

REABILITAÇÃO DE AQUÍFEROS CONTAMINADOS PELA INDÚSTRIA – RESULTADOS PRELIMINARES NO CASO DE ESTUDO DO SEIXAL

Carlos Costa ALMEIDA

Hidrogeólogo, Professor na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Bloco C2, 5º Piso, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, +351 21 7500066, calmeida@fc.ul.pt

Maria Cristina COSTA

Engª do Ambiente, IMAR, FCMA-Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8000-117 Faro, +351.289 800900, mcpcosta@ualg.pt

Amélia Carvalho DILL

Hidrogeóloga, Investigadora do IGM e CVRM. Instituto Geológico e Mineiro – Departamento de Hidrogeologia, Estrada do Zambujal, Apartado 7586, 2721-866 Alfragide, +351 21 4718922, amelia.dill@igm.pt

Judite FERNANDES

Hidrogeóloga, Instituto Geológico e Mineiro – Departamento de Hidrogeologia, Estrada do Zambujal, Apartado 7586, 2721-866 Alfragide, +351 21 4718922, ju.fernandes@igm.pt

Alain FRANCÉS

Hidrogeólogo, Instituto Geológico e Mineiro – Departamento de Hidrogeologia, Estrada do Zambujal, Apartado 7586, 2721-866 Alfragide, +351 21 4718922, alain.frances@igm.pt

Carla MIDÕES

Hidrogeóloga, Instituto Geológico e Mineiro – Departamento de Hidrogeologia, Estrada do Zambujal, Apartado 7586, 2721-866 Alfragide, +351 21 4718922, carla.midoes@igm.pt

Imre MÜLLER

Hidrogeólogo, Professor na Universidade de Neuchâtel, Centre d'Hydrogéologie, 11, Rue Emile Argand Ch-2007 Neuchâtel, +41 32 718-2691, imre.muller@unine.ch

Fátima NUNES

Hidrogeóloga, Direcção Regional do Ambiente e Ordenamento do Território – Lisboa e Vale do Tejo, Rua Antero de Quental, nº 44, 1169-171 Lisboa, +351 21 8840600, fatima_nunes@drarn-lvt.pt

Marianne NUZZO

Hidrogeóloga, Instituto Geológico e Mineiro – Departamento de Hidrogeologia, Estrada do Zambujal, Apartado 7586, 2721-866 Alfragide, +351 21 4718922, hidrogeologia@igm.pt

Margarida P. REIS

Bióloga, Assistente, FCMA-Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8000-117 Faro, +351.289 800900, mpreis@ualg.pt

RESUMO

O Projecto PCTI/CTA/36496/99, *Desenvolvimento e Aplicação de Técnicas Mistas Químicas e de Bioremediação na Reabilitação de Aquíferos*, foi concebido com o objectivo de contribuir para a reabilitação das águas subterrâneas do aquífero superior do Seixal, contaminadas pela fábrica de explosivos da Sociedade Portuguesa de Explosivos Lda. (SPEL) e simultaneamente desenvolver

metodologias de tratamento *in situ*. Essas metodologias deveriam ser eficazes e de baixo custo, recorrendo a processos geoquímicos e bioquímicos, utilizando estirpes bacterianas adequadas e/ou residentes.

O presente artigo pretende fazer o ponto de situação dos trabalhos realizados, nomeadamente de caracterização hidrogeoquímica, geofísica e do microbiota do aquífero superficial, tendo sido possível isolar estirpes com potencial para a remediação biológica da contaminação detectada.

PALAVRAS-CHAVE

Hidrogeologia, reabilitação, bioremediação e transporte de contaminantes.

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de tecnologias de remediação e purificação da água é um dos campos prioritários definidos recentemente pela União Europeia para a Gestão Sustentável e Qualidade da Água (Key Action 2 in "Freshwater, a challenge for research and innovation", de Martin and Schmitz, 1998). Esta preocupação é reafirmada na Directiva Quadro da Água da Comunidade Europeia: "Europe's waters are still in need of increased efforts to get them clean or to keep them clean".

A finalidade dos trabalhos aqui apresentados, realizados no Seixal, na área afectada pelas descargas da SPEL, é de desenvolver, em última instância, uma metodologia de tratamento *in situ* eficaz e de baixos custos, que inclua processos geoquímicos e bioquímicos, com utilização de estirpes bacterianas adequadas e/ou residentes. Os trabalhos enquadram-se no Projecto PCTI/CTA/36496/99 "Desenvolvimento e Aplicação de Técnicas Mistas Químicas e de Bioremediação na Reabilitação de Aquíferos", que teve início em Abril 2001.

A hidrogeologia da zona é caracterizada pela existência de um aquífero freático superficial, altamente contaminado, e um aquífero confinado subjacente, intensamente explorado para abastecimento público e indústria, dos concelhos do Seixal e de Almada. A depressão dos níveis piezométricos do aquífero confinado poderá induzir uma drenância descendente e a sua conseqüente contaminação. Foram detectadas elevadas concentrações de compostos nitroaromáticos, sulfatos, nitratos e metais pesados. As diversas plumas de contaminação são definidas através da aplicação de várias técnicas geofísicas, hidrogeológicas, incluindo traçadores químicos e biológicos (bacteriófagos), e modelos de escoamento e transporte de massa.

Com o objectivo de contribuir para a posterior adaptação de técnicas de remediação biológica *in situ*, começou-se por investigar o microbiota presente no aquífero contaminado, o que permitirá, mais tarde, avaliar quer o potencial de atenuação natural e/ou acelerada da contaminação detectada, quer a eventual utilização de alguns dos microrganismos presentes no tratamento da água.

