



Rita Nogueira Lopes Ferreira

Integração do processo de Fenton e biofiltração com *Corbicula fluminea* para o tratamento de efluentes vinícolas

Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia Química

Coimbra, Julho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Rita Nogueira Lopes Ferreira

Integração do processo de Fenton e biofiltração com *Corbicula fluminea* para o tratamento de efluentes vinícolas

Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia Química, orientada pela Doutora Raquel J. Costa e pelo Doutor Rui C. Cardoso Martins, apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra

Supervisores:

Doutora Raquel Costa

Doutor Rui Martins

Instituição:

Departamento de Engenharia Química

Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra

Coimbra, Julho 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

*“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa,
nunca tem medo e nunca se arrepende.”*

Leonardo Da Vinci

Agradecimentos

“A gratidão é o único tesouro dos humildes” (William Shakespeare) Desta forma, queria agradecer a todos os que são importantes na minha vida e que sem eles não me tinha tornado na pessoa que sou hoje.

Em primeiro, um muito obrigada à minha família, nomeadamente à minha mãe e ao meu pai, por acreditarem, sem nunca desistirem, me apoiarem e me darem esta oportunidade muito importante na minha vida. À minha avó Fátima e à minha irmã pelo apoio e incentivo dados.

Ao meu namorado, Davide, agradeço por tudo, principalmente pela presença nesta etapa, sempre com a paciência, apoio incondicional e com a frase certa para me animar.

Aos meus *Flops*, Andreia e Marco, pela amizade, momentos de entreajuda, de alegria, o meu obrigada, sem vocês a vida de laboratório não teria sido a mesma coisa.

Agradeço aos meus orientadores, Doutor Rui Martins e Doutora Raquel Costa, que de forma incansável me orientaram e prestaram auxílio sempre que necessário.

Aos meus amigos, obrigada pela partilha, diversão e sobretudo amizade demonstrada.

Em geral, obrigada a todos, sem vocês não teria sido possível.

Resumo

O objetivo proposto desta investigação consistiu na análise do potencial da integração de dois processos de tratamento de efluentes envolvendo o reagente de Fenton e a biofiltração com amêijoia asiática, na depuração de águas residuais provenientes da indústria de produção de vinho.

Nos estudos desenvolvidos com o processo de Fenton foram analisadas duas gamas de condições de tratamento tendo em conta a carga de reagentes (peróxido de hidrogénio e ferro) utilizada. A utilização da gama baixa permitiu avaliar se as condições operacionais descritas na literatura para o tratamento de efluentes vinícolas usando foto-Fenton (isto é, recorrendo a radiação como coadjuvante da reação) podiam ser extrapoladas, para o caso em que não é utilizada luz. No entanto, para esta gama, a remoção de carga orgânica (medida como carência química de oxigénio – CQO) máxima foi de 19.4% usando $[\text{Fe}^{2+}] = 13,3 \text{ mM}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2] = 0.05 \text{ M}$. Tendo em conta a baixa degradação obtida, planeou-se um desenho de experiências para avaliar o efeito da concentração de reagentes na eficiência do processo, agora usando uma gama alta de carga de ferro e de peróxido de hidrogénio. Concluiu-se que, para a gama testada, as melhores condições seriam $[\text{Fe}^{2+}] = 30 \text{ mM}$ $[\text{H}_2\text{O}_2] = 0.206 \text{ M}$, levando a uma remoção de CQO de 52%.

Tendo em conta a sazonalidade da sua composição, a toxicidade dos efluentes vinícolas produzidos em diferentes alturas do ano foi estudada através de testes de mortalidade com a amêijoia asiática, para uma exposição de 96h. Os resultados revelaram que, quanto maior a carga orgânica do efluente, maior a toxicidade. Por outro lado, verificou-se que aplicação do processo de Fenton (usando as duas condições referidas anteriormente) reduz significativamente o impacto das águas residuais sobre a *C. fluminea*. De facto, entre as duas condições de Fenton referidas houve apenas pequenas diferenças no que toca a mortalidade da amêijoia, pelo que a escolha da melhor terá que passar por uma análise económica.

O processo de biofiltração (10 dias) demonstrou elevada eficiência na remoção de CQO. A carência química de oxigénio apresentou um pico de remoção, que rondou os 100%, no oitavo dia, aproximadamente, para todos os efluentes em teste. No entanto, esse valor não se manteve devido à matéria orgânica expelida das amêijoas ao longo do processo que, ao fim do 8º dia, levou a um gradual aumento do CQO da água.

Os resultados obtidos demonstram assim, que a integração entre o processo de Fenton e a biofiltração com *C. fluminea* constitui uma tecnologia promissora, podendo permitir a

recuperação e reutilização da água num processo vinícola. Além disso, esta metodologia constitui uma forma inovadora de controlo de uma espécie invasora.

Abstract

The aim of the research carried out was to analyze the integration of two wastewater treatment processes involving Fenton's reactant and biofiltration using Asian clam.

In what regards, the studies developed using Fenton's process, two ranges of reactants (hydrogen peroxide and iron) concentration were tested. The application of a low range of reactants load allowed to evaluate the possibility of applying the conditions described in literature for photo-Fenton (using light to enhance the reaction) in dark Fenton (without radiation). However, for that range, the maximum organic charge (measured as chemical oxygen demand – COD) removal was about 19.4% using $[\text{Fe}^{2+}] = 13,3 \text{ mM}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2] = 0.05 \text{ M}$. Bearing in mind these results, a design of experiments was planned to evaluate the effect of iron and hydrogen peroxide load over the process efficiency at a higher range of concentrations. It was concluded that, for the range studied, the best conditions were $[\text{Fe}^{2+}] = 30 \text{ mM}$ $[\text{H}_2\text{O}_2] = 0.206 \text{ M}$, leading to up to 52% of COD removal. Due to the well seasonality of this kind of water, the toxicity of winery effluent produced during different periods of the year was studied through mortality tests with Asian clam, with an exposition time of 96h. It was verified that the higher organic load led to higher toxicity. On the other hand, the use of Fenton's process as pre-treatment (for both conditions referred before) strongly reduced the toxicity of the effluent over *C. fluminea*. In fact, only slight differences were found between the wastewaters treated by both Fenton's operating conditions. In this context, the selection of Fenton's reactants loads must consider an economical evaluation. The biofiltration process (10 days) revealed a high efficiency for COD removal. The chemical oxygen demand abatement showed a maximum after 8 days (~100%). But, this efficiency was not constant probably due to the fact that the clams expelled some organic matter along time leading to a COD increase after that day.

The results obtained with this research demonstrate that the integration between Fenton's process and biofiltration using *C. fluminea* is a promising technology able to obtain treated water with conditions to be reused. Moreover, this methodology constitutes an innovative way to control invasive species.

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract.....	vii
Índice	ix
Índice de Figuras	xi
Índice de Tabelas	xii
I. Introdução.....	1
II. Estado da Arte	3
1. Problema do Efluente Vinícola e seu Tratamento.....	3
1.1. Efluente Vinícola	3
1.2. Tratamento de Efluente Vinícola	5
1.3. Processo de Fenton aplicado a Efluentes Vinícolas.....	8
2. A amêijoia asiática enquanto biofiltro para tratamento de efluente vinícola.....	14
2.1. Biologia da amêijoia asiática	14
2.2. A amêijoia asiática enquanto espécie invasora	17
2.3. O aproveitamento da amêijoia asiática como eixo na gestão da peste.....	19
2.3.1. Utilização de bivalves “filtrantes” para bioremediação do meio hídrico	22
III. Procedimentos Experimentais	27
1. Tratamento pelo Processo de Fenton	27
2. Avaliação do potencial da amêijoia asiática enquanto biofiltro.....	27
2.1. Organismos de teste	27
2.2. Testes de Mortalidade	28
2.3. Testes de Biofiltração	28
3. Caracterização do Efluente	29
IV. Resultados e Discussão	35
1. Tratamento Pelo Processo De Fenton	35
1.1. Análise do impacto das variáveis operacionais do processo de Fenton.....	36
i. Efeito da concentração de Ferro II.....	36
ii. Efeito da concentração de Peróxido de Hidrogénio.....	37
1.2. Otimização das condições de tratamento	38
2. Avaliação do potencial da amêijoia asiática enquanto biofiltro.....	43
2.1. Testes de Mortalidade	43

2.2. Testes de Biofiltração	46
V. Conclusões e Trabalhos Futuros	51
VI. Bibliografia	55

Índice de Figuras

Figura 1 - Estrutura da tese.....	2
Figura 2 - Ameijoia Asiática (Adaptado (Mackie & Claudi, 2010)).....	14
Figura 3 - Dentes laterais serrilhados da Ameijoia Asiática. (Adaptado de (Mackie & Claudi, 2010))	14
Figura 4 - Ciclo de vida da amêijoia asiática. (Mackie & Claudi, 2010)	15
Figura 5 - Mapa de Portugal da distribuição da <i>Corbicula fluminea</i> . a. Regiões hidrográficas. b. Distribuição atual da espécie. (adaptado de (Rosa I. C., Costa, Gonçalves, & Pereira, 2011)).....	17
Figura 6. - Eixos de gestão de pragas	20
Figura 7 - Sistema reacional para a reação de Fenton.	27
Figura 8 - Teste de mortalidade com a <i>Corbicula flumínea</i>	28
Figura 9 – Termoreator.....	29
Figura 10 - Fotómetro.....	29
Figura 11 - Equipamento de medição de Oxigénio Dissolvido (<i>WTW Series inoLab Terminal 740</i>).....	31
Figura 12 - Unidade de destilação (<i>VELP Scientific - UDK 129 Distillation Unit</i>).....	32
Figura 13- Unidade de Digestão (<i>VELP Scientifica – DKL Heating Digester</i>).	32
Figura 14 - Medidor de pH.	33
Figura 15 - Significância das variáveis independentes sobre a independente. a - peróxido de hidrogénio e b – ferro II.....	40
Figura 16 - Interações entre as variáveis do processo de Fenton.	41
Figura 17 - Efeitos dos parâmetros independentes na remoção de CQO.	41
Figura 18 - Comparação da toxicidade dos três efluentes para um período de exposição de 96h.	43
Figura 19- Mortalidade produzida, em 96h, por efluente original (de Abril) e por efluente sujeito a tratamento de Fenton em duas condições distintas.	45
Figura 20 – Análise da amónia ao longo do teste de Biofiltração.	47
Figura 21 - Remoção de CQO ao longo do teste de Biofiltração. a- meios com 50% de efluente e b- efluente puro.	48
Figura 22 - Variação da CQO no teste de Biofiltração.....	48
Figura 23 - Análise da CBO ₅ no início e final da biofiltração.	49
Figura 24 – Analise da fitotoxicidade no início e final da biofiltração.	50

