



Instituto Politécnico de Tomar
Escola Superior de Tecnologia de Tomar

Nuno Filipe Domingues Henriques

Avaliação da sensibilidade de gastrópodes a nitratos do efluente de uma ETAR

Relatório de Estágio

Orientado por:

Professor Manuel Rosa – Instituto Politécnico de Tomar

Professor Marco Cartaxo – Instituto Politécnico de Tomar

Relatório de Estágio

apresentado ao Instituto Politécnico de Tomar

para cumprimento dos requisitos necessários

à obtenção do grau de Mestre

em Tecnologia Química

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha família que me apoio em todo o meu percurso escolar.

Resumo

Neste trabalho pretende-se fazer a avaliação da sensibilidade de gastrópodes macroinvertebrados da família *Lymnaeidae* ao ião nitrato (NO_3^-). Estudar o teor de ião nitrato a montante e a jusante da ETAR (estação de tratamento de águas residuais) do Alto Nabão, localizada na freguesia de Formigais, concelho de Ourém, distrito de Santarém para perceber se este contaminante é a causa da não existência deste organismo nesse local. Pretende-se assim a utilização desta espécie de gastrópode como bioindicador para aferir o impacto ambiental causado pelos efluentes da ETAR. Sabe-se que a eutrofização, as escorrências de efluentes contaminados e a poluição genérica dos ambientes lóticos produz o declínio de espécies destes macroinvertebrados.

Para esta avaliação será realizada a recolha de gastrópodes no rio nabão junto à ponte do Prado, a recolha de água para diluição no mesmo local para a determinação da concentração máxima de nitratos sem efeito observável (NOEC) e da concentração mínima com efeito observável (LOEC) usando os respetivos gastrópodes como bioindicadores, utilizando os métodos estatísticos adequados (prova à normalidade de erros de Shapiro-Wilk, prova à homogeneidade de variância de Levene, análise de variância ANOVA e prova de comparação múltipla Dunnett). Pretende-se ainda determinar a concentração de nitratos que produzem a morte de 50% da população (LC_{50}) utilizando o método estatístico Litchfield-Wilcoxon.

No final de toda esta metodologia e respetiva avaliação pretende-se conhecer o impacto ambiental do tratamento de águas pela ETAR do alto Nabão bem como comparar os resultados com outros já publicados para analisar as consequências ambientais do efluente da ETAR ao longo do tempo.

Concluiu-se que não é a concentração de ião nitrato a responsável pela inexistência de gastrópodes da espécie estudada no percurso do rio entre a ETAR do Alto Nabão e o Agroal, isto pode ser devido a sazonalidade do curso de água que seca no período estival no seu percurso a montante do Agroal.

Palavras-chave: gastrópodes bioindicadores da família *Lymnaeidae*; ETAR (estação de tratamento águas residuais), nitratos (NO_3^-); ensaios ecotoxicológicos.

Abstract

This work is intended to make the evaluation of benthic gastropods sensitivity of Lymnaeidae family to nitrate ion (NO_3^-). To study the nitrate ion concentration upstream and downstream of the WWTP (wastewater treatment plant) the high Nabão located in the town of Formigais, Ourém municipality, Santarém district to understand if the presence of this ion in the vicinity is the cause for the absence of the studied organism. This is intended to the use of this species of gastropod as bio-indicators to assess the environmental impact caused by effluents of the WWTP. It is known that eutrophication, the runoff of contaminated effluents and the general pollution of lotic environments produce the decline of species of these macroinvertebrates. For this evaluation will be carried out gastropods collection in Nabão river in the Prado bridge, water harvesting for dilution in the same place, ecotoxicological tests to determine the maximum concentration of nitrates with no observed effects (NOEC) and minimum observed effect concentration (LOEC) using the respective gastropods as biomarkers using appropriate statistical methods (proof of normality Shapiro-Wilk errors, proof of homogeneity of variance Levene, ANOVA and Dunnett multiple comparison test). Another objective is to determine the concentration of nitrates which cause the death of 50% of the population (LC_{50}) using the statistical method Litchfield-Wilcoxon. At the end of all this methodology and respective assessment is intended to meet the environmental impact of water treatment by treatment plants of high Nabão and compare the results with other published to analyze the environmental consequences of the WWTP effluent over time.

We conclude that it is not the concentration of nitrate ion responsible for the absence of species of gastropods studied in the river route between the WWTP of the High Nabão and Agroal, this may be due to seasonality of the watercourse that drought in the summer period his journey upstream Agroal

Keywords: biomarkers of gastropods Lymnaeidae family; WWTP (Waste Water Treatment Station), nitrate (NO_3^-); ecotoxicological tests.

Agradecimentos

Agradeço a contribuição para este trabalho aos Professores orientadores Marco Cartaxo e Manuel Rosa, bem como a técnica de laboratório Engenheira Isabel Silva que me apoiou nas análises laboratoriais necessárias a elaboração deste trabalho.

Índice

1. Introdução	1
1.1. Contaminantes	1
1.1.1. Azoto	2
1.1.2. Eutrofização dos corpos de água superficiais.....	6
1.2 Remoção de nitratos	8
1.2.1 Bactérias envolvidas na remoção de nitratos	8
1.2.2 Remoção de nitratos em sistemas técnicos (ETAR).....	9
1.3 Bioindicadores da qualidade da água	10
1.3.1 Gastrópodes macroinvertebrados como bioindicadores	11
1.3.2 Características de <i>Lymnaeidaes</i>	12
1.3.3 Concha.....	13
1.3.4 Partes moles.....	14
1.3.5 Observações ecológicas.....	15
1.4 ETAR do Alto Nabão	16
1.5 Legislação aplicável ao efluente	19
1.6 Legislação aplicável às lamas provenientes do processo	20
1.7 Tratamento da fase líquida	21
1.7.1 Pré-tratamento.....	21
1.7.1.1 Gradagem, elevação inicial e medição de caudal	21
1.7.1.2 Desareador/Desengordurador	21
1.7.2 Tratamento secundário	22
1.7.2.1 Reatores biológicos	24
1.7.2.2 Nitrificação	28
1.7.2.3 Desnitrificação	28
1.7.2.4 Microrganismos.....	29
1.7.2.5 Decantadores secundários	31
1.7.3 Tratamento terciário	32
1.7.4 Tratamento da fase sólida.....	33
1.7.5 Espessamento	33
1.7.6 Desidratação	33
1.7.7 Instalações de apoio	34

1.8	Testes de toxicidade	34
1.8.1	Introdução.....	34
1.8.2	A curva dose-efeito	35
1.8.3	Classificação dos testes de toxicidade.....	38
1.8.4	Parâmetros de desenho de testes toxicológicos para espécies individuais	38
1.8.5	Organismos de teste.....	39
1.9	Método estatístico para avaliação do teste de toxicidade a espécies individuais	40
1.9.1	Aplicações do método gráfico	40
	O método gráfico pode ser usado para estimar <i>LC50</i> , <i>EC50</i> e <i>IC50</i> utilizando papel milimétrico e os dados obtidos experimentalmente nos ensaios de toxicidade aguda.	40
1.9.2	Aplicação do método Litchfield-Wilcoxon	41
1.10	Determinação de pontos finais LOEC e NOEC	42
1.10.1	Prova à normalidade de erros – Shapiro-Wilk.....	42
1.10.2	Prova à homogeneidade das variâncias de Levene.....	43
1.10.3	Análise de variância (ANOVA)	43
1.10.4	Prova de comparação múltipla de Dunnet.....	44
2	Materiais e métodos	45
2.1	Recolha de água e dos gastrópodes bioindicadores no rio Nabão.....	45
2.1.1	Localização da recolha de água do rio Nabão e dos gastrópodes bioindicadores....	46
2.1.2	Metodologia	50
2.1.3	Material utilizado	50
2.2	Medições <i>in-situ</i>	51
2.2.1	Material utilizado	51
2.3	Carência bioquímica de oxigénio (CBO) - método das diluições	51
2.3.1	Tipo de amostra.....	51
2.3.2	Princípio.....	51
2.3.3	Interferências	52
2.3.4	Amostragem e conservação	52
2.3.5	Equipamentos.....	53
2.3.6	Material utilizado	53
2.3.7	Reagentes	53
2.3.8	Preparação da água de diluição	54
2.3.9	Método das diluições	54
2.3.10	Amostras alcalinas ou ácidas.....	56
2.3.11	Resultado.....	56

2.4 Determinação do teor em oxigénio dissolvido	57
2.4.1 Resumo do processo	57
2.4.2 Reações	57
2.4.3 Reagentes.....	57
2.4.4 Material utilizado	59
2.4.5 Modo de procedimento	59
2.4.6 Resultado.....	60
2.5.1 Princípio.....	61
2.5.2 Modo de procedimento	61
2.5.3 Cálculos	62
2.6 Nitratos.....	62
2.6.1 Princípio.....	62
2.6.2 Equipamento/Material utilizado	62
2.6.3 Reagentes.....	62
2.6.4 Determinação.....	63
2.6.4.1 Curva de calibração	63
2.6.4.2 Preparação da amostra e sua leitura	65
2.6.4.3 Reta de calibração	65
2.6.4.4 Declive	65
2.6.4.5 Coeficiente de correlação	65
2.6.4.6 Cálculos	66
2.7. Medição de pH.....	66
2.8 Ensaio ecotoxicológicos	66
2.8.1 Princípio.....	66
2.8.2 Determinação do LC ₅₀ (Fase exploratória)	67
2.8.2.1 Preparação da solução mãe de nitrato de sódio (<i>NaNO₃</i>)	68
2.8.2.2 Modo de Procedimento	68
2.8.2.3 Material utilizado	70
2.8.3 Determinação do LC ₅₀	70
2.8.3.1 Preparação da solução mãe de nitrato de sódio (<i>NaNO₃</i>)	71
2.8.3.2 Método.....	72
2.8.3.3 Material utilizado	73
2.8.4 Determinação do NOEC e do LOEC	73
2.8.4.1 Preparação da solução mãe de nitrato de sódio (<i>NaNO₃</i>)	74

2.8.4.2	Modo de procedimento	75
2.8.4.3	Material utilizado	76
2.9	Medição do tamanho dos gastrópodes bioindicadores	76
2.9.1	Modo de procedimento	76
2.9.2	Material utilizado.	77
3.	Resultados e discussão	79
3.1.	Resultados <i>in-situ</i>	79
3.2.	pH	81
3.3	Teor em oxigénio dissolvido	82
3.3.1	Cálculos de OD ₁ (oxigénio dissolvido na amostra 15 minutos depois da preparação) e OD ₅ (oxigénio dissolvido na amostra após incubação).	83
3.4	CBO ₅ (carência bioquímica de oxigénio).....	85
3.4.1	Cálculos de CBO ₅	86
3.5	SST (sólidos suspensos totais)	87
3.5.1	Cálculos de SST (sólidos suspensos totais).....	88
3.6	Nitratos	89
3.6.1	Reta de calibração	89
3.6.2	Valores de absorvância da espectrofotometria a 324 nm de comprimento de onda.....	89
3.6.3	Valores da concentração de nitratos e de azoto correspondente.....	90
3.7	Medição do tamanho dos gastrópodes bioindicadores	91
3.8	Testes ecotoxicológicos e tratamento estatístico.....	92
3.8.1	Determinação do valor de LC ₅₀	92
3.8.1.1	Método Litchfeld-Wilcoxon.....	95
3.8.2	Determinação de NOEC e de LOEC.....	102
3.8.2.1	Prova de normalidade de erros de Shapiro-Wilk	103
3.8.2.2	Prova a homogeneidade de variâncias de Levene	106
3.8.2.3	Análise de Variâncias (ANOVA)	107
3.8.2.4	Prova de comparação múltipla de Dunnett	109
4	Conclusões	111
5	Bibliografia.....	113
6	Anexos	121

Índice de figuras

Figura 1- Distribuição das formas de azoto no esgoto doméstico bruto.....	5
Figura 2- Vista dorsal da concha Lymnaeidae (foto do autor).....	14
Figura 3- Corpo dos Lymnaeidae, perspectiva da concha e do pé (foto do autor).	14
Figura 4- Esquema do processo de tratamento da ETAR do alto Nabão.....	18
Figura 5- Rede trófica estabelecida num processo de lamas ativadas (adapt. Abreu, 2004).	23
Figura 6- Esquema representativo do tratamento secundário e parte do tratamento terciário.	26
Figura 7- Transformações do azoto no processo de tratamento biológico (adapt. Metcalf e Eddy, 1991).	27
Figura 8- Rede trófica no processo de lamas ativadas (adap. Ourémviva, Manual de funcionamento da ETAR do Alto Nabão, sd.)-	29
Figura 9- Concentração de fundo de um xeno biótico.....	37
Figura 10- Classificação dos testes de toxicidade.	38
Figura 11- Fotografia dos gastrópodes bioindicadores usados nos ensaios ecotoxicológicos. ..	45
Figura 12- Localização dos pontos de recolha de água do rio Nabão (Google Maps).	46
Figura 13- Localização do ponto de recolha de amostra de água nº1 em carta militar.	46
Figura 14- Localização do ponto de recolha de amostra de água nº2 em carta militar.	47
Figura 15- Localização do ponto de recolha de amostra de água nº3 em carta militar.	47
Figura 16- Localização do ponto de recolha de amostra de água nº4 em carta militar.	48
Figura 17- Fotografia do local de recolha de amostra de água do ponto nº1, a localidade de Botelha.	48
Figura 18- Fotografia do local de recolha de amostra de água nº2, junto a ETAR do alto nabão.	49
Figura 19- Fotografia do local de recolha de amostra de água nº3, no Agroal.	49
Figura 20- Fotografia do local de recolha de amostra de água nº4, na ponte do Prado.....	50
Figura 21- Fotografia do ensaio ecotoxicológico da fase exploratória.	68
Figura 22- Fotografia dos testes ecotoxicológicos da fase objetiva.	71
Figura 23- Medição de O.D e temperatura in-situ na ponte do Prado.....	79
Figura 24- Medição de pH e temperatura in-situ na ponte do Prado.	80
Figura 25- Retra de calibração para avaliar o teor em nitratos.	89
Figura 26- número de morto na fase exploratória, a do 1º ensaio ecotoxicológico, a fase logarítmica, para todos os tempos de exposição organismo/contaminantes avaliados.	93
Figura 27- Média do número de indivíduos mortos em todos os testes ecotoxicológicos, e para todos os tempos de exposição organismo/contaminantes avaliados.	94
Figura 28- Média do número de indivíduos mortos em todos os testes ecotoxicológicos, para o tempo de exposição organismo/contaminante de 120 horas.	95
Figura 29- Determinação do efeito (mortos) esperado.	96
Figura 30- Efeito corrigido 0-100%.	99
Figura 31- Semirreta do efeito corrigido a 0-100% que contém os 50% de efeito.....	100
Figura 32- Média dos movimentos dos organismos para as diferentes concentrações de NO ₃ - - N, e para os tempos de exposição organismo/contaminante de 72 horas e de 120 horas.	103
Figura 33- Gráfico (Q-Q plot) dos movimentos dos organismos usados em todos os testes ecotoxicológicos para um tempo de exposição organismo/contaminante de 120 horas.	106

Índice tabelas

Tabela 1- Formas predominantes de azoto (Von Sperling, 2005).	2
Tabela 2- Distribuição relativa das formas de azoto segundo distintas condições (Von Sperling, 2005).....	4
Tabela 3- Parâmetros de dimensionamento ETAR Alto Nabão.	17
Tabela 4- Parâmetros de descarga do efluente líquido da ETAR do Alto Nabão.....	20
Tabela 5- Classificação de temperatura de processos biológicos.....	24
Tabela 6- Preparação das soluções padrão para determinação da curva de calibração de nitratos.	64
Tabela 7- Conteúdo/concentrações das soluções utilizadas no 1º ensaio ecotoxicológico.....	69
Tabela 8- Conteúdo/concentrações das soluções utilizadas no 2º ensaio ecotoxicológico.....	72
Tabela 9- Conteúdo/concentrações das soluções utilizadas no 3º ensaio ecotoxicológico.....	75
Tabela 10- Resultados das medições <i>in-situ</i>	80
Tabela 11- Valores de pH das amostras de água recolhidas no rio Nabão.....	81
Tabela 12- Volumes de tiosulfato de sódio gastos na titulação e dos frascos usados para cálculo de CBO ₅	83
Tabela 13- Valores de OD _i e de OD ₅ de todas as amostras.....	85
Tabela 14- Valores de CBO ₅ para cada uma das amostras.	86
Tabela 15- Massa do papel de filtro e do papel de filtro após filtração e secagem para cada amostra.	87
Tabela 16- Valores de sólidos suspensos totais de cada uma das amostras.....	88
Tabela 17- Valores da absorvância em cada uma das amostras para avaliar o teor em nitratos. ..	90
Tabela 18- Valores das concentrações de nitratos e de azoto correspondente para cada uma das amostras.....	91
Tabela 19- Valor de $[\chi]^2$ calculado.	97
Tabela 20- valores do efeito esperados e os valores corrigidos para 0-100%.....	98
Tabela 21- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21 para a prova de normalidade de erros de Shapiro-Wilk- testes de normalidade.....	104
Tabela 22- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21, estatística descritiva para a prova de normalidade de erros de Shapiro-Wilk.	105
Tabela 23- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21 para a prova de homogeneidade de variâncias de Levene.	107
Tabela 24- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21. Estatística descritiva para a prova de análise de variâncias (ANOVA).	108
Tabela 25- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21 para a prova de análise de variâncias (ANOVA).	109
Tabela 26- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21, prova de comparação múltipla de Dunnett.	110

Lista abreviaturas e siglas

CBO_5 – Carência bioquímica de oxigênio.

CQO – Carência química de oxigênio.

EC_{50} - A concentração que tem efeito em 50% dos organismos testados estimada graficamente ou por meios computacionais. Este parâmetro é normalmente usado em efeitos que não causam a morte.

ETAR – Estação tratamento de águas residuais.

IC_{50} - A concentração inibitória que reduz a resposta normal de um organismo em 50% estimada graficamente ou por meios computacionais. Taxas de crescimento de algas, bactérias e outros organismos são muitas vezes medidos em termos de IC_{50} .

IVL – Índice volumétrico de lamas.

LC_{50} - A concentração que causa mortalidade de 50% dos organismos testados estimada graficamente ou por meios computacionais.

LD_{50} - A dose que causa mortalidade de 50% dos organismos testados estimada graficamente ou por meios computacionais.

LOEC - Concentração com efeitos mínimos observáveis determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

LOEL - Nível com efeitos mínimos observáveis determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

M – Molaridade ou massa molar.

MATC - Concentração mínima admissível de tóxico determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

MTC - Concentração mínima de fundo determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

N – Normalidade.

NOAEC - Concentração com efeitos adversos não observáveis determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

NOAEL - Nível com efeitos adversos não observáveis determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

NOEC - Concentração com efeito não observável determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

NOEL - Nível com efeitos não observáveis determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

NTK –Azoto total Kjeldhal.

OD₅ – Oxigénio dissolvido na amostra após incubação.

OD_i – Oxigénio dissolvido na amostra 15 minutos depois da preparação.

pH – Potencial hidrogeniónico.

Ppm – Parte por milhão.

SST – Sólidos suspensos totais.

SSV – Sólidos suspensos voláteis.

UV – Ultravioleta.

VLE – Valor limite de emissão.

Lista de símbolos

C – Carbono.

$C_5H_7NO_2$ – Cianocetato de etilo.

CH_3OH – Metanol.

CO_2 – Dióxido de carbono.

H – Hidrogénio.

H_2O – Água.

$N_2Cr_2O_7$ – Dicromato de potássio.

O_2 – Oxigénio.

OH^- - Hidróxido.

P – Fósforo.

N – Azoto.

N_2 – Azoto molecular.

$Na_2S_2O_3$ - Tiosulfato de sódio.

NH_3 – Amoníaco livre.

NH_4^+ – Ião amónio.

NO – Óxido nítrico.

N_2O – Óxido nitroso.

NO_2^- - Ião nitrito.

NO_3^- - Ião nitrato.

m - Massa.

mg – Miligrama.

mL – Mililitros

1. Introdução

Este trabalho foi realizado no âmbito do relatório de estágio do mestrado de tecnologia química, da escola superior de tecnologia do Instituto Politécnico de Tomar. Pretende-se avaliar a sensibilidade de gastrópodes da família *Lymnaeidae* a nitratos (NO_3^-) através da determinação da concentração letal para metade da comunidade (LC_{50}) e da concentração mais alta que ainda não provoca efeito (NOEC) e mais baixa que já provoca efeito (LOEC). Efetuaram-se ainda análises às águas a montante e a jusante da ETAR (estação de tratamento de águas residuais) do Alto Nabão, localizada na freguesia de Formigais, concelho de Ourém, distrito de Santarém. Estas análises servem para comparar as concentrações ambientais com as que foi necessário usar para as concentrações de laboratório. Servem ainda para comparar com outras análises efetuadas em outros pontos de amostragem anteriormente estudados. Um objetivo importante do trabalho é verificar se esta espécie pode ser utilizada como bioindicador do impacte ambiental da ETAR do Alto Nabão.

Para uma correta avaliação deste estudo é relevante o conhecimento teórico dos gastrópodes invertebrados e suas propriedades como bioindicadores da qualidade da água, o funcionamento e tratamentos efetuados na ETAR do Alto Nabão bem como a forma como os nitratos podem afetar o meio ambiente ribeirinho.

1.1. Contaminantes

A presença de nutrientes na água é parte dos ciclos normais na natureza e para a maioria dos nutrientes vegetais não têm sido relatados problemas em relação a níveis excessivos. O problema de contaminação fica restrito a alguns micronutrientes, principalmente ao azoto (N) e ao fósforo (P), que em formas moleculares combinadas originam fosfatos e nitratos, respetivamente.

1.1.1. Azoto

No ciclo de azoto na biosfera, este nutriente alterna entre várias formas e estados de oxidação, como resultado de diversos processos bioquímicos. No meio aquático o azoto pode ser encontrado nas formas apresentadas na Tabela 1 (Von Sperling, 2005).

Tabela 1- Formas predominantes de azoto (Von Sperling, 2005).

Forma	Fórmula	Estado de oxidação
Azoto molecular	N_2	0
Azoto orgânico	Variável	Variável
Amoníaco livre	NH_3	-3
Ião amónio	NH_4^+	-3
Ião nitrito	NO_2^-	+3
Ião nitrato	NO_3^-	+5

Das diversas formas de azoto presentes na natureza, o amoníaco (NH_3) e em especial o nitrato (NO_3^-) podem ser causas da perda da qualidade da água.

O amoníaco presente em elevadas concentrações na água torna-se letal para os peixes devido à sua toxicidade, mas quando originada no solo ou aplicada via fertilizantes tende a ser rapidamente convertido em amónio (NH_4^+) e esse, por sua vez, é convertido em nitrato pelo processo microbiano de nitrificação.

Deste modo o nitrato é a principal forma de azoto associado à contaminação da água pelas atividades agropecuárias. Este ião nitrato (NO_3^-) é fracamente retido nas cargas positivas dos coloides, tende a permanecer mais em solução, principalmente nas camadas superficiais do solo, onde a matéria orgânica acentua o carácter eletronegativo da fase sólida, repelindo-o, e os fosfatos aplicados na adubação ocupam as cargas positivas disponíveis. (Bhumbla, 2015).

Na fase aquosa do solo, o nitrato fica muito propenso ao processo de lixiviação o que pode causar elevadas concentrações dos teores de nitrato nas águas profundas. Elevados teores de

nitratos na água são indicativos de risco potencial para a presença de outras substâncias indesejáveis, tais como moléculas sintéticas utilizadas na agricultura (Nugent et al., 2015). Ao nível da poluição das águas o azoto é um elemento indispensável ao crescimento de algas podendo conduzir a processos de eutrofização.

Nos processos de conversão de amoníaco em nitrito, e em seguida do nitrito em nitrato (nitrificação) existe consumo de oxigénio dissolvido no corpo de água, estando este mesmo nitrato associado a doenças como a meta-hemoglobinemia.

Ao nível do tratamento de esgotos o azoto é um elemento indispensável para o crescimento dos microrganismos responsáveis por esse tratamento, que no processo de nitrificação é responsável pelo consumo de oxigénio e de alcalinidade.

No processo de conversão do nitrato em azoto gasoso (desnitrificação) que eventualmente ocorra em uma estação de tratamento (ETAR), implica economia de oxigénio e alcalinidade quando realizado de forma controlada ou deterioração do processo de sedimentação da lama quando não controlado, devido a aderência de bolhas de N_2 (azoto molecular) aos flocos em sedimentação.

Num curso de água, a determinação da forma predominante de azoto pode fornecer indicações sobre o estado de contaminação ocasionado por alguma entrada de efluente não tratado a montante. Se esta poluição for recente, o azoto estará basicamente na forma de azoto orgânico ou amoníaco e, se antiga, basicamente na de nitrato (as concentrações de nitrito são normalmente mais reduzidas), desde que se tenha, no meio em questão, o suficiente de oxigénio dissolvido para permitir a nitrificação.

Podem-se visualizar estas situações na forma generalizada na tabela 2.

Tabela 2-Distribuição relativa das formas de azoto segundo distintas condições (Von Sperling, 2005.)

Condição	Forma predominante de azoto
Esgoto bruto	Azoto orgânico Amoníaco
Poluição recente em um curso de água	Azoto orgânico Amoníaco
Estagio intermediário de poluição num curso de água	Azoto orgânico Amoníaco Nitrito (em menores concentrações) Nitrato
Poluição remota num curso de água	Nitrato
Efluente de tratamento sem nitrificação	Azoto orgânico (em menores concentrações) Amoníaco
Efluente de tratamento com nitrificação	Nitrato
Efluente de tratamento com nitrificação/desnitrificação	Concentrações mais reduzidas de todas as formas de azoto.

No esgoto doméstico bruto, as formas predominantes são o azoto orgânico e o amoníaco. O amoníaco tem sua principal origem na ureia, que é rapidamente hidrolisada e raramente encontrada no esgoto bruto. Estes dois, conjuntamente, são determinados em laboratório pelo método Kjeldahl, constituindo o assim denominado azoto total Kjeldahl (NTK). A maior parte do NTK no esgoto doméstico tem origem fisiológica.

Em resumo, tem-se as equações (equação1):

$$\text{NTK} = \text{amoníaco} + \text{Azoto orgânico (forma predominante no esgoto domestico)}$$

$$\text{NT} = \text{NTK} + \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- \text{ (azoto total)}$$

A distribuição do azoto no esgoto bruto pode ser representada na forma esquemática ilustrada na Figura 1. Observa-se que a fração das formas oxidadas - NOx (nitrito + nitrato) é desprezável em esgoto doméstico. O NTK pode ser ainda dividido numa fração solúvel (dominada pelo amoníaco) e numa fração particulada (associada aos sólidos em suspensão orgânicos - o azoto participa na constituição de praticamente todas as formas de matéria orgânica particulada do esgoto).

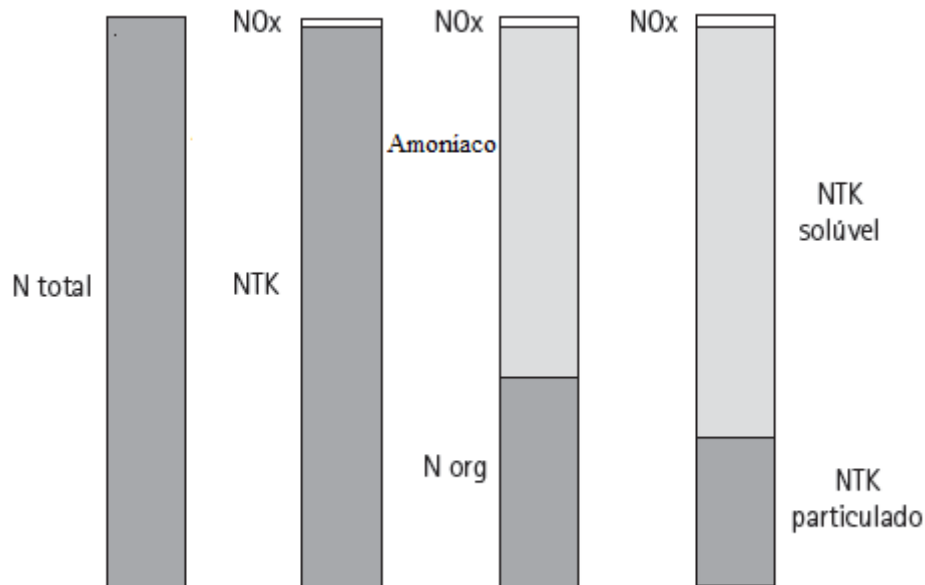
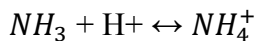


Figura 1- Distribuição das formas de azoto no esgoto doméstico bruto.

O amoníaco existe em solução tanto na forma de ião amónio (NH_4^+) como na forma livre, não ionizada (NH_3), de acordo com o seguinte equilíbrio dinâmico (equação 2):



NH_3 : amoníaco livre

NH_4^+ : amoníaco ionizado

A distribuição relativa assume a seguinte forma em função dos valores de pH:

- pH < 8 Praticamente todo o amoníaco na forma de NH_4^+ .
- pH = 9,5 Aproximadamente 50% na forma NH_3 e 50% na forma NH_4^+ .
- pH > 11 Praticamente todo o amoníaco na forma de NH_3 .

Na forma próxima da neutralidade, o amoníaco apresenta-se ionizado. Isto tem importantes consequências ambientais, pois o amoníaco livre é tóxico para os peixes mesmo em baixas concentrações. A temperatura do líquido influi também nesta distribuição. Na temperatura de 25° C, a proporção de amoníaco livre em relação ao amoníaco total é aproximadamente o dobro em relação a temperatura de 15° C.

Os problemas associados ao excesso de azoto na água são a eutrofização das águas, problemas de saúde animal principalmente ruminantes, que apresentam certas bactérias no trato intestinal que convertem nitrato em nitrito, levando a uma forma de envenenamento e também, na saúde humana principalmente nos menores de seis meses de idade que possuem bactérias no trato intestinal que convertem, nitrato em nitrito. Quando o nitrito alcança a corrente sanguínea, reage com a hemoglobina formando o composto meta-hemoglobinemia que reduz a capacidade do sangue de transportar oxigénio. Nesta situação a criança pode sofrer asfixia e ficar com a pele azulada, o chamado “síndrome do bebé azul”. Estudos recentes demonstram que altas concentrações de nitrato têm sido associadas ao desenvolvimento de cancro do estômago e do esófago pela formação de N-nitrosaminas, um potente agente cancerígeno derivado da interação do nitrito com aminas secundárias (Von Sperling, 2005).

1.1.2. Eutrofização dos corpos de água superficiais

A eutrofização é o enriquecimento do meio aquático com nutrientes que causa crescimento de organismos e plantas, tanto planctónicas como enraizadas, que podem atingir níveis tais que podem causar interferências ao bom funcionamento dos cursos de água. Normalmente, o maior factor de preocupação são as algas, cujo crescimento depende da contribuição de nutrientes como azoto e fósforo. Em condições de elevada eutrofização, as algas poderão atingir superpopulações. O processo de eutrofização pode ocorrer em corpos de água naturais (tais como lagoas, lagos, rios e ribeiros de baixa velocidade), ou artificiais (tais como reservatórios e represas).

Os problemas desta eutrofização residem nos seus efeitos indesejáveis, nomeadamente:

- Problemas estéticos que diminuem o uso da água para recreio e conseqüente redução geral na atração turística, devido a frequentes florescimentos das algas.

- Crescimento excessivo da vegetação, distúrbios com mosquitos e insetos e eventuais maus odores devido ao gás sulfídrico libertado pelo metabolismo das bactérias presentes nesse ecossistema.
- Problemas ao nível das condições anaeróbias no fundo do corpo de água, pois há uma elevação da concentração de bactérias heterotróficas que se alimentam da matéria orgânica das algas e de outros microrganismos mortos, consumindo oxigênio dissolvido do meio líquido.
- No fundo do corpo de água predominam condições anaeróbias devido à sedimentação da matéria orgânica e à reduzida penetração do oxigênio nestas profundidades, bem como à ausência de fotossíntese (ausência de luz). Com a anaerobiose, predominam condições redutoras, o que torna o ferro e o manganês mais solúveis, resultando em problemas no abastecimento de água. Estas condições também são ideais para a solubilização dos fosfatos, o que representa uma fonte interna deste nutriente para as algas.
- Problemas com eventuais mortandades de peixes devido à toxicidade do amoníaco em condições de pH elevado (frequentes durante os períodos de elevada fotossíntese, em consequência da remoção da acidez carbónica). O amoníaco apresenta-se em grande parte na forma livre (NH_3), tóxica para os peixes, ao invés de na forma ionizada (NH_4^+) não tóxica.
- Problemas com a subida dos custos de tratamento da água devido à presença excessiva de algas e devido à necessidade de remoção das próprias algas, remoção de cor, remoção de sabor e odor, maior consumo de produtos químicos e lavagens mais frequentes dos filtros.
- Aumento dos custos para o abastecimento de água industrial devido a razões similares às anteriores e também devido aos depósitos de algas nas águas de arrefecimento.
- Problemas com a toxicidade das algas, rejeição da água para abastecimento humano e animal devido à presença de secreções tóxicas de cianobactérias (ciano toxinas).
- Problemas na modificação da qualidade e quantidade de peixes de valor comercial.
- Problemas na redução da navegabilidade e da capacidade de transporte. O crescimento excessivo de macrofilas enraizadas interfere na navegabilidade, arejamento e capacidade de transporte do corpo de água, podendo comprometer o

sistema de drenagem urbana e ocasionar inundações e enchentes na área de abrangência da bacia hidrográfica (Branco, 1978; Branco e Rocha, 1979; Von Sperling, 2005).

Esta eutrofização pode ser controlada por duas categorias genéricas de medidas: as medidas preventivas e as corretivas.

Nas medidas preventivas há o controle do esgoto, controle da drenagem pluvial, incluindo a questão dos resíduos sólidos e o controle do uso do solo na bacia, sobretudo quanto à utilização abusiva de adubos na agricultura e pecuária.

Nas medidas corretivas há um controle de processos químicos, biológicos e mecânicos.

As medidas preventivas podem incluir estratégias relacionadas com o controle dos esgotos ou com a drenagem pluvial. Quanto ao uso excessivo de adubos na bacia hidrográfica, trata-se de uma questão de educação, normalização, fiscalização e vigilância.

O controle dos esgotos pode ser realizado de diversas maneiras, como o tratamento do esgoto com remoção de nutrientes, tratamento convencional do esgoto com lançamento a jusante do curso de água e exportação do esgoto para outra bacia hidrográfica, seguida por tratamentos convencionais (Thomann e Mueller, 1987; Von Sperling, 1995).

1.2 Remoção de nitratos

Existem três processos biológicos fisiologicamente diferentes envolvidos no desaparecimento de nitratos na natureza (Robertson e Kuenen, 1992; Tiedje, 1988; Zumft, 1992): a redução de nitrato a azoto (desnitrificação), o uso de nitrato como fonte de azoto (assimilação) e a redução de nitrato para amoníaco (amonificação) (Akunna et al., 1993). Apenas a desnitrificação contribui para a eliminação do azoto no ecossistema. Nesta desnitrificação, ocorrem reações onde se formam produtos gasosos como o óxido nítrico ou óxido nitroso (Kuenen, 1992).

1.2.1 Bactérias envolvidas na remoção de nitratos

Várias bactérias desnitrificantes são conhecidas como tendo esta capacidade de degradação. A bactéria *Thiobacillus* sp. possui a capacidade de crescer numa elevada gama de sulfuretos

alíficos como a única fonte de carbono/energia. A bactéria *Pseudomonas* sp. transforma triaminotolueno num produto desconhecido durante a desnitrificação com glucose (Preuss et al., 1993). As bactérias desnitrificantes *Paracoccus denitrificans* e *Thiosphaera pantotropha* são muito semelhantes geneticamente (Ludwig et al.,1993). A *T. pantotropha*, outra bactéria desnitrificante utiliza simultaneamente o oxigénio e o nitrato como aceitador terminal de eletrões em ambientes com escasso teor de oxigénio dissolvido (Thomsen et al., 1993).

1.2.2 Remoção de nitratos em sistemas técnicos (ETAR)

Se as águas residuais a serem tratadas possuírem concentrações de nitrato significantes, um processo de desnitrificação anaeróbica pode ser usado para a remoção desses nitratos, evitando a necessidade de adição de um eletrão doador. Se necessário o amoníaco restante pode ser então mais nitrificado/desnitrificado (Delentoft,1991).

Muitas das vezes a remoção simultânea de nitratos e fosfatos é conseguida combinando processos biológicos de remoção de azoto com químicos precipitadores de fosfatos. A combinação de tratamentos biológicos de remoção de nitrato e fosfato simultaneamente é igualmente eficiente. Numa ETAR é possível ter efluentes aceitáveis ao nível da concentração de azoto e fosforo usando inteligentemente zonas aeróbicas e anaeróbicas por arejamento intermitente (Draaijer e van Bergen, 1993; Farchill et al., 1993).

Bactérias desnitrificadoras podem também ter a capacidade de acumular excesso de fosforo, o que sugere que o nitrato pode ser usado em vez do oxigénio para a remoção biológica de fosfato (Kuba et al.,1993; Kern-Jespersen e Henze, 1993).

Uma das formas de remoção de nitrato é através de uma resina de permuta iónica, subsequentemente a remoção de nitrato da resina é realizada com cloreto de sódio, daí resulta uma salmoura de altíssima concentração de nitrato de sódio que pode ser desnitrificada e reutilizada (Clifford e Liu, 1993). Está demonstrado que o hidrogénio produzido por eletrólise pode ser usado para desnitrificar bactérias quimioautotróficas imobilizadas sobre um cátodo para remover baixas concentrações de nitrato da água potável (Sakakibara e Kuroda, 1993). O tratamento biológico na remoção de nitratos pode ser uma fonte de contaminação de patogénicos em água potável para consumo humano, logo é necessário um tratamento posterior para garantir a qualidade dessa água (Liessens et al., 1993).

1.3 Bioindicadores da qualidade da água

Historicamente, os indicadores de stresse antrópico utilizados em ecossistemas fluviais foram sobretudo parâmetros químicos relacionados com poluentes dissolvidos ou em suspensão na água; a avaliação da qualidade da água consistia essencialmente na análise de contaminantes químicos e orgânicos, com origem em fontes pontuais e difusas, assumindo-se que estes se relacionavam diretamente com a qualidade biológica dos ecossistemas (Cortes *et al.*, 2002).

Estas análises, mesmo sendo de grande precisão, apresentam o problema de apenas testemunharem as condições instantâneas da água (Alba-Tercedor e Sánchez-Ortega, 1988), permitindo avaliar o estado de degradação mas sem considerar qualidade ecológica dos ecossistemas (INAG, I.P., 2008).

Foi então no início da década de 1970 que se começou a discutir a avaliação integrada da qualidade da água, que até então era apenas baseada em critérios químicos, físicos e bacteriológicos. Esta tradicional avaliação da qualidade da água era insuficiente para atender aos usos múltiplos dessa mesma água, na sua qualidade estética, de recreio e ecológica dos ecossistemas fluviais (Buss *et al.*, 2003). Estes aspectos requerem uma análise integrada da qualidade da água, que considere não apenas as metodologias tradicionais de avaliação, mas os aspetos biológicos dos ecossistemas (Metcalf-Smith, 1994).

As comunidades biológicas respondem a todas as alterações que ocorrem nos ecossistemas fluviais e nas suas bacias de drenagem e integram os efeitos de diferentes agentes de stresse, tais como reduções na concentração de oxigénio, excesso de nutrientes, presença de químicos tóxicos, aumento da temperatura, aumento da carga sedimentar e degradação do *habitat*. Como resultado refletem, com maior precisão, uma vasta gama de perturbações e gradientes de impacto no *habitat* do que os elementos químicos de qualidade individual, que não apresentam qualquer relação consistente com a qualidade biológica dos ecossistemas (Cortes *et al.*, 2002).

O princípio fundamental da biomonitorização é que os organismos refletem as condições do meio onde vivem, e que qualquer tipo de mudança que ocorra no ambiente implicará uma mudança em algum atributo das comunidades biológicas (Day, 2000).

1.3.1 Gastrópodes macroinvertebrados como bioindicadores

Os gastrópodes invertebrados apresentam grande importância ecológica em ambientes aquáticos continentais, devido à sua participação nas cadeias alimentares e como sendo um dos elos principais das estruturas tróficas dos ecossistemas. Ao longo dos anos cada vez mais estudos se focam neste tipo de organismos devido à sua utilização em avaliações de monitorização ambiental, fornecendo dados relevantes acerca da qualidade sanitária dos meios aquáticos (Eaton, 2003; Silveira e Queiroz, 2006).

Estes gastrópodes aquáticos são compostos por inúmeras espécies diversificadas, sendo a sua distribuição e abundância influenciadas por fatores biogeográficos e características do ambiente, tais como, o tipo de sedimento, teor de matéria orgânica, profundidade, variáveis físicas e químicas da água e presença de macrofilas (Carvalho e Uieda, 2004; Smith *et al.* 2003, Vidal-Abarca *et al.*, 2004). Assim estes organismos têm sido utilizados como bioindicadores da qualidade da água, pois em condições ambientais específicas, como níveis diferenciados de poluição, os grupos mais resistentes podem se tornar dominantes e os mais sensíveis raros ou ausentes. Estes macroinvertebrados são mais utilizados nas avaliações de efeitos de impactos antrópicos sobre o ecossistema aquático, pois apresentam uma série de vantagens como: diversidade de formas de vida e de habitats, podendo ser encontrados em praticamente todos os tipos de ambientes aquáticos; mobilidade limitada, fazendo com que a sua presença ou ausência esteja associada a condições do seu meio aquático; presença de espécies com ciclo de vida longa em relação a outros organismos, possibilitando a visualização temporal dos efeitos antropogênicos sobre a comunidade; facilidade de uso em condições experimentais (Bicudo e Bicudo, 2004); são abundantes e relativamente fáceis de amostrar; são sensíveis a poluentes de vários tipos e têm reações rápidas e diferenciais aos mesmos; a sua taxonomia é conhecida e a identificação é simples, as suas comunidades são muito heterogêneas, possuem representantes de vários filos, oferecendo um amplo espectro

de resposta e aumenta a probabilidade de alguns destes organismos reagirem a uma determinada mudança ambiental (Metcalf-Smith, 1994).

1.3.2 Características de *Lymnaeidae*

Neste trabalho foram utilizados como bioindicadores gastropodes macroinvertebrados *Pulmonata lymnaeidae*.

Estes organismos são moluscos pateliformes, encontrados em ambientes lóticos ou lênticos nos ecossistemas límnicos continentais. Pela sistemática clássica, estão incluídos na classe Gastropoda, subclasse Pulmonata, ordem Basommatophora. Esta ordem caracteriza-se pelos seguintes aspetos: concha pateliforme, planispiralada ou conspiralada; olhos na base do único par de tentáculos, não-invagináveis; rim geralmente alongado, somente com ureter primário curto e reto, dirigido para trás; ditremados (duas aberturas genitais), com exceção dos Siphonariidae; hermafroditas com variados graus de diaulia, os quais refletem etapas progressivas de individualização e especialização das estruturas do sistema reprodutor (Hyman, 1967; Hubendick, 1978; Leme, 1995; Oliveira e Almeida, 2000). Admite-se na ordem Basommatophora as famílias Siphonariidae, Trimusculidae, Amphibolidae, Otinidae, Ellobiidae, Chilinidae, Latiidae, Acroloxidae, Lymnaeidae, Physidae, Ancyliidae e Planorbidae (Leme, 1995). Na literatura é possível encontrar arranjos sistemáticos diferentes, dependendo da interpretação que os autores dão a cada grupo ou família. As quatro últimas famílias citadas têm sido consideradas as mais evoluídas e são agrupadas como basomatóforos superiores, isto é, apresentam diaulia total, ou seja, separação completa do oviduto e do espermiduto a partir da encruzilhada genital (Hubendick, 1978; Duncan, 1960; Harry, 1964).

Geralmente, estão associados a ambientes não poluídos, vivendo preferencialmente aderidos às folhas ou talos de plantas aquáticas e folhas em decomposição; preferem ambientes lênticos ou com pouca correnteza. O pequeno tamanho destes moluscos provavelmente é uma das razões para a existência de poucos investigadores a trabalhar com este grupo tão variado e interessante, com origens e inter-relações filogenéticas não esclarecidas.

A distribuição geográfica dos *Lymnaeidae* é ampla, habitam largas zonas em quase todos os continentes (Hubendick, 1951). Eles estão ausentes nas áreas polares, zona norte da América

do sul, em quase todo o Sahara, o oeste da Austrália e provavelmente algumas ilhas do pacífico.

1.3.3 Concha

O corpo dos *Lymnaeidae* é massa visceral coberta por uma concha que assegura a sua proteção. As conchas dos *Lymnaeidae* (figura 2) são helicoidais em formato turbo espiral. O número de espirais varia entre 4 e 8. A profundidade depende do grau de convexidade das espirais. A primeira espiral que possui origem embrionária forma o ápice da concha. A espiral mais nova é a maior e frequentemente é maior que as restantes juntas. A parede interna da concha, enrolada em espiral ao longo do eixo principal, cria a coluna axial chamada columela. O lúmen desta coluna é muito estreito e abre em uma fissura estreita chamada de umbigo. É quase completamente coberta por uma dobra columelar, esta dobra é fina e de luz colorida. A cor da concha varia de preto ao castanho-escuro. Por vezes a concha é corroída, visível com danos na superfície que resultam numa destruição parcial da camada escura da concha, tornando-se visíveis manchas pálidas de calcário. Esta erosão pode ser causada por fatores mecânicos como o atrito em cascalho ou grãos de areia ou por compostos químicos dissolvidos na água como o carbonato de cálcio que reage com a concha (Piechocki, 1979).

As conchas dos *Lymnaeidae* são caracterizadas por uma estrutura simples mas são de grande variabilidade intraespecífica, esta semelhança de estrutura e forma da concha torna difícil a diferenciação de espécies, muitas vezes só conseguida através da estrutura anatómica dos órgãos reprodutores. Há uma visível escultura reticulada na superfície da concha de algumas espécies, que se denomina “batimento” que se parece com golpes de martelo (Jackiewicz e Koralewska-Batura, 1995).



Figura 2- Vista dorsal da concha Lymnaeidae (foto do autor).

1.3.4 Partes moles

Ao nível de aparência externa o corpo dos *Lymnaeidae* consiste na cabeça, pé e massa visceral coberta pela concha (figura 3).

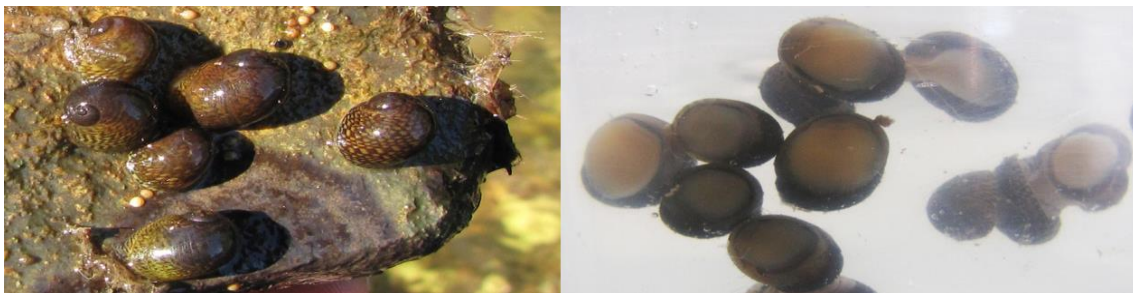


Figura 3- Corpo dos Lymnaeidae, perspectiva da concha e do pé (foto do autor).

A cabeça é grande e pouco definida com tentáculos triangulares. Os olhos estão localizados internamente na sua base. A parte frontal da cabeça passa por dois lobos, a boca está localizada entre eles. O gonóporo do macho está localizado no pescoço perto do tentáculo direito. O gonóporo da fêmea também está situado no lado direito junto a base do colar do manto.

O pé é um órgão maciço pouco largo, mais arredondado atrás. O pé é particularmente grande em espécies que vivem em ambientes de corrente de água rápida, a aderência aos substratos aumenta assim desta forma. A massa visceral espiral enrolada é coberta por uma camada de

pele, na última espiral torna-se mais grossa criando um manto (pálio), que se transforma numa prega larga chamada de colar do manto (Jackiewicz, 1993).

Estes *Lymnaeidae* são ainda providos de sistema digestivo, um sistema excretor, sistema respiratório, sistema circulatório, sistema nervoso e sistema reprodutor.

1.3.5 Observações ecológicas

Lamnídeos são caracóis de água doce, apesar disso algumas espécies vivem em água salobra, habitam reservatórios de água e aparecem em grande número (Czapski, 1977). Eles, especialmente os *Lymnaea glutinosa*, passam a maior parte do seu tempo entre a densa vegetação costeira, encontrando aí não somente comida e abrigo mas um substrato adequado para repousar os seus ovos, geralmente na parte inferior das folhas ou sobre o caule das macrofilas. Também podem ser encontrados em diversos objetos submersos.

Estes caracóis são resistentes a períodos de seca, escavam em depósitos de fundo, rastejam em fendas no solo ou escondem-se na vegetação.

Temperaturas ambientais entre os 20 e 25 °C são as mais favoráveis para seus processos vitais como a alimentação, desenvolvimento e reprodução. Eles param se o reservatório de água congelar completamente.

Migram para as zonas mais profundas no final de outono mas continuam ativos.

Servem como indicadores da pureza da água dentro do sistema sapróbio, zonas de poluição com compostos orgânicos (Michalkiewicz, 1993). O nível de oxigênio mais frequentemente atinge valores de 5,0 a 9,0 mg de O₂ / dm³. A respiração é sobretudo através de oxigênio atmosférico, portanto falta de oxigênio em ambientes aquáticos não é vital para eles. Quantidades excessivas de sulfureto de hidrogênio, aminoácidos, amoníaco e nitritos limitam sua vida. Dióxido de carbono dissolvido na água provoca a erosão de suas conchas. O cálcio é um elemento de grande importância nas suas vidas e o carbonato de cálcio é o maior componente das conchas, é ingerido com os alimentos mas não diretamente do substrato. A dureza das águas não afeta diretamente a ocorrência destes caracóis (Fromming, 1956).

Os lemnídeos toleram uma vasta gama de pH que varia entre os valores de 5,6 a 8,5 podendo assim viver em águas ligeiramente alcalinas e ligeiramente ácidas. Os níveis de sais de cálcio

têm um profundo efeito na concentração de iões de hidrogénio, como resultado da hidrólise destes sais, iões OH⁻ livres aparecem desenvolvendo uma reação alcalina na água.

1.4 ETAR do Alto Nabão

As águas residuais urbanas e industriais não tratadas podem ter um impacto ambiental muito negativo e relevante ao nível da fauna e flora devido à elevada carga orgânica, elevado teor em sólidos, elevado teor em metais pesados e da presença de organismos patogénicos, elevado teor de contaminantes químicos, entre outros, presentes nestes efluentes. As ETAR (estações de tratamento de águas residuais) são a solução mais difundida para tratamento de águas residuais, sua reciclagem e reutilização. São infraestruturas que diariamente recebem uma quantidade de água residual proveniente dos sistemas de drenagem, onde posteriormente é submetida a um tratamento, que pode ser do tipo primário, secundário ou terciário.

O primeiro tratamento biológico de efluentes data de cerca de 1900, com a finalidade de remover o excesso de matéria orgânica, excesso de sólidos e os organismos patogénicos, com a utilização do metabolismo de microrganismos (Metcalf e Eddy, 1991).

Os últimos anos são marcados pelo aumento das exigências ambientais ao nível da União Europeia, assim é de grande importância o conhecimento aprofundado sobre o funcionamento das ETAR's, através do controlo permanente dos parâmetros operacionais e processuais.

A ETAR do Alto Nabão trata água proveniente do sistema de drenagem de parte do concelho de Ourém. As águas que saem da ETAR e lançadas no rio Nabão são sujeitas a um controlo analítico para assegurar a sua qualidade e os cumprimentos dos parâmetros de descarga. Esta ETAR tem como objetivo a despoluição da bacia hidrográfica do Alto Nabão e o cumprimento da licença de descarga em meio hídrico.

As características e as condições de afluência das águas residuais desta ETAR estão descritas na tabela 3 (Câmara Municipal de Ourém, 1996).

Tabela 3- Parâmetros de dimensionamento ETAR Alto Nabão.