As primeiras tentativas, realizadas nos anos 60 do século passado, de obter por via biológica a mineralização (biodegradação) de compostos nitroaromáticos não tiveram em conta a ecologia dos microrganismos intervenientes, e levaram a que os seus autores (ALEXANDER e LUSTIGMAN, 1966) considerassem estes compostos como recalcitrantes. Hoje sabemos que compostos nitroaromáticos simples são naturalmente biodegradados por bactérias do solo e da água, e que explosivos, como 2,4,6-trinitrotolueno (TNT), hexahidro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazina (RDX) e octahidro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazina (HMX) apesar de biodegradáveis podem persistir no solo e na água por longos

períodos de tempo (SPAIN et al., 2000), podendo a sua degradação natural conduzir à formação de compostos mais recalcitrantes e/ou tóxicos. A reabilitação de ambientes contaminados por este tipo de compostos requer, pois, uma intervenção especificamente adaptada, que tenha em conta os últimos 30 anos de investigação dos microrganismos capazes de utilizar estes compostos como fonte de energia e das vias metabólicas que eles utilizam na sua degradação.

2. CARACTERIZAÇÃO HIDROGEOLÓGICA DO SEIXAL

Com o objectivo de apoiar um plano de remediação da água subterrânea na área afectada pelas descargas da SPEL, procedeu-se a uma primeira caracterização hidroquímica do local e envolvente próxima, tendo sido determinadas as concentrações de elementos maiores e de metais pesados. Foram definidas as extensões laterais e verticais de alguns contaminantes. O conhecimento da distribuição espacial dos diversos parâmetros químicos, conjugado com os resultados obtidos na prospecção geofísica de superfície, permite otimizar os locais para construção de uma rede de monitorização qualitativa e quantitativa, que assegurará as intervenções no aquífero. Os traçadores químicos e biológicos serão utilizados para determinar as principais direcções de fluxo e simular a dispersão de contaminantes. A informação será utilizada no desenvolvimento de modelos de transporte e geoquímicos, essenciais na previsão da dispersão das plumas de contaminação e na avaliação de diversos cenários de remediação do aquífero.

2.1 Caracterização hidrogeológica

A área de trabalho corresponde a um pequeno sector do Sistema Aquífero Margem Esquerda do Tejo definido por ALMEIDA *et al.* (1997) como um sistema multiaquífero complexo, constituído por aquíferos porosos, multicamada, em geral confinados ou semiconfinados para a profundidade e livre nas formações aflorantes.

Neste local desenvolve-se um aquífero superficial na série arenosa, de idade Pliocénica, formada na quase totalidade por areias e arenitos (figura 1), apenas interrompidos episodicamente por bancadas lenticulares de argilas (AZEVEDO, 1983), à qual se sobrepõe o Conglomerado de Belverde (AZEVEDO, 1983), de espessura reduzida, constituído por vários níveis de seixos rolados de quartzo e quartzito, separados por níveis arenosos.



Figura 1 – Série arenosa do Pliocénico e lagoa contaminada com nitrotoluenos.

O aquífero, de tipo poroso, é livre nas formações arenosas superficiais e apresenta algum confinamento em profundidade, que lhe é conferido por uma imbricação complexa de níveis lenticulares argilosos, arenosos e mistos. A análise de 79 logs de furos para captação de água, com profundidades compreendidas entre os 150 e 350 m, evidenciou que não existem níveis argilosos regulares e contínuos, com excepção de um nível, de 2 m de espessura, situado na base dos arenitos Pliocénicos, que embora seja bastante extenso desaparece pontualmente.

Em profundidade encontra-se um aquífero inferior, confinado, multicamada, que tem por suporte as camadas da base do Pliocénico e as camadas areníticas, calco-areníticas e margosas do Miocénico médio a superior. Os calcários gresosos fossilíferos e margas iniciam-se à cota -72, ou seja a uma profundidade aproximada de 100 m.

As heterogeneidades de natureza geológica do reservatório condicionam a hidrodinâmica e a mobilidade dos diferentes contaminantes. Podem ser sujeitos a processos de retenção, como a adsorção e trocas iónicas, e/ou de degradação, nomeadamente, a degradação dos nitrotoluenos (PENNINGTON *et al.*, 2000) e a oxidação-redução de alguns metais pesados para formas menos tóxicas (WARREN e HAACK, 2001).

A tendência regional do fluxo subterrâneo no aquífero livre é para NNE no sentido do rio Tejo (FERNANDES *et al.* 1999) obtido pela aplicação de um modelo de simulação. Esta tendência está de acordo com o sentido natural de escoamento das linhas de água, que os aquíferos livres tendem a acompanhar.

Existem registos históricos que atestam o confinamento das formações Pliocénicas, através do artesianismo repuxante, de 1,5 m de altura, de furos construídos em Corroios, com profundidades compreendidas entre os 40 e 65 m.

A intensificação das extracções do aquífero inferior, para o abastecimento público, particular e industrial, dos concelhos de Almada e Seixal, tem levado a um sucessivo rebaixamento dos níveis piezométricos. Actualmente, e segundo medições de FERNANDES *et al.* (1999), o potencial hidráulico do aquífero livre é superior ao do aquífero confinado.

Admitindo a existência de conexão hidráulica, local ou generalizada, entre os aquíferos, existirá recarga das formações subjacentes através da drenância do aquífero superior para o aquífero inferior.

A execução de dois furos no areeiro da Socrabine e SPEL forneceram dados actualizados para a determinação de parâmetros hidráulicos. Ambos os furos captam os níveis da base do Pliocénico e topo do Miocénico a partir da cota -54 m. Os níveis hidroestáticos situam-se aos -5,4 e -16 m. As produtividades obtidas são 7 e 20 l/s. Os valores de transmissividade, estimados a partir do caudal específico, são 31 e 426 m²/dia. Esta discrepância de valores é reflexo das heterogeneidades do aquífero.

