origem natural, colóides, adsorvidos ou suspensos a partículas orgânicas ou inorgânicas (Stum e Morgan, 1981).

Deste modo, a distribuição, mobilidade e biodisponibilidade dos metais em sistemas aquáticos dependem, entre outros, do grau e da natureza da sua associação às substâncias com capacidade de formarem complexos (ligandos). Alguns agentes complexantes presentes nas águas naturais são constituídos por moléculas heterogéneas e polifuncionais tais como as SH. Estas substâncias apresentam locais complexantes que podem designar-se de "duros" (grupos carboxílicos e fenólicos) e "moles" (grupos contendo enxofre) fazendo destas moléculas importantes ligandos para um grande número de iões metálicos, numa gama alargada de concentrações e de pH. O conhecimento da distribuição dos iões nas suas diferentes formas químicas, especiação, é essencial para entender e prever os ciclos biogeoquímicos e os seus efeitos biológicos. Infelizmente, a determinação dos parâmetros químicos que determinam a complexação dos metais por estruturas ligantes presentes nos sistemas naturais, como por exemplo os AF apresentam algumas dificuldades relacionadas com a complexidade estrutural destes compostos. Devido ao elevado número de sítios ligantes presentes nestas moléculas a natureza da ligação está muito dependente da relação de concentração entre o metal e o ligando. Como tal, é necessário que as

simulações de especiação química ocorram sob condições similares às que se encontram no meio que se pretende simular, o que nem sempre é fácil de concretizar.

A realização de simulações computacionais da especiação química estão actualmente mais facilitadas porque estão disponíveis programas informáticos que permitem a realização destes estudos. Por exemplo, o programa GEOCHEM (Sposito e Mattigod, 1980) ao qual foi incorporada a componente da interacção metal-humatos (Giesy *et al.*, 1986), o programa PHREEQE (Parkhurst *et al.*, 1980) que inclui a possibilidade de incorporar um modelo discreto (Mountney e Williams, 1992) e interacções electrostáticas (Falck, 1991; Bryan *et al.*, 1997), o ECOSAT (Keizer e van Riemsdijk, 1999) que inclui o modelo de NICCA–DONNAN (Kinniburgh *et al.*, 1999), o WHAM (Tipping, 1994; Dwane e Tipping, 1998) que incorpora modelos discretos de ligandos (Tipping e Hurley, 1992; Tipping, 1998), ou o MINTEQA2 disponibilizado pela USEPA (Allison *et al.*, 1991; Allison e Perdue, 1994) e largamente usado pela comunidade académica em estudos de especiação. No desenvolvimento desta dissertação foi usado o programa informático CHEAQS Pro (Verweij, 2005) o qual é de livre acesso (http://home.tiscali.nl/cheaqs/index.html), apresentando uma interacção intuitiva com o utilizador e uma grande facilidade na sua manipulação. Possibilitando igualmente que a sua base de dados possa ser actualizada ou modificada de acordo com as necessidades ou objectivos do utilizador.

7.2 PROGRAMA CHEAQS

A simulação computacional para determinação da especiação química dos catiões Cd(II), Cu(II), Fe(III), Al(III), Pb(II) e Hg(II) na água da albufeira foi efectuada através do programa informático CHEAQS Pro (*Chemical Equilibria in Aquatic Systems*) versão 2007.1, desenvolvido por Wilko Verweij.

O CHEAQS é um programa que permite calcular o equilíbrio químico em sistemas aquáticos e que inclui uma base de dados contendo informação sobre

complexos, equilíbrios redox, equilíbrios de gases em solução, constantes de saturação e de adsorção de catiões e ligandos. As constantes de equilíbrio das diferentes reacções em meio aquoso utilizadas no programa são obtidas a partir das compilações do NIST (NIST 46 de 2004) as quais se baseiam nos dados de Martell e Smith (Martell e Smith, 1974, 1977, e 1982; Smith e Martell, 1975, 1976, e 1989). Apesar da base de dados, existem muitas reacções e respectivas constantes de estabilidade que podem não estar incorporadas no programa. Quando tal ocorre é possível aceder ao programa e incorporar novos dados ou proceder à alteração dos existentes.

Numa primeira fase do processo de modelação da especiação química, é necessário efectuar a selecção dos equilíbrios químicos que se adequam ao sistema em causa. O equilíbrio químico da água é obrigatoriamente incluído, não podendo este ser omitido no processo de simulação. Situação semelhante ocorre com os equilíbrios que envolvam a formação de complexos em que quer o catião quer o ligando apresentem uma concentração diferente de zero. As reacções de oxidação-redução só serão incluídas se essa opção for seleccionada, sendo necessário incorporar um valor para o potencial redox. O mesmo ocorre para os equilíbrios de gases dissolvidos com o meio aquoso, fenómenos de adsorção, ou processos de saturação. A incorporação de complexos formados entre ligandos orgânicos, como por exemplo a complexação do carbono orgânico dissolvido com iões metálicos, pode ser incorporada no processo de simulação sendo necessária a sua selecção e a incorporação da concentração do valor do carbono orgânico dissolvido. Neste tipo de simulação é utilizado o modelo de Cabaniss e Shuman (1988) podendo ser apenas considerada a formação de complexos com o ião cobre ou ainda a extrapolação para outros catiões com duas e/ou três cargas eléctricas. É necessário referir que os valores usados no programa são baseados em dados experimentais obtidos a partir da matéria orgânica extraída do rio *Suwannee* (USA), nomeadamente de titulações com o ião cobre. No ajuste dos resultados experimentais obtidos foi considerado um modelo empírico da molécula orgânica com cinco sítios ligantes. A capacidade de complexação do ião cobre com os AF

provenientes desse rio é de $1,6x10^{-5}$ $molL^{-1}$ por cada mg de C. Contudo, quando extrapolado para matéria orgânica isolada de outras fontes o valor apresenta-se demasiadamente elevado sendo recomendado o uso de metade desse valor (Cabaniss e Shuman, 1988b). No entanto, o cobre não é o único metal que pode complexar com a matéria orgânica dissolvida na água, tendo sido considerada no programa a possibilidade de complexação com outros metais. Contudo, o procedimento adoptado não foi baseado em qualquer tipo de medição, tendo sido apenas testado para o elemento zinco (Janssen e Verweij, 2003). Para complexos inorgânicos foi demonstrado que a constante de estabilidade segue uma sequência: ordem de Irving-Willians, Mn(II)< Fe(II)< Co(II)< Ni(II)< Cu(II)< Zn(II) (Turner *et al.*, 1981). A afinidade dos metais com a matéria orgânica segue, na generalidade, a ordem de Irving-Willians (Salomons e Forstner, 1984), sugerindo que a complexação com a MOD segue igualmente a mesma ordem. No CHEAQS esta relação foi extrapolada para todos os metais e não apenas para os da ordem de Irving-Willians, nomeadamente para o Hg(II), Fe(III), Cd(II), Cu(II), Pb(II), ou Al(III) cujas constantes condicionais de complexação com os AF (log β) são 4,68; 4,83; 5,21; 5,99; 5,72; e 6,65, respectivamente (obtidas segundo a metodologia referida no capítulo 6).

O processo de adsorção faz uso do modelo de superfície de complexação (Schindler e Stumm, 1987). Neste modelo aceita-se que existe uma relação entre as constantes de hidrólise e as constantes de adsorção. Deste modo, as constantes de adsorção para metais são obtidas a partir das constantes de hidrólise considerando uma valência igual a dois ou três. Esta aproximação foi usada para preencher a base de dados do programa com as constantes de adsorção dos metais considerados.

A correcção da actividade iónica é necessária, visto que, as constantes de equilíbrio intrínsecas consideradas no programa são apenas válidas para uma temperatura de 25 °C e soluções diluídas (força iónica igual a zero). É de referir que o programa não permite qualquer correcção do factor temperatura. Relativamente à correcção da força iónica, esta é realizada através da utilização da equação de Davies

(Stumm e Morgan, 1981), a qual é aplicável para forças iónicas inferiores a 0,5 $molL^{-1}$ e que permite o cálculo dos coeficientes de actividade.

$$\log f = A \times Z^2 \left(\frac{\sqrt{I}}{1+\sqrt{I}} - 0{,}3 \times I \right) \tag{6.1}$$

Na expressão (6.1), A é igual a -0,5079, Z é a carga do ião e I é a força iónica, a qual pode ser calculada pela relação indicada na equação (6.2).

$$I = \frac{1}{2} \sum C \times Z^2 \tag{6.2}$$

Para esta última expressão, C representa a concentração dos iões.

É importante referir que existem algumas limitações na utilização deste modelo. Desde logo, trata-se dum modelo para o qual não é evidente que se possa extrapolar directamente a utilização de dados obtidos com matéria orgânica de origem diferente da do modelo testado. Existe também algumas limitações na simulação de modelos, nomeadamente na gama de valores de pH a utilizar (entre 5 e 8), para a concentração de ião Cu(II) entre $1x10^{-7}$ e $1x10^{-4}$ $molL^{-1}$, e para carbono orgânico dissolvido entre 1 e 10 mgL^{-1}. Assim, é necessária prudência na análise dos resultados obtidos. Para o cobre, a simulação deve ser apenas realizada na gama de concentrações especificadas e para os restantes metais pode ser feita uma interpretação, meramente indicativa.

7.2.1 MODELO DE CABANISS E SHUMAN

Cabaniss e Shuman (1988a, 1988b) concluíram que os dados experimentais obtidos pela complexação Cu(II)-AF, podem ser usados para modelar a interacção Cu(II)-MOD assumindo que apenas 50% do carbono (em peso) da MOD é importante

na complexação. O modelo empírico permite também a comparação entre os AF obtidos a partir do rio *Suwannee* com AF ou MOD proveniente de outros locais, para uma gama alargada de concentrações de Cu(II), carbono orgânico dissolvido, pH e para uma força iónica de 0,1 $molL^{-1}$. O modelo foi calibrado para uma gama de pH de 5 a 8,5; pCu_T entre 7 e 4; e um COD entre 1 e 10 mgL^{-1}. É possível interpolar a força iónica entre 0,1 e 0,005 $molL^{-1}$ se o pH do meio for próximo de 7, embora se deva referir que o modelo não é preciso para valores de força iónica inferiores a 0,1 e para outros valores de pH. O modelo também não pode ser aplicado a fenómenos de adsorção ou precipitação química, os quais podem ocorrer para concentrações de cobre mais elevadas.

O modelo mais simples da interacção Cu(II)-MOD assume apenas a existência dum sítio ligante na molécula (C_T). Na existência de interacções entre os sítios ligantes e para uma estequiometria do tipo 1:1 (metal:ligando) a expressão da constante de formação é dada pela expressão (6.3).

$$K_{Cu} = \frac{[CuL]}{[Cu][L]} \tag{6.3}$$

A equação (6.3) pode ser rearranjada, tendo em consideração que C_T representa a concentração total do ligando. Então a concentração do ião Cu(II) no estado complexado ([CuL]) pode ser dada por:

$$[CuL] = \frac{[C_T][Cu]K_{Cu}}{1+[Cu]K_{Cu}} \tag{6.4}$$

Assumindo que os sítios ligantes presentes na MOD apresentam propriedades físico-químicas diferentes, a concentração do Cu(II) complexado deve ser expressa

assumindo a contribuição de cada sítio ligante. Assim, considerando a existência de N sítios ligantes, podemos escrever a equação (6.4) do seguinte modo:

$$[CuL] = \sum_{i=1}^{N} \frac{[C_i][Cu]K_{Cui}}{1+[Cu]K_{Cui}} \qquad (6.5)$$

O modelo de Cabaniss e Shuman assume que o valor de N é um inteiro menor que 10 e que a concentração total de sítios ligantes segue uma distribuição normal, relativamente a um valor médio da constante de complexação (μ) e um desvio padrão de σ unidades logarítmicas (Perdue e Lytle, 1983).