Parâmetros	Unidades	1997	2017	2037
População total	Hab.equivalente	15448	16694	18110
Caudal médio	m ³ /dia	1538	1965	2420
Caudal de ponta	m ³ /h	178,3	231,7	288,5
CBO ₅	Kg/dia	926,9	1001,6	1086,6
CQO	Kg/dia	1853,8	2003,3	2173,1
SST	Kg/dia	1390,3	1502,5	1629,9
Azoto total	Kg/dia	185,4	200,3	217,3
Fósforo total	Kg/dia	43,3	46,7	50,7

O esquema do processo de tratamento adotado na ETAR pode ser observado na figura 4.

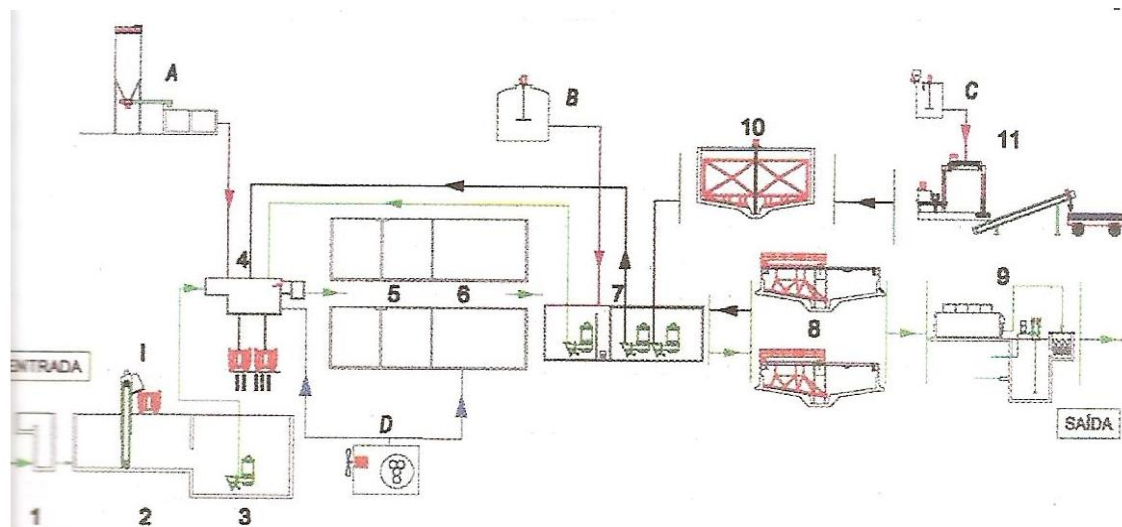


Figura 4- Esquema do processo de tratamento da ETAR do alto Nabão.

Fonte: Ourémviva, manual de funcionamento da ETAR do Alto Nabão, sd..

Legenda:

- A- Preparação de cal
- B- Preparação de sulfato de alumínio
- C- Preparação de polímero
- D- Ar para difusores
- I- Recuperação de sólidos
- 1- Emissário
- 2- Obra de entrada
- 3- Estação elevatória inicial
- 4- Desareador/desengordurador
- 5- Tanques anóxicos
- 6- Tanques de arejamento
- 7- Estação elevatória de recirculação
- 8- Decantação secundária
- 9- Filtragem e desinfecção
- 10- Espessador de lamas
- 11- Desidratação de lamas

O processo de tratamento de efluentes consiste em três tipos de tratamentos: um pré-tratamento, um tratamento secundário e um tratamento terciário.

O pré-tratamento é constituído por uma gradagem mecânica em dois estágios, onde se removem os sólidos mais grosseiros e de seguida os mais finos e por uma bombagem para elevar o caudal para o desareador e desengordurador, para remoção de areias e gorduras respetivamente.

O tratamento secundário consiste num tratamento biológico, sistema de lamas ativadas com arejamento prolongado, para degradar a matéria orgânica e num decantador secundário no qual se separa a fase sólida da fase líquida.

O tratamento terciário consiste na remoção de nutrientes através de processos de nitrificação/desnitrificação, numa filtração suplementar de modo a remover pequenas partículas e sólidos em suspensão e uma desinfeção por radiação ultravioleta.

O tratamento de lamas provenientes do tratamento da água residual é realizado por espessamento gravítico, de modo a reduzir o volume de lamas, posteriormente bombeadas para um filtro prensa onde é realizada a sua desidratação.

1.5 Legislação aplicável ao efluente

De modo a perceber o funcionamento desta ETAR é necessário conhecer a legislação a ela aplicada nas descargas de águas residuais na água e no solo.

O Decreto-Lei nº 236/98 de 1 de Agosto apresentado no Anexo A tem por objetivo estabelecer normas, critérios e objetivos de qualidade com a finalidade de proteger o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos seus principais usos. No anexo XVIII, do referido Decreto-Lei encontram-se os VLE (Valor limite de emissão) na descarga das águas residuais.

A ETAR do Alto Nabão encontra-se em uma zona sensível, possui condições de descarga mais exigentes, definidas no Decreto-Lei nº 152/97 de 19 de Julho apresentado no Anexo B. Este documento sofreu inúmeras alterações, sendo a legislação referente aos limites de descarga referentes ao fósforo total e ao azoto total constam do Decreto-Lei nº 348/98 de 9 de Novembro apresentado em Anexo C.

Para além desta legislação, existe uma licença de descarga, os parâmetros de descarga da nova licença apresentam-se na tabela 4.

Tabela 4- Parâmetros de descarga do efluente líquido da ETAR do Alto Nabão.

Pârametro	VLE (Valor limite de emissão)	Legislação
SST	35 mg/L	Decreto-Lei nº 152/97 de 19 de Junho e Decreto-Lei nº 198/2008 de 8 de Outubro
CQO	125 mg/L	
CBO ₅	25 mg/L	
pH	6,0-7,0 escala de Sorensen	
NH ₄ ⁺	10 mg/L	
Coliformes fecais	100NMP/100mL(valor máximo recomendado)	Decreto-Lei nº 236/98 de 1 de Agosto

1.6 Legislação aplicável às lamas provenientes do processo

Relativamente a legislação das lamas provenientes do processo de tratamento de águas residuais encontra-se no Decreto-Lei nº 446/91 de 22 de Novembro, que foi mais tarde revogado pelo Decreto-Lei nº 118/2006 de 21 de Junho apresentado em Anexo D. Este documento estabelece o regime a que obedece a utilização de lamas de depuração em solos agrícolas, de forma a evitar efeitos nocivos para o Homem, para a água, para os solos, para a vegetação e para os animais e a promover a sua correta utilização, lamas estas que têm origem em estações de tratamento de águas residuais domésticas, urbanas, atividades agropecuárias, fossas sépticas ou outras de composição similar.

1.7 Tratamento da fase líquida

1.7.1 Pré-tratamento

O objetivo desta operação é remover da água residual os sólidos suspensos de maiores dimensões, as gorduras e as areias.

1.7.1.1 Gradagem, elevação inicial e medição de caudal

O afluente a tratar chega à obra de entrada por ação gravítica, dirige-se a um tratamento preliminar constituído por gradagem grosseira, seguida de gradagem fina, que têm com objetivo a remoção de sólidos flutuantes ou em suspensão de maiores dimensões e materiais granulares, inertes e sedimentáveis, que podem causar danos nos diversos equipamentos que se encontram ao longo do processo de tratamento, como bombas, válvulas, tubos, agitadores de fundo e outros equipamentos.

Existe ainda uma grade de limpeza manual, que funciona como *by-pass*, quando a gradagem automática apresenta algum problema. Esta grade possui as mesmas dimensões da grade de sólidos grosseiros.

Posteriormente o afluente é conduzido para a estação elevatória inicial constituída por três bombas submersíveis, que trabalham alternadamente, bastante robustas para evitar avarias e desgaste nos impulsores. A vantagem da estação elevatória é a possibilidade de ter os restantes órgãos da ETAR a uma cota mais elevada, permitindo uma maior segurança contra cheias. Por outro lado, em caso de avaria, o afluente não pode ser bombeado para o desareador/desengordurador, inundando a obra de entrada.

A medição de caudal é feita através de um descarregador tipo Parshall, instalado antes do desareador/desengordurador, com seis polegadas de largura.

1.7.1.2 Desareador/Desengordurador

Este órgão tem como objetivo a remoção de gorduras e areias da água residual. É um tanque de secção retangular, onde aos dois metros de altura se injeta ar longitudinalmente, para criar um movimento em espiral, trazendo as gorduras para a superfície da água onde são

removidas através de uma ponte raspadora e as areias que sedimentam são removidas com o auxílio de uma bomba.

A ponte raspadora conduz as gorduras para uma caixa de onde são encaminhadas para um contentor e daí para um aterro sanitário. As areias retiradas são conduzidas para um classificador de areias do tipo parafuso sem fim e posteriormente enviadas para um aterro sanitário. As escorrências voltam à estação elevatória para serem tratadas.

Há períodos de tempo em que a água fica estagnada no tanque, o que pode causar maus odores, para evita-los tem que se evitar condições anaeróbias e para tal, a injeção de oxigénio tem de ser contínua.

À água residual juntam-se as recirculações de lamas e de nitratos, que são conduzidas para dois descarregadores iguais, colocados a jusante, que repartem a água para os dois tanques anóxicos. Existe um conjunto de comportas que permitem o fecho de uma das linhas e a possibilidade de efetuar *by-pass* aos reatores biológicos para a obra de entrada.

1.7.2 Tratamento secundário

Este tratamento destina-se à degradação da matéria orgânica presente na água residual.

Parte do tratamento terciário ocorre juntamente com o tratamento secundário, daí a necessidade de os explicar simultaneamente.

O processo de tratamento utilizado nesta fase é o de lamas ativadas, em arejamento prolongado, em baixa carga, dividido em duas linhas idênticas, cujo objetivo principal é a remoção da matéria orgânica biodegradável por processos biológicos.

No tanque de arejamento existe uma complexa rede trófica, onde as diferentes populações estabelecem relações de competição, predação e até canibalismo como pode ser visualizado na seguinte figura seguinte.

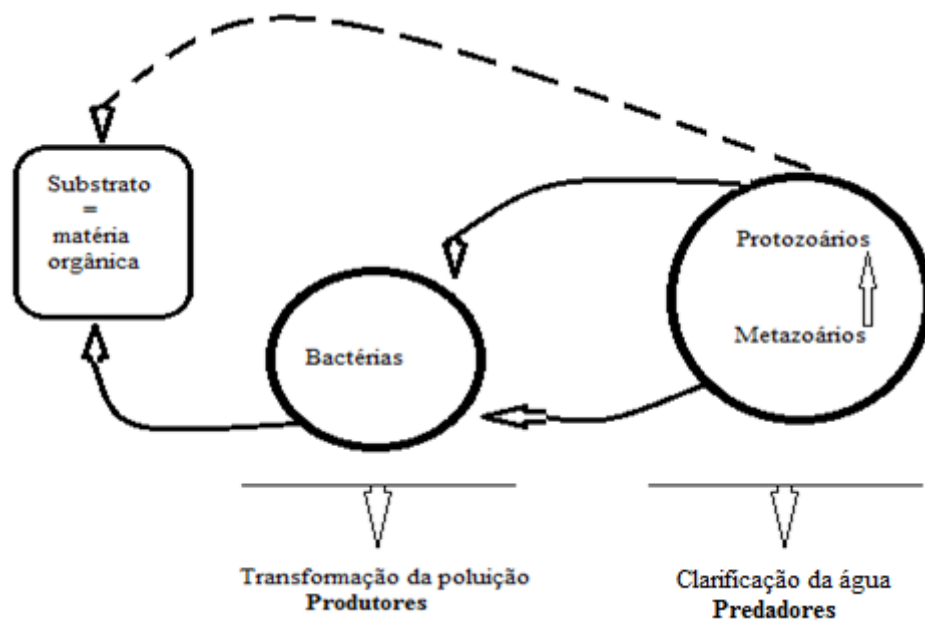


Figura 5- Rede trófica estabelecida num processo de lamas ativadas (adapt. Abreu, 2004).

No tanque de arejamento encontram-se cerca de 95% das bactérias e cerca de 5% de outros microrganismos, dos quais fungos, protozoários, rotíferos e possivelmente algumas algas. Algumas espécies de bactérias podem ser denominadas de formadoras de flocos, salientando-se os géneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Citromonas*, *Flavobacterium* e *Zooglea*. Estas segregam o glicocálix, material gelatinoso, extracelular, que é um polímero orgânico que aumenta a viscosidade da água e que ajuda as bactérias a agregarem-se umas às outras formando um microambiente necessário à atividade das enzimas extracelulares. Estes agregados, juntam-se entre si e formam agregados maiores, os flocos. A formação destes flocos é extremamente importante para a obtenção de um bom rendimento do tratamento secundário, sabendo que a separação dos microrganismos do efluente é realizada por decantação.

Importante referir que nem todas as bactérias presentes no licor misto (mistura de todos os compostos presentes nos tanques de arejamento, afluente, oxigénio do arejamento e microrganismos) são formadoras de flocos. Existem também muitos microrganismos filamentosos dissolvidos no licor misto.

Todos os microrganismos e o seu crescimento são muito influenciados pelas condições ambientais do meio, como a temperatura e o pH. A gama de temperaturas em que os

microrganismos atingem uma maior taxa de crescimento depende do tipo destes organismos presentes no meio, relação que se pode verificar na tabela 5.

Tabela 5- Classificação de temperatura de processos biológicos.

Tipo de microrganismos	Gama de temperatura, °C	Gama ótica de temperatura, °C
Psicrófilos	10-30	12-18
Mesófilos	20-50	25-40
Termófilos	35-75	55-65

A melhor faixa de valores de pH para o crescimento microbiano está entre os 6,5 e 7,5 (Metcalf e Eddy, 1991).

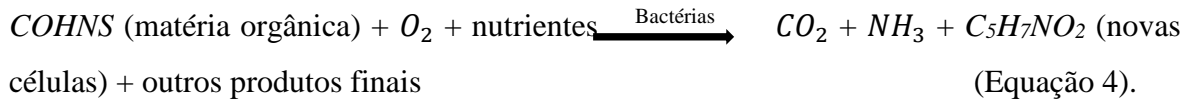
A obtenção de carbono pelos microrganismos pode ser através da assimilação de CO₂ (autotróficos), ou através de carbono orgânico (heterotróficos). A conversão de CO₂ em matéria orgânica celular requer um processo de redução que necessita de energia. A energia necessária para a síntese microbiana pode ser fornecida pela luz solar (fototróficos) ou por reações químicas de oxidação, de compostos orgânicos e/ou inorgânicos (quimiotróficos). Os microrganismos nas suas funções metabólicas necessitam também de alguns nutrientes inorgânicos como o azoto, enxofre, fósforo, potássio, magnésio, cálcio, ferro, sódio e cloro. Estes nutrientes são necessários essencialmente como constituintes da parede celular. Nas águas residuais urbanas estes nutrientes estão geralmente em quantidades suficientes para satisfazer as necessidades dos microrganismos, já no caso das águas residuais industriais pode haver necessidade de adicionar estes nutrientes.

1.7.2.1 Reatores biológicos

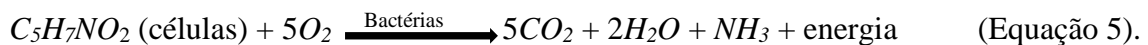
Os reatores biológicos foram divididos em duas zonas separadas. Uma zona anóxica (pertencente ao tratamento terciário), com agitação do meio, e uma zona aeróbia.

A oxidação da matéria orgânica processa-se principalmente na zona aeróbia, mas também na zona anóxica, podendo ser descrita de uma forma geral pelas seguintes reações químicas:

- Oxidação e síntese



- Respiração endógena



O COHNS é usado para representar a matéria orgânica em água residual. É necessário fornecer oxigénio às bactérias para realizarem a oxidação da matéria orgânica, este fornecimento é realizado através de um soproressor que bombeia ar através de tubagens que estão montadas na parte inferior dos tanques de arejamento.

A oxidação da matéria orgânica produz NH_3 (amoníaco) que na presença de água está em equilíbrio com NH_4^+ (amónio) o que torna necessário realizar tratamento terciário para remover o azoto da água residual.

Na figura 6 está representado o tratamento secundário e parte de tratamento terciário.

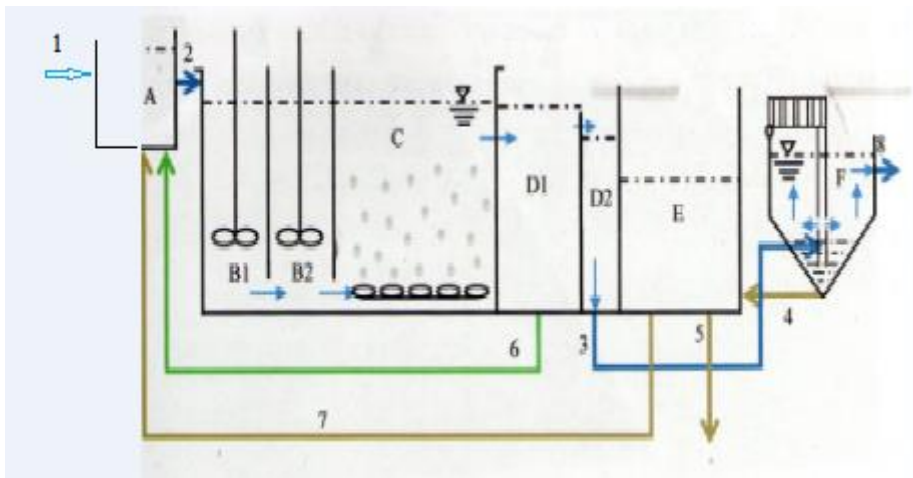


Figura 6- Esquema representativo do tratamento secundário e parte do tratamento terciário.

- 1- Entrada de água residual
- 2- Caudal afluyente + recirculação de nitratos + recirculação de lamas
- 3- Entrada do decantador
- 4- Saída de lamas do decantador
- 5- Purga de lamas
- 6- Recirculação de Nitratos
- 7- Recirculação de lamas
- 8- Saída de água clarificada

A- Descarregador (junção dos caudais)

B1 e B2- Tanques anóxicos (com agitação)

C - Tanque aeróbio

D1-Tanque de recirculação de nitratos

D2-Tanque de adução do decantador

E- Tanque de recirculação de lamas e purga

F- Decantador (secundário)

O caudal da obra de entrada junta-se com a recirculação de nitratos (6), proveniente do tanque de recirculação de nitratos (D1) e com a recirculação de lamas (7), proveniente do

tanque de recirculação de lamas (E). Por gravidade a água residual é encaminhada aos tanques anóxicos (B1 e B2) onde se efetua a desnitrificação na ausência de oxigénio. Do tanque anóxico é encaminhado para o tanque aeróbio (C) onde se processa a oxidação da matéria orgânica e a nitrificação do azoto amoniacal (amónia) na presença de oxigénio.

Sempre por gravidade, a água é encaminhada do tanque aeróbio para o tanque de recirculação de nitratos e depois para o tanque de adução do decantador (F). O controlo desta recirculação é realizado através de um medidor de caudal ultrassónico.

Na parte superior do decantador é descarregada água clarificada (8) e do fundo é realizada a recirculação de lamas (4) para o tanque de recirculação de lamas e purgas (E). Esta recirculação é intermitente, gerida por uma válvula motorizada que está fechada 40 minutos e aberta 20 minutos continuamente. Deste tanque é realizada a purga de lamas (5) para o espessador.

Na nitrificação e desnitrificação o azoto amoniacal é transformado em azoto gasoso, como esquematizado na figura 7.

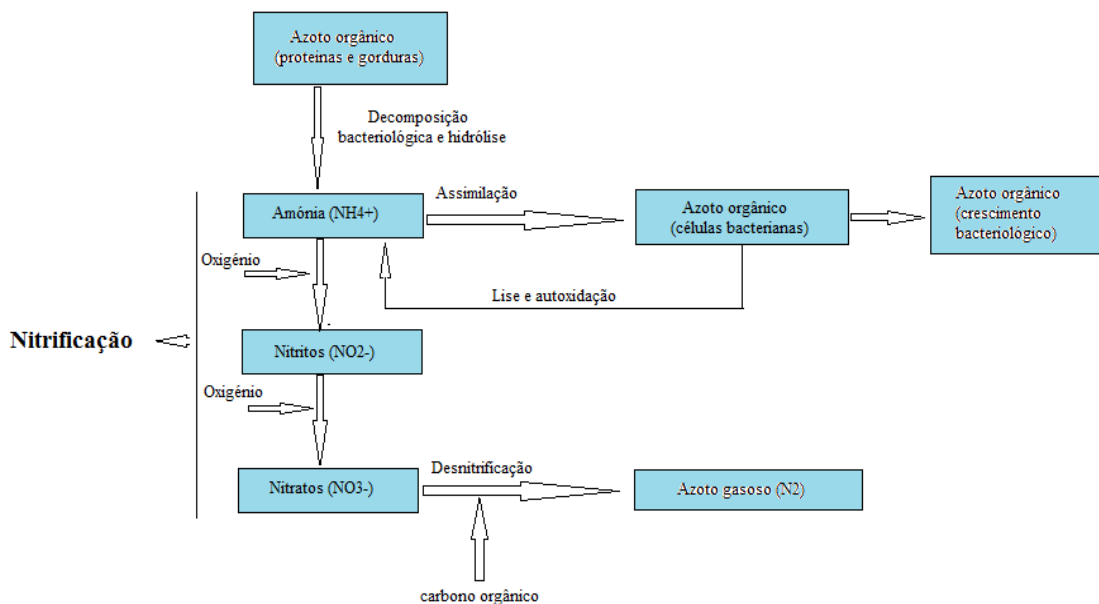
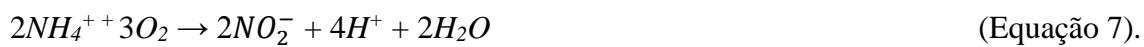


Figura 7- Transformações do azoto no processo de tratamento biológico (adapt. Metcalf e Eddy, 1991).

1.7.2.2 Nitrificação

Neste processo de nitrificação ocorre a conversão do azoto amoniacal em NO_2^- (nitritos) e NO_3^- (nitratos). Este processo ocorre ao mesmo tempo que a oxidação da matéria orgânica no tanque aeróbio. Bactérias autotróficas são responsáveis pela nitrificação no processo de lamas ativadas. Este processo ocorre em duas etapas, envolvendo dois tipos de bactérias, a primeira etapa é realizada por bactérias *Nitrosomonas* que oxidam o azoto amoniacal em NO_2^- pela seguinte reação química:



A segunda etapa é a oxidação do NO_2^- em NO_3^- , realizada pelas nitrobactérias pela seguinte reação química:



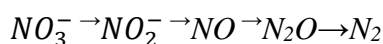
Estas duas etapas podem ser traduzidas pela seguinte reação química geral:



Neste processo é necessário fornecer oxigênio as bactérias, a uma taxa de 4,57 g O_2 /g N oxidado, com 3,43 g O_2 /g usado para a produção dos nitritos e 1,14 g O_2 /g NO_2 oxidado (Metcalf e Eddy, 1991).

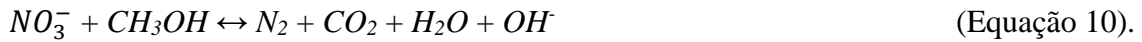
1.7.2.3 Desnitrificação

Desnitrificação é um processo onde ocorre a redução dos NO_3^- a forma de azoto gasoso, envolve a redução de nitratos para nitritos, para óxido nítrico, para óxido nitroso e para azoto gasosos. Estes passos podem ser descritos da seguinte maneira:



Esta redução é realizada por bactérias facultativas, heterotróficas, quase na ausência de oxigênio (condições anóxicas) e deve existir uma fonte de carbono. Esta fonte de carbono normalmente é a própria matéria orgânica que se encontra em solução no licor misto. O

processo de desnitrificação pode ser descrito de uma forma geral pela seguinte reação química:



1.7.2.4 Microrganismos

Os microrganismos existentes no reator biológico podem ser divididos em decompositores (Bactérias e fungos que obtêm energia diretamente da matéria orgânica dissolvida) e pelos consumidores (flagelados heterotróficos, ciliados, rizopódios e pequenos metazoários que se alimentam de bactérias e outros organismos).

A relação entre estes diferentes microrganismos estão representadas na figura 8.

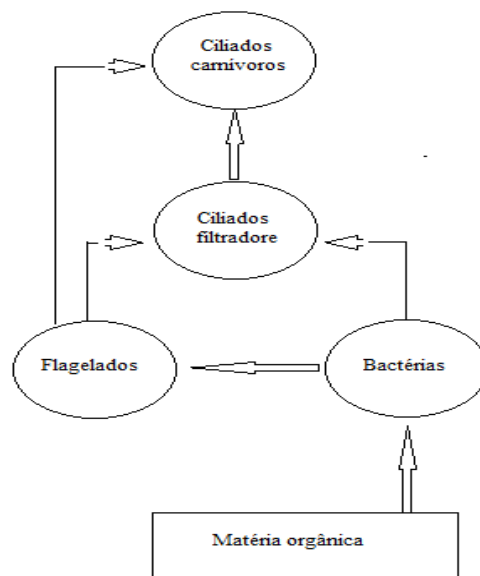


Figura 8-Rede trófica no processo de lamas ativadas (adap. Ourémviva, Manual de funcionamento da ETAR do Alto Nabão, sd.).-

Os microrganismos sofrem diferentes estágios de desenvolvimento ao longo do tempo, quando na presença de substrato orgânico. Na fase exponencial existe excesso de alimento e as taxas de metabolismo e crescimento estão apenas limitadas pela capacidade destes organismos assimilarem a matéria orgânica da água residual. Na fase de crescimento

decrecente há escassez de alimento. Na fase endógena, o alimento atinge o mínimo, obrigando os microrganismos a metabolizarem o seu próprio material celular.

Assim sendo, é importante controlar o parâmetro de relação A/M (alimento/microrganismo) no processo de lamas ativadas, que se traduz na quantidade de matéria orgânica usada pelos microrganismos e a quantidade de sólidos voláteis em suspensão no reator biológico.

Quando a relação A/M é elevada os microrganismos encontra-se na fase exponencial, dispersos no licor misto e não floculam, o que dificulta a sedimentação.

Se a relação A/M for reduzida, o alimento disponível aos microrganismos é escasso, existe um decréscimo do metabolismo levando estes organismos ao seu estágio endógeno, dando-se a oxidação total da matéria orgânica, o que resulta numa boa sedimentação e numa boa qualidade do efluente.

A análise da microfauna de um sistema de lamas ativadas é um bom indicativo se o sistema está a funcionar bem ou mal. A presença ou ausência de uma determinada espécie e a composição da microfauna podem ser utilizadas para avaliar a eficiência biológica de depuração das lamas ativadas.

Além destes microrganismos, pode existir no licor misto desenvolvimento de bactérias filamentosas que podem provocar problemas como o *Bulking sluge* e o *Foaming* (espumas). Estas bactérias são unicelulares que se multiplicam por cissiparidade, permanecendo na vizinhança umas das outras. A compactação da estrutura do floco é favorecida pelo crescimento de um esqueleto filamentoso, sobre o qual se vão acumulando substâncias inertes e outras bactérias (Abreu, 2004).

As causas do crescimento excessivo das bactérias filamentosas são os valores da relação A/M baixos, proporção incorreta de C:N:P, afluentes carentes em nutrientes como azoto e fósforo, baixo teor de oxigénio dissolvido, elevada idade das lamas, baixo pH, efluentes sépticos e/ou ricos em sulfuretos e presença de substâncias facilmente degradáveis (Abreu, 2004).

Estas bactérias são importantes no processo de lamas ativadas, devido a formação de flocos grandes que sedimentam melhor e que têm uma maior resistência a agressões, como o arejamento.

Podem também causar problemas quando a quantidade destas bactérias é muito elevada no licor misto, alguns dos problemas mais frequentes são o *Bulking sludge* e *Foaming* (espumas).

Bulking sludge consiste numa deficiente sedimentação das lamas, podendo estas serem arrastadas com a água tratada, afetando a qualidade do efluente final, pois aumenta a CQO (carência química de oxigénio) e os sólidos no efluente final e diminui a concentração de sólidos na lama espessada. Assim, o *bulking* tem consequências na sedimentação e no espessamento.

O IVL (índice volumétrico de lamas) é um parâmetro que permite determinar a sedimentação e espessamento de lamas biológicas. Se IVL for inferior a 120 mL/g SST (sólidos suspensos totais) ocorre uma boa sedimentação das lamas, se o valor deste mesmo parâmetro for superior a 150 mL/g SST dá-se uma deficiente sedimentação das lamas (Abreu, 2004). Não existe uma forma eficaz de controlar estes problemas muito graves no processo de lamas ativadas. A solução possível é identificar os microrganismos causadores do problema, de modo a tentar eliminá-los, o que é um processo complicado, pois muitos dos filamentosos são parecidos entre si.

Foaming é um processo de formação de espumas, muito comum no sistema de lamas ativadas, tanto no reator biológico como no decantador secundário. Estas espumas podem ser:

- Espumas características de arranque do sistema, e/ou da presença de detergentes, são brancas, pouco densas e dispersáveis.
- Espumas provenientes do processo de desnitrificação, o que origina a subida das lamas para a superfície do decantador, devido a produção de azoto gasoso.
- Espumas provocadas pelo crescimento excessivo de microrganismos filamentosos, que são estáveis, densas, espessas e de cor acastanhada. Dificultam a separação das lamas do efluente tratado, o que reduz a qualidade do efluente final.

1.7.2.5 Decantadores secundários

Decantadores secundários têm como objetivo a separação da fase sólida, que sedimenta no fundo do decantador, da fase líquida que sai na parte superior do mesmo. Existem dois

decantadores idênticos, circulares, de fluxo ascendente vertical, com raspagem mecânica de lamas no fundo e uma ponte raspadora de superfície. A água residual entra na parte central do decantador, saindo pelas aberturas e subindo lentamente, possibilitando assim a sedimentação das lamas.

As lamas acumulam-se no fundo do decantador e são dirigidas hidrosticamente para o tanque de recirculação de lamas e purga. Quando as lamas atingem um determinado nível, uma boia faz acionar as bombas de recirculação de lamas, que permite acelerar a floculação das partículas em suspensão e estabelece uma relação entre a quantidade de matéria orgânica consumida pelos microrganismos e a quantidade de SSV (sólidos suspensos voláteis), sendo o controlo desta recirculação realizado através de um medidor de caudal ultrassónico.

1.7.3 Tratamento terciário

Tratamento terciário consiste na remoção de azoto e fósforo da água residual, através de uma microtamisação e numa desinfeção final por radiação UV (ultravioleta).

A remoção de fósforo necessária ao cumprimento do VLE (valor limite de emissão) é conseguida através do metabolismo de bactérias poli-P acumuladoras de fosfato como fonte de energia. Quando esta ETAR foi projetada, esta remoção de fósforo iria ser realizada através de co precipitação com adição de sulfato de alumínio, mas a quantidade de fósforo de águas residuais tem vindo a baixar muito nos últimos anos, o que torna desnecessária essa adição.

A água clarificada que sai do decantador é dirigida por ação da força gravítica para um tanque pequeno, onde a água é encaminhada para o microtamisador de tambor rotativo. A microtamisação é uma operação de filtração que tem por fim reduzir o teor de sólidos suspensos, ajustando a sua concentração ao valor mais adequado à eficiência pretendida para a desinfeção por UV. O microtamisador é constituído por um tambor rotativo, que possui uma malha extremamente fina, de modo a reter os sólidos mais pequenos.

Neste tanque através de um jogo de comportas, é possível fazer um *by-pass* ao microtamisador diretamente para o rio.

Após tamisação o efluente é desinfectado por radiação UV. Este processo apresenta vantagens em relação a desinfeção por cloro, como não produzir compostos organoclorados e não existirem perigos no armazenamento dos reagentes. É um processo muito simples, sendo

apenas necessário proceder a limpeza das lâmpadas e à sua substituição, quando necessário. Apresenta uma grande desvantagem devido ao tempo de vida das lâmpadas ser muito reduzido e o seu custo bastante elevado. Este processo é configurado em forma de canal, onde as lâmpadas estão fixas e por onde o efluente passa.

Depois da desinfecção por UV, a água tratada segue para um reservatório de 45m³ (Câmara municipal de Ourém, 1996), onde parte fica armazenada para poder ser utilizada na própria ETAR, em lavagens de equipamentos, rega de espaços verdes e outras situações. Quando o reservatório está cheio, a água segue para o rio.

1.7.4 Tratamento da fase sólida

1.7.5 Espessamento

O espessador de lamas é um órgão muito parecido com um decantador, mas com uma parte cilíndrica mais alta. Como o próprio nome indica a função deste órgão é espessar através da redução de água das lamas que são produzidas no processo.

A purga de lamas é efetuada através de um sistema diferente do da linha de recirculação de lamas, que permite efetuar controladamente a purga para o espessador.

Do espessador as lamas são bombeadas, por duas bombas, de parafuso excêntrico, que trabalham alternadamente, para o sistema de desidratação de lamas sendo o sobrenadante enviado para a estação elevatória inicial para regressar ao processo de tratamento.

1.7.6 Desidratação

Provenientes do espessador gravítico, as lamas são conduzidas para um sistema de desidratação, o filtro de bandas. À entrada dessa operação é adicionado um polieletrólito de poliacrilamida catiónico as lamas, para fomentar a agregação de partículas e haver uma maior desidratação no filtro.

Neste órgão o teor de humidade decresce muito, reduzindo o volume e a massa das lamas, reduzindo assim os custos de transporte o que é uma grande vantagem.

Do filtro, as lamas são dirigidas através de um tapete transportador, para um reboque para ser transportado. As escorrências do filtro são conduzidas á estação elevatória inicial, para serem reconduzidas ao processo de tratamento. A lavagem do filtro é realizada com água tratada da ETAR. Estas lamas desidratadas possuem valorização agrícola.

1.7.7 Instalações de apoio

Além de todos os sistemas e órgão referidos anteriormente, existem instalações de apoio que fornecem suporte a um bom funcionamento da ETAR. Estas instalações são as seguintes:

- Sala de comando das instalações, onde se encontra o quadro elétrico geral e o painel sinóptico.
- Laboratório, onde se realiza os ensaios ao controlo analítico, com equipamentos como Jar-Test, mufla, estufa, espectrofotómetro, balança analítica, equipamentos de calibração de sondas, medidores de pH e outros.
- Sala de receção ao público e de trabalho.
- Instalações sanitárias incluindo balneários.
- Armazéns de reagentes, peças e arrumos.
- Sala de desidratação mecânica, onde se encontra o filtro de bandas e onde se prepara o doseamento de reagentes.
- Zona coberta, onde as lamas são descarregadas.

1.8 Testes de toxicidade

1.8.1 Introdução

Os poluentes introduzidos no meio ambiente são de duas fontes distintas, as descargas pontuais e as descargas não pontuais ou difusas. As descargas pontuais têm como fontes de origem descargas de esgotos, efluentes industriais, locais de tratamento de resíduos perigosos e derrames acidentais, são assim descargas fáceis de caracterizar em termos de materiais libertados, das suas taxas de libertação e das suas quantidades locais. Nas descargas difusas ocorre a libertação de poluentes a partir de materiais libertados no solo e dos sedimentos contaminados, da deposição atmosférica, da lixiviação dos solos agrícolas e de

zonas urbanas, são assim descargas mais difíceis de caracterizar e os seus componentes podem variar nas suas características ecotoxicológicas.

A quantidade de um químico, ou seja, a sua dose é proporcional ao seu efeito nocivo num organismo, podendo mesmo em quantidades muito reduzidas não ter nenhum efeito adverso na vida desse mesmo organismo. A relação entre dose e o efeito biológico é conhecida como relação dose-efeito. Em toxicologia ambiental, a concentração ambiental de um químico é utilizada como sendo a concentração que entra num organismo, mas esta dose correlaciona-se indiretamente com a concentração ambiental pois a razão superfície/volume, a forma, as características da cobertura externa e os sistemas respiratórios dos organismos podem afetar as taxas de absorção a partir do ambiente. De frisar que a concentração é a variável que determina a mortalidade mas a concentração e dose nem sempre são proporcionais ou comparáveis de espécie para espécie.

1.8.2 A curva dose-efeito

Um gráfico que descreve a resposta de uma enzima, organismo, população ou comunidade biológica a uma variante de concentração de um xeno biótico chama-se curva dose-efeito. A inibição de enzimas, dano no ADN, morte, alterações comportamentais e outro tipo de respostas podem ser descritas usando esta relação.

Para cada valor de concentração, a percentagem ou o número de organismos que respondem ou a dimensão dos efeitos é inserido num gráfico. Se apenas as mortes adicionais para cada concentração forem traçadas em relação ao efeito, a distribuição resultante é normal.

A distribuição em curva da mortalidade cumulativa em relação a concentração ou dose assemelha-se a uma curva sigmoide. Para descrever esta curva são usados dois parâmetros, a concentração ou dose que resulta em 50% do efeito medido e o declive da parte linear da curva que passa no ponto médio.

Ambos os parâmetros são necessários para descrever a relação entre a concentração do químico e o efeito produzido. Os pontos médios são pontos finais comumente referidos como LD_{50} , LC_{50} , EC_{50} ou IC_{50} .

LD_{50} - A dose que causa mortalidade de 50% dos organismos testados estimada graficamente ou por meios computacionais.

LC_{50} - A concentração que causa mortalidade de 50% dos organismos testados estimada graficamente ou por meios computacionais.

EC_{50} - A concentração que tem efeito em 50% dos organismos testados estimada graficamente ou por meios computacionais. Este parâmetro é normalmente usado em efeitos que não causam a morte.

IC_{50} - A concentração inibitória que reduz a resposta normal de um organismo em 50% estimada graficamente ou por meios computacionais. Taxas de crescimento de algas, bactérias e outros organismos são muitas vezes medidos em termos de IC_{50} .

A toxicidade de um produto químico é usualmente apresentada em termos de LC_{50} em unidades de massa (mg/kg) ou de volume (mg/L).

Um ponto fraco dos testes de LC_{50} , EC_{50} , IC_{50} é que refletem apenas a concentração ambiental do tóxico durante o tempo de ensaio, assim os compostos que se movimentam lentamente para os tecidos podem apresentar uma toxicidade mais baixa num teste de menor duração.

Nos testes usando compostos químicos a baixas concentrações, houve a necessidade de um aparecimento de novos testes específicos e de novas terminologias usadas para descrever estas concentrações de efeito mínimo ou não existente:

NOEC - Concentração com efeito não observável determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

NOEL - Nível com efeitos não observáveis determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

NOAEC - Concentração com efeitos adversos não observáveis determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

NOAEL - Nível com efeitos adversos não observáveis determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

LOEC - Concentração com efeitos mínimos observáveis determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

LOEL - Nível com efeitos mínimos observáveis determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

MTC - Concentração mínima de fundo determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

MATC - Concentração mínima admissível de tóxico determinado por métodos gráficos ou estatísticos.

Usualmente estes testes referem-se a concentração ou dose que não produz efeitos estatisticamente significativos. Determinar por métodos gráficos ou estatísticos um nível sem efeito depende de alguns critérios, como o tamanho da amostra e replicação, número de pontos finais observados, número de dosagens ou concentrações, capacidade de medição dos pontos finais, variabilidade intrínseca dos pontos finais da população experimental e o método estatístico.

Deve-se ter por vezes cuidado com a interpretação destes pontos finais, pois o organismo através de mecanismos compensatórios ou pela toxicidade inerente ao xeno biótico, pode tamponar os efeitos tóxicos a certos níveis de concentração desse xeno biótico, o que pode originar que os efeitos biológicos ocorram a um nível mais baixo à medida que o xeno biótico vai desaparecendo do ambiente. Na figura 9, está ilustrado os dois tipos de toxicidade dos compostos a baixas concentrações.

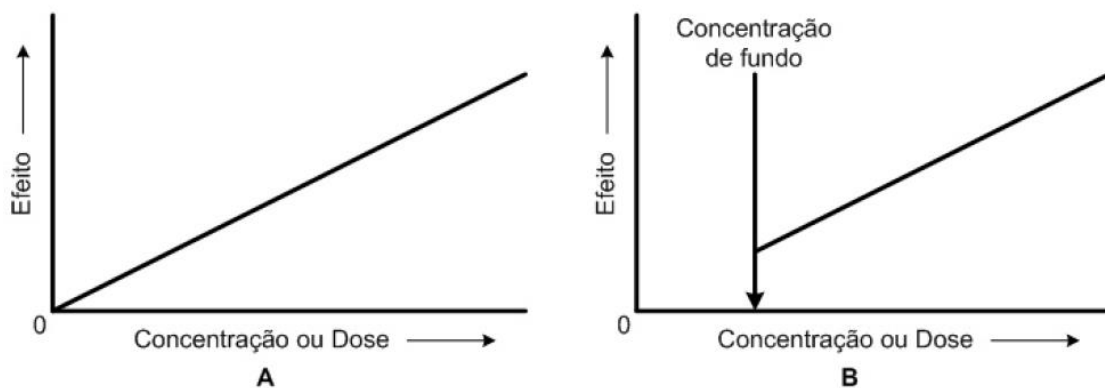


Figura 9- Concentração de fundo de um xeno biótico.

No gráfico A, o composto químico apresenta toxicidade desde que este entra no organismo. O gráfico B apresenta a ideia que existe uma dose abaixo da qual, embora o composto esteja presente, não existe efeitos tóxicos no organismo. São estas as duas ideias distintas de toxicidade de produtos químicos a baixas concentrações.

1.8.3 Classificação dos testes de toxicidade

Devido a grande variedade de espécies e de ecossistemas estudados neste tipo de testes, estes mesmos testes apresentam igualmente grande variedade. Os testes são assim classificados através da comparação da duração dos ensaios com o tempo de vida dos organismos, bem como da complexidade da comunidade biológica. A figura 10 ilustra esta mesma variedade de testes e suas diferenças relevantes.

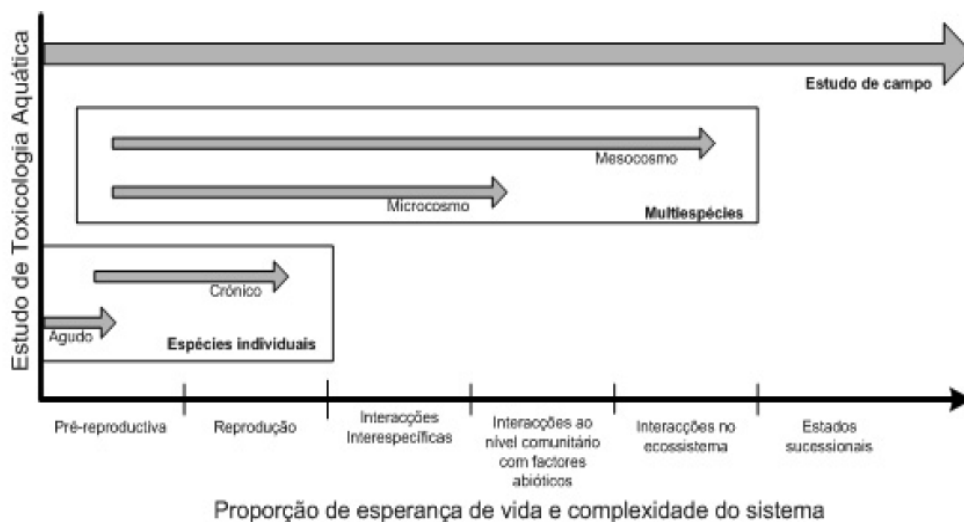


Figura 10- Classificação dos testes de toxicidade.

Os testes de toxicidade aguda incidem sobre um período de tempo relativamente curto do tempo de vida do organismo. Os testes de toxicidade crónica muito raramente são multigeracionais.

1.8.4 Parâmetros de desenho de testes toxicológicos para espécies individuais

Nos sistemas aquáticos os testes são classificados com estáticos, estáticos com renovação, com recirculação ou com admissão de fluxo.

- Teste estático - a solução não é substituída durante o teste, torna-o assim simples e barato, sem necessidade de equipamentos especiais. A quantidade de oxigénio e a concentração de

tóxicos diminui ao longo do tempo de ensaio devido ao consumo do metabolismo dos organismos, desta maneira aumentam os produtos residuais. Este método é essencialmente usado para testes curtos em pequenos organismos. Foi este o método usado nos testes ecotoxicológicos deste trabalho.

- Testes estáticos com renovação - neste método, a solução do tóxico é substituída por uma nova após um específico período de tempo, possui assim a vantagem de devolver os teores de tóxico e oxigénio iniciais e ainda remover os produtos residuais do metabolismo. Devido ao manuseamento dos recipientes de ensaio e dos organismos existe probabilidade de acidentes e *stress* para os organismos.

- Testes com recirculação- Este método visa manter a qualidade da água da solução de teste sem se alterar a concentração do tóxico. Deverá ser usado um filtro para remoção dos produtos residuais e arejamento para manter o teor de oxigénio dissolvido a um valor predeterminado. A vantagem deste sistema é a manutenção da qualidade da água da solução de teste e as desvantagens são o aumento da complexidade, a incerteza relativa ao funcionamento correto dos métodos de tratamento da água que poderão alterar a concentração do tóxico.

- Testes com admissão de fluxo- Neste método ocorre a exposição precisa aos químicos, bem como o bom controlo da qualidade da água. Estes testes necessitam de equipamentos especiais, como bombas peristálticas, mediadores de fluxo e câmaras de mistura. Os métodos de fluxo contínuo são raramente utilizados. O método típico é descontínuo com adições intermitentes de fluxo. Utilizam-se diluidores diferenciais para misturar a solução com o diluente num contentor e obter as concentrações desejadas (Rosa, M. (2012)).

1.8.5 Organismos de teste

O especto de maior relevo dos testes de toxicidade é a conveniência e a saúde dos organismos de teste. Os critérios usados para escolher as espécies a usar num teste toxicológico estão descritos de seguida:

- O organismo deve ser criado em laboratório ou recolhido a partir do campo.
- O organismo deve permitir ser mantido com êxito no laboratório e disponível em quantidades suficientes.
- A genética dos organismos deverá ser conhecida, bem como a história da cultura.
- A sensibilidade relativa a certos tóxicos deverá ser conhecida em relação aos pontos finais que pretendem ser usados.
- A sensibilidade da espécie de teste deverá ser representativa da uma classe ou filo particular.

1.9 Método estatístico para avaliação do teste de toxicidade a espécies individuais

O método Litchfield-Wilcoxon, foi o método usado para avaliar os testes letais de toxicidade neste trabalho experimental. Este método usa-se quando existem apenas uma ou nenhuma variável contínua. É um método que fornece intervalos de confiança, parcialmente gráfico.

1.9.1 Aplicações do método gráfico

O método gráfico pode ser usado para estimar LC_{50} , EC_{50} e IC_{50} utilizando papel milimétrico e os dados obtidos experimentalmente nos ensaios de toxicidade aguda.

No eixo das abcissas (xx) marca-se os valores das concentrações e no eixo das ordenadas (yy) os valores da percentagem de mortalidade ou do efeito/resposta observado.

Os valores da percentagem de mortalidade são marcados em escala linear e os valores da concentração do químico ou do efluente tóxico em escala logarítmica, ou em escala normal (aritmética) depois de logaritmizados decimalmente.

Nos pontos mais próximos de 50% do efeito/resposta, que neste caso é a morte dos caracóis, traça-se uma linha que corresponde a um ponto de corte localizado no eixo das abcissas, que coincide ao LC_{50} , EC_{50} ou IC_{50} e resulta do estímulo provocado pelo agente tóxico. Se as concentrações forem anteriormente logaritimizadas, terá de se inverter o valor através da função exponencial para se obter o valor da concentração.

1.9.2 Aplicação do método Litchfield-Wilcoxon

Neste método, é construído um gráfico a partir dos dados obtidos nos ensaios laboratoriais de toxicidade aguda. Este gráfico possui no eixo das abcissas o logaritmo das concentrações utilizadas e no eixo das ordenadas a percentagem do efeito observado (morte dos caracóis). Para construir o gráfico é necessário possuir, em formato de tabela de colunas, os valores das seguintes variáveis: concentrações testadas, número de organismos testados em cada concentração, número de organismos afetados pelo efeito em cada concentração e percentagem de efeito observado.

Não devem ser listados mais do que dois efeitos de 100% consecutivos no topo da coluna ou mais do que dois efeitos de 0% na base da coluna. O gráfico não deve incluir os pontos correspondentes aos valores de 0 e 100% de efeito observado. Depois dos pontos marcados, deve ser traçada uma reta que otimize a distribuição. Pode-se optar por uma regressão linear da distribuição ao invés da reta de otimização. A partir desta reta de regressão linear obtêm-se os valores de percentagem de efeito esperado, por cálculo ou graficamente. Os valores de efeito esperado para concentrações superiores a 99,9% ou inferiores a 0,01% não devem ser considerados.

A confirmação do ajuste da reta é realizado através do teste χ^2 . O passo seguinte corresponde à transformação dos valores obtidos para uma escala em que se aproximam a 10% os valores de efeito obtidos entre 0 e 49,9% e se aproximam a 90% os valores de efeito obtidos entre 50,1 e 100%. Esta transformação faz com que ocorra um grande salto de efeito entre o último valor inferior a 50% do efeito e o primeiro valor superior a 50% do efeito, resultante numa semirreta de grande declive entre estes dois pontos que obrigatoriamente incluem o valor que se procura de 50% do efeito.

Com todos os dados necessários é possível determinar o valor de LC_{50} e dos respectivos intervalos de confiança ao nível de 95%. As sucessivas transformações gráficas não têm como objetivo a linearização mas antes a obtenção duma semirreta cruzada pela linha dos 50% de efeito, longa e com grande declive. Através desta semirreta é possível obter graficamente ou a partir da equação da reta o valor de LC_{50} (Rosa, M. (2012)).

1.10 Determinação de pontos finais LOEC e NOEC

No cálculo da concentração máxima com efeito não observável (NOEC) e da concentração mínima com efeito observável (LOEC), são necessárias no mínimo três réplicas em cada concentração ou tratamento. O efeito observável estudado neste ensaio é a mobilidade dos caracóis.

Para determinar a concentração mínima que causa efeito e a máxima que não causa efeito, é necessário testar a hipótese de as médias de efeito obtidas para cada grupo de concentração serem iguais entre si. No caso de não serem, são comparadas no teste seguinte com os valores de efeito obtidos para o ensaio de controlo e decidir quais os efeitos que são diferentes o efeito obtido no ensaio de controlo. A concentração mais alta sem diferenças significativas relativamente ao controlo será NOEC e a concentração mais baixa com diferenças significativas relativamente ao controlo será LOEC. Para comparar as médias utiliza-se uma análise de variância (ANOVA) que têm de ser antecedida por uma prova à normalidade dos erros e por uma prova à homogeneidade das variâncias que embora não vinculativas poderão dar uma ideia sobre a fuga à normalidade dos erros e da homogeneidade de variâncias que, no caso de serem mínimas, evitam as dificuldades de uma abordagem não paramétrica.

Assim, para obter os valores finais são necessários os seguintes passos:

Prova à normalidade de erros – Shapiro-Wilk, teste Levene para a avaliação da homogeneidade de variâncias, análise de variância – ANOVA e prova de comparação múltipla de Dunnett.

1.10.1 Prova à normalidade de erros – Shapiro-Wilk

É necessário ordenar de forma crescente todas as réplicas efetuadas incluindo as do ensaio de controlo para realizar a prova à normalidade Shapiro-Wilk.

Calcula-se a media dos valores medidos (X_m) e a soma dos quadrados do erro (D). Determina-se um coeficiente (b) a partir da ordenação crescente dos dados e dos respetivos valores, sendo N o número total de réplicas, antes de se efetuar o teste estatístico propriamente dito (W). Se N for impar, ignora-se o valor central de todas as réplicas.

Os valores do coeficiente para esta prova estão tabelados e dependem dos pares de valores de i e de $N+i-1$.

Calcula-se um valor estatístico W (de Shapiro-Wilk), de seguida se compara com um valor W crítico tabelado que, de acordo com a hipótese nula, para que a distribuição dos erros seja normal, terá será menor do que o valor de W calculado. Neste trabalho, os cálculos foram feitos utilizando o programa informático de estatística IBM® SPSS® Statistics em que, para a hipótese nula (H_0), existe normalidade de erros se estatisticamente o valor da significância obtido pelo SPSS for maior do que 0,05 (Sig.>0,05).

1.10.2 Prova à homogeneidade das variâncias de Levene

Este teste compara um valor calculado (W) para um nível de confiança de 95%, com um valor crítico tabelado (F). Existe homogeneidade de variâncias se se verificar a hipótese nula (H_0) em que o valor calculado (W) é inferior ao valor crítico tabelado (F).

No caso deste trabalho em que a resolução do problema é feita automaticamente pelo programa SPSS®, depois de serem introduzidos os valores e ordenado o cálculo, aceita-se a hipótese nula de existência de homogeneidade de variância, se o valor de significância obtido for superior a 0,05.