2.2 Caracterização hidrogeoquímica

Realizaram-se 2 campanhas de amostragem, em Novembro de 2000 e Maio de 2001, em colaboração com a Direcção Regional do Ambiente de Lisboa e Vale do Tejo, num total de 32 pontos de água (poços e furos) que captam os aquíferos, superior e profundo (figura 2). Determinaram-se os principais aniões e cations em ambas as campanhas. Na última campanha, foram ainda determinados 61 elementos, correspondentes a metais pesados e elementos vestigiais.

Durante a amostragem foram medidos vários parâmetros *in situ*, tais como: a temperatura da amostra, o pH e a condutividade eléctrica.

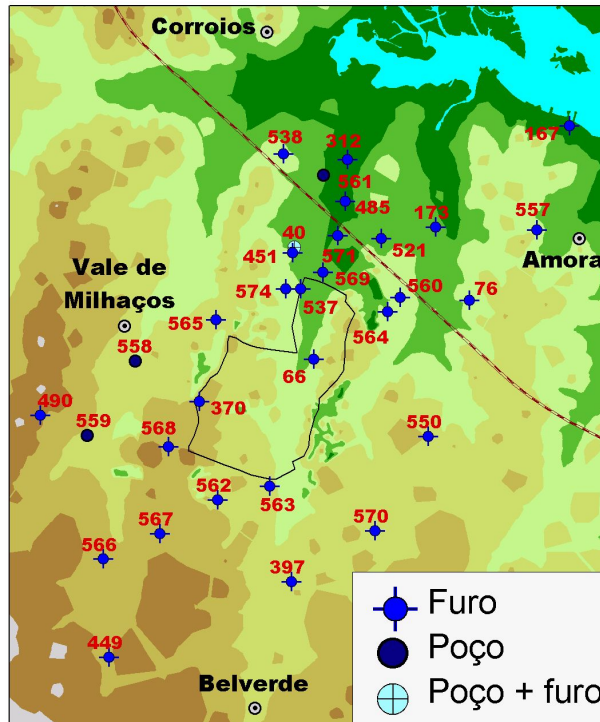


Figura 2 – Localização dos pontos de água amostrados.

Dos pontos de água amostrados, 8 correspondem a captações públicas em extracção contínua, 5 dos quais pertencem à Câmara Municipal do Seixal e 3 à Câmara Municipal de Almada, os restantes são privados sendo utilizados para uso doméstico, agrícola e industrial.

Numa primeira fase, confrontaram-se os resultados obtidos com os critérios de qualidade da água para consumo humano, estabelecidos pelo DL 236/98, e determinaram-se alguns dos seus parâmetros estatísticos (ver quadro 1).

Da análise estatística verifica-se que mais de 50 % das águas amostradas excedem o Valor Máximo Recomendado (VMR) da dureza total e dos teores em cloreto, sódio, nitrito, crómio, ferro, níquel e ouro. O Valor Máximo Admissível (VMA) é ultrapassado na dureza total, nos teores de potássio, nitrato, nitrito, sulfato, manganês, alumínio, crómio, ferro, níquel e mercúrio. Na figura 3 é possível visualizar espacialmente a distribuição destes parâmetros por classes definidas de acordo com os VMR e VMA. Salieta-se que na área onde se localizam os furos do areeiro da Socrabine (n.º 564) e da Quinta de Sta. Teresinha (n.º 560) predominam os valores anómalos.

No quadro 2 estão representados elementos, que apesar de não integrarem o DL 236/98, ocorrem em concentrações anómalas, traduzindo o tipo e grau de contaminação. Estas concentrações são particularmente elevadas nos furos referidos anteriormente.

Quadro 1 - Representação das estatísticas das análises químicas e distribuição percentual das classes definidas pelos VMR e VMA (DL 236/98 de 1 de Agosto).

Parâmetros químicos abrangidos pelo DL 236/98	Número Amostras	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	VMR	VMA	%		
									<VMR	VMR<X<VMA	>VMA
Cond. 20° C (microS/cm)	31	194	292.5	345	434	3132	400	-	68	32	-
pH	31	3.6	6	6.4	7	7.6	6,5-8,5	9,5	52	48	-
Alcalin. tot. (mg CaCo3/l)	32	13.8	21.1	66.8	113.4	231	-	-	-	-	-
Dureza tot.(mg CaCo3/l)	31	15	30.5	76	138.5	615	-	500	-	98	2
Cloreto (mg/l)	31	37	56	63	78	137	25	-	-	100	-
Cálcio (mg/l)	29	5.7	12.5	23.8	43.7	71	100	-	100	-	-
Sódio (mg/l)	32	24	34.75	37	49.75	104	20	150	-	100	-
Magnésio (mg/l)	29	<0,4	<0,4	1.5	4.6	14.1	30	50	100	-	-
Potássio (mg/l)	32	3	4	5.5	8.25	430.1	10	12	78	9	13
Nitrato (mg/l)	25	0.96	6.1	12.7	45.03	204.2	25	50	68	16	16
Nitrito (mg/l)	31	0.01	0.01	0.01	0.02	0.16	-	0.1	-	98	2
Sulfato (mg/l)	31	3.5	8.4	15.1	62.55	2372	25	250	58	35	7
Alumínio (mg/l)	30	0.013	0.032	0.050	0.092	999,999*	0.05	0.2	50	37	13
Crómio (ug/l)	30	0.94	3.04	3.69	4.23	50.55	-	50	-	97	3
Manganês (ug/l)	30	0.60	2.65	8.85	58.08	2290	20	50	57	13	30
Ferro (ug/l)	30	40.48	59.65	113.56	192.17	9340	50	200	10	67	23
Níquel (ug/l)	30	0.42	0.93	1.50	3.59	65	-	50	-	97	3
Cobre (ug/l)	30	1.00	2.00	4.50	16.75	57	3000	-	100	-	-
Zinco (ug/l)	30	5.20	24.13	43.80	97.15	1520	5000	-	100	-	-
Arsénio (ug/l)	30	0.05	0.07	0.11	0.53	5.11	-	50	-	100	-
Selénio (ug/l)	30	0.33	0.60	1.26	2.22	8.56	-	10	-	100	-
Prata (ug/l)	30	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	-	10	-	100	-
Cádmio (ug/l)	30	0.01	0.03	0.04	0.06	0.37	-	5	-	100	-
Antimónio (ug/l)	30	<0.01	0.01	0.02	0.07	0.25	-	10	-	100	-
Bário (ug/l)	30	15.35	49.12	63.28	89.17	118.83	100	-	80	20	-
Mercurio (ug/l)	30	<0.2	<0.2	<0.2	0.43	13.18	-	1	-	90	10
Chumbo (ug/l)	30	0.19	0.54	0.81	1.63	5.53	-	50	-	100	-