Uma vez que o Cu(II) pode estabelecer uma coordenação de até 6 ligandos unidentados, os complexos Cu-MOD podem formar estequiometrias do tipo 1:n, onde n>1. Como tal, e considerando apenas um único sítio ligante presente na MOD, podemos escrever a seguinte expressão:

$$[CuL] = \sum_{J=1}^{P} \beta \left[Cu\right]\left[L^J\right] \qquad (6.6)$$

Onde P representa o número de coordenação do Cu(II) com os sítios com propriedades ligantes da MOD. A interacção entre sítios ligantes da macromolécula é descrita pela expressão:

$$[CuL] = \frac{[C_T][Cu]K_c}{1+[Cu]K_c} \qquad (6.7)$$

Na equação (6.7) a constante aparente (K_c) é o produto de uma constante intrínseca de ligação (K_{int}) e um termo para a atracção electrostática. Assim podemos descrever a constante aparente de acordo com a equação (6.8), onde Ψ representa a

diferença de potencial entre a superfície do AF e o interior da solução, F é a constante de Faraday e R a constante dos gases.

$$pK_c = pK_{\text{int}} - \frac{F\Psi}{2{,}3RT} \tag{6.8}$$

O modelo empírico incorpora ainda um factor de correcção para o aumento do valor de pH da solução, prevendo que a um aumento de pH corresponde um aumento da força de ligação entre o Cu(II) e o ligando. Uma dependência de primeira ordem foi escolhida, sendo que a competição entre o catião e o protão pode ser descrita de acordo com a expressão (6.9).

$$K_{CuH} = \frac{[CuL]\{H\}}{[HL][Cu]} \tag{6.9}$$

Uma equação idêntica pode ser descrita para a competição entre o Cu(II) e os catiões Ca(II), Mg(II), ou Fe(III) pela ligação com o ligando, considerando a formação de um complexo com uma estequiometria do tipo 1:1. No processo de competição pelo sítio ligante, o modelo desenvolvido, assume que cada sítio ligante da MOD é ocupado por um protão, o qual é substituído por um catião Cu(II) no processo de complexação. Assim, considerando apenas um sítio ligante é possível escrever a reacção química de equilíbrio (6.10), na qual são omissas as cargas eléctricas por uma questão de simplificação.

$$HL + Cu \leftrightarrows CuL + H \tag{6.10}$$

Sendo a constante de acidez do sítio ligante descrita por:

$$K_H = \frac{[HL]}{\{H\}[L]} \tag{6.11}$$

Consequentemente a constante de troca metal-protão pode ser descrita da seguinte forma:

$$K_{CuH} = \frac{[CuL]\{H\}}{[HL][Cu]} = \frac{K_{Cu}}{K_H} \tag{6.12}$$

Se o ligando se encontra essencialmente desprotonado ([L]<<[HL]), podemos considerar que, a concentração de Cu(II) no estado complexado pode ser dado pela expressão indicada em (6.13).

$$K_{CuH} = \frac{[C_T][Cu]K_{CuH}}{\{H\} + [Cu]K_{CuH}} \tag{6.13}$$

A competição pelo sítio ligante para outros catiões como, por exemplo, Ca(II) ou Mg(II) é analisado no modelo de forma análoga à da equação anterior. Considerações similares são tomadas para sítios ligantes dipróticos como se pode constatar pela equação (6.14).

$$[CuL] = \frac{[C_T][Cu]K_{CuHH}}{[H]^2 + [Cu]K_{CuHH}} \tag{6.14}$$

Considerando também a possibilidade dum sítio ligante da molécula de MOD interagir com um ião cobre hidrolisado, a equação de hidrólise pode ser descrita da seguinte forma:

$$K_{OH} = \frac{[CuOH]\{H\}}{[Cu]} \tag{6.15}$$

A complexação do ião Cu(II) hidrolisado é descrita pela seguinte expressão:

$$K_{CuOHL} = \frac{[CuOHL]}{[CuOH][L]} = \frac{[CuOHL]\{H\}}{[Cu]K_{OH}[L]} \tag{6.16}$$

Rearranjando a equação anterior, obtemos:

$$[CuOHL] = \frac{[C_T]K_{CuOHL}K_{OH}[Cu]}{\{H\} + K_{CuOHL}K_{OH}[Cu]} \tag{6.17}$$

A equação é idêntica à equação (6.13) excepto que K_{CuH} foi substituída por K_{CuOHL} e K_{OH}. Esta equação pode ser assumida por N sítios ligantes de forma análoga à equação (6.5). O modelo empírico desenvolvido por Cabaniss e Shuman, anteriormente descrito de forma sumária, com base em estudos de complexação Cu(II)-AF (AF provenientes do rio *Suwannee*), considerando a presença de 5 sítios ligantes, permite prever com sucesso os valores de pCu na titulação de AF provenientes de lagos, rios, estuários e solos. Tal parece indicar que a origem dos AF é no geral menos importante do que factores como o pH, alcalinidade e força iónica (Cabaniss e Shuman, 1988b), o que permite encarar a possibilidade do modelo poder ser aplicado na modelação com AF de diferentes origens.

7.3 SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA ESPECIAÇÃO QUÍMICA

Previamente ao processo de simulação computacional é necessário proceder à análise da qualidade da água da albufeira do Caldeirão e determinar as suas principais características físico-químicas. O que, foi efectuado de acordo com as técnicas analíticas referidas, no desenvolvimento experimental. A selecção dos dados e o formato em que estes são introduzidos no programa é outro aspecto que deve merecer algum cuidado e que vamos explicar nos próximos pontos.

7.3.1 PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ÁGUA DA ALBUFEIRA DO CALDEIRÃO

Para a realização da simulação computacional da especiação química na albufeira do Caldeirão foi efectuada a determinação de alguns parâmetros físico-químicos para avaliação da qualidade, nomeadamente para os parâmetros mais significativos e em particular para os que foram objecto de estudo na complexação com os AF. Assim, tal como referido anteriormente foram usadas diferentes técnicas analíticas, tais como a espectroscopia de absorção atómica e a cromatografia iónica, que permitiram determinar a concentração de catiões e aniões na água, como se pode observar pela Tabela 7.1.

Tabela 7.1 Parâmetros determinados na avaliação da qualidade da água da albufeira do Caldeirão.

Parâmetro	Valor	Unidades	Parâmetro	Valor	Unidades
pH	7,1		Fosfatos	0,3	mgL^{-1}
Temperatura	16,3	°C	Sódio	3,7	mgL^{-1}
Condutividade	36,1	µS	Cobre	1,9	μgL^{-1}
O_2 dissolvido	7,2	mgL^{-1}	Zinco	0,7	μgL^{-1}
ORP	321	mV	Ferro	0,2	mgL^{-1}
Fluoretos	0,3	mgL^{-1}	Manganésio	4,7	μgL^{-1}
Cloretos	3,1	mgL^{-1}	Alumínio	0,2	mgL^{-1}
Nitritos	0,06	mgL^{-1}	Chumbo	0,6	μgL^{-1}
Nitratos	1,6	mgL^{-1}	Cádmio	0,2	μgL^{-1}
Brometos	0,08	mgL^{-1}	Níquel	2,7	μgL^{-1}
Sulfatos	2,5	mgL^{-1}	Crómio	0,2	μgL^{-1}
Cálcio	1,0	mgL^{-1}	Mercúrio	0,06	μgL^{-1}
Magnésio	0,6	mgL^{-1}	COT*	3,1	mgL^{-1}
Potássio	0,6	mgL^{-1}	Alcalinidade	9,3	mgL^{-1}

* Resultado fornecido pela empresa Águas do Zêzere e Côa.

Estes resultados correspondem a valores médios encontrados nas várias campanhas de recolha efectuadas ao longo do ano de 2007. Estes resultados comparam com a maioria dos valores disponibilizados pelo SNIRH (Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos) no período compreendido entre 2001 e 2006 (http://snirh.pt/snirh.php?main_id=2, acedido em Novembro de 2007).

7.3.2 CONFIGURAÇÃO DO PROGRAMA CHEAQS

Após a avaliação da qualidade da água da albufeira, é necessário introduzir os dados no programa, para que este possa reflectir, na simulação da especiação química, as características da água da albufeira. Assim, e tendo em consideração os resultados obtidos para a concentração dos catiões e aniões analisados e referidos na Tabela 7.1, foram introduzidas no programa as concentrações de aniões e catiões, como exemplificado na Tabela 7.2 e na qual aquelas são apresentadas em molaridade, de acordo com o formato apresentado pelo programa. É de referir que existem algumas opções relativamente às unidades em que se pode proceder à introdução das concentrações dos catiões e ligandos (gL^{-1}, mgL^{-1}, μgL^{-1}, $molL^{-1}$, $mmolL^{-1}$, entre outras) sendo que, por defeito, o programa apresenta a concentração total final em $molL^{-1}$. A concentração usada para a simulação da especiação química nas águas da albufeira do Caldeirão, e tendo em consideração os valores de COT, variou entre 0,2 e 200 mgL^{-1} (0,2; 2; 20, e 200 mgL^{-1}).

Foram também considerados na simulação os equilíbrios oxidação-redução, pelo que foi seleccionada a opção *Include redox equilibria* e introduzido o valor do potencial de oxidação-redução (321 mV). O programa permite ainda a introdução da concentração de espécies químicas no estado sólido (MnO_2, Cu, PbO_2, S) e no estado gasoso (CO_2, H_2S, NH_3, SO_2), o qual não foi efectuado e consequentemente o programa não os considerou no cálculo da especiação.

Tabela 7.2 Concentrações ($molL^{-1}$) introduzidas de catiões e ligandos usadas no programa CHEAQS para a simulação da especiação química da água da albufeira do Caldeirão.

Catiões	Concentração ($molL^{-1}$)	Ligandos	Concentração ($molL^{-1}$)
H^+	$1,0x10^{-7}$	NO_2^-	$4,3x10^{-6}$
Na^+	$1,6x10^{-4}$	NO_3^-	$1,1x10^{-4}$
Mg^{2+}	$2,5x10^{-5}$	F^-	$1,6x10^{-5}$
Al(III)	$8,8x10^{-6}$	PO_4^{2-}	$3,2x10^{-6}$
K^+	$1,5x10^{-5}$	SO_4^{2-}	$7,8x10^{-5}$
Ca^{2+}	$2,5x10^{-5}$	Cl^-	$8,7x10^{-5}$
Cr(II)	$5,1x10^{-9}$	Br^-	$1,0x10^{-6}$
Mn(II)	$8,5x10^{-8}$		
Fe(III)	$4,1x10^{-6}$		
Ni(II)	$4,6x10^{-8}$		
Cu(II)	$3,0x10^{-8}$		
Zn(II)	$1,0x10^{-8}$		
Cd(II)	$1,3x10^{-9}$		
Hg(II)	$2,8x10^{-10}$		
Pb(II)	$3,1x10^{-9}$		

Uma vez que o programa não possui dados sobre constantes de estabilidade dos complexos formados entre os catiões Al(III), Fe(III), Cu(II), Cd(II), Hg(II) e Pb(II) e os AF é necessário a introdução desses valores tendo por base as constantes de estabilidade condicionais determinadas no capítulo anterior e considerando uma estequiometria do tipo 1:1. Para os iões Cu(II), Cd(II) e Pb(II) usaram-se os valores médios obtidos para as amostra de AF extraídas da água (a pH 6 e força iónica de 0,1 $molL^{-1}$); para os iões Fe(III), Al(III)e Hg(III) utilizaram-se os valores obtidos para os valores de pH 4, 5 e 6, respectivamente. Na Tabela 7.3 estão indicados os valores das constantes de estabilidade condicionais utilizadas e as respectivas constantes de equilíbrio intrínsecas, calculadas pelo programa em função da força iónica a que foi realizado o ensaio de determinação da constante. É também necessário introduzir a componente (AF) na base de dados do programa e a respectiva massa molecular (1358 $gmol^{-1}$), valor médio obtido a partir das amostras AFa1 e AFa2 e que se encontram indicados na Tabela 4.6 do capítulo 4 (Caracterização das fracções de MOD).

Tabela 7.3 Logaritmo das constantes de equilíbrio condicional e intrínseca dos complexos formados pelos catiões Al(III), Fe(III), Cu(II), Cd(II), Hg(II) e Pb(II) com os AF extraídos da água da albufeira do Caldeirão.

Complexo	Const. Eq. Condicional	Const. Eq. Intrínseca *
Al(III)(AF)	6,65	6,0
Fe(III)(AF)	4,83	4,0
Cu(II)(AF)	5,99	5,0
Cd(II)(AF)	5,21	5,0
Hg(II)(AF)	4,68	4,0
Pb(II)(AF)	5,72	5,0

* Calculada pelo programa em função da força iónica em que decorreram as determinações (0,1 $molL^{-1}$).

