

AGRADECIMENTOS

Sendo este o produto final de um ano de trabalho tão importante na minha formação, não posso deixar de citar aqui todos aqueles que tiveram um importante papel na sua realização.

O meu agradecimento à Professora Doutora Maria da Natividade Vieira, pela sua orientação, apoio e disponibilidade ao longo da realização deste trabalho.

Aos meus orientadores, o Professor Jorge Espinha Marques e a Professora Ruth Pereira, fica o meu agradecimento por todo o apoio, encorajamento e importante contributo dado ao trabalho.

À Professora Helena Sant'Ovaia pelo apoio dado no estudo da suscetibilidade magnética e na interpretação de resultados.

Aos meus pais, irmão e avós, por todo o carinho, apoio e incentivo e pelo importante papel que sempre tiveram na minha educação e formação. Sem eles nada teria sido possível.

Aos meus amigos e companheiros de aventura Raúl Saraiva, Ricardo Bravo, Ana Pinto, Eloísa Vieira, Ana de Oliveira, Carla Pinto, Carina Cardoso, Diogo Oliveira, Catarina Barbosa e Inês Cabral, por toda a amizade, conselhos, apoio e carinho, o meu muito obrigada.

Aos Professores desta casa, em especial ao Professor Nuno Formigo e Professor António Guerner Dias, por todos os ensinamentos transmitidos ao longo destes cinco anos e pelo contributo dado na minha formação académica e pessoal.

Um agradecimento especial ao meu namorado, Tiago Monteiro, pelo apoio incondicional, pelo companheirismo, pelos conselhos, pela ajuda, pela paciência e pela partilha de todos os momentos da realização deste trabalho.

“À Água

Ninguém ouve a canção, mas o ribeiro canta!
Canta, porque um alegre deus o acompanha!
Quantos mais tombos, mais a voz levanta!
Canta, porque vem limpo da montanha!

Espelho do céu, é quanto mais partido
Que mais imagens tem da grande altura.
E quebra-se a cantar, enternecido
De regar a paisagem de frescura.

Água impoluta da nascente, és a pura poesia
Que se dá de presente
Às arestas da humana penedia...
Pela graça infantil da vossa mão.”

Miguel Torga

RESUMO

A boa gestão dos recursos hídricos é uma necessidade premente nos dias que correm, e a procura de soluções para problemas de contaminação ambiental nos sistemas aquáticos naturais, tem-se revelado de extrema importância, não só porque a disponibilidade de água doce saudável está a diminuir, mas também porque existem metas a cumprir até ao ano de 2015, com base na diretiva Quadro da Água (Diretiva 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Outubro de 2000) que estabelece um quadro de ação comunitária no domínio da política da água.

A contaminação de recursos hídricos, tanto subterrâneos como superficiais, por descarga de efluentes de mina assume um carácter recorrente e com necessidade de uma maior atenção, num país onde a extração de minério foi uma atividade económica importante. O presente trabalho procura dar resposta a um problema de contaminação ambiental por um efluente de mina (em São Pedro da Cova, concelho de Gondomar) que contém elevadas concentrações de ferro dissolvido e que está a afetar os cursos de água (Ribeiro de Murta e Rio Ferreira) e os terrenos envolventes. São muitas as técnicas de biorremediação que surgem face a estas problemáticas, e são muito diversos os organismos nelas envolvidos.

A espécie de macrófitas *Lemna minor* tem-se revelado como um bom modelo para estudos ecotoxicológicos e vários autores demonstraram a sua capacidade de bioacumular metais pesados tais como cobre, níquel, manganês entre outros.

Este trabalho teve como objetivos, em primeiro lugar fazer a caracterização físico-química de um efluente (água férrica) da mina de S. Pedro da Cova, bem como ver de que forma a contaminação proveniente da mina está a afetar os terrenos envolventes, e em segundo lugar proceder a um ensaio de biorremediação com a espécie *L. minor* de forma determinar a capacidade desta espécie para remover os elevados níveis de ferro do efluente, assim como o tempo necessário para esse efeito.

Através dos resultados obtidos, ficou demonstrado que a espécie *L. minor* não só consegue crescer e desenvolver-se em ambiente com contaminação, mas como também bioacumula o ferro contido na água em concentrações elevadas. Ao longo dos 21 dias de ensaio verificou-se que ocorreu um aumento da biomassa de *L. minor*, tanto na água contaminada como na água sem contaminação, no entanto, foi na água com contaminação que ocorreu um maior crescimento. Verificou-se também que a bioacumulação de Fe, atinge o seu nível máximo nos primeiros 7 dias de ensaio.

.Pelos dados obtidos ao longo de todo o trabalho, verificamos que a *L. minor* é um bom organismo para ser utilizado em técnicas de biorremediação em sistemas aquáticos contaminados por ferro.

PALAVRAS-CHAVE

Contaminação; Efluente de mina; Biorremediação; Bioacumulação; Ferro; *Lemna minor*

ABSTRACT

Good water management practices are urgently needed these days, in parallel with the development of new solutions for problems of environmental contamination in natural aquatic systems, not only because the availability healthy freshwater is decreasing but also because there are goals to be achieved by the year of 2015, based on the Water Framework directive (Directive 2000/60/EC, of the European Parliament and of the Council, of 23 October 2000), establishing a framework for community action in the field of water policy.

Contamination of water resources, both surface and underground, by mine effluents is common in a country where ore mining was an important economic activity. This work aimed to address a problem of environmental contamination by a mine effluent (São Pedro da Cova, Gondomar; Portugal) containing high concentrations of dissolved iron, that is continuously released in local watercourses (Ribeiro de Murta e Rio Ferreira) and the surrounding land, affecting the quality of these resources. In the last few years, several bioremediation techniques have been studied to address these problems and there are different species involved in these techniques.

The species of macrophytes *Lemna minor* has been shown to be a good model for ecotoxicological studies, and many authors suggest that it also has the capacity to bioaccumulate metals such as copper, nickel, manganese, among others.

The aims of this work were first to make a physical and chemical characterization of mine drainage and see how this contamination is affecting the surrounding land, secondly, to test the potential of the species *L. minor* to remediate this mine effluent, through the bioaccumulation of Fe. The time required for attaining the maximum removal of Fe, by the plants was also evaluated.

The results have shown that *L. minor* was able to grow and develop in the Fe-rich effluent and to bioaccumulate this element. Throughout the 21 days of testing it was found that there was an increase in the biomass of *L. minor* both in the contaminated and in the non-contaminated water. However, in the case of the mine effluent the growth was stimulated. It was also found that bioaccumulation of iron occurred mainly during the first 7 days of testing.

From the data collected throughout the study, we found that *L. minor* has potential for the bioremediation of effluents rich in iron..

KEY WORDS

Contamination; Mine effluent; Bioremediation; Bioaccumulation; Iron; *Lemna minor*

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	iii
ABSTRACT	v
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
1. INTRODUÇÃO	2
1.1. Considerações gerais	2
1.2. Drenagem mineira	6
1.3. Biorremediação.....	8
2. OBJETIVOS	12
3. METODOLOGIA.....	14
3.1. Caracterização da área de estudo	14
3.1.1. Caracterização geológica, geomorfológica e pedológica	16
3.1.2. Bacia hidrográfica do rio Ferreira	24
3.1.3. Caracterização socioeconómica	24
3.1.4. Contaminação.....	26
3.2. Estudo do solo	27
3.2.1. Caracterização morfológica dos perfis do solo	30
3.2.2. pH do solo.....	33
3.2.3. Condutividade elétrica do solo	34
3.2.4. Suscetibilidade magnética do solo.....	34
3.3. Amostragem de água.....	37
3.3.1. Determinação de nutrientes e ferro na água	41
3.3.2. Teste de toxicidade - Microtox®	42
3.4. Ensaio de biorremediação com <i>L. minor</i>	43
3.4.1. <i>L. minor</i>	43
3.4.2. Desenho/ensaio experimental.....	43

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1. Solo	48
4.1.1. pH, Condutividade Elétrica e Suscetibilidade Magnética	48
4.2. Água	51
4.2.1. Parâmetros físico-químicos	51
4.2.2. Teste de toxicidade - Microtox®	54
4.3. Ensaio de biorremediação com <i>L. minor</i>	55
4.3.1. Biomassa	55
4.3.2. Bioacumulação em <i>L. minor</i>	59
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
BIBLIOGRAFIA	66
WEBGRAFIA	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição mundial dos recursos aquáticos	2
Figura 2. Ciclo da água	4
Figura 3. Processos de biorremediação	9
Figura 4. Localização do local de estudo.....	14
Figura 5. Folha nº 123 da Carta Militar de Portugal (Valongo) à escala 1/25.000.....	15
Figura 6. Enquadramento geológico e geográfico da BCD.....	18
Figura 7. Coluna estratigráfica	19
Figura 8. Excerto da Carta dos Solos da Região de Entre-Douro e Minho na escala 1/100.000.....	21
Figura 9. Rio Ferreira ao longo do seu curso em São Pedro da Cova	24
Figura 10. GPS utilizado para a obtenção de coordenadas.....	27
Figura 11. Locais de amostragem de solo superficial nas proximidades do Ribeiro de Murta	28
Figura 12. Amostras de solo superficial recolhidas nas proximidades do Ribeiro de Murta; Secagem de amostras na estufa	28
Figura 13. Separação granulométrica do solo; Pesagem do solo.....	29
Figura 14. Carta de cores de Munsell	29
Figura 15. Determinação da cor do solo através da carta de cores de Munsell.....	30
Figura 16. Perfil de solo nº 1	31
Figura 17. Perfil de solo nº 2	32
Figura 18. Medidor de pH e buffers; Medição de pH na mistura solo - água	33
Figura 19. Mistura de água e solo na proporção 2:1	34
Figura 20. Enchimento do copo porta-amostras.....	35
Figura 21. Medidor de suscetibilidade magnética e copo porta-amostras.....	36
Figura 22. Mapeamento dos locais de amostragem de água superficial no Ribeiro de Murta	37
Figura 23. Esquema da localização dos pontos de amostragem de água superficial no Ribeiro de Murta	38
Figura 24. Recolha de amostra de água superficial no Ribeiro de Murta.....	38
Figura 25. Pontos de amostragem de água de água superficial no Ribeiro de Murta.....	39
Figura 26. Calibração do medidor de pH	40
Figura 27. Medição de parâmetros físico-químicos no campo.....	40
Figura 28. Fotómetro multiparamétrico, cuvete e kits de reagentes	41
Figura 29. Microtox 500 Toxicity Analyzer; Reagentes utilizados no teste de toxicidade	42
Figura 30. Lago da estufa do Jardim Botânico do Porto	43

Figura 31. Desenho Experimental.....	44
Figura 32. <i>L. minor</i> para determinação da biomassa	45
Figura 33. Medição do peso seco	45
Figura 34. Relação condutividade elétrica e susceptibilidade magnética.....	49
Figura 35. Relação pH e susceptibilidade magnética	49
Figura 36. Gráfico de variação da biomassa de <i>L. minor</i> nos diferentes tratamentos e ao longo do tempo (média±desvio padrão).	55
Figura 37. <i>L. minor</i> durante o ensaio	57
Figura 38. Gráfico de Bioacumulação de Fe pela espécie <i>L. minor</i> nos diferentes tratamentos e ao longo do tempo (média±desvio padrão).....	59

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Biomassa inicial (média ± desvio padrão)	44
Tabela 2. Valores de pH, condutividade elétrica e suscetibilidade magnética das amostras de solo recolhidas na proximidade da mina de S. Pedro da Cova.....	48
Tabela 3. Parâmetros físico-químicos determinados para as amostras de água recolhidas na proximidade da mina de S. Pedro da Cova e no Jardim Botânico do Porto.....	51
Tabela 4. Decreto-Lei 236/98, de 1 de Agosto – Anexo XVI:.....	52
Tabela 5. Resultados do teste de toxicidade Microtox®	54
Tabela 6. BCF para a água do Ponto 2	60
Tabela 7. BCF para a água do Ponto 3	60

LISTA DE ABREVIATURAS

BCD – Bacia Carbonífera do Douro

BCF – Factor de Bioconcentração

CM – Cambissolos

CMu – Cambissolos húmicos

CMux – Cambissolos húmicos-úmbricos crómicos

CMux.vq – Cambissolos húmicos-úmbricos crómicos em depósitos quartzito e/ou xistos

CMup – Cambissolos húmicos-úmbricos pardacentos

CMup.vg – Cambissolos húmicos-úmbricos pardacentos em depósitos de vertente de granitos

DMA – Drenagem Mineira Ácida

DMN – Drenagem Mineira Neutra

L. minor – *Lemna minor*

LP – Leptossolos

LPu – Leptossolos úmbricos

LPu.x - Leptossolos úmbricos em xistos e rochas afins

LPd – Leptossolos dístricos

LPd.x - Leptossolos dístricos em xistos e rochas afins

MI – Maciço Ibérico

RG – Regossolos

RGu – Regossolos úmbricos

RGul – Regossolos úmbricos delgados

RGul.x – Regossolos úmbricos delgados em xistos e rochas afins

SDT – Sólidos Dissolvidos Totais

ZCI – Zona Centro-Ibérica

VMR – Valor máximo recomendado

VMA – Valor máximo admissível

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações gerais

A água é um bem essencial para o desenvolvimento e manutenção da vida na Terra. Para além da importância biológica não se deve esquecer a importância socioeconómica que está associada a este elemento. O desenvolvimento de sociedades bem como a sua subsistência está intimamente ligado à disponibilidade deste recurso: *“Civilizações floresceram com o uso de fornecimentos fiáveis de água e colapsaram quando esses fornecimentos falharam”* (Fetter, 2001).

Com o desenvolvimento exponencial da população mundial, aumentou igualmente o consumo de água, como tal, é de extrema importância fazer uma boa gestão e preservação dos recursos hídricos existentes no nosso planeta. A distribuição mundial dos recursos aquáticos faz-se de acordo com as percentagens que estão expressas no seguinte esquema (Figura 1).

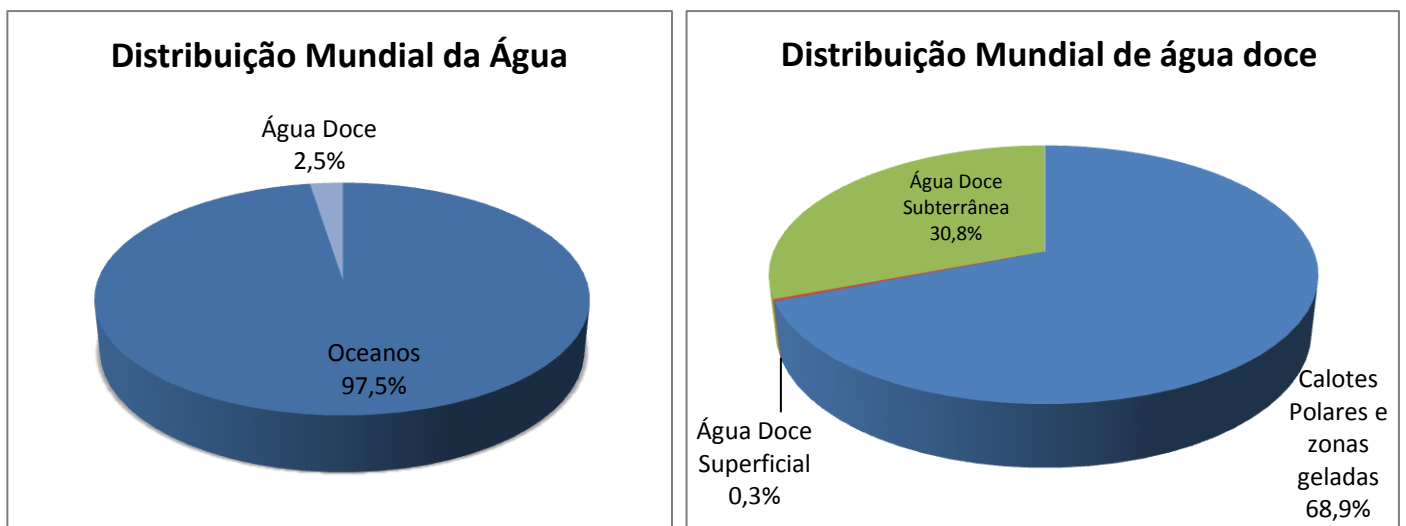


Figura 1. Distribuição mundial dos recursos aquáticos
(baseado em: www.ec.gc.ca)

De toda a água existente na Terra, só 2,5% corresponde a água doce (a maior parte no estado sólido). Desse volume, 30,8% corresponde a água subterrânea (e.g., Fetter, 2001).

De acordo com esta informação temos de ter em conta que quando falamos em recursos aquáticos é importante saber que estamos a falar de reservas de água superficiais e reservas de água subterrâneas, atribuindo o devido peso às reservas subterrâneas, uma vez que são estas que recarregam os sistemas de água doce superficiais. É aqui que podemos falar na importância socioeconómica da gestão hidrológica dos solos, e nas sinergias que se devem desenvolver para que se possa fazer

uma boa gestão destes recursos. Assim, a exploração sustentável da água subterrânea carece de uma abordagem multidisciplinar, abrangendo domínios com a Geologia, a Biologia, a Geofísica e a Pedologia, entre outros (e.g., Espinha Marques *et al*, 2011).

Relacionados com o uso do solo e dos recursos hídricos subterrâneos temos o desenvolvimento de importantes atividades humanas tais como a agricultura, a construção, a extração mineira e a deposição de resíduos. Todas estas atividades quando praticadas sem uma boa gestão podem influenciar a qualidade do solo e dos aquíferos (Fetter, 2001)

Sendo a água subterrânea a maior reserva de água doce no estado líquido e sendo um bem cada vez mais precioso, necessita de uma gestão e um de conhecimento cada vez mais aprofundado. Neste contexto surgiu a Hidrogeologia como a ciência que se dedica ao estudo do armazenamento, circulação e distribuição das águas terrestres na zona saturada das formações geológicas tendo em conta as suas propriedades físicas e químicas, as suas interações com o meio físico e biológico e as suas reações à ação do Homem (Rodrigues, 1984). A água que existe no nosso planeta está em constante movimentação, na hidrosfera e na atmosfera, até atingir os reservatórios subterrâneos. Esta movimentação é denominada de Ciclo Hidrológico ou Ciclo da Água (Figura 2), ao longo do qual a água vai passando pelos diferentes estados físicos. Inicia-se pela evaporação da água, como resultado do aquecimento resultante da incidência da luz solar, durante a qual esta água vai até à atmosfera onde condensa e volta à superfície terrestre, sob a forma de chuva, neve ou granizo. Essa água, proveniente da precipitação, tem vários destinos: uma parte é logo evaporada, outra chega até às massas de água superficial e outra parte infiltra-se no solo até chegar aos aquíferos (Rodrigues, 1984; Hamblin & Christiansen, 1998).