* Concentração superior à capacidade de leitura do aparelho
(<) Concentrações inferiores ao limite de detecção do aparelho

Quadro 2 - Representação das estatísticas dos metais pesados e elementos vestigiais não abrangidos pelo DL 236/98 de 1 de Agosto.

Metais pesados e elementos vestigiais (em ug/l) que não são abrangidos pelo DL 236/98	Número Amostras	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
Lítio	30	1.000	1.000	2.000	3.000	68.000
Berílio	30	0.123	0.157	0.461	1.019	27.354
Escândio	30	1.433	2.326	3.063	3.397	57.918
Titânio	30	0.909	1.759	2.169	2.578	8.012
Vanádio	30	0.128	1.013	1.101	1.334	2.245
Cobalto	30	<0,005	0.033	0.151	1.554	88.510
Gálio	30	0.014	0.020	0.025	0.041	2.455
Germânio	30	0.010	0.012	0.017	0.025	0.597
Brómio	30	218.912	255.027	302.400	369.397	751.863
Rubídio	30	6.748	9.470	16.968	27.843	77.505
Estrôncio	30	38.816	74.065	88.260	113.831	507.735
Ítrio	30	0.016	0.066	0.351	4.457	491.100
Zircónio	30	0.010	0.053	0.065	0.111	0.958
Molibdénio	30	0.124	0.155	0.224	0.307	1.207
Estanho	30	0.118	0.164	0.239	1.624	3.717
Iodo	30	27.000	83.000	122.500	275.250	2240.000
Césio	30	0.013	0.048	0.177	0.301	0.925
Lantânio	30	0.148	0.308	0.535	1.057	51.193
Cério	30	0.014	0.051	0.111	0.979	182.427
Praseodímio	30	<0,001	0.002	0.019	0.308	44.502
Neodímio	30	0.011	0.025	0.112	1.499	261.686
Ouro	30	0.101	0.136	0.479	0.898	1.158
Tálio	30	0.011	0.044	0.104	0.161	1.542
Urânio	30	0.014	0.054	0.108	0.275	59.766

(<) Concentrações inferiores ao limite de detecção do aparelho



Figura 3 – Distribuição espacial de diversos parâmetros químicos por classes definidas de acordo com os respectivos VMR e VMA (DL 236/98 de 1 de Agosto).

3. CARACTERIZAÇÃO LOCAL DA ESTRUTURA DO AQUÍFERO SUPERIOR E DELIMITAÇÃO DA PLUMA DE CONTAMINAÇÃO

3.1 Objectivos e métodos

Utilizaram-se os métodos geofísicos electromagnéticos Radiofrequency-electromagnetics (RF-EM) e Radiomagnetotelluric-Resistivity (RMT-R) com o intuito de definir, à escala local, a estrutura do aquífero, obter informações sobre a sua geometria na área da SPEL e areeiros limítrofes e delimitar as plumas de contaminação.

Ambos os métodos utilizam o mesmo tipo de energia - ondas de rádio de baixa a muito baixa frequência, que são emitidas por antenas muito potentes, na banda dos 12 aos 300 kHz. A profundidade de penetração dessas ondas no subsolo depende da frequência (F) do emissor (em Hertz) e da resistividade (ρ_0) da rocha (em Ohm.m) [Eq.1]:

$$P = 503 \sqrt{\frac{\rho_0}{F}} \quad [\text{eq 1}]$$

As ondas de rádio originam nas rochas um campo electromagnético secundário que depende da natureza das rochas e, que pode ser detectado à superfície. Da comparação dos campos secundário e primário obtêm-se informações de natureza qualitativa e quantitativa tais como anisotropia do meio, resistividade aparente e real dos sedimentos e espessura das camadas.

3.1.1 Método Radio Frequency – Electromagnetics (RF-EM)

Pretendeu-se detectar com este método a presença de anomalias que pudessem compartimentar o aquífero, ou a existência de paleocanais constituindo locais de escoamento preferencial dos contaminantes.

O método RF-EM mede a intensidade do campo magnético primário (H_p) através de uma bobine de eixo horizontal e detecta as componentes verticais (H_s) por intermédio de outra bobine de eixo vertical. As componentes verticais encontram-se em fase (in-phase) ou em quadratura (out-of-phase) em relação ao campo primário. Os resultados exprimem-se sob a forma de uma relação entre as intensidades de ambos campos e em percentagem (H_s/H_p %) (CARVALHO DILL, 1998).