Por fim, e com o objectivo de comparar os resultados da especiação química obtida pela simulação na presença de AF com a especiação obtida, nas mesmas condições, mas fazendo uso do modelo de Cabaniss e Shuman, sobre a complexação com MOD, foi seleccionada a opção *Include organic complexation*. Neste caso foi necessário introduzir a concentração de carbono orgânico (mgL^{-1} de C) tendo sido usado o valor referenciado na Tabela 7.1. O modelo de Cabaniss e Shuman aplicado especificamente à complexação da MOD com o Cu(II) pode neste programa ser extrapolado para outros catiões, tendo por nossa opção sido realizada a simulação com catiões com duas e três cargas eléctricas. É de referir que a extrapolação efectuada para outros catiões que não o Cu(II) carece de dados experimentais.

7.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.4.1 INFLUÊNCIA DOS AF DA ALBUFEIRA DO CALDEIRÃO NA ESPECIAÇÃO QUÍMICA

Os valores obtidos para a especiação e respectivas percentagens das substâncias químicas totais e dissolvidas, tendo em consideração os valores referenciados na Tabela 7.1 e na concentração de AF (variação entre 0,2 e 200 mgL^{-1}) estão indicados da Tabela 7.4 à Tabela 7.7. Está também indicado da Figura 7.1 à Figura 7.4 a representação gráfica das principais espécies químicas presentes e

respectivos valores percentuais, para as condições ambientais mencionadas anteriormente. Como se pode observar, o aumento da concentração de AF (de 0,2 a 200 mgL^{-1}) não altera de forma significativa a especiação verificada para os iões Al(III), Fe(III) e Hg(II). Para o cobre verifica-se uma diminuição da percentagem do ião Cu(II) no estado livre, no estado sólido e na forma de hidróxidos. Simultaneamente, regista-se um aumento da percentagem da espécie química Cu(II)-AF. O Cd(II), tal como o Pb(II), seguem a mesma tendência evidenciada pelo Cu(II). Assim, verifica-se uma forte diminuição do Cd(II) no estado livre, e das espécies químicas do $Cd(OH)^+$ e $Cd(OH)_2$, e um forte aumento do Cd(II) complexado com AF. Relativamente ao Pb(II) regista-se uma forte diminuição da espécie química $Pb(OH)^+$ e $Pb(OH)_2$ e uma pequena diminuição do Pb(II) livre. Pelo contrário, o Pb(II)-AF aumenta de forma acentuada.

Os resultados obtidos em cada uma das simulações efectuadas são o resultado das constantes de estabilidade. Assim, a presença de espécies químicas predominantes como, por exemplo, os compostos formados entre os catiões Fe(III), Cu(II), Hg(II) e Pb(II) com hidróxidos, são resultado das constantes de estabilidade elevadas (valores de log K entre 10 e 30) quando comparadas com as constantes observadas para os complexos formados com os AF (ver Tabela 6.2). Para a simulação com o ião Cd(II), cujas constantes de estabilidade com diversos aniões, nomeadamente os hidróxidos, apresentam valores da mesma ordem de grandeza dos observados para o complexo Cd(II)-AF, verifica-se a presença de uma elevada percentagem do ião no estado livre, a qual vai diminuindo à medida que a concentração de AF aumenta, nomeadamente a partir de valores iguais ou superiores a 20 mgL^{-1} de AF. Este comportamento divergente relativamente aos restantes catiões pode ser explicado pelas diferenças existentes nas constantes de formação entre os catiões e os aniões presentes no meio hídrico.

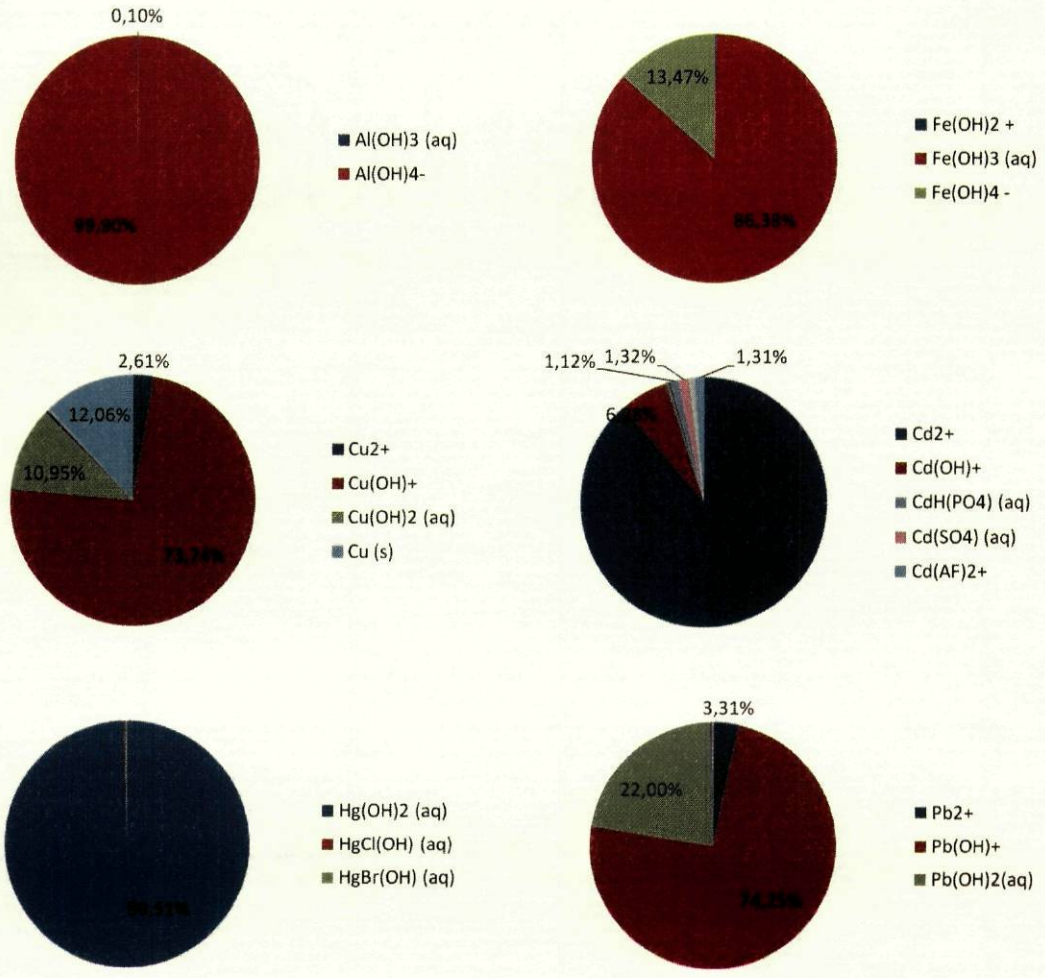


Figura 7.1 Representação gráfica das espécies químicas presentes de alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo considerando uma concentração de AF de 0,2 mgL^{-1}.

Tabela 7.4 Especiação dos elementos químicos alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 0,2 mgL^{-1}.

Espécie química	Concentração	% Dissolvida	% Total
Alumínio			
$Al(OH)_3$ (aq)	8,909E-009 M	0,10%	0,10%
$Al(OH)_4^-$	8,768E-006 M	99,90%	99,90%
Ferro			
$Fe(OH)_2^+$	5,999E-009 M	0,15%	0,15%
$Fe(OH)_3$ (aq)	3,547E-006 M	86,38%	86,38%
$Fe(OH)_4^-$	5,532E-007 M	13,47%	13,47%
Cobre			
Cu^{2+}	7,816E-010 M	2,97%	2,61%
$Cu(OH)^+$	2,205E-008 M	83,86%	73,74%
$Cu(OH)_2$ (aq)	3,274E-009 M	12,45%	10,95%
$Cu(OH)_3^-$	1,019E-010 M	0,39%	0,34%
$Cu_2(OH)_2^{2+}$	1,615E-011 M	0,12%	0,11%
$Cu_3(OH)_4^{2+}$	5,287E-013 M	0,01%	0,01%
$Cu(NO_2)^+$	2,374E-012 M	0,01%	0,01%
$CuH(PO_4)$ (aq)	2,592E-011 M	0,10%	0,09%
$Cu(SO_4)$ (aq)	1,136E-011 M	0,04%	0,04%
$Cu(AF)^{2+}$	1,151E-011 M	0,04%	0,04%
Cu (s)	3,606E-009 M		12,06%
Cádmio			
Cd^{2+}	1,183E-009 M	88,65%	88,65%
$Cd(OH)^+$	8,382E-011 M	6,28%	6,28%
$Cd(OH)_2$ (aq)	4,955E-012 M	0,37%	0,37%
$Cd(NO_2)^+$	3,032E-012 M	0,23%	0,23%
$Cd(NO_3)^+$	2,933E-013 M	0,02%	0,02%
CdF^+	2,677E-013 M	0,02%	0,02%
$CdH(PO_4)$ (aq)	1,491E-011 M	1,12%	1,12%
$Cd(SO_4)$ (aq)	1,760E-011 M	1,32%	1,32%
$CdCl^+$	8,951E-012 M	0,67%	0,67%
$CdBr^+$	1,516E-013 M	0,01%	0,01%
$Cd(AF)^{2+}$	1,742E-011 M	1,31%	1,31%
Mercúrio			
$Hg(OH)_2$ (aq)	2,778E-010 M	99,51%	99,51%
HgCl(OH) (aq)	6,446E-013 M	0,23%	0,23%
HgBr(OH) (aq)	7,159E-013 M	0,26%	0,26%
Chumbo			
Pb^{2+}	1,023E-010 M	3,31%	3,31%
$Pb(OH)^+$	2,293E-009 M	74,25%	74,25%
$Pb(OH)_2$(aq)	6,795E-010 M	22,00%	22,00%
$Pb(OH)_3^-$	6,688E-012 M	0,22%	0,22%
$Pb(NO_2)^+$	9,607E-013 M	0,03%	0,03%
PbF^+	2,051E-013	0,01%	0,01%
$PbH(PO_4)$ (aq)	3,209E-013 M	0,01%	0,01%
$Pb(SO_4)$ (aq)	3,182E-012 M	0,10%	0,10%
$PbCl^+$	2,944E-013 M	0,01%	0,01%
$Pb(AF)^{2+}$	1,507E-012 M	0,05%	0,05%
PbO_2 (s)	3,528E-013 M		0,01%

Tabela 7.5 Especiação dos elementos químicos alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 2 mgL^{-1}.