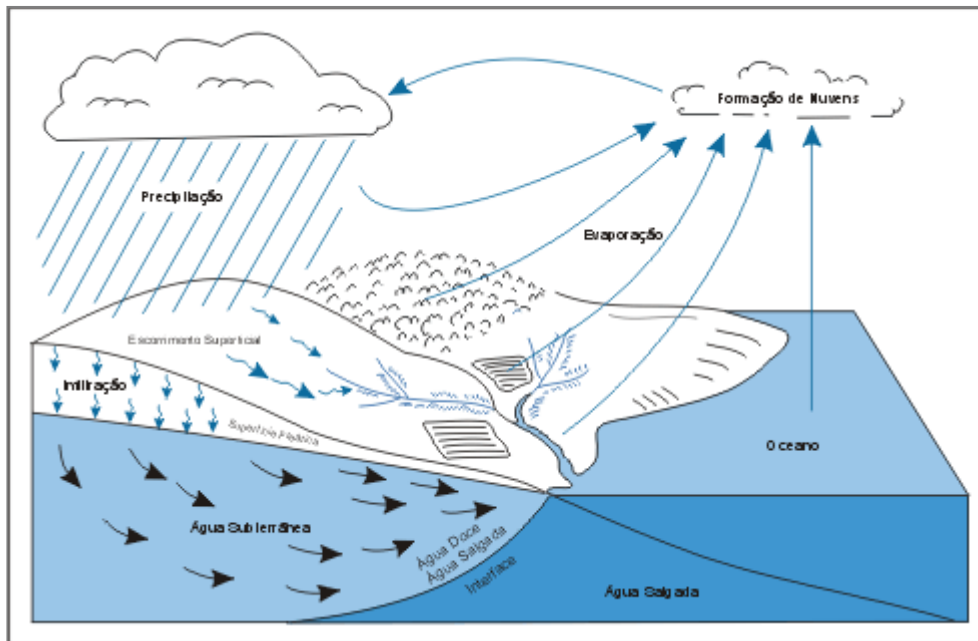


Figura 2. Ciclo da água

(extraído de: www.lagossaojoao.org.br/ciclo-agua.htm em 15/03/2012)

Formação de reservas de água subterrânea

Quando a água atinge a zona saturada do solo, contribui para o armazenamento nos reservatórios subterrâneos designados por “aquíferos”. Os aquíferos são formações geológicas que permitem a circulação e o armazenamento de água nos seus espaços vazios, e cuja exploração é economicamente rentável (Lencastre & Franco, 2003). Os aquíferos podem ser livres ou confinados. Um aquífero livre é uma formação geológica parcialmente saturada de água, limitado na base por uma camada impermeável, onde a superfície freática está à pressão atmosférica. O aquífero confinado é uma formação geológica completamente saturada de água, limitado no topo e na base por camadas impermeáveis, sendo a pressão da água superior à pressão atmosférica (Custodio & Llamas, 2001). Para além dos aquíferos, onde a extração da água é economicamente rentável, existem outras formações geológicas que podem ou não armazenar água, e onde a sua extração não é rentável. Essas formações geológicas são o aquífero, que armazena grandes quantidades de água mas que a transmite com grande dificuldade, o aquífero, que contém água no seu interior mas que não a transmite e, o aquífero, que não armazena nem transmite água (Rodrigues, 1984).

O solo tem um papel relevante na quantidade e na qualidade da água subterrânea contida num aquífero. Por um lado as suas características de porosidade e permeabilidade condicionam o processo de infiltração da água meteórica e a sua acumulação nos

aquíferos. Assim, há que ter em conta a sua capacidade de atuar como um filtro para a água que o atravessa, podendo influenciar a sua qualidade de forma positiva ou negativa. Se olharmos ao ponto de vista pedológico, o solo é definido como uma camada viva que recobre a superfície da terra, que se encontra em evolução permanente, como consequência da alteração das rochas e de processos pedogenéticos comandados por agentes físicos, biológicos e químicos, mas segundo uma perspectiva hidrológica, um solo pode ser definido como um material complexo, composto por uma fase sólida (matéria mineral e matéria orgânica), por uma fase líquida (essencialmente água) e por uma fase gasosa (ar e vapor de água) (Custodio & Llamas, 1983), tendo aqui a água um importante peso. A água meteórica que vai recarregar os aquíferos, passando previamente pelo solo, no caso de este estar contaminado, vai sofrer com esta contaminação, e é esta água contaminada que vai ser utilizada posteriormente para fins domésticos, agrícolas e industriais, daí ser tão importante ter uma política de proteção e conservação dos recursos hídricos, fazer uma avaliação real das suas reservas e fazer uma exploração racional (Lobo Ferreira, 1997).

Neste sentido, e tendo em conta o risco de contaminação a que estes recursos estão expostos, existe uma grande necessidade de identificar as fontes de poluição para que deste modo se possa fazer uma previsão e antecipação dos efeitos dos contaminantes, e a sua monitorização. É importante adotar estratégias de gestão não só de forma a prevenir a poluição de aquíferos mas também proceder à recuperação daqueles que já se encontram contaminados (Lobo Ferreira, 1997).

Contaminação da água subterrânea

A contaminação da água subterrânea é um problema ambiental de elevada importância, não só pelo facto desta se apresentar como uma das fontes da água doce que chega até nós, mas também por ser um problema de resolução muito complexa, e é neste sentido que vem a preocupação com a sua preservação (Silva, 2003).

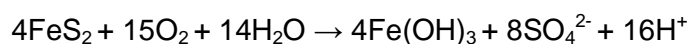
No seguimento desta problemática, surge o tema do presente trabalho de tese de mestrado, pois o local de estudo em causa, Ribeiro de Murta em São Pedro da Cova, está a sofrer a influência da contaminação proveniente das águas de drenagem das minas carvão que está a atingir o aquífero que existe na zona, bem como os terrenos envolventes, como resultado do afloramento à superfície desta água contaminada.

1.2. Drenagem mineira

A exploração mineira é uma atividade socioeconómica com grande história no nosso país e que contribuiu muito para o seu desenvolvimento económico desde os tempos da exploração romana (Tavares, 2009). Como resultado desta atividade são geradas grandes quantidades de resíduos que podem ser sólidos ou líquidos. Os produtos estéreis que se acumulam em escombreiras, bem como os materiais provenientes da mineralização mais ou menos alterada das rochas que as constituem, apresentam-se como um sério problema ambiental que afeta o solo e os sedimentos (domínio geoquímico), a água subterrânea e a água superficial (domínio hidrológico e hidrogeológico), e os seres vivos e ecossistemas (domínio bioquímico) das áreas afetadas (Abreu *et al*, 2007). Como tal, é necessário um esforço concertado destes diferentes domínios para dar resposta a esta problemática.

É neste tipo de casos de contaminação que se adequa falar de Drenagem Mineira Ácida (DMA).

Segundo um estudo realizado por Santos (2008) a drenagem mineira ácida caracteriza-se por ser uma drenagem de águas de mina com valores de pH relativamente baixos e elevadas concentrações de sulfatos e de metais, como o ferro, resultantes da lixiviação de sulfuretos. A principal causa do aparecimento da DMA é a oxidação da pirite (FeS_2) entre outros minerais sulfídricos quando em contato com a água e com o oxigénio (Johnson & Hallberg, 2005). Numa exploração mineira os materiais que estão no interior da mina ficam expostos nas escombreiras e é nessa altura que começam a ocorrer reações de oxidação-redução dando origem ao processo de drenagem ácida; é nesta fase que se dá a meteorização química dos sulfuretos presentes no solo da mina. O processo ocorre conforme o descrito na seguinte equação (Johnson & Hallberg, 2005):



Em locais de exploração de minas ou em minas abandonadas, para além da Drenagem Mineira Ácida pode ainda ser considerado outro tipo de drenagem: a Drenagem Mineira Neutra (DMN) (Santos, 2008). Este tipo de drenagem pode ocorrer em minas de carvão ou de metais devido à baixa concentração de sulfuretos, à presença de monossulfuretos em vez de pirite, ao tamanho do grão da pirite, à neutralização do ácido por águas naturais com grande alcalinidade ou pela presença de carbonatos ou minerais de silicatos, à circulação da água sem que esta entre em contacto direto com os sulfuretos,

devido ao facto do oxigénio não entrar em contacto com os sulfuretos ou ainda devido à água que aflui à mina ser bastante redutora (Tavares, 2009).

No que diz respeito às características físico-químicas do efluente de mina, estas estão dependentes de fatores como local de drenagem e as suas características hidrológicas, condições climáticas, tipo de exploração mineira e a idade da descarga de efluente (Santos, 2008). Os contaminantes das águas de drenagem mineira mais comuns são o sulfato, o manganês, o ferro e o alumínio.

Com vista a atenuar este problema ambiental devem ser levadas a cabo algumas medidas preventivas. Todas estas medidas têm como principal objetivo a redução das concentrações de oxigénio (O_2) e água (H_2O), inibindo estes dois elementos de exercerem a sua ação sobre os sulfuretos, uma vez que o oxigénio e a água são os principais responsáveis pela formação de DMA. Destacam-se então as seguintes medidas (Johnson & Hallberg, 2005):

- A inundação e isolamento das minas subterrâneas, fazendo com que o oxigénio dissolvido seja consumido pelos microrganismos presentes;
- O armazenamento subaquático de resíduos de mina, que possam ser potenciadores de elementos ácidos;
- Armazenamento de elementos nocivos em aterros fechados;
- Mistura de resíduos minerais, que possam dar origem a compostos nocivos para o ambiente;
- Solidificação total de resíduos de mina;
- Aplicação de agentes tensioativos aniónicos;
- A impermeabilização dos locais onde os resíduos mineiros se encontram, reduzindo o seu contacto com os recursos de água superficiais e subterrâneos.

1.3. Biorremediação

Como vimos no capítulo anterior, as pressões que são exercidas tanto no solo como na água, superficial e subterrânea, como consequência da atividade mineira, são muito elevadas. Em resposta a esta problemática, surgem várias tecnologias de remediação, que estão facilmente ao nosso alcance, e que podem ser aplicadas nos mais diversos meios e com os mais distintos objetivos (Tavares, 2009).

As técnicas de remediação que podem ser aplicadas nestes casos têm duas abordagens distintas: a abordagem química e a abordagem biológica. Nestas duas abordagens podemos ter métodos ativos, onde são necessários *inputs* contínuos de recursos para sustentar o processo, ou métodos passivos, onde só é necessário um *input* inicial de recursos para sustentar o processo, o qual é posteriormente autossustentável (Johnson & Hallberg, 2005).

É neste contexto que surge o conceito de biorremediação, como sendo uma tecnologia que usa a ação dos microrganismos (ou das suas enzimas), das algas ou das plantas para remover contaminantes do meio ambiente, especialmente da água e do solo, fazendo com que o ecossistema retome a sua condição original, ou seja, levando a cabo o restauro do sistema (Shan *et al*, 2009). Os processos de biorremediação podem ser efetuados no local contaminado, biorremediação *in situ*, ou então num outro local, biorremediação *ex situ* (Prasad, 2011).

Associado ao conceito de biorremediação, vem o conceito de fitorremediação. A fitorremediação é uma outra técnica de biorremediação que começa a ser cada vez mais utilizada na resolução de problemas de contaminação ambiental. Esta técnica consiste no recurso às plantas, para que estas, por processos biológicos, possam remover, decompor e/ou acumular os contaminantes (Prasad, 2011). É um processo eficaz e viável na descontaminação quer de sistemas terrestres quer aquáticos, por ser um processo natural que utiliza um conjunto específico de espécies de plantas.

No processo de fitorremediação, as plantas podem atuar de forma direta (absorvendo, acumulando ou metabolizando os compostos nos seus tecidos através da sua mineralização) ou de forma indireta (extraindo os contaminantes das águas subterrâneas, reduzindo a fonte da contaminação; ou propiciando a atividade microbiana que vai degradar o contaminante) (Rahman & Hasegawa, 2011).

No esquema da Figura 3 podem ser observados os processos de biorremediação mais comuns e mais aplicados.

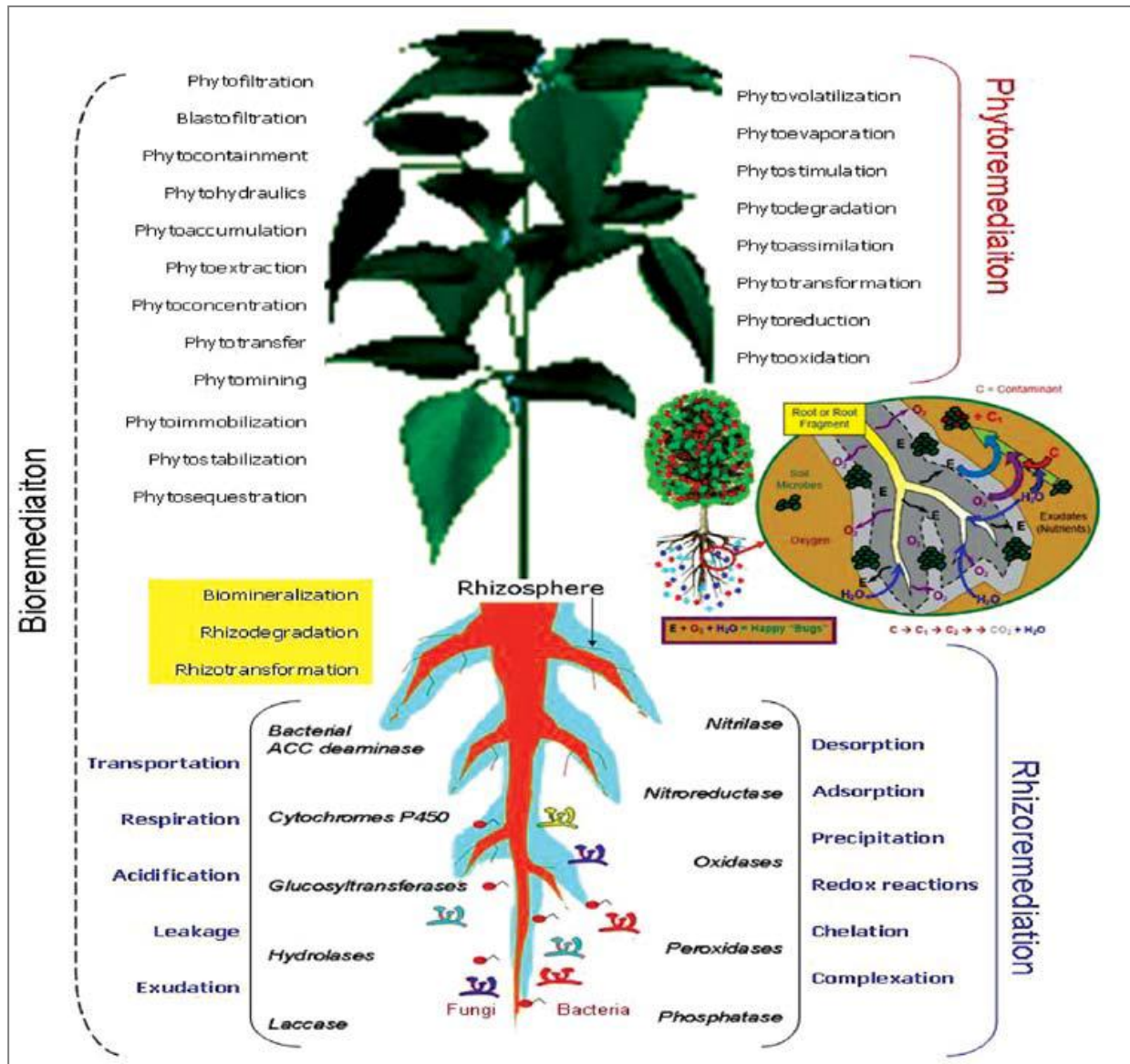


Figura 3. Processos de biorremediação (Prasad, 2011)

O processo de fitorremediação apresenta algumas vantagens tais como: i) os baixos custos que acarreta; ii) a possibilidade de aplicação *in situ*, em áreas extensas e a vários tipos de poluentes; iii) a capacidade de melhorar o carácter estético da paisagem, o que é bem aceite pelas populações locais; iv) a fácil monitorização das plantas e o contributo que dão para a melhoria da qualidade do solo e para a recuperação dos seus serviços. No entanto, também apresenta alguns inconvenientes como por exemplo a demora na obtenção de resultados, a dependência do clima e das condições do local, a incapacidade de eliminar os contaminantes na sua totalidade, e uma vez que depende de processos de bioacumulação, a possibilidade de promover a entrada do poluente nas cadeias alimentares (Shan *et al*, 2009).

A fitorremediação de metais pesados (tema central deste trabalho) tem por base o facto de algumas plantas se apresentarem como hiperacumuladoras de metais, isto é, são

capazes de absorver e concentrar, através do seu sistema radicular, grandes quantidades desses metais comparativamente à maioria das plantas (Tavares, 2009).

Fitorremediação por *Lemna minor*

Hoje em dia, os avanços científicos e tecnológicos permitem-nos usar diversas ferramentas disponíveis no meio ambiente para dar solução aos mais diversos problemas de contaminação ambiental. A utilização de plantas (e.g. macrófitas) como agentes na remoção de poluentes, tem vindo a despertar o interesse da comunidade científica. A capacidade que estas plantas possuem para fazer a acumulação de diversos contaminantes nos seus tecidos, nomeadamente de metais pesados, está bem documentada (Kara, 2004) e tem sido alvo de diversos estudos (Khellaf, 2004 & Kara et al, 2003) que nos podem dar a conhecer as reais capacidades de biorremediação de algumas espécies vegetais.

As macrófitas são plantas que se encontram presentes em quase todos os tipos de ambientes aquáticos (Ferreira, 1995). São responsáveis pela produção de oxigénio e renovação de nutrientes dissolvidos, pela fixação e estabilização dos sedimentos, pela criação de *habitats* e de refúgio para outros seres vivos, pela remoção de substâncias tóxicas e de nutrientes, entre outras.

Do ponto de vista da remediação ambiental, é esta característica de remoção de substâncias tóxicas, por acumulação ou degradação, que torna as macrófitas um grupo de plantas com tanto interesse. Algumas espécies de macrófitas têm sido usadas frequentemente para remover sólidos em suspensão, nutrientes, metais e poluentes orgânicos dos sistemas aquáticos (Mitsou *et al*, 2006; Mohan & Hosetti, 1999).

Um bom exemplo de macrófitas com capacidade de remoção de contaminantes ambientais e de metais em particular, é a espécie *Lemna minor*. Esta é uma espécie de pequenas macrófitas flutuantes pertencentes à família das *Lemnaceae* (Maltby *et al*, 2010), e foi a espécie que serviu para o estudo de remoção da contaminação da água do Ribeiro de Murta efetuado no ensaio de laboratório do presente trabalho científico. Segundo Wang (1990), a espécie *L. minor*, vulgarmente conhecida como lentilha-de-água é considerada um modelo adequado para estudos ecotoxicológicos devido a seu tamanho reduzido, rápida taxa de crescimento, reprodução vegetativa, facilidade de cultivo e de adaptação a diferentes condições do meio e sensibilidade a numerosos poluentes. Esta espécie é frequente e abundante em vários tipos de ecossistemas e massas de água (Maltby *et al*, 2010). Apesar de se entrar em contrassenso com aquilo que acabou de ser dito acerca da espécie *L. minor*, esta tem revelado um papel importante na extração e acumulação de

metais presentes na água (Kara, 2003) adaptando-se bem a condições adversas em termos de contaminação. Alguns estudos indicam que a lentilha-de-água consegue acumular elevadas concentrações de diversos metais, havendo já alguns dados referentes à acumulação de níquel (Ni), cobre (Cu) e manganês (Mn) (Jain *et al.*, 1988).

Acredita-se que *L. minor* também pode vir a ser usada em estudos de remoção e acumulação de outros metais tais como o chumbo (Pb), cádmio (Cd), ferro (Fe) e mercúrio (Hg), pelo facto de esta ser uma planta com grande potencial hiperacumulador (Khellaf, 2009). No presente trabalho vai ser testada a capacidade que a espécie tem para a bioacumulação de ferro.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho científico foi desenvolvido em duas áreas científicas distintas: a Geologia e a Biologia. Na área da Geologia foi realizado trabalho de campo e de laboratório para a caracterização e estudo dos solos envolventes ao Ribeiro de Murta (local de estudo), e na área da Biologia foi levado a cabo um ensaio de biorremediação com a espécie *Lemna minor*. Pode-se então dizer que os principais objetivos deste trabalho científico foram:

- Fazer um estudo da dispersão da contaminação proveniente das galerias de mina existentes no local de estudo, através de uma análise de pH, de condutividade elétrica e suscetibilidade magnética do solo.
- Fazer uma análise preliminar da água do local, em termos ecotoxicológicos recorrendo a um ensaio de Microtox[®] e a uma monitorização físico-química da água através da determinação de nutrientes e ferro.
- Testar a espécie *L. minor* e fazer uma avaliação da sua capacidade de desenvolvimento e de bioacumulação de Fe do efluente da mina de São Pedro da Cova, particularmente rico neste metal, com base em resultados de estudos obtidos anteriormente. Este trabalho teve ainda como objetivo específico avaliar o tempo necessário para uma remoção eficaz deste elemento metálico.

METODOLOGIA

3. METODOLOGIA

3.1. Caracterização da área de estudo

A área de estudo selecionada para o desenvolvimento desta tese está localizada no concelho de Gondomar e na freguesia de São Pedro da Cova (Figura 4). As amostragens, tanto de água como de solo, foram recolhidas no Ribeiro de Murta (afluente do Rio Ferreira), localmente conhecido por Ribeiro Vermelho, devido à cor avermelhada que este apresenta.

O concelho de Gondomar localiza-se a Este da cidade do Porto, como pode ser observado na Figura 4, e está representado na folha nº 123 da Carta Militar de Portugal, dos Serviços Cartográficos do Exército Português à escala 1/25.000 (Figura 5).