Realizaram-se cerca de 16 perfis a Sul da Fábrica de Explosivos (SPEL), tendo-se observado que as anomalias electromagnéticas, na área, se localizavam nos acidentes topográficos de direcção aproximadamente NNE-SSW, NE-SW e E-W (figura 4). Infelizmente a densidade populacional e a existência de fios eléctricos impediram que se efectuassem perfis noutras áreas, nomeadamente na área da Fábrica de explosivos. Foi possível, contudo, deduzir um acidente importante (de orientação NNE-SSW) que atravessa a Fábrica de explosivos e onde se encaixa a Ribeira de Santa Marta de Corroios (figura 4).

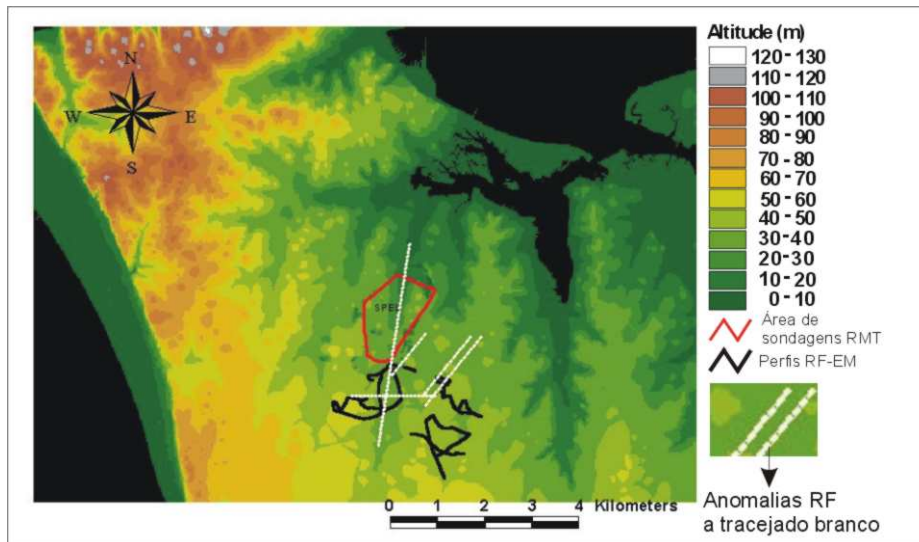


Figura 4 – Localização dos perfis de RF-EM, da área de sondagens RMT-R e representação das principais anomalias RF encontradas.

3.1.2 Método Radiomagnetotelluric-Resistivity (RMT-R)

O método mede duas componentes – a magnética e a eléctrica - do campo electromagnético, através de 2 eléctrodos espaçados de 5 metros e de uma bobine, colocada de modo a que o seu eixo horizontal se encontre perpendicularmente em relação ao emissor (figura 5).



Figura 5 – Aparelho de medição RMT-R podendo-se observar os eléctrodos alinhados na direcção do emissor e a bobine receptora do campo magnético.

Obtêm-se assim valores de:

1. resistividade aparente (r_a)

$$r_a = \left(\frac{E_x}{H_y} \right)^2 \cdot \frac{1}{2\pi F m_0}$$

em que:

E_x componente eléctrica do campo resultante em Volt/metro

H_y componente magnética em amperes/metro

μ_0 permeabilidade electromagnética do vácuo em henry/metro.

2. ...e de **desfasagem** entre as componentes magnética e eléctrica (ϕ). Esta fornece a informação estratigráfica do local em estudo FISCHER *et al.* (1983) e TURBERG (1994):
 - quando a diferença de fases (Φ) iguala 45° , pode-se considerar o subsolo como homogéneo;
 - Se Φ for menor que 45° , está-se em presença de uma camada condutora sobre uma mais resistiva;
 - quando Φ é maior que 45° , a situação é contrária à anterior : uma camada mais resistiva sobre uma camada condutora.

O efeito da presença de lixiviados ou de sais dissolvidos no solo ou na água provoca um abaixamento dos valores de resistividade, facto este que foi utilizado para a delimitação das áreas de maior concentração de contaminantes.

Trata-se de um método extremamente rápido. A possibilidade da execução de perfis paralelos numa rede bastante apertada (de 5 em 5 metros), fornece a cobertura ideal do terreno indispensável a futuras interpolações. As heterogeneidades são deste modo detectadas e cartografadas e o hidrogeólogo pode, a partir dos valores de resistividade, inferir sobre a permeabilidade das formações.

É possível também realizar sondagens multidireccionais, indicadoras da anisotropia do sinal, permitindo assim a detecção da orientação do escoamento principal.

Executaram-se cerca de 300 sondagens RMT-R na área da SPEL, nas áreas limítrofes a Oeste e a Este (SOCRABINE) (figura 6).