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Características do Efluente Vinícola, (Adaptado (Mosse, Patti, Christen, & Cavagnaro, 2011)).....	4
Tabela 2 - Processos existentes para tratamento do efluente vinícola.	5
Tabela 3 - Processo de Fenton ou foto-Fenton aplicado a efluentes vinícolas.	10
Tabela 4 - Limites ambientais tolerados pela amêijoia asiática. (Rosa, <i>et al.</i> , 2011 e Lucy, <i>et al.</i> , 2012)	17
Tabela 5 - Volume de amostra por gama de CQO.	31
Tabela 6 - Parâmetros medidos nos efluentes vinícolas analisados.....	35
Tabela 7 - Remoção de CQO para diferentes concentrações de Ferro II.....	37
Tabela 8 - Remoção de CQO usando diversas concentrações de Peróxido de Hidrogénio.....	37
Tabela 9 - Valores de Carência Química de Oxigénio, com as melhores condições obtidas da análise de impacto das variáveis processuais.....	38
Tabela 10 - Níveis dos fatores independentes usados no desenho de experiências 1.....	39
Tabela 11 - Valores codificados das reações realizadas.	39
Tabela 12 - Dados relativos ao segundo Desenho de Experiências.....	40
Tabela 13 - Valores de Carência Química de Oxigénio, com as melhores condições do segundo Desenho de Experiências.....	42
Tabela 14 - Carência Química de Oxigénio do Efluente Puro e suas condições de tratamento.	44
Tabela 15 - Toxicidade dos efluentes no teste de biofiltração.....	46

I. Introdução

O aumento do impacto das ações do Homem sobre os ecossistemas tem levado a uma crescente preocupação, no que diz respeito aos efeitos da poluição. Assim, impera a necessidade constante de proteger os recursos mais escassos, como é o caso dos hídricos, cuja contaminação prejudica necessariamente a saúde e qualidade de vida das populações.

Estes meios são comumente poluídos por resíduos, sólidos e líquidos, domésticos, ou mesmo provenientes da agricultura e da indústria. Alguns dos contaminantes presentes nos efluentes caracterizam-se por serem tóxicos e persistentes, mesmo em baixas concentrações, o que torna a remoção destas moléculas difícil. Desta forma, é de maneira preocupada que se procuram soluções sustentáveis para tratar as águas residuais, com o objetivo de as reutilizar, gastando menos recursos, não contribuindo para a escassez da água.

Existem diversos tipos de efluentes líquidos oriundos da indústria, pelo que o foco desta dissertação é nos resíduos provenientes de adegas. Este tipo de águas residuais são muito variadas, pois apresentam elevada sazonalidade, o que afeta muito as suas características. Na sua grande maioria, os resíduos da produção de vinho são originários das lavagens necessárias ao processo sendo caracterizados por uma elevada carga orgânica e relativa toxicidade. Assim, sem tratamento não há possibilidade de descarregar estas águas nos cursos naturais, ou mesmo nas ETARs (estação de tratamento de águas residuais), uma vez o que causariam riscos eminentes aos seres vivos do meio aquático, e posteriores recetores da água em questão.

A procura constante pelo tratamento que melhor se adegue a este efluente com a eficácia pretendida tanto a nível de processo, como a nível económico, leva a investigações perspicazes nesta área.

Atualmente existem variados processos que podem ser utilizados no tratamento do efluente vinícola, de entre sistemas biológicos, físicos, químicos, por membrana, combinados, surgem os PAOs (processos avançados de oxidação), com elevadas eficiências e velocidades de reação. A característica geral dos processos avançados de oxidação é a produção de espécies oxidantes fortes, os radicais hidroxilo, que promovem uma elevada eficácia no tratamento, pois apresentam capacidade de oxidar de uma forma não seletiva um amplo leque de compostos biorecalcitantes (compostos orgânicos de difícil degradação, hidrofóbicos e bioacumulativos) e tóxicos. O processo de Fenton é um dos processos avançados de oxidação mais usado industrialmente devido às vantagens associadas (economia, eficácia na redução de

contaminantes, além de envolver reagentes ambientalmente seguros). Este sistema é baseado no uso de sais de ferro e peróxido de hidrogénio para formação dos radicais hidroxilo.

Outro sistema de remediação de águas residuais atualmente em estudo envolve a biofiltração usando moluscos, nomeadamente a amêijoia asiática. Este bivalve tem muito boa capacidade de filtração e bioacumulação, o que o torna promissor no âmbito do tratamento de efluentes líquidos. Como peste invasora que este bivalve é, causando problemas a níveis industriais e aquáticos, e devido à sua capacidade de elevada dispersão, há necessidade de uma gestão conveniente. Uma das possibilidades consiste na sua aplicação que pode passar pela aposta na exposição deste molusco a contaminantes existentes nas águas para bioremediação.

Com base nestas problemáticas, o objetivo desta dissertação centra-se no estudo do melhor tratamento integrado de efluentes provenientes de adegas, envolvendo o processo de Fenton e a biofiltração com a amêijoia asiática.

Na Figura 1 é apresentada a estrutura da tese. Esta está organizada em cinco capítulos, sendo o primeiro esta nota introdutória, seguida do Estado da Arte, onde se analisam as características do efluente vinícola, os tratamentos usualmente usados na sua depuração, em pormenor o processo de Fenton, e as investigações já publicadas com esta tecnologia para este tipo de resíduos. Apresenta-se também a biologia da amêijoia asiática, como esta se tornou uma espécie invasora e o seu aproveitamento, para por exemplo remediação. No terceiro capítulo estão descritos os métodos experimentais usados na caraterização e tratamento do efluente, e no quarto são apresentados os resultados obtidos e as respetivas conclusões. Por último, são expostas as conclusões mais importantes desta dissertação e as propostas de trabalho futuro.



Figura 1 - Estrutura da tese.

II. Estado da Arte

Este capítulo apresenta as características do efluente vinícola, os vários processos usados para tratar este resíduo, e mais detalhadamente o processo avançado de oxidação escolhido. Nesta secção estão ainda presentes as características da amêijoia asiática, bem como o seu aproveitamento enquanto espécie invasora, e a sua utilidade, enquanto biofiltro no tratamento de efluentes.

1. Problema do Efluente Vinícola e seu Tratamento

1.1. Efluente Vinícola

A produção de vinho gera diferentes tipos de poluição, relacionados sobretudo com resíduos sólidos e efluentes líquidos. O efluente vinícola, proveniente de operações com as uvas para produção de vinho, é gerado maioritariamente por diversos processos limpeza, como é o caso das lavagens que ocorrem durante a trituração e prensagem da uva. Por outro lado, há que considerar as operações de limpeza de tanques de fermentação, barris, garrafas e outros equipamentos ou superfícies (Mosteo, *et al.*, 2008 e Lucas, *et al.*, 2008).

As características do efluente vinícola dependem dos meses característicos da colheita da uva, e posteriores processos que são necessários à produção do vinho (Ornad, *et al.*, 2006; Lucas, *et al.*, 2009 e Mosteo, *et al.*, 2006). As etapas de produção de vinho baseiam-se na receção de uvas, seguida de esmagamento, fermentação, decantação, maturação e estabilização, filtração e, por último, engarrafamento e embalagem (Lucas & Peres, 2011). Ao longo do ano existem duas épocas na produção do efluente vinícola, a alta, de Agosto a Novembro, onde acontece o processamento do vinho, e a baixa, que ocorre no resto do ano, aquando o armazenamento e engarrafamento.

Assim, este tipo de efluente apresenta elevada variabilidade nas suas características, devido à sua sazonalidade, aos métodos usados na produção de vinho, ou mesmo o tipo de vinho que está a ser processado. O efluente vinícola é tipicamente biodegradável, é caracterizado pela sua elevada acidez, odor e cor desagradáveis, bem como uma elevada concentração de carga orgânica, maioritariamente composta por ácidos orgânicos, etanol, glucose, frutose e polifenóis. No entanto, parte da matéria orgânica destes efluentes é biorecalcitante e potencialmente tóxica para vários microrganismos e plantas (Lucas, *et al.*,

2009; Martins, *et al.*, 2009 e Ioannou, *et al.*, 2013, 2015). Isto dificulta a aplicação direta de processos de tratamento por lamas ativadas. Por outro lado, a elevada variabilidade do efluente implica uma contínua adaptação dos microrganismos ao efluente.

A Tabela 1 mostra as características mais importantes do efluente vinícola assim como os respetivos valores mínimos, médios e máximos tipicamente encontrados na literatura.

Tabela 1 - Características do Efluente Vinícola, (Adaptado (Mosse, *et al.*, 2011))

Parâmetros	Unidades	Mínimo	Máximo	Média
CQO	mg O ₂ /L	320	296119	15553
CBO ₅	mg O ₂ /L	125	130000	8858
pH		3	12	5

Portugal, como um dos países com maior produção de vinho, em 2009, apresentava uma produção anual de 600000 L de vinho, sendo a produção de efluente vinícola de cerca de 3000-5000 L por tonelada de uva processada. Isto é, por cada litro de vinho produzido estima-se a geração de 1,3 a 1,5 kg de resíduos, em que 75% é efluente vinícola, ou seja, 1 a 2 litros de efluente por cada litro de vinho, 24% são subprodutos de vinificação e 1% de resíduos sólidos (Souza, *et al.*, 2013; Lucas, *et al.*, 2008 e Ioannou, *et al.*, 2013).

Os efluentes, em particular o efluente vinícola, apresentam uma problemática em termos de poluição ambiental, mais especificamente hídrica, podendo causar salinização e eutrofização destes recursos. Se estes efluentes forem descarregados no meio hídrico, sem tratamento, além do potencial efeito tóxico, como possuem elevada carência bioquímica de oxigénio, pode levar a uma rápida depleção do oxigénio dissolvido das águas recetoras levando à morte dos seres vivos aquáticos e anfíbios existentes, por falta de oxigénio.

No que toca ao solo, a aplicação deste tipo de efluentes sem tratamento, pode alterar propriedades físico-químicas dos lençóis de água, afetando a cor, pH e condutividade elétrica. Por vezes, estas águas residuais são usadas para irrigação da vinha, mas se esta aplicação for inadequada pode prejudicar a saúde do solo, por alagamentos, salinização, contaminação química, erosão, afetando também a diversidade de microrganismos presentes (Kumar, *et al.*, 2006 e Ioannou, *et al.*, 2015).