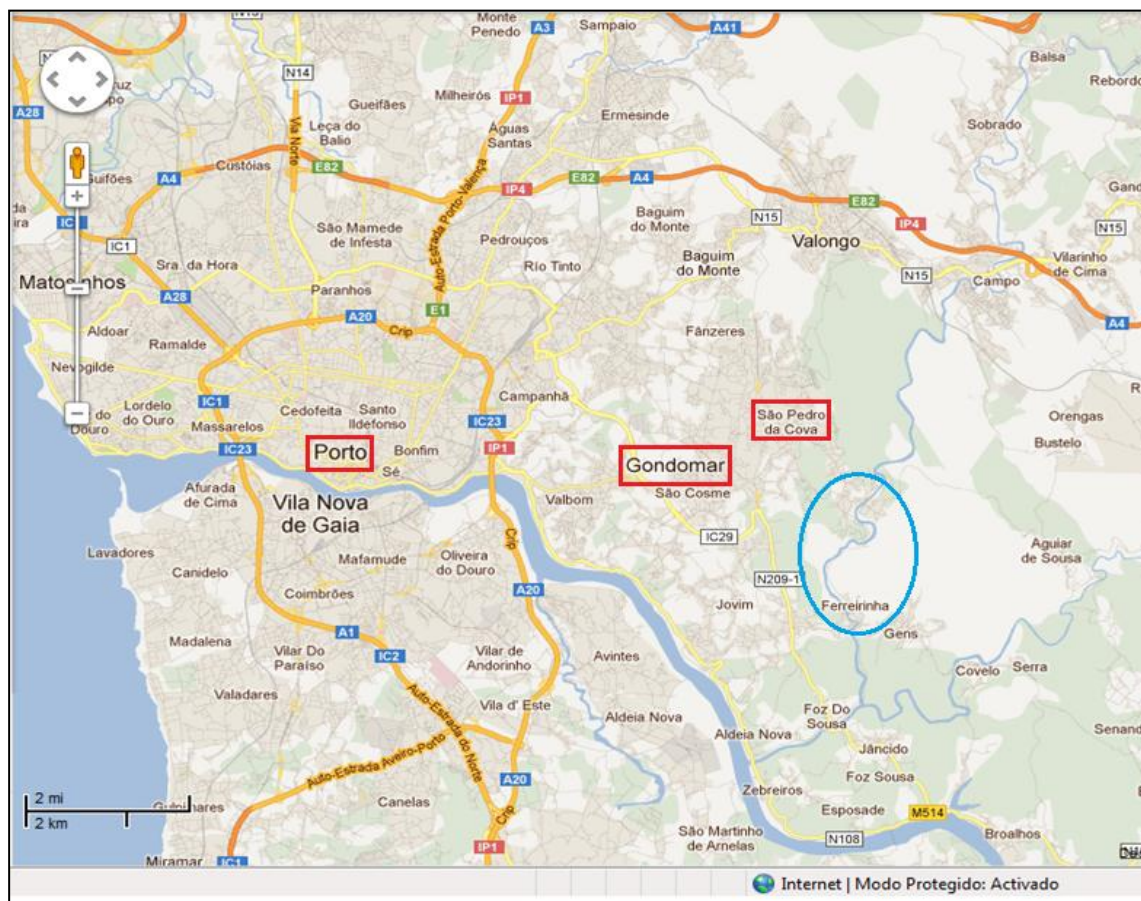


Figura 4. Localização do local de estudo
(extraído de: Google Maps em 10/02/2012)

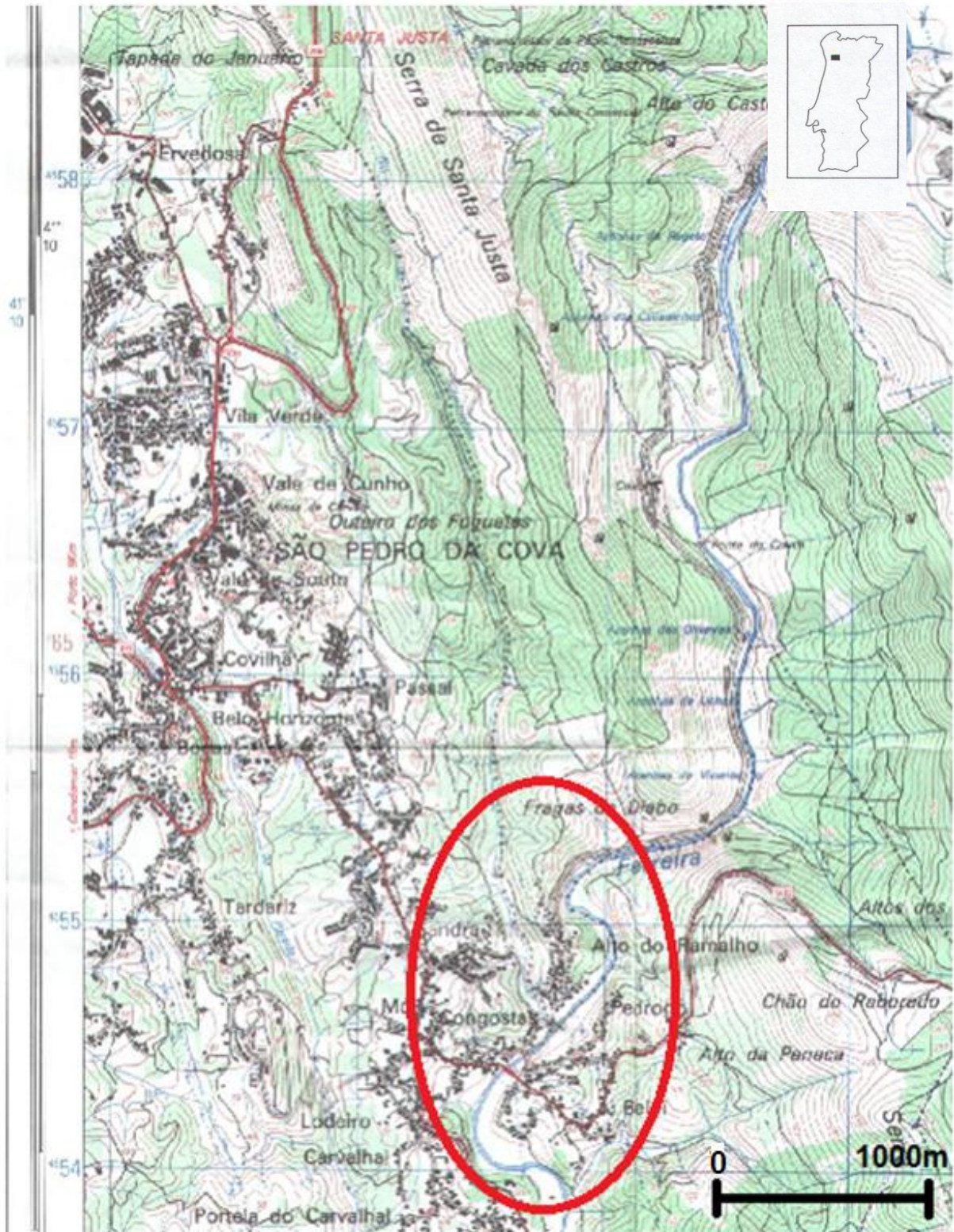


Figura 5. Folha nº 123 da Carta Militar de Portugal (Valongo) à escala 1/25.000
(Serviços Cartográficos do Exército)

O concelho de Gondomar é constituído pelas freguesias de Baguim, Covelo, Fânzeres, Foz do Sousa, Jovim, Lomba, Medas, Melres, Rio Tinto, São Cosme, São Pedro da Cova e Valbom, numa área total de 133,26 km². Integra a área metropolitana do Porto e

é delimitado a sul por Arouca e Santa Maria da Feira, a sudoeste por Vila Nova de Gaia, a nordeste por Valongo e Paredes, a sueste por Penafiel e Castelo de Paiva e a noroeste pela Maia. Abrange as bacias hidrográficas do Rio Leça e do Rio Ferreira, a norte do Rio Douro.

Devido à ação destes dois rios, esta região apresenta uma grande riqueza geológica e paleontológica que tem vindo a ser estudada e preservada ao longo dos anos. A riqueza de património geológico no local, a necessidade de preservar os fósseis de Trilobites e outros organismos da Era Paleozóica e de todo um conjunto de características geológicas naturais que fazem com que a Serras de Valongo se torne um laboratório vivo, fez com que esta área integrasse o Parque Paleozóico de Valongo. Este parque foi idealizado em 1995 e foi fruto de um projeto cofinanciado pelo fundo “*Life*” da Comissão Europeia, desenvolvido pela Câmara Municipal de Valongo e pelo Departamento de Geologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, contando ainda com a colaboração dos Departamentos de Zoologia e de Botânica desta mesma faculdade¹. A criação do Parque Paleozóico nestas Serras teve como principal objetivo a sensibilização, o conhecimento e a preservação das jazidas fossilíferas de Valongo e da fauna e flora endémicas (Silva, 2003).

3.1.1. Caracterização geológica, geomorfológica e pedológica

Enquadramento geológico e geoestrutural

A zona de estudo enquadra-se na região de Entre-Douro e Minho, a qual diz respeito ao Noroeste do território continental português, englobando os distritos de Viana do Castelo, Braga, Porto e, a sul do rio Douro e a parte setentrional do distrito de Aveiro. Esta vasta área está bem delimitada a oeste pelo Atlântico, a norte pelo curso internacional do rio Minho e a leste pelas linhas de cumeada que unem os maciços da Peneda-Gerês e Alvão-Marão. Estes relevos ao prolongarem-se, para sul do Douro, para as serras de Montemuro e da Freita, formam um vale aberto às influências atlânticas.

No que diz respeito à situação geoestrutural, a área de estudo, bem como toda a região de Valongo, está integrada na Zona Centro-Ibérica (Ribeiro et al., 2007), uma das grandes unidades geológicas do Maciço Ibérico (MI) ou Hespérico. Este maciço é constituído por um conjunto de rochas de idade ante-mesozóica que se distribuem pela

¹ www.valongoambiental.com, acedido em 14/05/12

parte central e ocidental da Península Ibérica (Jesus, 2001). Uma característica marcante do Maciço Ibérico é a sua zonalidade em termos de critérios estratigráficos, tectónicos, metamórficos e magmáticos.

Do ponto de vista geológico, a região integra o Maciço Hespérico e evidencia uma larga dominância de rochas cristalinas, nomeadamente, granitos e xistos, mais ou menos metamorfizados. Nesta área verifica-se a presença de uma grande estrutura geológica denominada por Anticlinal de Valongo (e.g., Couto 1993, Jesus 2001) numa extensão superior a 50 km, e que se estende desde a cidade de Valongo até Castro Daire. Este é um anticlinal assimétrico com direção NW-SE. As rochas que constituem este anticlinal têm idades compreendidas entre o Precâmbrico e/ou Câmbrio até ao Devónico (Figura 7).

A oeste da área estudada ocorrem formações do Carbonífero (Figuras 6 e 7). O Ordovícico inicia-se por um conglomerado de base bastante descontínuo que marca o início de uma transgressão. Seguem-se os quartzitos maciços do Arenigiano, que formam duas longas cristas correspondentes aos dois flancos da estrutura anticlinal. Sobrepondo-se a estes segue-se uma sequência finamente bandada constituída por alternâncias de sedimentos gresosos claros e sedimentos pelíticos escuros, também do Arenigiano, em que foram identificados níveis vulcano-sedimentares (Couto, 1993) que terão dado o seu contributo para a génese de mineralizações auríferas.

A área de estudo integra a Bacia Carbonífera do Douro (BCD) a qual se localiza no Noroeste de Portugal, estendendo-se por cerca de 53km, desde São Pedro de Fins, no concelho da Maia, até Janarde, no concelho de Arouca, e é datada como Estefaniano C inferior (Ribeiro *et al*, 2010). Neste local foi explorado carvão do tipo meta-antracite. Na Figura 8 pode-se observar o enquadramento geológico e geográfico da BCD, bem como a atividade mineira realizada em várias minas dispersas geograficamente por toda a bacia. As minas de carvão localizam-se nos distritos do Porto e Aveiro, nos concelhos de Valongo, Gondomar e Castelo de Paiva e estão agrupadas em quatro coutos mineiros: o de S. Pedro da Cova, o do Pejão, o de Valdeão e de Pederneira (Custódio, 2004).

Associadas às minas de carvão estão as escombreiras, que se encontram dispersas por toda a área geográfica da BCD. As escombreiras são muito diversificadas no que diz respeito ao material que as constituem e à forma que apresentam, o que contribui para aumentar o seu impacte ambiental.

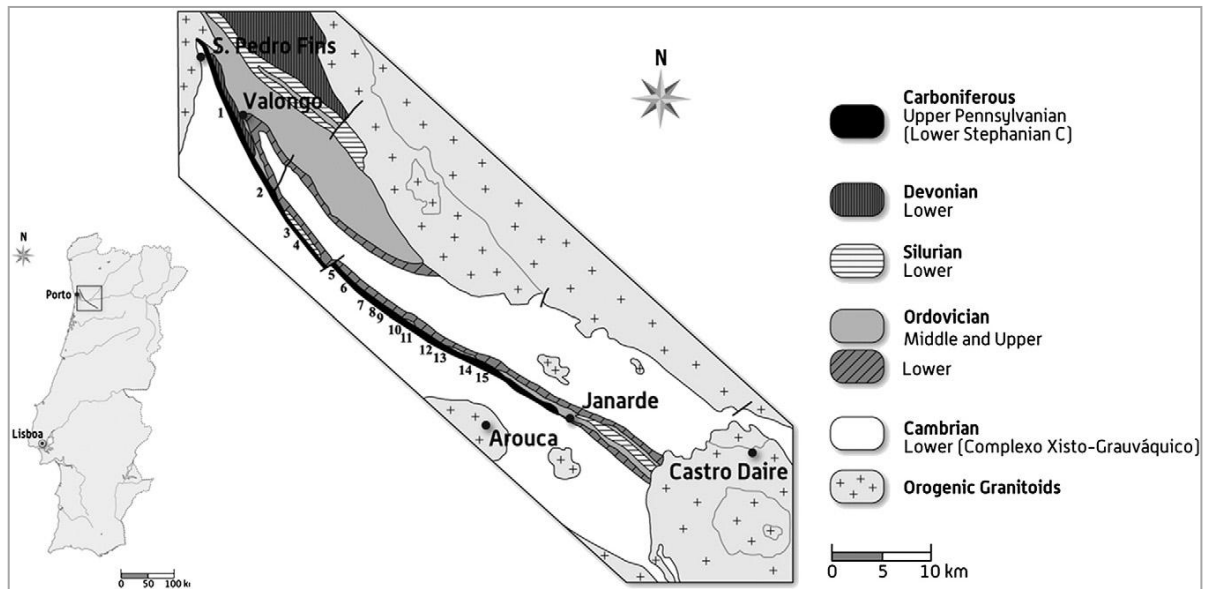


Figura 6. Enquadramento geológico e geográfico da BCD
(adaptado de Jesus, 2001)

- 1) S. Pedro da Cova; 2) Midões; 3) Lameira; 4) Sobrido; 5) Lomba; 6) Germunde; 7) Rodelo; 8) Serrinha; 9) Serrinha open-cut mining; 10) Carvalhais; 11) Fojo; 12) Vale da Cana; 13) Ervedal; 14) Pejão Novo; 15) Paraduça.

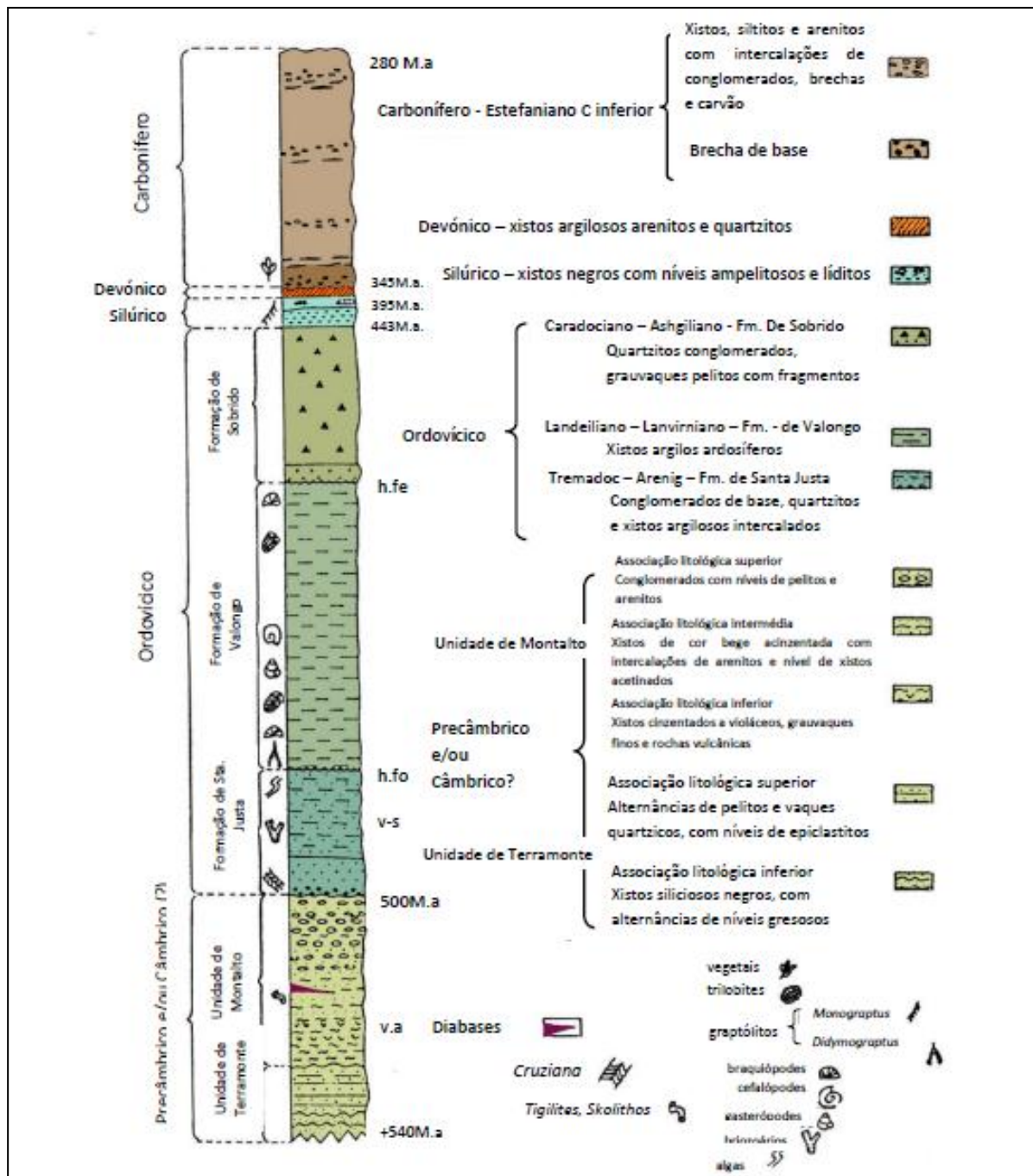


Figura 7. Coluna estratigráfica (extraído de: Couto, 1993)

No que diz respeito à situação geoestrutural, a área de estudo, bem como toda a região de Valongo, pode-se dizer que está integrada na Zona Centro-Ibérica (ZCI), uma das grandes unidades geológicas do Maciço Ibérico (MI) ou Hespérico (Figura 7). Este maciço é constituído por um conjunto de rochas de idade ante-mesozóica que se distribuem pela parte central e ocidental da Península Ibérica (Jesus, 2001). Uma característica marcante do Maciço Ibérico é a sua zonalidade em termos de critérios estratigráficos, tectónicos, metamórficos e magmáticos.

Sob o ponto de vista geomorfológico, a erosão diferencial do anticlinal de Valongo marca a paisagem da região, sendo possível observar dois alinhamentos de serras: a Serra de Santa Justa, que se prolonga no flanco oriental pelas Serras de Pias, Santa Iria, Banjas e Boneca e, no flanco ocidental as Serras do Castiçal, Flores e S. Domingos (Couto, 1993). As Serras de Pias e Santa Justa encontram-se integradas na área do Parque, estando materializadas no terreno por cristas quartzíticas que, por erosão diferencial, formam relevos vigorosos da área em estudo. O vale do rio Ferreira separa estas duas serras, situando-se, a oriente, a de Pias e a ocidente a de Santa Justa. As cristas quartzíticas que ali se observam correspondem aos flancos do Anticlinal de Valongo: o flanco ocidental, representado pela Serra de Santa Justa e o flanco oriental pela Serra de Pias (Silva, 2003) (Figura 5).