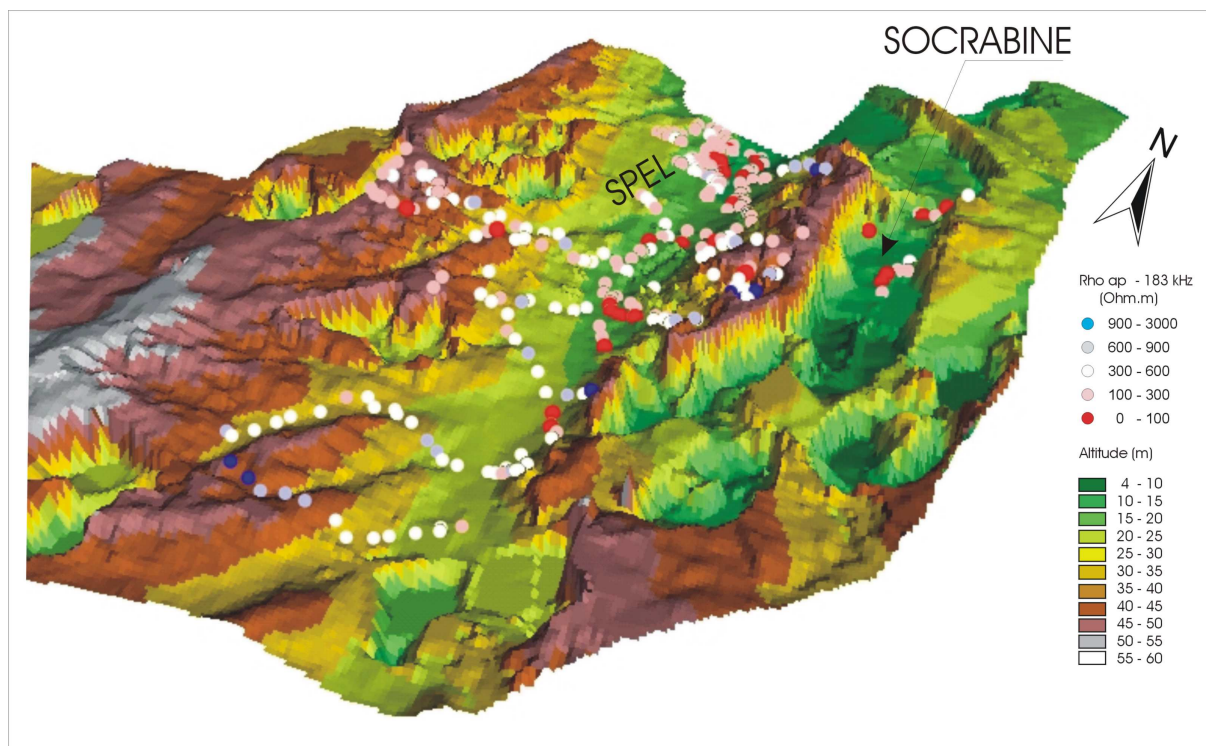


Figura 6 – Modelo digital do terreno na área da SPEL e envolvente. Os pontos a vermelho correspondem a áreas de maior contaminação.

As frequências utilizadas foram 183, 77.5 e 16 kHz. A profundidade de investigação variou entre os 4 m, nos locais muito contaminados e utilizando frequências da ordem dos 183 kHz e os 164 m, nas áreas não contaminadas e usando frequências menores (16 kHz) – ver Quadro 3.

Quadro 3 – Profundidades (m), resistividades aparentes (Ohm.m) e defasagem (°) nas diferentes frequências utilizadas.

	183 kHz			77.5 kHz			16 kHz		
	Profundidade	Rhoap	Phi	Profundidade	Rhoap	Phi	Profundidade	Rhoap	Phi
Média	20	325	40	32	352	49	50	184	62
Max	60	2620	85	87	2330	80	164	1700	82
Min	4	11	10	8	18	21	15	15	20

Verificou-se existirem vários focos de contaminação que correspondem a locais de despejo dos químicos excedentes da indústria de explosivos. Nota-se certa concentração da pluma de contaminantes (valores a vermelho) ao longo da Ribeira de Santa Marta de Corroios e uma ligeira dispersão (mancha de valores cor – de – rosa) desses valores a Norte. Constatou-se a existência de forte contaminação nos areiros da SOCRABINE, que parece ser o resultado das actividades da SPEL e do aterro sanitário situado a montante.

4. CARACTERIZAÇÃO DO MICROBIOTA DO AQUÍFERO SUPERFICIAL

4.1 Metodologia

Nesta fase do projecto foram seleccionadas para caracterização microbiológica amostras de água dos furos com o número de inventário 571 (pH 5,6) e 560 (pH 3,6) (ver localização na figura 2), correspondendo este à zona mais contaminada, produtora de uma água com cor amarela intensa, suspeita de conter ácido pícrico e outros explosivos (cf. Caracterização química das amostras).

Tendo em conta os dados das análises químicas da água dividiu-se este trabalho de caracterização microbiológica em 4 fases (das quais se completaram já as primeiras três):

- (1) adaptação das técnicas correntes de enriquecimento, isolamento e purificação de microrganismos às condições especificamente adversas detectadas;
- (2) observação directa por microscopia do microbiota autóctone e do obtido a partir de cultivos;
- (3) obtenção para identificação de isolados tão puros quanto a própria biologia das espécies o permite;
- (4) estudo do comportamento fisiológico das estirpes isoladas quando reinoculadas em água do aquífero suplementada com os nutrientes que se tenham detectado em concentrações limitantes.

4.1.1 Adaptação de técnicas às condições específicas detectadas

Não existindo qualquer estudo prévio da microbiologia destas águas decidiu-se não correr o risco de não detectar microrganismos que apesar de presentes e viáveis no aquífero, pudessem não ser viáveis nos meios de cultura mais usuais para germes de águas doces. Optou-se, assim, por fazer culturas utilizando como base para o meio de enriquecimento a própria água contaminada do aquífero, suplementada com uma fonte adicional de carbono e azoto, a saber peptona (HIMEDIA) para uma concentração final de 5g/l e extracto de levedura (DIFCO) a 1 g/l. Manteve-se assim durante o pré-enriquecimento a pressão selectiva exercida pelos contaminantes existentes na água, garantindo-se a selecção de microrganismos a eles resistentes. Não sendo possível esterilizar a água em autoclave (dada a suspeição de conter explosivos) inverteu-se o procedimento vulgar de utilizar um pequeno volume de inóculo num grande volume de meio estéril, e usou-se para cada enriquecimento 90 ml de inóculo, constituído pela própria água colhida no aquífero, e 10ml de meio estéril concentrado 10 vezes. O mesmo tipo de cultura foi ensaiado colocando 5ml em placas de Petri de 60mm Ø com almofadas de cartão absorvente estéril, de modo a poder obter colónias isoladas. Este procedimento foi necessário porque o pH demasiado baixo do meio (pH 4,5) meio impede a gelificação normal pelos agentes usuais, como o agar-agar.