Em Portugal, os limites legais para descarga de águas residual em meio hídrico estão estabelecidos pelo Decreto-Lei nº 236/98, 1 de Agosto de 1998. Por exemplo, o valor de CQO (Carência Química de Oxigénio) e CBO₅ (Carência Bioquímica de Oxigénio) não podem ultrapassar os 150 e 40 mg O₂/L, respetivamente. Posto isto, há necessidade de realizar uma

eficiente gestão das águas residuais da indústria vinícola, por forma a proteger os ecossistemas. Por outro lado, a possibilidade de reutilização da água é uma estratégia cada vez mais apetecida tendo em conta a crescente escassez mundial neste recurso.

1.2. Tratamento de Efluente Vinícola

O tratamento do efluente vinícola torna-se complicado devido elevada variabilidade, em termos de volume e composição, relacionada com a sazonalidade desta água residual.

A redução da carga orgânica, medida em termos de Carência Química e Bioquímica de Oxigénio, é dos parâmetros mais importantes quando se fala de tratamento de efluentes. A matéria orgânica das águas residuais da indústria vinícola, é maioritariamente caracterizada por açúcares muito solúveis, álcoois, ácidos e compostos recalcitrantes de elevado peso molecular (como polifenóis, taninos e lenhinas), que se tornam difíceis de remover por processos físicos ou biológicos (Lucas & Peres, 2011).

Foram já testadas várias tecnologias, para o tratamento destas águas, mas ainda nenhuma foi considerada “a ideal”, o que faz com que a investigação nesta área não tenha terminado. A escolha do melhor tipo de tratamento não é fácil, visto que têm de ser considerados diferentes fatores importantes, como é o caso da redução da carga orgânica, recursos gastos no tratamento, bem como todos os custos acoplados.

Para tratar os resíduos líquidos produzidos durante a produção de vinho são conhecidos processos físico-químicos, biológicos, filtração e separação por membrana, processos avançados de oxidação (PAOs) e processos combinados (tipicamente processo biológico integrado com sistemas químicos avançados). A Tabela 2 resume os principais processos utilizados na depuração de águas residuais da indústria do vinho.

Tabela 2 - Processos existentes para tratamento do efluente vinícola.

Processos Físico-químicos	Precipitação química com agentes quelantes Sedimentação com adição de floculantes Coagulação/Floculação Eletrocoagulação
Processos Biológicos	Lamas ativadas Lagoas arejadas Digestão Anaeróbia
Processos filtração e separação por membrana	Nanofiltração Osmose inversa
Processos avançados de oxidação (PAOs)	Ozonólise Oxidação Húmida Fotocatálise Fenton

Os processos físico-químicos são comumente usados como pré-tratamento, para baixar a quantidade de sólidos suspensos, a turbidez, bem como parte da matéria orgânica existente no efluente, facilitando os sistemas posteriores. O processo de coagulação/floculação, com vários coagulantes, podem atingir remoções de CQO de 31,5%-37,9%, de turbidez cerca de 93% e de sólidos suspensos à volta de 95% (Braz, *et al.*, 2010). Rizzo, *et al.* (2010), testou um coagulante orgânico natural, atingindo remoções de 73%, 92% e 80%, em termos de CQO, turbidez e sólidos suspensos, respetivamente. A eletrocoagulação, usando elétrodos de alumínio e de ferro, pode apresentar remoções de CQO, turbidez e cor na ordem dos 46,6% (eletrodo de alumínio) - 48,5% (eletrodo de ferro), 92,3% (alumínio) - 98,6% (ferro) e 80,3% (Al) - 97,2% (Fe), respetivamente (Kara, *et al.*, 2013 e Ioannou, *et al.*, 2015).

Os processos biológicos são considerados amigos do ambiente, mas, por vezes, não são capazes de remover a matéria orgânica presente, que se encontra em elevadas concentrações, e assim, alguns componentes tóxicos podem degradar-se tão lentamente sendo considerados recalcitrantes. Por outro lado, há a desvantagem dos sistemas mais comuns (lamas ativadas) produzirem grandes quantidades de lamas, cuja gestão constitui um desafio. Há ainda a ter em conta, que é praticamente impossível maximizar a eficiência destes processos, devido às propriedades muito variáveis do efluente vinícola tanto qualitativa como quantitativamente (elevado CQO, cor escura, ácido e, por vezes, contem espécies fenólicas) que leva à inibição dos sistemas de tratamento biológico. Além disto, alguns dos poluentes possuem propriedades antioxidantes, tornando-se tóxicos para os microrganismos, resultando numa pobre biodegradabilidade do efluente, dificultando assim o bom funcionamento dos reatores biológicos. Assim, é necessário ter cuidado na escolha dos microrganismos, bem como a adaptação destes ao tratamento em questão. O controlo dos processos biológicos torna-se difícil, devido, por exemplo, à sensibilidade das bactérias em termos de condições ambientais, o que afeta o seu crescimento (Ioannou, *et al.*, 2015; Martins, *et al.*, 2009; Peres & Lucas, 2011 e Lucas, *et al.*, 2009). Por exemplo, quando devidamente otimizado, o sistema SBR (*sequential batch reactor*) torna-se muito eficiente no tratamento de águas residuais, provenientes da produção vinícola de pequena escala, tendo em conta que pode remover 95% de CQO e 97,5% de CBO₅, apresentando custos operacionais relativamente baixos (Ioannou, *et al.*, 2015).

Os tratamentos por membrana podem apresentar elevadas remoções de sólidos dissolvidos, carbono orgânico, iões inorgânicos e compostos orgânicos. Neste tipo de processos a pressão e temperatura têm que ser controladas, pois afetam a seletividade das membranas. Com a osmose inversa consegue reduzir-se carga orgânica e inorgânica dos

efluentes, bem como a sua toxicidade. Este processo é de fácil operação, flexível no que toca à temperatura e valores de pH, tornando o efluente de boa qualidade. Mas contém alguns requisitos rigorosos, no que toca à membrana e à sua alimentação. Com estes processos conseguem remover-se elevadas percentagens de carência química de oxigénio (97%), de toxicidade (100%) e de sólidos (94%-96%) (Ioannou, *et al.*, 2015). Estes sistemas possuem a desvantagem de requerem pressões de operação altas e da limpeza/substituição frequente das membranas o que encarece o processo. Por outro lado, há a produção de um concentrado com uma elevada carga orgânica e de difícil tratamento posterior.

Como alternativa aos tratamentos convencionais surgiram os processos avançados de oxidação (PAOs), que se mostraram eficazes na degradação de poluentes orgânicos fortemente persistentes e refratários. Estes processos podem tratar contaminantes em concentrações muito diminutas (ppb), conseguindo que não se formem subprodutos problemáticos, sendo também úteis para melhorar as propriedades organolépticas (características dos materiais que podem ser percebidas pelos sentidos humanos, como a cor, brilho, luz, odor, textura, som e sabor) da água, ou mesmo para descorar os efluentes mais escuros. Os PAOs conseguem superar os processos convencionais usados, visto que são mais rápidos e eficientes. O maior problema é o custo dos reagentes usados, visto que são caros, mas consegue-se uma melhoria desta desvantagem, com a diminuição do consumo dos reagentes, através do uso de catalisadores e energia elétrica ou solar (Peres & Lucas, 2011).

Com estes processos há formação de espécies oxidantes fortes, o que resulta num elevado grau de tratamento, incluindo a quebra de compostos biorecalcitantes e tóxicos. As espécies oxidantes que se formam são espécies radicalares muito reativas e com elevada capacidade oxidante, designadamente os radicais hidroxilo ($\text{HO}\bullet$). Estes são espécies não seletivas reagindo rapidamente com compostos orgânicos e inorgânicos, conduzindo à completa mineralização ou à formação de compostos intermédios biodegradáveis, isto é, oxidam quase todos os compostos presentes no meio reacional, sem restrições a classes específicas ou grupos de compostos, quando comparados com outros oxidantes. No entanto, a sua ação pode ser prejudicada pela presença de compostos designados como radicais *scavengers*, como é o caso dos carbonatos, dos tert-butanol e dos ácidos húmicos, que reagem rapidamente com os radicais hidroxilo, parando a reação de degradação em cadeia (Peres & Lucas, 2011; Mosteo, *et al.*, 2008 e Ornad, *et al.*, 2006).

Os radicais hidroxilo podem ser formados por decomposição do peróxido de hidrogénio, do ozono ou através da oxidação fotocatalítica usando radiação ultravioleta ou luz solar com presença de catalisadores.

A oxidação por ozonólise e pelo processo de Fenton pode ser realizada sem preocupações com pressão e temperatura, o que reduz custos operacionais. A ozonólise ocorre sob ação do ozono, que apresenta interessantes propriedades oxidantes. O processo de oxidação húmida surge como uma via de remoção de matéria orgânica de efluentes, necessitando do aquecimento destes até elevadas temperaturas, bem como injeção de ar a altas pressões. A fotocatalise usa luz para ativar substâncias, aumentando a velocidade da reação, podendo apresentar-se de forma heterogénea, ativando um semicondutor (por exemplo, dióxido de titânio). O processo de Fenton usa como reagentes o peróxido de hidrogénio e o ferro, este último atua como catalisador, promovendo a decomposição do peróxido de hidrogénio em radicais hidroxilo.

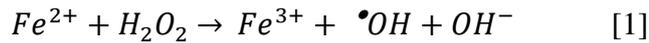
Já foram realizadas vários estudos em torno destes processos avançados para o tratamento do efluente vinícola. Com a ozonólise há dados que demonstram uma remoção de carga orgânica, cor e sólidos de 54%, 66% e 85%, respetivamente. Realizando o método de fotocatalise com dióxido de titânio apenas se conseguem degradações de matéria orgânica de cerca 26%. O processo de Fenton, dependendo das concentrações usadas de peróxido de hidrogénio e de ferro II, pode proporcionar remoções de CQO e de sólidos de cerca de 30% e 95%, respetivamente. Este último processo avançado de oxidação, por ter sido o escolhido para tratamento do efluente vinícola desta dissertação, será tratado em maior detalhe na seção seguinte (Ioannou, *et al.*, 2015 e Navarro, *et al.*, 2005).

Os processos avançados de oxidação surgem também como pré-tratamento, para que maior parte da matéria orgânica se degrade e a concentração de compostos inibidores diminua, tornando-se possível aplicar um processo biológico aeróbio posterior sem problemas (Mosteo, *et al.*, 2006, 2008). Esta integração leva a uma redução de custos operacionais quando se compara com o caso em que cada tratamento é aplicado em separado.