1.10.3 Análise de variância (ANOVA)

Neste teste verifica-se se uma determinada variável, neste caso a mobilidade dos caracóis, possui uma média igual em vários grupos. Para que a hipótese nula (H_0) de as médias serem todas iguais tenha significância, o valor do coeficiente F calculado (F_{calc}) deve ser menor que valor do coeficiente F tabelado (F_{tab}) para 95% de confiança.

Neste caso, no cálculo efetuado pelo SPSS®, na hipótese nula (H_0) admite-se que as médias do efeito provocado pelos diferentes grupos de concentrações são iguais se o valor de significância calculado for inferior a 0,05.

1.10.4 Prova de comparação múltipla de Dunnet

Prova de comparação múltipla de Dunnet têm como objetivo comparar um grupo de controlo com vários outros grupos.

Este teste de comparação (q) é realizado através do cálculo da diferença entre o valor médio do controlo e de cada um dos grupos ($X_A - X_B$) e do cálculo do desvio padrão (DP) de toda a amostra. O desvio padrão é calculado através do valor dos quadrados médios (MS) dentro dos grupos determinados pela ANOVA. Para que não existam diferenças significativas o valor do teste q calculado terá que ser inferior ao valor tabelado.

A concentração mais alta que estatisticamente não ainda não apresenta diferença significativa na média dos valores de efeito estudado relativamente ao grupo de controlo, será a concentração correspondente ao NOEC. A concentração mais baixa cuja média do efeito estudado já apresenta diferença estatística em relação ao grupo de controlo é o LOEC.

No caso estudado, a prova de Dunnett efetuada através do SPSS® considera a Hipótese nula (H_0) em que um grupo de concentração é estatisticamente diferente do grupo de controlo se o valor de significância for maior do que 0,05 (Sig.>0,05) (Rosa, M. (2012)).

2 Materiais e métodos

2.1 Recolha de água e dos gastrópodes bioindicadores no rio Nabão

A água para as análises laboratoriais de CBO₅, pH, sólidos suspensos totais e nitratos foram recolhidas no rio Nabão em quatro pontos distintos no dia 21 de Maio de 2015. Os gastrópodes bioindicadores foram todos recolhidos no ponto de recolha número 4 no dia 28 de Maio de 2015. A figura 11 é uma fotografia tirada no local de recolha nº4 dos gastrópodes bioindicadores usados nos ensaios ecotoxicológicos.



Figura 11- Fotografia dos gastrópodes bioindicadores usados nos ensaios ecotoxicológicos.

2.1.1 Localização da recolha de água do rio Nabão e dos gastrópodes bioindicadores.

A figura 12 representa a localização dos quatro pontos de recolha de amostras de água do rio Nabão.

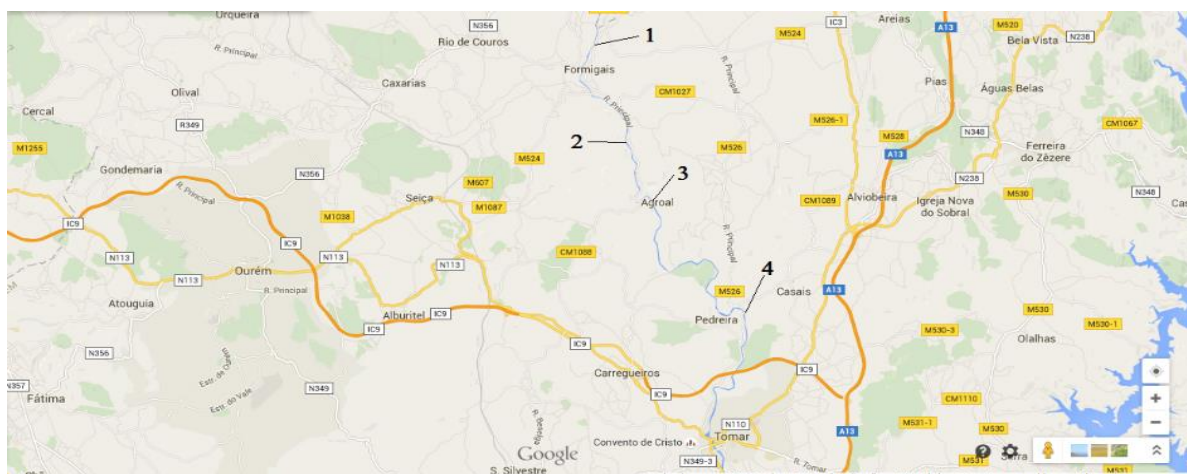


Figura 12- Localização dos pontos de recolha de água do rio Nabão (Google Maps).

Na figura 13 está assinalado em carta militar a localização do ponto de recolha de amostra de água nº1, Botelha na freguesia de Formigais.

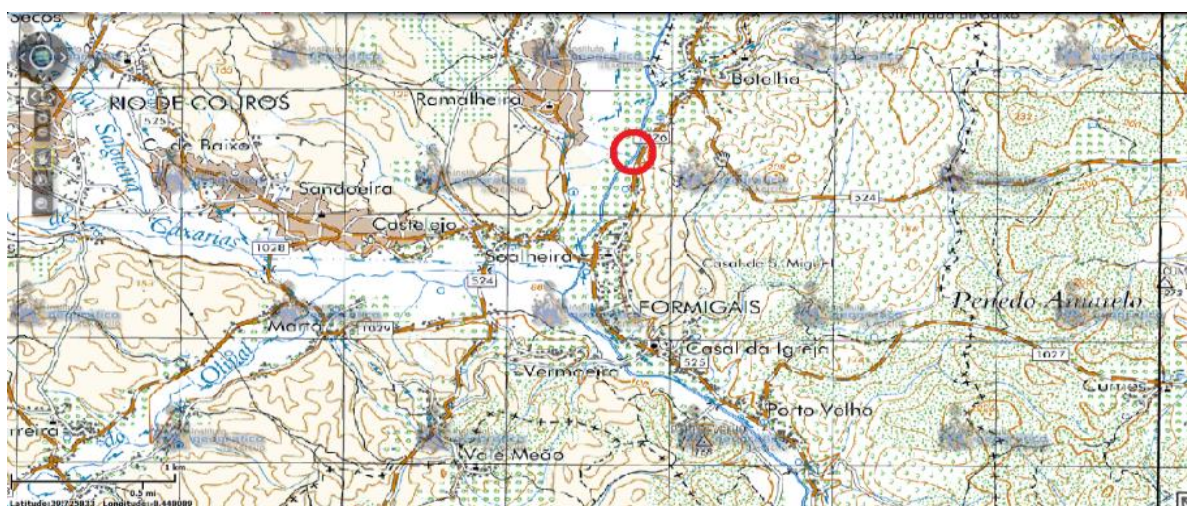


Figura 13- Localização do ponto de recolha de amostra de água nº1 em carta militar.

Na figura 14 está assinalado em carta militar a localização do ponto de recolha de amostra de água nº2, a jusante da ETAR do Alto Nabão.

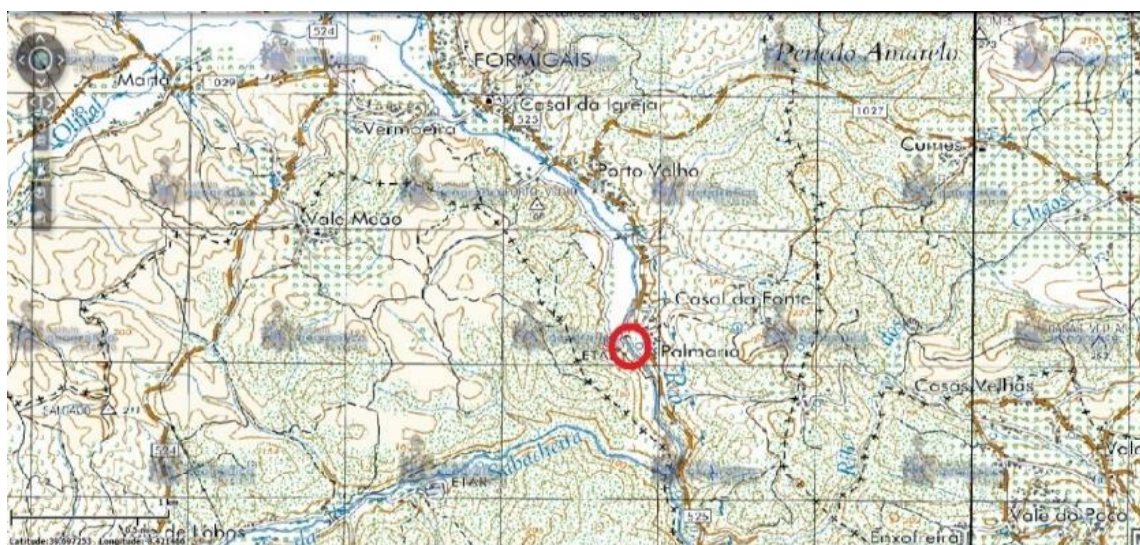


Figura 14- Localização do ponto de recolha de amostra de água nº2 em carta militar.

Na figura 15 está assinalado em carta militar a localização do ponto de recolha de amostra de água nº3, a jusante do Agroal.



Figura 15- Localização do ponto de recolha de amostra de água nº3 em carta militar.

Na figura 16 está assinalado em carta militar a localização do ponto de recolha de amostra de água nº4, na ponte do Prado.

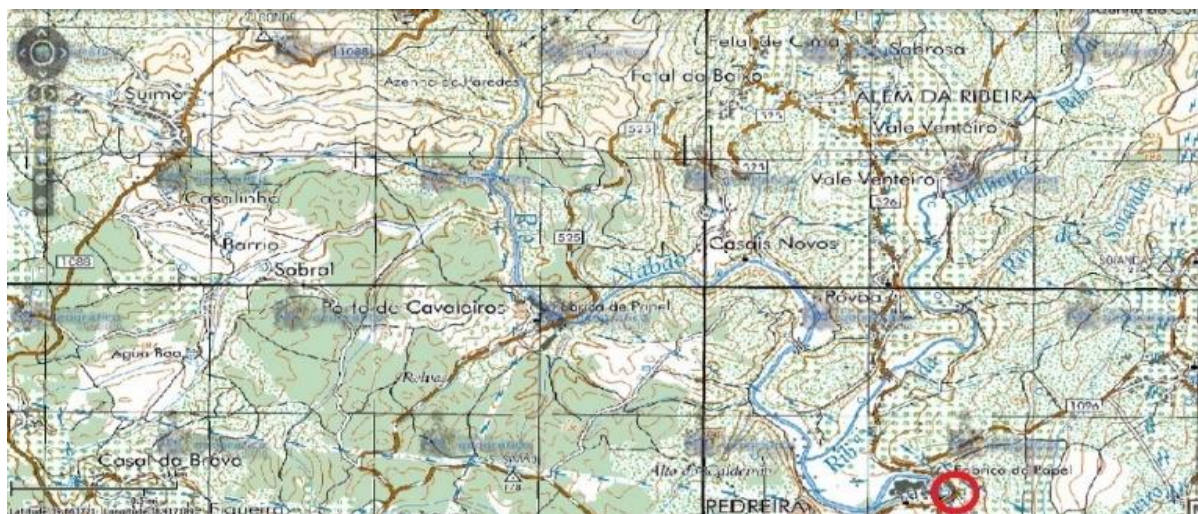


Figura 16- Localização do ponto de recolha de amostra de água nº4 em carta militar.

A figura 17 é uma fotografia do local de recolha de amostra de água nº1, na localidade de Botelha.



Figura 17-Fotografia do local de recolha de amostra de água do ponto nº1, a localidade de Botelha.

A figura 18 é uma fotografia do local de recolha de amostra de água nº2, junto a ETAR do Alto Nabão.



Figura 18- Fotografia do local de recolha de amostra de água nº2, junto a ETAR do Alto Nabão.

A figura 19 é uma fotografia do local de recolha de amostra de água nº3, no Agroal.



Figura 19- Fotografia do local de recolha de amostra de água nº3, no Agroal.

A figura 20 é uma fotografia do local de recolha de amostra de água nº4, na ponte do Prado.



Figura 20- Fotografia do local de recolha de amostra de água nº4, na ponte do Prado.

2.1.2 Metodologia

A água para análises laboratoriais foi recolhida em garrações de plástico de 5 litros de capacidade em cada um dos quatro pontos de recolha, posteriormente encaminhada para o laboratório para o início das análises.

Os gastrópodes bioindicadores foram todos recolhidos no ponto de recolha nº 4, pois era este o ponto onde existiam estes gastrópodes bioindicadores em abundância. Foram recolhidos nas pedras e rochas por debaixo da ponte do Prado, onde se encontravam lapados, posteriormente colocados em caixas de plástico contendo uma pequena quantidade de água do rio desse mesmo ponto e transportados para o laboratório para dar início aos testes ecotoxicológicos.

2.1.3 Material utilizado

- Garrações de 5 litros de plástico
- Caixas de plástico

2.2 Medições *in-situ*

Foram realizadas medições *in-situ* nos quatro pontos do rio Nabão, medições essas dos parâmetros pH, temperatura e oxigénio dissolvido. Estas medições foram realizadas no dia 21 de Maio de 2015.

2.2.1 Material utilizado

- Portable dissolved oxygen meter, Hanna instruments HI 9143.
- Portable pH meter, Hanna instruments HI 9025.

2.3 Carência bioquímica de oxigénio (CBO) - método das diluições

2.3.1 Tipo de amostra

Águas de superfície e residuais. Neste caso amostras de água recolhidas no rio Nabão em 4 pontos distintos.

2.3.2 Princípio

O método consiste em diluir a amostra a analisar com quantidades variáveis de água de diluição rica em oxigénio dissolvido, em presença ou não de um supressor da nitrificação, neste caso não foi usado supressor de nitrificação.

A amostra diluída é levada a incubar, na obscuridade, a uma temperatura de 20 ± 1 ° C, durante 5 dias (CBO₅) em frasco completamente cheio e fechado.

Determina-se a concentração de oxigénio dissolvido antes e após o período de incubação.

A carência bioquímica de oxigénio (CBO) é imputada ao consumo de oxigénio dissolvido por litro de amostra em análise.

2.3.3 Interferências

A presença na amostra de um número significativo de substâncias influencia a determinação da carência bioquímica de oxigénio, quer pela inibição da atividade dos microrganismos, quer por um acréscimo no consumo de oxigénio.

A presença de substâncias tóxicas para as bactérias aeróbicas e nitrificantes inibe a atividade microbiana, como é o caso das substâncias bactericidas, dos metais tóxicos, dos cianetos, dos fenóis e dos pesticidas, entre outros, diminuindo parcialmente o consumo de oxigénio.

Os valores extremos de pH (ácidos ou alcalinos) inibe a oxidação bioquímica, devendo o ensaio decorrer por forma a que a amostra a analisar tenha o pH compreendido entre 6,0 e 8,0.

A presença de algas e bactérias nitrificantes conduz a resultado elevados. Algumas algas morrem devido ao ensaio do CBO decorrer no escuro e são posteriormente metabolizados pelas bactérias presentes causando carência de oxigénio.

Bactérias nitrificantes oxidam o amoníaco e os compostos de azoto orgânico, em nitrito e nitrato, causando carência de oxigénio devido à nitrificação.

A existência de sulfuretos, iões ferro (II), sulfitos ou aldeídos, provoca uma carência imediata de oxigénio, que se torna necessário diferenciar da verdadeira carência bioquímica de oxigénio.

2.3.4 Amostragem e conservação

A amostra é recolhida num frasco de vidro cheio e fechado hermeticamente, de forma a minimizar o acesso de oxigénio da atmosfera.

Conservar a amostra no frigorífico. Começar a determinação o mais rapidamente possível, de preferência nas 24 horas após a colheita.

2.3.5 Equipamentos

- Estufa de incubação com termostato controlado para $20 \pm 1^\circ \text{C}$ (excluída de toda a luz para prevenir a possibilidade de ocorrência de processos fotossintéticos).
- Compressor de ar munido de filtro.
- Balança analítica.

2.3.6 Material utilizado

- Frascos de incubação, de gargalo estreito, munidos de rolha de vidro esmerilado, de 250 mL de capacidade.
- Balões volumétricos de 1000 mL.
- Pipetas volumétricas de diferentes capacidades.

2.3.7 Reagentes

- **Água destilada**, para a preparação dos reagentes e da água de diluição.
- **Soluções salinas:**

Estas soluções produzem um balanço osmótico, tamponam o pH, fornecem os nutrientes essenciais e vestígios de metais à água destilada.

Solução tampão fosfato - Dissolver 8,5g de di-hidrogenio-fosfato de potássio, KH_2PO_4 , 21,75 g de hidrogeno-fosfato de potássio, K_2HPO_4 , 33,4 g de hidrogenofosfato de sódio hepta-hidratado, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 1,7 g de cloreto de amónio, NH_4Cl , em 500 mL de água destilada e diluir a 1000 mL. O pH desta solução tampão deve ser de 7,2 sem ajuste posterior. Conservar no frio.

Solução de sulfato de magnésio - Dissolver 22,5 g de sulfato de magnésio hepta-hidratado, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, em água destilada e diluir a 1000 mL.

Solução de cloreto de cálcio - Dissolver 27,5 g de cloreto de cálcio anidro, CaCl_2 , em água destilada e diluir a 1000 mL.

Solução de cloreto de ferro (III) - Dissolver 0,25 g de cloreto de ferro (III) hexa-hidratado, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, em água destilada e diluir a 1000 mL.

2.3.8 Preparação da água de diluição

Por cada litro de água destilada ou desmineralizada adicionar 1 mL de cada solução salina (tampão fosfato, sulfato de magnésio, cloreto de cálcio e cloreto de ferro (III), nesta mesma ordem).

Levar a água de diluição preparada a uma temperatura de incubação ($20 \pm 1^\circ\text{C}$). Saturar com oxigênio pelo borbulhar suave de ar limpo livre de vapores orgânicos, através de um difusor de vidro completamente imerso durante 30 minutos. O valor do oxigênio dissolvido tem que ser pelo menos de 8 mg/L após estabilização.

Se necessário adicionar inóculo à água de diluição.

A água de diluição é satisfatória, quando incubada sem inóculo e dentro das condições padrão não adsorve mais do que 0,3 mg/L.

Valores elevados para a redução do oxigênio estão associados à presença de vapores orgânicos solúveis na água, existentes na água de laboratório que são adsorvidos durante o arejamento da água de diluição.

Verificar o pH da água de diluição. Se este não estiver compreendido entre 6,5-7,5, adicionar mais solução tampão fosfato, até atingir este intervalo.

2.3.9 Método das diluições

A amostra deve ser levada a uma temperatura de cerca de 20°C e equilibrada com ar por agitação vigorosa num frasco parcialmente cheio. Selecionar o volume de amostra requerido para a diluição, em função do valor de CBO_5 esperado, tomando em atenção que 30 a 70 %

da concentração de oxigénio dissolvido inicial, deve ser consumido durante os 5 dias de incubação. No caso de ser difícil estimar o CBO₅ é aconselhável preparar várias diluições escalonadas e evolutivas.

As diluições para o ensaio de CBO₅ são preparadas por sifonagem, num balão volumétrico de 1000 mL de capacidade, enchendo até meio com água de diluição. Juntar o volume de amostra homogeneizada ou não, para efetuar a diluição desejada e diluir até ao nível apropriado com água de diluição. Misturar bem, por inversão repetida do balão volumétrico, tentando evitar a retenção de bolhas de ar. Quando houver diluições envolvendo medidas de menos do que 5 mL de amostra deve ser feita primeiro a diluição da amostra em balão volumétrico e só então usar o volume correspondente desta mistura para a diluição propriamente dita.

Com a diluição assim preparada enchem-se os frascos de incubação por sifonagem ou vazamento. Os frascos devem ser cheios completamente, esperar alguns minutos para deixar sair as bolhas de ar aderentes às paredes dos frascos, só então são tapados, tomando precaução de evitar a retenção de bolhas de ar.

Efetuar o ensaio da água de diluição utilizada no teste, ao mesmo tempo que as diluições da amostra e seguindo o método descrito para permitir determinar o valor do branco.

Determinar a concentração inicial de O.D. (oxigénio dissolvido) nos frascos de mistura de amostra e água de diluição e no frasco contendo somente água de diluição depois de decorrido 10 ± 5 minutos, o que permite eliminar a carência imediata de oxigénio.

Incubar o branco (água de diluição) e as amostras diluídas durante 5 dias na estufa, a $20 \pm 1^\circ \text{C}$.

Decorrido o tempo de incubação determina-se a concentração de oxigénio dissolvido na amostra diluída e no branco usando o método iodométrico.

As diluições que mostram um O.D. residual de pelo menos 30% do O.D. inicial e uma depleção de pelo menos 2 mg/l devem ser consideradas as mais aceitáveis.

2.3.10 Amostras alcalinas ou ácidas

A amostra original não deve ser neutralizada, porque as propriedades da amostra podem ser alteradas.

A zona de pH aceitável é de 6,0-8,0. Em muitos casos as diluições da amostra ajustam suficientemente o pH, pelo que é preferível diluir a amostra.

2.3.11 Resultado

Determinar de entre as diluições da amostra submetidas ao ensaio, aquela que satisfaz a seguinte condição:

$$30\% \leq (OD_i - OD_5) 100 / OD_i \leq 70\%$$

Em que:

OD_i – oxigénio dissolvido da amostra diluída 15 minutos depois da preparação.

OD_5 – oxigénio dissolvido da amostra depois da incubação.

A carência bioquímica de oxigénio é determinada pela expressão seguinte para o método das diluições sem inóculo:

$$CBO_5 = (OD_i - OD_5) 1000 \text{ mL} / V$$

Em que V – volume de amostra utilizado no ensaio.

O resultado é expresso em miligramas de oxigénio ($\text{mg O}_2/\text{l}$), indicando-se em índice o número referente aos dias de incubação.

$$CBO_5 = \text{mg O}_2/\text{L}$$

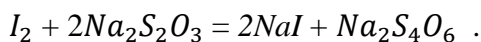
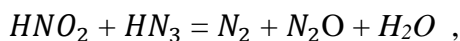
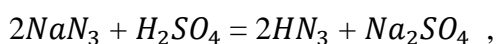
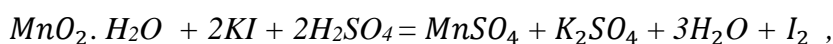
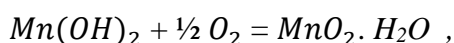
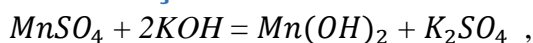
2.4 Determinação do teor em oxigénio dissolvido

2.4.1 Resumo do processo

O oxigénio dissolvido reage com o hidróxido de manganês (II), quantitativamente, quando em meio alcalino. O dióxido de manganês hidratado que se forma liberta o iodo na forma de iodeto em meio ácido.

Titula-se o iodo libertado com tiosulfato de sódio, em presença do amido.

2.4.2 Reações



2.4.3 Reagentes

Solução de ácido sulfúrico a 10% - A 90 cm³ de água destilada adicionam-se, com as precauções habituais, 10 cm³ de ácido sulfúrico concentrado.

Solução de amido - Pesam-se 2 a 3 gramas de amido solúvel e faz-se uma emulsão com pequena quantidade de água destilada.

Dilui-se a 500 cm³, ferve-se durante alguns minutos e deixa-se repousar 12 horas. Decanta-se e conserva-se a solução pela adição de algumas gotas de clorofórmio.

Deve renovar-se frequentemente esta solução.

Solução de azida de sódio - Dissolve-se 1 grama de azida de sódio em 4 cm³ de água destilada.

Solução de iodeto alcalino - dissolvem-se 50 gramas de hidróxido de sódio ou 70 gramas de hidróxido de potássio e 13,5 gramas de iodeto de sódio ou 15 gramas de iodeto de potássio em água destilada e dilui-se a 100 cm³.

Solução de iodeto alcalino com azida de sódio - Juntam-se, com agitação constante, 4 cm³ da solução de azida de sódio a 95 cm³ da solução de iodeto alcalino.

Solução de sulfato de manganês (II) – Dissolvem-se 48 gramas de $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ ou 36,4 gramas de $MnSO_4 \cdot H_2O$ em 80 cm³ de água destilada e dilui-se a 100 cm³.

Esta solução não deve libertar iodo numa solução ácida de iodeto alcalino.

Solução de tiosulfato de sódio – Dissolvem-se 124,1 gramas de $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ em água destilada fervida e fria e perfaz-se o volume de 500 cm³. Preserva-se pela adição de 2,5 cm³ de clorofórmio ou 0,5 gramas de hidróxido de sódio.

Solução de tiosulfato de sódio 0,025 N – Prepara-se por diluição de 25 cm³ da solução de tiosulfato de sódio a 1000 cm³. Verifica-se o título com solução padrão de dicromato de potássio 0,025 N.

Para a determinação do título da solução de tiosulfato de sódio 0,025 N, procede-se do seguinte modo:

Dissolvem-se aproximadamente 2 gramas de iodeto de potássio isento de iodato em 100 a 150 cm³ de água destilada num frasco de Erlenmeyer de 500 cm³. Adicionam-se 10 cm³ da solução de ácido sulfúrico a 10% e, com uma pipeta aferida, juntam-se 20 cm³ da solução padrão de dicromato de potássio.

Agita-se e coloca-se durante 5 minutos ao abrigo da luz.

Dilui-se a aproximadamente 400 cm³ e titula-se com a solução de tiosulfato 0,025 N juntando no final da titulação, quando se tiver uma coloração amarela pálida, 2 a 4 cm³ de solução de amido ou cerca de 0,1 gramas de amido solúvel em pó, continuando a adição de tiosulfato até ao momento exato do desaparecimento da cor azul.

Solução padrão de dicromato de potássio 0,025 N – Pesam-se 1,266 gramas de dicromato de potássio, previamente seco a 103 °C durante duas horas. Em seguida, dissolvem-se com água destilada, em balão aferido, perfazendo-se o volume de 1000 cm³.

Todas estas soluções necessárias a determinação do teor de oxigénio dissolvido estavam previamente preparadas.

2.4.4 Material utilizado

- Balões volumétricos de 100 cm³, 500 cm³ e 1000 cm³.
- Esferas de vidro com cerca de 3 mm de diâmetro.
- Frascos de vidro de 300 cm³ aproximadamente, com boca estreita e rolha de vidro esmerilada cortada em bisel.
- Frascos de Erlenmeyer de 500 cm³.
- Galhetas graduadas em décimos de centímetro cúbico.
- Pipetas volumétricas de 10, 20 e 25 ml.
- Pipetas graduadas de 10 cm³.
- Provetas de 250 cm³.
- Tubo de borracha com 80 cm de comprimento.

2.4.5 Modo de procedimento

A fixação do oxigénio dissolvido elimina o erro correspondente às alterações do seu teor motivadas pela variação das condições de temperatura da água ocorridas durante o transporte.

Uma vez cheio o frasco, juntam-se-lhe algumas esferas de vidro. Depois do desprendimento das bolhas de ar aderentes às paredes do frasco, coloca-se a rolha evitando o aprisionamento

de bolhas de ar. Retira-se de novo a rolha e introduzem-se, sucessivamente, 1 cm³ da solução de sulfato de manganês (II) e 1 cm³ da solução de iodeto alcalino com azida de sódio, tendo o cuidado de mergulhar a ponta da respetiva pipeta.

Coloca-se a rolha, evitando a retenção de bolhas de ar, e agita-se o frasco. Deixa-se repousar e, quando o precipitado tiver sedimentado, agita-se novamente.

Pode agora transferir-se para o laboratório ou termina-se a operação no local.

Com o precipitado sedimentado, retira-se a rolha e introduzem-se, abaixo da superfície livre do líquido, 1 cm³ de ácido sulfúrico concentrado. Coloca-se a rolha e agita-se para acabar de dissolver o precipitado e homogeneizar a solução.

O iodo deve ficar uniformemente distribuído por todo o frasco antes de se retirar a quantidade necessária à titulação. Esta quantidade deve corresponder a 200 cm³ da amostra de água. Para atender à correção de volume, devida à adição das soluções de sulfato de manganês (II), de iodeto alcalino com azida e de ácido sulfúrico devem, portanto, medir-se 203 cm³ para um frasco de Erlenmeyer de 500 cm³.

Titula-se com a solução de tiosulfato 0,025 N até se obter uma coloração amarela pálida. Juntam-se 2 a 4 cm³ de solução de amido e continua-se a titulação até ao momento exato do desaparecimento da cor azul.

Não se deve ter em consideração um possível retorno da cor, que pode ser devida à ação catalítica dos nitritos.

2.4.6 Resultado

Cálculo

Sendo V – o volume, expresso em centímetros cúbicos, de tiosulfato de sódio gasto na titulação de 200 cm³ de amostra.

Teor em oxigénio dissolvido expresso em miligramas por decímetro cúbico, é numericamente igual a V .

O resultado apresenta-se arredondado as décimas.

2.5 Sólidos suspensos totais secos a 103-105 °C

2.5.1 Princípio

Uma mistura homogeneizada é filtrada através de um filtro *standard* de papel de filtro e o resíduo retido no filtro é seco até massa constante a 103-105 °C. O aumento de massa do filtro representa os sólidos suspensos totais.

2.5.2 Modo de procedimento

a) Preparação do papel de filtro

1. Colocar o filtro no funil com a face rugosa para cima.
2. Aplicar o vácuo e lavar o filtro com 3 porções de 20 mL de água destilada.
3. Continuar sucção até total remoção da água.
4. Desprezar as águas de lavagem.

b) Análise da amostra

1. Colocar o papel de filtro no funil de filtração e aplicar vácuo.
2. Molhar o filtro com um pequeno volume de água destilada para assentar o filtro.
3. Pipetar 100 mL de amostra homogeneizada para dentro do funil, aplicando vácuo.
4. Transferir o papel de filtro para um vidro de relógio e secar na estufa a 103-105 °C, durante 1 hora.
5. Arrefecer o filtro no exsiccador e pesar.

2.5.3 Cálculos

$$E = (A - B) \times 1000 / C$$

E – Sólidos suspensos totais (mg/L)

A – massa do papel de filtro após filtração e secagem (mg)

B – massa do papel de filtro (mg)

C – volume da amostra (mL)

2.6 Nitratos

2.6.1 Princípio

Reação dos nitratos com 2,6-dimetilfenol em presença dos ácidos sulfúricos e orto fosfórico, com formação do 4-nitro-2,6-dimetilfenol. O tempo de reação é de cerca de 5 minutos.

2.6.2 Equipamento/Material utilizado

Espectrofotômetro DR Longe Spektralphotometer CADAS 100 – as leituras são efetuadas a 324 nm em células de 1 cm.

2.6.3 Reagentes

● Ácido acético glacial, CH_3COOH , densidade= $1,05 \text{ g mL}^{-1}$

● Solução de 2,6-dimetilfenol, $[(CH_3)_2C_6H_3OH]$ (211) a $1,2 \text{ g L}^{-1}$

Dissolve-se $1,2 \pm 0,1$ gramas de 2,6-dimetilfenol em $1000 \text{ mL} \pm 10 \text{ mL}$ de ácido acético glacial.

Esta solução é estável durante uma semana e deve ser conservada em frasco de vidro.

- Mistura ácida

Misturam-se com precaução 1000 ± 10 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) (densidade= 1,84 g mL⁻¹) e 1000 ± 10 mL de ácido orto fosfórico (H_3PO_4) (densidade= 1,71 g mL⁻¹) num copo de precipitação de 3000 mL.

Adiciona-se 0,080 ± 0,010 gramas de ácido amido sulfónico (NH_2SO_3H) e dissolvem-se (este ácido é pouco solúvel, sendo por isso recomendável que se prepare a mistura na véspera da sua utilização e se deixe sob agitação durante a noite).

Esta solução indefinidamente estável e deve ser conservada em frasco de vidro rolhado.

- Solução padrão de nitrato, 100 mg L⁻¹

Para balão volumétrico, de 500 mL medem-se, com uma pipeta, 50 mL da solução padrão de nitrato de 1000 mg/L. Perfaz-se o volume com água até ao traço e homogeneíza-se. A solução deve ser conservada em frasco de vidro por um período não superior a dois meses.

2.6.4 Determinação

2.6.4.1 Curva de calibração

a) Preparação das soluções padrão

A tabela 6 seguinte indica a preparação das soluções padrão para a determinação da curva de calibração de nitratos.

Tabela 6- Preparação das soluções padrão para determinação da curva de calibração de nitratos.

Padrão (mg/L)	Solução de partida (mg/L)	Volume de solução de partida (mL)	Volume dos balões (mL)
0	100	0	100
5	100	5	100
20	100	20	100
40	100	40	100
50	100	50	100

Estas soluções devem ser conservadas em frascos de vidro por período não superior a uma semana.

b) Desenvolvimento da cor

Para cada Erlenmeyer de 100 mL, mede-se com o dispensador, 35 mL da mistura ácida.

Adiciona-se a cada um dos copos, com auxílio de pipetas, 5 mL das soluções padrão e 5 mL da solução de 2,6-dimetilfenol.

Mistura-se cuidadosamente, por agitação, e lê-se a absorvância após 10 minutos de repouso (a cor deverá ser estável por um tempo de repouso máximo de 60 minutos).

c) Leituras espectrométricas

Medir as absorvâncias usando o branco como referência.

Mede-se a absorvância de cada solução padrão a 324 nm, em células de 1 cm de percurso ótico.

d) Traçado da curva

Trata-se a curva em função das absorvâncias e das respectivas concentrações, expressas em miligramas de nitratos por litro.

Esta curva deve ser linear.

2.6.4.2 Preparação da amostra e sua leitura

Procede-se como em 7.5.4.1 b) e c), utilizando um Erlenmeyer de 100 mL e uma toma de 5 mL da amostra a analisar, em vez das soluções padrão.

2.6.4.3 Reta de calibração

A reta é feita sempre que se realizam análises a amostras; caso contrário, é necessário validar a última reta analisada, fazendo 2 padrões da reta: 10,0 e 30,0 mg/L de NO_3^- .

Se estes padrões não variarem mais de 10% a reta pode ser considerada válida.

2.6.4.4 Declive

O valor do declive é registado para ser posteriormente transposto para a carta de controlo respetiva.

2.6.4.5 Coeficiente de correlação

Só se deve aceitar a reta de calibração se o coeficiente de correlação for superior a 0,999.

2.6.4.6 Cálculos

Calcula-se, a partir da curva de referência, a concentração de nitratos, expressa em miligrama por litro, correspondente ao valor de absorvância.

2.7. Medição de pH

Para determinar o valor de pH das amostras de água usou-se o equipamento Crisan micro pH 2000, de eletrodo combinado de vidro. As amostras foram submetidas ao eletrodo do equipamento de forma direta, fazendo a posterior leitura dos valores.

2.8 Ensaíos ecotoxicológicos

2.8.1 Princípio

Os ensaios ecotoxicológicos consistem em submeter os gastrópodes macroinvertebrados da família *Lymnaeidae* a soluções com concentrações crescentes de ião nitrato na forma de nitrato de sódio ($NaNO_3$). As concentrações de ião nitrato foram preparadas e quantificadas como azoto ($NO_3^- - N$). Embora a concentração do ião nitrato tenha sido comumente expressada como mg/L NO_3^- , a nível profissional, académico e normativo cresce o uso da concentração deste ião expressa como azoto (mg/L $NO_3^- - N$), reflectindo apenas os 22,56% da massa molar do NO_3^- que correspondem ao azoto (N). Este procedimento serve para diferenciar a contribuição de diferentes espécies em solução para a concentração do Azoto total. Na verdade, além do ião nitrato, podem existir em solução amoníaco (NH_4), ião nitrito (NO_2^-), proteínas, aminoácidos, ureia, etc. e se todas forem expressas como azoto facilita as comparações dos diferentes contributos para o azoto total. Neste caso não foi o azoto total que se estudou mas a concentração do ião nitrato tonando-se mais expedito a comparação com outros trabalhos publicados. Todavia, a conversão para concentração do ião nitrato em

mg/L NO_3^- consegue-se multiplicando a concentração do ião nitrato como azoto (mg/L $NO_3^- - N$) por 4.427.

Os gastrópodes bioindicadores foram usados para a determinação do LC_{50} , e para a concentração máxima de nitratos sem efeito observável (NOEC) e da concentração mínima com efeito observável (LOEC).

2.8.2 Determinação do LC_{50} (Fase exploratória)

Este primeiro ensaio tem por finalidade identificar a concentração do ião nitrato para a qual o efeito letal do ião nitrato se observa para metade da população testada. Numa primeira fase exploratória pretende-se saber qual a gama de concentrações em que esse efeito poderá ser observado. Como se desconhece de toda a concentração em causa, é necessário varrer uma grande gama de concentrações para fazer esta aproximação inicial. Entretanto aproveita-se para delinear uma estratégia para a determinação dos outros dois pontos finais que são objetivos do trabalho: NOEC e LOEC. Será necessário observar um efeito não letal do ião nitrato sobre os gastrópodes que indique quando os organismos começam a ser afetados pelo contaminante.

A figura 21 é uma fotografia tirada em laboratório durante os testes ecotoxicológicos da fase exploratória.

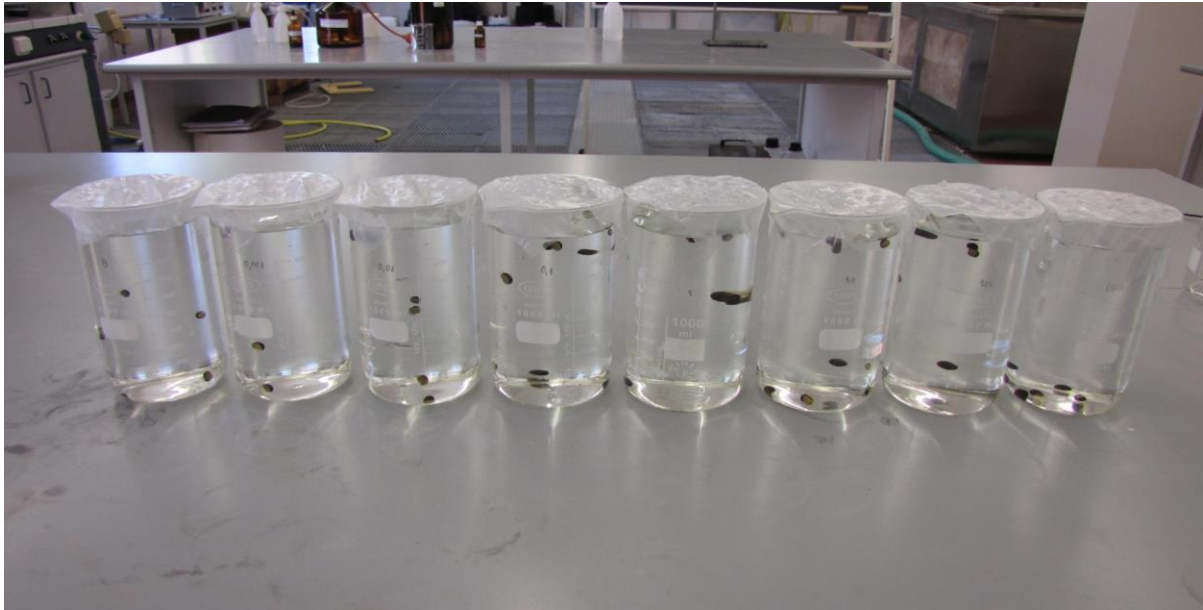


Figura 21- Fotografia do ensaio ecotoxicológico da fase exploratória.

2.8.2.1 Preparação da solução mãe de nitrato de sódio ($NaNO_3$)

Pretende-se preparar uma solução de nitrato de sódio de concentração 1000 mg/L em NO_3^- como (N), num volume de 2000 mL de solução. Os cálculos necessários para a preparação da solução mãe são apresentados no Anexo E.

Pesaram-se numa balança analítica 12,136 g de $NaNO_3$ num vidro de relógio, posteriormente transferiu-se o $NaNO_3$ pesado para um balão volumétrico de 2000 mL, procedeu-se à dissolução do sal e fez-se o volume com água do rio recolhida no ponto 4.

2.8.2.2 Modo de Procedimento

Neste primeiro ensaio foram usadas 7 soluções de nitrato de sódio de 1000 mL cada com concentrações logarítmicas crescentes de 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 100 e 1000 mg/L. Foi ainda

usada uma solução de controlo contendo apenas 1000 mL de água do rio Nabão recolhida no ponto nº4 (ponte do Prado).

Posteriormente no fundo de um goblé de 1000 mL, foram colocados dez gastrópodes da família *Lymnaeidae*, recolhidos previamente no rio Nabão no ponto nº4 e uma das sete soluções em estudo mais um copo de controlo apenas com água do rio. Dada que esta fase de estudo é exploratória, não foram feitas repetições.

A Tabela 7 resume a preparação das soluções.

Foram realizadas várias observações aos gastrópodes a fim de verificar seu comportamento a cada uma das soluções.

Tabela 7- Conteúdo/concentrações das soluções utilizadas no 1º ensaio ecotoxicológico.

Concentração de NO₃⁻ em mg/L (como N)	Solução mãe de NaNO₃ (mL)	Água de diluição do rio (mL)
0 (controlo)	0	1000
0,001	0,001	999,999
0,01	0,01	999,99
0,1	0,1	999,9
1	1	999
10	10	990
100	100	900
1000	1000	0

O volume total da solução de controlo foi medido através de uma proveta de 1000 mL.

As soluções de 0,001, 0,01, 0,1 e 1 mg/L em ião nitrato como azoto foram preparadas com uma micropipeta a partir da solução mãe de 1000 mg/L, tendo sido posteriormente perfeito o volume nos 1000 mL de um balão aferido com água do rio.

As soluções de 10 e 100 mg/L em ião nitrato como azoto foram preparadas com pipeta volumétrica de 10 e de 100 mL a partir da solução mãe de NaNO_3 de 1000mg/L, tendo sido posteriormente perfeito o volume nos 1000 mL de um balão aferido com água do rio.

A solução de 1000 mg/L em ião nitrato como azoto, mediu-se com proveta de 1000 mL diretamente do balão da solução mãe de NaNO_3 .

Depois de homogeneizadas, as soluções foram transferidas para goblés de 1000 mL e foram colocados no fundo 10 exemplares a espécie bioindicadora em estudo. Os gastrópodes foram colocados com o pé em contacto com a base do copo incluindo no copo da solução de controlo.

2.8.2.3 Material utilizado

- 8 Goblés
- Vareta
- Micropipeta e pipetas
- Provetas
- Balões volumétricos de 1000 e de 2000 mL
- Conta-gotas

2.8.3 Determinação do LC_{50}

Depois da fase exploratória ter demonstrado que o valor de LC_{50} se encontra entre 100 e 1000 mg/L (NO_3^- - N), nesta segunda fase do trabalho foram utilizadas concentrações compreendidas entre os 100 e os 1000 mg/L nas seguintes concentrações : 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 e 1000 mg/L de NO_3^- -N bem como o ensaio de controlo sem concentração de ião nitrato. Este ensaio foi realizado replicando seis vezes a mesma concentração, ou seja, foi utilizado seis goblés de 1000 mL para cada concentração, fazendo um total de 66 gobles de ensaio. Os goblés foram identificados de A a F para cada

concentração, tendo assim para cada concentração estudada seis goblés identificados como A,B,C,D,E e F e um extra para o ensaio de controlo.

Neste ensaio também se pretende verificar o comportamento dos gastrópodes bioindicadores submetidos as soluções com diferentes concentrações, a fim de identificar quais as concentrações que começam a produzir impacto nos organismos (NOEC e LOEC).

A figura 22 representa uma fotografia tirada em laboratório dos ensaios da fase objetiva dos testes ecotoxicológicos.



Figura 22- Fotografia dos testes ecotoxicológicos da fase objetiva.

2.8.3.1 Preparação da solução mãe de nitrato de sódio ($NaNO_3$)

Para a fase de determinação do LC_{50} foi necessário preparar 34000mL de solução mãe de 1000 mg/L em NO_3^- - N. Devido à inexistência de contentor para preparar tal volume foi necessário preparar duas porções de solução mãe de 17000 mL num contentor de 20 litros existente nos laboratórios da ESTT.

Os cálculos relativos à preparação dessa solução apresentam-se no Anexo F.

2.8.3.2 Método

Depois de preparadas as soluções de trabalho de acordo com o resumo apresentado na Tabela 8, colocaram-se 10 gastrópodes na base do goblé com o pé em contacto com o fundo do goblé. Tal como no ensaio da fase exploratória, os gastrópodes e a água de diluição foram recolhidos no ponto nº 4 (Ponte do Prado).

Durante o ensaio foram contados os gastrópodes mortos e monitorizada a movimentação dos vivos para a determinação dos pontos NOEC e LOEC. As contagens e as monitorizações foram feitas ao longo dos mesmos intervalos de tempo da fase exploratória.

Tabela 8- Conteúdo/concentrações das soluções utilizadas no 2º ensaio ecotoxicológico.

Concentração de NO₃ mg/L (como N)	Solução mãe de NaNO₃ (mL)	Água de diluição do rio (mL)
0 (controlo)	0	1000
100	100	900
200	200	800
300	300	700
400	400	600
500	500	500
600	600	400
700	700	300
800	800	200
900	900	100
1000	1000	0

Para preparação das soluções de trabalho de concentrações crescentes, usaram-se provetas de 100, 250 e 500 mL para medir os volumes de solução mãe e provetas dos mesmos volumes

para medir os volumes complementares de água de diluição. A mistura e homogeneização da solução mãe e da água de diluição foi feita diretamente nos goblés usados para o ensaio.

2.8.3.3 Material utilizado

- 70 Goblés
- Vareta
- Provetas
- Contentor de vidro de 20 litros
- Conta-gotas

2.8.4 Determinação do NOEC e do LOEC

As etapas anteriores de determinação do ponto final LC_{50} serviram simultaneamente de etapas exploratórias para a determinação dos pontos finais NOEC e do LOEC que seriam sempre necessárias para a determinação destes pontos finais com maior rigor. A fase exploratória, como se abordará na discussão dos resultados, identificou as concentrações entre 200 e 300 mg/L em $NO_3^- - N$ como aquelas entre as quais se situarão estes pontos finais, no entanto, suspeitando que os pontos finais possam estar mais próximos dos 300 mg/L em $NO_3^- - N$ foi decidido ampliar ligeiramente a gama de concentrações em estudo até aos 340 mg/L.

Neste ensaio, foram utilizadas as seguintes concentrações: 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320 e 340 mg/L $NO_3^- - N$. Para cada concentração fizeram-se 6 repetições e um ensaio de controlo apenas com água de diluição recolhida no ponto de amostragem nº4 (Ponte do Prado).

Neste ensaio pretende-se monitorizar o comportamento dos gastrópodes bioindicadores nas soluções com concentrações crescentes de ião nitrato. Após a análise do comportamento dos gastrópodes depois de colocados com o pé em contacto com o fundo do goblé, verificou-se que a espécie procura a interface solução - ar mas que o número de organismos que procura esta posição diminui com o aumento da concentração do ião nitrato e com o tempo de exposição ao efeito deletério deste contaminante. Foi este comportamento sistemático que

se começou a observar na fase exploratória inicial do estudo de determinação do LC_{50} que foi adotado para monitorizar o início do efeito deletério observável do ião nitrato no comportamento dos gastrópodes e assim ser usado para a determinação dos pontos finais NOEC e LOEC.

2.8.4.1 Preparação da solução mãe de nitrato de sódio ($NaNO_3$)

Para esta etapa foi necessário preparar uma solução mãe de $NaNO_3$ de concentração 1000 mg/L NO_3^- em azoto (N) com um volume de 10000 mL. Os cálculos para a preparação desta solução apresentam-se no Anexo G.

Tal como nos ensaios anteriores de determinação do LC_{50} , os ensaios decorreram em goblés de 1000 mL sendo as soluções previamente preparadas num balão aferido de 1000 mL onde se fez a diluição da solução mãe previamente medida com pipetas e diluída e homogeneizada com água de diluição recolhida no ponto n° 4 de acordo com os volumes constantes na Tabela 9.

Tabela 9- Conteúdo/concentrações das soluções utilizadas no 3º ensaio ecotoxicológico

Concentração de NO₃⁻ mg/L (como N)	Solução mãe de NaNO₃ (mL)	Água de diluição do rio (mL)
0 (controle)	0	1000
200	200	800
220	220	780
240	240	760
260	260	740
280	280	720
300	300	700
320	320	680
340	340	640

2.8.4.2 Modo de procedimento

Depois de preparadas as diluições das soluções a testar colocaram-se 10 gastrópodes no fundo do goblé com o pé em contacto com fundo. Para monitorizar a movimentação dos gastrópodes em direção à interface solução – ar, contou-se como movimentação sempre que os gastrópodes ultrapassassem uma linha desenhada na parede do goblé a 1 cm da base. Eventualmente alguns gastrópodes podem deambular pela parede interior do goblé e voltar a passar pelo fundo mas em geral isso não acontece. Após algum estudo do comportamento dos gastrópodes observou-se a tendência para os caracóis se deslocarem para a interface solução - ar mais oxigenada e também a tendência para alguma letargia e busca de refúgio pelo fundo do goblé à medida que as concentrações do contaminante aumentam.

2.8.4.3 Material utilizado

- 28 Goblés
- Vareta
- Pipetas volumétricas de 100 e de 20 mL
- Contentor de vidro de 20 litros
- Conta-gotas
- Balões volumétricos de 1000 e de 2000 mL

2.9 Medição do tamanho dos gastrópodes bioindicadores

Dado que, em geral, nos gastrópodes o aumento da idade é sinónimo de aumento da massa e do volume corporal, sendo estas diferenças importantes para a capacidade destes organismos de bioacumular e/ou de excretar contaminantes, é importante que o estudo seja feito com organismos de idade similar ou pelo menos, com organismos cuja média de tamanho da concha (sinónimo de idade) para os diferentes grupos de concentração estudados, não seja estatisticamente diferente.

2.9.1 Modo de procedimento

Os gastrópodes bioindicadores testados foram medidos no anel, ao longo do da sua maior extensão, com um peclise digital e os valores dessas medições foram registados para todos os gastrópodes testados.

Na tabela H1 do Anexo H, apresentam-se os valores obtidos na medição dos organismos usados na fase de estudo com valores de concentração com uma progressão aritmética espaçados em 100 mg/L $[\text{NO}_3^-]$ - N. As tabelas H2, H3 e H4 do Anexo H, apresentam respectivamente o resultado do teste à normalidade de erros de Shapiro-Wilk, teste de homogeneidade de variâncias de Levene e análise de variância ANOVA que serviram para

determinar se existem diferenças estatísticas para uma probabilidade $p=0,05$ entre as médias dos tamanhos dos gastrópodes.

2.9.2 Material utilizado.

- Peclise digital
- Caixas de Petry

3. Resultados e discussão

3.1. Resultados *in-situ*

Na figura 23 está ilustrada a medição *in-situ* de O.D e temperatura na ponte do Prado.



Figura 23-Medição de O.D e temperatura *in-situ* na ponte do Prado

Na figura 24 está ilustrada a medição de pH e temperatura in-situ na ponte do Prado.



Figura 24- Medição de pH e temperatura in-situ na ponte do Prado.

Os resultados das medições *in-situ* estão indicados na tabela 10.

Tabela 10- Resultados das medições *in-situ*.

	Botelha	ETAR	Agroal	Ponte do Prado
Temperatura (° C)	15,8	16,7	18,0	18,3
pH	5,20	4,02	4,15	4,50
O.D (%)	85,6	94,8	84,5	100,4
O.D (mg/L)	8,03	8,99	7,90	9,27

Verifica-se através da análise dos resultados que a temperatura aumenta de montante para jusante no rio Nabão. Segundo o Decreto-Lei 236/98, a temperatura de águas doces superficiais para suporte de vida aquícola deverá estar compreendida entre os valores 10 e 28 °C, assim sendo os valores destas medições *in-situ* estão em conformidade.

Os valores de pH aqui determinados são muito baixos, o que contradiz o fato de os pontos de medição estarem localizados numa zona calcária. Segundo o Decreto-Lei 236/98, o valor

admissível deste parâmetro deverá estar compreendido entre 6 e 9, assim sendo os valores de pH das medições *in-situ* não estão em conformidade.

O oxigénio dissolvido (O.D) apresenta valores pouco variantes para os quatro pontos de recolha de amostras, sendo o local da ponte do Prado o que apresenta maior concentração deste parâmetro. Estes valores estão em conformidade com o Decreto – Lei nº 236/98 que estabelece como valor máximo recomendado 50% de oxigénio dissolvido para águas doces superficiais para suporte da vida aquícola.

Comparando estes valores com os obtidos no projeto realizado em 2014 no Instituto Politécnico de Tomar com o tema “Monitorização e estudo da qualidade da água do rio Nabão” (Jorge, FMA. Cruz FAM., 2013/2014), em que se efectuou a monitorização destes e outros parâmetros em três zonas distintas do rio Nabão (Açude de Pedra, Mouchão e São Lourenço), os resultados das medições *in-situ* apresentam uma variação mais significativa: entre 5,84 e 10,26 nas determinações de 2014 e entre 4,02 e 5,20 em 2015.