4.1.2 Observação em microscopia

Quer as amostras colhidas, quer as culturas de enriquecimento, quer ainda as colónias e culturas puras obtidas foram investigadas em observação directa em microscopia fotónica corrente, de contraste de fase e de epifluorescência, utilizando-se neste caso como fluorocromo laranja de acridina (HOBBIE et al. 1977). A detecção de bactérias do ferro foi feita de acordo com os métodos de Leushow e Mackenthum tal como é descrito em CULLIMORE (1993). A detecção de grânulos de poli-β-hidroxibutirato, tal como a coloração para detecção de polifosfatos foi feita de acordo com GERHARDT et al. (1981).

4.1.3 Isolamento e purificação de células

A partir das culturas de enriquecimento inocularam-se diversos meios sólidos Plate Count Agar (PCA), Mn Agar nº 1, IRB (iron-related-bacteria) Agar (CLESCERI *et al.* 1998) substituindo-se na composição do Mn Agar nº1 o carbonato de manganês ($MnCO_3$) por sulfato de manganês hidratado ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) de modo a simular melhor as condições detectadas no aquífero. A purificação fez-se por repicagens sucessivas por riscado de colónias isoladas. Tal como vem descrito na literatura (HOLT *et al.* 1994) algumas estirpes detectadas não são isoláveis em culturas puras, por provavelmente dependerem de processos de sintrofia, tendo sido mantidas em culturas mistas de pelo menos duas espécies.

4.1.4 Reinoculação de microcosmos com culturas

Para estudar a capacidade de remoção de ferro (FeII), de manganês (MnII) e de diversas formas de enxofre, reinocularam-se microcosmos constituídos por água do aquífero com culturas de bactérias do ferro e manganês, e do enxofre, isoladas e cultivadas como descrito em 4.1.3. A análise dos constituintes químicos destes microcosmos no início e no fim das experiências foi feita em separado para a fracção celular e para o meio, estando os dados ainda em processamento.

4.2 Resultados e Discussão

Ainda que as amostras recolhidas no furo 560 tivessem pH 3,6, a observação microscópica directa revelou a presença de numerosos microrganismos activos desde bactérias até diversos ciliados, incluindo também leveduras. Isolaram-se 12 estirpes correspondentes a 8 tipos de isolados, que foram caracterizados morfológica e bioquimicamente. Destes, dois correspondem a leveduras e os restantes a bactérias. De notar que o metabolismo destes microrganismos (em consórcio) permite elevar o pH do meio de pH 4.5 para pH 8 – 8.5. São particularmente interessantes as bactérias do ferro e manganês dos géneros *Leptothrix* (figura 7), *Siderococcus* e *Thiosphaera* (figura 8) cujo potencial para utilização em sistemas de bioremediação está a ser estudado. Este tipo de bactérias, cuja presença num aquífero é normalmente considerada como prejudicial, poderá ser muito útil na biomobilização/biorremoção de manganês, ferro ou enxofre se utilizadas de forma controlada e confinada.

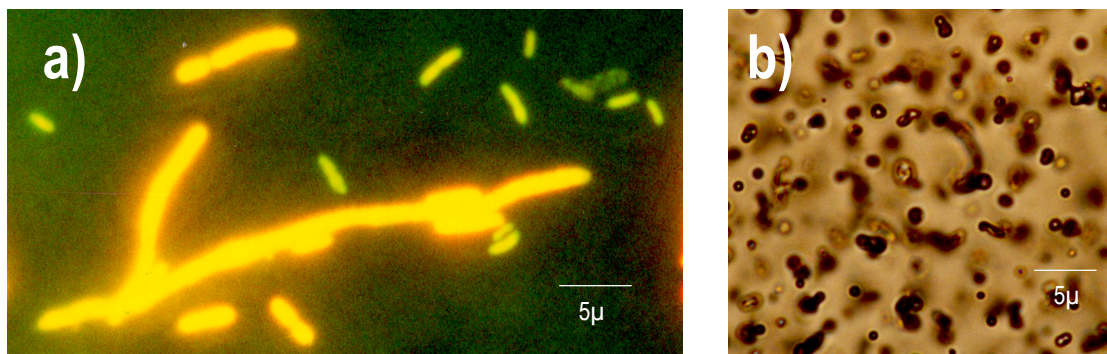


Figura 7 – Bactérias do género *Leptothrix* a) em microscopia de epifluorescência com laranja de acridina; b) com visualização dos grânulos de óxido de ferro pela técnica de Leushow-Mackenthum.

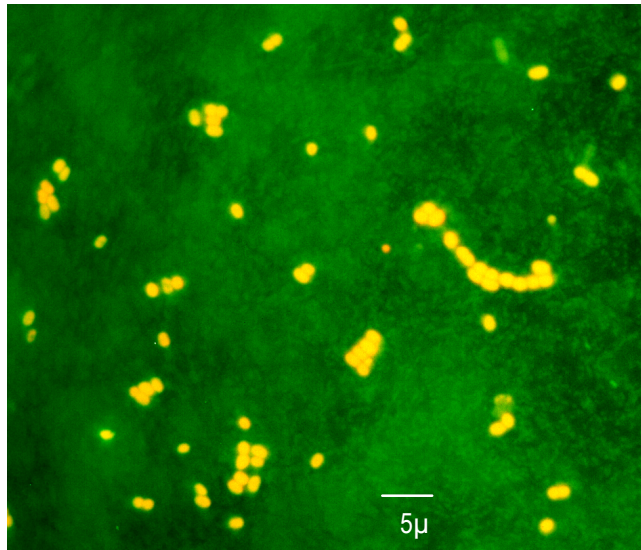


Figura 8 – Bactérias do género *Thiosphaera* em microscopia de epifluorescência.