1.3. Processo de Fenton aplicado a Efluentes Vinícolas

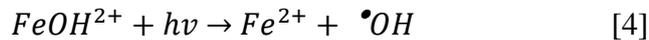
De entre os PAOs mais usados no tratamento de efluentes, o processo Fenton combina vantagens económicas com a eficácia na redução de contaminantes e representa um dos melhores métodos para processos limpos e seguros na degradação de produtos orgânicos (Bianco, *et al.*, 2011).

Para que o processo de Fenton se dê é necessário que ocorram reações entre o Ferro e o Peróxido de Hidrogénio para que haja formação de radicais hidroxilo. Nestas reações de Fenton (equações 1 - 3) há uma redução e oxidação do Ferro.



O processo Fenton é um dos sistemas utilizados no tratamento de efluentes com elevado conteúdo fenólico, como é o caso dos vinícolas, de lagares de azeite, de indústria de pasta e papel e pesticidas. Por via desta tecnologia consegue-se uma melhoria na qualidade do efluente e aumento da sua biodegradabilidade, bem como na remoção de cloro (Rossi, *et al.*, 2012).

No tratamento de efluentes vinícolas vários estudos efetuados passam pela aplicação de luz no processo de Fenton (foto-Fenton) (equação 4):



A luz aumenta a velocidade da reação devido ao aumento da taxa de produção de radicais HO•, além da fotólise direta de alguns poluentes (Mosteo, *et al.*, 2008).

O processo de Fenton depende de vários parâmetros, tais como: a temperatura, a concentração de Fe³⁺, a concentração de H₂O₂, o pH, o tempo de reação, a composição inicial do efluente e da sua carga orgânica (Ornad, *et al.*, 2006 e Bautista, *et al.*, 2008).

O efluente destinado à reação de Fenton deve ter um pH entre 2,8 e 3. Se estiver acima de 3, o ferro começa a precipitar como Fe (OH)₃ e o H₂O₂ decompõe-se em O₂ e H₂O. Por outro lado, valores de pH mais baixos inibem as reações de redução do Fe³⁺ em Fe²⁺ impedindo assim o passo de regeneração do catalisador o que reduz a eficiência do tratamento.

O aumento da temperatura melhora a cinética do processo, no entanto, também favorece a decomposição de H₂O₂ no sentido O₂ e H₂O, cuja taxa de aumento é de 2,2 a cada 10°C (na gama de 20-100°C), levando a uma diminuição da quantidade de oxidante disponível para a degradação da matéria orgânica (Bautista, *et al.*, 2008).

Uma das vantagens deste processo, em relação a outros sistemas, é a não necessidade de usar energia para ativar o peróxido de hidrogénio, visto que a reação se dá à temperatura ambiente e pressão atmosférica. Por outro lado, requer reagentes de fácil manuseamento e envolve tempos de reação curtos. A simplicidade e baixo custo, quando comparado com outros PAOs, também se torna um ponto a favor. Como todos os processos, este apresenta desvantagens, como é exemplo o custo elevado do peróxido de hidrogénio e a necessidade de

remoção das lammas de ferro após tratamento (Bautista, *et al.*, 2008; Dominguez, *et al.*, 2014 e Martins, *et al.*, 2010).

Já foram realizados variados estudos envolvendo o tratamento de efluente vinícolas por processos avançados de oxidação, mais objetivamente com o processo de Fenton, na Tabela 3 são expostas algumas dessas investigações.

Tabela 3 - Processo de Fenton ou foto-Fenton aplicado a efluentes vinícolas.

Sistemas testados	Principais Conclusões	Referência
Processo Fenton solar para melhorar o efluente pré tratado em MBR (bioreator de membrana)	<ul style="list-style-type: none"> • Tratamento de efluente vinícola em MBR seguido de foto-Fenton <p>[Fe²⁺]_{ótima} = 3 mg/L [H₂O₂]_{ótima} = 350 mg/L</p> <p>Remoção, após 180 minutos de fotocatalise, de: CQO (carência química de oxigênio) = 85%; DOC (carbono orgânico dissolvido) = 62-68%; Cor = ~80%</p>	(Ioannou, <i>et al.</i> , 2014)
Foto-Fenton na degradação de efluentes	<ul style="list-style-type: none"> • Processo foto-Fenton homogêneo na degradação de efluentes vinícolas. • Efluentes simulados: WV- diluição de vinho tinto comercial (elevado teor de álcool) WG – diluição de sumo de uva comercial (elevado teor de açúcares). <p>pH inicial=3,5 Gammas de valores usados: [CQO] inicial=5000-10000 mg O₂/L [TOC (carbono orgânico total)] inicial =1500-1300mg C/L [H₂O₂] = 0,02-0,05 M [Fe³⁺] = 5-500 mg Fe/L t_{reação} = 5-30 min Degradação máxima (WG) =95% Degradação máxima (WV) =50%</p>	(Ornad, <i>et al.</i> , 2006)
Osmose Inversa seguida de Processo foto-Fenton	<ul style="list-style-type: none"> • Tratamento de efluentes vinícolas por osmose inversa seguido de foto-Fenton <p>[CQO] inicial = 5350 mg O₂/L Por osmose inversa, remoção de: CQO = 97% (o que equivale a [CQO] =150 mg O₂/L); Azoto= 67%; Fósforo= 76.2%; Sólidos Suspensos Totais=94%; Sólidos Totais=96%; Condutividade=94%. Tratamento do concentrado da osmose inversa por foto-Fenton: [CQO] concentrado = 10290 mg/L Redução de CQO = 75%</p>	(Ioannou L. A., <i>et al.</i> , 2013)
Degradação do Ácido Gálico por foto-Fenton	<ul style="list-style-type: none"> • Foto-oxidação do ácido gálico (composto fenólico) de efluentes vinícolas <p>Degradação de 34.7% com lâmpada de radiação UV TNT15/32; 20.2% com lâmpada UV TQ150 e 2.3% com radiação solar em 60 minutos.</p>	(Lucas, <i>et al.</i> , 2008)

Tabela 3 - Processo de Fenton ou foto-Fenton aplicado a efluentes vinícolas (continuação).

Sistemas testados	Principais Conclusões	Referência	
Tratamento fotoquímico num reator CPC (coletor parabólico composto)	<p>Degradação fotocatalítica heterogénea (TiO₂) [TiO₂] = 200 mg/L Remoção de TOC (WV) = 8 % Remoção de TOC (WG) = 10 % t reação = 400 min</p> <p>Degradação fotocatalítica heterogénea (TiO₂/H₂O₂ e TiO₂/S₂O₈²⁻) -TiO₂/H₂O₂ Remoção de TOC=11% (no final de 150 min) -Adição de 10 mM de S₂O₈²⁻ a TiO₂ Remoção de TOC=12% -Reação TiO₂/S₂O₈²⁻ com S2O82 constante Remoção de TOC=25% (no final de 440 min)</p>	(Lucas, <i>et al.</i> , 2009)	
	<p>Degradação fotocatalítica homogénea com foto-Fenton, com 400 min: [Fe²⁺] = 55 mg/L [H₂O₂] = 12 mM treação = 500 min Remoção de TOC (WV) = 46 % Remoção de TOC (WG) = 93 %</p>		
Foto-Fenton heterogéneo	<p>• Reação de foto-Fenton heterogéneo para degradação de efluentes vinícolas.</p> <p>• Efluentes simulados: WV- diluição de vinho tinto comercial (elevado teor de álcool) WG – diluição de sumo de uva comercial (elevado teor de açúcares).</p>	<p>Gama de valores: [CQO] inicial=5000-10000 mg O₂/L [TOC] inicial =1500-1300 mg C/L [H₂O₂] = 0,003-3 M [Fe³⁺] = 5-500 mg Fe/L t reação = 15 - 60 min Degradação de TOC (WG) = 55% Degradação de TOC (WV) = 55%</p>	(Mosteo, <i>et al.</i> , 2006)
Sistema sequencial foto-Fenton-Biológico	<p>• Processo foto-Fenton heterogéneo usado antes do processo biológico de lamas ativadas.</p> <p>• Efluente vinícola real.</p>	<p>pH inicial=3,5 [CQO] inicial=3300 mg O₂/L [TOC] inicial=969 mg C/L TPh inicial (conteúdo fenólico) = 99 mg ácido gálico/L t tratamento = 24h [H₂O₂] inicial = 0,1 M [catalisador] = 31 g catalisador/L Remoção de: TOC finalFenton=50-60 % CQO finalFenton=1000 mg O₂/L pH final = 4,1 TOC final=90% CQO final =128 mg O₂/L TPh final =49 mg ácido gálico/L</p>	(Mosteo, <i>et al.</i> , 2008)
Comparação de processos integrados (floculação, Fenton, ozonólise)	<p>• Processo de floculação, Fenton e ozonólise no tratamento de efluentes vinícolas.</p>	<p>Remoção de CQO por: Floculação (floculante 4350SH): 10% Fenton (4g/L de ferro II e 9g/L de peróxido de hidrogénio): 30% Ozonólise (3 gO₃/h): 54%</p>	(Martins, <i>et al.</i> , 2009)

Tabela 3 - Processo de Fenton ou foto-Fenton aplicado a efluentes vinícolas (continuação).

Sistemas testados	Principais Conclusões	Referência
Tratamento de efluente vinícola combinado com processos biológicos e com Fenton.	<p>pH_{inicial}=4,9 [CQO]_{inicial}=3820 mg O₂/L [TOC]_{inicial}=1628 mg C/L Taxa CBO/CQO=0,55, que indica boa degradabilidade. Processo biológico + Fenton (39,2mM H₂O₂; e razão H₂O₂/Fe²⁺ 15:1) pH_{final}=4,9 [CQO]_{final}=94 mg O₂/L (remoção de 97,5%) [TOC]_{final}=311 mg C/L (remoção de 81%)</p>	(Santos, <i>et al.</i> , 2014)

Ioannou, *et al.* (2014) concluíram que com o processo integrado de Fenton seguido de MBR, se consegue uma remoção de poluentes até ao limite permitido para descarga, a toxicidade para *D. magna* é eliminada e a fitotoxicidade reduzida.

Com a avaliação realizada para comparar a degradação do efluente vinícola por via de foto-Fenton, alterando concentração de ferro, concentração de peróxido, tempo de reação e concentração de matéria orgânica inicial, realizada por Ornad, *et al.* (2006), concluiu-se que a composição inicial do efluente influencia a eficiência, isto é, quanto maior o CQO inicial, menor é o grau de degradação e se se aumentar as concentrações de Ferro III, peróxido ou tempo de reação, há um aumento na taxa de redução de carga orgânica. Conseguem-se diferentes remoções que surgem pela formação dos compostos intermediários distintos, como o ácido acético, que inibem a reação.