Espécie química	Concentração	% Dissolvida	% Total
Alumínio			
$Al(OH)_3$ (aq)	8,909E-009 M	0,10%	0,10%
$Al(OH)_4^-$	8,768E-006 M	99,90%	99,90%
Ferro			
$Fe(OH)_2^+$	5,999E-009 M	0,15%	0,15%
$Fe(OH)_3$ (aq)	3,547E-006 M	86,38%	86,38%
$Fe(OH)_4^-$	5,532E-007 M	13,47%	13,47%
Cobre			
Cu^{2+}	7,789E-010 M	2,96%	2,61%
$Cu(OH)^+$	2,197E-008 M	83,53%	73,49%
$Cu(OH)_2$ (aq)	3,263E-009 M	12,40%	10,91%
$Cu(OH)_3^-$	1,016E-010 M	0,39%	0,34%
$Cu_2(OH)_2^{2+}$	1,604E-011 M	0,12%	0,11%
$Cu_3(OH)_4^{2+}$	5,233E-013 M	0,01%	0,01%
$Cu(NO_2)^+$	2,366E-012 M	0,01%	0,01%
$CuH(PO_4)$ (aq)	2,583E-011 M	0,10%	0,09%
$Cu(SO_4)$ (aq)	1,133E-011 M	0,04%	0,04%
$Cu(AF)^{2+}$	1,147E-010 M	0,44%	0,38%
Cu (s)	3,593E-009 M		12,02%
Cádmio			
Cd^{2+}	1,059E-009 M	79,33%	79,33%
$Cd(OH)^+$	7,501E-011 M	5,62%	5,62%
$Cd(OH)_2$ (aq)	4,435E-012 M	0,33%	0,33%
$Cd(NO_2)^+$	2,714E-012 M	0,20%	0,20%
$Cd(NO_3)^+$	2,625E-013 M	0,02%	0,02%
CdF^+	2,396E-013 M	0,02%	0,02%
$CdH(PO_4)$ (aq)	1,335E-011 M	1,00%	1,00%
$Cd(SO_4)$ (aq)	1,575E-011 M	1,18%	1,18%
$CdCl^+$	8,010E-012 M	0,60%	0,60%
$CdBr^+$	1,357E-013 M	0,01%	0,01%
$Cd(AF)^{2+}$	1,559E-010 M	11,68%	11,68%
Mercúrio			
$Hg(OH)_2$ (aq)	2,778E-010 M	99,51%	99,51%
HgCl(OH) (aq)	6,446E-013 M	0,23%	0,23%
HgBr(OH) (aq)	7,159E-013 M	0,26%	0,26%
Chumbo			
Pb^{2+}	1,019E-010 M	3,30%	3,30%
$Pb(OH)^+$	2,283E-009 M	73,93%	73,92%
$Pb(OH)_2$(aq)	6,765E-010 M	21,91%	21,90%
$Pb(OH)3^-$	6,659E-012 M	0,22%	0,22%
$Pb(NO_2)^+$	9,565E-013 M	0,03%	0,03%
PbF^+	2,042E-013 M	0,01%	0,01%
$PbH(PO_4)$ (aq)	3,195E-013 M	0,01%	0,01%
$Pb(SO_4)$ (aq)	3,168E-012 M	0,10%	0,10%
$PbCl^+$	2,931E-013 M	0,01%	0,01%
$Pb(AF)^{2+}$	1,500E-011 M	0,49%	0,49%
PbO_2 (s)	3,513E-013 M		0,01%

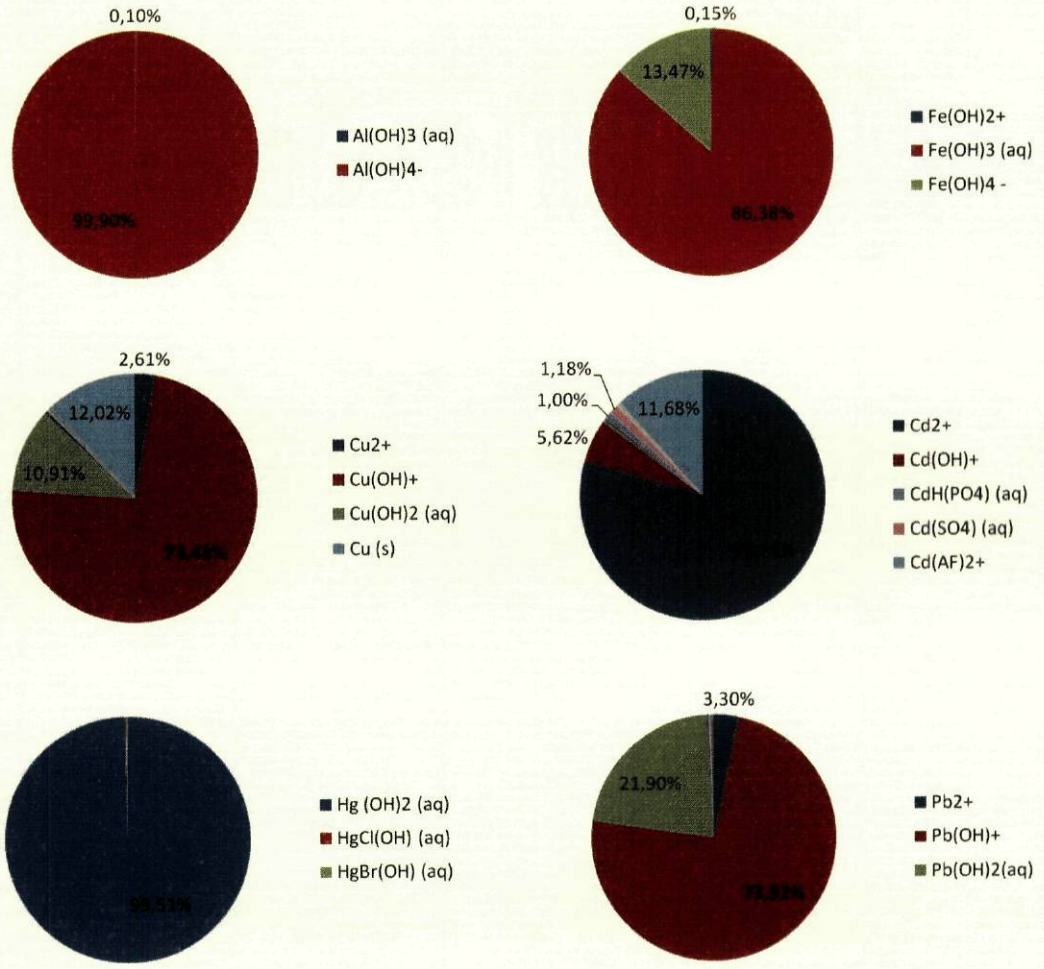


Figura 7.2 Representação gráfica das espécies químicas presentes de alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo considerando uma concentração de AF de 2 mgL^{-1}.

Tabela 7.6 Especiação dos elementos químicos alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 20 mgL^{-1}.

Espécie química	Concentração	% Dissolvida	% Total
Alumínio			
$Al(OH)_3$ (aq)	8,909E-009 M	0,10%	0,10%
$Al(OH)_4^-$	8,768E-006 M	99,90%	99,90%
Ferro			
$Fe(OH)_2^+$	5,999E-009 M	0,15%	0,15%
$Fe(OH)_3$ (aq)	3,547E-006 M	86,38%	86,38%
$Fe(OH)_4^-$	5,533E-007 M	13,47%	13,47%
Cobre			
Cu^{2+}	7,530E-010 M	2,85%	2,52%
$Cu(OH)^+$	2,124E-008 M	80,38%	71,04%
$Cu(OH)_2$ (aq)	3,154E-009 M	11,94%	10,55%
$Cu(OH)_3^-$	9,817E-011 M	0,37%	0,33%
$Cu_2(OH)_2^{2+}$	1,499E-011 M	0,11%	0,10%
$Cu_3(OH)_4^{2+}$	4,727E-013 M	0,01%	0,00%
$Cu(NO_2)^+$	2,287E-012 M	0,01%	0,01%
$CuH(PO_4)$ (aq)	2,497E-011 M	0,09%	0,08%
$Cu(SO_4)$ (aq)	1,095E-011 M	0,04%	0,04%
$Cu(AF)^{2+}$	1,109E-009 M	4,20%	3,71%
Cu (s)	3,473E-009 M		11,62%
Cádmio			
Cd^{2+}	5,160E-010 M	38,67%	38,67%
$Cd(OH)^+$	3,657E-011 M	2,74%	2,74%
$Cd(OH)_2$ (aq)	2,162E-012 M	0,16%	0,16%
$Cd(NO_2)^+$	1,323E-012 M	0,10%	0,10%
$Cd(NO_3)^+$	1,279E-013 M	0,01%	0,01%
CdF^+	1,168E-013 M	0,01%	0,01%
$CdH(PO_4)$ (aq)	6,506E-012 M	0,49%	0,49%
$Cd(SO_4)$ (aq)	7,678E-012 M	0,58%	0,58%
$CdCl^+$	3,905E-012 M	0,29%	0,29%
$Cd(AF)^{2+}$	7,599E-010 M	56,95%	56,95%
Mercúrio			
$Hg(OH)_2$ (aq)	2,778E-010 M	99,51%	99,51%
HgCl(OH) (aq)	6,446E-013 M	0,23%	0,23%
HgBr(OH) (aq)	7,159E-013 M	0,26%	0,26%
Chumbo			
Pb^{2+}	9,763E-011 M	3,16%	3,16%
$Pb(OH)^+$	2,188E-009 M	70,83%	70,82%
$Pb(OH)_2$(aq)	6,482E-010 M	20,99%	20,99%
$Pb(OH)_3^-$	6,380E-012 M	0,21%	0,21%
$Pb(NO_2)^+$	9,164E-013 M	0,03%	0,03%
PbF^+	1,956E-013 M	0,01%	0,01%
$PbH(PO_4)$ (aq)	3,061E-013 M	0,01%	0,01%
$Pb(SO_4)$ (aq)	3,035E-012 M	0,10%	0,10%
$PbCl^+$	2,809E-013 M	0,01%	0,01%
$Pb(AF)^{2+}$	1,438E-010 M	4,65%	4,65%
PbO_2 (s)	3,366E-013 M		0,01%

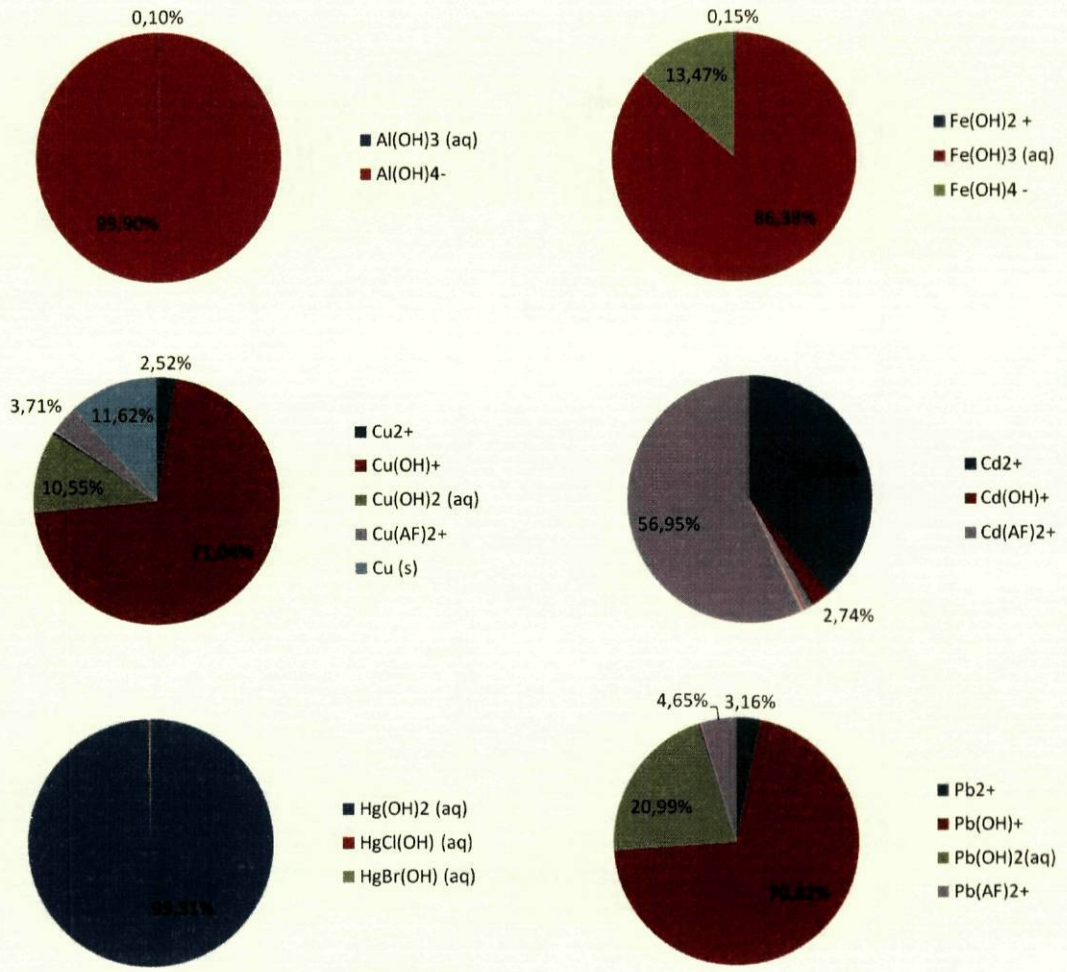


Figura 7.3 Representação gráfica das espécies químicas presentes de alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 20 mgL^{-1}.

Tabela 7.7 Especiação dos elementos químicos alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 200 mgL^{-1}.