Caracterização pedológica

As unidades taxonómicas presentes nos solos da área de estudo podem ser classificadas de Leptossolos, Regossolos e Cambissolos (Agroconsultores & Geometral, 1995). Dentro destas unidades taxonómicas, verifica-se a presença de Leptossolos Úmbricos (LPu) em xistos e rochas afins (LPu.x) e Leptossolos Dístricos (LPd) em xistos e rochas afins (LPd.x); Regossolos Úmbricos (RGu) – Regossolos Úmbricos Delgados (RGul) - em regolitos de xistos e rochas afins (RGul.x); Cambissolos Húmicos (CMu) – Cambissolos Húmicos-Úmbricos Crómicos (CMux) – em depósitos de vertente de quartzitos e/ou xistos (CMux.vq), Cambissolos Húmicos-Úmbricos Pardacentos (CMup) – em depósitos de vertente de granitos (CMup.vg). De seguida são apresentadas algumas das definições das unidades taxonómicas identificadas no local de estudo e sistematizados de acordo com a legenda FAO/UNESCO 1988, conforme indica a Carta de solos de Entre-Douro e Minho (Figura 7) e a respetiva memória descritiva (Agroconsultores & Geometral, 1995).

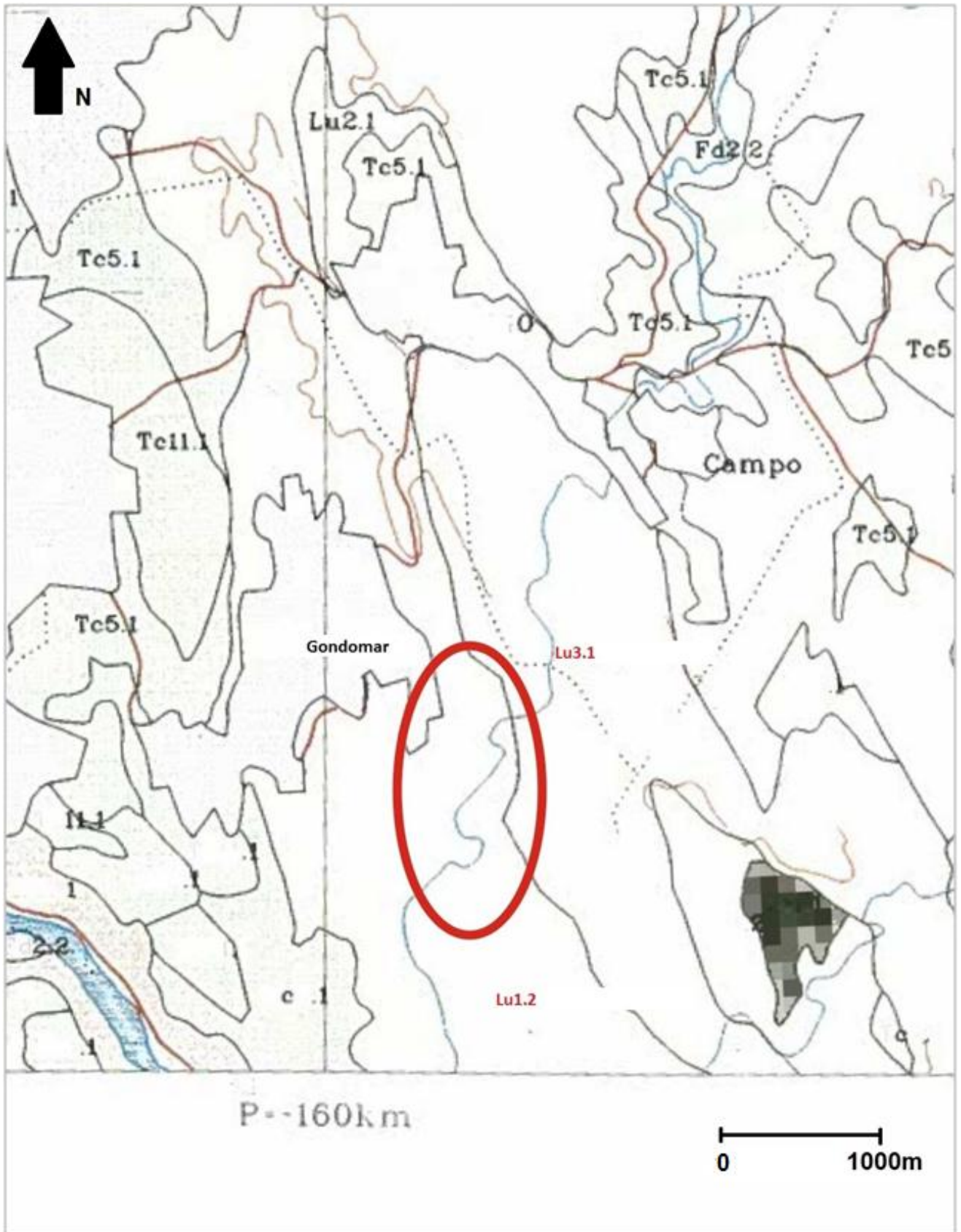


Figura 8. Excerto da Carta dos Solos da Região de Entre-Douro e Minho na escala 1/100.000 (AGROCONSULTORES & GEOMETRAL, 1995)

Leptossolos (LP): “Solos limitados em profundidade, até 30 cm a partir da superfície, por rocha contínua e dura ou material muito calcário ou uma camada cimentada contínua ou com menos de 20% de terra fina até 75 cm a partir da superfície; não tendo outros horizontes de diagnóstico além de um A mólico, úmbrico ou ócrico, com ou sem horizonte B câmbico.” Os leptossolos foram incluídos em três unidades-solo: leptossolos líticos, úmbricos e dístricos, dos quais destacamos os úmbricos e dístricos. (Agroconsultores & Geometral, 1995)

Leptossolos Úmbricos (LPu): “São leptossolos com horizonte A úmbrico, sem rocha dura ou camada cimentada, contínuas até 10 cm a partir da superfície.” O perfil característico deste tipo de solos é do tipo A-R ou A-C-R. O horizonte A está presente com cerca de 10/30 cm, pardo escuro, franco, franco-arenoso ou arenoso-franco e por vezes arenoso ou franco-limoso, frequentemente húmico e/ou cascalhento; sobre horizonte C constituído por material grosseiro da desagregação da rocha subjacente com alguma terra e/ou rocha contínua e dura (R), em transição abrupta, a partir de 10/30 cm de profundidade.

Unidade Pedológica LPu.x: Leptossolos úmbricos em xistos e rochas afins.

Leptossolos Dístricos (LPd): “São Leptossolos com horizonte A ócrico e grau de saturação em bases (pelo acetato de amónio) menor que 50%, pelo menos em alguma parte do solo; sem rocha dura ou camada cimentada contínua até 10 cm a partir da superfície.” O perfil normal neste tipo de solos é do tipo A-C-R ou A-R: horizonte A com 10/30 cm, pardo ou pardo escuro, arenoso-franco, franco-arenoso, franco ou franco-limoso, frequentemente com bastantes elementos grosseiros (por vezes cascalhento); sobre horizonte C constituído por material de desagregação da rocha subjacente, em geral grosseiro, e terra fina em pequena proporção e/ou rocha contínua e dura a partir de 10/30 cm de profundidade.

Unidade Pedológica LPd.x: Leptossolos dístricos em xistos e rochas afins.

Regossolos (RG): “Solos de materiais não consolidados, com exclusão de materiais com textura grosseira ou com propriedades flúvicas, não tendo outro horizonte de diagnóstico além de um A úmbrico ou ócrico; sem propriedades gleicas em 50 cm a partir da superfície; sem características de diagnóstico para vertissolos ou andossolos; sem propriedades sálicas.”

Regossolos úmbricos (RGu): “Regossolos tendo um horizonte A úmbrico; sem camadas permanentes congeladas até 20 cm a partir da superfície.”

Unidade Pedológica RGul.x: Regossolos úmbricos delgados em xistos e rochas afins.

Cambissolos (CM): *“São solos tendo um horizonte câmbico e sem outros horizontes de diagnóstico além de uma A ócrico ou úmbrico, ou um A mólico assentando sobre um B câmbico com grau de saturação em bases (pelo acetato de amónio) menos que 50%; sem propriedades sálicas; sem as características de diagnóstico dos vertissolos ou andossolos; sem propriedades gleicas até 50 cm a partir da superfície.”*

Cambissolos: Húmicos (CMu): *“Cambissolos com um horizonte A úmbrico ou mólico; sem propriedades vérticas; sem propriedades ferrálicas no horizonte B câmbico; sem propriedades gleicas até 100 cm a partir da superfície; sem congelação permanente (“permafrost”) até 200 cm a partir da superfície.”* (Agroconsultores & Geometral, 1995).

Unidade Pedológica CMux.vq: Cambissolos húmicos-úmbricos crómicos em depósito quartzito e/ou xistos

Unidade Pedológica CMup.vg: Cambissolos húmicos-úmbricos pardacentos em depósitos de vertente de granitos

3.1.2. Bacia hidrográfica do rio Ferreira

O local de estudo, ribeiro de Murta, integra a Bacia Hidrográfica do rio Ferreira. O rio Ferreira, que é uma afluente do rio Sousa, nasce no lugar da Raimonda, em Paços de Ferreira e desagua no lugar da Ribeira de Cima, no Rio Sousa percorrendo no seu traçado cerca de 30 km pelas freguesias de Paços Ferreira, Valongo e Gondomar, tendo a sua bacia hidrográfica uma área de cerca de 184 km². Atravessa São Pedro da Cova na direção Norte-Sul banhando as povoações de Couce, Belói, Carvalhal e Méguas. São afluentes do Rio Ferreira o Ribeiro da Covilhã, o Ribeiro de Belói, o Ribeiro de Méguas, o Ribeiro de Ferreirinha e o Ribeiro de Trabaços².



Figura 9. Rio Ferreira ao longo do seu curso em São Pedro da Cova (fotografia tirada em Maio de 2012)

3.1.3. Caracterização socioeconómica

O local alvo de estudo desta tese, do ponto de vista socioeconómico, revela ter um grande interesse para o Homem, desenvolvendo-se na região dois sectores socioeconómicos distintos: a exploração mineira e a agricultura. Esta foi uma área de exploração mineira de ouro. A exploração deste metal naquela região remonta aos tempos da ocupação romana na Península Ibérica, e existem diversas evidências dessa atividade mineira romana, principalmente nas Serras de Santa Justa, Pias, Santa Iria e Banjas (Couto, 1993). Em 1802, é descoberto carvão (antracite) no subsolo da região de São Pedro da Cova e inicia-se então a sua exploração. Nos anos 30 intensifica-se a exploração mineira de carvão e foram muitas as gerações que viveram dos frutos do trabalho na mina.

² www.addp.pt, acedido em 14/05/12

Devido à riqueza de recursos e às águas do Rio Ferreira, o Homem fixou-se neste local e começou aí a desenvolver as suas comunidades, construindo habitações, cultivando os campos, construindo engenhos para moer, etc. Um bom exemplo deste tipo de comunidade, é a aldeia comunitária de Couce, localizada nas proximidades da área de estudo. Fica situada na base de um vale profundo e aberto, e estende-se ao longo do Rio Ferreira por faixas estreitas de aluviões, em solos muito férteis.

A vasta área florestal, com interesse económico, presente na zona contribuiu para a indústria da produção de madeira e mobiliário que se verificavam em Valongo, Paços de Ferreira, Baltar, Rebordosa e Paredes (Silva, 2003).

3.1.4. Contaminação

As atividades socioeconómicas desenvolvidas na região acarretaram alguns danos para os ecossistemas que aí se encontram. Tanto a agricultura como a exploração mineira produzem resíduos, sólidos ou líquidos, que acabam por ser descarregados no solo ou nos cursos de água, contribuindo assim para a sua contaminação.

Na área de estudo temos dois tipos de contaminação predominante: poluição por compostos orgânicos provenientes da agricultura e por metais, provenientes dos resíduos resultantes da atividade mineira, e que ficaram acumulados na área, mesmo após a cessação da atividade extrativa. Estes dois tipos de contaminação têm um forte impacto nos recursos hídricos (superficiais e subterrâneos) da zona. É este o tipo de poluição que afeta a o Ribeiro de Murta na área de estudo, ribeiro este que apresenta uma cor alaranjada, resultado da lixiviação das escombreliras da mina de São Pedro da Cova ricas em pirite. Para além da carga poluente que está associada a estas minas, o pH destas águas apresenta-se bastante variável, dependendo da quantidade de sulfuretos, de metais e de compostos orgânicos dissolvidos na água.

O comportamento dos metais na água está intimamente ligado às substâncias químicas que estão presentes no ambiente, podendo assim serem facilmente removidos da água por processos de precipitação e co-precipitação, podem ser inibidos por associação a outros compostos ou então ficarem retidos no sedimento por adsorção e troca iónica (Silva, 2003).

3.2. Estudo do solo

A fim de se fazer uma primeira abordagem ao estudo da dispersão da contaminação nos terrenos contíguos ao Ribeiro de Murta, procedeu-se a uma amostragem de solo.

Para a determinação dos parâmetros pH, condutividade elétrica e suscetibilidade magnética, partindo do pressuposto que estas pudessem estar relacionadas com a contaminação por metais que se verifica no local, foi então realizada uma amostragem de oito pontos distintos, localizados no terreno conforme se pode observar na Figura 11; nesta mesma figura podemos observar a localização da Mina A (galeria de esgoto de mina com drenagem no presente) e a Mina B (galeria de esgoto de mina sem drenagem).

Inicialmente, a escolha destes oito pontos foi feita com base no aspeto visual do solo (cor mais ou menos alaranjada, maior ou menor presença de precipitados férricos, e textura do solo). Como tal, e com base nestes critérios iniciais, escolheram-se dois pontos de amostragem aparentemente não contaminados (Pontos 1 e 2), cinco pontos de amostragem com forte evidência de contaminação e próximos do ribeiro (Pontos 3, 4, 6, 7 e 8) e um ponto com um nível intermédio de contaminação (Ponto 5).

Procedeu-se também à caracterização de alguns perfis de solo, como poderá ser observado mais adiante, para melhorar a nossa compreensão relativa à composição dos terrenos do local. Foram retiradas as coordenadas GPS em cada um dos pontos de amostragem para possibilitar a posterior localização e marcação dos pontos, fazendo assim o seu mapeamento.

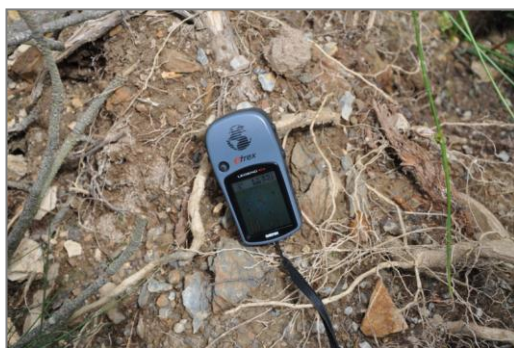


Figura 10. GPS utilizado para a obtenção de coordenadas

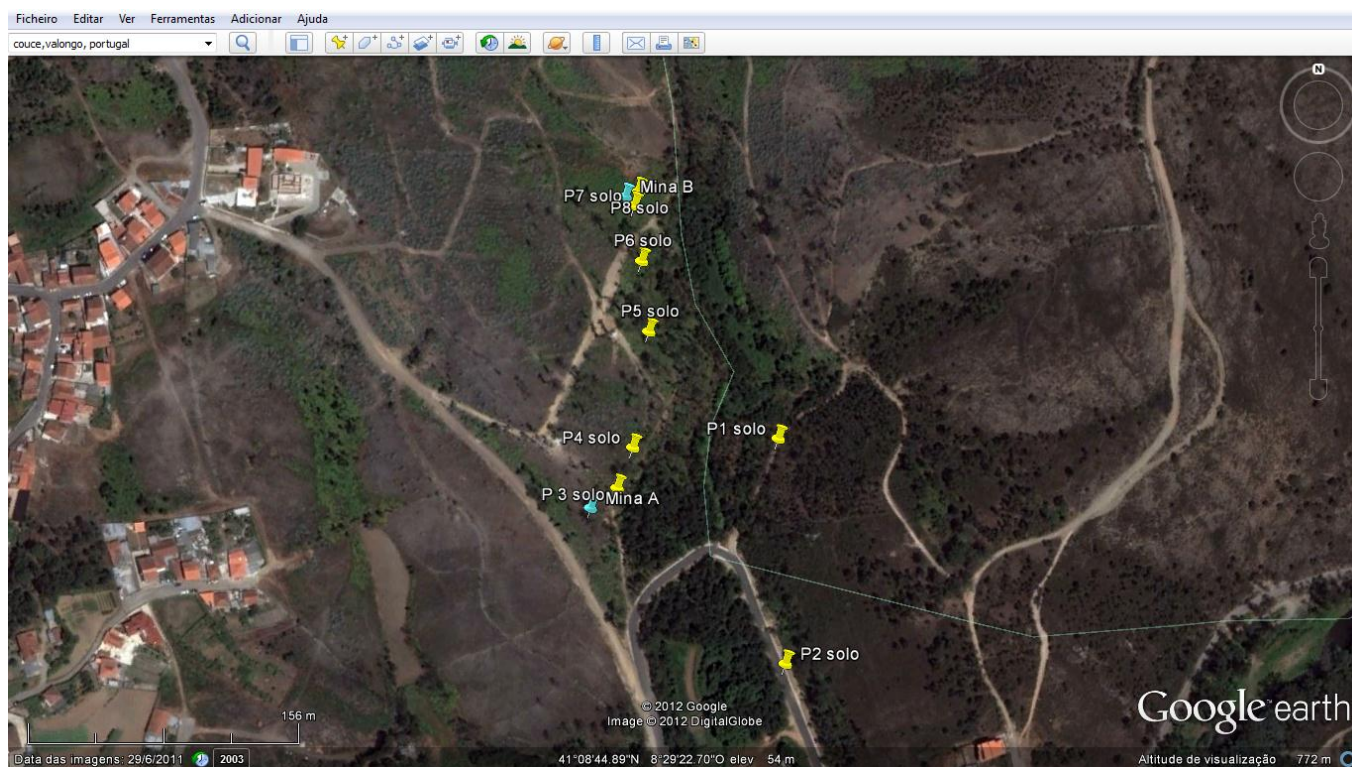


Figura 11. Locais de amostragem de solo superficial nas proximidades do Ribeiro de Murta
(extraído de: Google Earth em 10/02/2012)

Em cada ponto foi recolhida uma amostra de solo, para um saco devidamente etiquetado; o solo foi extraído até uma profundidade de cerca de 10cm.

As amostras de solo foram secas em estufa (Figura 12) a uma temperatura de 40°C. Depois da secagem das amostras, foi necessário fazer a separação granulométrica do solo: a terra fina (partículas com diâmetro ≤ 2 mm) e os elementos grosseiros (partículas com diâmetro > 2 mm). Para tal, a amostra foi peneirada (Figura 13) utilizando um crivo com 2 mm de malha. A fração da terra fina e a dos elementos grosseiros foi pesada (Figura 14). Posteriormente determinou-se a proporção de cada fração na amostra total, e os resultados expressos em percentagem.



Figura 12. Amostras de solo superficial recolhidas nas proximidades do Ribeiro de Murta; Secagem de amostras na estufa



Figura 13. Separação granulométrica do solo; Pesagem do solo

No terreno, foi tomada uma porção de amostra e foi determinada a cor da amostra de solo (seco e húmido) recorrendo à Carta de Cores do Solo de Munsell (matiz, valor e croma) (Figura 14).