A investigação realizada em torno da degradação de ácido gálico, realizada por Lucas, *et al.* (2008), concluiu que de entre o processo Fenton tradicional, o uso de oxalato de ferro (quelante que impede a precipitação do ferro a pH neutro) e fotocatalise heterogénea, o foto-Fenton (UV TNT15/32) mostrou-se o processo mais eficiente com degradação de 95.6% em 7,5 min e resultou numa total eliminação da toxicidade.

O tratamento fotoquímico do efluente vinícola torna-se mais eficiente se o etanol for removido previamente, por *stripping*, visto que se conseguem remoções de CQO, TOC e TPh de 98% (ao fim de 82 min), de 96% (ao fim de 130 min) e de 92% (no final da reação), conseguindo-se ainda redução da toxicidade de 48 para 28% (no final da reação) (Lucas, *et al.*, 2009).

Investigou-se o uso de catalisadores sólidos (*clay*) no tratamento de efluente vinícola através do processo de Fenton heterogéneo. As partículas aplicadas apresentavam tamanhos de 80-500 µm e a concentração usada foi de 0.1-0.2g/L. A matéria orgânica removida do efluente simulado de sumo de uva, mostrou não depender do tamanho das partículas de

catalisador ao contrário do que acontecia com o efluente simulado de vinho (Mosteo, *et al.*, 2006).

É possível aumentar a eficiência dos tratamentos através da integração de processos. Por exemplo, usando Fenton + Ozonólise, conseguem-se remoções de 73% de CQO. Comparada com outras alternativas, esta integração torna-se a mais barata, em termos de custo de remoção de CQO (Martins, *et al.*, 2009). E ainda, a combinação de processos químicos, nomeadamente o processo de Fenton com biológicos tem sido muito estudada, devido às remoções de CQO obtidas, que se encontram dentro dos limites de descarga no meio hídrico, tornando-se uma alternativa viável no tratamento deste tipo de efluentes (Santos, *et al.*, 2014 e Mosteo, *et al.*, 2008).

Como se pode verificar, pela bibliografia referida, o processo de Fenton é um bom sistema de tratamento de efluentes vinícolas, apresentando elevada eficiência na remoção de matéria orgânica, bem como facilidade no manuseamento dos reagentes e custos reduzidos. Fica, deste modo, evidente o interesse em investigar este sistema de tratamento para a remediação de efluentes líquidos.

2. A amêijoia asiática enquanto biofiltro para tratamento de efluente vinícola

A amêijoia asiática (*Corbicula Flumínea* (Müller, 1774)) é um bivalve invasor, de água doce, pertencente à família *Corbiculidae*. Com origem no sudeste asiático, esta espécie hermafrodita tem vindo a dispersar-se pelo mundo, tornando-se uma peste, com necessidade de monitorização e controlo.

2.1. Biologia da amêijoia asiática

- Morfologia/Anatomia

A amêijoia asiática apresenta conchas com tamanho médio entre 3-4 cm, com brilho e estrias salientes uniformemente espaçadas (Figura 2). A concha é produzida pelo bivalve, através de secreções de carbonato de cálcio, de

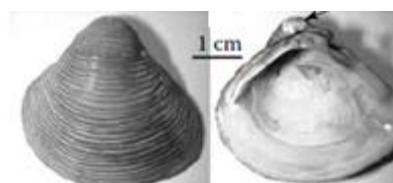


Figura 2 - Ameijoa Asiática (Adaptado (Mackie & Claudi, 2010)).

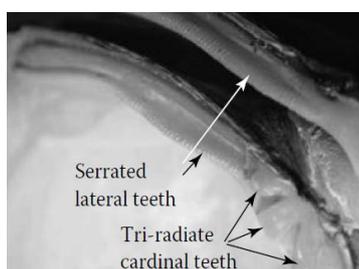


Figura 3 - Dentes laterais serrilhados da Ameijoa Asiática. (Adaptado de (Mackie & Claudi, 2010))

dentro para fora, e possui duas válvulas iguais inequilaterais. Estas válvulas unem-se pela charneira, com a ajuda de três dentes cardinais e dois laterais (Figura 3), tendo também ligamentos e músculos adutores, que aproximam as válvulas e fecham a concha rapidamente, quando contraídos. A abertura das válvulas torna-se um movimento lento, devido à não existência de músculos antogónios, dando-se quando os músculos adutores relaxam e o ligamento força a separação das válvulas (Mackie & Claudi, 2010).

A parte interna da concha é composta pelo manto, envolvendo a massa visceral e segregando a concha. É na cavidade do manto que se situa o sistema respiratório, composto por dois pares de branquias delgadas, formadas por lamelas, que funcionam para retirar o oxigénio do meio onde se encontram, e para se alimentarem. Entre as branquias encontra-se a boca, pertencente à cabeça, e envolvida pelos palpos labiais. Perto da boca está o pé muscular, afilado e em forma de machado, que se estende para fora da cavidade do manto. Nas proximidades dos gânglios do pé e na região do sifão inalante, encontra-se o estatocisto, o órgão capsular enervado por gânglios cerebrais. A massa visceral, encontrada abaixo do pé, contém os órgãos de digestão, reprodução e excreção desta espécie invasora (Mackie & Claudi, 2010 e Rosa, *et al.*, 2011).

A *C. Fluminea* apresenta sistema digestivo completo com palpos labiais para classificar alimentos e estilete cristalino para os digerir, bem como duas aberturas, uma boca para entrada dos alimentos e um ânus para eliminar os resíduos que não foram absorvidos durante a digestão. Tem também sistema nervoso composto por pé, gânglio cerebral e gânglio visceral. Contém um órgão de equilíbrio, um órgão olfativo para o sistema respiratório, com dois pares de brânquias compostas por lamelas interior e exterior, sistema circulatório fechado e sistema excretor (Mackie & Claudi, 2010).

- Reprodução e Ciclo de Vida

A Ameijoia Asiática é hermafrodita, proto-oogâmica e inicia a oogénese antes da espermatogénese. Durante os ciclos de reprodução sazonais a oogénese é quase contínua, mas a espermatogénese é episódica. A espermatogénese é estimulada pelo aumento da temperatura na primavera e também pela diminuição de temperatura no outono. O desenvolvimento embrionário resulta da autofertilização e alogamia (fertilização cruzada) e incluem blástula, trocófora, velígera e pedivelígera. Um indivíduo apenas pode dar continuidade à população (Mackie & Claudi, 2010).

O género *Corbicula* distingue-se por várias estratégias reprodutivas, que passam pela fecundação interna com lançamento de larvas planctónicas (larvas que nadam livremente para a fertilização interna) e incubação de larvas nas brânquias para a fase de *straight-hinge*. As espécies com larvas planctónicas são tolerantes à água salgada, enquanto que as espécies com larvas incubadas estão limitadas à água doce (Mackie & Claudi, 2010).

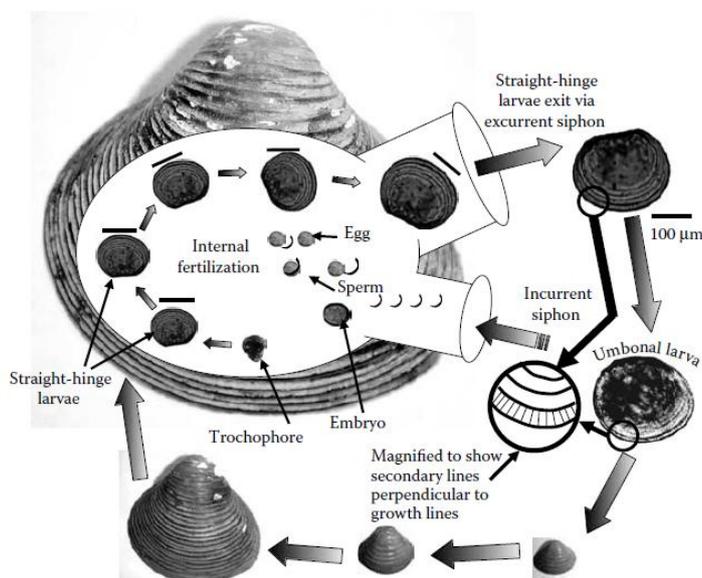


Figura 4 - Ciclo de vida da amêijoia asiática. (Mackie & Claudi, 2010)

Quanto ao ciclo de vida (Figura 4), a gametogénese ocorre durante todo o ano, e o tecido feminino é mais comum que o masculino. As amêijoas que transportam os gâmetas possuem conchas entre 7 e 10 mm. Os embriões são incubados no interior das brânquias e passam por uma fase trocófora que carece de cílios. As larvas são lançadas como larvas de forma-D (*straight-hige*) (> 195 µm de

comprimento de concha) já com pé e velum, sendo eliminadas após emergência (~100h após a libertação). As larvas umbonadas (> 280 µm de comprimento), são parecidas a ameijoas em miniatura, contém sífões e o pé, o único meio de locomoção. A concha das pedivelígeras apresenta comprimento superior a 500 µm, são opacas e têm estrias evidentes. Não ocorre mais nenhum desenvolvimento para além do crescimento contínuo e da maturidade sexual. O tamanho mínimo dos adultos que transportam larvas encontra-se entre 13 e 15 mm de comprimento de concha (Mackie & Claudi, 2010).

As larvas são libertadas entre Maio e Setembro, quando a temperatura média da água excede os 15°C, existindo mais dois picos de reprodução, sendo estes entre Outubro e Dezembro e Março e Abril, quando a temperatura da água se encontra entre 6 e 15°C. O pico da segunda desova é menor que a primeira, e a percentagem de indivíduos é muito menor durante o segundo período. A frequência da desova está correlacionada positivamente com o teor de clorofila da água. São produzidas, por dia, cerca de 600 a 700 larvas por indivíduo, durante a Primavera e o Outono, apesar de sobreviverem apenas 0,1% dessas larvas. Estas larvas, bastante leves, são facilmente arrastadas por correntes, suspensas em colunas de água, facilitando a sua dispersão. A esperança de vida desta espécie é de 1-4 anos e a sua primeira fonte de alimentação é o fitoplâncton (Mackie & Claudi, 2010; Rosa, *et al.*, 2011 e Burkhead, 2001).

- *Habitat*

Como espécie invasora bem sucedida, a *C. Fluminea* apresenta elevada capacidade de adaptação a novos *habitats*, elevada tolerância a uma ampla gama de condições ambientais, grande potencial reprodutivo, crescimento rápido, maturidade sexual precoce e grande capacidade de dispersão. A amêijoas asiática é comumente encontrada em rios, canais, albufeiras, lagos e zonas com influência de maré, bem como na parte inferior de estruturas. Apresenta preferência quanto ao substrato, este tem que ser arenoso, e heterogêneo, com mistura de areias, pedras e rochas, sendo evitadas zonas de sedimentos muito finos e com correntes fortes (Rosa, *et al.*, 2011 e Mackie & Claudi, 2010).