Espécie química	Concentração	% Dissolvida	% Total
Alumínio			
$Al(OH)_3$ (aq)	8,908E-009 M	0,10%	0,10%
$Al(OH)_4^-$	8,768E-006 M	99,90%	99,90%
Ferro			
$Fe(OH)_2^+$	5,999E-009 M	0,15%	0,15%
$Fe(OH)_3$ (aq)	3,547E-006 M	86,38%	86,38%
$Fe(OH)_4^-$	5,533E-007 M	13,48%	13,48%
Cobre			
Cu^{2+}	5,646E-010 M	2,07%	1,89%
$Cu(OH)^+$	1,593E-008 M	58,36%	53,27%
$Cu(OH)_2$ (aq)	2,366E-009 M	8,67%	7,91%
$Cu(OH)_3^-$	7,363E-011 M	0,27%	0,25%
$Cu_2(OH)_2^{2+}$	8,428E-012 M	0,06%	0,06%
$Cu(NO_2)^+$	1,715E-012 M	0,01%	0,01%
$CuH(PO_4)$ (aq)	1,872E-011 M	0,07%	0,06%
$Cu(SO_4)$ (aq)	8,209E-012 M	0,03%	0,03%
$Cu(AF)^{2+}$	8,315E-009 M	30,46%	27,81%
Cu (s)	2,605E-009 M		8,71%
Cádmio			
Cd^{2+}	8,424E-011 M	6,31%	6,31%
$Cd(OH)^+$	5,970E-012 M	0,45%	0,45%
$Cd(OH)_2$ (aq)	3,530E-013 M	0,03%	0,03%
$Cd(NO_2)^+$	2,159E-013 M	0,02%	0,02%
$CdH(PO_4)$ (aq)	1,062E-012 M	0,08%	0,08%
$Cd(SO_4)$ (aq)	1,253E-012 M	0,09%	0,09%
$CdCl^+$	6,374E-013 M	0,05%	0,05%
$Cd(AF)^{2+}$	1,241E-009 M	92,97%	92,97%
Mercúrio			
$Hg(OH)_2$ (aq)	2,778E-010 M	99,51%	99,51%
HgCl(OH) (aq)	6,445E-013 M	0,23%	0,23%
HgBr(OH) (aq)	7,158E-013 M	0,26%	0,26%
Chumbo			
Pb^{2+}	6,880E-011 M	2,23%	2,23%
$Pb(OH)^+$	1,542E-009 M	49,92%	49,91%
$Pb(OH)_2$(aq)	4,569E-010 M	14,79%	14,79%
$Pb(OH)_3^-$	4,497E-012 M	0,15%	0,15%
$Pb(NO_2)^+$	6,457E-013 M	0,02%	0,02%
$PbH(PO_4)$ (aq)	2,157E-013 M	0,01%	0,01%
$Pb(SO_4)$ (aq)	2,139E-012 M	0,07%	0,07%
$PbCl^+$	1,979E-013 M	0,01%	0,01%
$Pb(AF)^{2+}$	1,013E-009 M	32,80%	32,80%
PbO_2 (s)	2,373E-013 M		0,01%

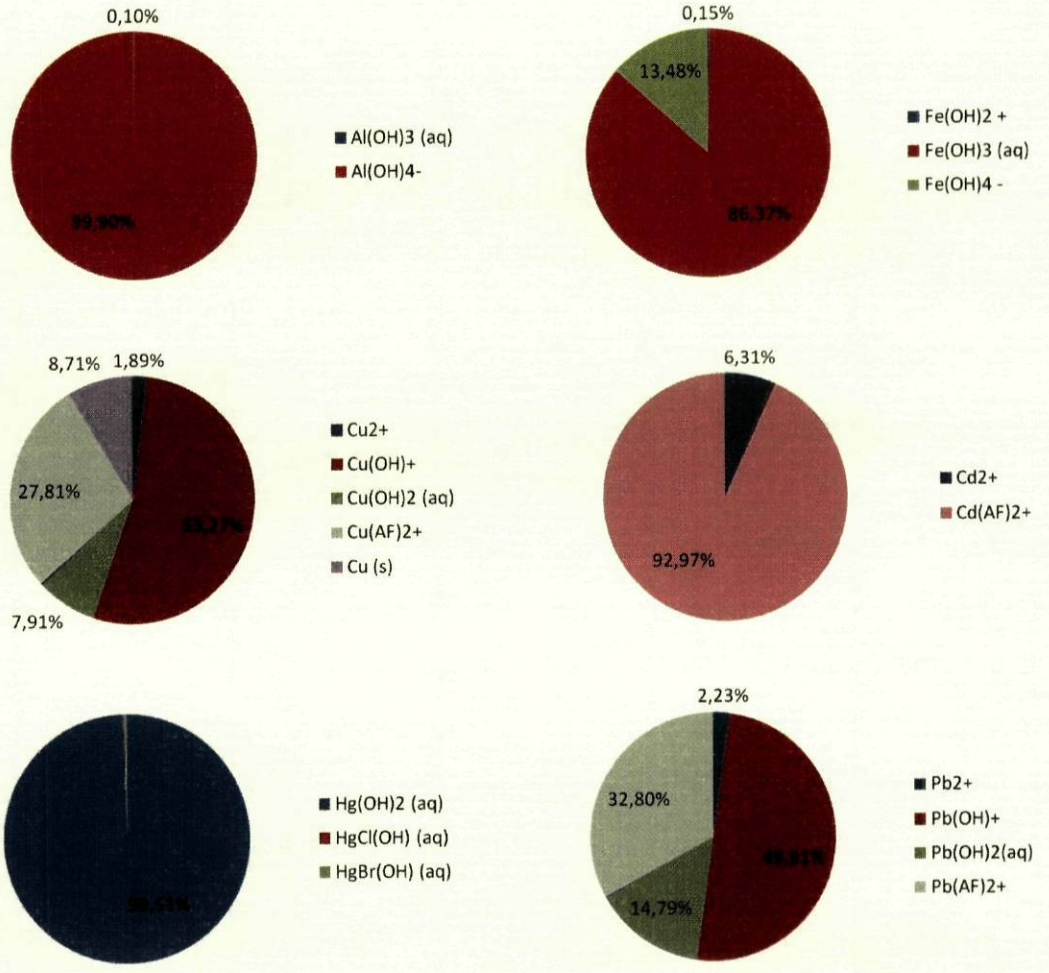


Figura 7.4 Representação gráfica das espécies químicas presentes de alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 200 mgL^{-1}.

7.4.2 INFLUÊNCIA DO MODELO DE CABANISS E SHUMAN NA ESPECIAÇÃO QUÍMICA

Quando se inclui na simulação o efeito da complexação da matéria orgânica com o ião cobre (Tabela 7.8 e Figura 7.5) segundo o modelo de Cabaniss e Shuman (1988a e 1988b) e considerando uma concentração do carbono orgânico dissolvido de 3,1 mgL^{-1}, verifica-se que o cobre se encontra na sua totalidade complexado (Cu-DOC) enquanto os restantes catiões apresentam o mesmo grau de especiação registado na

simulação para uma concentração de AF de 20 mgL^{-1}. Considerando as mesmas condições da simulação anterior mas extrapolando não apenas para o ião cobre mas também para todos os catiões carregados positivamente com duas ou três cargas (Tabela 7.9 e Figura 7.6) verifica-se que os iões Cu(II), Cd(II), Hg(II) e Pb(II) se encontram complexados na sua totalidade com a MOD. O ião Fe(III) encontra-se praticamente complexado com a MOD mas existe ainda uma pequeníssima fracção (0,49%) na forma de hidróxido de ferro ($Fe(OH)_3$ e $Fe(OH)_4$). Relativamente ao Al(III), este encontra-se maioritariamente na forma de Al(III)-COD e $Al(OH)_4^-$.

Estes resultados evidenciam de forma bastante clara a preponderância da complexação da MOD com os iões metálicos no estado livre relativamente à complexação com outros iões de origem inorgânica. Contudo, não podemos esquecer que o modelo aqui considerado por Cabaniss e Shuman consiste num modelo de molécula orgânica empírico e no qual é considerada a existência de cinco sítios ligantes. Este facto poderá também explicar a diferença, muito substancial, existente entre as simulações em que apenas foi considerada a contribuição do AF e aquelas em que foi considerada a contribuição da MOD. Recorde-se que, para a complexação do AF com os catiões analisados foi apenas considerada a existência de uma estequiometria do tipo 1:1. É também necessário ter em consideração que o modelo utilizado no programa é válido para complexos formados com o ião cobre e que é feita uma extrapolação para os outros catiões. Além do mais, o modelo criado por Cabaniss e Shuman foi baseado em ensaios realizados com AF extraídos do rio *Suwannee* pelo que a sua aplicação em AF de origem diversa poderá condicionar os resultados obtidos. É necessário ter em consideração que a matéria orgânica é muito heterogénea e que o isolamento a partir de locais distintos e com técnicas diferentes pode originar estruturas químicas com um comportamento químico também diferente. É também necessário ter em consideração que o modelo responde bem a alterações da relação entre o catião e o ligando, mas apresenta algumas limitações

quanto ao parâmetro força iónica, o qual pode alterar o comportamento dos grupos funcionais do ligando e consequentemente da sua capacidade de complexação.

Tabela 7.8 Especiação dos elementos químicos alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 20 mgL^{-1} e considerando a contribuição de DOC para o cobre.

Espécie química	Concentração	% Dissolvida	% Total
Alumínio			
$Al(OH)_3$ (aq)	8,910E-009 M	0,10%	0,10%
$Al(OH)_4^-$	8,768E-006 M	99,90%	99,90%
Ferro			
$Fe(OH)_{2+}$	6,00E-009 M	0,15%	0,15%
$Fe(OH)_3$ (aq)	3,547E-006 M	86,38%	86,38%
$Fe(OH)_4^-$	5,532E-007 M	13,47%	13,47%
Cobre			
Cu-DOC	2,990E-008 M	100,00%	100,00%
Cádmio			
Cd^{2+}	5,160E-010 M	38,67%	38,67%
$Cd(OH)^+$	3,656E-011 M	2,74%	2,74%
$Cd(OH)_2$ (aq)	2,161E-012 M	0,16%	0,16%
$Cd(NO_2)^+$	1,323E-012 M	0,10%	0,10%
$Cd(NO_3)^+$	1,279E-013 M	0,01%	0,01%
CdF^+	1,168E-013 M	0,01%	0,01%
CdH(PO4) (aq)	6,505E-012 M	0,49%	0,49%
$Cd(SO_4)$ (aq)	7,677E-012 M	0,58%	0,58%
$CdCl^+$	3,905E-012 M	0,29%	0,29%
Cd(AF)2+	7,599E-010 M	56,95%	56,95%
Mercúrio			
$Hg(OH)_2$ (aq)	2,778E-010 M	99,51%	99,51%
HgCl(OH) (aq)	6,447E-013 M	0,23%	0,23%
HgBr(OH)(aq)	7,160E-013 M	0,26%	0,26%
Chumbo			
Pb^{2+}	9,765E-011 M	3,16%	3,16%
$Pb(OH)^+$	2,188E-009 M	70,83%	70,83%
$Pb(OH)_2$(aq)	6,481E-010 M	20,98%	20,98%
$Pb(OH)_3^-$	6,378E-012 M	0,21%	0,21%
$Pb(NO_2)^+$	9,168E-013 M	0,03%	0,03%
PbF^+	1,957E-013 M	0,01%	0,01%
$PbH(PO_4)$ (aq)	3,062E-013 M	0,01%	0,01%
$Pb(SO_4)$ (aq)	3,035E-012 M	0,10%	0,10%
$PbCl^+$	2,809E-013 M	0,01%	0,01%
Pb(AF)2+	1,438E-010 M	4,66%	4,66%
PbO_2 (s)	3,364E-013 M		0,01%