Leptothrix lopholea é uma espécie de bactérias em que as células, em forma de bastonetes com 2 – 6.5 µm de comprimento e 1µm de largura, crescem envoltas em bainhas formando filamentos que podem ter pseudo-ramificações, e impregnações de óxidos de ferro e manganês. Tem metabolismo respiratório, e pode utilizar diversos ácidos orgânicos como fonte de carbono. Produz adesinas pelas quais se pode agregar ou aderir a superfícies.

As bactérias do género *Siderococcus* surgem em agregados de células cocóides muito pequenas (0.2-0.5µm) com apêndices curtos e encrustradas de depósitos de hidróxidos férricos. Multiplicam-se por gemulação, são aeróbicas e provavelmente organotróficas (o que não tem sido possível determinar por não ser possível obter culturas puras).

Pertencem ao género *Thiosphaera* bactérias Gram-negativas, cocóides que surgem em células singulares, aos pares ou em cadeias, com metabolismo respiratório, facultativamente quimiolitotróficas, capazes de utilizar formas reduzidas de enxofre como fonte de energia.

Os restantes isolados estão a ser estudados em termos de biodegradação de compostos nitroaromáticos.

6. CONCLUSÕES

A partir da caracterização hidrogeoquímica dos aquíferos, constatou-se que as concentrações anómalas de metais e de terras raras se situam nas imediações da SPEL. Esta conclusão é corroborada pelas sondagens electromagnéticas RMT-R que indicaram ainda a existência de uma direcção preferencial de fluxo ao longo da Ribeira de Santa Marta de Corroios. Por sua vez, a direcção desta ribeira coincide com um alinhamento NNE-SSW detectado pelos perfis de RF-EM.

A contaminação detectada é particularmente preocupante uma vez que a análise dos logs das sondagens existentes na região revelou que a separação entre o aquífero superior e o inferior (actualmente em exploração) não se faz por uma camada contínua, mas sim por um imbricado de níveis lenticulares argilosos, sendo pois previsíveis situações pontuais de drenância no sentido descendente.

O microbiota deste aquífero é fortemente condicionado pelo tipo de contaminantes presentes, existindo uma constante pressão ambiental, que no local mais contaminado, seleccionou microrganismos resistentes quer à toxicidade dos compostos presentes, quer às condições de acidez. Os germes acidófilos ou ácido-tolerantes, resistentes ao tolueno e outros compostos aromáticos presentes, são provavelmente os que mais facilmente poderão vir a ser adaptados a sistemas de tratamento *in situ*, que poderão incluir uma fase prévia de mobilização dos metais a partir do solo e da zona não saturada, por aspersão com culturas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Dra. Sandra Caetano do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências do Mar e Ambiente da Universidade do Algarve o auxílio prestado na montagem das diversas técnicas de microscopia.

BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER, M. e LUSTIGMAN, B. K. - "Effect of chemical structure on microbial degradation of substituted benzenes". *J. Agric. Food Chem.*, **14**, 1966, pp. 410-413.
- ALMEIDA, C.; JESUS, R.; FERNANDES, J. – Definição, Caracterização e Cartografia dos Sistemas Aquíferos de Portugal Continental. FCUL/INAG, Lisboa, 1997.
- AZEVÊDO, M. T. – O Sinclinal de Albufeira. Evolução pós-miocénica e reconstituição paleogeográfica. Dissertação de Doutoramento apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, 1983.
- CARVALHO DILL, A., MÜLLER, I., COSTA, A. M., MONTEIRO, J.P. – Importância do uso de métodos geofísicos electromagnéticos Very Low Frequency Electromagnetics (VLF-EM) e Radio Magnetotelluric – Resistivity (RMT-R) no estudo de aquíferos cársicos do Alentejo e do Algarve. 4º Congresso da Água, Lisboa, 1998.
- CLESCERI, L. S., GREENBERG, A. E., EATON, A. D. - *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th edn, Washington, DC, APHA, AWWA, WEF, 1998.
- CULLIMORE, D. R.. - *Practical Manual of Groundwater Microbiology*. Chelsea, Michigan, Lewis Publishers, 1993.
- FERNANDES, J.; ALMEIDA, C.; MIMOSO, P. - Modelos de Transporte: um exemplo de aplicação. Seminário sobre Águas Subterrâneas. Assoc. Portuguesa dos Recursos Hídricos.LNEC, 1999.
- FISCHER G, LE QUANG B. V. and MÜLLER I. - VLF ground survey, a powerful tool for the study of shallow two-dimensional structures. *Geophysical Prospecting*, **31**, 1983, pp.977-991.
- GERHARDT, MURRAY, COSTILOW, NESTER, WOOD, KRIEG, PHILLIPS. - *Manual of Methods for General Bacteriology*. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1981.
- HOBBIE, J. E., DALEY, R. J., JASPAR, S. - "Use of Nucleopore filters for counting bacteria by epifluorescence microscopy". *Appl. Environmen. Microbiol.*, **33**, 1977, pp. 1225-1228.
- HOLT, J. G., KRIEG, N. R., SNEATH, P. H. A., STALEY, J. T., WILLIAMS, S. T. - *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th edn , Baltimore, Maryland, Williams & Wilkins, 1994.
- SPAIN, J. C., HUGHES, J. B., KNACKMUSS, H.J. - *Biodegradation of Nitroaromatic Compounds and Explosives*. Boca Raton, Lewis Publishers, 2000.
- TURBERG P. - Apport de cartographie radiomagnétotellurique a l'hydrogéologie des milieux fracturés, Doktorarbeit. Centre d'Hydrogéologie de l'Université de Neuchâtel, 1994.