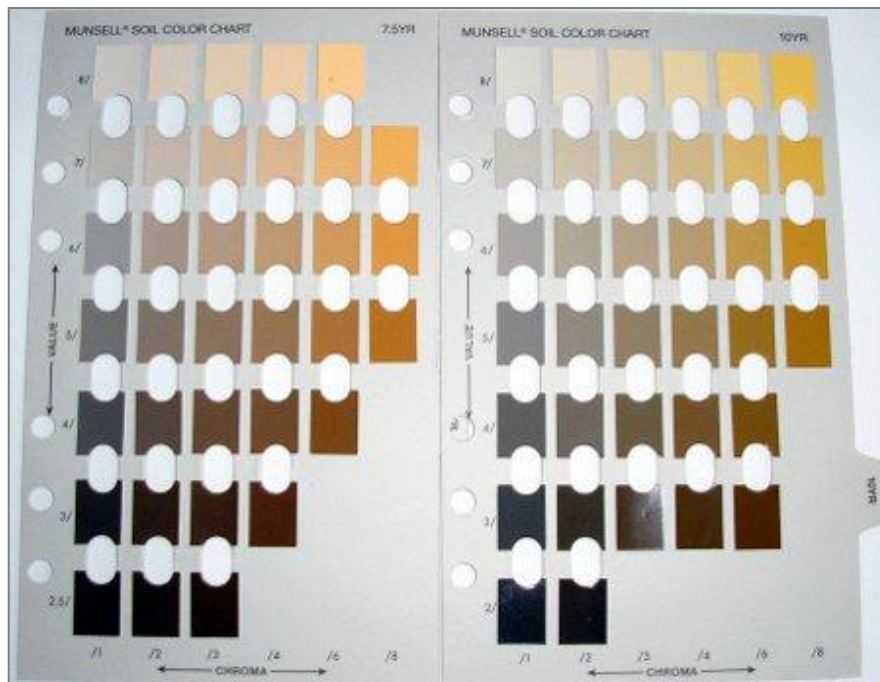


Figura 14. Carta de cores de Munsell
(extraído de: www.pedologiafacil.com.br/curiosidade.php em 27/03/2012)



Figura 15. Determinação da cor do solo através da carta de cores de Munsell

3.2.1. Caracterização morfológica dos perfis do solo

Para a caracterização dos perfis do solo daquela zona, foram escolhidos e caracterizados dois perfis representativos dos solos locais. A caracterização foi feita de acordo com as imagens seguintes (Figura 16 e Figura 17).

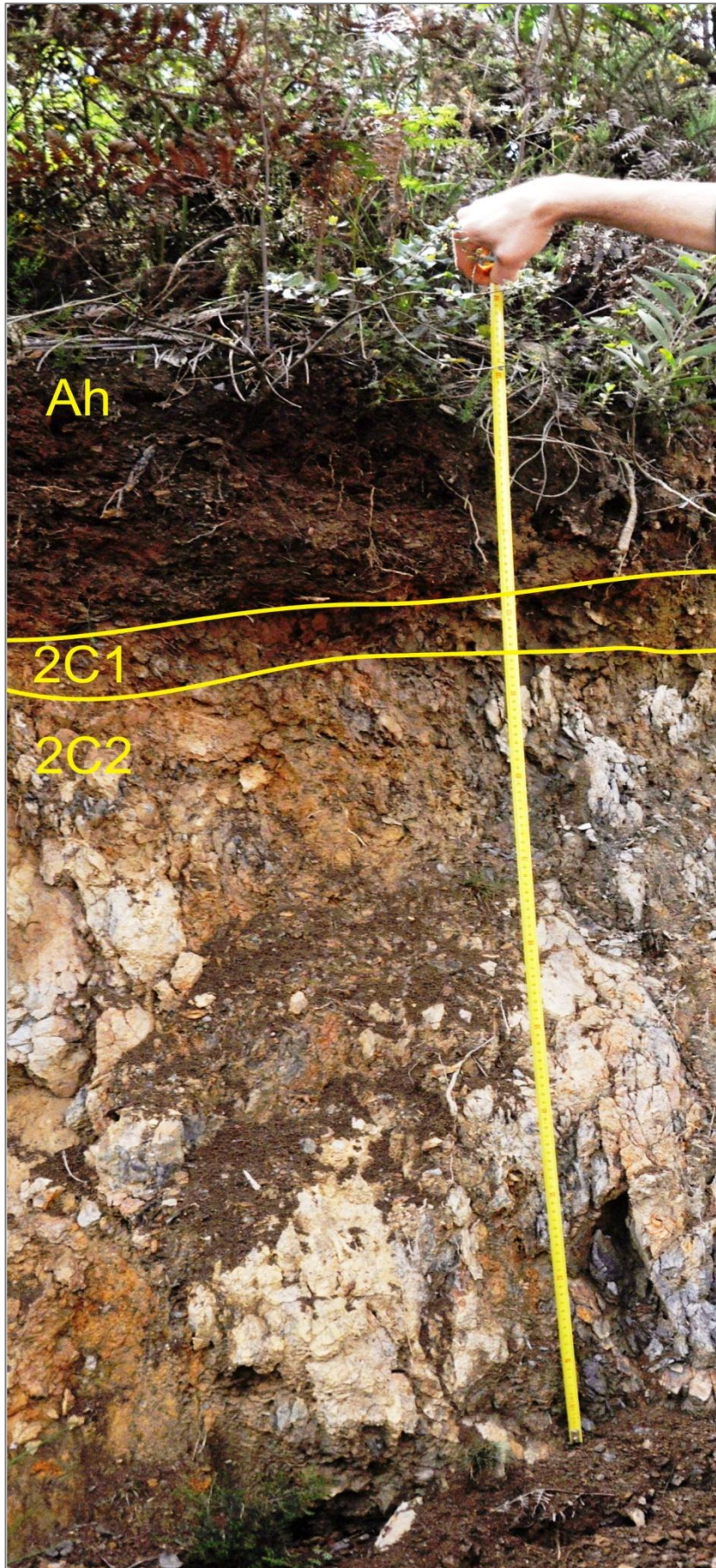


Figura 16. Perfil de solo nº 1



Figura 17. Perfil de solo nº 2

No perfil nº1 temos um depósito de vertente relativamente homogêneo, onde se observa um horizonte Ah rico em matéria orgânica humificada, seguido do horizonte 2C₁ constituído por rocha meteorizada e intensamente fragmentada e o horizonte 2C₂ com constituição semelhante ao anterior mas mais dificilmente escavável. Em relação à estrutura deste solo (no horizonte Ah), pode-se dizer que a sua agregação é fraca, onde os agregados estruturais têm no máximo 0,5 cm de diâmetro, são equidimensionais e com estrutura anisoforme subangulosa fraca. A sua cor é castanha acinzentada muito escura (10YR 3/2) e a sua textura é franco-siltosa.

No perfil nº2 observamos a existência de um horizonte Ah com agregação fraca, não nítida, com agregados estruturais com 1 cm de diâmetro no máximo, equidimensionais de estrutura anisoforme subangulosa fraca, de cor castanho avermelhado (5YR 4/4) e textura franco-argilosa; um horizonte Bw com estrutura nítida, subangulosa/angulosa com agregados com 1,5 cm de diâmetro no máximo e com cor castanha (7,5YR 4/4); um horizonte 2C₁ constituído por xisto intensamente meteorizado e um horizonte 2C₂ composto por xisto menos meteorizado.

3.2.2. pH do solo

O valor de pH para esta amostra de solo foi determinado pelo método potenciométrico (conjunto Hanna Instruments HI 99121) a partir de uma mistura de água destilada e solo, numa proporção de 2:1 (Jones, 2001). Seguidamente, inseriu-se o eletrodo do medidor de pH no sobrenadante da mistura acima descrita e procedeu-se à medição do pH (Figura 18).



Figura 18. Medidor de pH e buffers; Medição de pH na mistura solo - água

3.2.3. Condutividade elétrica do solo

Para a determinação da condutividade elétrica do solo (proporção 2:1 água/solo) colocaram-se num gobelé, 20 cm³ de terra fina e adicionaram-se 40 ml de água destilada (Jones, 2001) (Figura 19). Agitou-se com uma vareta de vidro e deixou-se a suspensão sedimentar durante 30 minutos. De seguida, inseriu-se o condutímetro (Hanna Instruments, modelo HI 98331) no sobrenadante e efetuou-se a medição da condutividade elétrica do solo em mS/cm.



Figura 19. Mistura de água e solo na proporção 2:1

3.2.4. Suscetibilidade magnética do solo

A suscetibilidade magnética é uma propriedade que mede a capacidade de magnetização de um corpo na presença de um campo magnético. Esta tem-se revelado como um importante parâmetro na área do magnetismo ambiental e da contaminação ambiental (Dekkers, 1997; Evans & Heller, 2003).

Quando um determinado material é colocado sob um campo magnético, é-lhe induzida uma magnetização, de acordo com a expressão:

$$M = k \times H$$

M – magnetização;

H – campo magnético;

k – suscetibilidade de volume (adimensional)

ou

$$M = \chi \times H$$

χ - suscetibilidade por massa (expressa em m³/Kg)

Em termos de suscetibilidade magnética, os materiais podem ser paramagnéticos, se a suscetibilidade magnética for positiva e baixa, ferromagnéticos se a suscetibilidade magnética for positiva e muito elevada, ou diamagnéticos, se a suscetibilidade magnética for negativa.

A suscetibilidade magnética do solo vai depender dos minerais magnéticos presentes no mesmo, provenientes da desagregação da rocha mãe. Contudo, alguns estudos dão-nos a informação que há uma relação direta entre a suscetibilidade magnética e alguns tipos de contaminação, como por exemplo, por metais (Pozza *et al*, 2004). Este processo de determinação da suscetibilidade magnética revela-se um processo simples rápido e não destrutivo, o que o torna facilmente utilizado neste tipo de estudos (D’Emilio *et al*, 2006).

A fim de se proceder às determinações de suscetibilidade magnética nas amostras de solo, estas foram pesadas para a posterior determinação da suscetibilidade por massa expressa nas unidades de m³/kg e colocadas em sacos plásticos de forma a caberem na totalidade no copo porta-amostras (Figura 20).



Figura 20. Enchimento do copo porta-amostras

As leituras dos valores de suscetibilidade magnética no solo foram realizadas no aparelho KLY-4S Kappabridge da marca AGICO (Figura 21) do Centro de Geologia da Universidade do Porto, e recorrendo ao *software* SUMEAN, que faz o registo da medição da suscetibilidade por massa.

Inicialmente foi medida a suscetibilidade do copo porta-amostras para que o seu valor fosse subtraído ao valor determinado para as amostras. Durante as medições, as amostras são expostas a um campo magnético de 300 A/m. A suscetibilidade é calculada pelo próprio *software* segundo a relação:

$$K_{\text{massa}} = (v_0/m) \times k_{\text{total}}$$

onde k_{total} é o valor obtido pelo *software* (expresso em 10^{-6} SI), v_0 é o volume de 10cm^3 (sendo posteriormente convertida em m^3) e m a massa da amostra expressa em kg.

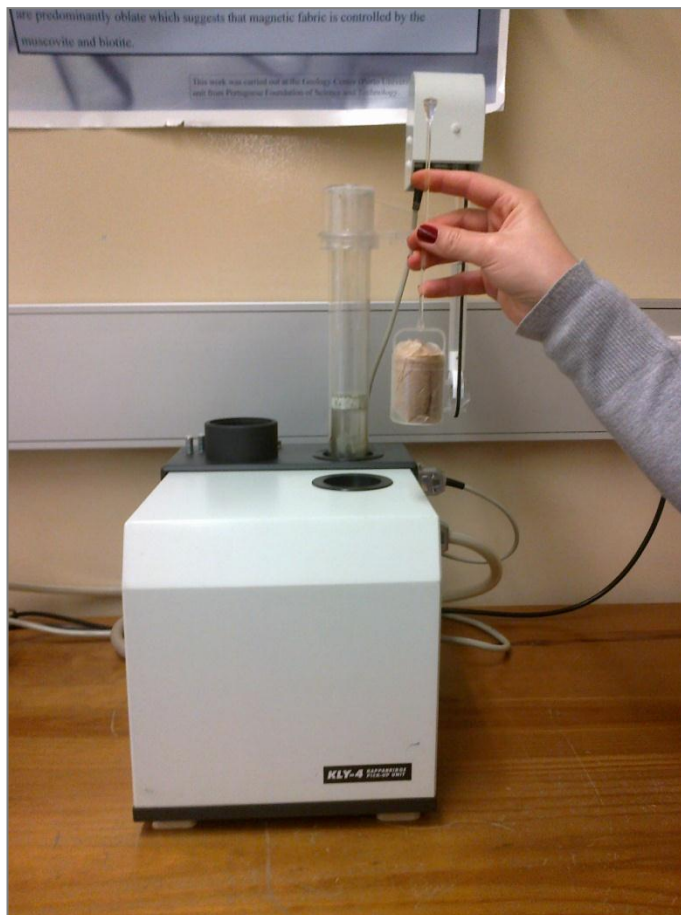


Figura 21. Medidor de suscetibilidade magnética e copo porta-amostras

Depois de determinados os valores de todas as amostras, efetuaram-se os cálculos necessários para a obtenção dos valores de suscetibilidade em m^3/kg .

3.3. Amostragem de água

A amostragem de água levada a cabo no Ribeiro de Murta foi feita de acordo com o mapeamento evidenciado na Figura 22 e de acordo com o esquema da Figura 23. No local, procedeu-se à recolha de amostras (Figura 24) de água, em frascos de plástico devidamente descontaminados. A água utilizada para a determinação de nutrientes, para o teste Microtox[®] e para o ensaio foi congelada a cerca de -16°C, a fim de manter as amostras conservadas até ao momento da análise. As amostras de água utilizadas para a determinação de ferro foram acidificadas com ácido nítrico a uma concentração de 65% (v/v).

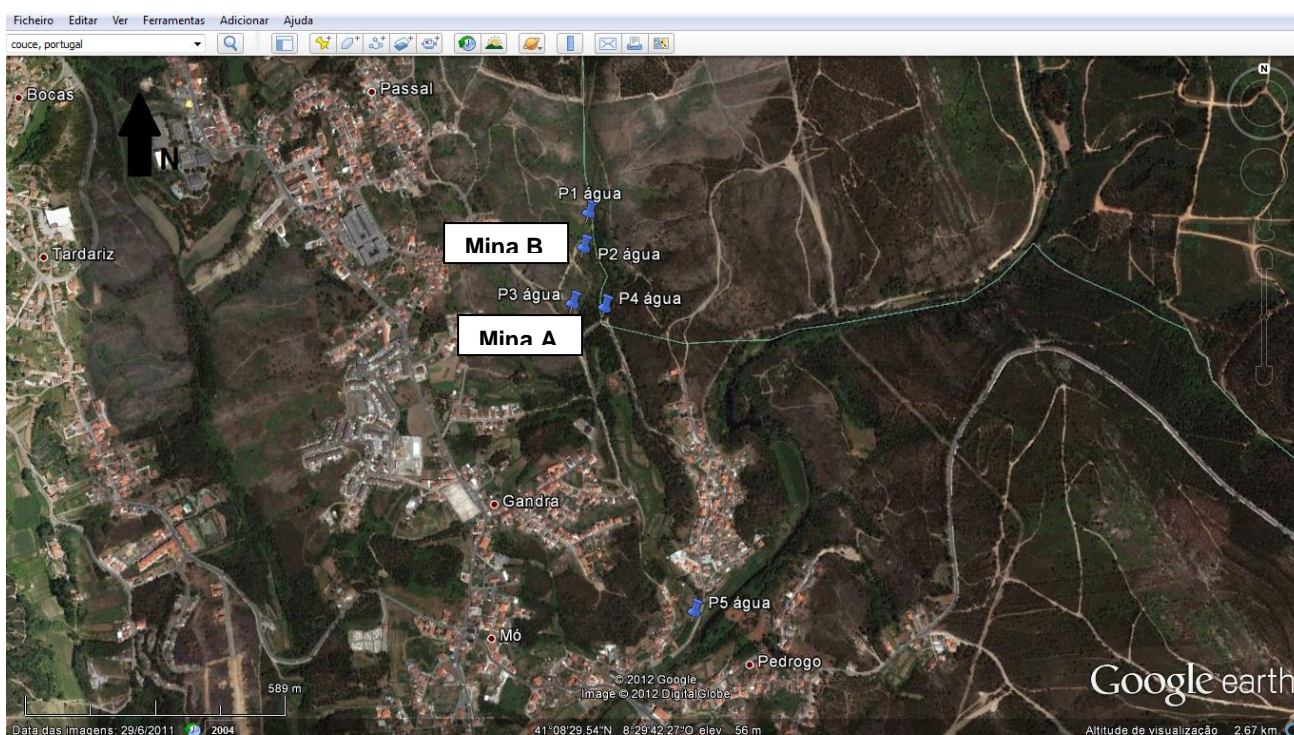


Figura 22. Mapeamento dos locais de amostragem de água superficial no Ribeiro de Murta
(extraído de: *Google Earth* em 10/02/2012)
(Localização aproximada das Mina A e Mina B referenciadas na Figura 11)

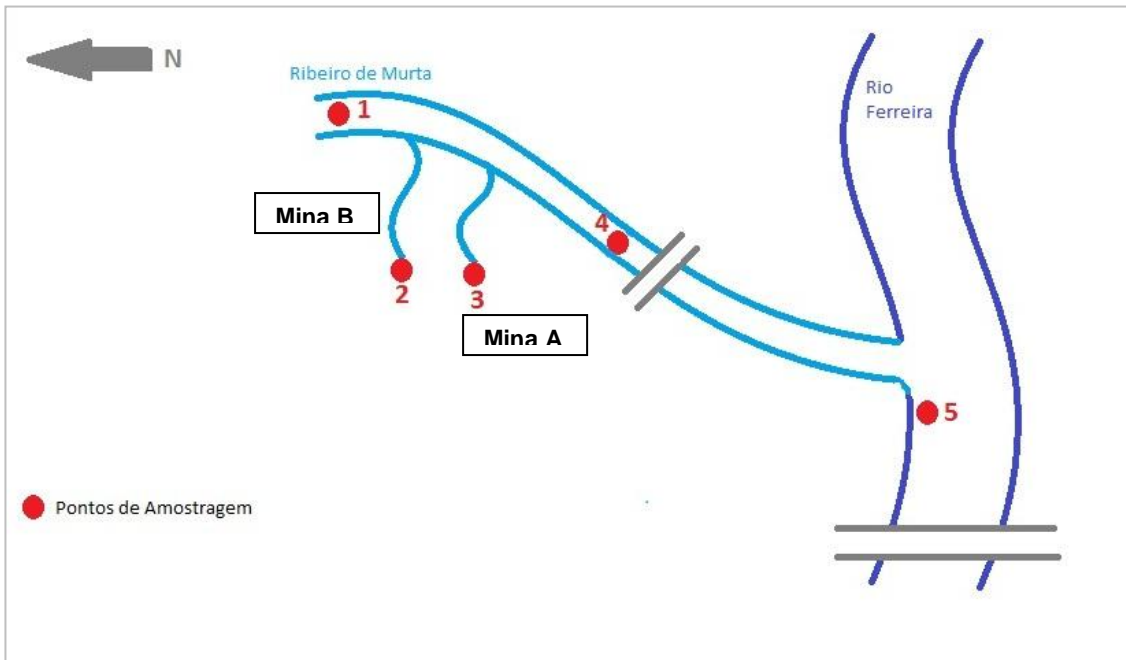


Figura 23. Esquema da localização dos pontos de amostragem de água superficial no Ribeiro de Murta (Localização aproximada das Mina A e Mina B referenciadas na Figura 11)



Figura 24. Recolha de amostra de água superficial no Ribeiro de Murta



Figura 25. Pontos de amostragem de água de água superficial no Ribeiro de Murta

Na Figura 25 consegue-se observar com pormenor o local onde foram recolhidas as amostras de água; em 1) localiza-se o Ponto 1, a montante das galerias de mina, ou seja, água que não está a sofrer influência da contaminação do efluente de mina; em 2) o Ponto 2 e em 3) Ponto 3, estão evidenciadas as galerias de mina que estão a descarregar efluente diretamente; em 4) o Ponto 4, no ribeiro a jusante das galerias de mina e em 5) o Ponto 5, na confluência do Ribeiro de Murta com o Rio Ferreira.

As amostras recolhidas foram utilizadas **1)** nas análises de determinação de nutrientes (nitratos, nitritos, fosfatos, amónia) e de ferro, **2)** nas análises de toxicidade através do ensaio de Microtox® com a bactéria *Vibrio fischeri*, e **3)** no ensaio de biorremediação com *L. minor*.

No local da amostragem foram medidos e registados os parâmetros físico-químicos pH, condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$), temperatura ($^{\circ}\text{C}$), sólidos dissolvidos totais – SDT (ppt)

e oxigénio dissolvido (mg O₂/ L). Para a medição destes parâmetros foi utilizado o medidor multiparâmetros HI98129 da Hanna Instruments.