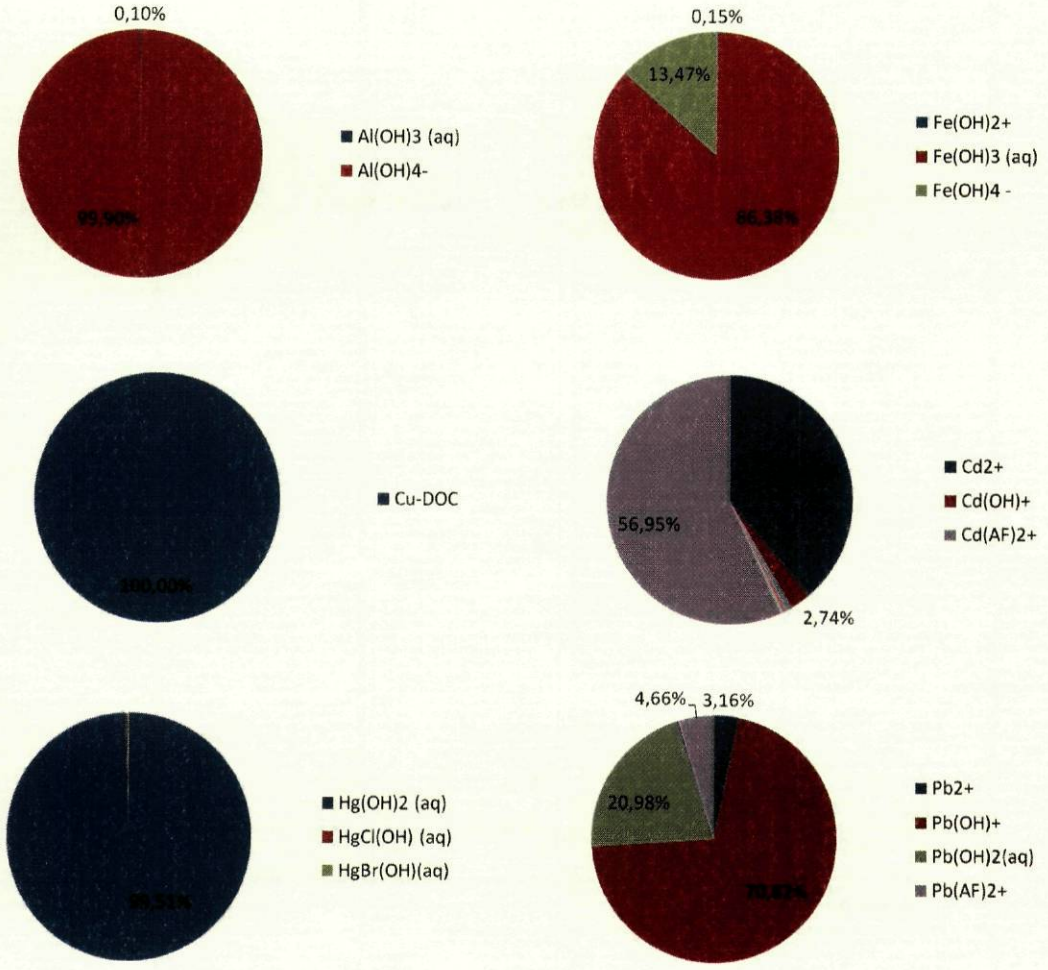


Figura 7.5 Representação gráfica das espécies químicas de alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo considerando uma concentração de AF de 20 mgL^{-1} e a contribuição da interacção de COD com o ião Cu(II).

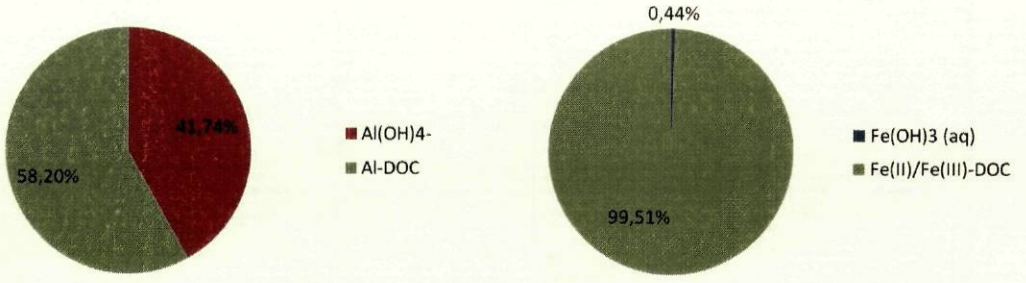


Figura 7.6 Representação gráfica das espécies químicas presentes para o alumínio e o ferro considerando uma concentração de AF de 20 mgL^{-1} e a interacção do COD com o ião Cu(II) e os catiões di e trivalentes.

Tabela 7.9 Especiação do alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 20 mgL^{-1} e considerando a interacção do COD com o ião Cu(II) e os catiões di e trivalentes.

Espécie química	Concentração	% Dissolvida	% Total
Alumínio			
$Al(OH)_3$ (aq)	5,400E-009 M	0,06%	0,06%
$Al(OH)_4^-$	3,664E-006 M	41,74%	41,74%
Al-DOC	5,108E-006 M	58,19%	58,19%
Ferro			
$Fe(OH)_3$ (aq)	1,810E-008 M	0,44%	0,44%
$Fe(OH)_4^-$	1,947E-009 M	0,05%	0,05%
Fe(II)/Fe(III)-DOC	4,086E-006 M	99,51%	99,51%
Cobre			
Cu-DOC	2,990E-008 M	100,00%	100,00%
Cádmio			
Cd-DOC	1,334E-009 M	100,00%	100,00%
Mercúrio			
Hg-DOC	2,792E-010 M	100,00%	100,00%
Chumbo			
Pb-DOC	3,089E-009 M	100,00%	100,00%

7.5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos para a especiação química revelam de forma bastante clara a importância da MOD no processo de formação de complexos com iões metálicos no meio hídrico. Sob o ponto de vista da química da água, da ecologia do meio hídrico e dos processos unitários para o tratamento de água para consumo humano, a formação deste tipo de complexos reveste-se da maior importância. Assim, a formação de complexos estáveis entre o metal e o ligando permite, por um lado uma maior capacidade de dissolução e de mobilidade dos catiões no meio hídrico e por outro, uma alteração da biodisponibilidade dos mesmos. Sob o ponto de vista da toxicidade, a MOD pode assim desempenhar um papel fundamental na preservação das espécies, principalmente daquelas que são mais sensíveis, contribuindo para o equilíbrio do ecossistema.

Relativamente à água captada e tratada em ETA a presença de MOD contribui, para além dos problemas já referenciados no capítulo 5, relativos à formação de

subprodutos da desinfecção, com o transporte de catiões metálicos para a estação de tratamento, o que pode resultar na diminuição da qualidade da água para consumo humano. Estas simulações confirmam os dados obtidos na caracterização das fracções de MOD, nomeadamente a presença de grupos funcionais capazes de interagir com os iões metálicos para formar complexos com os AF.

7.6 BIBLIOGRAFIA

Allison, J. D., Brown, D. S., Novo-Gradac, K. J. (1991) MINTEQA2/PRODEFA2, A Geochemical Assessment Model for Environmental Systems: Version 3.0 User's Manual, EPA/600/3-91/021, U. S. Environment Protection Agency (USA).

Allison, J. D., Perdue, E. M. (1994) Modeling metal-humic interactions with MINTEQA2. In Senesi, N., Miano, T. M., Humic Substances in the Global Environment. Elsevier, Amsterdam (Netherlands).

Bryan, N. D., Robinson, V. J., Livens, F. R., Hesketh, N., Jones, M. N., Lead, J. R. (1997) Metal-humic interactions: a random structural modelling approach, Geochim. Cosmochim. Acta, 61, 805-820.

Cabaniss, S. E., Shuman, M. S. (1988a) Copper binding by dissolved organic matter: I. Suwannee River fulvic acid equilibria, Geochim. Cosmochim. Acta, 52, 185-193.

Cabaniss, S. E., Shuman, M. S. (1988b) Copper binding by dissolved organic matter: II. Variation in type and source of organic matter, Geochim. Cosmochim. Acta, 52, 195-200.

Dwane, G. C., Tipping, E. (1998) Testing a humic speciation model by titration of copper-amended natural waters, Enviro. Inter., 24, 609-616.

Falck, W. E. (1991) The incorporation of natural organic matter-cation interaction into the speciation code PHREEQE, Springer Lecture Notes in Earth Sciences, 33, 277-285.

Giesy, J. P., Geiger, R. A., Kevern, N. R., Alberts, J. J. (1986) UO_2^{2+}-humate interactions in soft acid humate - rich waters, J. Environ. Radioact., 4, 39-64.

Janssen, R. P. T., Verweij, W. (2003) Geochemistry of some rare earth elements in groundwater, Vierlingsbeek, The Netherlands, Water Res., 37, 1320-1350.

Keizer, M. G., van Riemsdijk, W. H. (1999) ECOSAT: a computer program for the calculation of speciation and transport. User Manual Version 4.7., Wageningen University, Wageningen (Netherlands).

Kinniburgh, D. G., van Riemsdijk, W. H., Koopal, L. K., Borkovec, M., Benedetti, M. F., Avena, M. J. (1999) Ion binding to natural organic matter: competition, heterogeneity, stoichiometry and thermodynamic consistency. Colloids Surf., A, 151, 147-166.

Martell, A. E., Smith, R. M. (1974, 1975, 1976, 1977, 1982, 1989) Critical Stability Constants, vol.1-6, Plenum Press, New York (USA).

Mountney, A. W., Williams, D. R. (1992) Computer simulation of metal ion-humic and fulvic acid interactions, J. Soil Sci., 43, 679-688.

Parkhurst, D. L., Thorstenson, D. C., Plummer, L. N. (1980) PHREEQE-a computer program for geochemical calculations: U.S. Geological Survey Water-Resources Investigations Report 80-96, 195 p.

Salomons, W., Forstner, U. (1984) Metals in the Hydrocycle, Springer-Verlag, Berlin (Germany).

Schindler, P. W., Stumm, W. (1987) The surface chemistry of oxides, hydroxides and oxide minerals. In Stumm, W., Aquatic surface chemistry, John Wiley and Sons, New York (USA).

Sposito, G, Mattigod, S. V. (1980) GEOCHEM: A computer program for the calculation of chemical equilibria in soil solutions and other natural water systems. Kerney of soil sci., University of California, Riverside (USA).

Stum, W., Morgan, J. J. (1981) Aquatic Chemistry, an introduction emphasizing chemical equilibria in natural waters, John Wiley and Sons, New York (USA).

Tipping, E. (1994) WHAM—a chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments, and soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances, Comput. Geosci., 20, 973-1023.

Tipping, E. (1998) Humic ion-binding model vi: an improved description of the interactions of protons and metal ions with humic substances, Aquat. Geochem., 4, 3-47.

Tipping, E., Hurley, M. A. (1992) A unifying model of cation binding by humic substances, Geochim. Cosmochim. Acta, 56, 3627-3641.

Turner, D. R., Whitfield, M., Dickson, A. G. (1981) The equilibrium speciation of dissolved components in freshwater and sea water at 25°C and 1 atm pressure, Geochim. Cosmochim. Acta, 45, 6, 855-881.

Verweij, W. (2005) Equilibria and constants in CHEAQS: selection criteria, sources and assumptions, Version 6 (http://home.tiscali.nl/cheaqs/db_v6.pdf).

8 CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos nesta dissertação permitiram efectuar uma caracterização das amostras de MOD do solo e da água da albufeira do Caldeirão (Guarda). Em concreto, dos AF do solo e da água e da fracção colóide, hidrofílica e transfílica da água.

Uma das dificuldades evidenciadas durante a caracterização dos AF e das fracções de MOD foi a falta de resolução das técnicas de análise química, na determinação das características finas das amostras. Por exemplo, a falta de resolução das titulações ácido-base ou da espectroscopia UV-Vis. Estas limitações estão intimamente relacionadas com a complexidade das estruturas químicas que caracterizam este tipo de moléculas, obtidas através dum determinado processo de extracção e que por isso constituem uma mistura heterogénea. Este facto é muitas vezes responsável por respostas inconclusivas das técnicas analíticas, utilizadas no estudo destas macromoléculas.

No caso particular desta dissertação os resultados obtidos permitem afirmar que, embora existam diferenças entre os AF com origem no solo e na água, na realidade essas diferenças não são muito significativas.

Foi também possível concluir que a utilização da OR no processo de pré concentração da água produz, como resultado final, AF com ligeiras diferenças, relativamente aos obtidos sem esse processo. Tal poderá ser motivado pela maior retenção de estruturas, como hidratos de carbono e grupos éster.