A tolerância aos fatores ambientais é de elevada importância, pois são muito tolerantes a fatores abióticos, excetuando o oxigénio. Foram realizados estudos para perceber os limites de tolerância a fatores como o pH, salinidade, temperatura para crescimento e desenvolvimento, para sobrevivência, para reprodução, cálcio e oxigénio resumindo-se na Tabela 6 os limites ambientais tolerados pela amêijoas asiática.

Tabela 4 - Limites ambientais tolerados pela amêijoia asiática. (Rosa, *et al.*, 2011 e Lucy, *et al.*, 2012)

Parâmetro	Limite Inferior	Limite Superior
pH	5,6	ND
Salinidade (psu)	2	10-17
Temperatura para sobrevivência (°C)	0-2	36-37
Temperatura para crescimento e desenvolvimento (°C)	10	ND
Temperatura de reprodução	15	ND
Cálcio (mg/L)	3	ND
Oxigénio (25-30 °C) (mg/L)	1-3	ND

ND: Não determinado.

*psu – unidade prática de salinidade, adimensional, correspondente à razão entre a condutividade de uma amostra de água do mar e uma solução padrão de KCl (32,4 g de sal dissolvido num kg de solução, a 15°C) e 35 psu equivale a 35 g de sal por litro de solução.

2.2. A amêijoia asiática enquanto espécie invasora

- Distribuição

A *C. Fluminea* é nativa do sudeste e oriente da Ásia (China, Coreia e Ussuri, sudeste da Rússia), esta espécie foi levada para a América do Norte por emigrantes asiáticos, que a usavam como recurso alimentar, ou mesmo trazida pelos cascos dos barcos, onde se enredavam em macrófitas ou algas, sendo considerada uma peste em expansão. A amêijoia asiática também se foi distribuindo pelo mundo graças a canais de água, aves marinhas e peixes. E atravessando naturalmente o Oceano Atlântico chegou a Portugal, à bacia do Tejo, o que criou uma porta de entrada para a sua expansão na Europa. Em Portugal a sua distribuição seguiu-se para o rio Douro e Minho, mas há registos, ao longo do tempo, do seu alastramento no território português (Figura 5). Está presente em todas as regiões hidrográficas, excetuando nos rios Cávado, Ave e Leça (Rosa, *et al.*, 2011 e Mackie & Claudi, 2010).

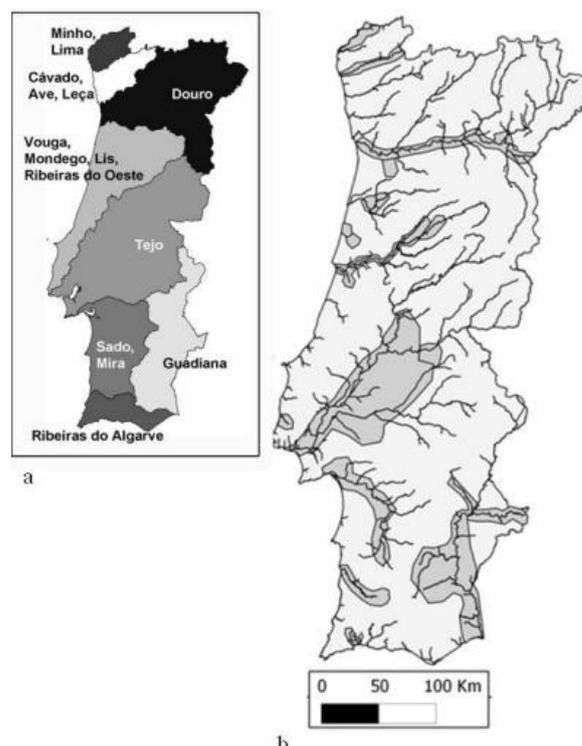


Figura 5 - Mapa de Portugal da distribuição da *Corbicula fluminea*. a. Regiões hidrográficas. b. Distribuição atual da espécie. (adaptado de (Rosa I. C., Costa, Gonçalves, & Pereira, 2011)).

- Mecanismos de dispersão

As espécies adultas e as larvas pedívelígeras e juvenis têm capacidade de dispersão devido ao seu pequeno tamanho e massa, o que permite que permaneçam suspensas por longas distâncias em águas pouco turbulentas, embora não tenham capacidade de nadar ativamente. As juvenis podem ser transportadas por correntes, ou linha de arrasto, o que facilita a sua dispersão. Para uma melhoria na colonização e dispersão são usados cursos de água, com controlo de navegação, onde são aumentadas as velocidades de fluxo e turbulência. Esta espécie pode sofrer de transferência naturalmente, com as correntes de água, por auxílio de animais aquáticos, como aves, ou mesmo por ação humana (Mackie & Claudi, 2010).

A *C. Fluminea* está sujeita ao fenómeno de mortalidade em massa, por vezes devido ao aumento da taxa metabólica, derivado da restrição de alimentação por longos períodos de tempo (que pode acontecer no Verão, com a diminuição de caudais), e progressão natural das invasões biológicas, entre a introdução da espécie num novo habitat e o estabelecimento total, a população invasora passa por uma fase de adaptação, fase de latência, o que a faz permanecer em zonas restritas e com baixa densidade populacional (Rosa, *et al.*, 2011 e Minchin, 2014).

Para minimizar a dispersão são aplicadas medidas, ecologicamente viáveis: prevenção, legislação e monitorização. Mas, se a dispersão for detetada tarde demais tem que se realizar um controlo mais rigoroso (Rosa, *et al.*, 2011).

- Principais impactos

A amêijoia asiática, como já referido, pode ser encontrada num qualquer curso de água, e pode prejudicá-lo, devido à elevada densidade populacional e crescimento rápido.

A nível industrial, são numerosos os impactos gerados pelas conchas da amêijoia asiática, estas podem entupir tubos, permutadores de calor das centrais termoelétricas, ou fontes de água, reduzindo o caudal de irrigação; dificultam o normal funcionamento de indústrias dependentes de água, principalmente a que provem de locais onde se encontram estes bivalves; aumentam a corrosão nas estruturas metálicas; destroem ou danificam equipamentos; e colocam em causa os sistemas de proteção contra incêndios, proporcionando-lhes falhas. Assim, as principais indústrias afetadas são estações de tratamento de água (ETA's), cimenteiras, indústria da pasta e papel, centrais termo e hidroelétricas e sistemas de irrigação mecânicas (Lucy, *et al.*, 2012; Gabriel, *et al.*, 2013 e Rosa, *et al.*, 2011).

Nos Estados Unidos o maior impacto económico está relacionado com o *macrofouling* nos combustíveis fósseis e nas centrais termoelétricas nucleares, incluindo reatores nucleares, que têm que ser forçados a parar temporariamente para que se possa remover a amêijoa dos sistemas de refrigeração. Na Irlanda, o maior dano económico incide nas operações das centrais termoelétricas ou mesmo na indústria da cerveja (importante para a economia irlandesa), devido à captação de água provir de lagos ou mesmo de fontes de água (Lucy, *et al.*, 2012).

Quanto a impactos ecológicos, a amêijoa asiática consegue filtrar elevados volumes de água e de nutrientes, competindo, pelo alimento, com outras espécies com capacidade de filtração. Este molusco consegue transportar material removido da coluna de água para os organismos do substrato, proporcionando uma ligação direta entre o plâncton e os bentos (organismos que vivem no substrato) (Lucy, *et al.*, 2012; Rosa, *et al.*, 2011 e Sampaio & Rodil, 2014).

Com a invasão por *C. Fluminea*, começa a haver circulação de elevadas quantidades de *seston* (partículas, orgânicas ou não, que se encontram dispersas na coluna de água, sendo alimento para alguns organismos e impossibilitando a difusão de luz na água) o que induz alterações no ecossistema, reduzindo a sua qualidade biológica global. Esta espécie é um dos vetores de parasitas e outros agentes patogénicos, altera a concentração de matéria orgânica armazenada nos sedimentos, alterando o ciclo de nutrientes. Quando existe mortalidade em massa, começa uma produção abundante de amónia e redução de oxigénio, existente no meio, o que provoca a morte de bivalves nativos. Foi estudado que as atividades de filtração desta espécie conduzem a maior transparência da água, menor concentração de *seston*, CBO (carência bioquímica de oxigénio) e densidade de fitoplâncton, afetando os sedimentos, enterrando nutrientes, com elevada teor de azoto. Através de biodeposição e com o pé são capazes de consumir 50 mg/individuo/dia de matéria orgânica sedimentada. Como a água fica mais transparente começa a haver uma maior porção de macrófitas, que começa a cobrir o substrato e a afetar negativamente a densidade total de bivalves (Lucy, *et al.*, 2012; Rosa, *et al.*, 2011; Bullard & Hershey, 2013; Minchin, 2014 e Sampaio & Rodil, 2014).

2.3. O aproveitamento da amêijoa asiática como eixo na gestão da peste

A gestão de espécies invasoras tem-se tornado num ponto crucial, visto que estas têm contribuído em grandes impactos ecológicos, industriais e económicos.

A prevenção e mitigação surgem como tratamento à preservação e recuperação dos ecossistemas invadidos, e dividem-se em quatro eixos de gestão fundamentais (Figura 6): prevenção das introduções de espécies invasoras; detecção precoce das espécies invasoras nos novos ecossistemas; erradicação dessas espécies; e controlo, quando a erradicação é inviável ou impossível (Gabriel, *et al.*, 2014).