Figura 26. Calibração do medidor de pH



Figura 27. Medição de parâmetros físico-químicos no campo

3.3.1. Determinação de nutrientes e ferro na água

Depois de realizada a amostragem de água de acordo com o referenciado no ponto 3.3 deste capítulo, procedeu-se à determinação das concentrações de nitratos, nitritos, fosfatos e amónia presente na água dos cinco pontos de amostragem, com o objetivo de se conhecer, em termos químicos, um pouco melhor esta água. Para a realização destas determinações recorreu-se a um fotómetro C200 Multiparameter Ion Specific Meter for Laboratories da Hanna Instruments, bem como os respetivos kits de reagentes preparados para a determinação de concentrações (método de determinação aprovado pela EPA). Para cada elemento e, para cada amostra, foram efetuadas três leituras. A água utilizada nas determinações foi previamente descongelada à temperatura ambiente.



Figura 28. Fotómetro multiparamétrico, cuvete e kits de reagentes

Procedeu-se ainda a uma análise de determinação do ferro presente nas amostras recolhidas. As análises foram realizadas pelo CIIMAR – Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental.

Os níveis de ferro nas amostras de água foram determinados por Espectrometria de Absorção Atómica com Atomização por Chama segundo o método descrito em Reis *et al*, (2012), estando os resultados expressos em µg/L.

3.3.2. Teste de toxicidade - Microtox[®]

O teste Microtox[®] é um teste padronizado de avaliação da toxicidade de água, caracterizado pela sua rapidez, sensibilidade, reprodutibilidade, relevância e rentabilidade. Neste teste é utilizada uma bactéria marinha bioluminescente, *Vibrio fischeri*. Esta bactéria quando é exposta às soluções padrão e às amostras a testar, emite luminescência de forma diferente. As variações na emissão de luminescência vão ser medidas e registadas durante o tempo de exposição (Azur Environment, Microtox[®], 1998). As alterações ao longo do tempo, na emissão de luz pela bactéria, exposta a diferentes concentrações da solução de um agente tóxico ou a diferentes diluições de uma água residual, vão produzir uma relação dose/resposta. Os resultados são normalizados e o EC₅₀ (a concentração que permite uma redução de 50% na emissão de luz) é calculado, pelo método Probit.

Após a caracterização física e química das amostras de água recolhidas nos diferentes pontos de amostragem, procedeu-se à avaliação da sua toxicidade através de um ensaio de Microtox[®], expondo a bactéria *V. fischeri* durante 5, 15 e 30 minutos, a diferentes concentrações das águas recolhidas, de acordo com o protocolo 81,9% Basic Test, no aparelho Microtox 500 Toxicity Analyzer. No fim dos testes foi tomado o valor da percentagem de efeito (%Efeito) ou os valores de EC₅₀ e EC₂₀ e respetivos intervalos de confiança quando estes foram determinados pelo *software* acoplado ao aparelho. O mesmo procedimento foi aplicado para avaliar a toxicidade de uma amostra de água usada como controlo no ensaio de biorremediação (ver secção seguinte).



Figura 29. Microtox 500 Toxicity Analyzer; Reagentes utilizados no teste de toxicidade (diluyente e solução de ajuste osmótico).

3.4. Ensaio de biorremediação com *L. minor*

3.4.1. *L. minor*

Os exemplares de *L. minor* utilizados neste ensaio experimental foram recolhidos no Jardim Botânico do Porto, numa lagoa existente numa estufa recentemente aí criada (Figura 30).



Figura 30. Lagoa da estufa do Jardim Botânico do Porto

As macrófitas foram trazidas para laboratório, na água do lago (à qual estavam adaptadas e onde se desenvolviam de forma saudável), numa caixa de plástico, aberta. Uma amostra desta mesma água, foi recolhida para ser utilizada como controlo no ensaio de fitorremediação, uma vez que se previa que a mesma fosse de boa qualidade. Em laboratório, as frondes de *L. minor* foram inspeccionadas visualmente para seleccionar, as que se apresentavam em boas condições, para serem usadas no ensaio.

3.4.2. Desenho/ensaio experimental

Para o ensaio de biorremediação definiu-se o seguinte desenho experimental, representado na Figura 31. Assim consideraram-se 5 tratamentos compostos pelas águas dos Ponto 2 e 3, por serem as águas com maior contaminação aparente (com concentração de ferro de 17,786 mg/L e 22,6 mg/L, respectivamente, como se pode observar nas Tabelas 3 e 5 onde constam os resultados da concentração de ferro e a percentagem de efeito do teste Microtox®). Para estes pontos testaram-se as concentrações de 100 e 50%, uma vez que se receava que o crescimento da macrófita

fosse inibido nas amostras não diluídas. As macrófitas foram ainda expostas à água do Ponto 1, que no fundo funcionou como um controlo de campo. O desenho experimental teve ainda um controlo adicional constituído pela água da lagoa do Jardim Botânico. De forma a testar o tempo necessário para se atingir a bioacumulação máxima de Fe em *L. minor*, foram definidas três réplicas por para serem avaliadas ao fim de 7, 14 e 21 dias, perfazendo um total de 9 réplicas por tratamento.

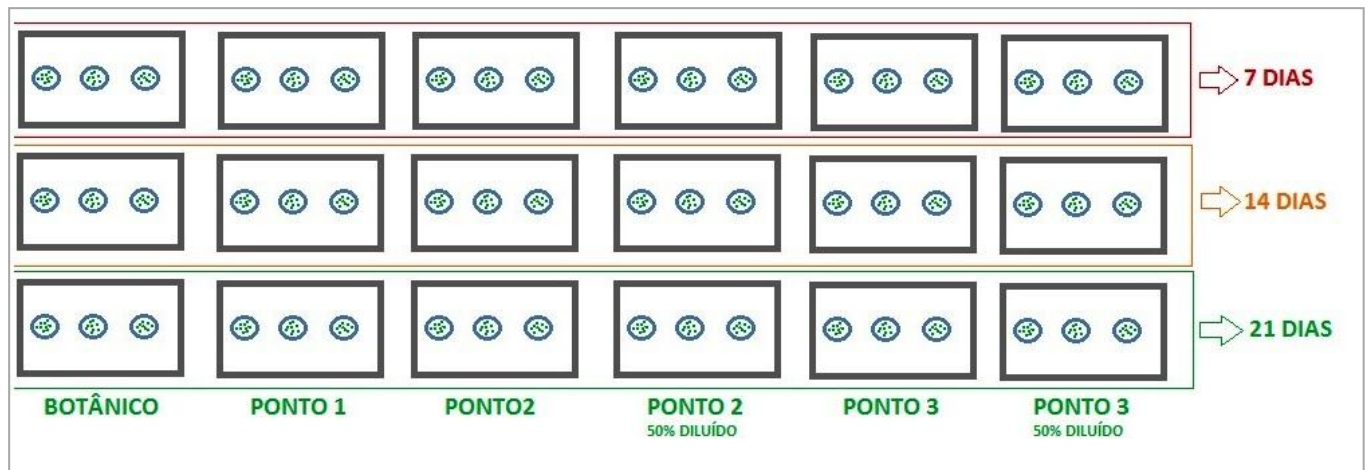


Figura 31. Desenho Experimental

Assim colocou-se em cada frasco (réplica) de polipropileno estéril, 40mL da amostra de água e 60 frondes da espécie *L. minor*, selecionadas aleatoriamente. Os frascos foram colocados na estufa do Jardim Botânico do Porto, para que as macrófitas se mantivessem nas condições de luminosidade e temperatura às quais estavam adaptadas. Depois de decorrido o ensaio foram avaliados alguns parâmetros que nos permitiram verificar a capacidade de bioacumulação da *L. minor*.

Biomassa

No início do ensaio, foram escolhidas aleatoriamente do *pull* inicial de exemplares de *L. minor*, três conjuntos de 60 frondes da espécie que fossem representativas das utilizadas no ensaio e procedeu-se à medição do seu peso seco. Para o efeito os três conjuntos de frondes foram colocados na estufa a 70°C, durante 36 horas e após esse período fez-se a medição do peso seco ($P_{\text{seco inicial}}$). Na seguinte tabela estão expressos a média e o desvio padrão dos três conjuntos iniciais de *L. minor*.

Tabela 1. Biomassa inicial (média ± desvio padrão)

Biomassa inicial (mg)	
Média	6,7±0,8

No fim de cada tempo do ensaio (T7, T14 e T21), colocaram-se as frondes de *L. minor* de cada réplica em caixas de alumínio (Figura 32) que foram posteriormente colocadas na estufa para determinação do peso seco, pela metodologia acima descrita.

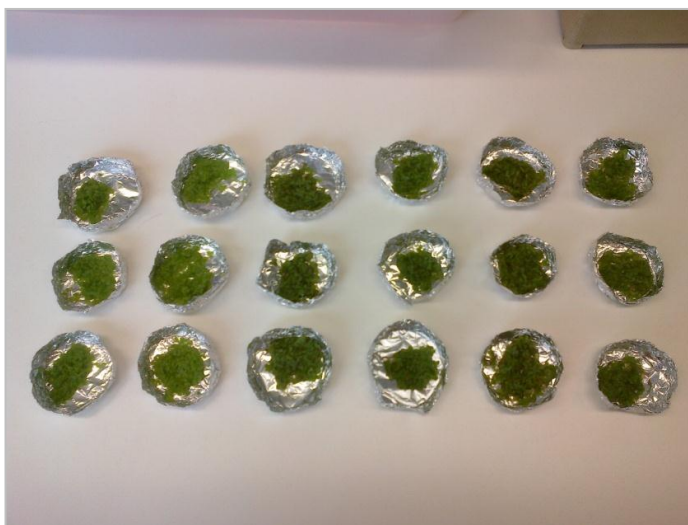


Figura 32. *L. minor* para determinação da biomassa



Figura 33. Medição do peso seco

Bioacumulação de ferro em *L. Minor*

Após determinação do peso seco, o material de cada uma das réplicas foi digerido para posterior determinação dos níveis ferro bioacumulados nos diferentes tempos de exposição. Para tal, em tubos falcon estéreis, adicionou-se a cada réplica 1mL de ácido nítrico a uma concentração de 65% (v/v) (Suprapur Merck®), e colocaram-se os tubos à temperatura ambiente durante 24 horas. Passadas as 24 horas foram adicionados 250mL

de peróxido de hidrogénio (Suprapur, Merck®), aquecendo-se os tubos a 60°C durante 8h. Depois de arrefecidas, as amostras foram centrifugadas a 4000 r.p.m., durante 10 minutos, e o sobrenadante foi decantado. O processo de centrifugação/decantação foi necessário para eliminar algumas fibras brancas que ficaram em suspensão na amostra. O volume da amostra foi posteriormente analisado por ICP-MS (Thermo X-Series Quadrupole ICP-MS, Thermo Scientific). Para controlo de qualidade do processo de digestão foram preparados dois brancos, seguindo o procedimento descrito, mas sem adição de amostra.

Análise Estatística

Os resultados de variação de biomassa e de bioacumulação obtidos no decorrer do ensaio foram submetidos a uma análise estatística. Para tal foi utilizado o *software IBM SPSS Statistics V.20*.

Inicialmente foi feito o teste ANOVA bifatorial para avaliar o efeito do tempo de exposição e dos diferentes tipos de água na variação da biomassa de *L. minor* e nos níveis de ferro bioacumulados. Seguidamente foi feito o teste ANOVA unifatorial, para testar isoladamente os fatores, a fim de se verificar se existiam diferenças ao longo do tempo, em termos de biomassa e de Fe bioacumulado entre as macrófitas expostas aos diferentes tipos de água. Foi necessário proceder à correção “*Simple Main Effect*”, nas Anovas unifatoriais, devido a se ter registado uma interação significativa entre os dois fatores (tempo X tratamento ou tipo de água) na ANOVA bifatorial (Zar, 2010). Para cada uma das ANOVAS unifatoriais, sempre que se registaram diferenças significativas entre tratamentos, procedeu-se a um teste de Tukey de comparações múltiplas, igualmente efetuado com a correção para “*Simple Main Effects*”.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Solo

No presente capítulo é feita a apresentação e discussão dos resultados referentes aos parâmetros pH, condutividade elétrica e suscetibilidade magnética do solo determinados com vista a fazer-se uma avaliação da dispersão da contaminação nos terrenos envolventes à área de estudo, tendo em conta que esta foi uma avaliação muito simples e a apontar para trabalhos futuros mais aprofundados no estudo desta questão.

4.1.1. pH, Condutividade Elétrica e Suscetibilidade Magnética

Na seguinte tabela (Tabela 2) podem ser observados os valores de pH, condutividade elétrica e suscetibilidade magnética obtidos para os oito pontos de amostragem.

Tabela 2. Valores de pH, condutividade elétrica e suscetibilidade magnética das amostras de solo recolhidas na proximidade da mina de S. Pedro da Cova

Ponto	Descrição do Ponto	Influência da mina	pH	Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Suscetibilidade (m^3/Kg)
1	Não contaminado	-----	4,28	364	148×10^{-8}
2	Não contaminado	-----	4,75	301	134×10^{-8}
3	Contaminado	A	5,95	775	$52,8 \times 10^{-8}$
4	Contaminado	A	6,14	618	$85,7 \times 10^{-8}$
5	Intermédio	A	5,03	402	211×10^{-8}
6	Contaminado	A	6,03	730	190×10^{-8}
7	Contaminado	B	4,57	320	1790×10^{-8}
8	Contaminado	B	3,8	465	1970×10^{-8}

Depois de registados todos os valores, efetuaram-se os seguintes gráficos (Figuras 34 e 35)

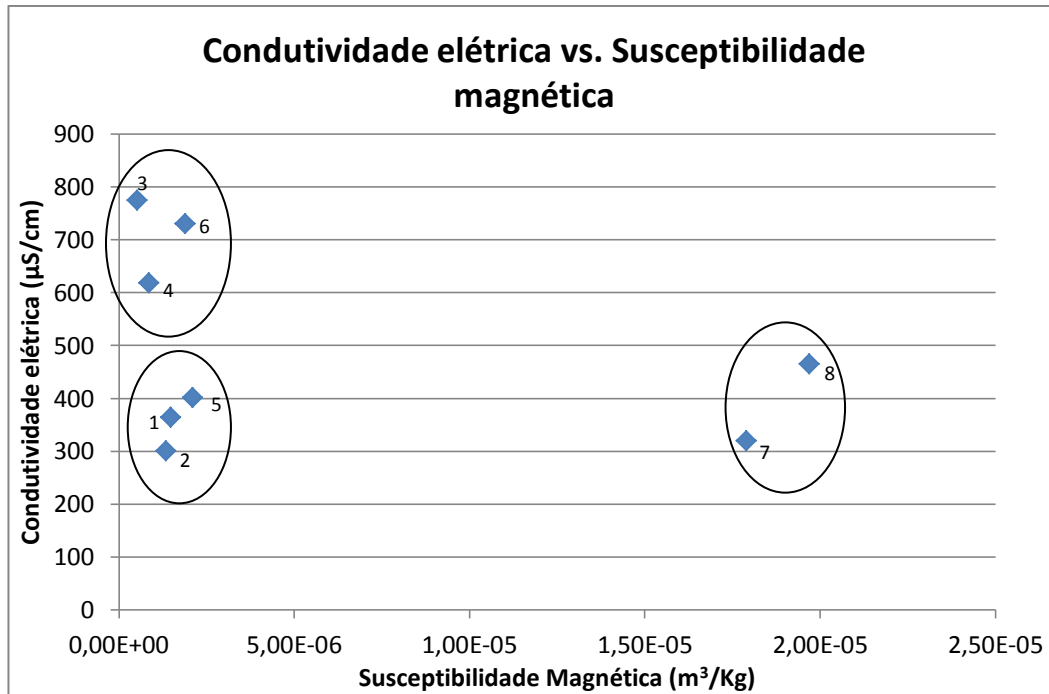


Figura 34. Relação condutividade elétrica e susceptibilidade magnética

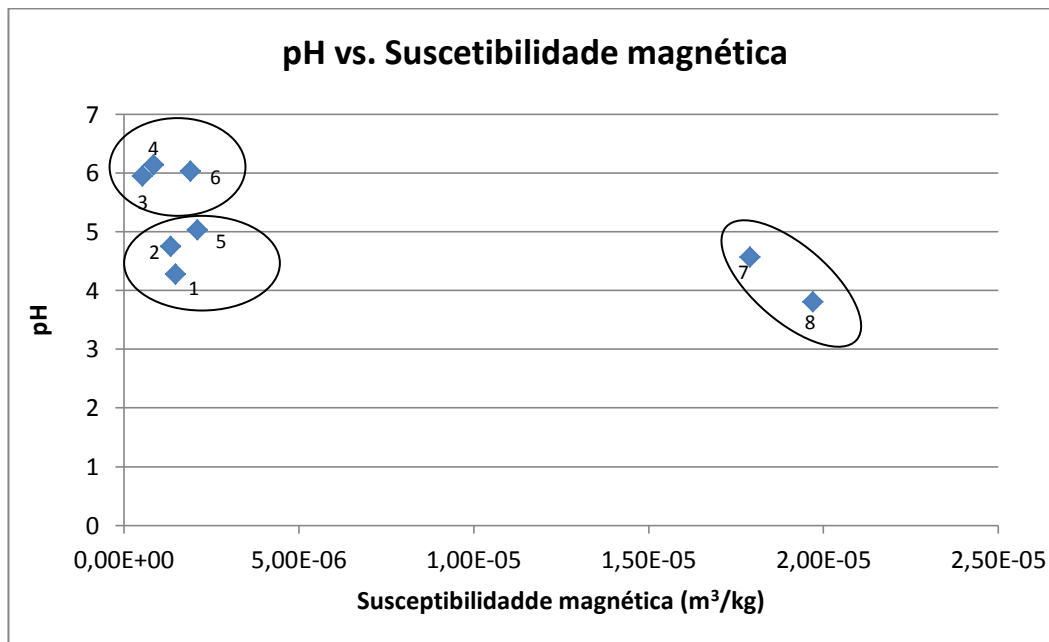


Figura 35. Relação pH e susceptibilidade magnética

Observando a análise gráfica que relaciona a condutividade elétrica com a susceptibilidade magnética e o pH com a susceptibilidade magnética conseguimos observar que os dados se organizam espacialmente no gráfico em três grupos distintos. Analisando os gráficos da Figura 34 e Figura 35, podemos ver que num grupo estão os Pontos 1, 2 e 5, num outro grupo os Pontos 3, 4 e 6 e num último grupo os Pontos 7 e 8.

Os Pontos 1 e 2 são pontos de solo natural de característica ácida, que não apresentam contaminação, e por isso apresentam valores de pH mais baixos, valores de condutividade elétrica também mais baixos, e (comparativamente com os outros pontos de amostragem) valores de susceptibilidade magnética intermédios. Os Pontos 3, 4 e 6 são pontos de amostragem que estão a sofrer a influência da drenagem realizada pela Mina A, que está atualmente a drenar efluente, por isso apresentam valores de pH relativamente próximos da neutralidade, valores de condutividade elétrica consideravelmente altos e valores de susceptibilidade magnética relativamente mais baixos. Os Pontos 7 e 8 estão localizados num terreno que sofreu influência da antiga mina (Mina B) que se acredita que drenava efluentes ácidos (Santos, 2008) e por isso possui valores de pH mais baixos, valores de condutividade também mais baixos e susceptibilidade magnética elevada. O Ponto 5, devido à sua localização, apresenta características que nos levam a acreditar que aqui tenha ocorrido mistura de solos, uma vez que o valor de pH é relativamente baixo, e os valores de condutividade elétrica e susceptibilidade magnética são intermédios.

No sentido de justificar os resultados obtidos é importante salientar que a suscetibilidade magnética pode ser usada como uma ferramenta de diagnóstico em estudos de contaminação de solos por metais pesados, sendo que a suscetibilidade magnética está correlacionada com o nível de contaminação do solo (Wang, 2000). Estudos realizados em locais de minas, que estão contaminados por metais, nomeadamente por ferro, revelam que existe uma forte correlação entre a suscetibilidade magnética e os níveis de ferro contidos no solo (Kim *et al*, 2010). Este facto vem corroborar os resultados obtidos para o Ponto 7 e 8, que apresentam valores mais elevados de suscetibilidade magnética e que se acredita estarem contaminados pelo efluente proveniente da Mina B.