No caso das fracções de MOD (colóide, hidrofóbica e transfílica) a utilização da espectroscopia de IV permite a identificação perfeita de cada uma das fracções, pois existem diferenças significativas entre elas. É também visível a semelhança existente entre a fracção hidrofóbica e os AF extraídos do solo e da água.

Relativamente à formação de subprodutos da desinfecção da água, ficou claro que, a análise factorial é particularmente útil no estudo e compreensão dos fenómenos envolvidos na geração dos THM. Demonstrou-se igualmente que factores

como a presença de MOD e de cloro influenciam de forma marcada a formação de cada um dos THM estudados (clorofórmio, bromodiclorometano, clorodibromometano e bromofórmio), assim como, naturalmente os THM totais. Também a presença de iões brometo na água é um factor de aumento da concentração dos THM bromados.

A utilização de técnicas potenciométricas e de fluorescência molecular revelaram-se particularmente úteis na determinação das constantes de estabilidade condicional dos AF com iões metálicos. Como seria de esperar, e em virtude do condicionalismo das próprias técnicas, as constantes obtidas através de técnicas potenciométricas são superiores às obtidas por fluorescência. Não obstante, os resultados mostram a capacidade da MOD, particularmente dos AF, em complexar com iões metálicos tais como Fe(III), Al(III), Cu(II), Hg(II), Pb(II) ou Cd(II). Este facto constitui uma prova da participação e influência que estas macromoléculas têm no sequestro, biodisponibilidade e transporte destes catiões bem como, por extrapolação, de outros em todo o meio ambiente. Estas evidências ficam também patentes nos estudos de especiação química efectuados.

Não podemos deixar de referir que os resultados aqui obtidos se limitam apenas a uma fracção da MOD do solo e da água, não tendo sido consideradas outras fracções, também elas presentes no meio. Este facto pode ser especialmente importante nas considerações efectuadas quer na avaliação da capacidade de complexação e especiação química, quer também na avaliação da formação de subprodutos da desinfecção da água para consumo humano.

Neste último ponto deve-se referir que, as simulações foram efectuadas em laboratório e como tal não podem ser directamente transpostas para a realidade de uma ETA. Para que tal fosse possível, outros estudos deveriam ser efectuados, nomeadamente a realização de ensaios laboratoriais com a própria água tratada nas diferentes fases de tratamento na ETA.

Parece-nos no entanto, que o aumento dos conhecimentos dos processos que se desenvolvem durante a desinfecção da água poderá passar pelo fraccionamento da

MOD nas suas diferentes componentes, as quais manifestam, tal como foi possível constatar nesta dissertação, características químicas diversas. Este fraccionamento poderá clarificar alguns dos mecanismos do processo para que seja possível minimizar a produção dos subprodutos mantendo no entanto todas as características de segurança para o consumidor final.

Índice de tabelas

Tabela 2.1 Características principais da albufeira do Caldeirão. Fonte: INAG (http://cnpgb.inag.pt/gr_barragens/gbportugal/FICHAS/ Caldeiraoficha.htm)....41
Tabela 3.1 Designação, origem e métodos de extracção dos AF presente no solo e na água da albufeira do Caldeirão. 69
Tabela 3.2 Condições experimentais usadas na titulação de AF com os catiões Cu(II), Cd(II) e Pb(II). 76
Tabela 3.3 Condições experimentais usadas na titulação de AF com o catião Al(III). 78
Tabela 3.4 Condições experimentais usadas na titulação de AF com o catião Fe(III). 79
Tabela 3.5 Condições experimentais usadas na titulação de AF com o catião Hg(II). 79
Tabela 3.6 Condições experimentais usadas na titulação de AF com o catião Cu(II). 79
Tabela 3.7 Condições experimentais usadas na titulação de AF com o catião UO_2^{2+} 80
Tabela 3.8 Parâmetros instrumentais do cromatógrafo GC-ECD utilizados na determinação dos THM (clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano, bromofórmio). 81
Tabela 4.1 Composição elementar (% em massa) e razão atómica das amostras AFs1, AFs2, AFa1 e AFa2. 94
Tabela 4.2 Fórmula empírica das amostras AFs1, AFs2, AFa1 e AFa2. 96
Tabela 4.3 Massa e razões de massa (relativamente à fracção transfílica) das fracções de MOD obtidas a partir de 200 L de água da albufeira do Caldeirão. 97
Tabela 4.4 Composição elementar (% em massa) e razão atómica da fracção transfílica, colóide e hidrofóbica da MOD. 98
Tabela 4.5 Fórmula empírica da fracção transfílica, colóide, e hidrofóbica. 98
Tabela 4.6 Relação E2/E4, E4/E6, massa molecular e grau de aromaticidade das amostras de AF do solo e da água da albufeira do Caldeirão. 101
Tabela 4.7 Relação E2/E4 e E4/E6 para a fracção colóide, hidrofóbica e transfílica. 103
Tabela 4.8 Valores de pK_{a1}, pK_{a2} e número de equivalentes ácidos para as amostras AFs1 (0,06-0,11 gL^{-1}), AFs2 (0,03-0,06 gL^{-1}), AFa1 (0,03 gL^{-1}) e AFa2 (0,01-0,05 gL^{-1}). 104
Tabela 4.9 Associação entre os desvios químicos observados para as amostras de AF (AFa1 e AFa2) e grupos funcionais nos espectros de 1H RMN. (Wershaw e Mikita, 1987). 116
Tabela 4.10 Correlações observadas nos espectros TCOSY e grupos funcionais associados para as amostras AFa1 e AFa2. 121
Tabela 4.11 Correlação entre bandas de ^{13}C e ^{1}H observadas no espectro HMQC e grupos funcionais associados para as amostras AFa1 e AFa2. 123
Tabela 5.1 Planeamento factorial fraccionado, factores e correspondentes níveis sob investigação. 135
Tabela 5.2 Análise qualitativa do efeito dos cinco parâmetros na produção dos quatro THM através da utilização do planeamento experimental factorial fraccionado (erros experimentais estimados da amostras centrais). 137
Tabela 5.3 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHCl_3$ obtida usando o planeamento factorial fraccionado. 138
Tabela 5.4 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBrCl_2$ obtida usando o planeamento factorial fraccionado. 139
Tabela 5.5 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_2Cl$ obtida usando o planeamento factorial fraccionado. 139
Tabela 5.6 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_3$ obtida usando o planeamento factorial fraccionado. 140
Tabela 5.7 ANOVA para a análise dos efeitos da produção total de THM obtida usando o planeamento factorial fraccionado. 141
Tabela 5.8 Planeamento do tipo *Box Behnken*, factores e correspondentes níveis sob investigação. 143
Tabela 5.9 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHCl_3$ obtida usando o planeamento de *Box Behnken*. 145
Tabela 5.10 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBrCl_2$ obtida usando o planeamento de *Box Behnken*. 146
Tabela 5.11 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_2Cl$ obtida usando o planeamento de *Box Behnken*. 146
Tabela 5.12 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_3$ obtida usando o planeamento de *Box Behnken*. 147
Tabela 5.13 ANOVA para a análise dos efeitos da produção total de THM obtida usando o planeamento de *Box Behnken*. 149
Tabela 5.14 Concentração (μgL^{-1}) de clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano, bromofórmio, e THM total gerado por cada uma das fracções de MOD (colóide, hidrofóbica, transfílica) nas experiências realizadas segundo o planeamento de *Box Behnken*. 152
Tabela 5.15 Concentração (μgL^{-1}) de THM totais gerados por cada uma das fracções de MOD (colóide, hidrofóbica, transfílica) nas experiências realizadas segundo o planeamento de *Box Behnken*. 153
Tabela 5.16 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHCl_3$ obtida para a solução de colóides, usando o planeamento de *Box Behnken*. 157
Tabela 5.17 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBrCl_2$ obtida para a solução de coloides, usando o planeamento de *Box Behnken*. 157
Tabela 5.18 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_2Cl$ obtida para a solução de coloides, usando o planeamento de *Box Behnken*. 158
Tabela 5.19 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_3$ obtida para a solução de coloides, usando o planeamento de *Box Behnken*. 158
Tabela 5.20 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHCl_3$ obtida para a solução de transfílicos, usando o planeamento de *Box Behnken*. 159
Tabela 5.21 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBrCl_2$ obtida para a solução de transfílicos, usando o planeamento de *Box Behnken*. 159

Tabela 5.22 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_2Cl$ obtida para a solução de transfílicos, usando o planeamento de *Box Behnken*. 160
Tabela 5.23 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_3$ obtida para a solução de transfílicos, usando o planeamento de *Box Behnken*. 160
Tabela 5.24 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHCl_3$ obtida para a solução de hidrofóbicos, usando o planeamento de *Box Behnken*. 161
Tabela 5.25 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de CHBrCl2 obtida para a solução de hidrofóbicos, usando o planeamento de Box Behnken. 161
Tabela 5.26 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_2Cl$ obtida para a solução de hidrofóbicos, usando o planeamento de *Box Behnken*. 162
Tabela 5.27 ANOVA para a análise dos efeitos da produção de $CHBr_3$ obtida para a solução de hidrofóbicos, usando o planeamento de *Box Behnken*. 162
Tabela 5.28 ANOVA para a análise dos efeitos da produção dos THM totais, obtida para a solução de colóides, usando o planeamento de *Box Behnken*. 168
Tabela 5.29 ANOVA para a análise dos efeitos da produção dos THM totais, obtida para a solução de transfílicos, usando o planeamento de *Box Behnken*. 168
Tabela 5.30 ANOVA para a análise dos efeitos da produção dos THM totais, obtida para a solução de hidrofóbicos, usando o planeamento de *Box Behnken*. 169
Tabela 6.1 Valores médios da constante de estabilidade (log K) e desvio padrão para o complexo formado pelo o ião Cu(II), Cd(II) e Pb(II) com as amostras de AF obtidas do solo e da água pelo método de van der Berg/Ruzic a pH 6, 25°C (μ=0,1 $molL^{-1}$). * 187
Tabela 6.2 Valores médios das constantes condicionais (log K) e respectivos desvios padrão para as amostras AFa1 e AFa2 a pH 4 e 6, 25 °C (μ=0,1 $molL^{-1}$). * 198
Tabela 6.3 Valores médios das constantes de estabilidade condicional (log K) e respectivos desvios padrão para o complexo formado pelo ião UO_2^{2+} (5.0×10^{-6} M) com as fracções de MOD pelo método de Stern-Volmer a pH 6, 25 °C (μ=0,1 $molL^{-1}$). * 203
Tabela 7.1 Parâmetros determinados na avaliação da qualidade da água da albufeira do Caldeirão. 219
Tabela 7.2 Concentrações ($molL^{-1}$) introduzidas de catiões e ligandos usadas no programa CHEAQS para a simulação da especiação química da água da albufeira do Caldeirão. 221
Tabela 7.3 Logaritmo das constantes de equilíbrio condicional e intrínseca dos complexos formados pelos catiões Al(III), Fe(III), Cu(II), Cd(II), Hg(II) e Pb(II) com os AF extraídos da água da albufeira do Caldeirão. 222
Tabela 7.4 Especiação dos elementos químicos alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 0,2 mgL^{-1}. 225
Tabela 7.5 Especiação dos elementos químicos alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 2 mgL^{-1}. 226
Tabela 7.6 Especiação dos elementos químicos alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 20 mgL^{-1}. 228
Tabela 7.7 Especiação dos elementos químicos alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 200 mgL^{-1}. 230
Tabela 7.8 Especiação dos elementos químicos alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 20 mgL^{-1} e considerando a contribuição de DOC para o cobre. 233
Tabela 7.9 Especiação do alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 20 mgL^{-1} e considerando a interacção do COD com o ião Cu(II) e os catiões di e trivalentes. 235