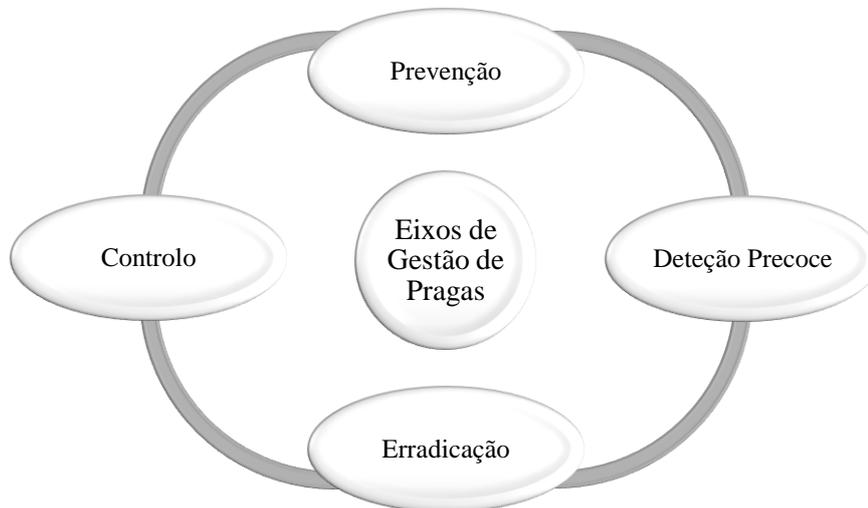


Figura 6. - Eixos de gestão de pragas

PREVENÇÃO

A prevenção é necessária, pois há maior dificuldade de erradicação a partir do momento em que a espécie se torna invasora, e têm que se minimizar impactos (a longo prazo) que apresentam custos elevados. É a estratégia de gestão com relação custo-benefício mais favorável e impossibilita futuras invasões. Consiste na interseção de espécies exóticas, tratamento dos materiais que poderão estar contaminados e proibição de transporte de determinadas mercadorias de acordo com a legislação nacional e internacional. Deve apostar-se, como ponto de partida, na identificação de vetores de introdução e dispersão, bem como na monitorização e controlo destas vias (Gabriel, *et al.*, 2014 e Wittenberg & Cock, 2001).

DETEÇÃO PRECOCE

Para erradicar uma espécie têm-se muito pouco tempo, a partir do momento em que a espécie invasora chega a determinado local. Esse tempo depende da interação da espécie com o ecossistema, da forma de introdução e da dispersão da espécie por ação humana. Depois desse período a espécie estabelece-se e dispersa-se, o que apenas possibilita a sua restrição num local específico ou com densidades populacionais relativamente baixas. Assim, a detecção precoce é fundamental. Existem, na detecção precoce, três tipos de monitorização, a geral, em locais específicos e de espécies específicas. Este procedimento só é eficiente se os intervenientes acederem ao habitat da espécie em causa e distinguirem as espécies exóticas

das nativas pertencentes ao mesmo *taxon* ou ao mesmo grupo funcional, visto que podem ser morfológicamente semelhantes. Assim, há necessidade de criar programas de monitorização cuidadosamente, com métodos específicos, adequados a cada situação. O valor deste eixo de gestão de pestes depende da capacidade e empenho das entidades competentes na resposta rápida à deteção (Gabriel, *et al.*, 2014 e Wittenberg & Cock, 2001).

ERRADICAÇÃO

A erradicação das populações é a forma mais eficiente de prevenção de danos ecológicos e económicos causados por espécies invasoras já instaladas. Tendo em consideração que o crescimento das populações varia com o tempo, e, em condições favoráveis, é exponencial, é mais eficiente eliminar populações quando estão em densidades populacionais baixas, do que após o seu crescimento significativo. Esta estratégia usa métodos de mitigação de forma integrada, de acordo com a espécie a erradicar e o ecossistema em causa (Gabriel, *et al.*, 2014 e Wittenberg & Cock, 2001).

Este eixo de gestão apresenta custos elevados, uma vez que tem em conta a erradicação em si e os fundos de monitorização do sistema intervencionados a curto e longo prazo necessários (Gabriel, *et al.*, 2014).

CONTROLO

Esta estratégia de gestão de pestes só é usado quando a prevenção e a deteção precoce falharam e a erradicação se torna inviável. Só é possível aplicar medidas de gestão para diminuir a densidade de população, a área de distribuição e impactos negativos que as pestes causem. Após a aplicação de medidas de confinamento de espécie num dado local ou a uma determinada densidade populacional, verifica-se uma regressão da infestação. Mas, se a aplicação das medidas acabar, o nível de infestação volta a aumentar (Gabriel, *et al.*, 2014).

O plano de controlo deve perdurar, para que o nível de impactos, área de distribuição e densidade populacional, se mantenham com valores aceitáveis, do ponto de vista económico e ecológico (Gabriel, *et al.*, 2014).

Quanto a custos, aplicar processos de controlo consegue ser mais barato a curto prazo, quando comparado, com a erradicação, mas a longo prazo fica mais caro, pois requer a aplicação constante de medidas corretivas. A decisão de se seguir para o controlo passa pela impossibilidade de recorrer a métodos preventivos ou de erradicação, de não ter fundos disponíveis para acarretar os custos destes processos, ou mesmo se se prejudicarem organismos não-alvo (Gabriel, *et al.*, 2014 e Wittenberg & Cock, 2001).

Para controlar os bivalves invasores já existem várias opções, onde a escolha da metodologia tem em conta a relação custo-eficiência mais favorável. Para proceder à aplicação de qualquer estratégia de controlo deve realizar-se uma pré-avaliação dos impactos negativos causados e estudar pormenorizadamente a dinâmica da população que está a afetar o equipamento em questão (Gabriel, *et al.*, 2013).

As metodologias para controlo de bivalves invasores estão divididas em medidas reativas e proactivas. O uso das medidas reativas acontece quando ainda se consegue tolerar o *biofouling*, sem comprometer a eficácia e segurança dos sistemas ou processos afetados. Com o objetivo de impedir que os bivalves adultos se estabeleçam, estas medidas podem ser químicas, com dosagens periódicas de químicos ou então apenas no final da época de reprodução, ou não químicas, com choques térmicos, ou mesmo dessecação, e são usadas quando se encontra uma infestação pela primeira vez. Com os métodos proactivos, geralmente químicos (com dosagem de químicos contínua, semi-contínua ou de forma intermitente), previne-se a acumulação de bivalves num dado local. Estes procedimentos são os mais indicados para atuar sobre as primeiras fases de vida de uma espécie invasora (Gabriel, *et al.*, 2013).

2.3.1. Utilização de bivalves “filtrantes” para bioremediação do meio hídrico

Ao longo dos tempos, foram realizados ao longo dos tempos estudos com bivalves, onde estes poderiam ser aproveitados como tratamento ou mesmo monitorização de meios hídricos.

Como é de conhecimento geral, existem variados produtos químicos que poluem o meio ambiente, nesses produtos estão incluídos os metais pesados e os compostos orgânicos recalcitrantes, que provêm da indústria, da agricultura e de aplicações domésticas. Estes poluentes constituem um risco para o ser humano e mesmo para os animais, visto que podem ser absorvidos por ingestão, respiração, ou simplesmente por absorção cutânea. Existe também poluição sob forma de libertação de agentes patogénicos para o ambiente, provenientes do esgoto, que podem causar riscos na saúde e levar à eutrofização, devido às elevadas cargas de nutrientes para os ecossistemas marinhos. Assim, como forma de biomonitorização da poluição marinha usam-se bivalves, uma vez que apresentam elevada capacidade de filtração de grandes volumes de água e de bioacumulação. Com todos os pontos a favor, no que diz respeito a “limpeza” da água, a implantação de bivalves torna-se importante, no ponto de vista de bioremediação. Esta implantação tem que ser controlada,

tendo em conta os impactos negativos associados ao ecossistema recetor. Os bivalves têm elevado potencial na remoção de metais pesados e organopoluentes presentes no meio marinho circundante, levando a uma melhoria na qualidade da água (Gifford, Dunstan, O'Connor, Roberts, & Toia, 2004).

Os metais pesados (Hg, Cr, Pb, Cd, Cu, Zn, Ni, etc.) constituem uma preocupação ambiental nos meios aquáticos, pois podem prejudicar toxicologicamente os organismos vivos em toda a cadeia alimentar. Desta forma a monitorização e prevenção da poluição provocada por estes elementos torna-se relevante. Devido à consistência entre o organismo selecionado e o correspondente habitat, a biomonitorização pode oferecer diretamente dados sobre os efeitos potenciais e toxicidades integradas de poluentes. Os organismos que vivem no sistema aquático podem servir como bioindicadores para este tipo de estudo, sendo que os preferidos são o mexilhão e outros bivalves, devidos aos seus atributos, como a sua distribuição geográfica, tolerância a alterações ambientais, entre outros fatores. Os moluscos bivalves apresentam outro fator importante, pois têm elevada capacidade de filtração e acumulação nomeadamente de metais pesados que podem provocar efeitos nocivos nestes indivíduos. Os programas de monitorização já estudados foram baseados no conceito de “organismo de sentinela”, de onde se conseguem detetar tendências de concentrações de vários contaminantes marinhos. Após a exposição destes indivíduos a metais pesados, há elevada acumulação e podem ocorrer alterações enzimáticas, como a fosfatase alcalina. Foram realizadas comparações, onde a metamorfose das larvas se apresentava mais sensível, em relação aos adultos, no que toca a monitorizar a toxicidade dos poluentes, o que pode ser usado para avaliação de riscos da poluição ambiental. A interação entre os diferentes poluentes e os bivalves e seus hábitos alimentares e de filtração, pode afetar as capacidades de indicar a poluição aquática (Zhou, *et al.*, 2008).

Em particular, a amêijoa asiática tem vindo a ser usada como biomonitor para investigações acerca dos microminerais. Com o aumento da urbanização, as correntes dos ribeiros são prejudicadas, pelo aumento das concentrações de metais, metalóides e dos microminerais, provenientes de estações de tratamento de água residuais, águas pluviais e atividades industriais. Neste estudo foram avaliadas fontes pontuais de poluição de bacias urbanas, como esgotos, estações de tratamento de águas residuais, centrais elétricas alimentadas a carvão e outras atividades industriais, e não pontuais, como escoamento agrícola, lixiviados de fossa séptica e deposição atmosférica. Como as amêijoas apresentam boas capacidades de acumulação, estas foram expostas a várias fontes de poluição, e foram realizadas medições de microminerais presentes nos tecidos moles, após a sua exposição. Por

exemplo, os moluscos de bacias hidrográficas analisados, apresentavam elevadas concentrações de mercúrio. Em locais onde se efetua a descarga das centrais elétricas as concentrações mais elevadas identificadas eram de arsénio e selénio e perto de urbanizações as concentrações de cádmio eram as mais significativas (Peltier, *et al.*, 2008). A gestão e tratamento de resíduos industriais nocivos estão em grande foco. O tipo de resíduo tratado no estudo desenvolvido por Rosa *et al.*, 2014, provinha da drenagem ácida de minas contendo um elevado teor em metais. Foi então testada a amêijoia asiática, que, como já referido, é um bivalve invasor com elevadas capacidades de filtração e acumulação e tem sido usado como organismo de sentinela, para bioremediar estes efluentes. Verificou-se uma remoção significativa dos metais presentes no efluente (que foi diluído em 4 e 10% antes de o expor aos bivalves), bem como diminuição da toxicidade ambiental.