Mais uma vez é importante referir que esta é uma visão e uma análise muito simplista do problema de dispersão de contaminação que se verifica naquele local e que necessita de estudos mais precisos e aprofundados, nomeadamente ao nível da mineralogia da região.

4.2. Água

4.2.1. Parâmetros físico-químicos

Na Tabela 3 estão expressos os resultados obtidos para a avaliação dos parâmetros físico-químicos das amostras de água recolhidas nas proximidades da Mina de S. Pedro da Cova, e na lagoa do Jardim Botânico do Porto. Na Tabela 4 podem ser observados os VMR e VMA fixados pelo Decreto-Lei 236/98, de 1 de Agosto, para as águas destinadas à rega (Anexo XVI)

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos determinados para as amostras de água recolhidas na proximidade da mina de S. Pedro da Cova e no Jardim Botânico do Porto

Parâmetro	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5	Botânico
Temperatura (°C)	18,7	22	19	19,1	20,1	19
pH	7,49	6,37	6,48	6,78	6,96	6,8
Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	70	1070	1090	830	740	310
Sólidos Dissolv. Totais (ppt) *	0,03	0,53	0,54	0,4	0,37	0,15
O ₂ dissolvido (% de saturação)	78,04	24,45	34,72	65,21	74,78	76,19
Nitrato (mg/L NO ₃ ⁻)	0,001	0,02	0,13	0,18	0,03	0,12
Amónia (mg/L NH ₃)	0,00	0,001	0,00	0,002	0,001	0,011
Fosfato (mg/L PO ₄ ⁻)	0,12	0,21	0,00	0,00	0,00	0,03
Nitrito (mg/L NO ₂ ⁻)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ferro (mg/L)	<0,03	17,786	22,6	ND	6,065	ND

* Para obter o valor em mg/L, multiplicar por 1000

ND: Não determinado

Nota: A amostragem de água foi feita a 19 de Junho de 2012

Tabela 4. Decreto-Lei 236/98, de 1 de Agosto – Anexo XVI:
VMR e VMA para os parâmetros físico-químicos das águas destinadas à rega

Parâmetro	Expressão dos Resultados	VMR	VMA
pH	Escala de Sorensen	6,5-8,4	4,5-9,0
Condutividade elétrica	µS/cm, 20°C	1000	-----
Sólidos Dissolv. Totais	mg/L	640	-----
Nitratos	mg/L NO ₃	50	-----
Ferro	mg/L Fe	5,0	-----

Depois de comparados todos os resultados obtidos com os valores de referência para águas de rega existentes no Decreto-Lei 236/98, de 1 de Agosto, salientamos alguns aspetos que requerem uma maior reflexão.

No caso da condutividade elétrica, os valores obtidos para o Ponto 2 e Ponto 3 (saídas de galeria de mina) apresentam uma leitura superior ao tabelado na legislação. Este acontecimento pode ser explicado pelo facto de esta ser uma escorrência direta da galeria de mina. Os pontos de amostragem consecutivos a estes dois, portanto, o Ponto 4 e Ponto 5 já apresentam valores mais baixos, pois a água que sai das galerias de mina, nestes últimos pontos já se encontra mais diluída. O Ponto 1, como se encontra a montante das galerias de mina, não sofre os efeitos desta contaminação e por isso apresenta valores de condutividade elétrica bastante mais baixos.

Como consequência da contaminação proveniente da mina, também verificamos que os valores de sólidos dissolvidos totais, são mais elevados para os Pontos 2 e 3 e, conseqüentemente, os valores de saturação em oxigénio apresentam-se mais baixos nestes dois pontos, devido à formação de precipitados de ferro que oxidam e fazem diminuir a taxa de oxigénio dissolvido na água.

Em relação à concentração de ferro, verifica-se que os valores obtidos para o Ponto 2, Ponto 3 e Ponto 5 estão muito acima do referido no DL 236/98, de 1 de Agosto para as águas de rega. O Ponto 2 e Ponto 3 registam os valores mais elevados, uma vez que são os pontos de saída direta da água de escorrência da mina de ferro. Mais uma vez, o Ponto 1 como se localiza a montante das galerias não sofre o efeito das suas descargas. O Ponto 5 como já se localiza numa fase de confluência como o Rio Ferreira já vê a concentração de ferro mais baixa, mais diluída, mas ainda assim apresenta um valor muito mais elevado ao que é recomendado por lei.

Com esta análise de determinação da concentração de ferro na água, e fazendo agora uma ligação ao estudo que foi feito em relação à dispersão da contaminação no solo, verifica-se que o ribeiro está a ser afetado pela contaminação por ferro proveniente

das galerias de mina, e que esta água contaminada que corre no ribeiro e no seu leito de cheia (durante o Inverno) afeta os terrenos envolventes ao local. Foi nos pontos de amostragem de solo mais próximos da galeria de mina (Mina A) e do ribeiro que se verificaram maiores indícios de contaminação. Estas quantidades de ferro no local podem ser prejudiciais à saúde humana, uma vez que é evidente a prática agrícola nos terrenos adjacentes ao ribeiro, bem como o uso desta água para rega dos mesmos.

4.2.2. Teste de toxicidade - Microtox®

A fim de se verificar a toxicidade da água utilizada no ensaio de biorremediação, foi realizado o teste de Microtox®. Na Tabela 5 estão expressos os resultados obtidos no teste.

Tabela 5. Resultados do teste de toxicidade Microtox®

Ponto de Amostragem	Percentagem de Efeito (%) 5 min	Percentagem de Efeito (%) 15 min	Percentagem de Efeito (%) 30 min
Botânico	30,21	23,34	19,44
1	NT	NT	NT
2	0,6472	NT	NT
3	48,38	29,14	63,24
4	3,44	NT	NT
5	27,95	43,65	44,15

NT: Não Tóxico

De uma forma geral, a percentagem de efeito da bactéria *V. fischeri* quando em contacto com a água dos vários pontos de amostragem, é inferior a 50%, ou seja, pode-se dizer que as amostras de água testadas têm uma toxicidade muito reduzida, com exceção da amostra do Ponto 3, que causou uma inibição na produção de bioluminescência de 63,24%, após 30 minutos de exposição. Contudo o *software* não conseguiu calcular um valor de EC_{50} , devido ao facto de esta inibição ocorrer apenas na concentração mais elevada da amostra (amostra não diluída). A água do Botânico apresenta uma toxicidade muito baixa, causando apenas uma inibição na produção bioluminescência de 19,44% ao fim de 30 minutos de exposição, como se estava a prever. A água do Ponto 1, apresenta-se como não tóxica, não tendo ocorrido inibição na produção de bioluminescência pela bactéria *V. fischeri*; a água proveniente deste ponto de amostragem (a montante das galerias de mina) é uma água que aparentemente não estava contaminada, daí este ser um resultado expectável para a toxicidade.

4.3. Ensaio de biorremediação com *L. minor*

4.3.1. Biomassa

No gráfico da Figura 36 pode-se observar de que forma evoluiu a variação da biomassa de *L. minor* ao longo de todo o ensaio nos diferentes tratamentos.

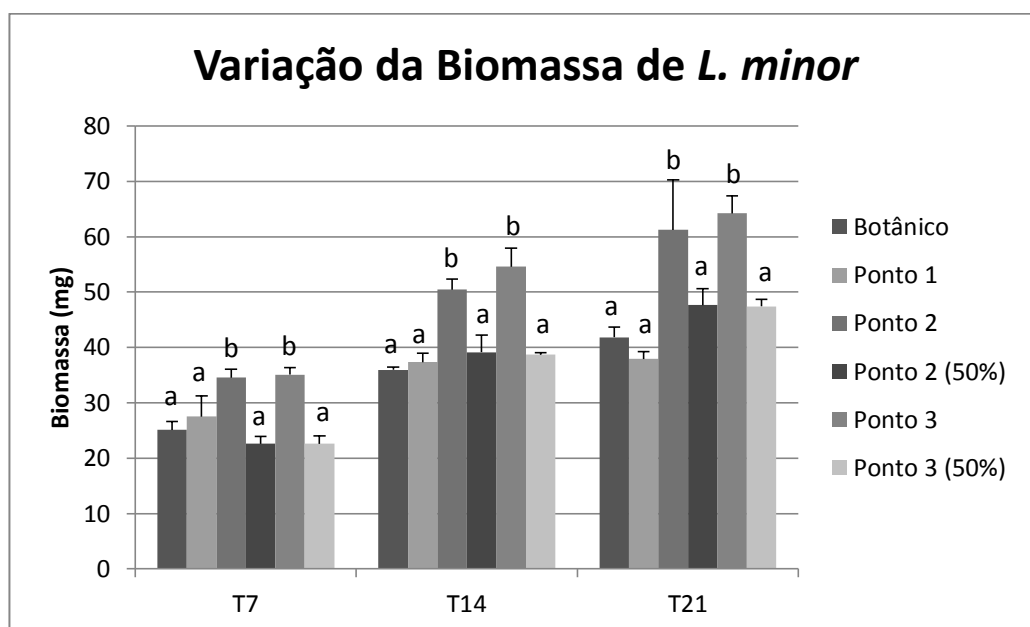


Figura 36. Gráfico de variação da biomassa de *L. minor* nos diferentes tratamentos e ao longo do tempo (média±desvio padrão). As letras representam o resultado do teste de Tukey de comparações múltiplas.

Numa primeira abordagem e recorrendo somente à observação gráfica dos resultados, pode-se dizer que houve um crescimento progressivo de *L. minor* (medido pelo aumento de biomassa seca) quer no controlo do ensaio (Botânico) quer no controlo de campo (Ponto 1), e nas águas dos Pontos 2 e 3 não diluídas.

Partindo-se de uma biomassa seca inicial de $6,7 \pm 0,8$ mg, verificou-se um aumento considerável da biomassa para a água do controlo do ensaio (Botânico) logo nos primeiros sete dias de ensaio ($25,1 \pm 1,51$ mg); esta tendência verificou-se também para os 14 dias de exposição ($37,97 \pm 0,51$ mg) bem como para os 21 dias de exposição ($41,83 \pm 1,80$ mg). A variação da biomassa para a água do Ponto 1 (controlo de campo), foi muito semelhante ao ocorrido com a água do Botânico: para os 7 dias registou-se um peso de $27,5 \pm 3,77$ mg, para os 14 dias de exposição $37,37 \pm 1,55$ mg e para os 21 dias de exposição $37,9 \pm 1,27$ mg.

Centrando-nos agora nos frascos com água do Ponto 2, e comparativamente com o valor inicial, registou-se um aumento da biomassa bastante mais acentuado para os 7 dias

(34,53±1,56mg), para os 14 dias (50,47±1,88mg) e para os 21 dias de exposição (61,53±9,06mg); os frascos com água do Ponto 3 registaram a mesma tendência para os 7 dias (35,10±1,30mg), para os 14 dias (54,57±3,40mg) e para os 21 dias de exposição (64,23±3,11mg). Este registo leva-nos a concluir que a espécie se adaptou bem aos elevados níveis de ferro e que esse mesmo elemento não teve um efeito negativo no seu desenvolvimento, pelo contrário, foi estimulante.

Esta resposta das macrófitas já era espectável, porque apesar dos elevados níveis de ferro contidos no efluente, este não revelou uma toxicidade muito elevada para a bactéria *V. fischeri* quando submetido ao teste de toxicidade Microtox[®].

Tendo em conta agora aos resultados obtidos para os frascos em que o efluente foi diluído a 50%, Ponto 2 (50%) e Ponto 3 (50%), o crescimento foi significativamente inferior ao dos frascos sem diluição. Mesmo assim e comparando com o valor inicial, nos frascos com água do Ponto 2 (50%), registou-se um aumento da biomassa para os 7 dias (22,60±1,31mg), para os 14 dias (39,13±3,09mg) e para os 21 dias de exposição (47,63±2,96mg); os frascos com água do Ponto 3 (50%) cumpriram a mesma tendência para os 7 dias registou-se um peso de biomassa seca de 22,60±1,41mg, para os 14 dias 38,70±0,36mg e para os 21 dias de exposição 47,40±1,30mg. De facto, observou-se que para todos os períodos de exposição o crescimento foi mais acentuado nos frascos com efluente, água do Ponto 2 e do Ponto 3, comprovando que de facto houve uma estimulação ao crescimento das plantas provocadas pela presença de ferro no efluente.

Adicionalmente, enquanto nos frascos com contaminação, as macrófitas apresentaram-se sempre bem desenvolvidas, viçosas e com as frondes bem diferenciadas, nos frascos com água sem contaminação estas apresentaram-se menos viçosas, com um tom mais esbranquiçado e com as frondes menos diferenciadas. Contudo, o crescimento foi progressivo para todos os tipos de água, tendo-se registado a necessidade de interromper o ensaio ao fim de 21 dias, por falta de área superficial suficiente nos frascos utilizados para o ensaio. No caso particular do controlo com água da lagoa do Jardim Botânico, verifica-se um abrandamento do crescimento, o que pode ter resultado quer desta falta de espaço para o desenvolvimento de novas frondes, quer do possível esgotamento de nutrientes na água.

Depois de analisados estes resultados, é importante fazermos uma reflexão crítica em relação ao facto do crescimento e desenvolvimento da espécie *L. minor* parecer ter sido estimulado pela presença de ferro no efluente, como indica a análise feita. O ferro é um nutriente essencial ao desenvolvimento das plantas, desempenhando um papel

importante no transporte de eletrões que estão envolvidos nos processos de fotossíntese e de respiração (Cannolly & Guerinot, 2002), no entanto é considerado tóxico em níveis elevados como é o caso do efluente mineiro usado no ensaio. Mas claramente o efeito do ferro não foi tóxico para as plantas. Uma das justificações que pode ser apresentada neste caso, é o facto de o ferro estar a estimular a ação de uma proteína especializada, a ferritina, que aprisiona este metal tornando-o indisponível e permitindo simultaneamente o desenvolvimento e crescimento da planta (Cannolly & Guerinot, 2002). Estudos semelhantes a este (Kheir *et al*, 2007) demonstraram existir uma relação direta entre a diminuição do contaminante na água e o aumento do conteúdo proteico da planta.

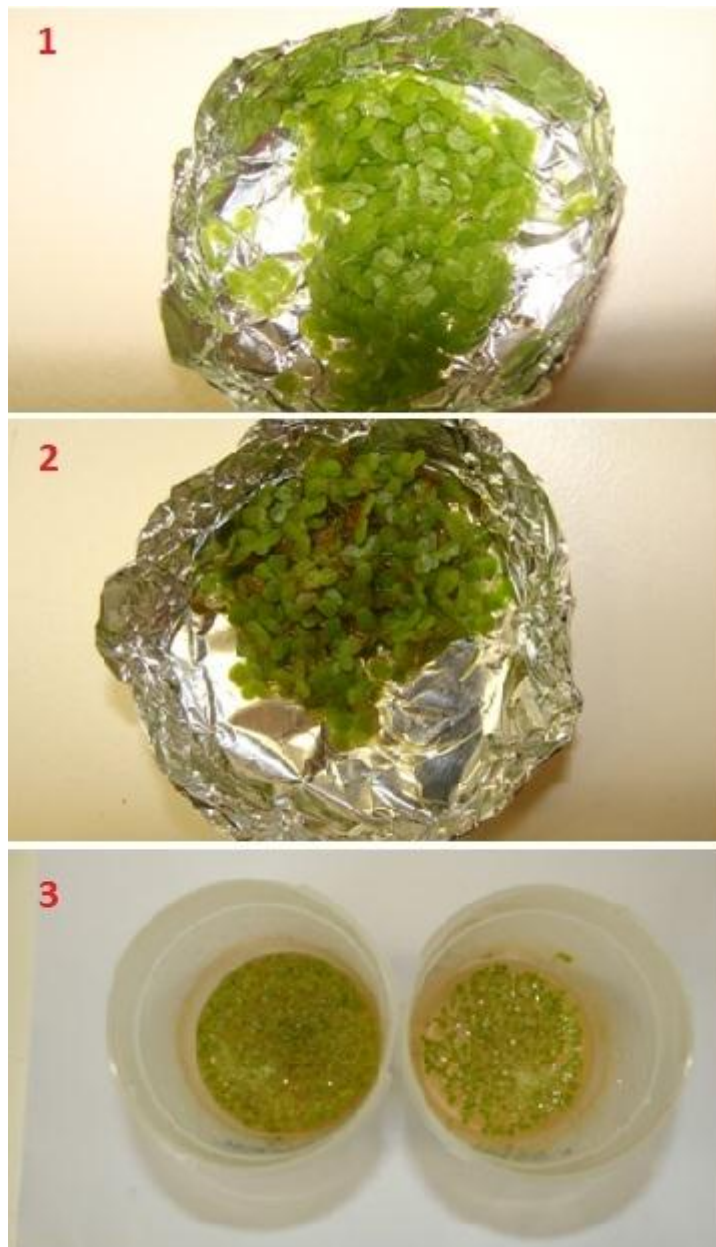


Figura 37. *L. minor* durante o ensaio

1) retiradas aos 7 dias de um frasco com água do Ponto 1; 2) retiradas aos 7 dias de um frasco com água do Ponto 3; 3) nos frascos com água do Ponto 2 e Ponto 2% respetivamente

Através do teste ANOVA bifatorial, conseguiu verificar-se matematicamente que existe um efeito significativo quer do fator *tempo* ($F=260,368$; g.l.=2; $p=0,00$) quer do fator *tipo de água* ($F=60,722$; g.l.=5; $p=0,00$) no crescimento, assim como uma interação significativa entre os dois fatores *tempo*tipo de água* ($F=4,46$; g.l.=10; $p=0,00$), ou seja, como pôde ser observado nos gráficos, isto significa que as diferenças em termos de biomassa desenvolvida nos diferentes tratamentos, depende do tempo em que se faz a análise (o que não é o caso) e/ou que a diferença ao longo do tempo, depende do tipo de água, ao qual as plantas estiveram expostas, o que acontecerá certamente no caso do Ponto 1, onde o aumento de biomassa entre os 7 e 14 dias de exposição parece ter sido significativo, não acontecendo o mesmo, entre os 14 e os 21 dias. Por oposição, e no caso das exposições aos efluentes não diluídos, o valor da biomassa seca, aumentou significativamente em todos os tempos de ensaio. Contudo este aspeto não foi confirmado por análise estatística.

Os resultados da análise estatística com o teste ANOVA unifatorial, vieram confirmar o observado na análise gráfica, e mostraram-nos que para cada tempo de ensaio (7, 14, 21 dias) existem diferenças significativas na biomassa produzida para os diferentes tipos de água. Assim, aos 7 dias de ensaio registaram-se diferenças entre tipos de água ($F=10,8796$; g.l.=5, 12; $p=0,0006$), bem como para os 14 dias ($F=20,6441$; g.l.=5, 12; $p<0,0001$) e para os 21 dias ($F=38,08806441$; g.l.=5, 12; $p<0,0001$).

4.3.2. Bioacumulação em *L. minor*

No gráfico que se segue (Figura 38) são apresentados os resultados obtidos durante o ensaio de biorremediação.

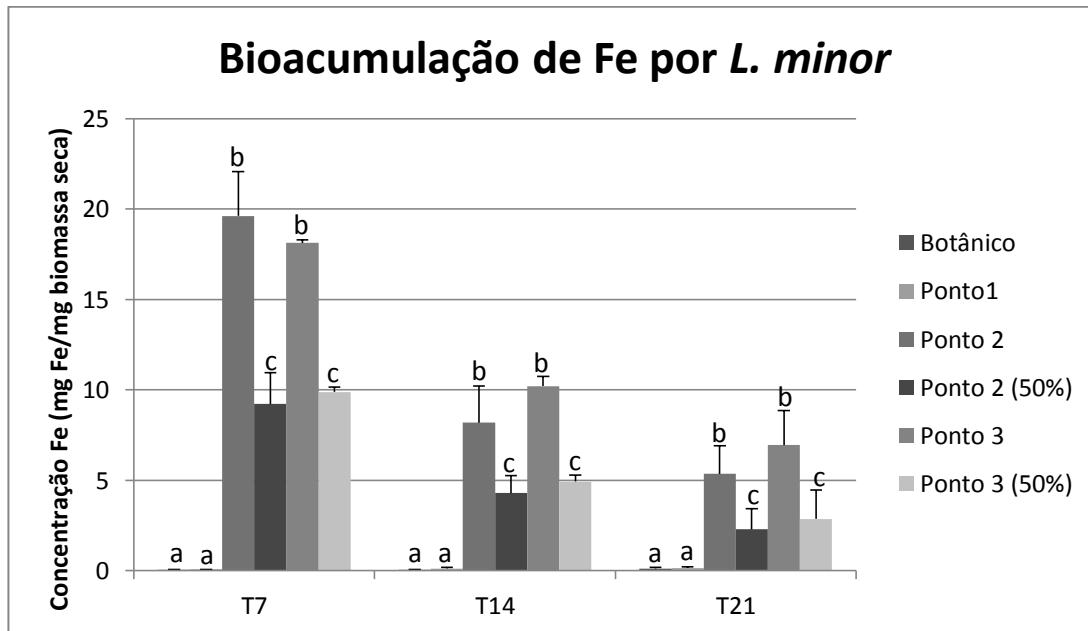


Figura 38. Gráfico de Bioacumulação de Fe pela espécie *L. minor* nos diferentes tratamentos e ao longo do tempo (média±desvio padrão).
As letras representam o resultado do teste de Tukey de comparações múltiplas.