3.2. pH

Os valores de pH das quatro amostras de água recolhidas no rio Nabão, medidos no laboratório, são apresentados na tabela 11.

Tabela 11- Valores de pH das amostras de água recolhidas no rio Nabão.

Amostra	Localização	pH
1	Botelha	7,60
2	Jusante da ETAR Alto Nabão	7,69
3	Jusante do Agroal	7,49
4	Ponte do Prado	8,17

O Decreto-Lei n.º 236/98 tem por objetivo estabelecer normas, critérios e objetivos de qualidade com a finalidade de proteger o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos seus principais usos. Segundo este Decreto-Lei o valor de pH das águas superficiais deve possuir um valor compreendido entre 6 e 9. Assim, os valores de pH dos quatro pontos de recolha encontram-se em conformidade. Também se verifica um ligeiro aumento do valor de pH de montante para jusante do rio Nabão.

Comparavelmente aos valores de pH determinados *in-situ* existe uma diferença significativa. Estes valores laboratoriais são mais fiáveis relativamente aos determinados *in-situ*, o que indicia mau estado do equipamento de medição *in-situ*.

Comparativamente aos valores obtidos no projeto referido anteriormente (Jorge, FMA. Cruz FAM., 2013/2014), não existem diferenças significativas, pois na determinação de 2014 os valores de pH estavam compreendidos entre 7,40 e 8,12.

3.3 Teor em oxigénio dissolvido

A diluição usada no método para cálculo de CBO₅ foi de 10 mL de amostra em 700 mL de água de diluição. O pH da água de diluição tinha como valor 7,3.

A tabela 12 indica o volume de tiosulfato de sódio (Na₂S₂O₃) gasto na titulação para a amostra diluída 15 minutos depois da preparação e para a amostra depois da incubação, bem como o volume dos frascos utilizados.

Tabela 12- Volumes de tiosulfato de sódio gastos na titulação e dos frascos usados para cálculo de CBO5.

Amostra	V Na₂S₂O₃ (mL) (A)	V Na₂S₂O₃ (mL) (B)	Volume do frasco (mL) (C)	Volume do frasco (mL) (D)
1	12,43	9,03	295,3	276,28
2	12,44	11,21	295,8	287,5
3	12,37	10,71	295,8	268,4
4	12,52	11,40	296,7	289,1
5 (ensaio em branco)	11,89	12,11	295,6	297,0

Legenda:

A - gasto na titulação da amostra diluída 15 minutos depois da preparação.

B - gasto na titulação da amostra depois da incubação.

C - usado na amostra diluída 15 minutos depois da preparação.

D - usado na amostra depois da incubação.

3.3.1 Cálculos de OD_i (oxigénio dissolvido na amostra 15 minutos depois da preparação) e OD₅ (oxigénio dissolvido na amostra após incubação).

• Aferição da solução de tiosulfato de sódio

A aferição da solução de tiosulfato de sódio foi realizada previamente, através de uma titulação com dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇).

Volume gasto de tiosulfato de sódio na titulação para a aferição = 20,87mL.

$$C (K_2Cr_2O_7) * V (K_2Cr_2O_7) = C (Na_2S_2O_3) * V (Na_2S_2O_3)$$

$$0,025 N * 20mL = C (Na_2S_2O_3) * 20,87mL$$

$$C (Na_2S_2O_3) = 0,024 N$$

A concentração de tiosulfato de sódio aferido é de 0,024 N (normalidade), isto é equivalente a 0,0024 M (molaridade)

Os cálculos da determinação de ODi e de OD₅ estão de seguida ilustrados para a amostra número 1, os restantes valores estão apresentados na tabela 13.

• Cálculo de ODi na amostra 1

Volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação = 12,43mL (frasco 28 - 295,3mL)

$$n(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = C(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) * V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \Leftrightarrow n(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,024 \text{ mol L}^{-1} * 12,43 \times 10^{-3} \text{ L} \Leftrightarrow n(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 2,98 \times 10^{-4} \text{ mol.}$$

$$n(\text{O}_2) = n(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) * 1 \text{ mol O}_2 / 4 \text{ mol (Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \Leftrightarrow n(\text{O}_2) = 7,45 \times 10^{-5} \text{ mol.}$$

$$C(\text{O}_2) = n(\text{O}_2) / V \text{ amostra total (L)} \Leftrightarrow C(\text{O}_2) = 2,54 \times 10^{-4} \text{ mol O}_2 / \text{L.}$$

$$V \text{ amostra total} = V \text{ amostra} - 2 \text{ mL} * \Leftrightarrow V \text{ amostra total} = 295,3 \text{ mL} - 2 \text{ mL} \Leftrightarrow V \text{ amostra total} = 293,3 \text{ mL.}$$

*Estes 2mL correspondem ao sulfato de manganês e ao iodeto alcalino.

$$\text{Massa molar (M)} = n/m$$

$$M(\text{O}_2) = 32 \text{ g/mol.}$$

$$\text{OD}_i = (C(\text{O}_2) / M_m(\text{O}_2)) * 1000 \text{ mg/L} \Leftrightarrow \text{OD}_i = 8,13 \text{ mg O}_2 / \text{L.}$$

• Cálculo de OD₅ na amostra 1

Volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação = 9,03mL (frasco 122 – 276,28mL)

$$n(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = C(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) * V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \Leftrightarrow n(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,024 \text{ mol L}^{-1} * 9,03 \times 10^{-3} \text{ L} \Leftrightarrow n(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 2,17 \times 10^{-4} \text{ mol.}$$

$$n(\text{O}_2) = n(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) * 1 \text{ mol O}_2 / 4 \text{ mol (Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \Leftrightarrow n(\text{O}_2) = 5,42 \times 10^{-5} \text{ mol.}$$

$$V \text{ amostra total} = V \text{ amostra} - 2 \text{ mL} * \Leftrightarrow V \text{ amostra total} = 276,28 \text{ mL} - 2 \text{ mL} \Leftrightarrow V \text{ amostra total} = 274,28 \text{ mL.}$$

*Estes 2mL correspondem ao sulfato de manganês e ao iodeto alcalino.

$$C(O_2) = n(O_2) / V \text{ amostra total (L)} \Leftrightarrow C(O_2) = 2,75 \times 10^{-9}$$

Massa molar (M) = n/m

M (O₂) = 32g/mol.

$$OD_5 = (C(O_2) / M(O_2)) * 1000 \text{ mg/L} \Leftrightarrow OD_5 = 6,32 \text{ mg O}_2/\text{L}.$$

Tabela 13- Valores de OD_i e de OD₅ de todas as amostras.

Amostra	OD _i (mg O ₂ /L)	OD ₅ (mg O ₂ /L)
1- Botelha	8,13	6,32
2- Jusante ETAR Alto Nabão	8,16	7,54
3- Jusante Agroal	8,08	7,72
4- Ponte do Prado	8,15	7,62
5 (ensaio em branco)	7,77	7,88

Segundo o decreto-lei n.º 236/98 os valores de oxigénio dissolvido estão dentro dos parâmetros legais, em conformidade. Os valores apresentam pouca variância entre si, o mesmo ocorreu nas medições *in-situ*.

Os valores obtidos no projeto referido anteriormente (Jorge, FMA. Cruz FAM., 2013/2014), estão compreendidos entre 8,31 e 10,26 mg O₂/L, o que não traduz diferenças significativas em relação aos valores determinados em 2015.

3.4 CBO₅ (carência bioquímica de oxigénio)

A carência bioquímica de oxigénio é determinada pela expressão seguinte para o método das diluições sem inóculo:

$$CBO_5 = ((OD_i - OD_5) / V) * 1000 \text{ mL}$$

Em que V – volume total de amostra utilizado no ensaio mL \Leftrightarrow V (OD_i + OD₅).

O resultado é expresso em miligramas de oxigénio (mg O₂/L), indicando-se em índice o número referente aos dias de incubação.

CBO₅= mg O₂/L

3.4.1 Cálculos de CBO₅

O cálculo de CBO₅ para a amostra 1 é de seguida demonstrado, os restantes encontram-se na tabela 14.

• Amostra 1

$V = 295,3 \text{ mL} + 276,28 \text{ mL} = 571,58 \text{ mL}$.

$CBO_5 = (8,13 \text{ mg O}_2/\text{L} - 6,32 \text{ mg O}_2/\text{L}) * 1000 \text{ mL} / 571,58 \text{ mL} = \mathbf{3,17 \text{ mg O}_2/\text{L}}$.

Na tabela 14 apresentam-se os valores de CBO₅ para todas as amostras

Tabela 14- Valores de CBO₅ para cada uma das amostras.

Amostras	CBO ₅ (mg O ₂ /L)
1- Botelha	3,17
2- Jusante ETAR Alto Nabão	1,06
3- Jusante do Agroal	0,64
4- Ponte do Prado	0,90
5 (ensaio em branco)	0,00

Segundo o Decreto-Lei n.º 236/98 as águas superficiais doces para o suporte de vida aquícola deveram possuir um valor de CBO₅ máximo de 6 mg O₂/L. Assim, a carência bioquímica de oxigénio nas quatro amostras de água do rio Nabão estão em conformidade. Também se verifica um valor consideravelmente mais elevado de CBO₅ na amostra numero 1 recolhida na localidade de Botelha, isto poderá indicar a presença de mais microrganismos neste ponto que consomem oxigénio nas suas necessidades metabólicas.

Os valores obtidos no projeto referido anteriormente (Jorge, FMA. Cruz FAM., 2013/2014), estão compreendidos entre 22,75 e 181,30 mg O₂/l, o que é uma diferença bastante significativa em relação aos valores determinados em 2015.

3.5 SST (sólidos suspensos totais)

Os sólidos suspensos totais são calculados através da seguinte expressão:

$$E = (A - B) \times C$$

E – Sólidos suspensos totais (mg/L)

A – massa do papel de filtro após filtração e secagem (mg)

B – massa do papel de filtro (mg)

C – volume da amostra (L)

A tabela 15 apresenta para cada amostra o peso do papel de filtro e o peso do papel de filtro mais sólidos após incubação.

Tabela 15- Massa do papel de filtro e do papel de filtro após filtração e secagem para cada amostra.

Amostra	m do papel de filtro (mg)	m do papel seco (mg)
1	122,4	122,9
2	123,8	124,5
3	122,9	123,1
4	122,9	123,3

3.5.1 Cálculos de SST (sólidos suspensos totais)

O cálculo para determinar SST esta seguidamente indicado para a amostra 1, os restantes valores estão inseridos na tabela 21.

- **Amostra 1**

Volume da amostra=0,1L

$$C = (122,9 \text{ mg} - 122,4 \text{ mg}) / 0,1 \text{ L} = \mathbf{5,0 \text{ mg/L}}$$

A tabela 16 descreve os valores de SST (sólidos suspensos totais) para cada uma das amostras.

Tabela 16- Valores de sólidos suspensos totais de cada uma das amostras.

Amostra	Sólidos suspensos totais (mg/L)
1- Botelha	5,0
2- Jusante da ETAR Alto Nabão	7,0
3- Jusante do Agroal	2,0
4- Ponte do Prado	4,0

Segundo o Decreto-Lei n.º236/98 o valor dos sólidos suspensos totais em águas superficiais não deverá exceder 25 mg/L. Verifica-se assim que os valores deste parâmetro nas quatro amostras estão dentro dos limites legais, em conformidade.

Verifica-se também através da análise dos resultados que o local de amostragem nº3, o Agroal, possui um valor de SST significativamente mais baixo que os restantes pontos de amostragem, este fato pode ser devido a existência de uma nascente de água neste local que promove a diluição.

Os valores obtidos no projeto referido anteriormente (Jorge, FMA. Cruz FAM., 2013/2014), estão compreendidos entre 2,0 e 22,0 mg/L, o que é uma diferença significativa em relação aos valores determinados em 2015, mas ambos em conformidade com o Decreto-Lei.

3.6 Nitratos

Para calcular a concentração de nitratos foi usado o método do 2,6- dimetilfenol, por espectrofotometria a 324 nm de comprimento de onda. A determinação da reta de calibração foi previamente estabelecida.

3.6.1 Reta de calibração

A determinação da reta de calibração foi previamente estabelecida.

A reta de calibração, sua equação e coeficiente de correlação estão ilustradas na figura seguinte:

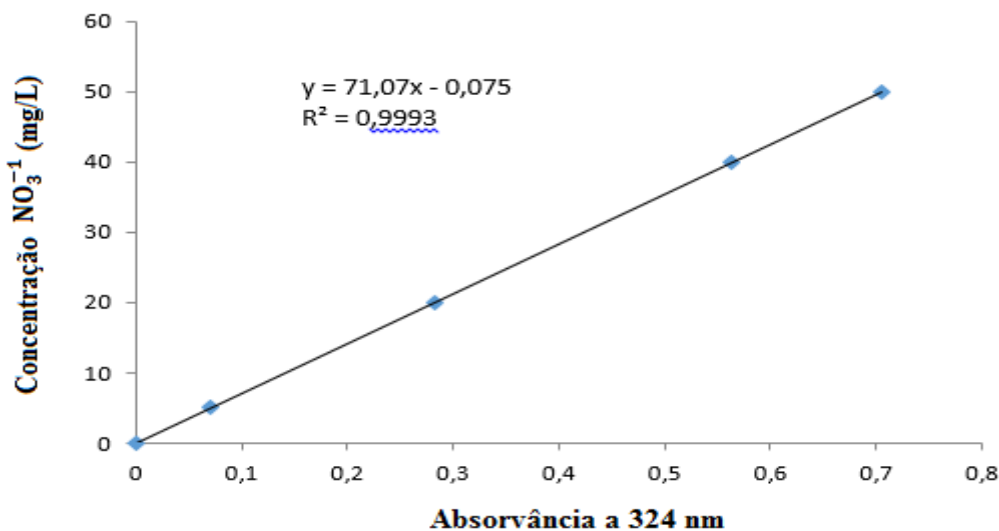


Figura 25- Reta de calibração para avaliar o teor em nitratos.

3.6.2 Valores de absorvância da espectrofotometria a 324 nm de comprimento de onda

tabela seguinte descreve os valores de absorvância da espectrofotometria a 324 nm de comprimento de onda para cada uma das amostras.

Tabela 17- Valores da absorvância em cada uma das amostras para avaliar o teor em nitratos.

Amostra	Absorvância
1	0,062
2	0,077
3	0,102
4	0,036

3.6.3 Valores da concentração de nitratos e de azoto correspondente

Os valores das concentrações de nitratos (NO_3^-) resultam na substituição de x na reta de calibração pelos valores das absorvâncias.

Os valores da concentração de nitratos (NO_3^-) em termos de azoto (N) resultam do fator de conversão 0,2259. De seguida apresenta-se o cálculo da concentração de nitratos (NO_3^-) (mg/L) da amostra 1 e conversão dessa concentração em termos de azoto (N). Os restantes valores estão descritos na tabela 25.

• Cálculo da concentração de nitratos (NO_3^-) (mg/L) na amostra 1 e conversão dessa concentração em termos de azoto (N).

Equação da reta de calibração: $Y = 71,07x - 0,075$.

Valor da absorvância=0,062

$Y = 71,07 * 0,062 - 0,075 = 4,33 \text{ mg/L } (\text{NO}_3^-)$.

Conversão de nitratos para azoto= $4,33 * 0,2259 = 0,97 \text{ mg/L (N)}$.

Na tabela 18 estão descritos os valores das concentrações de nitratos e de azoto correspondente para cada uma das amostras.

Tabela 18- Valores das concentrações de nitratos e de azoto correspondente para cada uma das amostras.

Amostra	[NO_3^-] (mg/l)	[$NO_3^- - N$] (mg/l)
1-Botelha	4,33	0,97
2- Jusante ETAR Alto Nabão	5,39	1,21
3- Agroal	7,17	1,61
4- Ponte do Prado	2,48	0,56

Segundo o Decreto-Lei n.º 348/98 que estabelece requisitos para as descargas das estações de tratamento de águas residuais urbanas em zonas sensíveis sujeitas a eutrofização, o valor máximo de concentração de azoto deverá ser de 15 mg/l –N, sendo assim, os valores das concentrações de azoto nos quatro pontos de amostragem encontram-se dentro dos limites legais, em conformidade.

Verifica-se um significativo aumento desta concentração de azoto no ponto de recolha n.º3, no Agroal, isto possivelmente devido a contaminações.

Comparativamente aos valores obtidos no projeto referido anteriormente (Jorge, FMA. Cruz FAM., 2013/2014), não existem diferenças significativas, pois em 2014 a concentração do ião nitrato estava compreendido entre 3,82 e 7,28 mg/L.

3.7 Medição do tamanho dos gastrópodes bioindicadores

Os resultados médios das medições do tamanho dos 10 gastrópodes usados em cada repetição das concentrações da fase de estudo com uma progressão aritmética usada na determinação do LC50, demonstra que não existem diferenças estatísticas entre os valores

médios obtidos na média. Esta conclusão resulta da análise de variância ANOVA processada pelo programa informático IBM® SPSS® statistics. A análise em três etapas demonstrou que existe normalidade de erros (teste Shapiro Wilk) e homogeneidade de variâncias (teste Levene), condições para uma análise de variância mais credível. A análise de variância (ANOVA) confirma que não existem diferenças estatísticas significativas para uma confiança de 95% conforme se apresenta no Anexo H.

3.8 Testes ecotoxicológicos e tratamento estatístico

A contabilização do efeito “morte” dos caracóis bem como as respetivas médias, desvios padrão e coeficientes de variação em todos os testes ecotoxicológicos é apresentada no Anexo I. Este efeito será usado na determinação do ponto final LC_{50} (concentração do nitrato que produz a morte de 50% da população).

A contabilização do efeito “movimento dos caracóis”, bem como as respetivas médias, desvios padrão e coeficientes de variação em todos os testes ecotoxicológicos são apresentados no Anexo J. Este efeito será usado na determinação dos pontos finais NOEC (No Observed Effects Concentration) e LOEC (Lowest Observed Effects Concentration).

Pretende-se através dos dados obtidos nos testes ecotoxicológicos efetuados, determinar o valor de LC_{50} (concentração do nitrato que produz a morte de 50% da população) com base no número de gastrópodes mortos e utilizando o método estatístico de Litchfield-Wilcoxon. A determinação de LC_{50} foi realizada com suporte informático, folha de calculo Microsoft® Excel®. Os valores de NOEC e de LOEC foram determinados a partir do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21.

3.8.1 Determinação do valor de LC_{50}

Os resultados obtidos na fase exploratória em que se usou uma gama de concentrações de progressão logarítmica, revelam que para os tempos de exposição estudados de 24,

48, 72, 96 e 120 horas, o valor de concentração que provoca o efeito pretendido letal para metade da população, se obtém entre as concentrações de 100 e 1000 mg/L NO_3^- -N como se pode observar no gráfico da Figura 26. Isto significa duas coisas: em primeiro lugar significa que a concentração de ião nitrato que é letal para metade da população se encontra entre 100 e 1000 mg/L NO_3^- -N e em segundo lugar significa que para conhecermos com mais rigor esse valor teremos que fazer um novo estudo com uma progressão aritmética de concentrações entre os 100 e os 1000 mg/L NO_3^- -N. O estudo com concentrações equidistantes em 100 mg/L NO_3^- -N será a melhor opção porque proporcionará um resultado final comum um intervalo de confiança apertado. Seria melhor se as concentrações estudadas tivessem um intervalo de progressão menor mas isso seria incomportável do ponto de vista logístico devido à escassez de material no laboratório. Na Tabela I1 do Anexo I apresenta-se os valores obtidos no ensaio.

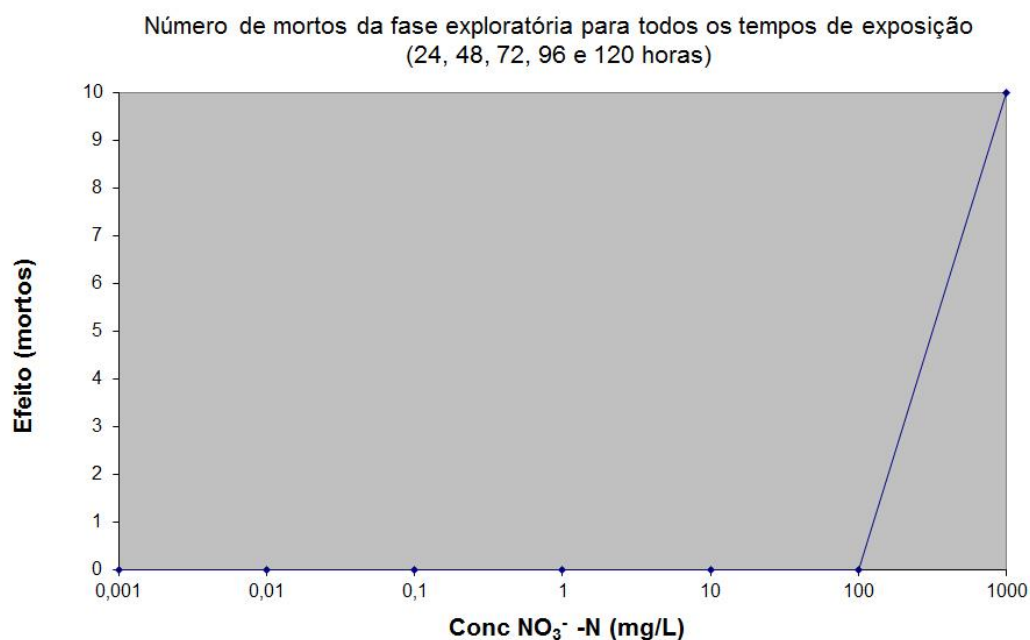


Figura 26- número de morto na fase exploratória, a do 1º ensaio ecotoxicológico, a fase logarítmica, para todos os tempos de exposição organismo/contaminantes avaliados.

Na segunda fase do estudo com valores de concentração com uma progressão aritmética espaçados em 100 mg/L NO_3^- -N verifica-se que para os tempos de exposição estudados, só o tempo de exposição de 120 horas nos dá uma gama de efeito entre nenhum

gastrópode morto (sem efeito) para a concentração mais baixa que é a do grupo de controlo em que não foi dissolvido ião nitrato e todos os gastrópodes mortos para a concentração de 1000 mg/L NO_3^- - N. A resposta dos gastrópodes a esta variação de concentrações é muito importante por ser ideal para a aplicação do método estatístico de Litchfeld-Wilcoxon uma vez que inclui nos extremos nenhum gastrópode morto e todos os gastrópodes mortos. A Figura 27, mostra claramente como para os restantes tempos de exposição em estudo nunca se consegue o efeito letal máximo. Na Tabela I2 do Anexo I apresentam-se os resultados obtidos neste ensaio.

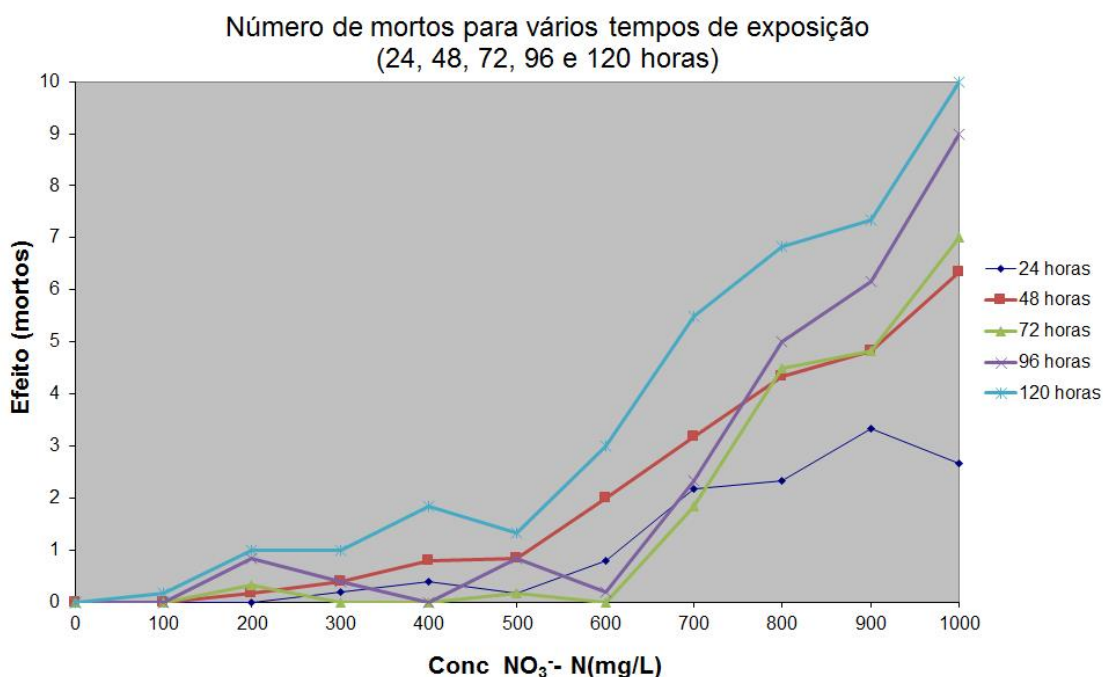


Figura 27- Média do número de indivíduos mortos em todos os testes ecotoxicológicos, e para todos os tempos de exposição organismo/contaminantes avaliados.

No gráfico da Figura 28 apresenta-se a média do efeito para uma exposição de 12 horas às diferentes concentrações do ião nitrato entre 100 e 1000 mg/L NO_3^- - N. Para este tempo de exposição a “curva” obtida não é perfeitamente sigmoide o que faz pressupor algum desvio à normalidade, no entanto, atendendo ao perfil da curva de distribuição de resultados esse desvio, a existir, será mínimo e não tem consequências para a aplicação do método Litchfeld-Wilcoxon.

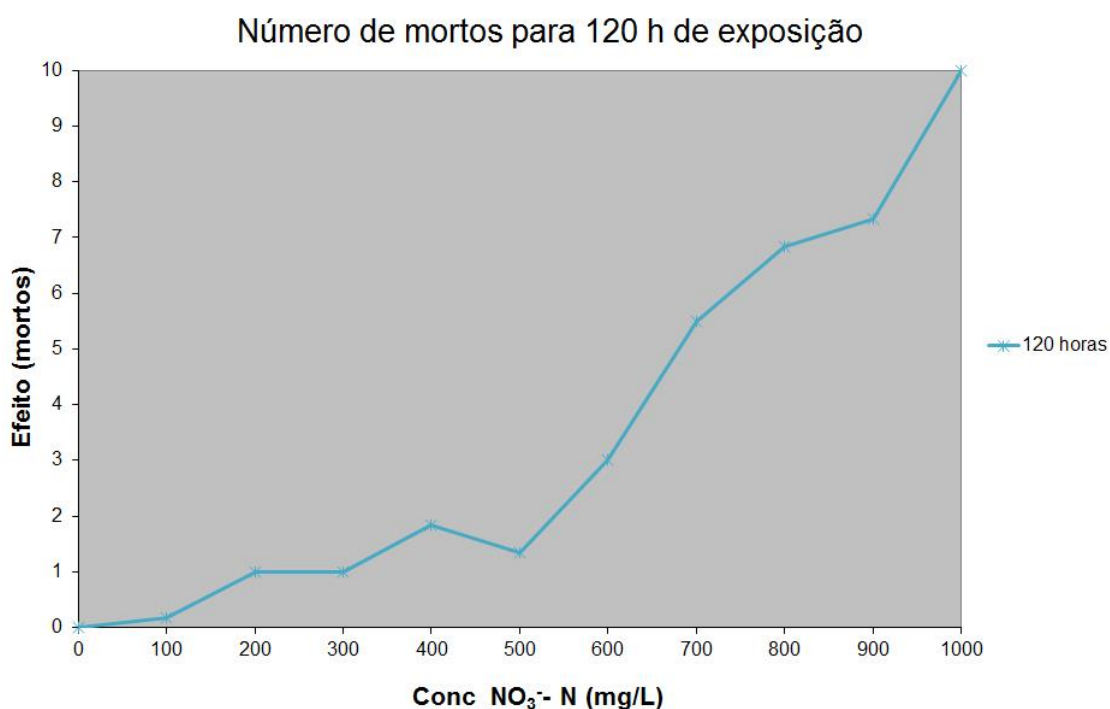


Figura 28- Média do número de indivíduos mortos em todos os testes ecotoxicológicos, para o tempo de exposição organismo/contaminante de 120 horas.

Os valores de efeito obtidos apresentam-se em tabela no Anexo K.

3.8.1.1 Método Litchfeld-Wilcoxon

Primeira etapa do método Litchfeld-Wilcoxon para a determinação do efeito esperado, isto é conseguido graficamente através da linearização dos resultados segundo o eixo das abcissas (Concentração) que é transformado através de logaritmação das concentrações NO_3^- - N. O eixo das ordenadas corresponde à percentagem do efeito, isto é, a percentagem da média de indivíduos mortos para cada grupo de concentração. Esta etapa do método permite obter uma reta de regressão com um melhor ajuste. Os resultados destes ajustes apresentam na tabela L1 do Anexo L a nova distribuição dos valores obtidos a partir desta linearização, bem como a reta de regressão dessa distribuição são apresentados no gráfico da Figura 29.

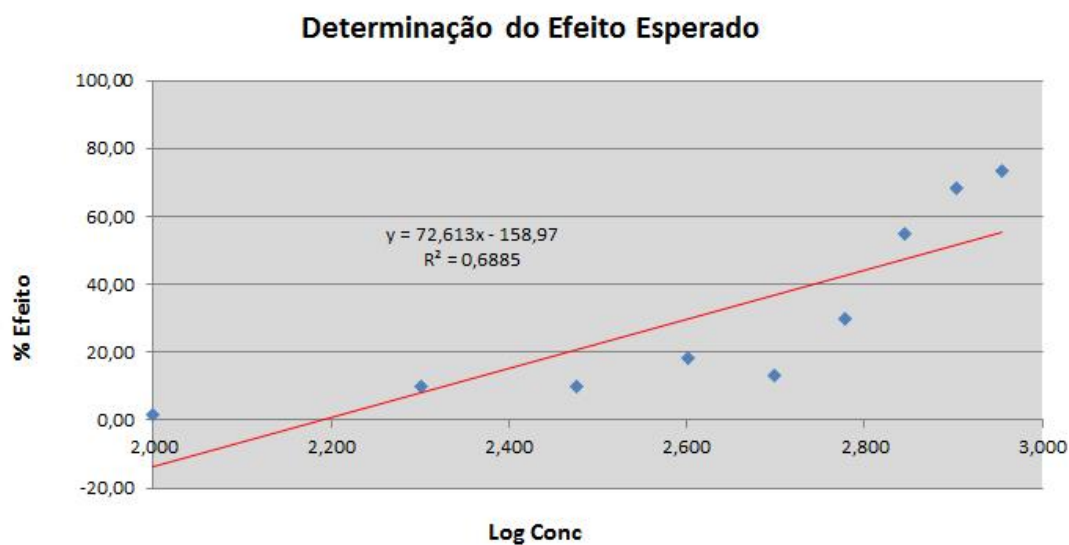


Figura 29- Determinação do efeito (mortos) esperado.

A equação da reta de regressão do efeito observado permite o cálculo do efeito esperado por substituição dos valores de logaritmo da concentração (log Conc):

$$y = 72,623x - 158,97$$

A verificação do ajuste da reta de regressão é feita através de um teste chi-quadrado (χ^2). Para que o ajuste seja bom, terá que se aceitar a hipótese nula (H_0) de que um χ^2 calculado ser menor do que um χ^2 tabelado ($\chi^2_{\text{calc}} < \chi^2_{\text{tab}}$).

O valor de χ^2_{calc} é determinado para cada grupo de concentrações $NO_3^- - N$ através de um ábaco constante na Figura L1 do Anexo L, onde são necessários os valores da percentagem de efeito esperado e da diferença da percentagem do efeito observado com a percentagem do valor do efeito esperado. Os valores parciais de χ^2_{calc} são somados para se obter o valor a usar no teste de hipóteses.

O valor de χ^2 tabelado é retirado da tabela de valores críticos de χ^2 apresentado na Tabela L2 do Anexo L, sabendo que se pretende usar os valores críticos para uma probabilidade $p=0,05$ e n graus de liberdade.

O número de graus de liberdade (n), é:

$$n = k - 2$$

Onde n representa o número de graus de liberdade e k o número de variáveis independentes.

A Tabela 19 apresenta o valor de χ^2 calc:

Tabela 19- Valor de $[\chi]^2$ calculado.

Concentrações $NO_3^- - N$ (mg/L)	log Conc.	Nº de organismos testados	Média de organismos mortos	Porcentagem efeito observado (%)	Porcentagem efeito esperado (%)	Diferença (%)	χ^2_{calc}
0	0,000	10	0	0			
100,00	2,000	10	0,17	1,67	-13,74	15,41	0
200,00	2,301	10	1,00	10,00	8,11	1,89	0,055
300,00	2,477	10	1,00	10,00	20,90	10,90	0,1
400,00	2,602	10	1,83	18,33	29,97	11,64	0,08
500,00	2,699	10	1,33	13,33	37,01	23,68	0,25
600,00	2,778	10	3,00	30,00	42,76	12,76	0,07
700,00	2,845	10	5,50	55,00	47,62	7,38	0,025
800,00	2,903	10	6,83	68,33	51,83	16,50	0,12
900,00	2,954	10	7,33	73,33	55,55	17,79	0,14
1000,00	3,000	10	10,00	100,00			

Σ	0,84
----------	-------------

O valor da soma das contribuições de χ^2 diferença é apresentado em módulo.

$$\chi^2_{calc}=0,84$$

O número de graus de liberdade (n) neste caso é de 7, sendo k=9 a que corresponde pela tabela L2 do Anexo L o valor crítico tabelado de:

$$\chi^2_{tab}=14,07.$$

$\chi^2_{calc} < \chi^2_{tab}$, aceita-se a hipótese nula e portanto o ajuste é bom.

Próxima etapa deste método, é a correção dos valores de percentagem de efeito esperado para os valores de 0 - 100%. Esta correção é feita através da tabela L3 apresentada no Anexo L. Trata-se de uma conversão fundamental na aplicação do método de Litchfield-Wilcoxon porque transforma todos os valores de percentagem de efeito esperado inferiores a 50% em novos valores corrigidos sempre inferiores a 10%. Transforma também todos os valores de percentagem de efeito esperado acima de 50% em novos valores corrigidos e sempre superiores a 90%. Este afastar dos valores de percentagem do efeito esperado para a base e para o topo da escala percentual tem como consequência um grande salto dos valores de

efeito imediatamente antes de 50% para os valores imediatamente depois. A semirreta que contém o valor de 50% de efeito corrigido terá um declive bastante acentuado como se pode verificar no gráfico da Figura 22. Esta mova distribuição corrigida dos valores do efeito facilita a obtenção do valor da concentração que produz um efeito letal para metade da população (LC₅₀) ao qual é possível ainda associar um intervalo de erro bastante mais apertado para os 95% de confiança com que o teste de Litchfeld-Wilcoxon fornece o resultado final.

A Tabela 20 contém os valores do efeito esperados e os valores corrigidos para 0-100%, note-se que os valores corrigidos saltam abruptamente de 10,4 para 89,5%, encontra-se obviamente entre estes valores a percentagem de efeito de 50%. Do ponto de vista gráfico, este efeito pode ser melhor observado no gráfico da Figura 30.

Tabela 20- valores do efeito esperados e os valores corrigidos para 0-100%

Concentração mg/L	log Conc	nº de org testados	nº de mortos	% efeito observado	% efeito esperado	Correcção 0-100%
0	0,00	10	0,00	0,0		
100	2,00	10	0,17	1,7	-13,74	0
200	2,30	10	1,00	10,0	8,11	2,6
300	2,48	10	1,00	10,0	20,90	6,2
400	2,60	10	1,83	18,3	29,97	8,3
500	2,70	10	1,33	13,3	37,01	9,40
600	2,78	10	3,00	30,0	42,76	10,10
700	2,85	10	5,50	55,0	47,62	10,40
800	2,90	10	6,83	68,3	51,83	89,50
900	2,95	10	7,33	73,3	55,55	89,70
1000	3,00	10	10,00	100,0		

A título de exemplo, o valor de 2,6 da percentagem de efeito corrigido, correspondente ao valor de 8,11 da percentagem do efeito esperado. Este valor foi determinado por interpolação linear, devido às limitações da tabela de conversão para os valores entre 0 e 100% de efeito observado que apenas converte diretamente valores inteiros. Outros valores intermédios têm que ser interpolados.

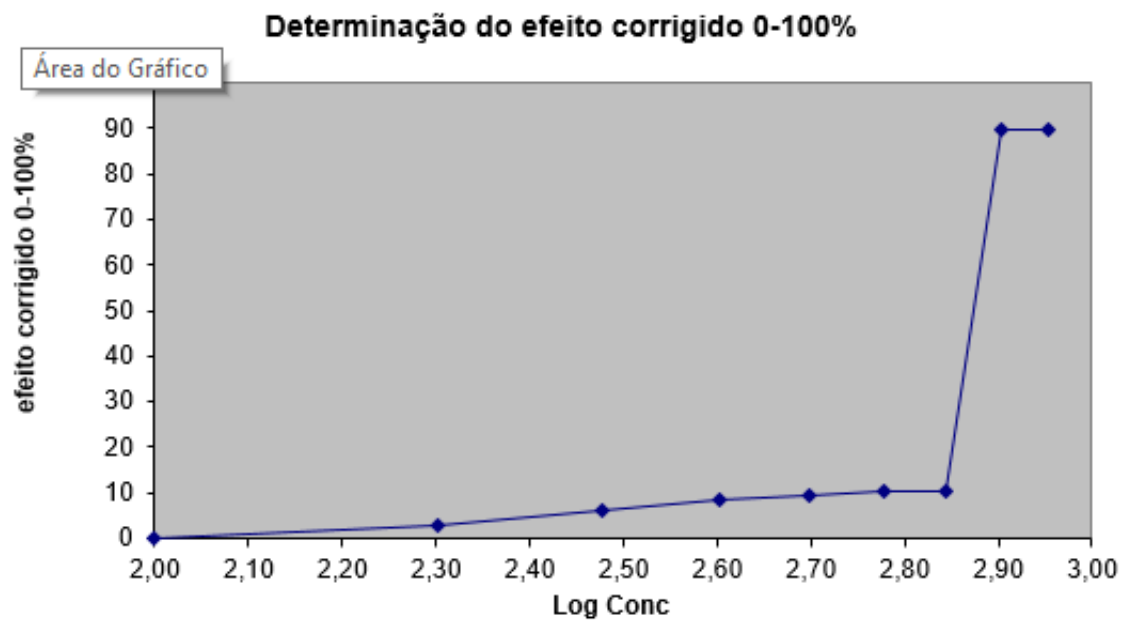


Figura 30- Efeito corrigido 0-100%.

A partir do momento em que se conhece a semirreta dos efeitos corrigidos a 0-100% que contém o efeito de 50%, concentramos a nossa atenção nessa semirreta que usamos para determinar qual o valor do logaritmo da concentração correspondente a 50% do efeito corrigido. Este valor do logaritmo da concentração será invertido para a obtenção do valor da concentração em unidade de trabalho de $\text{mg/L NO}_3^- - \text{N}$.

O gráfico da Figura 31 mostra a semirreta de interesse que contém os 50% de efeito corrigido. Se usarmos a equação desta reta é possível substituir a ordenada por 50 para calcular o valor da abcissa.

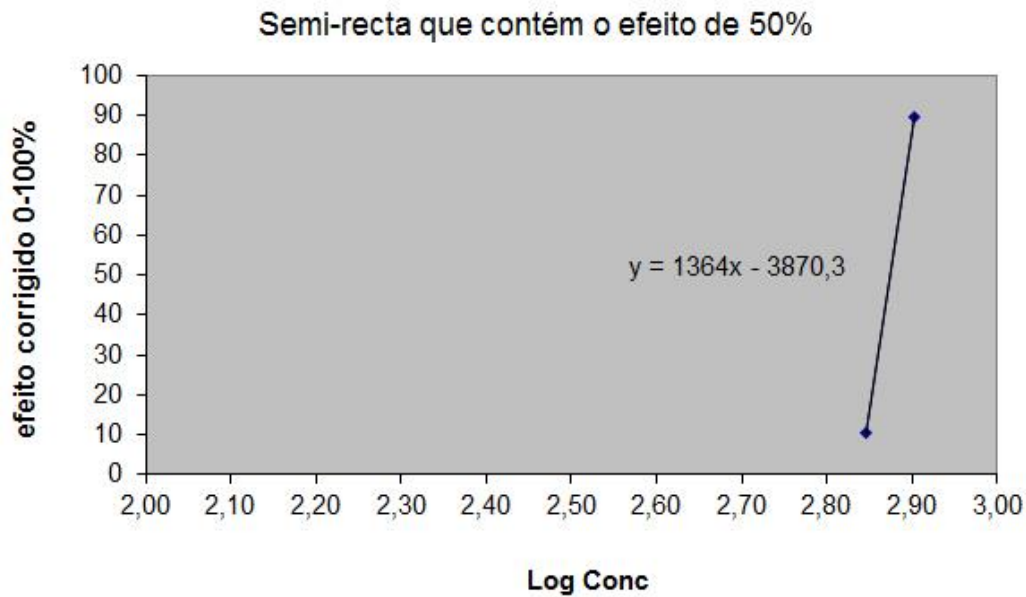


Figura 31- Semirreta do efeito corrigido a 0-100% que contém os 50% de efeito.

A equação da reta do efeito corrigido 0-100% é:

$$y = 1364x - 3870$$

A substituição do valor da ordenada por 50 devolve um valor de abcissa de 2,874, ou seja:

$$x = \log \text{Conc} = 2,874$$

A inversão do valor logaritmicado da concentração, fornece o valor da concentração. A inversão obtém-se através da aplicação de base 10 ao logaritmo decimal.

$$10^{\log \text{Conc}} = 10^{2,874}$$

$$\text{Conc} = 748,377 \text{ mg/L NO}_3^- \text{ - N}$$

O valor obtido é o valor do LC_{50}

$$LC_{50} = 748,377 \text{ mg/L NO}_3^- \text{ N}$$

Para a determinação dos extremos do intervalo de confiança é necessário usar a mesma equação da reta e repetir os cálculos para o cálculo da concentração correspondente a 16% de efeito corrigido e para 84% de efeito corrigido que servirão para determinar o extremo inferior e superior do intervalo de confiança.

A partir da equação da reta:

Quando $y=16$

$$x = \log Conc = 2,849$$

$$Conc = 706,632 \text{ mg/L NO}_3^- - N$$

$$LC_{16} = 706,632 \text{ mg/l NO}_3^- N$$

Quando y=84

$$x = \log Conc = 2,899$$

$$Conc = 792,587 \text{ mg/L NO}_3^- - N$$

$$LC_{84} = 792,587 \text{ mg/L NO}_3^- N$$

Para o cálculo do intervalo de confiança ao nível de 95%, é necessário determinar os valores do declive da reta (S), do coeficiente ϵ e de um fator (fLC_{50}).

Sendo:

N' – número total de organismos utilizados nas concentrações testadas nas quais se observou uma percentagem de efeito entre 16 e 84%.

$$S = \frac{\frac{LC_{84}}{LC_{50}} + \frac{LC_{50}}{LC_{16}}}{2}$$

$$E = \frac{2,77}{\sqrt{N'}}$$

$$fLC_{50} = S^E \quad fLC_{50} = S^E$$

Usando as fórmulas determina-se os valores:

$$N' = 60$$

$$S = 1,059$$

$$E = 0.358$$

$$fLC_{50} = 1,021$$

$$\text{Limite superior} = LC_{50} * fLC_{50} = 748,377 * 1,021 = 763,896 \text{ mg/L NO}_3^- - N$$

$$\text{Limite inferior} = LC_{50}/fLC_{50} = \frac{748,377}{1,021} = 733,173 \text{ mg/L } NO_3^- - N$$

Assim, e com intervalo de confiança de 95%, a concentração que produz o efeito letal para metade da população (LC_{50}) é:

$$733,173 < 748,377 < 763,896 \text{ mg/l } NO_3^- - N$$

3.8.2 Determinação de NOEC e de LOEC

Determinar os valores de NOEC e de LOEC pressupõe quatro etapas distintas. A primeira etapa é a prova de normalidade de erro de Shapiro-wilk, segunda etapa é a prova a homogeneidade de variâncias de Levene, terceira etapa é análise de variância ANOVA e a quarta e última etapa é a prova de comparação múltipla de Dunnett. Como já foi anteriormente referido, a determinação destes valores foram realizados através do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21.

O gráfico da Figura 32 mostra a média dos movimentos dos organismos em cada grupo de concentração para os tempos de exposição 72 e de 120 horas. Estes foram, de todos os tempos de exposição ao ião nitrato, os únicos a oferecerem a gama completa das possibilidades de efeito, variando entre 0 e 100% de efeito, ou seja entre nenhum gastrópode em movimento para as concentrações mais altas e todos os gastrópodes em movimento com direção à interface solução – ar para as concentrações mais baixas. No eixo das abcissas estão representadas as diferentes concentrações de $mg/L NO_3^- - N$, e no eixo das ordenadas a média dos movimentos dos organismos 1cm acima do fundo do goblé. Os resultados globais dos ensaios laboratoriais apresentam-se na Tabela J1 (parte 1 e parte 2) do Anexo J.

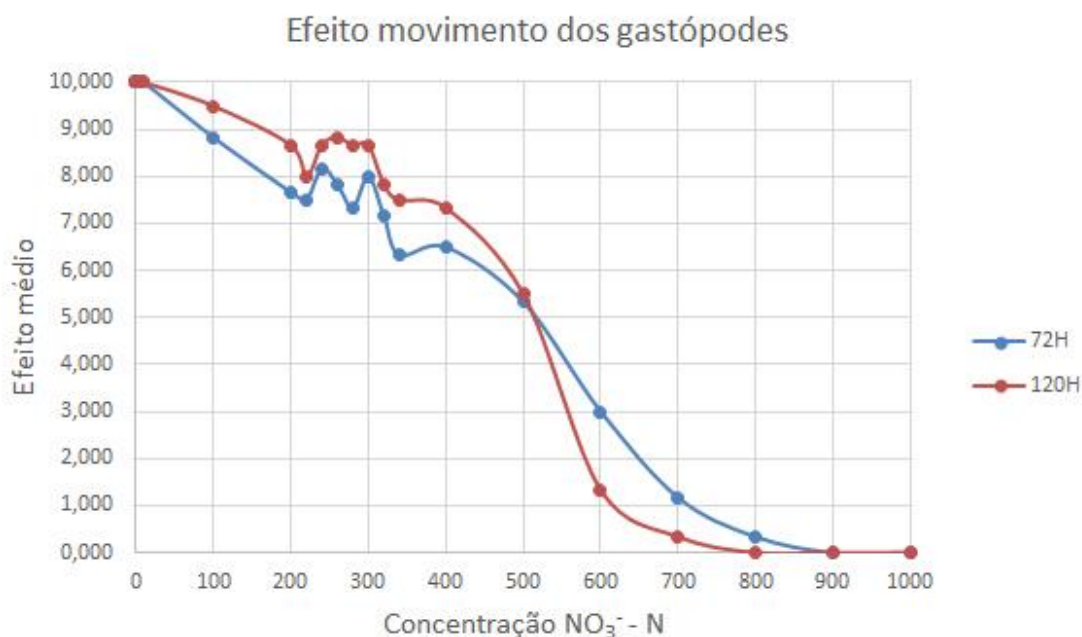


Figura 32- Média dos movimentos dos organismos para as diferentes concentrações de NO₃⁻ - N, e para os tempos de exposição organismo/contaminante de 72 horas e de 120 horas.

Apesar de bastante parecidas, as curvas dos efeitos para 72 e 120 horas de exposição, possuem comportamentos bastantes diferentes no programa informático usado para a determinação do LOEC e do NOEC, por isso só foi concretizado o estudo para o tempo de exposição de 120 horas, sendo este tempo o que possui os dados mais fiáveis. O facto de o bioindicador usado possuir um metabolismo de resposta lento ao ião nitrato é sintomático para a escolha do tempo de exposição mais longo.

3.8.2.1 Prova de normalidade de erros de Shapiro-Wilk

Para a prova de normalidade de erro de Shapiro-Wilk, é necessário introduzir no programa informático os resultados dos movimentos dos caracóis para as 120 horas.

Nesta prova:

Testa-se a hipótese nula (H_0) de que existe normalidade de erros se estatisticamente o valor da significância debitada pelo SPSS for maior do que 0,05 (Sig.>0,05).

Oeste de normalidade de Shapiro-Wilk apresenta uma significância (Sig.) de 0,000 o que significa que o programa IBM® SPSS® Statistics version 21 arredonda para 0 (zero)

qualquer valor estatístico inferior a 0,01. Para que exista normalidade de erros, o teste estatístico tem de ter um valor de Sig. > 0,05.

Rejeita-se a hipótese nula porque Sig. < 0,05 e portanto, estatisticamente não existe normalidade de erros mas o facto de o programa informático aproximar a 0,000 os valores inferiores a 0,01 deixa-nos sem saber quão longe o valor da significância se encontra de 0,05.

Tabela 21- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21 para a prova de normalidade de erros de Shapiro-Wilk- testes de normalidade.

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Movim_120h	,220	102	,000	,798	102	,000

a. Lilliefors Significance Correction

A estatística descritiva informa-nos que a distribuição dos erros não é normal porque os valores de *Skewness* (medida que caracteriza a assimetria da curva de distribuição) e de *Kurtosis* (medida que caracteriza o achatamento da curva de distribuição) não são tão próximos de zero quanto deveriam, além disso são maiores do que o respetivo erro padrão.

Tabela 22- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21, estatística descritiva para a prova de normalidade de erros de Shapiro-Wilk.

Descriptives			Statistic	Std. Error
	Mean		5,9412	,38884
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5,1698	
		Upper Bound	6,7125	
	5% Trimmed Mean		6,0458	
	Median		8,0000	
	Variance		15,422	
Movim_120h	Std. Deviation		3,92712	
	Minimum		,00	
	Maximum		10,00	
	Range		10,00	
	Interquartile Range		8,25	
	Skewness		-,616	,239
	Kurtosis		-1,292	,474

Para compreender melhor quanto se afasta da normalidade os erros, existem mais algumas ferramentas. Os valores z da *skewness* e de *kurtosis* determinam-se dividindo o valor estatístico pelo respetivo erro padrão (Std. Error). O resultado deve estar entre $-1,96 < Z < +1,98$, para se considerar que existe normalidade de erros.

$$z \text{ skewness: } (-0,616/0,239) = -2.577$$

$$z \text{ kurtosis: } (-1,292/0,474) = -2.726$$

Também por aqui não há evidência estatística de normalidade de erros, embora os valores de z estejam bastante perto do intervalo de critério.

Outra ferramenta que se pode usar para avaliar o afastamento à normalidade dos error é a análise de um gráfico *Q-Q plot*.

O gráfico *Q-Q plot* da figura 33 é um método gráfico para o diagnóstico de diferenças entre a distribuição de probabilidade de uma amostra de uma população e outra usada para comparação e esperada como normal. Para que o gráfico mostre uma distribuição normal dos dados laboratoriais observados, a distribuição do número de organismos que se movimentaram e a distribuição considerada normal, terão que se dispor sobre a linha

diagonal que separa as duas distribuições. Não é propriamente o caso, mas também é possível imaginar distribuições bem piores.