Índice de figuras

Figura 1.1 Modelo estrutural proposto para os ácidos húmicos de acordo com Dragunov *et al.* (1948). 10
Figura 1.2 Modelo estrutural proposto para as substâncias húmicas (Schulten e Schnitzer, 1992). 11
Figura 1.3 Fraccionamento das substâncias húmicas em função da sua solubilidade para meios ácidos, neutros e alcalinos. Adaptado de Steinberg (2003). 12
Figura 1.4 Fenómeno de adsorção e desadsorção das substâncias húmicas em função do pH do meio. Adaptado de Steinberg (2003). 13
Figura 1.5 Fraccionamento da matéria orgânica dissolvida na água segundo Leenheer (2004). 14
Figura 1.6 Formação das huminas, ácidos húmicos e ácidos fúlvicos segundo a teoria degradativa (→) e segundo a via de condensação e polimerização (----→). Adaptado de Steinberg (2003). 16
Figura 1.7 Diagrama de separação de iões metálicos e metalóides: classe A, classe B e ambivalente. (segundo Nieboer e Richardson, 1980). Onde χ_m representa a electronegatividade de Pauli, r o raio iónico e z a carga iónica formal. 20
Figura 2.1 Localização do Parque Natura da Serra da Estrela. Baseado na imagem retirada do sítio da Internet do Google – http://maps.google.com/maps?ll=40.689625,-7.4876808&z=8&t=h&hl=pt. (acesso em 28/10/2007). 31
Figura 2.2 Mapa das barragens existentes na zona centro de Portugal. Fonte: INAG (http://cnpgb.inag.pt/gr_barragens/gbportugal/Mapacentro.htm em 28/10/2007). Albufeira do Caldeirão, latitude 40° 32' 3'' N, longitude 7° 20' 19'' W) 38
Figura 2.3 Planta geral da barragem do Caldeirão (CPPE, 1998). http://Cnpgb.inag.pt/gr_barragens/gbpor tugal/caldeirao.htm (acesso em 28/10/2007). 40
Figura 2.4 Fotografia aérea da albufeira do Caldeirão onde se evidencia a barragem de betão do tipo abóbada de dupla curvatura com 39 metros de altura e uma extensão de 122 metros. Torre de tomada de água para a produção de energia eléctrica. Torre de captação de água e ETA do Caldeirão. Fonte: INAG http://cnpgb.inag.pt/gr_barragens/gbportugal/ Caldeirao.htm (acesso em 28/10/2007) 42
Figura 3.1 O PCA como forma de redução de variáveis. 57
Figura 3.2 Representação do desdobramento realizado para cada uma das matrizes de K dados com I linhas e J colunas, resultando em uma matriz de dados única com K linhas e IxJ colunas. 59
Figura 3.3 Imagem da zona da albufeira do caldeirão. Baseado na imagem retirada do sítio da Internet do Google http://maps.google.com/maps?ll=40.689625,-7.4876808&z=8&t=h&hl=pt. (1) Zona de recolha da amostra AFs2. (2) Zona de recolha das amostras AFs1, AFa1 e AFa2. 67
Figura 3.4 Esquema das etapas de pré-tratamento das amostras e extracção dos AF a partir de amostras de solo e água. 68
Figura 3.5 Sistema de osmose reversa utilizado na concentração da MOD da água. 69
Figura 3.6 Processo pormenorizado utilizado na extracção dos AF do solo e da água da albufeira do Caldeirão. 70
Figura 3.7 Esquema relativo ao protocolo de isolamento das fracções de MOD da água. Adaptado de Croué (2004). 72
Figura 3.8 Espectro de fluorescência da solução de HCl (0,1 $molL^{-1}$) resultante do processo de diálise antes (A) e depois (B) da eluição. 73
Figura 3.9 Curvas de calibração obtidas para o clorofórmio, bromodiclorometano, clorodibromometano e bromofórmio através de cromatografia de fase gasosa. 82
Figura 3.10 Curvas de calibração obtidas para os aniões F^-, Cl^-, Br^-, NO_3^-, NO_2^-, e SO_4^{2-} através de cromatografia iónica. 83
Figura 3.11 Curvas de calibração obtidas para os catiões Cd(II), Pb(II), e Cu(II) através de EAA por câmara de grafite. 85
Figura 3.12 Curvas de calibração obtidas para os catiões Na^+, K^+, Mg^{2+} e Ca^{2+} através de EAA por chama 86
Figura 4.1 Correlação entre a relação atómica N/C, H/C e O/C para as amostras AFs1, AFs2, AFa1 e AFa2. 96
Figura 4.2 Percentagem, em massa, das fracções da MOD existentes na água da albufeira do Caldeirão. 97
Figura 4.3 Espectros de absorção UV-Vis (200 a 800 nm) para as amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d). 100
Figura 4.4 Espectros de absorção UV-Vis (200 a 800 nm) da fracção colóide, hidrofóbica e transfílica. 102
Figura 4.5 Titulação ácido-base das amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d). 105
Figura 4.6 Espectros de infravermelho das amostras AFs1 (a) e AFs2 (b). 108
Figura 4.7 Espectros de infravermelho das amostras AFa1 (superior) e AFa2 (inferior). 109
Figura 4.8 Espectros de infravermelho da fracção colóide, hidrofóbica e transfílica. 110
Figura 4.9 Espectros de fluorescência das amostras AFs1 (a) e AFs2 (b). 112
Figura 4.10 Espectros de fluorescência das amostras AFa1 (a) e AFa2 (b) 113
Figura 4.11 MEE e espectro de emissão de fluorescência (janela no canto superior direito) da fracção colóide com tempo de aquisição 10 s (A) e de 40 s (B) 114
Figura 4.12 MEE e espectro de emissão de fluorescência (janela no canto superior direito) da fracção hidrofóbica (A), transfílica (B) e hidrofílica (C) 114
Figura 4.13 Espectro de ^1H RMN da amostra AFa1. 118
Figura 4.14 Espectro de ^1H RMN da amostra AFa2. 119
Figura 4.15 Espectro bidimensional TCOSY das amostras AFa1 (a) e AFa2 (b) 120
Figura 4.16 Espectro bidimensional HMQC das amostras AFa1 (a) e AFa2 (b). 122
Figura 5.1 Superfícies de resposta para a produção total de THM baseado no planeamento experimental factorial fraccionado. AFxBr; AFxpH; AFxCl; AFxT; BrxpH; BrxCl; BrxT; pHxCl; pHxT; ClxT (a,j). 142

Figura 5.2 Superfícies de resposta para a produção dos quatro THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken*. Cl versus AF (a, c, e, g); T versus AF (b, d, f, h). 148
Figura 5.3 Superfícies de resposta para a produção total dos THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken*. Cl versus AF (a); T versus Cl (b); T versus AF (c)..... 150
Figura 5.4 Contribuição da fracção colóide, transfílica e hidrofóbica para a produção de clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio. 153
Figura 5.5 Contribuição da fracção colóide, transfílica e hidrofóbica para a produção de THM totais..... 154
Figura 5.6 Superfícies de resposta para a produção dos quatro THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken*. Col versus T (a, c, e, g); Col versus Cl (b, d, f, h). 163
Figura 5.7 Superfícies de resposta para a produção dos quatro THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken*. Transf versus T (a, c, e, g); Trans versus Cl (b, d, f, h)..... 164
Figura 5.8 Superfícies de resposta para a produção dos quatro THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken*. Hidrof versus T (a, c, e, g); Hidrof versus Cl (b, d, f, h). 165
Figura 5.9 Superfícies de resposta para a produção total dos THM baseados no planeamento experimental *Box Behnken* para a fracção hidrofóbica (a,b), colóide (c,d) e transfílica (e,f). T versus Fracção MOD (a,c,e); Cl versus Fracção MOD (b, d, f)..... 167
Figura 6.1 Calibração de eléctrodos selectivos em duas matrizes distintas (exemplo para o eléctrodo de cobre): (a) Solução de electrólito inerte de KNO_3 0,1molL^{-1}; (b) Solução de AF com concentração aproximadamente igual a 20 mgL^{-1}. 180
Figura 6.2 Curvas de titulação para as amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) com os iões Cu(II) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). 182
Figura 6.3 Curvas de titulação para as amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) com o ião Cd(II) e das amostras AFs1 (e), AFs2 (f), AFa1 (g) e AFa2 (h) com o ião Pb(II) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1})..... 183
Figura 6.4 Gráfico do grau de complexação em função da concentração de Cu(II) para as amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) e em função da concentração de Cd(II) para as amostras AFs1 (e), AFs2 (f), AFa1 (g) e AFa2 (h) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). ▪ Razão entre a concentração do ião no estado livre e a concentração total do ião adicionado, • razão entre a concentração do ião complexado e a concentração total do ião adicionado..... 184
Figura 6.5 Gráfico do grau de complexação em função da concentração de Pb(II) para as amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). ▪ razão entre a concentração do ião no estado livre e a concentração total do ião adicionado, • razão entre a concentração do ião complexado e a concentração total do ião adicionado..... 185
Figura 6.6 Gráficos de van der Berg/Ruzic para as titulações das amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) com o ião Cu(II) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). 185
Figura 6.7 Gráficos de van der Berg/Ruzic para as titulações das amostras AFs1 (a), AFs2 (b), AFa1 (c) e AFa2 (d) com o ião Cd(II) e para as titulações das amostras AFs1 (e), AFs2 (f), AFa1 (g) e AFa2 (h) com o ião Pb(II) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). 186
Figura 6.8 Espectros de emissão de fluorescência da amostra AFa1 a pH 4 (a) e pH 6 (b), e da amostra AFa2 a pH 4 (c) e pH 6 (d) em função da concentração do ião Cu(II), a 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). 190
Figura 6.9 Espectros de emissão de fluorescência da amostra AFa2 em função da concentração do ião Hg(II) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1})..... 191
Figura 6.10 Espectros de emissão de fluorescência da amostra AFa2 em função da concentração do ião Al(III) a pH 4 (a) e a pH 5 (b), 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). 193
Figura 6.11 Perfis de *quenching* de fluorescência da amostra AFa1 a pH 4 (a) e pH 6 (b) e da amostra AFa2 a pH 4 (c) e pH 6 (d) em função da concentração do ião Cu(II), 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). 194
Figura 6.12 Perfis de *quenching* de fluorescência da amostra AFa2 a pH 3 (a) e pH 4 (b) e da amostra AFs2 a pH 3 (C) e pH 4 (d) em função da concentração de ião Fe(III), 25 °C (μ=0,1 molL^{-1})..... 195
Figura 6.13 Perfis de *quenching* de fluorescência da amostra AFa2 a pH 4 (a) e pH 5(b) e da amostra AFs2 a pH 4 (C) e pH 5 (d) em função da concentração do ião Al(III), 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). 196
Figura 6.14 Perfis de *quenching* de fluorescência da amostra AFa2 a pH 6 em função da concentração do ião Hg(II), 25 °C (μ=0,1 molL^{-1})..... 197
Figura 6.15 Representação de Stern-Volmer da amostra AFa1 a pH 4(a) e pH 6 (b) e da amostra AFa2 a pH 4 (c) e pH 6 (d), 25°C (μ=0,1 molL^{-1})..... 197
Figura 6.16 Representação de Stern-Volmer da amostra AFa2 a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). 198
Figura 6.17 Espectros de emissão de fluorescência do ião UO_2^{2+} (5,0x10^{-6}molL^{-1}) em função da concentração da fracção colóide. 200
Figura 6.18 Perfis de *quenching* do ião UO_2^{2+} em função da concentração da fracção colóide (a), transfílica (b) e hidrofóbica (C) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1}). 201
Figura 6.19 Representação de Stern-Volmer das fracções de MOD: colóide (a), transfílica (b) e hidrofóbica (c) a pH 6, 25 °C (μ=0,1 molL^{-1})..... 202
Figura 7.1 Representação gráfica das espécies químicas presentes de alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo considerando uma concentração de AF de 0,2 mgL^{-1}. 224
Figura 7.2 Representação gráfica das espécies químicas presentes de alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo considerando uma concentração de AF de 2 mgL^{-1}. 227
Figura 7.3 Representação gráfica das espécies químicas presentes de alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 20 mgL^{-1}. 229
Figura 7.4 Representação gráfica das espécies químicas presentes de alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo para uma concentração de AF de 200 mgL^{-1}. 231

Figura 7.5 Representação gráfica das espécies químicas de alumínio, ferro, cobre, cádmio, mercúrio e chumbo considerando uma concentração de AF de 20 mgL^{-1} e a contribuição da interacção de COD com o ião Cu(II). 234
Figura 7.6 Representação gráfica das espécies químicas presentes para o alumínio e o ferro considerando uma concentração de AF de 20 mgL^{-1} e a interacção do COD com o ião Cu(II) e os catiões di e trivalentes. 234