Através da observação dos gráficos pode-se dizer que a bioacumulação de ferro pelas macrófitas ocorre com maior expressão para os Ponto 2 e Ponto 3, como faria sentido, uma vez que é na água destes pontos que se encontra a maior concentração em ferro; em oposição a este raciocínio, verifica-se que para o Botânico e Ponto 1 a bioacumulação não tem praticamente expressão; o Ponto 2 (50%) e o Ponto 3 (50%), onde a concentração de ferro foi diluída, apresentam níveis intermédios para a bioacumulação.

As plantas continuaram a crescer, mas bioacumularam menos Fe. Vê-se que há um maior potencial de bioacumulação para os primeiros 7 dias de exposição. Para reforçar a interpretação dos resultados, foi calculado o Fator de Bioconcentração (BCF) para as plantas com água do Ponto 2 e Ponto 3, segundo a seguinte fórmula.

$$BCF = \frac{\text{Concentração contaminante na amostra}}{\text{Concentração contaminante na água}}$$

sendo, a “concentração de contaminante na amostra”, a concentração de ferro nas macrófitas *L. minor* determinada para cada uma das réplicas, e a “concentração de contaminante na água”, a concentração de ferro na água amostrada do Ponto 2 e Ponto 3.

Tabela 6. BCF para a água do Ponto 2

	Ponto 2 T7	Ponto 2 T14	Ponto 2 T21
Réplica 1 (mg/L)	135	94,7	49,1
Réplica 2 (mg/L)	146	96,9	52,2
Réplica 3 (mg/L)	124	57,5	101
Média	135	83,0	67,4
BCF	7,6	4,7	3,8

Tabela 7. BCF para a água do Ponto 3

	Ponto 3 T7	Ponto 3 T14	Ponto 3 T21
Réplica 1 (mg/L)	133	118	67,8
Réplica 2 (mg/L)	126	112	87,3
Réplica 3 (mg/L)	123	104	111
Média	127,3	111,3	88,7
BCF	5,6	4,9	3,9

Como se pode observar na Tabela 6 e Tabela 7, o BCF diminui ao longo do tempo tanto para a água do Ponto 2 como para o Ponto 3, respetivamente.

O teste ANOVA bifatorial, revelou que quer o fator *tempo* ($F=149,736$; g.l.=2; $p=0,00$), quer o fator *tipo de água* ($F=168,621$; g.l.=5; $p=0,00$) tiveram um efeito significativo nos níveis de ferro acumulados pelas macrófitas. Registou-se ainda uma interação significativa entre os dois fatores ($F=20,554$; g.l.=10; $p=0,00$). Os resultados do teste ANOVA unifatorial, mostraram-nos que bioacumulação depende do tipo de água utilizada: aos 7 dias de ensaio registaram-se diferenças entre tipos de água ($F=155,5164$; g.l.=5, 12; $p<0,0001$), bem como para os 14 dias ($F=37,4550$; g.l.=5, 12; $p<0,0001$) e para os 21 dias ($F=16,6859$; g.l.=5, 12; $p<0,001$), corroborando assim os resultados observados graficamente.

Olhando para esta análise pode-se dizer que a espécie teve um bom desempenho no que diz respeito à bioacumulação de ferro existente no efluente, e que esta poderia ser uma boa ferramenta de biorremediação de águas contaminadas por efluentes mineiros, quer pela rápida resposta da espécie quer pela facilidade com que esta se adapta ao meio.

No entanto, este ensaio de biorremediação demonstrou algumas fragilidades em termos de aplicabilidade à grande escala. Através do cálculo do Fator de Bioconcentração, conseguimos perceber que a capacidade da espécie *L. minor* bioacumular o ferro vai diminuindo ao longo do tempo, ou seja, se esta técnica fosse aplicada em grande escala

teria de haver uma renovação periódica dos exemplares da espécie de *L. minor*, o que poderia acarretar mais custos ao processo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Depois de feita uma reflexão crítica, o presente trabalho permitiu-nos retirar algumas conclusões relevantes no que diz respeito à contaminação do solo e dos recursos hídricos por efluentes de mina, bem como a aplicabilidade das técnicas de biorremediação nestes casos.

Verificou-se que o local de estudo está a ser fortemente afetado pela contaminação proveniente dos efluentes da mina de carvão de São Pedro da Cova. Este efluente, rico em ferro, está a afetar o solo e os recursos hídricos da região (Ribeiro de Murta e Rio Ferreira). Os resultados obtidos para as análises feitas à água amostrada no local, demonstram que os níveis de ferro na água são muito elevados e estão acima daquilo que é recomendado, segundo o descrito no Decreto-Lei 236/98 para águas destinadas à rega.

A análise efetuada às amostras de solo recolhidas no local, estão de acordo com os resultados obtidos para a água. Os parâmetros pH, condutividade elétrica e suscetibilidade magnética determinados para o solo demonstraram que o solo se encontra contaminado. O parâmetro suscetibilidade magnética veio dar força a esta conclusão. Sabe-se que existe uma correlação entre a presença de metais pesados no solo (neste caso, ferro) e a suscetibilidade magnética, e este facto ficou demonstrada na análise feita aos pontos amostrados de solo. É importante salientar que o estudo de dispersão da contaminação no solo da região, realizado no âmbito deste trabalho, foi muito elementar. Era de todo o interesse, sob o ponto de vista ambiental, fazer uma avaliação mais detalhada desta em trabalhos futuros, tendo em conta outros parâmetros, nomeadamente a mineralogia do local.

O ensaio com a espécie *L. minor* revelou que a espécie se adaptou bem às condições de contaminação, tendo-se verificado um crescimento progressivo, registado pelo aumento de biomassa seca das plantas, quer para a água de controlo do ensaio (Botânico) quer para a água de controlo de campo. (Ponto 1). O mesmo acontecimento pôde ser observado ainda com maior expressão para a água dos Pontos 2 e 3 não diluídas (efluente mineiro); nos frascos com o efluente mineiro diluído, Ponto 2 (50%) e Ponto 3 (50%) o crescimento observado não foi tão notório. Pode-se dizer que a espécie se adaptou bem às condições do meio, e ao contrário do que se esperaria, o ferro existente no efluente não foi nocivo para a planta, mas pelo contrário, foi estimulante ao seu crescimento. Este facto pode estar relacionado com a ação de uma proteína especializada,

a ferritina, que aprisiona o ferro tornando-o indisponível e permitindo simultaneamente o desenvolvimento e crescimento da planta

Em relação à capacidade de bioacumulação de ferro pelas macrófitas, pode-se dizer que a espécie *L. minor* obteve uma boa resposta, no que diz respeito à rapidez do processo de bioacumulação de ferro, sendo bastante eficaz. A bioacumulação ocorreu com maior expressão para a água do Ponto 2 e Ponto 3, uma vez que é na água destes pontos que se encontra a maior concentração em ferro; na água do Botânico e Ponto 1, a bioacumulação não tem praticamente expressão, uma vez que não existia ferro para bioacumular; o Ponto 2 (50%) e o Ponto 3 (50%), onde a concentração de ferro foi diluída, apresentam níveis intermédios para a bioacumulação. No entanto, através do cálculo do Fator de Bioconcentração (BCF), observou-se um maior potencial de bioacumulação para os primeiros 7 dias de exposição, que foi diminuindo ao longo do restante tempo de ensaio. Este facto mostra-nos uma fragilidade do processo de biorremediação. Se esta técnica fosse implementada à grande escala, seria necessário haver uma renovação periódica dos exemplares de *L. minor* para que a remoção do contaminante pudesse ser eficaz.

Em jeito de conclusão final, pode-se dizer que a espécie de macrófitas *L. minor* é um bom agente de biorremediação em ensaios deste tipo, e com potencial para poder ser utilizado em maior escala. No entanto, é importante nunca esquecer que estas técnicas têm de ser alvo de uma análise exaustiva, ponderando todos os fatores intervenientes bem como todos os custos e benefícios de um processo deste tipo.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

ABREU, M., SANTOS, E., ANJOS, C., MAGALHÃES, M.C.F., & NABAIS, C., 2007. Capacidade de absorção do chumbo por plantas do género *Cistus* espontâneas em ambientes mineiros. *Revista das Ciências Agrárias*. **32**: 170 – 181.

AGROCONSULTORES & GEOMETRAL, 1995; Carta dos Solos e Carta de Aptidão da Terra de Entre Douro e Minho – Memórias.

AZUR Environmental, Microtox® Omni Manual, Azur Environmental, Carlsbad, CA, USA, 1998.

BAIRD, C., 2002. *Química Ambiental*. 2ª Edição. Bookman. São Paulo. 622pp.

CARTA MILITAR DE PORTUGAL DO SERVIÇO CARTOGRÁFICO DO EXÉRCITO À ESCALA 1/25 000. Folha 123 (Valongo). Lisboa.

CONNOLLY, E., GUERINOT, M. 2002. Iron stress in plants. *Genome Biology*. **3(8)**: 1- 4

COUTO, H., 1993. As mineralizações de Sb-Au da região Dúrico-Beirã. 2 Vols. (**Vol. Texto**; Vol. Anexos: 32 Estampas e 7 Mapas). Tese de Doutoramento. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. 607pp

COUTO, H. & GUERNER DIAS, A., 1998. Parque Paleozóico de Valongo. Património Geológico. Valongo. Câmara Municipal de Valongo. 7pp

CUSTÓDIO, J. 2004. *Museu do Carvão & das Minas do Pejão*. Programa Museológico. Castelo de Paiva. 87pp.

CUSTODIO, E & LLAMAS, M. R., 2001. *Hidrologia subterrânea*. 2ª Edição. Edições Omega S.A., Barcelona. 2350 pp

DECRETO-LEI nº 236/98 de 1 de Agosto de 1998. Diário da República, 1ª Série-A, nº 176, 3676- 3722. Ministério do Ambiente, Lisboa.

- DEKKERS, M.J., 1997. Environmental magnetism. *Geologie en Mijnbouw* **76**: 163-182.
- D'EMILIO M., CHIANESE D., COPPOLA R., MACCHIATO M., RAGOSTA M., 2006. Magnetic susceptibility measurements as proxy method to monitor soil pollution: development of experimental protocols for field surveys. *Environmental Monitoring and Assessment*. **125**:137 – 146
- DIRETIVA 2000/60/CE, 2000. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*. L 327: 1-72.
- ESPINHA MARQUES J., SAMPER J., PISANI B., CARVALHO J.M., CHAMINÉ H.I., MARQUES J., VIEIRA G.T., MORA C., SODRÉ BORGES F., 2011. *Evaluation of water resources in a high-mountain basin Serra da Estrela, Central Portugal, using a semi-distributed hydrological model*. *Environmental Earth Sciences*. **62**(6): 1219 – 1234
- EVANS, M.E., HELLER, F., 2003. *Environmental Magnetism*. Principles and Applications of Enviromagnetics. Academic Press, Elsevier, 299 pp.
- FERREIRA, C. J. A., 1995. Plantas aquáticas como bioindicadores da contaminação ambiental por agrotóxicos. *Revista Brasileira de Toxicologia*. **Vol. 8**. 66pp
- FETTER, C.W., 2001. *Applied Hidrogeology*. 4th Edition. Prentice Hall, New Jersey. 598 pp.
- HAMBLIN, W. K & CHRISTIANSEN, E. H., 1998. *Earth's Dynamic Systems*. 8th Edition. Prentice Hall, New Jersey. 674 pp.
- INAG, I.P. 2009. *Manual para a avaliação da qualidade da água. Protocolo de amostragem e análise para o fitoplâncton*. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Instituto da Água, I.P. 67pp
- JAIN, S.K., GUJRAL, G.S., JHA, N.K. & VASUDEVAN, P., 1988. Heavy metal uptake by *Pleurotus sajor-caju* from metal enriched duckweed substrate. *Biol.Wastes*, **24**: 275 – 282
- JESUS, A. D. P., 2001. *Génese e Evolução da Bacia Carbonífera do Douro (Estefaniano C inferior, NW de Portugal: Um Modelo*. **Vol. 1** – Texto e Anexos. Tese de Doutoramento. Departamento de Geologia. Faculdade de Ciências. Universidade do Porto. 232pp

JOHNSON, D.B., HALLBERG, K.B., 2005. Acid Mine Drainage remediation options: a review. *Science of the Total Environmental*. **338**: 3 – 14

JONES, J. BENTON, 2001. *Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis*. CRC Press LLC, Florida. **2**: 143-144

KARA, Y., 2004. Bioaccumulation of copper from contaminated wastewater by using *Lemna minor*. *Environmental Contamination and Toxicology* **75**: 467 – 471

KARA, Y., BASARAN, D., KARA, I., ZEYTUNLUOGLU, A., GENÇ, H., 2003. Bioaccumulation of nickel by aquatic macrophyte *Lemna minor* duckweed. *International Journal of Agriculture and Biology*. **5 (3)**: 281- 283

KHEIR, W., ISMAIL, G., EL-NOUR, A., TAWFIK. T., HAMMAD, D. 2007. Assessment of the efficiency of duckweed (*Lemna gibba*) in waste water treatment. *International Journal of Agriculture & Biology*. **9(5)**: 681-687

KHELLAF, N., ZERDAOUI, M., 2009. Growth response of the duckweed *Lemna minor* to heavy metal pollution. *Iran Journal of Environment, Health, Science and Engeneering*. **6(3)**: 161 – 166

KIM, J., PARK, J., CHON, C. & LEE, Y. 2010. *Relationship between magnetic susceptibility and heavy metal content of soil*. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World. Brisbane, Australia.

LENCASTRE, A & FRANCO, F. M., 2003. *Lições de Hidrogeologia*. 3ª Edição. Fundação Armando Lencastre. 451pp

LOBO FERREIRA, T. B. E. L., 1997. *Metodologia para a Reabilitação de Aquíferos Poluídos*. Tese de Doutoramento. Laboratório Nacional de Engenharia Civil – LNEC, Lisboa. 84pp

MALTBY, L., ARNOLD, D., ARTS, G., DAVIES, J., HEIMBACH, F., PICKL C., POULSEN, V., 2010. Aquatic Macrophyte Risk Assessment for pesticides. *Society of Environment, Toxicology and Chemistry*. 135pp

MEDEIROS, A. C., PEREIRA, E. & MOREIRA, A., 1980. Carta Geológica de Portugal à escala 1:50 000. Notícia Explicativa da Folha 9-D (Penafiel). *Publicações dos Serviços Geológicos de Portugal*. Lisboa, 46 pp.

MITSOU, K., KOULIANOU, A., LAMBROPOULOU, D., PAPPAS, P., ALBANIS, T., LEKKA, M., 2006. Growth rate effects, responses of antioxidant enzymes and metabolic fate of the herbicide Propanil in the aquatic plant *Lemna minor*. *Chemosphere*. **62**: 275 – 284.

MOHAN, B.S., HOSETTI, B.B., 1999. Aquatic plants for toxicity assessment: Review. *Environmental Research Section A*. **81**: 259-274.

NECULITA, C., VIGNEAULT, B. & ZAGURY, G., 2008. Toxicity and metal speciation in acid mine drainage treated by passive bioreactors. *Environmental Toxicity and Chemistry*. Canada. **27 (8)**: 1659 - 1667.

NOVO, M. E. S., 1994. *Caracterização da Poluição no Aquífero Aluvial do Rio Sizandro*. Laboratório Nacional de Engenharia Civil. Lisboa, 44 pp.

OCDE- Organization for Economic Cooperation and Development, Guideline for the testing of chemicals, *Lemna* sp. Growth Inhibition Test, Guideline 221, 2006. Available at: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-221-lemna-sp-growth-inhibition-test_9789264016194-en. Accessed 15 of December 2011. 22pp.

PINTO, C., 2011. *Estudo da Contaminação da água subterrânea com origem na extração mineira na Serra de Santa Justa*. Tese de Mestrado. Departamento de Geociências, Ambiente e Ordenamento de Território, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. 124pp.

POZZA M. R., BOYCE J. I., MORRIS W. A, 2004; Lake-based magnetic mapping of contaminated sediment distribution, Hamilton Harbour, Lake Ontario, Canada; *Journal of Applied Geophysics*.**57**:23 - 41

PRASAD, M.N.V, 2011. *A state-of-the-art report on bioremediation, its applications to contaminated sites in India*. Ministry of environment & forests. Government of India. 90pp.

RAHMAN, M.A. & HASEGAWA, H., 2011. Aquatic arsenic: phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere* **83**: 633 – 646.

REIS, P., SALGADO, M., VASCONCELOS, V. 2012. *Chthmalus montagui* as biomonitor of metal contamination in the northwest coast of Portugal. *Environmental Monitoring and Assessment*. **184(9)**: 5421-5437

RIBEIRO A, MUNHÁ J, DIAS R, MATEUS A, PEREIRA E, RIBEIRO L, FONSECA PE, ARAÚJO A, OLIVEIRA JT, ROMÃO J, CHAMINÉ HI, COKE C, PEDRO J (2007) Geodynamic evolution of the SW Europe Variscides. *Tectonics* 26 (TC6009): 1-24.

RIBEIRO J., JESUS A.D.P., FLORES D. 2010. Petrografia e geoquímica orgânica das escombrelas de carvão da Bacia Carbonífera do Douro – implicações ambientais. *Revista Eletrónica de Ciências da Terra*. **9(12)**: 1 – 4

RODRIGUES, J. D., 1984. Noções de Hidrogeologia. *Geonovas*, Lisboa. **7**: 11-30.

SANTOS R., 2008. *Caracterização hidrogeológica e hidrogeoquímica da área mineira de Germunde, Pejão*. Tese de Doutoramento em Engenharia de minas. Instituto Superior Técnico. 212pp.

SHAN, M., WANG, Y. & SHEN, X. (2009). Study on bioremediation of eutrophic lake. *Journal of Environment Sciences*: **21 (1)**: 16 – 18.

SILVA, S., 2003. *Aspectos Hidrogeoambientais da Região de Valongo – Avaliação da Qualidade da Água (sector do Parque Paleozóico de Valongo, São Pedro da Cova)*. Tese de Mestrado. Departamento de Geologia, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. 239pp.

TAVARES, S., 2009. *Fitorremediação em solo e água de áreas contaminadas por metais pesados provenientes da disposição de resíduos perigosos*. Tese de Doutoramento. UFRJ/COPPE, Rio de Janeiro, Brasil. 371 pp.

WANG L., LIU D. & LÜ H. 2000. Magnetic susceptibility properties of polluted soils. *Chinese Science Bulletin*. **45(18)**: 1723 - 1727

WANG, W., 1990. Literature review on duckweed toxicity testing. *Environmental Research*. **52**: 7 – 22.

ZAR, J. 2010. *Biostatistical Analysis*. 5ª Edição. Pearson Prentice Hall. 947pp.

WEBGRAFIA

- Águas do Douro e Paiva:
<http://addp.pt> (consultado em 14/05/2012)
- Consórcio Intermunicipal Lagos São João:
<http://lagossaojoao.org.br> (consultado em 15/03/2012)
- Environment Canada:
<http://ec.gc.ca> (consultado em 15/03/2012)
- Google Earth:
<http://earth.google.com> (consultada em 10/02/2012)
- Pedologia Fácil:
<http://pedologiafacil.com.br> (consultado em 27/03/2012)
- Valongo Ambiental:
<http://valongoambiental.com> (consultado em 14/05/2012)