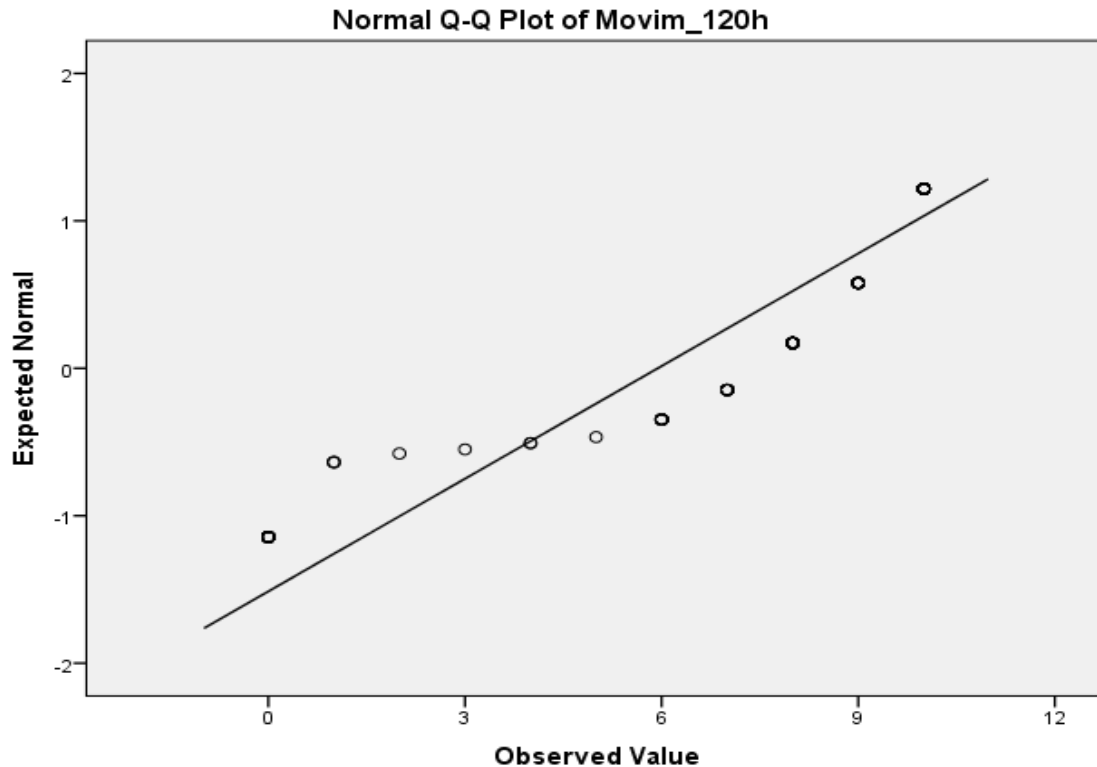


Figura 33-Gráfico (Q-Q plot) dos movimentos dos organismos usados em todos os testes ecotoxicológicos para um tempo de exposição organismo/contaminante de 120 horas.

O teste de normalidade de Shapiro-Wilk não é impeditivo da aplicação posterior do teste de análise de variância (ANOVA), que nos vai indicar se existem concentrações diferentes do controlo. No entanto, dá-nos uma ideia da robustez dos resultados obtidos na ANOVA.

O teste de normalidade de Shapiro-Wilk indica falta de normalidade dos erros mas, comprovadamente através do cálculo dos valores z e da análise do gráfico *Q-Q plot*, verifica-se que a distribuição dos erros está muito próxima da normalidade.

3.8.2.2 Prova a homogeneidade de variâncias de Levene

O teste Levene à homogeneidade de variâncias, também não é um teste impeditivo à execução posterior de uma análise de variância (ANOVA) para verificar se há grupos de concentrações diferentes do grupo de controlo.

Para a prova a homogeneidade de variâncias de Levene, é necessário introduzir no programa informático SPSS os resultados dos movimentos dos caracóis para as 120 horas.

Nesta prova:

Testa-se a hipótese nula (H_0) de que existe homogeneidade de variâncias se o valor da significância for maior do que 0,05 (Sig. > 0,05).

Tabela 23- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21 para a prova de homogeneidade de variâncias de Levene.

Test of Homogeneity of Variances			
Movim_120h			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5,224	16	85	,000

Rejeita-se a hipótese nula, não existe homogeneidade de variâncias porque Sig.= 0,000 e portanto Sig.< 0,05.

Apesar dos resultados negativos dos testes de Shapiro-Wilk e de Levene. Sabemos que a normalidade de erros está muito próxima como foi comprovado pelo cálculo de z e pela análise do *Q-Q plot* mas mais nada podemos saber relativamente à proximidades à homogeneidade de variâncias dos valores obtidos laboratorialmente. O problema poderá ser sempre resolvido através de um método não paramétrico necessariamente mais difícil de aplicar mas toma-se a decisão de avançar com uma resolução paramétrica com os valores obtidos laboratorialmente. Sendo assim passar-se à 3ª etapa, a análise de variâncias (ANOVA).

3.8.2.3 Análise de Variâncias (ANOVA)

Nesta fase vai ser indagado se existem grupos de concentração em que o efeito (movimento dos organismos) seja diferente do grupo de controlo (ensaio em branco).

Para a prova de homogeneidade de variâncias (ANOVA), é necessário introduzir no programa informático usado, os resultados dos movimentos dos caracóis para as 120 horas.

Nesta prova:

Testa-se a hipótese nula (H_0) de que não existem diferenças estatísticas nas médias dos movimentos dos grupos de concentração e do grupo de controlo se o valor da significância obtida for maior do que 0,05 (Sig. > 0,05).

Tabela 24- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21. Estatística descritiva para a prova de análise de variâncias (ANOVA).

Descriptives

Movim_120h

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					,0000	6		
100,0000	6	9,5000	,54772	,22361	8,9252	10,0748	9,00	10,00
200,0000	6	8,8333	1,16905	,47726	7,6065	10,0602	7,00	10,00
220,0000	6	8,0000	1,41421	,57735	6,5159	9,4841	6,00	10,00
240,0000	6	8,6667	1,50555	,61464	7,0867	10,2466	7,00	10,00
260,0000	6	8,8333	,98319	,40139	7,8015	9,8651	8,00	10,00
280,0000	6	8,6667	1,50555	,61464	7,0867	10,2466	6,00	10,00
300,0000	6	8,6667	1,21106	,49441	7,3957	9,9376	7,00	10,00
320,0000	6	7,8333	1,60208	,65405	6,1521	9,5146	6,00	10,00
340,0000	6	7,5000	1,64317	,67082	5,7756	9,2244	5,00	9,00
400,0000	6	7,3333	,81650	,33333	6,4765	8,1902	6,00	8,00
500,0000	6	5,5000	2,16795	,88506	3,2249	7,7751	2,00	8,00
600,0000	6	1,3333	1,75119	,71492	-,5044	3,1711	,00	4,00
700,0000	6	,3333	,51640	,21082	-,2086	,8753	,00	1,00
800,0000	6	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
900,0000	6	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
1000,0000	6	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
Total	102	5,9412	3,92712	,38884	5,1698	6,7125	,00	10,00

Tabela 25- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21 para a prova de análise de variâncias (ANOVA).

ANOVA

Movim_120h

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1434,647	16	89,665	61,964	,000
Within Groups	123,000	85	1,447		
Total	1557,647	101			

De acordo com os resultados obtidos e apresentados na Tabela 31, rejeita-se a hipótese nula (H_0), porque estatisticamente o valor da significância não é maior do que 0,05. Logo existem médias diferentes, ou seja, existe pelo menos um efeito diferente do efeito do observado no grupo de controlo.

3.8.2.4 Prova de comparação múltipla de Dunnett

Uma vez que já sabemos que existem diferenças entre as médias dos grupos de concentração, isso deverá significar que com o aumento da concentração de $NO_3^- - N$, o efeito (movimento dos gastrópodes) a partir de certo valor, passará a ser diferente do efeito produzido por este contaminante no grupo de controlo e em todos os grupos estatisticamente iguais ao grupo de controlo.

Se existirem grupos de concentração em que o efeito é diferente, tal significa que nesses grupos o NO_3^- afeta o metabolismo dos organismos. O grupo de concentração mais alta para a qual isso ainda não acontece é o NOEC. O grupo de concentração mais baixa onde se observam diferenças estatísticas para o grupo de controlo, é o correspondente ao LOEC.

Para a prova de comparação múltipla de Dunnett, é necessário introduzir no programa informático usado, os resultados dos movimentos dos caracóis para as 120 horas.

Nesta prova:

Testa-se a hipótese nula (H_0) de que o grupo de concentração é estatisticamente diferente do grupo de controlo se a significância for maior do que 0,05 (Sig. > 0,05).

Tabela 26- Relatório do programa informático IBM® SPSS® Statistics version 21, prova de comparação múltipla de Dunnett.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Movim_120h
Dunnett t (2-sided)^a

(I) Concentração	(J) Concentração	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
100,0000	,0000	-,50000	,69452	,999	-2,5225	1,5225
200,0000	,0000	-1,16667	,69452	,584	-3,1892	,8558
220,0000	,0000	-2,00000	,69452	,054	-4,0225	,0225
240,0000	,0000	-1,33333	,69452	,411	-3,3558	,6892
260,0000	,0000	-1,16667	,69452	,584	-3,1892	,8558
280,0000	,0000	-1,33333	,69452	,411	-3,3558	,6892
300,0000	,0000	-1,33333	,69452	,411	-3,3558	,6892
320,0000	,0000	-2,16667*	,69452	,029	-4,1892	-,1442
340,0000	,0000	-2,50000*	,69452	,007	-4,5225	-,4775
400,0000	,0000	-2,66667*	,69452	,003	-4,6892	-,6442
500,0000	,0000	-4,50000*	,69452	,000	-6,5225	-2,4775
600,0000	,0000	-8,66667*	,69452	,000	-10,6892	-6,6442
700,0000	,0000	-9,66667*	,69452	,000	-11,6892	-7,6442
800,0000	,0000	-10,00000*	,69452	,000	-12,0225	-7,9775
900,0000	,0000	-10,00000*	,69452	,000	-12,0225	-7,9775
1000,0000	,0000	-10,00000*	,69452	,000	-12,0225	-7,9775

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

a. Dunnett t-tests treat one group as a control, and compare all other groups against it.

O programa informático usa um asterisco junto aos valores estatisticamente diferentes do grupo de controlo. Pode-se visualizar que a concentração de 300 mg/L é a maior em que não há diferença estatística para o grupo de controlo e a concentração 320 mg/L é a primeira em que já existem diferenças estatísticas em relação ao grupo de controlo. Assim, determina-se que:

NOEC=300 mg/L de NO_3^- - N

LOEC=320 mg/L de NO_3^- - N

4 Conclusões

Segundo o Decreto-Lei n.º 236/98, que tem por objetivo estabelecer normas, critérios e objetivos de qualidade com a finalidade de proteger o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos seus principais usos, os valores de temperatura, pH, oxigénio dissolvido, consumo bioquímico de oxigénio, sólidos suspensos totais e concentração de nitratos determinados estão todos em conformidade.

Relativamente aos resultados obtidos no âmbito do trabalho de licenciatura efetuado por Jorge e Cruz em 2014, pode dizer-se que existem diferenças significativas ao nível dos parâmetros CBO₅ e SST. Os valores de CBO₅ e SST determinados em 2014 possuem maior amplitude.

A medição dos gastrópodes indica que estatisticamente não existem diferenças significativas entre a média dos tamanhos dos organismos usados para as diferentes concentrações estudadas, o que garante que a idade dos organismos não tem influência na sua resposta à exposição ao ião nitrato.

O estudo das repostas dos gastrópodes *Lymnaeidae pulmonata* revelou que a concentração de ião nitrato que é letal para metade da população (LC₅₀) em 120 horas de exposição é de 748,4 mg/L $NO_3^- - N$, que para o mesmo tempo de exposição a concentração mais alta em que ainda não se observam efeitos deletérios (redução dos movimentos) é de 300 mg/L $NO_3^- - N$ e a concentração mais baixa em que já se observam efeitos é de 320 mg/L $NO_3^- - N$. Verifica-se que no ponto de amostragem em que foram recolhidos os gastrópodes (Ponte do Prado) a concentração é muito menor (0,561 mg $NO_3^- - N$) do que aquela que este estudo demonstrou produzir efeitos deletérios nos gastrópodes testados. No entanto, tratou-se de um teste estático sem renovação que não se pode prolongar muito no tempo devido, por um lado, à diminuição do teor de oxigénio e do contaminante dissolvido usados nos processos metabólicos e por outro lado, ao aumento dos produtos residuais dos mesmos processos metabólicos. Sendo o bioindicador usado nitidamente lento na avaliação deste contaminante, poder-se-á equacionar se um ensaio com recirculação e admissão de fluxo não poderá mostrar os mesmos efeitos deletérios estudados para concentrações mais baixas durante

tempos de exposição muito maiores, da ordem das semanas e meses, que são impraticáveis no âmbito de um trabalho de mestrado.

As diferenças entre os valores de concentração de íão nitrato obtidas neste estudo e outras obtidas no âmbito do trabalho de licenciatura efetuado por Jorge e Cruz em 2014, não são particularmente diferentes, observando-se que todos os resultados de ambos os trabalhos variam entre 0,561 e 1,621 mg/L $NO_3^- - N$, sendo assim muito distantes dos valores máximos admitidos por lei para águas de consumo humano e de rega que é de 5,648 mg/L $NO_3^- - N$ ou seja, 50 mg/L NO_3^- . Isto reforça a ideia de que, mesmo com um teste com recirculação, os valores atualmente determinados de íão nitrato em diferentes locais do rio Nabão não produzirão efeitos na espécie de organismos estudada em termos de NOEC e de LOEC e muito menos em termos de LC₅₀. Com base nestas conclusões e ao contrário da suspeição inicial, é possível afirmar que não é a concentração de íão nitrato a responsável pela inexistência de gastrópodes da espécie estudada no percurso do rio entre a ETAR do Alto Nabão e o Agroal. Dado que também não foram encontrados organismos desta espécie a montante da ETAR do Alto Nabão, é possível que a explicação para esta ausência tenha a ver com a sazonalidade do curso de água que seca no período estival no seu percurso a montante do Agroal.

Em futuros trabalhos poderá ser estudada a exposição dos gastrópodes *Lymnaeidae pulmonata* em testes com recirculação ou em alternativa, através da exposição em gaiolas de rede *in situ*. Um estudo deste tipo poderá indicar se, antes da grande diluição sofrida no Agroal, algum contaminante presente na água do rio é o responsável pela ausência dos gastrópodes a montante do Agroal ou se a causa dessa ausência é mesmo a sazonalidade.

5 Bibliografia

Abreu, Â.A.V., Identificação de bactérias filamentosas em processos de lamas ativadas através da técnica de hibridação *in-situ* de fluorescência (FISH), Dissertação de Mestrado em tecnologia do ambiente, na Universidade do Minho, 2004.

Akunna JC, Bizeau C, Moletta R: Nitrate and Nitrite Reductions with Anaerobic Sludge using Various Carbon Sources:Glucose, Glycerol, Acetic Acid, Lactic Acid and Methanol. *Water Res* 1993, 27:1303-1312.

Alba-Tercedor, J., Sánchez-Ortega, A., 1988. Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corrientes basado en el de Hellawell (1978). *Limnetica* 4:51-56.

Baillod, C. R., Cressey, G. M. & Beaupre, R. T. (1977). Influence of phosphorus removal on solids budget. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 49, 131-45.

Bhumbla, D.K. Agriculture practices and nitrate pollution of water.Disponível em: <http://www.wvu.edu/~agexten/pubnwsltr/TRIM/3623.pdf> . Acesso em : 19 de Fev. 2015.

Bicudo, C.E.M. & Bicudo, D.C.2004. *Amostragem em limnologia*. Rima, São Carlos-SP 346p.

Branco, S.M. *Hidrobiologia aplicada à engenharia sanitária*. Sao Paulo: Cetesb, 1978. 620 p.

Branco, S.M.; ROCHA, A.A. *Poluição, proteção e usos múltiplos de represas*. Sao Paulo: Edgard Blucher, 1979. 185 p.

Buss, D.F., Baptista, D.F., Neissimian, J.L., 2003. Bases conceituais para a aplicação de bio monitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. *Caderno Saúde Pública* **19**: 465-473

Câmara Municipal de Ourém, despoluição das bacias de Seiça e Alto Nabão – ETAR's, volume 1 – tomo 1 – Memória descritiva, Lisboa, 1996.

Carvalho, E.M. & Uieda, V.S. 2004. Colonização por macroinvertebrados bentônicos em substrato artificial e natural em um riacho da serra de Itatinga, São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de zoologia*, 21 (2): 287-293.

Clifford D, Liu X: Ion Exchange for Nitrate Removal. *J Am Water Works Assoc* 1993, 85:135-143.

Cortes, R., Pinto, P., Ferreira, M. T., Moreira, I., 2002. Qualidade biológica dos ecossistemas fluviais. In: *Ecossistemas Aquáticos e Ribeirinhos, Ecologia, Gestão e Conservação*. Eds: Moreira, I., Ferreira, M.T., Cortes, R. M. V., Pinto, P., Almeida, P.R. Instituto da Água, Direcção de Serviços do Planeamento **9**: 3-26.

Day J., 2000. Biomonitoring: appropriate technology for the 21st century. 1st Warfsa/WaterNet Symposium: Sustainable Use of Water Resources, Maputo, 1-2 November.

Delentoft E: Biological Treatment of a High Strength Nitrogen Wastewater. In *Environmental Biotechnology*. Edited by Verachtert H, Verstraete W. Antwerp: Koninklijke Vlaamse Ingenieursvereniging vzw; 1991:45-48.

Draaijer H, Buunen-van Bergen AHM, van't Oever E, Schellen AAJC: Full Scale Experiences with Nutrient Removal at Two Wastewater Treatment Plants in the Netherlands. *Water Set Technol* 1993, 27:343-355.

Duncan, C.J. 1960. The genital systems of the freshwater Basommatophora. Proceedings of the Zoological Society of London 135: 339-356.

Eaton, D.P. 2003. Macroinvertebrados aquáticos como indicadores ambientais da qualidade da água. Pp 43-67. *In*: J.Cullen, R, Rudran&C. Valladares-Padua, (org.), Metodos de estudo em biologia da conservação e manejo da vida silvestre. Editora UFPR, Curitiba- PR 667p.

Farchill D, Goldstein M, Kanarek A, Aharoni A: Biological Nutrient Removal in a Single-Sludge Plant. *Water Set Technol* 1993, 27:63-70.

Fromming, E., 1956. Biologie der mitteleuropäischen Süßwasserdchnecken. Berlin 311 pp.

Harry, H.W. 1964. The anatomy of *Chilina fluctuosa* Gray reexamined with prolegomena on the phylogeny of the higher limnic Basommatophora (Gastropoda: Pulmonata). *Malacologia* 1: 355- 385.

Hubendick, B. 1951. Recent Lymnaeidae their Variation, Morphology, Taxonomy, Nomenclature, and Distribution. Svenska Vetensk. Akad. Handl. Stockholm 3 (1): 223 pp.

Hubendick, B. 1978. Systematics and Comparative Morphology of the Basommatophora. In V. Fretter and Peake (eds.). Pulmonates, Vol. 2 A, pp. 1-48.

Hyman, L.H. 1967. The Invertebrates, vol. 6: Mollusca I. Mc Graw-Hill Book Co., New York, VII + 792 pp, 249 figs.

INAG, I. P., 2008. *Tipologia de rios em Portugal Continental no âmbito da implementação da Diretiva Quadro da Água. I - Caracterização abiótica*. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Instituto da Água, Lisboa.

Jackiewicz, M., 1993. Die Mantelpigmentation als Diagnosemerkmal bei Schlammschnecken (Gastropoda, Pulmonata: Lymnaeidae). *Malak. Abh. Mus. Tierkd. Dresden* 16 (19): 165-172.

Jackiewicz, M., Koralewska-Batura, E., 1995. The shell surface sculpture of Lymnaeidae (Gastropoda: Pulmonata: Basommatophora). *Malak. Abh. Mus. Tierkd. Dresden* 17 (17): 191-197.

Jorge, FMA. Cruz FAM. – “ Monitorização e estudo da qualidade da água do rio Nabão”, Projeto no âmbito da licenciatura em engenharia do ambiente e biológica, Escola Superior de Tecnologia de Tomar, Instituto Politécnico, 2013/2014.

Kern-Jespersen JP, Henze M: Biological Phosphorus Up-take under Anoxic and Aerobic Conditions. *Water Res* 1993,27:617-624.

Kuba T, Smolders G, van Loosdrecht MCM, Heijnen JJ: Biological Phosphorus Removal from Wastewater by Anaerobic-Anoxic Sequencing Batch Reactor. *Water Set Technol* 1993,27:241-252.

Leme, J.L.M. 1995. Morfologia Geral dos Moluscos, em particular da Classe Gastropoda. *In* F.S. Barbosa (Org.) *Tópicos em Malacologia Médica*, 15-49. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro.

Licença de descarga de águas residuais nº 27/CM/DSGA/06, 2007.

Liessens J, Germonpré, Kersters I, Beemaert S, Verstraete W: Removing Nitrate with a Methylophilic Fluidized Bed: Microbiological Water Quality. *J Am Water Works Assoc* 1993, 85:155-161.

Ludwig W, Mittenhuber G, Friedrich CG: Transfer of *Thiosphaera pantotropha* to *Paracoccus denitrificans*. *Int J Syst Bacteriol* 1993, 43:363-367.

Merrill, D. T. & Jorden, R. M. (1975). Lime-induced reactions in municipal wastewaters. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 47, 2783-808.

Metcalf e Eddy, Wastwater Engineering- Treatment, Disposal and Reuse, 3^a Ed., TATA McGraw-Hill edition, 1991.

Metcalf-Smith, J. L. 1994. Biological Water-Quality Assessment of Rivers: Use of Macroinvertebrate Communities. *In: CALOW, P. & PETTS, G. E. (eds.) The Rivers Handbook*. Hydrological and Ecological Principles. Volume 2, 144-170, Blackwell Science, Oxford.

Michalkiewicz, M., 1993. Miêczaki (Mollusca) jako składnik makrozoobentosu wybranych jezior Wielkopolski i ich rola w ocenie stopnia zanieczyszczenia wód powierzchniowych (unpublished Ph. D. thesis).

Nugent, M.; Kamrim, M.A; Wolfson, L; Ditre, F.M. Nitrate: a drinking water concern Michigan State University Extension Service, Extension bulletin WQ-19. Disponível em: <http://www.gem.msu.edu/pubs/msue> . Acesso em 19 Fev. 2015.

Oliveira, M.P & M.N. Almeida. 2000. Malacologia. Editar Editora Associada, Juiz de Fora, 216 pp.

Ourémviva, Manual de funcionamento da ETAR do Alto Nabão, sd..

Piechocki, A., 1979. Miêczaki (Mollusca). Slimaki (Gastropoda). Fauna slodkow. Pol. 7. Warszawa-Poznan´ 187 pp.

Preuss A, Fimpel J, Diekert G: Anaerobic Transformation of 2,4,6-Trinitrotoluene (TNT). *Arch Mtcrobiol* 1993, 159:345-353.

Robertson LA, Kuenen JG: Nitrogen Removal from Water and Waste. In *Microbial Control of Pollution. Society for General Microbiology Symposium 48*. Edited by Fry JC, Gadd GM,

Herbert RA, Jones CW, Watson-Craik IA. Cambridge: Cambridge University Press; 1992:227-267.

Rosa, M. (2012). Sebenta das aulas de ecotoxicologia. Tomar: Instituto Politécnico de Tomar.

Sakakibara Y, Kuroda: Electric Prompting and Control of Denitrification. *Biotechnol Bioeng* 1993, 42:535-537.

Scott, D. S. (1973). Use and production of iron salts for phosphorus removal. Research Report No. 5, Environment Canada.

Silveira, M.P & Queiroz, J.F. 2006. *Uso de coletores com substrato artificial para monitoramento biológico de qualidade de água. Embrapa Meio Ambiente*, 39:1-5.

Singer, P. C. (1970). Oxygenation of ferrous iron. *Water Pollut. Control Res. Series* 14010-06/69, FWPCA, US Department of the Interior, Washington, DC.

Smith, G.R; VAALA, D.A. & DINGFELDER, H.A. 2003. Distribution and abundance of macroinvertebrates within two temporary ponds. *Hydrobiologia*, 497:161-167.

Thomann, R.V.; MUELLER, J.A. *Principles of surface water quality modeling and control*. [s.l]:Harper International Edition, 1987. 644 p.

Thomsen JK, Lonsmann Iversen JJ, Cox RP: Interactions between **Respiration and Denitrification** during Growth of *Thiosphaera pantotropha* in Continuous Culture. *FEMS Microbtol Lett* 1993, 110:319-324.

Tiedje JM: Ecology of Denitrification and Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonia. In *Biolog, of Anaerobic Microorganisms*. Edited by Zehnder AJB. New York: John Wiley; 1988:179-244.

Vidal-Abarca, M.R; Suárez, M.L, Gómez, R.; Guerrero, C. Sánteiz-Montoya, M.M. & Velasco, J.2004. Intra annual variation in benthic organic matter in a saline, semi-arid stream of southeast Spain(Chicamo stream). *Hidrobiologia*, 523: 199-215.

Von Sperling, E. Pollution of urban lakes: causes, consequences and restoration techniques. In: *ECOURBS'95*. Rio de Janeiro: [s.e], 1995. p.18.

Von Sperling, M. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. In: *Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgoto*. 3a ed. Minas Gerais: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFMG, v.1, 452 p, 2005.

Zublena, J.P; Cook, M.G; ST Clair, M.B. Pollutants in groundwater: health effects.

Zumft WG: The Denitrifying Prokaryotes. In *The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, F, Isolation, Identification, Applications*, vol 1, 2nd edn. Edited by Balows A, Tr0per HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer K-H. Heidelberg: Springer; 1992:554--582.

6 Anexos

Anexo A

3676

DIÁRIO DA REPÚBLICA — I SÉRIE-A

N.º 176 — 1-8-1998

MINISTÉRIO DO AMBIENTE

Decreto-Lei n.º 236/98

de 1 de Agosto

Após oito anos de experiência na aplicação do Decreto-Lei n.º 74/90, de 7 de Março, considera-se oportuno proceder a uma revisão do seu regime jurídico no sentido de reforçar a operacionalidade dos objectivos visados com este diploma e resolver o contencioso resultante da incompleta e, por vezes, incorrecta transposição das várias directivas comunitárias relativas à qualidade da água.

Numa perspectiva de protecção da saúde pública, de gestão integrada dos recursos hídricos e de preservação do ambiente, pretende-se também com este novo diploma legal clarificar as competências das várias entidades intervenientes no domínio da qualidade da água, bem como conciliar esta matéria com alterações legislativas que ocorreram após a entrada em vigor do diploma em apreço e que com ele se relacionam, como sejam as alterações decorrentes dos Decretos-Leis n.ºs 45/94, de 22 de Fevereiro, e 46/94, da mesma data, relativos, respectivamente, ao planeamento dos recursos hídricos e ao licenciamento das utilizações do domínio hídrico.

Embora o presente projecto proceda à revogação de um decreto-lei emitido ao abrigo de autorização legislativa, a matéria de que trata não se insere no âmbito da competência legislativa reservada da Assembleia da República, quer porque não cuida do regime de bens do domínio público quer ainda porque se atém ao regime geral das contra-ordenações.

Constituindo as águas superficiais, por princípio, um bem do domínio público e tratando o presente diploma destas águas (a par com outras já de natureza privada), fá-lo ou no âmbito do regime de licenciamento contido no Decreto-Lei n.º 46/94 (autorizado), ou no sentido de garantir uma actuação da Administração que preserve e melhore a qualidade das águas visando potenciar o seu uso público de uma forma que, desde logo, não ponha em causa a saúde pública.

As normas constantes deste diploma atinentes às águas públicas deixam incólume o regime do Decreto-Lei n.º 46/94 — diploma inexistente aquando da emissão do Decreto-Lei n.º 74/90 —, mais não fazendo do que limitar o amplo poder discricionário deixado pelo legislador de 1994 nas mãos da Administração no procedimento tendente à autorização da sua utilização privativa. É, assim, imposta à Administração uma actuação destinada a garantir que, em termos da qualidade da água, as expectativas do utilizador não são postas em causa.

Foi ouvida a Associação Nacional de Municípios Portugueses.

Foram ouvidos os órgãos de governo próprio das Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira.

Assim, nos termos do n.º 5 do artigo 112.º e da alínea a) do n.º 1 do artigo 198.º da Constituição, o Governo decreta o seguinte:

CAPÍTULO I

Disposições gerais

Artigo 1.º

Objectivo

O presente diploma estabelece normas, critérios e objectivos de qualidade com a finalidade de proteger

o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos seus principais usos.

Artigo 2.º

Âmbito

1 — Para a prossecução do objectivo mencionado no artigo anterior, o presente diploma define os requisitos a observar na utilização das águas para os seguintes fins:

- a) Águas para consumo humano:
 - a1) Águas doces superficiais destinadas à produção de água para consumo humano;
 - a2) Águas subterrâneas destinadas à produção de água para consumo humano;
 - a3) Águas de abastecimento para consumo humano;
- b) Águas para suporte da vida aquícola:
 - b1) Águas doces superficiais para fins aquícolas — águas piscícolas;
 - b2) Águas do litoral e salobras para fins aquícolas — águas conquícolas;
 - b3) Águas do litoral e salobras para fins aquícolas — águas piscícolas;
- c) Águas balneares;
- d) Águas de rega.

2 — São ainda definidas no presente diploma as normas de descarga das águas residuais na água e no solo, visando a promoção da qualidade do meio aquático e a protecção da saúde pública e dos solos.

3 — São excluídas do âmbito de aplicação do presente diploma as seguintes categorias de água:

- a) Águas minerais naturais;
- b) Águas de nascente, nos parâmetros de qualidade que são contemplados em legislação específica;
- c) Águas utilizadas na recarga de lençóis freáticos;
- d) Águas que pelos usos específicos requeiram características de qualidade diferentes;
- e) Águas para uso industrial, excepto aquelas a que se refere o artigo 20.º;
- f) Águas destinadas a fins terapêuticos, a piscinas e a outros recintos com diversões aquáticas;
- g) Águas de bacias naturais ou artificiais utilizadas para a criação intensiva de peixes.

4 — São ainda excluídas do âmbito de aplicação do presente diploma as seguintes descargas de águas residuais, que são objecto de legislação específica:

- a) Descarga de lodos de dragagem;
- b) Descargas operacionais nas águas do mar territorial, efectuadas a partir de navios;
- c) Imersão de resíduos nas águas do mar territorial, efectuadas a partir de navios;
- d) Descargas de águas que contenham substâncias radioactivas.

5 — A aplicação das disposições do presente diploma não poderá, em caso algum, ter como efeito, directo ou indirecto, a deterioração da qualidade das águas.

Artigo 83.º

Norma revogatória

1 — É revogado o Decreto-Lei n.º 74/90, de 7 de Março, mantendo-se em vigor as Portarias n.ºs 809/90, de 10 de Setembro, 810/90, de 10 de Setembro, 505/92, de 19 de Junho, 512/92, de 22 de Junho, 1030/93, de 14 de Outubro, 1033/93, de 15 de Outubro, 1049/93, de 19 de Outubro, 895/94, de 3 de Outubro, 1147/94, de 26 de Dezembro, e 423/97, de 25 de Junho.

2 — É revogada a Portaria n.º 632/94, de 15 de Julho.

3 — Os acordos sectoriais, também designados por acordos voluntários, e os contratos de adaptação ambiental celebrados durante a vigência do Decreto-Lei n.º 74/90, de 7 de Março, mantêm-se em vigor até ao seu termo.

4 — A captação de águas subterrâneas destinada ao abastecimento público, independentemente das caracte-

terísticas que revista, carece de título de utilização do domínio hídrico, a emitir nos termos gerais constantes do Decreto-Lei n.º 46/94, de 22 de Fevereiro.

Visto e aprovado em Conselho de Ministros de 4 de Junho de 1998. — António Manuel de Oliveira Guterres — Elisa Maria da Costa Guimarães Feneira.

Promulgado em 8 de Julho de 1998.

Publique-se.

O Presidente da República, JORGE SAMPAIO.

Referendado em 14 de Julho de 1998.

O Primeiro-Ministro, António Manuel de Oliveira Guterres.

ANEXO I

Qualidade das águas doces superficiais destinadas à produção de água para consumo humano

Parâmetros	Expressão dos resultados	A1		A2		A3	
		VMR	VMA	VMR	VMA	VMR	VMA
pH, 25°C	Escala de Sorensen	6,5-8,5	—	5,5-9,0	—	5,5-9,0	—
Cor (após filtração simples)	mg/l, escala Pt-Co	10	(O) 20	50	(O) 100	50	(O) 200
Sólidos suspensos totais	mg/l	25	—	—	—	—	—
Temperatura	°C	22	(O) 25	22	(O) 25	22	(O) 25
Condutividade	µS/cm, 20°C	1 000	—	1 000	—	1 000	—
Cheiro	Factor de diluição, a 25°C	3	—	10	—	20	—
Nitratos (*)	mg/l NO ₃	25	(O) 50	—	(O) 50	—	(O) 50
Fluoretos (1)	mg/l F	0,7-1,0	1,5	0,7-1,7	—	0,7-1,7	—
Cloro orgânico total extraível	mg/l Cl	—	—	—	—	—	—
Ferro dissolvido (*)	mg/l Fe	0,1	0,3	1,0	2,0	1,0	—
Manganês (*)	mg/l Mn	0,05	—	0,10	—	1,00	—
Cobre	mg/l Cu	0,02	(O) 0,05	0,05	—	1,00	—
Zinco	mg/l Zn	0,5	3,0	1,0	5,0	1,0	5,0
Boro	mg/l B	1,0	—	1,0	—	1,0	—
Berílio	mg/l Be	—	—	—	—	—	—
Cobalto	mg/l Co	—	—	—	—	—	—
Níquel	mg/l Ni	—	—	—	—	—	—
Vanádio	mg/l V	—	—	—	—	—	—
Arsénio	mg/l As	0,01	0,05	—	0,05	0,05	0,10
Cádmio	mg/l Cd	0,001	0,005	0,001	0,005	0,001	0,005
Crómio total	mg/l Cr	—	0,05	—	0,05	—	0,05
Chumbo	mg/l Pb	—	0,05	—	0,05	—	0,05
Selénio	mg/l Se	—	0,01	—	0,01	—	0,01
Mercurio	mg/l Hg	0,0005	0,0010	0,0005	0,0010	0,0005	0,0010
Bário	mg/l Ba	—	0,1	—	1,0	—	1,0
Cianetos	mg/l CN	—	0,05	—	0,05	—	0,05
Sulfatos	mg/l SO ₄	150	250	150	(O) 250	150	(O) 250
Cloretos	mg/l Cl	200	—	200	—	200	—
Substâncias tensoactivas (que reagem com o azul-de-metileno).	mg/l, sulfato de lauril e sódio	0,2	—	0,2	—	0,5	—
Fosfatos (*) (2)	mg/l P ₂ O ₅	0,4	—	0,7	—	0,7	—
Fenóis	mg/l C ₆ H ₅ OH	—	0,001	0,001	0,005	0,010	0,100
Hidrocarbonetos dissolvidos ou emulsionados	mg/l	—	0,05	—	0,20	0,50	1,00
Hidrocarbonetos aromáticos polinucleares	µg/l	—	0,2	—	0,2	—	1,0
Pesticidas totais (paratião, hexaclorociclo-hexano, dieldrina e outros).	µg/l	—	1,0	—	2,5	—	5,0
Carência química de oxigénio (CQO) (*)	mg/l O ₂	—	—	—	—	30	—
Oxigénio dissolvido (*) (3)	% saturação de O ₂	70	—	50	—	30	—
Carência bioquímica de oxigénio a (CBO ₅ , 20°C) (*)	mg/l O ₂	3	—	5	—	7	—
Azoto Kjeldahl (excluindo o azoto de NO ₂ e NO ₃)	mg/l N	1	—	2	—	3	—
Azoto amoniacal	mg/l NH ₄	0,05	—	1,00	1,50	2,00	(O) 4,00
Substâncias extraíveis com clorofórmio	mg/l	0,1	—	0,2	—	0,5	—
Carbono orgânico total (COT)	mg/l C	—	—	—	—	—	—

Parâmetros	Expressão dos resultados	A1		A2		A3	
		VMR	VMA	VMR	VMA	VMR	VMA
Carbono orgânico residual após floculação e filtração através de membrana (5µm).	mg/l C	—	—	—	—	—	—
Coliformes totais	/100 ml	50	—	5 000	—	50 000	—
Coliformes fecais	/100 ml	20	—	2 000	—	20 000	—
Estreptococos fecais	/100 ml	20	—	1 000	—	10 000	—
Salmonelas		Ausência em 5 000 ml	—	Ausência em 1 000 ml	—	—	—

(0) Os limites podem ser excedidos em caso de condições geográficas ou meteorológicas excepcionais (n.º 1 do artigo 10.º).

(*) Os limites podem ser excedidos para os parâmetros marcados com * em lagos de pouca profundidade e baixa taxa de renovação.

(1) Os valores indicados constituem os limites inferior e superior das concentrações, determinados em função da média anual das temperaturas máximas diárias.

(2) Este parâmetro é incluído para satisfazer as exigências ecológicas de certos meios.

(3) Refere-se a um VmR.

VMR — valor máximo recomendado.

VMA — valor máximo admissível.

ANEXO II

Esquemas tipo de tratamento referentes às classes A1, A2 e A3 das águas superficiais

Classe A1 — tratamento físico e desinfecção.

Classe A2 — tratamento físico e químico e desinfecção.

Classe A3 — tratamento físico, químico de afinação e desinfecção.

ANEXO III

Métodos analíticos de referência para águas superficiais

Parâmetros	Expressão dos resultados	Limite de detecção	Precisão (±)	Exactidão (±)	Métodos analíticos de referência (1)
pH, 25°C	Escala de Sorensen	—	0,1	0,2	Electrometria.
Cor (após filtração simples)	mg/l, escala Pt-Co	5	10 %	20 %	Método fotométrico, após filtração simples, com padrões da escala platina-cobalto.
Sólidos suspensos totais	mg/l	—	5 %	10 %	Centrifugação (tempo mínimo de cinco minutos; aceleração média de 2800 g a 3200 g), secagem a 105°C e pesagem. Filtração através de membrana filtrante de 0,45 µm, secagem a 105°C e pesagem.
Temperatura	°C	—	0,5	1,0	Termometria.
Condutividade	µS/cm, 20°C	—	5 %	10 %	Electrometria.
Cheiro	Factor de diluição, a 25°C	—	—	—	Diluição sucessiva®.
Nitratos	mg/l NO ₃	2	10 %	20 %	Espectrometria de absorção molecular.
Fluoretos	mg/l F	0,05	10 %	20 %	Espectrometria de absorção molecular. Eléctrodos específicos.
Cloro orgânico total extraível	mg/l Cl	—	—	—	—
Ferro dissolvido	mg/l Fe	0,02	10 %	20 %	Espectrometria atómica após filtração sobre membrana filtrante (0,45 µm). Espectrometria de absorção molecular após filtração sobre membrana filtrante (0,45 µm).
Manganês	mg/l Mn	(2) 0,01	10 %	20 %	Espectrometria atómica.
		(3) 0,02	10 %	20 %	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.

Parâmetros	Expressão dos resultados	Límite de detecção	Precisão (±)	Exactidão (±)	Métodos analíticos de referência (1)
Cobre (10)	mg/l Cu	0,005	10%	20%	Espectrometria atómica.
		(4) 0,02	10%	20%	Espectrometria de absorção molecular.
Zinco (10)	mg/l Zn	(2) 0,01	10%	20%	Espectrometria atómica.
		0,02	10%	20%	Espectrometria de absorção molecular.
Boro (10)	mg/l B	0,1	10%	20%	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular Ø.
Berílio	mg/l Be	—	—	—	
Cobalto	mg/l Co	—	—	—	
Níquel	mg/l Ni	—	—	—	Espectrometria atómica.
Vanádio	mg/l V	—	—	—	
Arsénio (10)	mg/l As	(2) 0,002	20%	20%	Espectrometria atómica.
		(5) 0,01			Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.
Cádmio (10)	mg/l Cd	0,0002 (2) 0,001	30%	30%	Espectrometria atómica. Polarografia.
Crómio total (10)	mg/l Cr	0,01	20%	30%	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.
Chumbo (10)	mg/l Pb	0,01	20%	30%	Espectrometria atómica. Polarografia.
Selénio (10)	mg/l Se	0,005	—	—	Espectrometria atómica.
Mercurio (10)	mg/l Hg	0,001 (2) 0,0002	30%	30%	Espectrometria atómica sem chama (vaporização a frio).
Bário (10)	mg/l Ba	0,02	15%	30%	Espectrometria atómica.
Cianetos	mg/l CN	0,01	20%	30%	Espectrometria de absorção molecular.
Sulfatos	mg/l SO ₄	10	10%	10%	Análise gravimétrica. Complexometria com EDTA. Espectrometria de absorção molecular.
Cloretos	mg/l Cl	10	10%	10%	Titulação (método de Mohr). Espectrometria de absorção molecular.
Substâncias tensoactivas (que reagem com o azul-de-metileno).	mg/l, sulfato de laurilo e sódio	0,05	20%		Espectrometria de absorção molecular.
Fosfatos	mg/l P ₂ O ₅	0,02	10%	20%	Espectrometria de absorção molecular.
Fenóis	mg/l C ₆ H ₅ OH	0,0005 (6) 0,001	0,0005 30%	0,0005 50%	Espectrometria de absorção molecular ®. Método de 4-aminoantipirina ®. Método da paranitranilina ®.
Hidrocarbonetos dissolvidos ou emulsionados.	mg/l	0,01	20%	30%	Espectrometria no infravermelho após extração pelo tetracloreto de carbono ®.
		(3) 0,04			Gravimetria após extração por meio de éter de petróleo ®.

Parâmetros	Expressão dos resultados	Limite de detecção	Precisão (±)	Exactidão (±)	Métodos analíticos de referência (1)
Hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (10).	µg/l	0,04	50%	50%	Medição da fluorescência por ultravioleta após cromatografia em camada fina. Medição comparativa em relação a uma mistura de controlo constituída por seis substâncias padrão com a mesma concentração (8) □.
Pesticidas totais (paratião, hexacloro-ciclo-hexano, dieldrina e outros) (10).	µg/l	0,1	50%	50%	Cromatografia em fase gasosa ou líquida após extracção por solventes adequados e purificação. Identificação dos constituintes da mistura. Determinação quantitativa (9) ®.
Carência química de oxigénio (CQO)	mg/l O ₂	15	20%	20%	Método do dicromato de potássio.
Oxigénio dissolvido	% saturação de O ₂	5	10%	10%	Método de Winkler ®. Método electroquímico ®.
Carência bioquímica de oxigénio (CBO ₅ , 20°C).	mg/l O ₂	2	1,5	2	Determinação de O ₂ dissolvido antes e após cinco dias de incubação a 20°C ± 1°C ao abrigo da luz, com adição de um inibidor da nitrificação.
Azoto Kjeldahl (não inclui o azoto de NO ₂ e NO ₃).	mg/l N	0,5	0,5	0,5	Mineralização, destilação segundo o método Kjeldahl e determinação do amónio por espectrometria de absorção molecular ou titulação.
Azoto amoniacal	mg/l NH ₄	(2) 0,01 (3) 0,1	(2) 0,03 (3) 10%	(2) 0,03 (3) 20%	Espectrometria de absorção molecular.
Substâncias extraíveis com clorofórmio.	mg/l	(11)	—	—	Extracção a pH neutro com clorofórmio purificado, evaporação no vácuo à temperatura ambiente e pesagem do resíduo ®.
Carbono orgânico total (COT)	mg/l C	—	—	—	
Carbono orgânico residual após floculação e filtração através de membrana (5 µm).	mg/l C	—	—	—	
Coliformes totais	/100 ml	(2) 5 (7) 500			Cultura a 37°C em meio sólido específico adequado para o efeito com (2) ou sem (7) filtração e contagem das colónias. As amostras devem ser diluídas ou, quando apropriado, concentradas a fim de que o número de colónias fique compreendido entre 10 e 100. Identificação por detecção de gás, se necessária*. Método de diluição com fermentação em substratos líquidos em pelo menos três tubos em três diluições. Subcultura dos tubos positivos em meios de confirmação. Contagem em número mais provável (NMP). Temperatura de incubação 37°C ± 1°C*.
Coliformes fecais	/100 ml	(2) 2 (7) 200			Cultura a 44°C em meio sólido específico adequado com (2) ou sem (7) filtração e contagem das colónias. As amostras devem ser diluídas ou, quando apropriado, concentradas a fim de que o número de colónias fique compreendido entre 10 e 100. Se necessário, identificação por gás*. Método de diluição com fermentação em substratos líquidos em pelo menos três tubos em três diluições. Subculturas dos tubos positivos como meios de confirmação. Contagem em número mais provável (NMP). Temperatura de incubação 44°C ± 0,5°C*.

Parâmetros	Expressão dos resultados	Limite de detecção	Precisão (±)	Exactidão (±)	Métodos analíticos de referência (1)
Estreptococos fecais	/100 ml	(2) 2 (7) 200			Cultura a 37°C em meio sólido específico adequado com (2) ou sem (7) filtração e contagem de colónias. As amostras devem ser diluídas ou concentradas a fim de que o número de colónias fique compreendido entre 10 e 100*. Método de diluição em caldo de azoto de sódio em pelo menos três tubos para cada uma das três diluições. Contagem segundo NMP*.
Salmonelas (12)		1/5000 ml 1/1000 ml			Concentração por filtração (através de membrana ou filtro apropriado). Sementeira em meio de pré-enriquecimento. Enriquecimento, subcultura em meio de isolamento. Identificação*.

(1) As amostras das águas superficiais são analisadas e medidas após sofrerem uma tamisação com rede metálica, a fim de eliminar os resíduos flutuantes, tais como partículas de madeira e plástico.

(2) Para VMR das águas de classe A1.

(3) Para as águas de classes A2 e A3.

(4) Para as águas de classe A3.

(5) Para o VMA das águas de classes A1, A2 e A3.

(6) Para o VMA das águas de classe A2 e para as águas de classe A3.

(7) Para o VMR das águas de classes A2 e A3.

(8) Mistura de seis substâncias padrão a tomar em consideração e que têm a mesma concentração: fluoranteno, benzo [3,4] fluoranteno; benzo [11,12] fluoranteno; benzo [3,4] pireno; benzo [1,12] pireno; indeno [1,2,3-cd] pireno.

(9) Mistura de três substâncias a tomar em consideração e tendo a mesma concentração: paratão, hexaclorociclo-hexano, dieldrina.

(10) Se a concentração das amostras em sólidos em suspensão for tão elevada que elas necessitem de um tratamento prévio especial, poderão excepcionalmente ser ultrapassados os valores de exactidão que constam do presente anexo, e estes constituirão um objectivo. Estas amostras devem ser tratadas de modo a garantir que a maior parte das substâncias a determinar seja analisada.

(11) No caso de não ser este o método utilizado, poderá não ser possível garantir o limite de detecção necessário para controlo dos valores constantes do anexo II.

(12) Ausência em 5000 ml (A1, VMR) e ausência em 1000 ml (A2, VMR).

Material recomendado para o recipiente:

- ⊗ — vidro;
- * — vidro esterilizado;
- — vidro ou alumínio;
- ⊗ — sem quantidades significativas de boro.

ANEXO IV

Frequência mínima de amostragem e de análise de águas superficiais (*)

	Classe de água								
	A1			A2			A3		
	Grupo de parâmetros								
	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3
Frequência mínima (número/ano)	4	2	1	8	4	2	12	6	3

(*) A determinação dos parâmetros correspondentes ao grupo G2 implica, em simultâneo, a determinação dos parâmetros contidos em G1 e, idênticamente para G3, implica G2 e G1.

ANEXO V

Classificação dos parâmetros de qualidade de águas superficiais em grupos (G1, G2 e G3) segundo a frequência de amostragem e de análise

G1	G2	G3
<p>pH</p> <p>Cor</p> <p>Sólidos suspensos totais</p> <p>Temperatura</p> <p>Condutividade eléctrica</p> <p>Cheiro</p> <p>Nitratos</p> <p>Cloratos</p> <p>Fosfatos</p> <p>Carência química de oxigénio (CQO)</p> <p>Oxigénio dissolvido</p> <p>Carência bioquímica de oxigénio (CBO₅)</p> <p>Azoto amoniacal</p> <p>Coliformes totais</p> <p>Coliformes fecais</p>	<p>Ferro dissolvido</p> <p>Manganês</p> <p>Cobre</p> <p>Zinco</p> <p>Sulfatos</p> <p>Substâncias tensoactivas</p> <p>Fenóis</p> <p>Azoto Kjeldahl</p> <p>Estreptococos fecais</p>	<p>Fluoretos</p> <p>Boro</p> <p>Arsénio</p> <p>Cádmio</p> <p>Crómio total</p> <p>Chumbo</p> <p>Selénio</p> <p>Mercúrio</p> <p>Bário</p> <p>Cianetos</p> <p>Hidrocarbonetos dissolvidos e emulsionados</p> <p>Hidrocarbonetos aromáticos polinucleares</p> <p>Pesticidas totais</p> <p>Substâncias extraíveis com clorofórmio</p> <p>Salmonelas</p>

ANEXO VI
Qualidade da água para consumo humano

Parâmetros	Expansão dos resultados	VMR	VMA	Métodos analíticos de referência	Observações
A) Parâmetros organolépticos					
Cor	mg/l escala <i>Pt-Co</i>	1	20	Fotométrico com padrões de escala <i>Pt-Co</i> .	Após centrifugação.
Turvação	mg/l escala <i>SiO₂</i>	1	10	Fotométrico com padrões de sílica	Medida substituída em certas circunstâncias pela de transparência, calculada em metros com disco Secchi.
	NTU	0,4	4	Fotométrico com formazina	
	m	6	2	Disco de Secchi	
Cheiro	Taxa de diluição	0	2 (a 12°C) 3 (a 25°C)	Por diluições sucessivas, medições feitas a 12°C ou 25°C.	A comparar com as determinações gustativas.
Sabor	Taxa de diluição	0	2 (a 12°C) 3 (a 25°C)	Por diluições sucessivas, medições feitas a 12°C ou 25°C.	A comparar com as determinações olfactivas.
B) Parâmetros físico-químicos					
Temperatura	°C	12	25	Termometria.	
<i>pH</i>	Escala de Sorensen	6,5-8,5	9,5	Electrometria	A água não deve ser agressiva. Os valores de <i>pH</i> não se aplicam às águas acondicionadas.
Condutividade	µS/cm	400	—	Electrometria	Correspondendo à mineralização das águas. Valor correspondente da resistividade: 2500 Ω/cm, a 20°C.
Cloretos	mg/l <i>Cl</i>	25	—	Volumetria (método de Mohr) ... Espectrometria de absorção molecular.	Concentração aproximada a partir da qual podem ocorrer efeitos nocivos: 200 mg/l.
Sulfatos	mg/l <i>SO₄</i>	25	250	Gravimetria. Complexometria. Espectrometria de absorção molecular.	
Sílica	mg/l <i>SiO₂</i>	—	—	Espectrometria de absorção molecular.	
Cálcio	mg/l <i>Ca</i>	100	—	Espectrometria atómica. Complexometria.	
Magnésio	mg/l <i>Mg</i>	30	50	Espectrometria atómica.	
Sódio	mg/l <i>Na</i>	20	150	Espectrometria atómica	Com um percentil 80 calculado num período de referência de três anos.
Potássio	mg/l <i>K</i>	10	12	Espectrometria atómica.	
Alumínio	mg/l <i>Al</i>	0,05	0,2	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.	
Dureza total	mg/l <i>CaCO₃</i>	—	500	Complexometria	Ver quadro G.
Sólidos dissolvidos totais.	mg/l	—	1500	Secagem a 180°C ± 2°C e pesagem	Também designado por resíduo seco.

Parâmetros	Expansão dos resultados	VMR	VMA	Métodos analíticos de referência	Observações
Oxigénio dissolvido ...	% de saturação	—	—	Método de Winkler Eléctrodos específicos	Concentração de oxigénio dissolvido superior a 75% do valor de saturação, com excepção das águas subterrâneas.

C) Parâmetros relativos a substâncias indesejáveis

Anidrido carbónico livre	mg/l CO_2	—	—	Volumetria	A água não deve ser agressiva.
Nitratos	mg/l NO_3	25	50	Espectrometria de absorção molecular. Eléctrodos específicos.	
Nitritos	mg/l NO_2	—	0,1	Espectrometria de absorção molecular.	
Azoto amoniacal	mg/l NH_4	0,05	0,5	Espectrometria de absorção molecular.	
Azoto Kjeldahl	mg/l N	—	1	Oxidação-volumetria Espectrometria de absorção molecular.	Excluído o azoto de NO_2 e NO_3 .
Oxidabilidade (MnO_4)	mg/l O_2	2	5	Oxidação com $KMnO_4$ à ebulição durante dez minutos; meio ácido.	
Carbono orgânico total (COT).	mg/l C	—	—		Deve ser investigado tudo o que cause o aumento das concentrações habituais.
Sulfureto de hidrogénio	$\mu g/l S$	—	Não detectável organolepticamente	Avaliação qualitativa.	
Substâncias extraíveis com clorofórmio.	Resíduo seco mg/l	0,1	—	Extração líquido-líquido por clorofórmio puro, a pH neutro, e pesagem do resíduo.	
Hidrocarbonetos dissolvidos ou emulsionados.	$\mu g/l$	—	10	Espectrometria de absorção molecular-infravermelho.	
Fenóis (índice de fenol)	$\mu g/l C_6H_5OH$	—	0,5	Espectrometria de absorção molecular. Método da paranitranilina. Método da 4-aminoantipirina.	Excluindo os fenóis naturais que não reagem com o cloro.
Boro	$\mu g/l B$	1000		Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.	
Substâncias tensoactivas (que reagem com o azul-de-metileno).	$\mu g/l$, sulfato de laurilo e sódio		200	Espectrometria de absorção molecular.	
Outros compostos organoclorados (sem ser os pesticidas).	$\mu g/l$	1			A concentração em compostos halogenados deve ser reduzida, na medida do possível.
Ferro	$\mu g/l Fe$	50	200	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.	

Parâmetros	Expansão dos resultados	VMR	VMA	Métodos analíticos de referência	Observações
Manganés	$\mu\text{g/l Mn}$	20	50	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.	
Cobre	$\mu\text{g/l Cu}$	(¹) 100 (²) 3000	—	Espectrometria atómica	Acima de 3000 $\mu\text{g/l}$ podem aparecer sabores adstringentes, colorações e corrosões.
Zinco	$\mu\text{g/l Zn}$	(¹) 0,100 (²) 5,0	—	Espectrometria atómica	Acima de 5000 $\mu\text{g/l}$ podem aparecer sabores adstringentes, opalescência, depósitos granulados e desenvolvimento de um filme gorduroso, após ebulição.
Fósforo	$\mu\text{g/l P}_2\text{O}_5$	400	5000	Espectrometria de absorção molecular.	
Flúor	$\mu\text{g/l F}$ 8°C-12°C 25°C-30°C	—	1500 700	Electrodos específicos	O VMA é variável consoante a temperatura média da área geográfica considerada.
Cobalto	$\mu\text{g/l Co}$	—	—	—	—
Sólidos suspensos totais	mg/l	Ausência	—	Método por filtração por membrana porosa 0,45 μm ; ou Centrifugação (tempo mínimo de quinze minutos, aceleração média de 2800 g a 3200 g), secagem a 105°C e pesagem.	
Cloro residual disponível.	$\mu\text{g/l Cl}$	—	—	Método amperimétrico	Ver artigo 16.º, n.º 2.
Bário	$\mu\text{g/l Ba}$	100	—	Espectrometria atómica.	
Prata	$\mu\text{g/l Ag}$	—	10	Espectrometria atómica	Se num caso excepcional se faz um uso não sistemático de prata para o tratamento das águas, pode aceitar-se um valor máximo admissível de 80 $\mu\text{g/l}$.

D) Parâmetros relativos a substâncias tóxicas

Arsénio	$\mu\text{g/l As}$	—	50	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.	
Berílio	$\mu\text{g/l Be}$	—	—	—	
Cádmio	$\mu\text{g/l Cd}$	—	5	Espectrometria atómica.	
Cianetos	$\mu\text{g/l Cn}$			Espectrometria de absorção molecular.	
Crómio	$\mu\text{g/l Cr}$			Espectrometria de absorção molecular. Espectrometria atómica.	

Parâmetros	Expansão dos resultados	VMR	VMA	Métodos analíticos de referência	Observações
Mercúrio	µg/l Hg		1	Espectrometria atómica.	
Níquel	µg/l Ni	—	50	Espectrometria atómica.	
Chumbo	µg/l Pb	—	50 (em água corrente)	Espectrometria atómica	No caso de canalizações de chumbo, a concentração em chumbo não deverá ser superior a 50 µg/l numa amostra colhida depois da distribuição. Se a amostra é colhida directamente ou depois da distribuição e a concentração em chumbo ultrapassar frequentemente ou sensivelmente 100 µg/l, devem ser tomadas medidas adequadas a fim de reduzir os riscos de exposição do consumidor ao chumbo.
Antimónio	µg/l Sb	—	10	Espectrometria de absorção molecular.	
Selénio	µg/l Se	—	10	Espectrometria atómica.	
Vanádio	µg/l V	—	—		
Pesticidas	µg/l	—	0,1 0,5		Entende-se por pesticidas e produtos semelhantes: Os insecticidas: Organoclorados persistentes; Organofosforados; Carbamatos; Os herbicidas; Os fungicidas; Os PCB e PCT.
Por substância individualizada. Total					
Hidrocarbonetos	µg/l	—	0,2	Cromatografia em fase gasosa com detecção por ionização de chama e ou espectrometria de massa. Cromatografia líquida com detecção por fluorescência/ultravioleta.	Substâncias de referência: Fluoranteno; Benzo [3, 4] fluoranteno; Benzo [1, 12] fluoranteno; Benzo [3, 4] pireno; Benzo [1, 12] pireno; Indeno [1, 2, 3-cd] pireno.
Policíclicos. Aromáticos.					

(¹) Valor a ser cumprido à saída das estações de tratamento.

(²) Valor a ser cumprido após doze horas de permanência na rede de distribuição e no ponto em que é posta à disposição do consumidor.

Parâmetros	Expressão dos resultados (volume de amostra em ml)	VMR	VMA		Métodos analíticos de referência
			Método de membranas filtrantes	Método da fermentação em tubos múltiplos (NMP)	
E) Parâmetros microbiológicos					
Coliformes totais (¹) (²)	100	—	0	<1	Fermentação em tubos múltiplos. Subcultura dos tubos positivos em meios de confirmação. Determinação do NMP; ou Filtração através de membrana e cultura em meio apropriado, subcultura e identificação de colónias suspeitas.

Parâmetros	Expressão dos resultados (volume de amostra em ml)	VMR	VMA		Métodos analíticos de referência
			Método de membranas filtrantes	Método da fermentação em tubos múltiplos (NMP)	
Coliformes fecais ⁽⁴⁾ ...	100	—	0	<1	Fermentação em tubos múltiplos. Subcultura dos tubos positivos em meios de confirmação. Determinação do NMP; ou Filtração através de membrana e cultura em meio apropriado, subcultura e identificação de colónias suspeitas.
Estreptococos fecais ⁽⁴⁾	100	—	0	<1	Fermentação em tubos múltiplos. Subcultura dos tubos positivos em meios de confirmação. Determinação do NMP; ou Filtração através de membrana e cultura em meio apropriado, subcultura e identificação de colónias suspeitas.
Clostrídios sulfitorreductores.	20	—	—	<1	Depois do aquecimento da amostra a 80°C, contagem dos esporos por: Sementeira em meio com glucose, sulfito de ferro e contagem das colónias com halo negro; Filtração através de membrana, colocação do filtro invertido sobre meio com glucose, sulfito de ferro, recoberto de gelose, contagem das colónias negras; Repartição em tubos de meio DRCM (differential reinforced clostridium medium); subcultura dos tubos negros para meio de leite tornesolado, contagem segundo o NMP.
Germes totais para águas de consumo (37°C).	1	⁽²⁾ ⁽³⁾ 10	—	Inoculação por incorporação em gelose nutritiva.	
Germes totais para águas de consumo (22°C).	1	⁽²⁾ ⁽³⁾ 100	—		
Germes totais para águas acondicionadas (37°C).	1	5	20	Inoculação por incorporação em gelose nutritiva.	
Germes totais para águas acondicionadas (22°C).	1	20	100		Os valores de concentração máxima admissível devem ser medidos nas doze horas que se seguem ao acondicionamento, sendo a água das amostras mantida a uma temperatura constante durante este período de doze horas.

⁽¹⁾ Sobre reserva de que seja examinado um número de amostras com 95 % de resultados conformes.

⁽²⁾ Para as águas desinfetadas os valores correspondentes devem ser nitidamente inferiores à saída da estação de tratamento.

⁽³⁾ Se, após coletas sucessivas, se verificar que existe um excesso em relação a estes valores, deve ser efectuado um controlo.

⁽⁴⁾ No que respeita ao período de incubação, é geralmente de vinte e quatro horas ou de quarenta e oito horas, excepto para as contagens totais, em que é de quarenta e oito horas ou de setenta e duas horas.

As águas destinadas ao consumo humano não devem conter organismos patogénicos.

Com vista a completar, tanto quanto necessário, o exame microbiológico das águas destinadas ao consumo humano, convém pesquisar microrganismos patogénicos para além dos indicadores que constam do quadro E e, em especial:

- As salmonelas;
- Os estafilococos patogénicos;
- Os bacteriófagos fecais; e
- Os enterovírus.

Além disso, estas águas não devem conter:

- Nem organismos parasitas;
- Nem algas;
- Nem organismos macroscópicos.

F) Parâmetros radiológicos

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMR	VMA	Métodos analíticos de referência	Observações
Actividade parcial	Bq/l	0,1		Definidos pela autoridade competente com base nas condições locais, embora se indique, a título meramente exemplificativo, a utilização do contador proporcional interno e também dos contadores Geiger.	1 — Se os valores forem excedidos, pode ser necessário efectuar uma análise mais detalhada dos radio-nuclídeos. 2 — Valores mais elevados que os VMR não significam necessariamente que a água é imprópria para consumo humano.
Actividade total	Bq/l	1,0			

G) Valores mínimos admissíveis para a água para consumo humano que foi submetida a um tratamento de descalcificação

Parâmetros	Expressão dos resultados	VmA	Métodos analíticos de referência	Observações
Dureza total	mg/l $CaCO_3$	150	Complexometria com EDTA	Cálcio ou catiões equivalentes.
pH	Escala de Sorensen		Electrometria.	
Alcalinidade	mg/l HCO_3	30	Volumetria	A água não deve ser agressiva.
Oxigénio dissolvido	mg/l O_2		Método de Winkler. Método dos eléctrodos específicos.	

As disposições relativas à dureza, ao pH e ao oxigénio dissolvido aplicam-se também às águas provenientes de dessalinização.
Se, devido à excessiva dureza natural, a água é descalcificada em conformidade com o quadro G, antes de ser posta à disposição do consumidor, o seu teor em sódio pode, em casos excepcionais, ser superior aos valores que figuram na coluna das concentrações máximas admissíveis. Esforçar-se-ão, todavia, por manter este teor a um nível tão baixo quanto possível e não poderão negligenciar os imperativos de protecção de saúde pública.

VmA= valor mínimo admissível.

ANEXO VII

Classificação dos parâmetros de qualidade em grupos (G1, G2 e G3) segundo a frequência de amostragem e análise

G1	G2	G3
Cheiro ⁽¹⁾ . Sabor ⁽¹⁾ . Cloro residual ⁽²⁾ . Condutividade. Oxidabilidade. Coliformes fecais. Coliformes totais.	Turvação. Temperatura. pH. Nitratos. Nitritos. Azoto amoniacal. Restantes parâmetros microbiológicos do anexo VI.	Cálcio. Magnésio. Sódio. Potássio. Alcalinidade. Sulfatos. Cloretos.
Coliformes totais.		Restantes parâmetros relativos a substâncias indesejáveis e a substâncias tóxicas do anexo VI.
Germes totais a 37°C.		

⁽¹⁾ Avaliação qualitativa.

⁽²⁾ E outros desinfectantes e subprodutos de tratamento.

Antes do início da exploração do sistema de abastecimento, deverá ser feita uma análise completa que inclua, designadamente, diversas substâncias tóxicas ou indesejáveis de cuja presença se suspeita.

Com a periodicidade correspondente aos parâmetros do grupo G3 deverá ser feita uma avaliação do balanço iónico.

A autoridade de saúde competente fixará, para além destes, outros parâmetros (incluídos ou não no anexo VI), tomando em consideração todas as condições que possam ter um efeito nefasto sobre a qualidade da água fornecida ao consumidor.

ANEXO VIII

Frequência mínima de amostragem e análise de águas para consumo humano para efeitos de controlo, definida pelo intervalo máximo entre colheitas e pelo número mínimo de pontos de amostragem no sistema de abastecimento, em função da população servida (*)

População servida (hab.)	Grupo de parâmetros					
	G1		G2		G3	
	Intervalo máximo	Número mínimo de pontos de amostragem no sistema de abastecimento	Intervalo máximo	Número mínimo de pontos de amostragem no sistema de abastecimento	Intervalo máximo	Número mínimo de pontos de amostragem no sistema de abastecimento
$N \leq 5\,000$	2 meses	1 por 1 000 hab.	6 meses	1	1 ano	1
$5\,000 < N \leq 20\,000$	1 mês	1 por 2 500 hab.	6 meses	1 por 5 000 hab.	1 ano	1 por 5 000 hab.
$20\,000 < N \leq 100\,000$	15 dias	1 por 5 000 hab.	2 meses	1 por 20 000 hab.	1 ano	1 por 20 000 hab.
$100\,000 < N \leq 500\,000$	5 dias	1 por 15 000 hab.	20 dias	1 por 50 000 hab.	6 meses	1 por 50 000 hab.
$N > 500\,000$	2 dias	1 por 30 000 hab.	10 dias	1 por 100 000 hab.	3 meses	1 por 100 000 hab.

(*) A determinação dos parâmetros correspondentes ao grupo G2 implica, em simultâneo, a determinação dos parâmetros contidos em G1 e, identicamente para G3, implica G2 e G1.

ANEXO IX

Frequência mínima de amostragem e análise de águas para consumo humano para efeitos de vigilância sanitária, definida pelo intervalo máximo entre colheitas e pelo número mínimo de pontos de amostragem no sistema de abastecimento público, em função da população servida (*)

População servida (hab.)	Grupo de parâmetros					
	G1		G2		G3	
	Intervalo máximo	Número mínimo	Intervalo máximo	Número mínimo	Intervalo máximo	Número mínimo
$N \leq 5\,000$	1 ano	1 por 1 000 hab.	1 ano	1 por 5 000 hab.	4 anos	1 por 5 000 hab.
$5\,000 < N \leq 20\,000$	6 meses	1 por 2 500 hab.	1 ano	1 por 5 000 hab.	4 anos	1 por 5 000 hab.
$20\,000 < N \leq 100\,000$	3 meses	1 por 5 000 hab.	4 meses	1 por 20 000 hab.	2 anos	1 por 20 000 hab.
$100\,000 < N \leq 500\,000$	1 mês	1 por 15 000 hab.	2 meses	1 por 50 000 hab.	1 ano	1 por 50 000 hab.
$N > 500\,000$	15 dias	1 por 30 000 hab.	1 mês	1 por 100 000 hab.	6 meses	1 por 100 000 hab.

(*) A determinação dos parâmetros correspondentes ao grupo G2 implica, em simultâneo, a determinação dos parâmetros contidos em G1 e, identicamente para G3, implica G2 e G1.

ANEXO X

Qualidade das águas doces para fins aquícolas — águas piscícolas

Parâmetros	Águas de salmonídeos		Águas de ciprinídeos		Expressão dos resultados	Métodos analíticos de referência	Observações
	VMR	VMA	VMR	VMA			
Temperatura	<p>A temperatura medida a jusante de um ponto de descarga térmica (no limite da zona de mistura) não deve ultrapassar a temperatura natural em mais de:</p> <p style="text-align: center;">— 1,5 — 3</p> <p>A descarga térmica não deve levar a que a temperatura, na zona situada a jusante do ponto de descarga (no limite da zona de mistura), ultrapasse os seguintes valores:</p> <p style="text-align: center;">— 21,5 {0} — 28 {0}</p> <p>O limite de temperatura de 10°C só se aplica nos períodos de reprodução das espécies que necessitam de água fria para se reproduzirem e apenas nas águas susceptíveis de conter tais espécies. Os limites de temperatura podem, no entanto, ser ultrapassados em 2% do tempo.</p>				°C	Termometria	Devem ser evitadas variações de temperatura demasiado bruscas.
Oxigénio dissolvido.	50% ≥9 100% >7	50% ≥9	50% ≥8 100% ≥5	50% ≥7	mg/l O ₂	Método de Winkler ou eléctrodos específicos (método electroquímico).	

Parâmetros	Águas de salmonídeos		Águas de ciprinídeos		Expressão dos resultados	Métodos analíticos de referência	Observações
	VMR	VMA	VMR	VMA			
<i>pH</i>		6-9 (O) ⁽¹⁾		6-9 (O) ⁽¹⁾	Escala de Sorensen	Electrometria: avaliação por meio de duas soluções tampão de <i>pH</i> conhecidos vizinhos e de preferência situados acima e abaixo do valor de <i>pH</i> a medir.	
Sólidos suspensos totais.	25 (O)		25 (O)		mg/l	Por filtração através de membrana filtrante de 0,45 µm, ou por centrifugação (tempo mínimo de cinco minutos, aceleração média de 2 800, a 3 200 g), secagem a 105°C e pesagem.	Os valores indicados referem-se a concentrações e não se aplicam às matérias em suspensão que tenham propriedades químicas nocivas. As inundações são susceptíveis de provocar concentrações muito elevadas.
<i>CBO</i> ₅ (20)	3		6		mg/l O ₂	Determinação de O ₂ pelo método de Winkler antes e após cinco dias de incubação na obscuridade total, a 20°C ± 1°C (sem impedir a nitrificação).	
Fósforo total					mg/l P	Espectrometria de absorção molecular.	No que respeita aos lagos cuja profundidade média se situa entre 18 m a 150 m pode aplicar-se a seguinte fórmula: $L \leq 10 \frac{Z}{T_w} (1 + \sqrt{T_w})$ onde: <i>L</i> = carga, expressa em mg P por metro quadrado de superfícies do lago durante um ano; <i>Z</i> = profundidade média do lago, expressa em metros; <i>T_w</i> = tempo teórico de renovação da água do lago, expresso em anos. Nos outros casos, os valores limite de 0,2 mg/l para as águas de salmonídeos e de 0,4 mg/l para as águas de ciprinídeos, expressos em PO ₄ , podem ser considerados como valores indicativos que permitam reduzir a eutrofização.
Nitritos	0,01		0,03		mg/NO ₂	Espectrometria da absorção molecular.	
Compostos fenólicos.		(²)		(²)	mg/l C ₆ H ₅ OH	Exame gustativo	O exame gustativo só é efectuado se presumir a presença de compostos fenólicos.
Hidrocarbonetos		(³)		(³)		Exame visual; exame gustativo	É feito mensalmente um exame visual; o exame gustativo só se efectua se se presumir a presença de hidrocarbonetos.
Amoníaco não ionizado.	0,005	0,025	0,005	0,025	mg/l NH ₃	Espectrometria de absorção molecular com azul de indofenol ou segundo o método de Nessler associado à determinação do <i>pH</i> e temperatura.	Os valores para o amoníaco não ionizado podem ser ultrapassados desde que se trate de doses de pouca importância que apareçam durante o dia.
Azoto amoniacal	0,04	(⁴) 1	0,2	(⁴) 1	mg/l NH ₄		

Parâmetros	Águas de salmonídeos		Águas de ciprinídeos		Expressão dos resultados	Métodos analíticos de referência	Observações
	VMR	VMA	VMR	VMA			
Cloro residual disponível total.		0,005		0,005	mg/l HOCl	Método DPD (N, N-diethyl-p-fenilendiamina).	Os valores VMA correspondem a um pH=6. Podem admitir-se concentrações superiores de cloro total se o pH for superior.
Zinco total		0,3		1,0	mg/l Zn	Espectrometria atómica	Os valores VMA correspondem a uma dureza da água de 100 mg/l em CaCO ₃ . Para durezas compreendidas entre 10 mg/l e 500 mg/l, os valores limites correspondentes podem ser encontrados no anexo XI.
Cobre solúvel	0,4		0,04		mg/l Cu	Espectrometria atómica	Os valores VMR correspondem a uma dureza da água de 100 mg/l em CaCO ₃ . Para durezas compreendidas entre 10 mg/l e 300 mg/l, os valores limites correspondentes podem ser encontrados no anexo XI.

(¹) As variações artificiais do pH em relação aos valores constantes não devem ultrapassar ±0,5 unidades de pH nos limites compreendidos entre 6 e 9, desde que essas variações não aumentem a nocividade de outras substâncias presentes na água.

(²) Os compostos fenólicos não devem estar presentes em concentrações que alterem o sabor do peixe.

(³) Os produtos de origem petrolífera não devem estar presentes nas águas em quantidades tais que:

Formem um filme visível na superfície da água ou que se depositem em camadas no leito dos cursos de água e dos lagos e provoquem efeitos nocivos nos peixes, dando ao mesmo um sabor de hidrocarbonetos, perceptível pelo homem.

(⁴) Podem fixar-se valores superiores a 1 mg/l em condições geográficas ou climatológicas particulares e especialmente em caso de baixas temperaturas da água e de reduzida nitrificação ou quando a autoridade competente puder provar que não há consequências prejudiciais para o desenvolvimento equilibrado dos povoamentos de peixes.

VMR — valor máximo recomendado.

VMA — valor máximo admissível.

(O) — derrogações possíveis.

Nota. — Os valores destes parâmetros foram fixados considerando que não há sinergia pela presença de outras substâncias nocivas (não enumeradas).

ANEXO XI

Frequência mínima de amostragem e de análise de águas doces superficiais para fins aquícolas — Águas piscícolas

Parâmetros	Expressão dos resultados	Frequência mínima
Temperatura	°C	Semanal (a montante e a jusante do ponto de descarga térmica).
Oxigénio dissolvido	mg/l O ₂	Mensal, com pelo menos uma amostra representativa dos baixos teores de oxigénio presentes no dia da colheita. No entanto, se houver suspeita de variações diurnas significativas, serão efectuadas pelo menos duas colheitas por dia.
pH	Escala de Sorensen	Mensal.
Sólidos suspensos totais	mg/l	Mensal.
CBO ₅ (20)	mg/l O ₂	Mensal.
Fósforo total	mg/l PO ₄	Mensal.
Nitritos	mg/l NO ₂	Mensal.
Compostos fenólicos	mg/l C ₆ H ₅ OH	Mensal.
Hidrocarbonetos	mg/l	Mensal.
Amoníaco não ionizado	mg/l NH ₃	Mensal.
Azoto amoniacal	mg/l NH ₄	Mensal.
Cloro residual disponível total	mg/l HOCl	Mensal.
Zinco total	mg/l Zn	Mensal.
Cobre solúvel	mg/l Cu	Mensal.

ANEXO XII

Variação dos valores máximos admissíveis e recomendáveis do zinco total e do cobre solúvel, respectivamente, em função da dureza total das águas doces superficiais para fins aquícolas — águas piscícolas

Parâmetros	Expressão dos resultados	Tipos de águas piscícolas	Valor máximo	Dureza de água (mg/l CaCO ₃)				
				10	50	100	300	500
Zinco total	mg/l Zn	Salmonídeos	Admissível	0,03	0,2	0,3	—	0,5
		Ciprinídeos	Admissível	0,3	0,7	1,0	—	2,0

Parâmetros	Expressão dos resultados	Tipos de águas piscícolas	Valor máximo	Dureza de água (mg/l CaCO ₃)				
				10	50	100	300	500
Cobre solúvel ⁽¹⁾	mg/l Cu	Salmonídeos e ciprinídeos.	Recomendável	0,005	0,022	0,04	0,112	—

(¹) A presença de peixes em águas contendo concentrações mais elevadas de cobre pode indicar a predominância de complexos organo-cúpricos solúveis.

ANEXO XIII

Qualidade das águas do litoral ou salobras para fins aquícolas — águas conquícolas

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMR	VMA	Método analítico de referência
pH	Escala de Sorensen		7-9	Electrometria (a medição efectua-se <i>in situ</i> ao mesmo tempo que a amostragem).
Temperatura	°C	A diferença de temperatura provocada por uma descarga não deve, nas águas conquícolas afectadas por essa descarga, ultrapassar em mais de 2°C a temperatura medida nas águas não afectadas.		Termometria (a mediação efectua-se <i>in situ</i> ao mesmo tempo que a amostragem).
Cor (após filtração) . . .	mg/l Pt-Co		Nas águas conquícolas a alteração de cor após filtração provocada por uma descarga não deve ultrapassar em mais de 100 mg/l Pt-Co a cor medida nas águas não afectadas.	Filtração através de membrana filtrante com uma porosidade média de 0,45 µm (método fotométrico com padrões da escala de Pt.Co).
Sólidos suspensos totais	mg/l		O aumento do teor em sólidos em suspensão provocado por uma descarga não deve, nas águas conquícolas afectadas por essa descarga, exceder em mais de 30% o teor medido nas águas não afectadas.	Filtração através de membrana filtrante com uma porosidade de 0,45 µm, secagem a 105 °C e pesagem. Centrifugação (tempo mínimo cinco minutos, aceleração média de 2800 g a 3200 g), secagem a 105°C e pesagem.
Salinidade	‰	12-38	40 A variação de salinidade provocada por uma descarga não deve, nas águas conquícolas afectadas por essa descarga, exceder em mais de 10% a salinidade medida nas águas não afectadas.	Conductimetria.
Oxigénio dissolvido . . .	% de saturação	(¹) > 80	≥ 70 (valor médio) (¹) Se uma medição individual indicar um valor inferior a 70%, as medições devem ser repetidas. Uma medição individual não pode indicar um valor inferior a 60%, excepto quando houver consequências nocivas para o desenvolvimento dos povoamentos dos moluscos.	Método de Winkler. Método electroquímico.
Hidrocarbonetos de petróleo.			Os hidrocarbonetos não devem estar presentes nas águas conquícolas numa quantidade tal que: Produzam à superfície da água uma película visível e ou um depósito nas conchas; Provoquem efeitos nocivos nos moluscos.	Exame visual.

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMR	VMA	Método analítico de referência
Compostos organo-halogenados ⁽¹⁾ ^(*)		O limite de concentração de cada composto na polpa do molusco deve ser tal que contribua, nos termos do artigo 30.º, para uma boa qualidade dos produtos conquícolas.	A concentração de cada substância nas águas conquícolas ou na polpa do molusco não deve ultrapassar um nível que provoque efeitos nocivos nos moluscos e nas suas larvas.	Cromatografia em fase gasosa após extração por meio de solventes adequados e purificação.
Metais Prata (Ag). Arsénio (As). Cádmio (Cd). Crómio (Cr). Cobre (Cu). Mercúrio (Hg). Níquel (Ni). Chumbo (Pb). Zinco (Zn).	mg/l	O limite da concentração de cada elemento na polpa do molusco deve ser tal que contribua, nos termos do artigo 30.º, para uma boa qualidade dos produtos conquícolas.	Devem ser tidos em conta os efeitos sinérgicos destes metais.	Espectrometria atómica eventualmente precedida de uma concentração e ou extração.
Substâncias que afectam o sabor do molusco.			Concentração inferior à concentração susceptível de deteriorar o sabor do molusco.	Exame gustativo dos moluscos quando se suspeitar da presença de tal substância.
Biotoxinas			PSP < 80 µg/100 g	(AOAC, 1980).
			DSP ausência	(Yasumoto, 1984).
			ASP < 20 µg/g	(AOAC, 1991).
Coliformes fecais	NMP/100 ml	≤ 300 na polpa do molusco e no líquido intervalar ⁽²⁾ .		Método de diluição, com fermentação em substratos líquidos, em pelo menos três tubos com três diluições. Subcultura dos tubos positivos em meio de confirmação. Contagem segundo NMP (número mais provável). Temperatura de incubação: 44°C ± 0,5°C.

⁽¹⁾ Trata-se de concentrações mínimas.
⁽²⁾ Enquanto não houver legislação específica relativa à protecção dos consumidores de produtos conquícolas, este valor deve ser imperativamente respeitado nas águas onde vivem moluscos directamente consumidos pelo homem.

^(*) Consultar o anexo XIX.

PSP — *paralytic shellfish poisoning* (toxina paralisante).

DSP — *diarrhoeic shellfish poisoning* (toxina diarreica).

ASP — *amnesic shellfish poisoning* (toxina amnésica).

VMR — valor máximo recomendado.

VMA — valor máximo admissível.

ANEXO XIV

Frequência mínima de amostragem e de análise de águas do litoral e salobras para fins aquícolas — águas conquícolas

Parâmetros	Expressão dos resultados	Frequência mínima de amostragem e medição
pH	Escala de Sorensen	Trimestral.
Temperatura	°C	Trimestral.
Cor (após filtração)	mg/l Pt-Co	Trimestral.
Sólidos suspensos totais	mg/l	Trimestral.
Salinidade	‰	Mensal.
Oxigénio dissolvido	% de saturação	Mensal (com pelo menos uma amostra representativa do fraco teor em oxigénio no dia de colheita. Contudo, se se suspeitar de variações diurnas significativas, serão efectuadas pelo menos duas colheitas por dia).
Hidrocarbonetos de petróleo	mg/l	Trimestral.
Compostos organo-halogenados		Semestral.

Parâmetros	Expressão dos resultados	Frequência mínima de amostragem e medição
Metais	mg/l	Semestral.
Prata (Ag). Arsénio (As). Cádmio (Cd). Crómio (Cr). Cobre (Cu). Mercúrio (Hg). Níquel (Ni). Chumbo (Pb). Zinco (Zn).		
Substâncias que afectam o sabor do molusco		
PSP	µg/100 g	Quinzenal (¹).
DSP	µg/100 g	Quinzenal (¹).
ASP	µg/g	Quinzenal (¹).
Coliformes fecais	NMP/100 ml	Trimestral.

(¹) Excepto em situações de marés vermelhas, em que o controlo tem de ser feito pelo menos semanalmente.

ANEXO XV

Qualidade das águas balneares

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMR	VMA	Frequência mínima de amostragem	Métodos analíticos de referência
Microbiológicos					
Coliformes totais	/100 ml	500	10 000	Quinzenal (¹)	Fermentação em tubos múltiplos. Subcultura dos tubos positivos em meios de confirmação. Determinação por NMP (número mais provável). Ou Filtração através de membrana e cultura em meio apropriado, tal como ágar de lactose e tergitol, ágar de endo, caldo com teepol a 0,4%, subcultura e identificação de colónias suspeitas. A temperatura de incubação é variável, consoante se pretenda determinar os coliformes totais ou os coliformes fecais.
Coliformes fecais	/100 ml	100	2 000	Quinzenal (¹)	
Streptococos fecais	/100 ml	100	—	(²)	Método de Litsky. Determinação por NMP. Ou Filtração através de membrana e cultura em meio apropriado.
Salmonelas	/l	—	0	(²)	Concentração por filtração em membrana. Inoculação em meio tipo. Enriquecimento, subcultura em ágar de isolamento e identificação.
Enterovírus	PFU/10 l	—	0	(²)	Concentração por floculação, filtração ou centrifugação e confirmação.
Físico-químicos					
pH	Escala de Sorensen	—	6-9 (0)	(²)	Electrometria com calibração a pH 7 e 9.

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMR	VMA	Frequência mínima de amostragem	Métodos analíticos de referência
Cor		—	Sem alteração anormal (O)	Quinzenal ⁽¹⁾	Inspeção visual.
		—	—	⁽²⁾	Fotometria e comparação com padrões da escala <i>Pr-Co</i> .
Óleos minerais	mg/l	—	Ausência de manchas visíveis à superfície da água e de cheiro	Quinzenal ⁽¹⁾	Inspeção visual e olfactiva.
		0,3	—	⁽²⁾	Extracção a partir de um volume suficiente e pesagem do resíduo seco.
Substâncias tensoactivas (que reagem com o azul de metileno).	mg/l, sulfato de laurilo e sódio	—	Ausência de espuma persistente	Quinzenal ⁽¹⁾	Inspeção visual.
		0,3	—	⁽²⁾	Espectrometria de absorção molecular com o azul de metileno.
Fenóis (índice de fenóis) ...	mg/l C_6H_5OH	—	Ausência de cheiro específico	Quinzenal ⁽¹⁾	Verificação da ausência de cheiro específico devido ao fenol.
		0,005	0,05	⁽²⁾	Espectrometria de absorção molecular. Método da 4-aminoantipirina (4-AAP).
Transparência	m	2	1 (O)	Quinzenal ⁽¹⁾	Disco de Secchi.
Oxigénio dissolvido	% de saturação de O_2	80-120	—	⁽²⁾	Método de Winkler. Ou Método electrométrico.
Resíduos de alcatrão, matérias flutuantes, tais como madeira, plástico, garrafas, recipientes de vidro, de plástico, de borracha ou de outro material. Detritos ou fragmentos.		Ausência	—	Quinzenal ⁽¹⁾	Inspeção visual.
Azoto amoniacal	mg/l NH_4	—	—	⁽³⁾	Espectrometria de absorção molecular com reagente de Nessler. Ou Método com o azul de indofenol.
Azoto Kjeldahl	mg/l N	—	—	⁽³⁾	Método de Kjeldahl.
Outras substâncias consideradas como indicadores de poluição.					
Pesticidas (paratião, HCH, dieldrina).	mg/l	—	—	⁽²⁾	Extracção por solventes apropriados e determinação por cromatografia.
Metais pesados, tais como:	mg/l	—	—	⁽²⁾	Espectrometria atómica eventualmente precedida de uma extracção.
Arsénio	<i>As</i>				
Cádmio	<i>Cd</i>				
Crómio	<i>Cr VI</i>				
Chumbo	<i>Pb</i>				
Mercúrio	<i>Hg</i>				

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMR	VMA	Frequência mínima de amostragem	Métodos analíticos de referência
Cianetos	mg/l	—	—	(²)	Espectrometria de absorção molecular com reagente específico.
Nitratos e fosfatos	mg/l NO ₃ PO ₄	—	—	(³)	Espectrometria de absorção molecular com reagente específico.

(¹) Quando a amostragem efectuada em anos anteriores tenha dado resultados sensivelmente melhores que os especificados neste anexo e não se verificando qualquer fenómeno susceptível de provocar uma degradação da qualidade da água, as autoridades competentes podem reduzir a frequência de amostragem de um factor 2.

(²) Este valor deve ser verificado pelas autoridades competentes quando um inquérito local na zona balnear revele a sua presença ou que a qualidade da água se deteriorou.

(³) Estes parâmetros devem ser verificados pelas autoridades competentes sempre que haja tendência para a eutrofização das águas.

VMR — valor máximo recomendado.

VMA — valor máximo admissível.

(O) Os limites podem ser excedidos no caso de condições geográficas ou meteorológicas excepcionais.

ANEXO XVI

Qualidade das águas destinadas à rega

Parâmetro S	Expressão dos resultados	VMR	VMA	Observações
Alumínio (Al)	mg/l	5,0	20	Risco de improdutividade em solos com $pH < 5,5$. Em solos com $pH > 7$ o risco de toxicidade é eliminado por precipitar o alumínio.
Arsénio (As)	mg/l	0,10	10	Toxicidade variável consoante as culturas, oscilando entre 12 mg/l para a ervado-sudão e 0,05 mg/l para o arroz.
Bário (Ba)	mg/l	1,0		
Berílio (Be)	mg/l	0,5	1,0	
Boro (B)	mg/l	0,3	3,75	Para solos de textura fina e em curtos períodos recomenda-se como concentração máxima 2 mg/l.
Cádmio (Cd)	mg/l	0,01	0,05	Tóxico para o feijoeiro, beterraba e nabo em concentrações da ordem dos 0,1 mg/l em soluções nutritivas. Recomenda-se limites mais restritivos, dado este não se acumular nas plantas e no solo, podendo prejudicar o ser humano.
Chumbo (Pb)	mg/l	5,0	20	As concentrações muito elevadas podem inibir o desenvolvimento celular das culturas.
Cloretos (Cl)	mg/l	70	—	Para a cultura do tabaco recomenda-se uma concentração inferior a 20 mg/l, não devendo exceder os 70 mg/l.
Cobalto (Co)	mg/l	0,05	10	Tóxico em soluções nutritivas para a cultura do tomate na ordem dos 0,1 mg/l. Tende a ser inactivo em solos neutros ou alcalinos.
Cobre (Cu)	mg/l	0,20	5,0	Tóxico em soluções nutritivas com concentrações entre 0,1 mg/l e 1 mg/l para diversas culturas.
Crómio total (Cr)	mg/l	0,10	20	Por se desconhecer o seu efeito tóxico, recomendam-se limites mais restritivos.
Estanho (Sn)	mg/l	2,0		
Ferro (Fe)	mg/l	5,0		Não tóxico em solos bem arejados, mas pode contribuir para a acidificação do solo, tornando indisponível o fósforo e o molibdénio.
Flúor (F)	mg/l	1,0	15	Inactivado em solos neutros e alcalinos.
Lítio (Li)	mg/l	2,5	5,8	Tolerado pela maioria das culturas em concentrações superiores a 5 mg/l; móvel no solo. Tóxico para os citrinos a baixas concentrações (<0,075 mg/l).

Parâmetro S	Expressão dos resultados	VMR	VMA	Observações
Manganés (<i>Mn</i>)	mg/l	0,20	10	Tóxico para um certo número de culturas desde algumas décimas até poucos mg/l, mas normalmente só em solos ácidos.
Molibdénio (<i>Mo</i>)	mg/l	0,005	0,05	Não é tóxico em concentrações normais. Em solos ricos em molibdénio livre as forragens podem no entanto ocasionar toxicidade nos animais.
Níquel (<i>Ni</i>)	mg/l	0,5	2,0	Tóxico para um certo número de culturas entre 0,5 mg/l e 1 mg/l; reduzida toxicidade para pH neutro ou alcalino.
Nitratos (<i>NO₃</i>)	mg/l	50		Concentrações elevadas podem afectar a produção e qualidade das culturas sensíveis. No plano de fertilização da parcela convirá contabilizar o azoto veiculado pela água de rega.
Salinidade: CE SDT	dS/m mg/l	1 640		Depende muito da resistência das culturas à salinidade, bem como do clima, do método de rega e da textura do solo.
SAR ⁽¹⁾		8		Depende da salinidade da água, características do solo e do tipo de cultura a ser irrigada.
Selénio (<i>Se</i>)	mg/l	0,02	0,05	Tóxico para culturas em concentrações da ordem dos 0,025 mg/l. Em solos com um teor relativamente elevado em selénio absorvido as forragens podem ocasionar toxicidade nos animais.
Sólidos suspensos totais (SST)	mg/l	60		Concentrações elevadas poderão ocasionar colmatagem em solos e assoreamento nas redes de rega, bem como entupimentos nos sistemas de rega gota-a-gota e aspersão, bem como neste último sistema a água poderá provocar depósitos sobre as folhas e frutos.
Sulfatos (<i>SO₄</i>)	mg/l	575		
Vanádio (<i>V</i>)	mg/l	0,10	1,0	Tóxico para diversas culturas em concentrações relativamente baixas.
Zinco (<i>Zn</i>)	mg/l	2,0	10,0	Tóxico para diversas culturas numa gama ampla, toxicidade reduzida a pH > 6 e solos de textura fina ou de solos orgânicos.
pH	Escala de Sorensen	6,5-8,4	4,5-9,0	
Coliformes fecais	/100 ml	100		
Ovos de parasitas intestinais	N/l		1	

⁽¹⁾ A relação de adsorção de sódio (SAR) é traduzida pela seguinte equação, onde as concentrações devem estar expressas em meq/l: $SAR = Na/[(Ca + Mg)/2]^{1/2}$.

ANEXO XVII

Métodos analíticos de referência e frequência mínima de amostragem das águas destinadas à rega

Parâmetros	Expressão dos resultados	Métodos analíticos de referência	Frequência mínima de amostragem ^(*)
Alumínio (<i>Al</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular	⁽¹⁾
Arsénio (<i>As</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular	⁽¹⁾
Bário (<i>Ba</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica	⁽¹⁾
Berílio (<i>Be</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica	⁽¹⁾
Boro (<i>B</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular	⁽¹⁾

Parâmetros	Expressão dos resultados	Métodos analíticos de referência	Frequência mínima de amostragem (*)
Cádmio (<i>Cd</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou polarografia	(1)
Chumbo (<i>Pb</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica Polarografia	(1)
Cloretos (<i>Cl</i>)	mg/l	Titulação (método de Mohr) ou espectrometria de absorção molecular	Semestral (2).
Cobalto (<i>Co</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica	(1)
Cobre (<i>Cu</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular ou polarografia.	(1)
Crómio total (<i>Cr</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular	(1)
Ferro (<i>Fe</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica depois de filtração sobre membrana filtrante (0,45 µm) ou espectrometria de absorção molecular depois de filtração sobre membrana filtrante (0,45 µm).	(1)
Flúor (<i>F</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção molecular ou eléctrodos específicos	(1)
Lítio (<i>Li</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica	(1)
Manganés (<i>Mn</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica Espectrometria de absorção	(1)
Molibdénio (<i>Mo</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica	(1)
Níquel (<i>Ni</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica	(1)
Nitratos (<i>NO₃</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção ou eléctrodos específicos	(1)
Salinidade:			
CE	dS/m a 25°C	Electrometria	Semestral (2).
SDT	mg/l	Secagem a 180°C e pesagem	
SAR		$SAR = Na/[(Ca + Mg)/2]^{1/2}$ (**)	Semestral (2).
Selénio (<i>Se</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica	(1)
Sólidos suspensos totais (SST).	mg/l	Centrifugação (tempo mínimo de cinco minutos; aceleração média de 2800 g a 3000 g), secagem a 105°C e pesagem ou filtração através da membrana filtrante de 0,45 µm, secagem a 105°C e pesagem.	(1)
Sulfatos (<i>SO₄</i>)	mg/l	Gravimetria ou complexometria ou espectrometria	(1)
Vanádio (<i>V</i>)	mg/l	Absorção atómica	(1)
Zinco (<i>Zn</i>)	mg/l	Espectrometria de absorção atómica ou espectrometria de absorção molecular	(1)
pH	Escala de Sorensen	Electrometria	Semestral (2).
Coliformes fecais	/100 ml	Fermentação em tubos múltiplos e subcultura dos tubos positivos em meios de confirmação. Determinação por NMP.	(1)
Ovos de parasitas intestinais	N/l	Contagem com o auxílio de microscópio	(1)

(1) As águas doces para rega não apresentam normalmente teores elevados deste elemento, pelo que se recomenda uma análise de despistagem. Sempre que haja degradação da água de rega, devem as DRA, com base na fonte poluidora, definir a frequência de amostragem, após parecer das DRAg.

(2) Quando, em dois anos consecutivos, os resultados analíticos forem inferiores ou iguais ao valor máximo recomendado (VMR) e não se verificar nenhum fenómeno susceptível de provocar uma degradação da qualidade da água, recomenda-se como frequência mínima de amostragem uma vez por ano (durante o período de rega). No entanto, as DRA podem definir outra frequência de amostragem, após parecer da DRAg.

(*) Quando não se verificar a conformidade da água para rega, de acordo com o disposto no n.º 2 do artigo 61.º, deve a DRAg definir o prazo para novas amostragens.

(**) Concentração dos cátions expressa em meq/l.

ANEXO XVIII

Valores limite de emissão (VLE) na descarga de águas residuais

Parâmetros	Expressão dos resultados	VLE (¹)
pH (0)	Escala de Sorensen	6,0-9,0 (²)
Temperatura (0)	°C	Aumento de 3°C (³)
CBO ₅ , 20°C (20) (0)	mg/l O ₂	40
CQO (0)	mg/l O ₂	150
SST (0)	mg/l	60
Alumínio	mg/l Al	10
Ferro total	mg/l Fe	2,0
Manganés total	mg/l Mn	2,0
Cheiro	—	Não detectável na diluição 1:20
Cor (0)	—	Não visível na diluição 1:20
Cloro residual disponível:		
Livre	mg/l Cl ₂	0,5
Total	mg/l Cl ₂	1,0
Fenóis	mg/l C ₆ H ₅ OH	0,5
Óleos e gorduras	mg/l	15
Sulfuretos	mg/l S	1,0
Sulfitos	mg/l SO ₃	1,0
Sulfatos	mg/l SO ₄	2000
Fósforo total	mg/l P	10 3 (em águas que alimentem lagoas ou albufeiras) 0,5 (em lagoas ou albufeiras)
Azoto amoniacal	mg/l NH ₄	10
Azoto total	mg/l N	15
Nitratos	mg/l NO ₃	50
Aldeídos	mg/l	1,0
Arsénio total	mg/l As	1,0
Chumbo total	mg/l Pb	1,0
Cádmio total	mg/l Cd	0,2
Crómio total	mg/l Cr	2,0

Parâmetros	Expressão dos resultados	VLE ⁽¹⁾
Crómio hexavalente	mg/l Cr(VI)	0,1
Cobre total	mg/l Cu	1,0
Níquel total	mg/l Ni	2,0
Mercurio total	mg/l Hg	0,05
Cianetos totais	mg/l CN	0,5
Sulfuretos	mg/l S	1,0
Óleos minerais	mg/l	15
Detergentes (sulfato de lauril e sódio)	mg/l	2,0 ⁽⁴⁾ ⁽⁵⁾

⁽¹⁾ VLE — valor limite de emissão, entendido como média mensal, definida como média aritmética das médias diárias referentes aos dias de laboração de um mês, que não deve ser excedido. O valor diário, determinado com base numa amostra representativa da água residual descarregada durante um período de vinte e quatro horas, não poderá exceder o dobro do valor médio mensal (a amostra num período de vinte e quatro horas deverá ser composta tendo em atenção o regime de descarga das águas residuais produzidas).

⁽²⁾ O valor médio diário poderá, no máximo, estar compreendido no intervalo 5,0-10,0.

⁽³⁾ Temperatura do meio receptor após a descarga de água residual, medida a 30 m a jusante do ponto de descarga, podendo o valor médio exceder o valor médio mensal do 2.º

⁽⁴⁾ O valor médio diário não poderá exceder o dobro do valor médio mensal.

⁽⁵⁾ Valor relativo à descarga da unidade industrial para a produção de HCH extração de lindano ou, simultaneamente, produção de HCH e extração de lindano.

ANEXO XIX

Lista I de famílias de grupos de substâncias

A lista I inclui determinadas substâncias individuais que fazem parte das famílias e grupos de substâncias a seguir indicados, a escolher principalmente com base na toxicidade, persistência e bioacumulação, com excepção das que são biologicamente inofensivas ou que se transformam rapidamente em substâncias biologicamente inofensivas:

- 1) Compostos orgânicos de halogéneo e substâncias que podem produzir tais compostos no meio aquático;
- 2) Compostos orgânicos de fósforo;
- 3) Compostos orgânicos de estanho;
- 4) Substâncias em relação às quais se provou que possuem um poder cancerígeno no meio aquático ou por intermédio deste ^(*);
- 5) Mercúrio e compostos de mercúrio;
- 6) Cádmio e compostos de cádmio;
- 7) Óleos minerais persistentes e hidrocarbonetos de origem petrolífera persistentes;
- 8) Matérias sintéticas persistentes que podem flutuar, ficar em suspensão ou afundar-se e que podem prejudicar qualquer utilização das águas.

^(*) Determinadas substâncias enunciadas na lista II ficam incluídas na categoria 4, na medida em que têm um poder cancerígeno.

Lista II de famílias de grupos de substâncias

A lista II inclui:

- As substâncias que fazem parte das famílias e grupos de substâncias constantes da lista I e para as quais os valores limite referidos no artigo 6.º da Directiva n.º 76/464/CEE, de 4 de Maio, não foram fixados;
- Determinadas substâncias individuais e determinadas categorias de substâncias que fazem parte das famílias e grupos de substâncias a seguir enumeradas;

e que têm um efeito prejudicial no meio aquático, que pode, todavia, ser limitado a uma certa zona e que

depende das características das águas de recepção e da respectiva localização.

Famílias e grupos de substâncias referidos no segundo travessão:

- 1) Metalóides e metais a seguir mencionados, assim como os respectivos compostos:

- 1) Zinco;
- 2) Cobre;
- 3) Níquel;
- 4) Crómio;
- 5) Chumbo;
- 6) Selénio;
- 7) Arsénio;
- 8) Antimónio;
- 9) Molibdénio;
- 10) Titânio;
- 11) Estanho;
- 12) Bário;
- 13) Berílio;
- 14) Boro;
- 15) Urânio;
- 16) Vanádio;
- 17) Cobalto;
- 18) Tálcio;
- 19) Telúrio;
- 20) Prata;

- 2) Biocidas e respectivos derivados que não figuram na lista I;
- 3) Substâncias que têm um efeito prejudicial no sabor ou no cheiro dos produtos para o consumo do homem derivados do meio aquático, assim como os compostos susceptíveis de produzir tais substâncias nas águas;
- 4) Compostos orgânicos de silício tóxicos ou persistentes e substâncias que podem produzir tais compostos nas águas, com exclusão dos que são biologicamente inofensivos ou que se transformam rapidamente na água em substâncias inofensivas;

- 5) Compostos inorgânicos de fósforo e fósforo elementar;
6) Óleos minerais não persistentes e hidrocarbonetos de origem petrolífera não persistentes;
- 7) Cianetos, fluoretos;
8) Substâncias que exercem uma influência desfavorável no balanço de oxigénio, designadamente amoníaco e nitratos.

ANEXO XX

Disposições específicas relativas a pesticidas e a compostos organoclorados

De acordo com o disposto na Directiva n.º 84/491/CEE, de 9 de Outubro, relativa aos valores limites e aos objectivos de qualidade para a descarga de hexaclorociclo-hexano, na Directiva n.º 86/280/CEE, de 12 de Junho, relativa aos valores limites e aos objectivos de qualidade para a descarga de tetracloreto de carbono, DDT e pentaclorofenol, e na Directiva n.º 88/347/CEE, de 16 de Junho, relativa aos valores limites e aos objectivos de qualidade para a descarga de substâncias perigosas — aldrina, dieldrina, endrina, isodrina, hexaclorobenzeno, hexaclorobutadieno e clorofórmio —, são indicadas no quadro as normas de qualidade a cumprir nas diversas categorias de água e os respectivos métodos analíticos de referência:

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMA	Métodos analíticos de referência
Hexaclorociclo-hexano (HCH) ⁽⁵⁾	µg/l	⁽¹⁾ 20 ⁽²⁾ 100 ⁽³⁾ 50	Cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente adequado e purificação.
Tetracloreto de carbono	µg/l	12	Cromatografia em fase gasosa.
DDT ⁽⁵⁾ :			
Isómero p-p' DDT	µg/l	10	Cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente apropriado.
Total	µg/l	25	
Pentaclorofenol ⁽⁵⁾	µg/l	2	Cromatografia em fase líquida a alta pressão ou cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente apropriado.
Aldrina, dieldrina, endrina e isodrina ⁽⁵⁾ .	µg/l g/l	⁽⁴⁾ 30	Cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente adequado e purificação.
Hexaclorobenzeno (HCB) ⁽⁵⁾	µg/l	0,03	Cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente adequado e purificação.
Hexaclorobutadieno (HCBd) ⁽⁵⁾	µg/l	0,1	Cromatografia em fase gasosa, com detecção por captura de electrões, após extracção por solvente adequado e purificação.
Clorofórmio	µg/l	12	Cromatografia em fase gasosa.

⁽¹⁾ Aplicável a águas de estuários, marinhas e territoriais.

⁽²⁾ Aplicável a águas doces superficiais afectadas pelas descargas.

⁽³⁾ Aplicável a águas doces superficiais não afectadas pelas descargas.

⁽⁴⁾ Na totalidade, para as quatro substâncias, com um máximo de 5 ng/l para a endrina.

⁽⁵⁾ A concentração de hexaclorociclo-hexano, DDT, pentaclorofenol, dieldrina e ou dieldrina e ou endrina e ou isodrina e hexaclorobenzeno e hexaclorobutadieno nos sedimentos e ou moluscos e ou crustáceos e ou peixes não deve aumentar de modo significativo com o tempo.

ANEXO XXI

Objectivos ambientais de qualidade mínima para as águas superficiais

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMA
pH	Escala de Sorensen	5,0-9,0
Temperatura	°C	30
Variacão da temperatura	°C	3
Oxigénio dissolvido	% de saturação	50
CBO ₅	O ₂ mg/l	5
Azoto amoniacal	N mg/l	1
Fósforo total	P mg/l	1
Cloretos	Cl mg/l	250
Sulfatos	SO ₄ mg/l	250
Clorofenóis	µg/l, por composto	100
Hidrocarbonetos aromáticos polinucleares	µg/l	100
Substâncias tensoactivas aniónicas	mg/l	0,5

Parâmetros	Expressão dos resultados	VMA
Pesticidas:		
Total	µg/l	2,5
Por substância individualizada	µg/l	0,5
Bifenilopoliclorados (PCB)	µg/l	20
Azoto Kjeldhal	N mg/l	2
Cianetos totais	CN mg/l	0,05
Arsénio total	As mg/l	0,1
Cádmio total	Cd mg/l	0,01
Chumbo total	Pb mg/l	0,05
Crómio total	Cr mg/l	0,05
Cobre total	Cu mg/l	0,1
Mercurio total	Hg mg/l	0,001
Níquel total	Ni mg/l	0,05
Zinco total	Zn mg/l	0,5

ANEXO XXII

Métodos analíticos de referência para descarga de águas residuais

Parâmetros	Expressão dos resultados	Limite de detecção — % valor paramétrico	Precisão — % valor paramétrico	Exactidão — % valor paramétrico ±	Métodos analíticos de referência (1)
pH	Escala de Sorensen	10	10	10	Electrometria.
Cor (após filtração simples)	mg/l, escala Pt-Co				Método fotométrico, após filtração simples, com padrões da escala Pt-Co.
Sólidos suspensos totais	mg/l	10	10	10	Centrifugação (tempo mínimo de cinco minutos. Aceleração média de 2800 g a 3200 g), secagem a 105°C e pesagem. Filtração através de membrana filtrante de 0,45 µm, secagem a 105°C e pesagem.
Temperatura	°C	10	10	10	Termometria.
Condutividade	µS/cm, 20°C	10	10	10	Electrometria.
Nitratos	mg/l NO ₃	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Cromatografia iónica. Eléctrodos específicos.
Nitritos	mg/l NO ₂	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Cromatografia iónica.
Fluoretos	mg/l F	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Eléctrodos específicos. Cromatografia iónica.
Cloro orgânico total extraí- vel.	mg/l Cl				
Ferro total	mg/l Fe	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP).
Manganés total	mg/l Mn	(3) 10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.
Cobre total		(4) 10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Espectroscopia de absorção atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP).
Zinco total	mg/l Zn	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Espectroscopia de absorção atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP).
Boro	mg/l B	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP). ⊗

Parâmetros	Expressão dos resultados	Limite de detecção — % valor paramétrico	Precisão — % valor paramétrico	Exactidão — % valor paramétrico ±	Métodos analíticos de referência (¹)
Berílio	mg/l <i>Be</i>				
Cobalto	mg/l <i>Co</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP)
Níquel	mg/l <i>Ni</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP)
Vanádio	mg/l <i>V</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP)
Arsénio total	mg/l <i>As</i>	10	10	10	Espectrometria atómica com geração de hidretos. Espectrometria de absorção molecular.
Alumínio	mg/l <i>Al</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP)
Cádmio total	mg/l <i>Cd</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Polarografia.
Crómio VI	mg/l <i>Cr VI</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de absorção molecular.
Chumbo total	mg/l <i>Pb</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Polarografia.
Selénio total	mg/l <i>Se</i>	10	10	10	Espectrometria atómica com geração de hidretos.
Mercúrio total	mg/l <i>Hg</i>	20	10	20	Espectrometria atómica sem chama (vaporização a frio).
Bário total	mg/l <i>Ba</i>	10	10	10	Espectrometria atómica. Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP)
Cianetos totais	mg/l <i>CN</i>	10	10	10	Volumetria. Espectrometria de absorção molecular.
Sulfatos	mg/l <i>SO₄</i>	10	10	10	Análise gravimétrica. Complexometria com EDTA. Espectrometria de absorção molecular.
Cloretos	mg/l <i>Cl</i>	10	10	10	Volumetria. Espectrometria de absorção molecular. Eléctrodos específicos. Cromatografia iónica.
Substâncias tensoactivas (que reagem com o azul-de-metileno).	mg/l, sulfato de laurilo e sódio	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular.
Fósforo total	mg/l <i>P</i>	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular.
Fenóis	mg/l <i>C₆H₅OH</i>	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular ®. Método da 4-aminoantipirina ®. Método da paranitranilina ®.
Hidrocarbonetos totais	mg/l	25	25	10	Espectrometria no infravermelho após extracção com solventes adequados. Gravimetria após extracção com solventes adequados.
Hidrocarbonetos aromáticos polinucleares.	µg/l	25	25	25	Cromatografia em fase gasosa. Cromatografia líquida de alta eficiência (¹).
Pesticidas totais (paratião, hexa clo ciclo-hexano, dieldrina).	µg/l	25	25	25	Cromatografia em fase gasosa ou líquida após extracção por solventes adequados e purificação. Identificação dos constituintes da mistura (²). Determinação quantitativa ®.

Parâmetros	Expressão dos resultados	Limite de detecção — % valor paramétrico	Precisão — % valor paramétrico	Exactidão — % valor paramétrico	Métodos analíticos de referência ⁽¹⁾
Carência química de oxigénio (CQO).	mg/l O ₂	25	25	10	Método do dicromato de potássio.
Oxigénio dissolvido	% saturação de O ₂				Método de Winkler ®. Método electroquímico ®.
Carência bioquímica de oxigénio (CBO ₅ , 20°C).	mg/l O ₂	25	25	10	Determinação de O ₂ dissolvido antes e após cinco dias de incubação a 20°C ± 1°C ao abrigo da luz, com adição de um inibidor da nitrificação.
Azoto Kjeldahl (não inclui o azoto de NO ₂ e NO ₃).	mg/l N	10	10	10	Mineralização, destilação segundo o método Kjeldahl e determinação do amónio por espectrometria de absorção molecular ou volumetria.
Azoto amoniacal	mg/l NH ₄	10	10	10	Espectrometria de absorção molecular. Volumetria.
Salmonelas					Concentração por filtração (através de membrana ou filtro apropriado). Sementeira em meio de pré-enriquecimento. Enriquecimento, subcultura em meio de isolamento. Identificação *.

⁽¹⁾ Mistura de seis substâncias padrão a tomar em consideração e que têm a mesma concentração: fluoranteno, benzo [3,4] fluoranteno; benzo [1,12] fluoranteno; benzo [3,4] pireneno; benzo [1,12] pireneno; indeno [1,2,3-cd] pireneno.

⁽²⁾ Mistura de três substâncias a tomar em consideração e tendo a mesma concentração: paratoleno, hexaclorociclo-hexano, dieldrina.

⁽³⁾ Se a concentração das amostras em sólidos em suspensão for tão elevada que elas necessitem de um tratamento prévio especial, poderão excepcionalmente ser ultrapassados os valores de exactidão que constam do presente anexo, e estes constituirão um objectivo. Estas amostras devem ser tratadas de modo a garantir que a maior parte das substâncias a determinar seja analisada.

Material recomendado para o recipiente:

- ® — vidro;
- * — vidro esterilizado;
- — vidro ou alumínio;
- ⊗ — sem quantidades significativas de boro.



DIÁRIO DA REPÚBLICA

Depósito legal n.º 8814/85
ISSN 0870-9963

AVISO

Por ordem superior e para constar, comunica-se que não serão aceites quaisquer originais destinados ao *Diário da República* desde que não tragam aposta a competente ordem de publicação, assinada e autenticada com selo branco.

Os prazos para reclamação de faltas do *Diário da República* são, respectivamente, de 30 dias para o continente e de 60 dias para as Regiões Autónomas e estrangeiro, contados da data da sua publicação.

PREÇO DESTE NÚMERO 456\$00 (IVA INCLUÍDO 5%)

Diário da República Electrónico: Endereço Internet: <http://www.incm.pt> • Correio electrónico: dre@incm.pt • Linha azul: 0808 200 110



IMPRESA NACIONAL-CASA DA MOEDA, E. P.

LOCAIS DE INSCRIÇÃO DE NOVOS ASSINANTES, VENDA DE PUBLICAÇÕES, IMPRESSOS E ESPÉCIMES NUMISMÁTICOS

- Rua de D. Francisco Manuel de Melo, 5 — 1099 Lisboa Codex
Telef. (01)387 30 02 Fax (01)384 01 32
- Rua da Escola Politécnica, 135 — 1250 Lisboa
Telef. (01)397 30 35/(01)397 47 68 Fax (01)396 94 33 Metro — Rato
- Rua do Marquês de Sá da Bandeira, 16-A e 16-B — 1050 Lisboa
Telef. (01)353 03 99 Fax (01)353 02 94 Metro — S. Sebastião
- Rua de D. Filipa de Vilhena, 12 — 1000 Lisboa
Telef. (01)796 55 44 Fax (01)797 68 72 Metro — Saldanha
- Avenida do Engenheiro Duarte Pacheco — 1070 Lisboa
(Centro Comercial das Amoreiras, loja 2112)
Telef. (01)387 71 07 Fax (01)353 02 94
- Avenida Lusíada — 1500 Lisboa
(Centro Colombo, loja 0.503)
Telefs. (01)711 11 19/23/24 Fax (01)711 11 21 Metro — C. Militar
- Praça de Guilherme Gomes Fernandes, 84 — 4050 Porto
Telef. (02)205 92 06/(02)205 91 66 Fax (02)200 85 79
- Avenida de Fernão de Magalhães, 486 — 3000 Coimbra
Telef. (039)2 69 02 Fax (039)3 26 30

Toda a correspondência, quer oficial, quer relativa a anúncios e a assinaturas do «Diário da República» e do «Diário da Assembleia da República» deve ser dirigida à administração da Imprensa Nacional-Casa da Moeda, E. P., Rua de D. Francisco Manuel de Melo, 5 — 1099 Lisboa Codex

Anexo B

Decreto-Lei n.º 149/2004
DR 145 SÉRIE I-A de 2004-06-22
Ministério das Cidades, Ordenamento do Território e Ambiente

Altera o Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho, que transpõe para a ordem jurídica nacional a Directiva n.º 91/271/CEE, do Conselho, de 21 de Maio, relativamente ao tratamento de águas residuais urbanas

O Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho, transpôs para o direito interno a Directiva n.º 91/271/CEE, do Conselho, de 21 de Maio, relativa ao tratamento das águas residuais urbanas, e aprovou uma lista de identificação de zonas sensíveis e de zonas menos sensíveis, bem como respectivo mapa, constantes do anexo II ao referido diploma legal.

Por seu turno, o Decreto-Lei n.º 348/98, de 9 de Novembro, transpôs para a ordem jurídica nacional a Directiva n.º 98/15/CE, da Comissão, de 21 de Fevereiro, que altera a mencionada Directiva n.º 91/271/CEE, no que respeita a determinados requisitos estabelecidos no seu anexo I, e substituiu, conseqüentemente, o quadro n.º 2 do anexo I do Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho.

Por outro lado, o n.º 2 do artigo 3.º do citado Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho, dispõe que deve ser feita uma revisão da identificação das zonas sensíveis e das zonas menos sensíveis pelo menos de quatro em quatro anos. Em conformidade com este imperativo legal, decorrente, aliás, da transposição da Directiva n.º 91/271/CEE, a referida lista de identificação, na parte referente às zonas menos sensíveis, e o respectivo mapa foram alterados pelo Decreto-Lei n.º 261/99, de 7 de Julho.

Por último, a identificação das zonas sensíveis e o correspondente mapa foram, igualmente, alterados pelo Decreto-Lei n.º 172/2001, de 26 de Maio.

Tendo decorrido cerca de cinco anos sobre a primeira revisão da identificação das zonas menos sensíveis e três anos sobre a revisão relativa às zonas sensíveis, e encontrando-se terminados os complexos estudos técnicos e científicos que, necessariamente, estão na base da segunda revisão legal da identificação destas zonas no território nacional, importa aprovar a mesma, o que se promove por via do presente diploma.

Nos estudos desenvolvidos, que foram promovidos pelo Instituto da Água (INAG) ao abrigo do n.º 2 do artigo 3.º do Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho, e em estreita cooperação com algumas universidades portuguesas, os critérios aplicados visaram, essencialmente, o combate à eutrofização e a necessidade de adoptar um tratamento mais avançado do que o tratamento secundário, permitindo o cumprimento do disposto na legislação comunitária aplicável em matéria de águas, bem como a redução da poluição microbiológica.

Com o objectivo de proporcionar uma correcta orientação na selecção do tipo de tratamento a instalar, optou-se por incluir na lista de identificação das zonas sensíveis os critérios que, para cada zona, determinaram a respectiva identificação.

Finalmente, refira-se que, por virtude da aplicação do princípio da precaução, as descargas de águas residuais de dimensão inferior a 10000 e. p., quando realizadas directamente na zona sensível ou na respectiva área de influência, devem estar sujeitas às mesmas exigências que são aplicadas às descargas de águas de dimensão superior a 10000 e. p. efectuadas nas mesmas condições.

Foram ouvidos os órgãos de governo próprio das Regiões Autónomas.

Assim:

Nos termos da alínea a) do n.º 1 do artigo 198.º da Constituição, o Governo decreta o seguinte:

Artigo 1.º

Alterações ao Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho

Os artigos 6.º, 14.º e 18.º do Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho, alterado pelo Decreto-Lei n.º 348/98, de 9 de Novembro, passam a ter a redacção seguinte:

- 1 - ...
- 2 - ...
- 3 - ...
- 4 - ...

Artigo 6.º

Tratamento para descargas em zonas sensíveis⁵ - As descargas de águas residuais urbanas provenientes de aglomerações de dimensão inferior a 10000 e. p., quando localizadas em zona sensível ou na respectiva área de influência, podem ser sujeitas aos requisitos aplicáveis às descargas de águas residuais provenientes de aglomerações de dimensão superior a 10000 e. p. sempre que, no contexto local em que se inserem, seja necessário cumprir outras directivas comunitárias e ou objectivos de qualidade para o meio receptor fixados pela legislação vigente.

Artigo 14.º

Contra-ordenações e coimas

1 - Sem prejuízo da aplicação do disposto no Decreto-Lei n.º 236/98, de 1 de Agosto, a violação do disposto nos n.os 1 e 2 do artigo 4.º, nos n.os 1, 2 e 4 do artigo 5.º, nos artigos 6.º, 8.º e 10.º e no n.º 1 do artigo 12.º do presente diploma constitui contra-ordenação punível com coima de (euro) 1250 a (euro) 3740, quando praticada por pessoa singular, e de (euro) 2500 a (euro) 44890, quando praticada por pessoa colectiva.

- 2 - ...
- 3 - ...
- 4 - ...

Artigo 18.º

Regiões Autónomas

- 1 - O presente diploma aplica-se às Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira, sem prejuízo das adaptações decorrentes da estrutura própria da administração regional autónoma.
- 2 - Os serviços e organismos das respectivas administrações regionais autónomas devem enviar ao INAG todos os elementos de informação necessários ao cumprimento do disposto nos artigos 3.º, 7.º, 12.º e 15.º do presente diploma.
- 3 - O produto das coimas aplicadas pelas Regiões Autónomas constitui receita própria.»

Artigo 2.º

Aditamento ao Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho

É aditado o artigo 7.º-A ao Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho, alterado pelo Decreto-Lei n.º 348/98, de 9 de Novembro, com a seguinte redacção:

«Artigo 7.º-A

Licenciamento de descargas de águas residuais

Quando se justifique, em complemento dos valores paramétricos estabelecidos no presente diploma, a entidade licenciadora pode fixar na licença de descarga de águas residuais urbanas outros parâmetros constantes da legislação específica aplicável, nomeadamente o Decreto-Lei

n.º 236/98, de 1 de Agosto.»

Artigo 3.º

Lista de identificação de zonas sensíveis e de zonas menos sensíveis

1 - Para efeito do disposto no n.º 1 do artigo 3.º do Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho, o anexo II ao referido diploma legal é substituído pela lista de identificação de zonas sensíveis e menos sensíveis e respectivo mapa constantes do anexo ao presente diploma, que dele fazem parte integrante.

2 - Os originais da lista e do mapa que integram o anexo referido no número anterior encontram-se depositados no Instituto da Água e na comissão de coordenação e desenvolvimento regional competente.

Artigo 4.º

Norma revogatória

São revogados os Decretos-Leis n.os 261/99, de 7 de Julho, e 172/2001, de 26 de Maio.

Visto e aprovado em Conselho de Ministros de 22 de Abril de 2004. - José Manuel Durão Barroso - Maria Manuela Dias Ferreira Leite - Maria Celeste Ferreira Lopes Cardona - Nuno Albuquerque Morais Sarmiento - Carlos Manuel Tavares da Silva - Luís Filipe Pereira - Arlindo Marques da Cunha.

Promulgado em 7 de Junho de 2004.

Publique-se.

O Presidente da República, JORGE SAMPAIO.

Referendado em 14 de Junho de 2004.

O Primeiro-Ministro, José Manuel Durão Barroso.

ANEXO I

Lista de Identificação

Zonas Sensíveis – Águas doces superficiais, estuários e lagoas costeiras

Região Número	Critério Dir. 91/271/CEE Anexo II - A	Nome	Bacia hidrográfica principal	Delimitação da zona e da respectiva área de influência
Norte Cávado	1 Dir. 75/440/CEE	Cávado	Rio	Troço do Rio Cávado desde a confluência com o Rio Homem até à confluência com a Ribeira de Valinhas, e a Ribeira de Panóias e o Rio Torto. ⁽¹⁾
Norte Douro	2 Dir. 75/440/CEE	Rio Ferreira	Rio	Troço do Rio Ferreira desde a nascente até à confluência com a Ribeira da Ermida. ⁽¹⁾
Norte	3 Eutrofização Dir. 75/440/CEE	Albufeira do Torrão	Rio Douro	Albufeira do Torrão no rio Tâmega e respectiva bacia hidrográfica.
Norte	4 Eutrofização Dir. 75/440/CEE	Albufeira de Carrapatelo	Rio Douro	Albufeira de Carrapatelo no rio Douro e respectiva bacia hidrográfica até à albufeira da Régua.
Norte	5 Eutrofização Dir. 75/440/CEE	Albufeira de Miranda	Rio Douro	Albufeira de Miranda no rio Douro e respectiva bacia hidrográfica.
Norte Douro	6 Eutrofização	Albufeira do Pocinho	Rio	Albufeira do Pocinho no rio Douro e respectiva bacia hidrográfica.
Centro Vouga	7 Dir. 78/659/CEE	Vouga	Rio	Troço do Rio Vouga desde a nascente até à confluência com o Rio Zela. ⁽¹⁾
Centro	8 Eutrofização Dir. 75/440/CEE	Albufeira da Aguieira	Rio Mondego	Albufeira da Aguieira no rio Mondego e respectiva bacia hidrográfica.
Centro Tejo	9 Eutrofização	Albufeira de Pracana	Rio	Albufeira de Pracana no rio Ocreza e respectiva bacia hidrográfica.

Região	Número	Critério Dir. 91/271/CEE Anexo II - A	Nome	Bacia hidrográfica principal	Delimitação da zona e da respectiva área de influência
LVT	14	Poluição Microbiológica	Trancão	Rio Tejo	Rio Trancão desde a nascente até à foz. ⁽¹⁾
LVT	15	Dir. 91/492/CEE	Estuário do Tejo	Rio Tejo	Margem esquerda: Zona entre V. F. de Xira e a Cova do Vapor, até ao limite da praia de S. João da Caparica (exclusivé), incluindo áreas inundadas.
LVT	16	Dir. 91/492/CEE	Lagoa de Albufeira	Ribeira da Apostiça	Área da Lagoa e respectivas margens. ⁽¹⁾
LVT	17	Dir. 91/492/CEE	Estreito da Marateca	Rio Sado	Zona a partir da Ponte do caminho de ferro do Zambujal até à foz do rio Sado, incluindo as áreas inundadas. ⁽¹⁾
Alentejo	18	Dir. 91/492/CEE	Canal de Alcácer	Rio Sado	Zona a partir do Monte das Faias até à foz do rio Sado, incluindo as áreas inundadas. ⁽¹⁾
Alentejo	19	Eutrofização	Albufeira do Maranhão	Rio Tejo	Albufeira do Maranhão na ribeira de Seda e respectiva bacia hidrográfica.
Alentejo	20	Eutrofização Dir. 75/440/CEE	Albufeira de Alqueva	Rio Guadiana	Albufeira de Alqueva no rio Guadiana e respectiva bacia hidrográfica.
Alentejo	21	Eutrofização	Albufeira de Vale do Gaio	Rio Sado	Albufeira de Vale do Gaio no rio Xarrama e respectiva bacia hidrográfica.
Alentejo	22	Eutrofização Dir. 75/440/CEE Dir. 78/659/CEE	Albufeira do Roxo	Rio Sado	Albufeira do Roxo na ribeira do Roxo e respectiva bacia hidrográfica.
Algarve	23	Dir. 91/492/CEE	Estuário do Rio Arade	Rio Arade	Zona a jusante da Ponte Nova até à foz do rio. ⁽¹⁾
Algarve	24	Eutrofização	Lagoa dos Salgados	Ribeiras do Algarve	Área da Lagoa e respectiva bacia hidrográfica.
Algarve	25	Dir. 91/492/CEE	Ria Formosa	Ribeiras do Algarve	Todas as zonas da Ria. ⁽¹⁾

⁽¹⁾ – Área de influência a determinar casuisticamente pela entidade licenciadora em função, nomeadamente, da dimensão e localização geográfica das descargas de águas residuais.

Zonas menos sensíveis – Águas costeiras

Região	Número	Nome	Delimitação	Coordenadas (metros)	
				M	P
LVT	1	Cabo da Roca / Estoril	Águas costeiras, situadas em frente à Zona rochosa entre Cabo da Roca e Estoril	81.287 85.935	202.474 192.722
LVT	2	Cabo Espichel	Águas costeiras, situadas em frente à Zona rochosa do Cabo Espichel	105.089 107.675	161.414 161.136
Alentejo	3	Sines	Águas costeiras, situadas em frente à Zona rochosa de Sines	134.690 133.686	111.522 110.135
Alentejo	4	Porto Covo / V.N. Milfontes	Águas costeiras, situadas em frente à Zona rochosa entre Porto Covo e V.N. Milfontes	140.655 141.833	89.515 84.452
Alentejo	5	Almograve / Zambujeira do Mar	Águas costeiras, situadas em frente à Zona rochosa entre Almograve e Zambujeira do Mar	140.302 141.072	74.874 66.860
Algarve	6	Arrifana / Carrapateira	Águas costeiras, situadas em frente à Zona rochosa da Arrifana e da Carrapateira	134.934	35.630
				134.960	34.883
				130.580 131.172	25.936 23.344
Algarve	7	Cabo de S. Vicente	Águas costeiras, situadas em frente à Zona rochosa do Cabo de S. Vicente	123.710 124.065	7.833 6.206
Madeira	8	Ilha da Madeira	Todas as águas costeiras da ilha da Madeira		
Madeira	9	Ilha de Porto Santo	Todas as águas costeiras da ilha de Porto Santo		

NOTA – Sistema de Coordenadas - Projecção Gauss do Datum Geodésico Hayford de Lisboa Militar

Anexo C

5982

DIÁRIO DA REPÚBLICA — I SÉRIE-A

N.º 259 — 9-11-1998

maternidade, de paternidade, por adopção e para assistência na doença a descendentes menores ou deficientes e subsídio para assistência a deficientes profundos e doentes crónicos.

Artigo 7.º

Condições especiais de atribuição dos subsídios para assistência a filhos doentes e a deficientes profundos e doentes crónicos

1 — A atribuição do subsídio para assistência na doença a filhos do beneficiário ou do cônjuge ou adoptados, com idade inferior a 10 anos ou deficientes, depende de estes se integrarem no agregado familiar do beneficiário e que com ele residam.

2 — A atribuição do subsídio para assistência a deficientes profundos e doentes crónicos, com idade igual ou inferior a 12 anos, depende igualmente de estes se integrarem no agregado familiar do beneficiário e que com ele residam.

Artigo 19.º

Requerimento das prestações

As prestações devem ser requeridas pelos beneficiários dentro do prazo de seis meses a contar do facto determinante da protecção.»

Artigo 2.º

Ao Decreto-Lei n.º 154/88, de 29 de Abril, são aditados os seguintes artigos:

«Artigo 12.º-B

Montante do subsídio para assistência a deficientes profundos e doentes crónicos

O montante diário do subsídio para assistência a deficientes profundos e doentes crónicos corresponde a 65 % da remuneração de referência do beneficiário, tendo como limite máximo a remuneração mínima mensal garantida mais elevada.

Artigo 15.º-B

Período de concessão do subsídio para assistência a deficientes profundos e doentes crónicos

O subsídio para assistência a deficientes profundos e doentes crónicos é concedido pelo período da duração da licença especial a que se refere o artigo 14.º-A da Lei n.º 4/84, de 5 de Abril, introduzido pela Lei n.º 102/97, de 13 de Setembro.»

Visto e aprovado em Conselho de Ministros de 24 de Setembro de 1998. — *António Manuel de Oliveira Guterres — António Luciano Pacheco de Sousa Franco — Maria de Belém Roseira Martins Coelho Henriques de Pina — Eduardo Luís Barreto Ferro Rodrigues.*

Promulgado em 26 de Outubro de 1998.

Publique-se.

O Presidente da República, JORGE SAMPAIO.

Referendado em 28 de Outubro de 1998.

O Primeiro-Ministro, *António Manuel de Oliveira Guterres.*

MINISTÉRIO DO AMBIENTE

Decreto-Lei n.º 348/98

de 9 de Novembro

Através do Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho, foi transposta para o direito interno a Directiva n.º 91/271/CEE, do Conselho, de 21 de Maio, relativa ao tratamento de águas residuais urbanas.

Os problemas de interpretação suscitados pela aplicação da referida directiva — relativos aos requisitos a que devem obedecer as descargas provenientes de estações de tratamento de águas residuais efectuadas em zonas sensíveis sujeitas a eutrofização — conduziram à publicação da Directiva n.º 98/15/CE, da Comissão, de 27 de Fevereiro, que determina que se proceda à alteração do Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho.

Assim:

Nos termos da alínea a) do n.º 1 do artigo 198.º da Constituição, o Governo decreta o seguinte:

Artigo 1.º

O presente diploma procede à transposição para o direito interno da Directiva n.º 98/15/CE, da Comissão, de 27 de Fevereiro, que altera a Directiva n.º 91/271/CEE, do Conselho, de 21 de Maio, no que respeita a determinados requisitos estabelecidos no seu anexo I.

Artigo 2.º

O quadro n.º 2 do anexo I ao Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho, é substituído pelo que se publica em anexo ao presente decreto-lei e que dele faz parte integrante.

Visto e aprovado em Conselho de Ministros de 10 de Setembro de 1998. — *António Manuel de Oliveira Guterres — António Luciano Pacheco de Sousa Franco — José Manuel da Costa Monteiro Consiglieri Pedroso — Joaquim Augusto Nunes de Pina Moura — Maria de Belém Roseira Martins Coelho Henriques de Pina — Elisa Maria da Costa Guimarães Ferreira.*

Promulgado em 26 de Outubro de 1998.

Publique-se.

O Presidente da República, JORGE SAMPAIO.

Referendado em 28 de Outubro de 1998.

O Primeiro-Ministro, *António Manuel de Oliveira Guterres.*

QUADRO N.º 2

Requisitos para as descargas das estações de tratamento de águas residuais urbanas em zonas sensíveis sujeitas a eutrofização.

Podem ser aplicados um dos parâmetros ou ambos, consoante a situação local.

Serão aplicados os valores de concentração ou a percentagem de redução.

Parâmetros	Concentração	Percentagem mínima de redução (¹)	Método de referência de medição
Fósforo total . . .	2 mg/l P (10 000-100 000 e. p.) 1 mg/l P (mais de 100 000 e. p.)	80	Espectrofotometria de absorção molecular.
Azoto total (²)	15 mg/l N (10 000-100 000 e. p.) (³) 10 mg/l N (mais de 100 000 e. p.) (³)	70-80	Espectrofotometria de absorção molecular.

(¹) Redução relativamente aos valores à entrada.

(²) Por «azoto total» entende-se a soma do teor total de azoto determinado pelo método de Kjeldahl (azoto orgânico e amoniacal) com o teor de azoto contido nos nitratos e o teor de azoto contido nos nitratos.

(³) Os valores de concentração apresentados são médias anuais, em conformidade com o n.º 4, alínea c), do ponto D do anexo I. Todavia, as exigências referentes ao azoto podem ser verificadas por recurso às médias diárias caso se prove, em conformidade com o n.º 1 do ponto D do referido anexo, que o nível de protecção alcançado é idêntico. Neste caso, a média diária não deve exceder 20 mg/l de azoto total para todas as amostras, a uma temperatura do efluente no reactor biológico igual ou superior a 12°C. Alternativamente ao critério da temperatura, poderá ser utilizado um critério de limitação do tempo de funcionamento que atenda às condições climáticas locais.

REGIÃO AUTÓNOMA DOS AÇORES

Assembleia Legislativa Regional

Decreto Legislativo Regional n.º 17/98/A

Justificação das faltas dadas por sinistrados ou voluntários no dia da ocorrência e nos dias que se seguiram ao sismo de 9 de Julho de 1998.

A crise sísmica que afectou especialmente as ilhas do Faial e do Pico e, mais superficialmente, a ilha de São Jorge, principalmente no que toca a algumas localidades do concelho de Velas, provocou graves e profundas alterações na vida dos moradores das áreas sinistradas, alterações essas que se não compadeceram com o cumprimento de algumas obrigações normalmente exigíveis.

De entre tais obrigações emerge a de comparência nos respectivos locais de trabalho, como reflexo do dever de assiduidade que impende sobre qualquer trabalhador por conta de outrem.

De facto, o dramatismo das situações vividas mobilizou de imediato as populações sinistradas para uma tarefa de autodefesa e de entrelajada no salvamento e nos primeiros passos da reconstrução, que não poderão passar despercebidos ao olhar de quem quer que seja.

Assim, a Assembleia Legislativa Regional dos Açores decreta, nos termos da alínea a) do n.º 1 do artigo 227.º da Constituição e da alínea c) do n.º 1 do artigo 31.º do Estatuto Político-Administrativo da Região, o seguinte:

Artigo 1.º

1 — Consideram-se justificadas, ao abrigo da alínea z) do n.º 1 do artigo 19.º do Decreto-Lei n.º 497/88, de 30 de Dezembro, as faltas dadas pelos trabalhadores,

independentemente da natureza do respectivo vínculo, ao serviço da administração local sediada na Região Autónoma dos Açores por motivos inerentes à sua condição de sinistrados ou de voluntários nas acções de salvamento e reconstrução, nos períodos compreendidos:

- Entre os dias 9 e 13 de Julho de 1998, para os trabalhadores residentes nos concelhos de Velas e Calheta;
- Entre os dias 9 e 31 de Julho de 1998, para os trabalhadores residentes nos concelhos de Horta, Lajes do Pico, Madalena e São Roque do Pico.

2 — Consideram-se justificadas, ao abrigo da alínea e) do n.º 2 do artigo 23.º do Decreto-Lei n.º 874/76, de 28 de Dezembro, na parte não derogada pelo Decreto-Lei n.º 136/85, de 3 de Maio, as faltas dadas pelos trabalhadores, independentemente da natureza do respectivo vínculo, que, ao serviço de quaisquer empresas sediadas ou estabelecidas na Região, estejam abrangidos pelo regime do contrato individual de trabalho, desde que a não comparência no local de trabalho se deva a motivos inerentes à sua condição de sinistrados ou de voluntários nas acções de salvamento e reconstrução, nos períodos compreendidos:

- Entre os dias 9 e 13 de Julho de 1998, para os trabalhadores residentes nos concelhos de Velas e Calheta;
- Entre os dias 9 e 31 de Julho de 1998, para os trabalhadores residentes nos concelhos de Horta, Lajes do Pico, Madalena e São Roque do Pico.

Artigo 2.º

A prova da condição de sinistrado ou de voluntário, para efeitos do artigo anterior, poderá ser feita por qualquer meio idóneo, nomeadamente declaração da respectiva junta de freguesia, da comissão local de protecção civil da respectiva área de residência ou do comando de bombeiros da respectiva área de residência.

Artigo 3.º

O presente diploma entra em vigor imediatamente.

Aprovado pela Assembleia Legislativa Regional dos Açores, na Horta, em 24 de Setembro de 1998.

O Presidente da Assembleia Legislativa Regional,
Dionísio Mendes de Sousa.

Assinado em 23 de Outubro de 1998.

Publique-se.

O Ministro da República para a Região Autónoma dos Açores, *Alberto Manuel de Sequeira Leal Sampaio da Nóvoa.*

Anexo D

4380

DIÁRIO DA REPÚBLICA — I SÉRIE-A

N.º 118 — 21 de Junho de 2006

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA

Decreto do Presidente da República n.º 60/2006

de 21 de Junho

O Presidente da República decreta, nos termos do artigo 135.º, alínea *a*), da Constituição, o seguinte:
É nomeado, sob proposta do Governo, o embaixador António José da Câmara Ramalho Ortigão como Embaixador de Portugal no Afeganistão.

Assinado em 26 de Maio de 2006.

Publique-se.

O Presidente da República, ANÍBAL CAVACO SILVA.

Referendado em 6 de Junho de 2006.

O Primeiro-Ministro, *José Sócrates Carvalho Pinto de Sousa*. — O Ministro de Estado e dos Negócios Estrangeiros, *Diogo Pinto de Freitas do Amaral*.

Decreto do Presidente da República n.º 61/2006

de 21 de Junho

O Presidente da República decreta, nos termos do artigo 135.º, alínea *a*), da Constituição, o seguinte:
É exonerado, sob proposta do Governo, o embaixador Jorge Alberto Nogueira de Lemos Godinho como Embaixador de Portugal no Azerbaijão, com efeitos a partir de 4 de Junho de 2006, data em que atinge o limite de idade.

Assinado em 26 de Maio de 2006.

Publique-se.

O Presidente da República, ANÍBAL CAVACO SILVA.

Referendado em 6 de Junho de 2006.

O Primeiro-Ministro, *José Sócrates Carvalho Pinto de Sousa*. — O Ministro de Estado e dos Negócios Estrangeiros, *Diogo Pinto de Freitas do Amaral*.

Decreto do Presidente da República n.º 62/2006

de 21 de Junho

O Presidente da República decreta, nos termos do artigo 135.º, alínea *a*), da Constituição, o seguinte:
É exonerado, sob proposta do Governo, o embaixador Jorge Alberto Nogueira de Lemos Godinho como Embaixador de Portugal no Turquemenistão, com efeitos a partir de 4 de Junho de 2006, data em que atinge o limite de idade.

Assinado em 26 de Maio de 2006.

Publique-se.

O Presidente da República, ANÍBAL CAVACO SILVA.

Referendado em 6 de Junho de 2006.

O Primeiro-Ministro, *José Sócrates Carvalho Pinto de Sousa*. — O Ministro de Estado e dos Negócios Estrangeiros, *Diogo Pinto de Freitas do Amaral*.

MINISTÉRIO DO AMBIENTE, DO ORDENAMENTO DO TERRITÓRIO E DO DESENVOLVIMENTO REGIONAL

Decreto-Lei n.º 118/2006

de 21 de Junho

O Decreto-Lei n.º 446/91, de 22 de Novembro, estabelece o regime jurídico da utilização agrícola das lamas de depuração e demais legislação regulamentar, transpondo para a ordem jurídica nacional a Directiva n.º 86/278/CE, do Conselho, de 12 de Junho, relativa à protecção do ambiente e em especial dos solos na utilização agrícola das lamas. A necessidade de rever e adequar a legislação existente a uma maior exigência do ponto de vista da salvaguarda dos valores ambientais e da saúde humana, bem como da evolução verificada na legislação em vigor, impõe a revogação deste quadro legislativo sem, contudo, deixar de assegurar a transposição da citada directiva.

Assim, com o presente decreto-lei pretende-se não só clarificar o conceito de lamas de composição similar como também alargar o âmbito do licenciamento da aplicação de lamas em todos os solos, proibindo-se, reflexamente, a sua aplicação em solos destinados ao modo de produção biológico.

Mantém-se a preocupação expressa no anterior regime relativa à utilização das lamas, preferencialmente, como fertilizantes em solos agrícolas, constituindo esta opção uma operação de valorização na qual as lamas são utilizadas como factores produtivos.

Contudo, não pode enlevar-se que certos metais pesados, eventualmente presentes nas lamas, são perigosos quer para o homem quer para as plantas e que também há que ter em consideração a qualidade dos solos, pelo que se estabelece a obrigatoriedade da apresentação de análises que garantam o cumprimento dos valores limite definidos.

Trata-se, em suma, de consagrar uma maior exigência de protecção de valores fundamentais como o ambiente e a saúde humana, que se consubstancia em regras mais restritas no que respeita às análises, às definições, às informações a prestar e às proibições de aplicação de lamas.

Por outro lado, e tendo em vista a aproximação da Administração Pública aos cidadãos, estabelece-se um processo de licenciamento com intervenção das entidades públicas que a nível regional têm competência na matéria.

Foi promovida a audição do órgão de governo próprio da Região Autónoma dos Açores. Foi ouvido o órgão de governo próprio da Região Autónoma da Madeira.

Assim:

Nos termos da alínea *a*) do n.º 1 do artigo 198.º da Constituição, o Governo decreta o seguinte:

CAPÍTULO I

Disposições gerais

Artigo 1.º

Objecto

O presente decreto-lei estabelece o regime a que obedece a utilização de lamas de depuração em solos agrícolas, transpondo para a ordem jurídica nacional a Directiva n.º 86/278/CE, do Conselho, de 12 de Junho,

de forma a evitar efeitos nocivos para o homem, para a água, para os solos, para a vegetação e para os animais e a promover a sua correcta utilização.

Artigo 2.º

Âmbito

O presente decreto-lei aplica-se à utilização de lamas de depuração em solos agrícolas provenientes de estações de tratamento de águas residuais domésticas, urbanas, de actividades agro-pecuárias, de fossas sépticas ou outras de composição similar.

Artigo 3.º

Definições

Para os efeitos do disposto no presente decreto-lei, entende-se por:

- a) «Lamas de depuração»:
 - i) As lamas provenientes de estações de tratamento de águas residuais domésticas, urbanas e de outras estações de tratamento de águas residuais de composição similar às águas residuais domésticas e urbanas;
 - ii) As lamas de fossas sépticas e de outras instalações similares para o tratamento de águas residuais;
 - iii) As lamas provenientes de estações de tratamento de águas residuais de actividades agro-pecuárias;
- b) «Lamas de composição similar»:
 - i) Lamas provenientes do tratamento de efluentes de preparação e processamento de frutos, legumes, cereais, óleos alimentares, cacau, café, chá e tabaco, da produção de conservas, da produção de levedura e extracto de levedura e da preparação e fermentação de melações [classificação da Lista Europeia de Resíduos (LER) 020305, conforme prevista na Portaria n.º 209/2004, de 3 de Março];
 - ii) Lamas do tratamento de efluentes do processamento do açúcar (classificação da LER 020403);
 - iii) Lamas do tratamento de efluentes da indústria de lacticínios (classificação da LER 020502);
 - iv) Lamas do tratamento de efluentes da indústria de panificação, pastelaria e confeitaria (classificação da LER 020603);
 - v) Lamas do tratamento de efluentes da produção de bebidas alcoólicas e não alcoólicas, excluindo café, chá e cacau (classificação da LER 020705);
 - vi) Lamas do tratamento de efluentes da produção e transformação da pasta para papel, papel e cartão (classificação da LER 030311);
- c) «Lamas tratadas» as lamas tratadas por via biológica, química ou térmica, por armazenagem a longo prazo ou por qualquer outro processo;

- d) «Tratamento» a eliminação dos microrganismos patogénicos que ponham em risco a saúde pública, bem como a redução significativa do poder de fermentação de modo a evitar a formação de odores desagradáveis;
- e) «Solo agrícola» a superfície de terra arável, de pastagem permanente, de terra destinada a culturas permanentes e as superfícies florestais;
- f) «Solo profundo» solo que possua pelo menos 25 cm de profundidade;
- g) «Utilização» a aplicação de lamas no solo com o objectivo de manter e ou melhorar a sua fertilidade.

CAPÍTULO II

Da utilização de lamas em solos agrícolas

Artigo 4.º

Tipo de lamas utilizáveis

Apenas podem ser utilizadas em solos agrícolas as lamas tratadas que cumpram os valores limite constantes dos parâmetros fixados no anexo I ao presente decreto-lei e que dele faz parte integrante.

Artigo 5.º

Volume de lamas utilizável

1 — Sem prejuízo do disposto nos números seguintes, são utilizáveis anualmente até 6 t de matéria seca de lamas por hectare.

2 — É utilizável uma quantidade superior à referida no número anterior quando, face ao valor da concentração de metais pesados nas lamas, não sejam ultrapassados os valores limite para as quantidades anuais de metais pesados que podem ser introduzidos nos solos cultivados previstos no quadro n.º 3 do anexo I.

3 — É utilizável uma quantidade de lamas inferior à referida no n.º 1 quando, face ao valor da concentração de metais pesados nas lamas, sejam ultrapassados os valores limite para as quantidades anuais de metais pesados que podem ser introduzidos nos solos cultivados previstos no quadro n.º 3 do anexo I.

Artigo 6.º

Zona de separação

1 — É vedada a utilização superficial de lamas numa extensão de terreno de:

- a) 50 m, relativamente a captações para água de rega;
- b) 100 m, relativamente a habitações ou a captações de água para consumo humano, sem prejuízo do disposto no Decreto-Lei n.º 382/99, de 22 de Setembro, relativo ao estabelecimento de perímetros de protecção para captação de águas subterrâneas destinadas ao abastecimento das populações;
- c) 200 m, relativamente a aglomerados populacionais, escolas ou zonas de interesse público.

2 — As distâncias referidas nas alíneas a) e b) do número anterior podem ser reduzidas mediante autorização concedida, por escrito, pelo proprietário afectado pela aplicação das lamas e pela comissão de coor-

denação e desenvolvimento regional territorialmente competente.

Artigo 7.º

Aplicação no solo

1 — As lamas são aplicadas no solo no prazo máximo de dois dias após a sua entrega, sem prejuízo do disposto na alínea *f*) do artigo 10.º

2 — As lamas são preferencialmente aplicadas sobre solos bem desenvolvidos e profundos, tendo em conta as necessidades nutricionais das plantas, de forma a proteger adequadamente a qualidade do solo e das águas superficiais e subterrâneas.

Artigo 8.º

Análises a efectuar

1 — É obrigatória a análise das lamas utilizadas e dos solos objecto de intervenção.

2 — As análises são realizadas nos termos constantes do anexo II ao presente decreto-lei, que dele faz parte integrante.

3 — As lamas destinadas a utilização agrícola oriundas de estações de tratamento de águas residuais urbanas que recebam águas residuais de outras origens para além da doméstica são igualmente sujeitas a análise de compostos orgânicos e dioxinas, nos termos do disposto no n.º 1.3 do anexo II.

4 — As análises são preferencialmente realizadas por laboratórios acreditados para o efeito, no âmbito do Sistema Português da Qualidade.

5 — As análises realizadas por outros laboratórios são acompanhadas da respectiva ficha técnica de análise, contendo a indicação do procedimento ou norma utilizada para assegurar a qualidade dos resultados analíticos.

6 — As amostragens e análises referidas nos números anteriores são realizadas com base em normas europeias CEN, Comité Europeu de Normalização, ou nacionais.

7 — Em caso de inexistência das normas técnicas referidas no número anterior, aplicam-se as correspondentes normas internacionais, designadamente ISO.

8 — Por motivos de saúde pública ou de preservação do ambiente, pode ser determinada a realização de análises com maior frequência ou com outros parâmetros, designadamente incidindo sobre microrganismos patogénicos, em conformidade com o disposto no n.º 1.4 do anexo II.

Artigo 9.º

Dever de informação

Os produtores de lamas de depuração e os operadores de gestão de resíduos abrangidos pelo presente decreto-lei fornecem ao utilizador de lamas em solos agrícolas as seguintes informações:

- a) Identificação, nomeadamente o nome, número de identificação fiscal e domicílio ou sede social;
- b) Quantidades, composição e características das lamas entregues, bem como a respectiva classificação de acordo com a Portaria n.º 209/2004, de 3 de Março;
- c) Tipo de tratamento efectuado, de acordo com a alínea *d*) do artigo 3.º;
- d) Data em que tais informações foram recolhidas.

Artigo 10.º

Utilizações proibidas

É proibido:

- a) Injectar lamas no solo;
- b) Enterrar lamas no solo, sem prejuízo do disposto no Decreto-Lei n.º 152/2002, de 23 de Maio, relativo à deposição de resíduos em aterro;
- c) Aplicar lamas no solo quando:
 - i) A concentração de um ou vários metais pesados no solo ultrapasse os valores limite dos parâmetros fixados no quadro n.º 1 do anexo I;
 - ii) A concentração de um ou vários metais pesados na lama ultrapasse os valores limite dos parâmetros fixados no quadro n.º 2 do anexo I;
 - iii) As quantidades de metais pesados introduzidos no solo, por unidade de superfície numa média de 10 anos, ultrapassem os valores limite dos parâmetros fixados no quadro n.º 3 do anexo I;
 - iv) A concentração de um ou mais compostos orgânicos, incluindo dioxinas, nas lamas de estações de tratamento de águas residuais urbanas que recebam águas residuais de outras origens para além da doméstica ultrapasse os valores limite dos parâmetros fixados no quadro n.º 4 do anexo I;
- d) A entrega ou a aplicação de lamas destinadas a utilização:
 - i) Em prados ou culturas forrageiras, dentro das três semanas imediatamente anteriores à apascentação do gado ou à colheita de culturas forrageiras;
 - ii) Em culturas hortícolas e hortifrutícolas durante o período vegetativo;
 - iii) Em solos destinados a culturas hortícolas ou hortifrutícolas que estejam normalmente em contacto directo com o solo e que sejam normalmente consumidas em cru, durante um período de 10 meses antes da colheita e durante a colheita;
 - iv) Em solos destinados ao modo de produção biológico;
- e) Aplicar lamas em margens de águas, compreendendo estas:
 - i) Uma faixa de terreno de 50 m, no caso de margens das águas do mar, bem como das águas navegáveis ou flutuáveis sujeitas a jurisdição das autoridades marítimas ou portuárias;
 - ii) Uma faixa de terreno de 30 m, no caso das margens de outras águas navegáveis ou flutuáveis;
 - iii) Uma faixa de terreno de 10 m, no caso de margens de águas não navegáveis nem flutuáveis;
- f) Aplicar lamas sob condições climatéricas adversas, designadamente em situações de alta pluviosidade.

CAPÍTULO III

Licenciamento da utilização de lamas em solos agrícolas

Artigo 11.º

Licenciamento

A utilização de lamas em solos agrícolas está sujeita a licenciamento pela direcção regional da agricultura territorialmente competente.

Artigo 12.º

Procedimento

1 — O pedido de licenciamento de utilização agrícola de lamas em solos agrícolas é apresentado junto da autoridade licenciadora, em duplicado, de acordo com o modelo de requerimento constante do anexo III ao presente decreto-lei e que dele faz parte integrante.

2 — A autoridade licenciadora dispõe de um prazo de cinco dias úteis, a contar da data de recepção do requerimento, para solicitar elementos adicionais ao requerente ou, quando tal não se revele necessário, para remeter um exemplar do processo à comissão de coordenação e desenvolvimento regional territorialmente competente.

3 — O requerente dispõe de 10 dias úteis para juntar ao processo os elementos solicitados pela autoridade licenciadora, findo o qual, sem que os mesmos ou qualquer justificação sejam apresentados, o processo é arquivado.

4 — Logo que apresentados os elementos solicitados ao requerente pela autoridade licenciadora, é remetida cópia do processo à comissão de coordenação e desenvolvimento regional territorialmente competente, no prazo de cinco dias úteis.

5 — A comissão de coordenação e desenvolvimento regional territorialmente competente emite parecer relativo às suas áreas de competência, no prazo de 10 dias úteis a contar da data de recepção do processo enviado pela autoridade licenciadora.

6 — O parecer a que se refere o número anterior é vinculativo, quando se pronunciar negativamente sobre o pedido ou quando estabelecer condições para a realização da operação.

Artigo 13.º

Decisão

1 — A autoridade licenciadora profere a decisão sobre o pedido apresentado no prazo de 10 dias úteis a contar do termo do prazo a que se refere o n.º 5 do artigo anterior.

2 — A emissão da licença pressupõe o cumprimento do disposto nos artigos 4.º, 5.º, 6.º, 7.º, 8.º e 10.º do presente decreto-lei, bem como das disposições legais e regulamentares relativas ao ordenamento do território, ao domínio público hídrico e ao tipo de culturas e respectivo uso do solo.

3 — O pedido considera-se deferido, na ausência de decisão, no prazo de dois meses a contar da data da apresentação do requerimento.

4 — A decisão final que defira o pedido apresentado integra obrigatoriamente, em qualquer caso, as condições que sejam fixadas no parecer emitido pela comissão de coordenação e desenvolvimento regional territorial-

mente competente, sendo dado conhecimento da mesma a esta entidade.

Artigo 14.º

Licença

1 — Da licença deve constar:

- a) A identificação do seu titular, incluindo nome, número de identificação fiscal, bem como o objecto social, capital social e sede social e filiais, no caso de pessoas colectivas;
- b) O tipo e volume de lamas que o titular pode utilizar;
- c) A identificação da exploração destinatária das lamas;
- d) O prazo da licença;
- e) As condições a que se encontra submetida.

2 — O requerente é notificado do teor integral da licença.

Artigo 15.º

Taxa

1 — O procedimento de licenciamento disciplinado no presente capítulo está sujeito ao pagamento de uma taxa de apreciação no valor de € 500.

2 — O valor referido no número anterior considera-se automaticamente actualizado por aplicação do índice de preços no consumidor fixado anualmente pelo Instituto Nacional de Estatística.

3 — O produto da cobrança da taxa de apreciação é afectado da seguinte forma:

- a) 65 % para a autoridade licenciadora;
- b) 35 % para a comissão de coordenação e desenvolvimento regional territorialmente competente.

CAPÍTULO IV

Fiscalização e sanções

Artigo 16.º

Fiscalização

A fiscalização do cumprimento do disposto no presente decreto-lei compete às comissões de coordenação e desenvolvimento regional, às direcções regionais do Ministério da Agricultura com competência na área da fiscalização e às autoridades policiais, sem prejuízo das competências fixadas por lei a outras entidades.

Artigo 17.º

Contra-ordenações

1 — Constitui contra-ordenação punível com coima de € 2500 a € 3740 ou de € 15 000 a € 44 890, consoante o infractor seja, respectivamente, pessoa singular ou colectiva, a prática dos seguintes actos:

- a) A aplicação não licenciada de lamas em solos agrícolas;
- b) A violação das proibições constantes do artigo 10.º

2 — Constitui contra-ordenação punível com coima de € 1000 a € 3740 ou de € 5000 a € 15 000, consoante

o infractor seja, respectivamente, pessoa singular ou colectiva, a prática dos seguintes actos:

- a) O não cumprimento do disposto nos artigos 4.º, 5.º, 6.º, 7.º e 8.º;
- b) A aplicação de lamas em solos agrícolas em violação do disposto na respectiva licença.

3 — Constitui contra-ordenação punível com coima de € 250 a € 2500 ou de € 1500 a € 5000, consoante o infractor seja, respectivamente, pessoa singular ou colectiva, o não cumprimento do disposto no artigo 9.º

4 — A negligência e a tentativa são puníveis nos termos da lei geral, reduzindo-se para metade os montantes mínimos e máximos das coimas aplicáveis referidos nos números anteriores.

Artigo 18.º

Sanções acessórias

A entidade competente para aplicação de coimas pode determinar ainda, nos termos da lei geral, a aplicação das seguintes sanções acessórias:

- a) Interdição do exercício de uma profissão ou actividade;
- b) Privação do direito a subsídios ou benefícios outorgados por entidades ou serviços públicos;
- c) Suspensão de autorizações, licenças e alvarás.

Artigo 19.º

Instrução dos processos

Compete à direcção regional da agricultura territorialmente competente a instrução dos processos relativos às contra-ordenações previstas no artigo 17.º e decidir da aplicação das respectivas coimas e sanções acessórias.

Artigo 20.º

Produto das coimas

A afectação do produto das coimas é feita da seguinte forma:

- a) 60 % para o Estado;
- b) 30 % para a entidade que instrui o processo;
- c) 10 % para a entidade auatante.

CAPÍTULO V

Disposições finais

Artigo 21.º

Comunicação de informação

As direcções regionais de agricultura remetem a informação relativa aos licenciamentos emitidos ao Instituto dos Resíduos, à comissão de coordenação e desenvolvimento regional territorialmente competente e ao Instituto de Desenvolvimento Rural e Hidráulica, até 1 de Fevereiro do ano imediatamente seguinte aos dos actos a que reportam.

Artigo 22.º

Situações existentes

1 — As entidades que se encontrem licenciadas ou autorizadas a utilizar lamas de depuração para fins agrícolas à data da entrada em vigor do presente decreto-lei

devem apresentar um pedido de actualização dessas licenças ou autorizações junto da respectiva autoridade emitente no prazo máximo de três meses contado a partir dessa mesma data.

2 — O incumprimento do disposto no número anterior determina a caducidade de todas as licenças ou autorizações anteriormente emitidas.

Artigo 23.º

Norma revogatória

São revogados o Decreto-Lei n.º 446/91, de 22 de Novembro, a Portaria n.º 176/96, de 3 de Outubro, a Portaria n.º 177/96, de 3 de Outubro, e o despacho conjunto n.º 309-G/2005, de 19 de Abril.

Artigo 24.º

Regiões Autónomas

1 — O presente decreto-lei aplica-se às Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira, sem prejuízo de diploma regional que proceda às necessárias adaptações.

2 — O produto das coimas cobradas nas Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira constitui receita própria das mesmas.

Artigo 25.º

Entrada em vigor

O presente decreto-lei entra em vigor no dia seguinte ao da sua publicação.

Visto e aprovado em Conselho de Ministros de 6 de Abril de 2006. — *José Sócrates Carvalho Pinto de Sousa* — *João Titterington Gomes Cravinho* — *Fernando Teixeira dos Santos* — *Alberto Bernardes Costa* — *Francisco Carlos da Graça Nunes Correia* — *Jaime de Jesus Lopes Silva*.

Promulgado em 7 de Junho de 2006.

Publique-se.

O Presidente da República, ANÍBAL CAVACO SILVA.

Referendado em 8 de Junho de 2006.

O Primeiro-Ministro, *José Sócrates Carvalho Pinto de Sousa*.

ANEXO I

Valores limite para a concentração de metais pesados nos solos receptores de lamas e nas lamas para utilização na agricultura, quantidades máximas que poderão ser introduzidas anualmente nos solos agrícolas e outros parâmetros a analisar em determinados tipos de lamas, designadamente compostos orgânicos e dioxinas, incluindo os respectivos valores limite de concentração.

QUADRO N.º 1

Valores limite de concentração de metais pesados nos solos

(miligrama/quilograma de matéria seca)

Parâmetro	Valores limite em solos com		
	pH ≤ 5,5	5,5 < pH ≤ 7,0	pH > 7,0 (*)
Cádmio	1	3	4
Cobre	50	100	200

Parâmetro	Valores limite em solos com		
	pH ≤ 5,5	5,5 < pH ≤ 7,0	pH > 7,0 (*)
Níquel	30	75	110
Chumbo	50	300	450
Zinco	150	300	450
Mercúrio	1	1,5	2
Crómio	50	200	300

(*) Aplicável a solos onde se efectuam culturas com fins comerciais e destinadas unicamente ao consumo animal.
As direcções regionais de agricultura indicarão o número e a natureza dos locais em causa.

QUADRO N.º 2

Valores limite de concentração de metais pesados nas lamas destinadas à agricultura

(miligrama/quilograma de matéria seca)

Parâmetro	Valores limite
Cádmio	20
Cobre	1 000
Níquel	300
Chumbo	750
Zinco	2 500
Mercúrio	16
Crómio	1 000

QUADRO N.º 3

Valores limite para as quantidades anuais de metais pesados que podem ser introduzidos nos solos cultivados, com base numa média de 10 anos.

(quilograma/hectare/ano)

Parâmetro	Valores limite
Cádmio	0,15
Cobre	12
Níquel	3
Chumbo	15
Zinco	30
Mercúrio	0,1
Crómio	4,5

QUADRO N.º 4

Valores limite de concentração de compostos orgânicos e dioxinas nas lamas destinadas à agricultura, produzidas em estações de tratamento de águas residuais urbanas que recebam águas residuais de outras origens para além da doméstica.

Compostos orgânicos	Valores limite (mg/kg ms)
AOX (compostos organohalogenados adsorvíveis ou haletos orgânicos adsorvíveis)	500
LAS (alquilo benzenossulfonatos lineares)	2 600
DEHP (di(2-etilhexil) ftalato)	100
NPE (nonilfenóis e nonilfenóis etoxilados)	50
PAH (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos)	6
PCB (compostos bifenilos policlorados)	0,8
Dioxinas	Valores limite (ng TE/kg ms)
PCDD/F (policlorodibenzodioxinas/furanos)	100

ANEXO II

Frequência das análises das lamas destinadas à agricultura e dos solos, parâmetros a analisar, métodos de amostragem e de análise e normas de referência a seguir.

1 — Análise das lamas:

1.1 — Frequência das análises:

1.1.1 — As lamas devem ser analisadas pelo menos duas vezes por ano, uma no período Outono-Inverno e outra no período Primavera-Verão.

1.1.2 — Caso, no período de dois anos consecutivos, os resultados das análises não difiram de forma significativa entre si, as lamas poderão ser analisadas apenas uma vez por ano.

1.1.3 — Sempre que surgirem variações significativas na qualidade da água bruta ou alterações no funcionamento da estação de tratamento de águas residuais, deve ser realizada uma análise após a primeira produção de lamas.

1.2 — Parâmetros a analisar em todas as lamas destinadas a utilização agrícola:

1.2.1 — Devem ser analisados os seguintes parâmetros:

- Matéria seca;
- Matéria orgânica;
- pH;
- Azoto total;
- Azoto nítrico e amoniacal;
- Fósforo total;
- Metais pesados (cádmio, cobre, níquel, chumbo, zinco, mercúrio e crómio).

1.2.2 — A comissão de coordenação e desenvolvimento regional (CCDR) e a direcção regional de agricultura (DRA) competentes podem dispensar a realização de análises do cobre, do zinco e do crómio, caso tais parâmetros não se encontrem presentes ou apenas se encontrem presentes em quantidade desprezável nas águas afluentes à estação de tratamento.

1.2.3 — Nos casos previstos na alínea anterior, a CCDR e a DRA decidirão quais os parâmetros a analisar.

1.3 — Parâmetros a analisar nas lamas de estações de tratamento de águas residuais urbanas que recebam águas residuais de outras origens para além da doméstica, destinadas a utilização agrícola:

1.3.1 — Devem ser analisados os seguintes parâmetros:

- Compostos orgânicos (AOX, LAS, DEHP, NPE, PAH e PCB);
- Dioxinas (PCDD/F).

1.3.2 — A CCDR e a DRA competentes podem dispensar a realização de análises dos compostos orgânicos e das dioxinas, caso tais parâmetros não se encontrem presentes ou apenas se encontrem presentes em quantidade desprezável nas águas afluentes à estação de tratamento.

1.3.3 — Nos casos previstos na alínea anterior, a CCDR e a DRA decidirão quais os parâmetros a analisar.

1.4 — Outros parâmetros a analisar — a CCDR e a DRA podem exigir a análise de outros parâmetros, designadamente microrganismos patogénicos, tais como *Salmonella* spp e *Escherichia coli*.

1.5 — Métodos de análise:

1.5.1 — Amostragem:

- As lamas são objecto de amostragem após tratamento, e antes da entrega ao utilizador, devendo ser representativas das lamas produzidas;
- As amostras devem ser recolhidas na época de maior produção de lamas ou após variações significativas da qualidade dos efluentes;
- As amostras devem ser colhidas em vários locais, a diferentes profundidades e horas, sendo posteriormente homogeneizadas, antes de se proceder à sua análise.

1.5.2 — Métodos a utilizar:

- A análise dos metais pesados (cádmio, cobre, níquel, chumbo, zinco, mercúrio e crómio) é efectuada após digestão com água régia;
- O método de referência para a quantificação é a espectrofotometria de absorção atómica;
- O limite de detecção para cada metal não deve exceder 10% do respectivo valor limite de concentração.

2 — Análise dos solos:

2.1 — Frequência das análises — os solos devem ser analisados antes de cada aplicação de lamas e com uma antecedência máxima de seis meses relativamente à data da apresentação do requerimento.

2.2 — Parâmetros a analisar — devem ser analisados os seguintes parâmetros:

- pH;
- Metais pesados (cádmio, cobre, níquel, chumbo, zinco, mercúrio e crómio);
- Azoto;
- Fósforo.

2.3 — Métodos de análise:

2.3.1 — Amostragem:

- O terreno em que se pretende aplicar as lamas deverá ser dividido em parcelas de área não superior a 5 ha, cada uma com aspecto uniforme quanto à cor, textura, declive, drenagem e tipo de cultivo utilizado (mesmo tipo de cultura, estrumeações, adubações, calagens, etc.);
- Em cada uma destas parcelas, proceder-se-á à colheita de uma amostra representativa, constituída por 25 subamostras do mesmo tamanho, colhidas ao acaso na camada arável do solo a uma profundidade de 25 cm, utilizando, sempre que possível, sonda apropriada feita de material não contaminante. Nas situações em que a profundidade do solo de superfície é menor que 25 cm, a profundidade de colheita da amostra pode ser menor, mas nunca inferior a 10 cm;

- As subamostras são recolhidas num recipiente (balde) de material não contaminante, procedendo-se no fim à mistura cuidadosa da terra colhida de forma a ficar homogénea. Desta amostra retira-se uma porção de meio quilo, que é colocada num saco apropriado, devidamente etiquetado e enviado para o laboratório.

2.3.2 — Métodos a utilizar:

- A análise dos metais pesados (cádmio, cobre, níquel, chumbo, zinco, mercúrio e crómio) é efectuada após digestão com água régia. No caso do mercúrio, a análise pode ser feita directamente no material original, através de decomposição térmica, num analisador de mercúrio;
- O método de referência para a quantificação é a espectrofotometria de absorção atómica;
- O limite de detecção para cada metal não deve exceder 10% do respectivo valor limite de concentração.

3 — Normas de referência — a amostragem e a análise dos solos e das lamas deve ser realizada tendo por base as normas CEN. Em caso de inexistência das normas CEN, aplicam-se as correspondentes normas nacionais, caso existam, ou, na falta destas, as normas ISO.

3.1 — Análise das lamas:

Parâmetros	Título	Referência
Amostragem	Qualidade da água — amostragem — parte 13 do guia sobre amostragem de lamas provenientes de estações de tratamento de águas e de águas residuais.	NP EN ISO 5667-13.
Matéria seca	Caracterização das lamas — determinação do teor em matéria seca e do teor em água.	EN 12880.
Matéria orgânica	Caracterização das lamas — determinação da perda de massa por ignição.	EN 12879.
pH	Caracterização das lamas — determinação do valor do pH.	EN 12176.
Azoto	Caracterização das lamas — determinação do azoto Kjeldahl.	EN 13342.
Metais pesados e fósforo.	Caracterização das lamas — extração por água régia — determinação dos elementos metálicos vestigiais (arsénio, cádmio, crómio, cobre, mercúrio, níquel, chumbo, selénio e zinco) e do fósforo.	EN 13346.

Parâmetros	Título	Referência
	A análise do mercúrio poderá, também, ser efectuada através de decomposição térmica da amostra num analisador de mercúrio.	—

3.2 — Análise dos solos:

Parâmetros	Título	Referência
Amostragem	Qualidade do solo — amostragem — parte 1 do guia sobre programas de amostragem.	ISO 10381-1.
	Qualidade do solo — amostragem — parte 4 do guia sobre programas de amostragem.	ISO 10381-4.
pH	Qualidade do solo — determinação do pH.	ISO 10390.
Metais pesados	Qualidade do solo — extração dos elementos metálicos solúveis por água régia.	ISO 11466.
	A análise do mercúrio poderá, também, ser efectuada através de decomposição térmica da amostra num analisador de mercúrio.	—
	Qualidade do solo — determinação do cádmio, crómio, cobalto, cobre, chumbo, manganês, níquel e zinco, pelo método de espectrofotometria de absorção atómica de chama e atomização eletrotérmica.	ISO 11047.
Azoto	Qualidade do solo — determinação do azoto nítrico, do azoto amoniacal, do azoto solúvel total na amostra seca, usando cloreto de cálcio como agente de extração.	ISO 14255.
Fósforo	Qualidade do solo — determinação do fósforo — determinação por espectrofotometria do fósforo solúvel em solução de carbonato de sódio hidrogenado.	ISO 11263.
	Qualidade do solo — determinação do fósforo — determinação por espectrofotometria do fósforo extraído através da solução de lactato de amónio + ácido acético a pH 3,65-3,75.	—

ANEXO III

REQUERIMENTO

VALORIZAÇÃO AGRÍCOLA DE LAMAS DE DEPURAÇÃO

Requerimento para efeito de licença por parte da Direcção Regional da Agricultura

Data: ____/____/____ Número de processo: _____

1. Identificação do Requerente

1.1 Nome/Designação: _____ 1.2 NIF: _____

1.3 Morada/Sede Social: _____ 1.4 Cód. Postal: _____

1.5 Telef.: _____ 1.6 Fax: _____ 1.7 E-mail: _____

1.8 Qualidade do Requerente: Empresa gestora de resíduos Agricultor

2. Identificação da Infraestrutura de Origem das Lamas

2.1 Entidade Responsável: _____

2.2 Designação: _____ 2.3 Localização: _____

2.4 Endereço: _____ 2.5 Cód. Postal: _____

2.6 Telef.: _____ 2.7 Fax: _____ 2.8 E-mail: _____

3. Identificação do Responsável Técnico (designado pelo requerente)*

3.1 Nome: _____

3.2 Endereço: _____ 3.3 Cód. Postal: _____

3.4 Telef.: _____ 3.5 Fax: _____ 3.6 E-mail: _____

4. Identificação do Agricultor, Titular da Exploração destinatária das Lamas

4.1 Nome: _____ 4.2 NIF: _____

4.3 Endereço: _____ 4.4 Cód. Postal: _____

4.5 Telef.: _____ 4.6 Fax: _____ 4.7 E-mail: _____

5. Caracterização das Lamas a Valorizar na Agricultura

5.1 Origem dos efluentes tratados (1): Urbana Doméstica Agro-pecuária Similares

5.2 Quantidade de lamas a aplicar (10³): _____

5.3 No caso de origem agro-pecuária ou agro-industrial deverá especificar:

5.3.1 Especificar que o tratamento das lamas que assegure a eliminação dos microorganismos patogénicos em termos de saúde pública e de redução do poder de fermentação:

Biológico Químico Térmico Armazenamento de longo prazo

Outro: _____ Especificar: _____

5.3.2 Já foram utilizadas na agricultura lamas da mesma proveniência, nos últimos dois anos? Sim Não Desconhece

5.4 Classificação da lama de acordo com a LER (Portaria n.º 209/2004, Anexo I)

(1) Não são permitidas lamas de outras proveniências para além das referidas, incluindo de indústrias transformadoras de produtos de origem animal.

* Quem aplica

6. Compromissos assumidos com a aplicação das lamas de depuração

1. Criar condições que garantam o cumprimento das condições legais relativas à aplicação das lamas ao solo, designadamente através do acompanhamento pelo responsável técnico indicado.

A) Respeitar o período de proibição de aplicação de lamas às culturas, designadamente:

Pratos e culturas forrageiras: até 3 semanas antes da apascentação ou colheita;

Hortícolas ou horto-frutícolas (excepto árvores de fruto): durante o período vegetativo;

Hortícolas ou horto-frutícolas em contacto directo com o solo e para consumo em cru: até 10 meses da colheita e durante a colheita

B) Respeitar as seguintes distâncias mínimas:

Habitções - 100m

Aglomerados Populacionais, escolas e outras zonas de interesse público - 200m

Popes e liras de captação de água de rega - 50m

Captações de água de consumo - 100m

C) Não aplicar nas margens de águas, entendendo-se estas como:

Margem de águas do mar e de águas navegáveis ou flutuáveis sujeitas a jurisdição das autoridades marítimas ou portuárias - 50m

Margem de outras águas navegáveis ou flutuáveis - 30m

Margem de águas não navegáveis nem flutuáveis - 10m

D) Não aplicar em condições climáticas adversas, designadamente em situação de alta pluviosidade.

E) Não aplicar em solos destinados ao modo de produção biológico.

F) Incorporar as lamas no solo no máximo dois dias após a sua aplicação.

G) Respeitar as quantidades máximas de aplicação licenciadas.

H) Respeitar outras condições que os serviços oficiais competentes venham a determinar.

2. Enviar semestralmente à DRA o mapa de registo de aplicação das lamas (anexo IV)

3. Guardar o triplicado, da guia de transporte de lamas e reterem cópia do mesmo ao produtor/detentor das lamas no prazo de 30 dias.

Declaro por minha honra, que não verdadeiros os enuncios constantes neste formulário e que sou conhecedor dos compromissos que assumirei com a aplicação das lamas de depuração após a obtenção da respectiva licença.

de _____ de 20____

O Requerente

Documentos anexos

1. Anexo "Dados de exploração e das parcelas agrícolas".

2. Boletim de análise de lama (1)

3. Boletim de análise microbiológica da lama (1) (2)

4. Boletim de análise de compostos orgânicos e dioxinas (1) (2)

5. Boletim de análises dos solos (um por parcela homogénea) (1)

6. Documentos P1 da exploração e P2 das parcelas receptoras de lama

7. Descrição do processo de tratamento de águas residuais que deu origem às lamas

8. Outros:

(1) As análises devem ser realizadas com uma antecedência máxima de 6 meses relativamente à data de apresentação do requerimento

(2) Quando aplicável

ANEXO ao Requerimento

VALORIZAÇÃO AGRÍCOLA DE LAMAS DE DEPURAÇÃO
ANEXO
Caracterização da Exploração e das Parcelas Agrícolas

1. Identificação do Requerente e Agricultor

1.1 Requerente: _____ 1.2 NIF: _____
1.3 Agricultor: _____ 1.4 NIF: _____

Número de processo _____
Data: ____/____/____
Ass: _____

2. Identificação das Parcelas Agrícolas de Destino

Nº Seq	Número de parcelário (1)	Concelho	Freguesia	Área(2) (ha)	Cultura ou rotação	Profundidade do solo > 25cm (Sim/Não)	Respeito da Zona de Protecção (3) (Sim/Não)
1							
2							
3							
4							
5							

2. Identificação das Parcelas Agrícolas de Destino (continuação)

Nº Seq.	Quantidade (t on/ha)	Aplicação de Lama											Número de Aplicações Anteriores (5)	
		Calendário (4)												
		Jan	Feb	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	
1														
2														
3														
4														
5														

- NOTAS:**
- (1) - É obrigatória a identificação de parcelas com base no Sistema de Identificação Parcelar (SIP).
 - (2) - Apenas são consideradas as parcelas individuais ou contíguas com área superior ou igual a 0,5 ha conforme o documento P1.
 - (3) - Salvaguardar as distâncias a respeitar.
 - (4) - A quantidade total pode ser fraccionada devendo ser assinalados os respectivos períodos de aplicação.
 - (5) - Deve ser referido quantas aplicações cada parcela já recebeu lamas de depuração, tomando como referência outras aplicações anteriores a este pedido.
 - (6) - As áreas declaradas devem ser coerentes com as áreas do P1.

3. Informação Relativa à Exploração Agrícola

Efectivo Pecuário			Superfície Agrícola Utilizada (6)	
Espécie	Adultos	Nº Cabeças	Cultura	Área (ha)
Bovinos	> 6 meses		Vinha	
	< 2 anos		Pomer	
Ovinos			Outras Culturas Permanentes	
Caprinos			Pastagens permanentes	
Equinos (> 6 meses)			Culturas Anuais	
Suínos (> 8 meses)			TOTAL	

4. Compromissos assumidos com a aplicação das lamas de depuração

- 1- Respeitar o período de proibição de aplicação de lamas às culturas, designadamente:
 - Pratiças e culturas forrageiras - até 3 semanas antes da assecação ou colheita.
 - Hortícolas ou horto-frutícolas (excepto árvores de fruto) - durante o período vegetativo.
 - Hortícolas ou horto-frutícolas em contacto directo com o solo e para consumo em cru - até 10 meses antes da colheita e durante a colheita.
- 2- Respeitar as seguintes distâncias mínimas:
 - Habitções Popacionais, escolas e outras zonas de interesse público - 200 m
 - Poços e fontes de captação de água de rega - 50 m
 - Captação de água de consumo - 100 m
- 3- Não aplicar nas margens de águas, entendendo-se estas como:
 - Margem de águas do mar e de águas navegáveis ou flutuáveis sujeitas a jurisdição das autoridades marítimas ou portuárias - 50m
 - Margem de outras águas navegáveis ou flutuáveis - 50m
 - Margem de águas não navegáveis ou flutuáveis - 50m
- 4- Não aplicar em condições climáticas adversas, designadamente em situação de alta pluviosidade.
- 5- Não aplicar em solos destinados ao modo de produção biológico.
- 6- Incorporar as lamas no solo no máximo dois dias após a sua aplicação.
- 7- Respeitar as quantidades máximas de aplicação declaradas.
- 8- Respeitar outras condições que os serviços oficiais competentes venham a determinar.
- 9- Comunicar, por escrito, à Direcção Regional de Agricultura, com pelo menos 3 dias de antecedência a data de aplicação.
- 10- Proceder ao registo da quantidade de lamas aplicadas, por data, em cada parcela.
- 11- Autorizar o acesso dos técnicos do Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas às parcelas de destino das lamas e declarar neste Anexo.
- 12- Prestar todas as informações solicitadas no âmbito de acções de controlo à aplicação das lamas de depuração.

Declaro por minha honra, que são verdadeiros os elementos constantes neste formulário e que sou conhecedor dos compromissos que assumo com a aplicação das lamas de depuração após a obtenção da respectiva licença.

_____ de _____ de _____

O Agricultor

REGIÃO AUTÓNOMA DA MADEIRA

Assembleia Legislativa

Decreto Legislativo Regional n.º 21/2006/M

Altera o Decreto Legislativo Regional n.º 4/2000/M, de 31 de Janeiro, que aprovou o regime de autonomia, administração e gestão dos estabelecimentos de educação e de ensino públicos da Região Autónoma da Madeira.

O modelo de autonomia, administração e gestão das escolas, implementado pelo Decreto Legislativo Regional n.º 4/2000/M, de 31 de Janeiro, constituiu um passo importante na valorização de cada escola num reforço das suas competências nos domínios pedagógico, administrativo, financeiro e organizacional no quadro do seu projecto educativo e num reconhecimento por parte da administração educativa das escolas como núcleo estruturante das políticas de educação.

A experiência colhida determina, no entanto, a melhoria do modelo, consubstanciado nos princípios de democraticidade, participação e intervenção comunitária previstos na Constituição da República Portuguesa e na Lei de Bases do Sistema Educativo, numa perspectiva de valorização da escola pública e dos seus actores.

Neste quadro define-se, de forma clara, e com referência àquela Lei de Bases, o conselho da comunidade educativa como órgão de direcção da escola responsável pela definição da sua política, de forma substantiva e

Anexo E:

Preparação de 2000 ml de uma solução mãe de 1000 mg/L em NO_3^- -N

Sabe-se que o peso atómico do nitrogénio é de 14,0067 e a massa molar do ião nitrato (NO_3^-) é de 62,0049 g/mol.

$$X = 1000 * 62,005/14,007 = 4426,71 \text{ mg } NO_3^- = 4,4267 \text{ g } NO_3^-.$$

Como a massa molar de $NaNO_3$ é de 84,995 g/mol têm-se:

$$X = 4,4267 * 84,995/62,005 = 6,068 \text{ g de } NaNO_3$$

Como se pretende preparar 2000 ml:

$$X = 2000 * 6,068/1000 = 12,1360 \text{ g de } NaNO_3.$$

Anexo F

Preparação de 17000 ml de uma solução mãe de 1000 mg/l em NO_3^- - N

Pretende-se preparar 17000 ml de uma solução de nitrato de sódio de concentração 1000 mg/l, para isso foi necessário efetuar os seguintes cálculos:

Como já foi efetuado o cálculo para a concentração de 1000 ppm em azoto a partir de nitrato de sódio para 2000 ml no Anexo E, têm-se:

$$X = 17000 \text{ ml} * 6,068 \text{ g NaNO}_3 / 1000 \text{ ml}$$

X= 103,156 gramas de $NaNO_3$ para preparar 17000 ml com concentração de 1000 mg/l em NO_3^- - N

Anexo G

Preparação de 10000 ml de uma solução mãe de 1000 mg/l em NO_3^- - N

Como já foi visto anteriormente através de cálculos, para 1000 ml de solução é necessário 6,068 g $NaNO_3$ para fazer uma solução de 1000 mg/l de NO_3^- como N.

$$X = 6,068 \text{ g } NaNO_3 * 10000 \text{ ml} / 1000 \text{ ml}$$

X= 60,068 gramas de $NaNO_3$ para preparar 10000 ml com concentração de 1000 mg/l em NO_3^- - N

Anexo H

Tabela H1 – Valores de tamanho da casca dos gastrópodes testados na fase de estudo com valores de concentração com uma progressão aritmética entre 100 e 1000 mg/l $[NO_3^-]$ - N para a determinação do LC_{50} .

Tabela H2 – Resultados apresentados pelo SPSS® para o teste estatístico de Shapiro-Wilk para anormalidade de erros.

Tests of Normality							
	Conc	Kolmogorov-Smirnov ^f			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Tamanho	100,00	,153	8	,200*	,940	8	,614
	200,00	,259	6	,200*	,883	6	,283
	300,00	,185	7	,200*	,876	7	,210
	400,00	,157	7	,200*	,956	7	,783
	500,00	,176	7	,200*	,899	7	,325
	600,00	,211	7	,200*	,941	7	,649
	700,00	,317	6	,060	,810	6	,073
	800,00	,231	6	,200*	,909	6	,429
	900,00	,207	6	,200*	,876	6	,251
	1000,00	,208	8	,200*	,926	8	,478

*. This is a lower bound of the true significance.

f. Lilliefors Significance Correction

O resultado do teste de Shapiro-Wilk mostra claramente que existe normalidade de erros porque apresenta uma significância sempre superior a 0,05 que era a condição da hipótese nula para a existência de homogeneidade de variâncias (Sig. >0,05).

Tabela H3 – Resultados apresentados pelo SPSS® para o teste estatístico de Levene para homogeneidade de variâncias.

Test of Homogeneity of Variances

Tamanho

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
------------------	-----	-----	------

,715 ^a	9	58	,693
-------------------	---	----	------

a. Groups with only one case are ignored in computing the test of homogeneity of variance for Tamanho.

O resultado do teste de Levene mostra que existe homogeneidade de variâncias porque apresenta um significância superior a 0,05 que era a condição da hipótese nula para a existência de homogeneidade de variâncias (Sig. >0,05).

Tabela H4 – Resultados apresentados pelo SPSS® para o teste estatístico de análise de variância (ANOVA).

ANOVA

Tamanho

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,695	14	,192	1,253	,265
Within Groups	8,910	58	,154		
Total	11,605	72			

O resultado da análise de variância mostra que não existe diferença estatística entre as médias de tamanho dos caracóis usados nos ensaios porque o valor da significância é superior a 0,05, que era a condição da hipótese nula para a existência de homogeneidade de variâncias (Sig. >0,05).

Anexo I

Resultados obtidos na determinação do LC₅₀ do íão nitrato

Tabela I1 – Resultados da fase exploratória com progressão de concentrações logarítmica

Tempo (h)	Mortos							Controlo
	Concentrações de NO ₃ ⁻ -N (mg/L)							
	0,001	0,01	0,1	1	10	100	1000	Branco
24	0	0	0	0	0	0	10	0
48	0	0	0	0	0	0	10	0
72	0	0	0	0	0	0	10	0
96	0	0	0	0	0	0	10	0
120	0	0	0	1	0	0	10	0

Tabela I2 – Resultados da fase com progressão aritmética (Valores a vermelho não foram usados).

Mortos												
Branco (Controlo)												
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)			
24	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
48	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
72	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
96	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
120	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00				

Mortos												
300 NO ₃ -N (mg/L)												
Tempo (h)	c	b	a	d	e	f	Média	dp	CV(%)			
24	4	1	0	0	0	0	0,20	0,45	223,61			
48	7	1	1	0	0	0	0,40	0,55	136,93			
72	10	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
96	10	0	0	0	0	2	0,40	0,89	223,61			
120	10	1	2	0	0	2	1,00	1,00	100,00			

Mortos												
600 NO ₃ -N (mg/L)												
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)			
24	9	4	0	0	0	0	0,80	1,79	223,61			
48	10	7	3	0	0	0	2,00	3,08	154,11			
72	10	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
96	10	1	0	0	0	0	0,20	0,45	223,61			
120	10	8	0	0	0	0	3,00	4,69	156,35			

Mortos												
900 NO ₃ -N (mg/L)												
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)			
24	4	8	8	0	0	0	3,33	3,93	117,98			
48	10	9	10	0	0	0	4,83	5,31	109,80			
72	10	10	9	0	0	0	4,83	5,31	109,80			
96	10	10	10	1	4	2	6,17	4,31	69,87			
120	10	10	10	4	4	6	7,33	3,01	41,06			

Mortos												
100 NO ₃ -N (mg/L)												
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)			
24	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
48	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
72	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
96	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
120	0	1	0	0	0	0	0,17	0,41	244,95			

Mortos												
400 NO ₃ -N (mg/L)												
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)			
24	2	0	2	0	0	0	0,40	0,89	223,61			
48	3	2	2	0	0	0	0,80	1,10	136,93			
72	7	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
96	10	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
120	10	0	1	0	0	0	1,83	0,45	24,39			

Mortos												
700 NO ₃ -N (mg/L)												
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)			
24	6	3	4	0	0	0	2,17	2,56	118,27			
48	7	5	5	1	1	0	3,17	2,86	90,24			
72	7	0	2	1	1	0	1,83	2,64	143,87			
96	9	1	1	1	1	1	2,33	3,27	139,97			
120	10	10	10	1	1	1	5,50	4,93	89,63			

Mortos												
1000 NO ₃ -N (mg/L)												
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)			
24	4	7	5	0	0	0	2,67	3,08	115,38			
48	10	10	10	1	4	3	6,33	4,13	65,23			
72	9	10	10	3	6	4	7,00	3,10	44,26			
96	10	10	10	9	8	7	9,00	1,26	14,05			
120	10	10	10	10	10	10	10,00	0,00	0,00			

Mortos												
200 NO ₃ -N (mg/L)												
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)			
24	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00				
48	0	0	1	0	0	0	0,17	0,41	244,95			
72	0	0	0	0	0	2	0,33	0,82	244,95			
96	0	0	3	0	0	2	0,83	1,33	159,50			
120	0	1	3	0	0	2	1,00	1,26	126,49			

Mortos												
500 NO ₃ -N (mg/L)												
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)			
24	0	1	0	0	0	0	0,17	0,41	244,95			
48	1	2	2	0	0	0	0,83	0,98	117,98			
72	0	0	1	0	0	0	0,17	0,41	244,95			
96	1	0	4	0	0	0	0,83	1,60	192,25			
120	1	0	7	0	0	0	1,33	2,80	210,36			

Mortos												
800 NO ₃ -N (mg/L)												
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)			
24	5	3	6	0	0	0	2,33	2,73	117,11			
48	7	8	9	1	0	1	4,33	4,08	94,21			
72	10	9	6	1	0	1	4,50	4,42	98,13			
96	10	7	8	1	2	2	5,00	3,79	75,89			
120	10	10	10	4	2	5	6,83	3,60	52,70			

Anexo J

Tabela J1 – Resultados globais da monitorização do efeito ”movimento dos gastrópodes”.

Parte 1

Tempo (h)	Movimento										Média	dp	CV(%)
	Branco (Controlo)												
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d			
0,5	30	4	5	9	9	3	1	5,17	3,25	62,92	10,00		
1	60	5	9	10	4	4	4	6,83	2,79	40,78	10,00		
2	120	5	9	10	10	3	9	7,67	2,94	38,40	9,00		
4	240	5	6	7	10	9	9	7,67	1,97	25,65	9,00		
8	480	7	6	9	10	10	10	8,17	1,72	21,09	10,00		
24	1440	10	10	10	10	10	10	10,00	0,00	0,00	10,00		
48	2880	9	9	10	10	7	9	9,00	1,10	12,17	10,00		
72	4320	10	10	10	10	10	10	10,00	0,00	0,00	10,00		
96	5760	10	10	10	10	10	10	10,00	0,00	0,00	10,00		
120	7200	10	10	10	10	10	10	10,00	0,00	0,00	10,00		

Tempo (min)	Movimento										Média	dp	CV(%)
	0,001 NO ₃ -N (mg/L)												
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d			
30	10										10,00		
60	10										10,00		
120	9										9,00		
240	9										9,00		
480	10										10,00		
1440	10										10,00		
2880	10										10,00		
4320	10										10,00		
5760	10										10,00		
7200	10										10,00		

Tempo (h)	Movimento										Média	dp	CV(%)
	0,01 NO ₃ -N (mg/L)												
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d			
0,5	30	4	5	9	9	3	1	4,00	4,00	8,00	5,00		
1	60	8	8	10	4	4	4	8,00	9,00	9,00	7,00		
2	120	9	9	10	10	3	9	9,00	9,00	9,00	7,00		
4	240	5	7	10	10	9	9	5,00	7,00	9,00	9,00		
8	480	7									9,00		
24	1440	9									10,00		
48	2880	9									10,00		
72	4320	10									10,00		
96	5760	10									10,00		
120	7200	10									10,00		

Tempo (min)	Movimento										Média	dp	CV(%)
	0,1 NO ₃ -N (mg/L)												
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d			
30	5										5,00		
60	7										7,00		
120	7										7,00		
240	9										9,00		
480	9										9,00		
1440	10										10,00		
2880	10										10,00		
4320	10										10,00		
5760	10										10,00		
7200	10										10,00		

Tempo (h)	Movimento										Média	dp	CV(%)
	10 NO ₂ -N (mg/L)												
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d			
0,5	30	5									5,00		
1	60	7									7,00		
2	120	7									7,00		
4	240	9									9,00		
8	480	9									9,00		
24	1440	9									9,00		
48	2880	9									9,00		
72	4320	10									10,00		
96	5760	10									10,00		
120	7200	10									10,00		

Tempo (min)	Movimento										Média	dp	CV(%)
	100 NO ₂ -N (mg/L)												
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d			
30	7										7,00		
60	7										7,00		
120	8										8,00		
240	9										9,00		
480	9										9,00		
1440	10										10,00		
2880	9										9,00		
4320	5										8,83	1,94	21,97
5760	6										8,67	1,51	17,37
7200	10										9,50	0,55	5,77

Tempo (h)	Movimento										Média	dp	CV(%)
	200 NO ₂ -N (mg/L)												
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d			
0,5	30	3	8	6	4	9	2	5,33	2,80	52,59	6,33	2,66	41,97
1	60	3	8	5	8	5	8	6,00	2,28	38,01	8,17	1,17	14,31
2	120	7	7	8	8	8	5	7,17	1,17	16,31	8,17	1,94	23,76
4	240	10	7	9	9	9	6	8,33	1,51	18,07	8,00	3,16	39,53
8	480	7	10	8	10	10	8	8,83	1,33	15,05	9,33	0,82	8,75
24	1440	7	9	7	10	8	7	8,00	1,26	15,81	8,33	1,75	21,01
48	2880	7	8	8	8	7	8	7,83	0,75	9,61	8,00	1,26	15,81
72	4320	7	9	8	8	8	5	7,50	1,38	19,38	8,17	1,47	18,02
96	5760	6	10	8	9	7	6	7,67	1,63	21,30	9,00	1,41	15,71
120	7200	6	8	8	10	9	7	8,00	1,41	17,68	8,67	1,51	17,37

Tempo (min)	Movimento										Média	dp	CV(%)
	240 NO ₂ -N (mg/L)												
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d			
30	8	2	8	8	8	4	8	8,17	1,17	14,31	6,33	2,66	41,97
60	9	8	8	9	9	6	6	8,17	1,17	14,31	8,17	1,94	23,76
120	9	7	8	10	10	5	8,17	1,94	23,76	8,00	3,16	39,53	
240	10	3	10	10	10	5	8,00	3,16	39,53	8,00	3,16	39,53	
480	9	10	9	10	10	8	9,33	0,82	8,75	9,33	0,82	8,75	
1440	9	10	9	10	10	8	8,33	1,75	21,01	8,33	1,75	21,01	
2880	7	8	7	10	9	7	8,00	1,26	15,81	8,00	1,26	15,81	
4320	7	9	9	8	10	6	8,17	1,47	18,02	8,17	1,47	18,02	
5760	10	10	7	10	8	8	9,00	1,41	15,71	9,00	1,41	15,71	
7200	10	10	7	10	8	7	8,67	1,51	17,37	8,67	1,51	17,37	

Tabela J1 – Resultados globais da monitorização do efeito ”movimento dos gastrópodes”.
Parte 2

Movimento																			
280 NO ₃ -N (mg/L)																			
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	Tempo (min)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)
0,5	30	6	5	6	8	1	2	4,67	2,66	56,96	30	9	9	9	9	9	8,83	0,41	4,62
1	60	9	8	7	9	8	4	7,67	1,97	25,65	60	9	9	9	9	10	9,17	0,41	4,45
2	120	9	8	10	10	9	7	8,83	1,17	13,23	120	10	8	9	10	10	9,50	0,84	8,81
4	240	9	10	9	10	9	9	9,33	0,52	5,53	240	10	8	9	8	8	8,67	0,82	9,42
8	480	10	9	7	7	9	9	8,50	1,22	14,41	480	10	7	10	9	10	9,17	1,17	12,75
24	1440	8	6	8	8	10	8	8,00	1,26	15,81	1440	8	8	8	10	9	8,50	0,84	9,84
48	2880	8	5	6	8	7	7	7,00	1,26	18,07	2880	9	7	9	8	7	8,17	0,98	12,04
72	4320	8	7	6	8	8	7	7,33	0,82	11,13	4320	9	7	9	8	8	8,00	0,89	11,18
96	5760	9	10	8	6	9	8	8,40	1,52	18,05	5760	8	7	9	8	10	8,40	1,14	13,57
120	7200	9	10	8	6	9	10	8,67	1,51	17,37	7200	8	7	9	8	10	8,67	1,21	13,97

Movimento																				
300 NO ₃ -N (mg/L)																				
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	Tempo (min)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	
0,5	30	9	9	9	9	9	8	8,83	0,41	4,62	30	9	6	7	2	10	3	6,17	3,19	51,71
1	60	9	9	9	9	9	10	9,17	0,41	4,45	60	9	5	9	4	10	5	7,00	2,61	37,25
2	120	9	8	10	10	9	10	9,50	0,84	8,81	120	9	6	9	6	10	5	7,50	2,07	27,25
4	240	10	8	9	10	8	8	8,67	0,82	9,42	240	8	9	10	7	10	4	8,00	2,28	28,50
8	480	10	7	10	9	10	9	9,17	1,17	12,75	480	10	9	10	8	10	10	9,50	0,84	8,81
24	1440	8	6	8	8	10	8	8,50	0,84	9,84	1440	7	10	9	6	9	5	7,67	1,97	25,65
48	2880	7	7	9	8	7	9	8,17	0,98	12,04	2880	7	7	8	8	10	8	8,00	1,10	13,69
72	4320	8	7	6	8	8	7	7,33	0,82	11,13	4320	6	8	5	9	9	7,17	1,72	24,03	
96	5760	9	10	8	6	9	8	8,40	1,14	13,57	5760	8	5	9	6	9	7	7,33	1,63	22,27
120	7200	9	10	8	6	9	10	8,67	1,21	13,97	7200	9	6	10	6	8	8	7,83	1,60	20,45

Movimento																				
320 NO ₃ -N (mg/L)																				
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	Tempo (min)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	
0,5	30	1	10	8	8	10	8	6,33	4,73	74,62	30	2	1	4			2,33	1,53	65,47	
1	60	4	8	10	10	10	6	7,33	3,06	41,66	60	8	9	9			8,67	0,58	6,66	
2	120	4	8	10	10	10	6	7,33	3,06	41,66	120									
4	240	4	8	10	10	10	6	7,33	3,06	41,66	240									
8	480	8	8	8	8	8	8	8,00	0,00	0,00	480	8	7	7			7,33	0,58	7,87	
24	1440	6	7	8	8	9	8	7,67	1,03	13,47	1440	9	8	5	6	9	6	7,17	1,72	24,03
48	2880	2	7	7	8	8	6	6,50	2,26	34,74	2880	6	8	3	6	2	7	5,33	2,34	43,84
72	4320	10	8	4	7	6	7	7,00	2,00	28,57	4320	7	8	2	4	8	5	5,67	2,42	42,24
96	5760	8	8	6	8	7	7	7,33	0,82	11,13	5760	6	4	2	7	8	6	5,50	2,17	39,42
120	7200	8	8	6	8	7	7	7,33	0,82	11,13	7200	6	4	2	7	8	6	5,50	2,17	39,42

Movimento																				
400 NO ₃ -N (mg/L)																				
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	Tempo (min)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	
0,5	30	0	4	4	4	4	4	2,67	2,31	86,60	30	2	2	6			2,67	2,08	56,77	
1	60	0	6	7	7	7	4	4,33	3,79	87,37	60	1	5	8			4,67	3,51	75,25	
2	120										120									
4	240										240									
8	480	0	3	1	1	1	1	1,33	1,53	114,56	480	0	1	0			0,33	0,58	173,21	
24	1440	0	4	4	2	1	0	1,83	1,83	100,08	1440	0	0	1	0	0	0,17	0,41	244,95	
48	2880	0	1	3	1	1	1	1,17	0,98	84,27	2880	0	0	0	1	1	0	0,33	0,52	154,92
72	4320	0	0	1	0	1	2	0,67	0,82	122,47	4320	0	0	0	0	2	0	0,33	0,82	244,95
96	5760	0	0	0	0	1	1	0,33	0,52	154,92	5760	0	0	0	0	0	0,00	0,00		
120	7200	0	0	0	0	1	1	0,33	0,52	154,92	7200	0	0	0	0	0	0,00	0,00		

Movimento																				
500 NO ₃ -N (mg/L)																				
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	Tempo (min)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	
0,5	30	2	2	6	6	6	6	2,67	2,31	86,60	30	2	2	6			2,67	2,08	56,77	
1	60	1	9	7	7	7	4	4,33	3,79	87,37	60	1	5	8			4,67	3,51	75,25	
2	120										120									
4	240										240									
8	480	0	6	8	8	8	8	8,00	0,00	0,00	480	0	1	0			0,33	0,58	173,21	
24	1440	0	3	8	5	3	2	3,50	2,74	78,25	1440	0	0	1	0	0	0,17	0,41	244,95	
48	2880	0	4	6	2	4	2	3,00	2,10	69,92	2880	0	0	0	0	1	0	0,33	0,52	154,92
72	4320	0	4	6	3	5	2	3,33	2,16	64,81	4320	0	0	0	0	2	0	0,33	0,82	244,95
96	5760	0	0	3	4	0	1	1,33	1,75	131,34	5760	0	0	0	0	0	0,00	0,00		
120	7200	0	0	3	4	0	1	1,33	1,75	131,34	7200	0	0	0	0	0	0,00	0,00		

Movimento																				
600 NO ₃ -N (mg/L)																				
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	Tempo (min)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	
0,5	30	2	6	2			2,33	2,31	69,28	30	0	4	4				2,67	2,31	86,60	
1	60	1	9	7			5,67	4,16	73,47	60	0	6	7				4,33	3,79	87,37	
2	120									120										
4	240									240										
8	480	0	6	8	8	8	4	6,67	4,16	69,21	480	0	3	1			1,33	1,53	114,56	
24	1440	0	3	8	5	3	2	3,50	2,74	78,25	1440	0	4	4	2	1	0	1,83	1,83	100,08
48	2880	0	4	6	2	4	2	3,00	2,10	69,92	2880	0	1	3	1	1	1	1,17	0,98	84,27
72	4320	0	4	6	3	5	2	3,33	2,16	64,81	4320	0	1	3	1	1	1	1,17	0,98	84,27
96	5760	0	0	3	4	0	1	1,33	1,75	131,34	5760	0	0	0	0	1	2	0,67	0,82	122,47
120	7200	0	0	3	4	0	1	1,33	1,75	131,34	7200	0	0	0	0	1	1	0,33	0,52	154,92

Movimento																			
700 NO ₃ -N (mg/L)																			
Tempo (h)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)	Tempo (min)	a	b	c	d	e	f	Média	dp	CV(%)
0,5	30	0	4	4	4	4	4	2,67	2,31	86,60	30	0	4	4			2,67	2,31	86,60
1	60	0	6	7	7	7	4	4,33	3,79	87,37	60	0	6	7			4,33	3,79	87,37
2	120									120									
4	240									240									
8	480	0	3	1	1	1	1	1,33	1,53	114,56	480	0	3	1		</			

Anexo K

Concentração da solução NO_3^- - N (mg/l) Média do número de indivíduos mortos (efeito)

0,00	0,00
100,00	0,17
200,00	1,00
300,00	1,00
400,00	1,83
500,00	1,33
600,00	3,00
700,00	5,50
800,00	6,83
900,00	7,33
1000,00	10,00

Anexo L

Método Litchfeld-Wilcoxon para a determinação do LC₅₀.

Tabela L1 - Dados necessários a construção gráfica do efeito (mortos) esperado.

Concentrações NO_3^- - N (mg/l)	Nº de organismos	Efeito observado	log conc.	Percentagem do efeito observado (%)
0	10	0,00	0,000	0,00
100	10	0,17	2,000	1,67
200	10	1,00	2,301	10,00
300	10	1,00	2,477	10,00
400	10	1,83	2,602	18,33
500	10	1,33	2,699	13,33
600	10	3,00	2,778	30,00
700	10	5,50	2,845	55,00
800	10	6,83	2,903	68,33
900	10	7,33	2,954	73,33
1000	10	10,00	3,000	100,00

Figura L1 – Ábaco para determinação do χ^2 calc

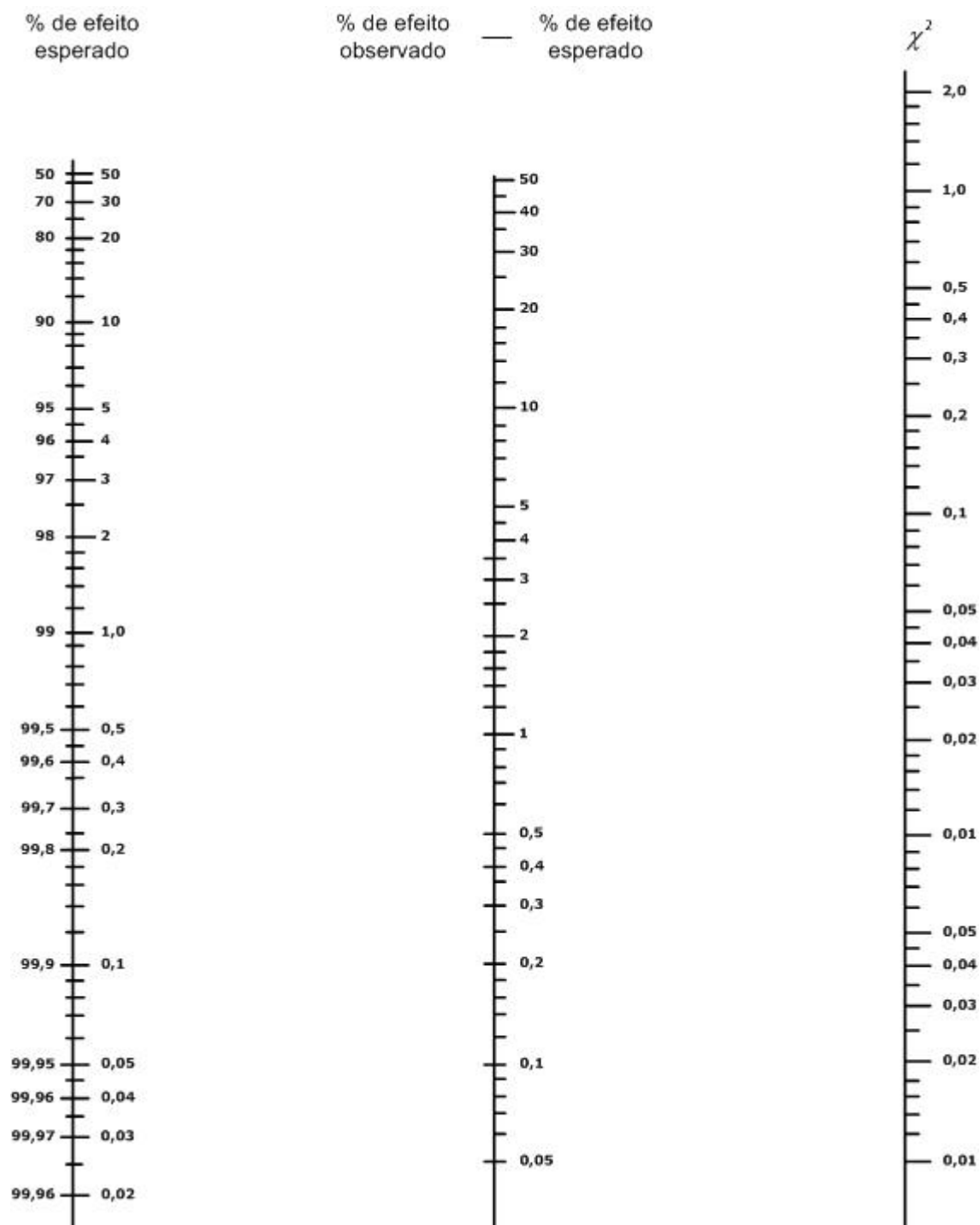


Tabela L2 – Valores críticos de χ^2 tab.

n	p=0.05	p= 0.01	p= 0.001
1	3.84	6.64	10.83
2	5.99	9.21	13.82
3	7.82	11.35	16.27
4	9.49	13.28	18.47
5	11.07	15.09	20.52
6	12.59	16.81	22.46
7	14.07	18.48	24.32
8	15.51	20.09	26.13
9	16.92	21.67	27.88
10	18.31	23.21	29.59
11	19.68	24.73	31.26
12	21.03	26.22	32.91
13	22.36	27.69	34.53
14	23.69	29.14	36.12
15	25.00	30.58	37.70
16	26.30	32.00	39.25
17	27.59	33.41	40.79
18	28.87	34.81	42.31
19	30.14	36.19	43.82
20	31.41	37.57	45.32
21	32.67	38.93	46.80
22	33.92	40.29	48.27
23	35.17	41.64	49.73
24	36.42	42.98	51.18
25	37.65	44.31	52.62
26	38.89	45.64	54.05
27	40.11	46.96	55.48
28	41.34	48.28	56.89
29	42.56	49.59	58.30
30	43.77	50.89	59.70
31	44.99	52.19	61.10
32	46.19	53.49	62.49
33	47.40	54.78	63.87
34	48.60	56.06	65.25
35	49.80	57.34	66.62
36	51.00	58.62	67.99
37	52.19	59.89	69.35
38	53.38	61.16	70.71
39	54.57	62.43	72.06
40	55.76	63.69	73.41
41	56.94	64.95	74.75
42	58.12	66.21	76.09
43	59.30	67.46	77.42
44	60.48	68.71	78.75
45	61.66	69.96	80.08
46	62.83	71.20	81.40
47	64.00	72.44	82.72
48	65.17	73.68	84.03
49	66.34	74.92	85.35
50	67.51	76.15	86.66
51	68.67	77.39	87.97
52	69.83	78.62	89.27

53	70.99	79.84	90.57
54	72.15	81.07	91.88
55	73.31	82.29	93.17
56	74.47	83.52	94.47
57	75.62	84.73	95.75
58	76.78	85.95	97.03
59	77.93	87.17	98.34
60	79.08	88.38	99.62
61	80.23	89.59	100.88
62	81.38	90.80	102.15
63	82.53	92.01	103.46
64	83.68	93.22	104.72
65	84.82	94.42	105.97
66	85.97	95.63	107.26
67	87.11	96.83	108.54
68	88.25	98.03	109.79
69	89.39	99.23	111.06
70	90.53	100.42	112.31
71	91.67	101.62	113.56
72	92.81	102.82	114.84
73	93.95	104.01	116.08
74	95.08	105.20	117.35
75	96.22	106.39	118.60
76	97.35	107.58	119.85
77	98.49	108.77	121.11
78	99.62	109.96	122.36
79	100.75	111.15	123.60
80	101.88	112.33	124.84
81	103.01	113.51	126.09
82	104.14	114.70	127.33
83	105.27	115.88	128.57
84	106.40	117.06	129.80
85	107.52	118.24	131.04
86	108.65	119.41	132.28
87	109.77	120.59	133.51
88	110.90	121.77	134.74
89	112.02	122.94	135.96
90	113.15	124.12	137.19
91	114.27	125.29	138.45
92	115.39	126.46	139.66
93	116.51	127.63	140.90
94	117.63	128.80	142.12
95	118.75	129.97	143.32
96	119.87	131.14	144.55
97	120.99	132.31	145.78
98	122.11	133.47	146.99
99	123.23	134.64	148.21
100	124.34	135.81	149.48

Tabela L3 – Tabela de conversão dos valores do efeito observado para 0-100%

Valor esperado	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	0.3	0.7	1.0	1.3	1.6	2.0	2.3	2.6	2.9
10	3.2	3.5	3.8	4.1	4.4	4.7	4.9	5.2	5.5	5.7
20	6.0	6.2	6.5	6.7	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.1
30	8.3	8.4	8.6	8.8	9.0	9.2	9.3	9.4	9.6	9.8
40	9.9	10.0	10.1	10.2	10.3	10.4	10.4	10.4	10.4	10.5
50	-	89.5	89.6	89.6	89.6	89.7	89.7	89.8	89.9	90.0
60	90.1	90.2	90.4	90.5	90.7	90.8	91.0	91.2	91.4	91.6
70	91.7	91.9	92.2	92.4	92.6	92.8	93.0	93.3	93.5	93.8
80	94.0	94.3	94.5	94.8	95.1	95.3	95.6	95.9	96.2	96.5
90	96.8	97.1	97.4	97.7	98.0	98.4	98.7	99.0	99.3	99.7