Um outro tipo de molusco, a amêijoia negra (*Chione fluctifraga*) pode ser usada para bioremediar descargas de efluentes de aquacultura de camarão. Este tipo de efluentes tem uma elevada quantidade de sólidos suspensos totais e orgânicos que causam instabilidade ecológica no ambiente que os acolhe. Por exemplo, o mexilhão verde (*Perna viridis*), remove efetivamente o excesso de partículas e melhora a qualidade da água. As condições suportadas pela amêijoia negra, como elevada concentração de matéria orgânica na coluna de água, salinidade e temperatura, são também características do efluente em questão, pelo que se torna um ambiente com qualidade para a vivência destes bivalves. A *Chione fluctifraga* contribui para a “saúde” dos ecossistemas, agindo como bioremediador, conseguindo ainda diminuir a quantidade de sólidos suspensos (Martínez-Córdova, *et al.*, 2011).

Riley (2008) analisou correntes de águas residuais vindas da agricultura, contendo fósforo, que limita o crescimento de algas e outras plantas nos sistemas aquáticos, e não pode ser removido por volatilização, como outros nutrientes (por exemplo, azoto e carbono). O uso da *C. fluminea* teve como objetivos a captura, sequestro e retenção de diferentes quantidades de fósforo, por biofiltração. O fósforo dissolvido no efluente é convertido em partículas através do fitoplâncton e é acoplado a outras partículas, tornando-se alimento para populações de bivalves. O fósforo sequestrado na biomassa das amêijoas e os sedimentos depositados podem ser periodicamente removidos, até retirar permanentemente o fósforo do sistema de tratamento.

Uma das fontes de dispersão indesejável, tanto a nível ecológico como económico, é a remoção de moluscos a partir de sistemas de água ou simplesmente colocados em aterros. No entanto, McLaughlan, *et al.* (2014) investigaram a possibilidade de inserir o mexilhão zebra (*Dreissena Polymorpha*) na alimentação de frangos, como suplemento, proporcionando assim

um final mais atraente económica e ecologicamente deste bivalve. As galinhas requerem constantemente proteínas de elevada qualidade para o seu crescimento e produtividade, e as poedeiras necessitam de uma alimentação rica em cálcio para a produção da casca do ovo. Concluiu-se com este estudo que, o mexilhão zebra inteiro fornece elevados níveis de cálcio, não é prejudicial na produção de ovos e é aceitável ao paladar das galinhas. Este bivalve inteiro tem baixo teor de proteínas, o que leva à separação da concha da carne, ou à adição de um suplemento de cálcio, caso seja para alimentação de galinhas. Os estudos mostram um elevado interesse no desenvolvimento de estratégias de aproveitamento de espécies invasoras. Devido ao seu potencial de biofiltração e bioacumulação, os bivalves (como a *C. fluminea*) apresentam grandes potencialidades de utilização em sistemas de tratamento de efluentes, sem custos acrescidos. Torna-se então um desafio científico avaliar e otimizar esta possibilidade que integra duas vertentes ambientalmente interessantes como seja a remediação das águas e o aproveitamento de uma espécie invasora.

III. Procedimentos Experimentais

Este capítulo aborda os procedimentos experimentais utilizados na persecução deste trabalho, nomeadamente para a otimização da reação de Fenton, testes de mortalidade e biofiltração com a amêijoia asiática. Descrevem-se ainda as técnicas analíticas utilizadas para a caracterização do efluente vinícola.

1. Tratamento pelo Processo de Fenton

A reação de Fenton foi levada a cabo em reatores descontínuos de vidro (Figura 7). Nestes, foram introduzidos 300 mL de efluente vinícola filtrado (a pH 3, corrigido com ácido sulfúrico). De seguida, sob agitação a 200 rpm, foram introduzidas as quantidades de Ferro (sob a forma de Sulfato de Ferro) e de Peróxido de Hidrogénio requeridas. Assim que se adiciona o peróxido de hidrogénio a reação



Figura 7 - Sistema reacional para a reação de Fenton.

inicia-se, tendo esta decorrido durante 1h. Ao longo do tempo reacional foram retiradas amostras, cujo pH é imediatamente elevado para 7, e adicionadas algumas gotas de catalase por forma a eliminar o peróxido de hidrogénio remanescente que interfere com as técnicas analíticas utilizadas para caracterizar o efluente.

2. Avaliação do potencial da amêijoia asiática enquanto biofiltro

2.1. Organismos de teste

Os organismos de teste (ameijoia asiática) foram recolhidos no Casal de São Tomé, concelho de Mira, num canal que desagua na Ria de Aveiro, onde a população invasora se encontra bem estabelecida. A recolha dos bivalves foi realizada, com tamanhos entre 16 e 27 mm, por peneiração dos sedimentos, colocados num saco de malha de 1 mm com auxílio de

uma pá, e transportados para o laboratório com água do canal. As amêijoas foram mantidas, pelo menos, uma semana sob arejamento contínuo, a uma temperatura constante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) e fotoperíodo (16h de luz e 8 horas de escuro), antes de se utilizarem para testes.

2.2. Testes de Mortalidade

Os ensaios com a amêijoas asiáticas foram conduzidos em condições estáticas, como mostra a Figura 8. Para este teste são necessários vários recipientes, com um controle (água sem cloro que é obtida através do arejamento de água municipalizada, durante pelo menos 48 horas), juntamente com uma série de diluições de efluente (20%, 40%, 60%, 80% e 100%), não tratado e tratados por Fenton. A exposição de todos os efluentes teve uma duração de 96h.



Figura 8 - Teste de mortalidade com a *Corbicula fluminea*.

A cada um dos recipientes são adicionadas 10 amêijoas asiáticas e 500 mL de água. Antes da dosagem, durante a noite, os moluscos são mantidos nos recipientes de ensaio com água municipal sem cloro e sob arejamento contínuo com pedras difusoras, para fins de aclimação. Após esse período, procede-se à dosagem, com remoção do volume de água do meio igual ao volume que será inserido de efluente. A taxa de mortalidade é acompanhada de 24 em 24 horas. Todos os vasos ficam sob arejamento contínuo durante todo o período de exposição.

A mortalidade foi avaliada diariamente, com base na atividade e resistência à abertura das válvulas, os bivalves mortos foram descartados a cada avaliação de mortalidade.

2.3. Testes de Biofiltração

Nos testes de biofiltração, que duram 10 dias (o mesmo tempo que é usado no tratamento por lamas ativadas, que é tradicionalmente utilizado para estes efluentes, após processamento via Fenton), são usadas três réplicas, cada uma com 2 L de efluente sob constante arejamento, e 20 amêijoas, previamente aclimatadas aos recipientes de teste. Neste estudo foram usadas amostras com 100 % de efluente, 50 % de efluente e 50 % de água sem

cloro e apenas água sem cloro (controlo). Estes testes cingiram-se ao efluente não tratado e ao efluente tratado nas duas condições estudadas.

Ao longo destas experiências, contabilizou-se a mortalidade e acompanhou-se diariamente o CQO, oxigénio dissolvido e pH do efluente.

3. Caracterização do Efluente

Nesta secção descrevem-se as técnicas analíticas que foram utilizadas para caracterizar as amostras de efluente, ao longo do trabalho.

3.1. Determinação da Carência Química de Oxigénio (CQO)

Para a determinação de CQO, isto é, medição da quantidade de oxigénio que é necessária para a degradação química de toda a matéria orgânica nas amostras, usam-se *vials* onde se insere 1,2 mL de solução de digestão (Dicromato de Potássio - $K_2Cr_2O_7$), 2,8 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) e 1 mL de amostra. Esta mistura é introduzida num termoreator (*ECO 25*) (Figura 10), a $150^\circ C$, durante 2 horas, seguido de 1 hora no escuro para arrefecimento. O valor da CQO é medido diretamente no fotómetro (*Photolab S6 WTW*), numa gama de 500-10000 mg de O_2/L ou através da leitura de absorvância, com comprimento de onda a 605 nm (onde o valor da CQO se obtém através de uma curva de calibração, obtida com soluções padrão de KHP) (Figura 11).



Figura 9 – Termoreator.

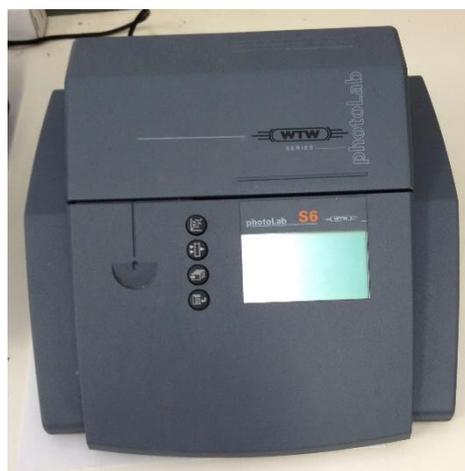


Figura 10 - Fotómetro.

3.2. Determinação da Carência Bioquímica de Oxigênio (CBO₅)

O CBO funciona como indicador do grau de poluição orgânica biodegradável de qualquer efluente. Quantifica-se através da quantidade de oxigênio que os microrganismos aeróbios consomem, em mg O₂/L, quando se dá a degradação da matéria orgânica. Normalmente, a Carência Bioquímica de Oxigênio é medida após 5 dias de teste, daí ser comumente chamada de CBO₅.

Para utilização desta técnica há necessidade de preparar soluções:

- Solução de cloreto de cálcio anidro (CaCl₂) – 13,75 g de cloreto de cálcio em 500 mL de água destilada.
- Solução de cloreto férrico hexahidratado (FeCl₃.6H₂O) – 0,125 g de cloreto férrico hexahidratado em 500 mL de água destilada.
- Solução tampão – dissolver em água destilada, num balão de 1L: 8,5 g de dihidrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄), 21,75 g de hidrogenofosfato de dipotássio (K₂HPO₄), 1,7 g de cloreto de amônia (NH₄Cl) e 33,4 g de hidrogenofosfato dissódio heptahidratado (Na₂HPO₄.7H₂O).
- Água de diluição – por cada litro de água destilada adicionar 1 mL da solução de cloreto férrico hexahidratado, 1 mL da solução de sulfato de magnésio e 1 mL da solução de cloreto de cálcio anidro. Agita-se bem e deixa-se em repouso durante uma hora, para que seja adicionado, de seguida, 1 mL de solução tampão. Para realização deste teste, a água de diluição tem que ser preparada no dia anterior ao início do teste.
- Solução padrão de glucose e ácido glutâmico – seca-se, numa estufa a 103°C durante uma hora, glucose e ácido glutâmico. Dissolve-se num balão de 50 mL, com água destilada, 150 mg de glucose e 150 mg de ácido glutâmico.

Nos frascos de reação (Erlenmeyer de 300 mL de boca esmerilada) coloca-se o volume de amostra, tendo em conta a gama de CQO que essa amostra tem (Tabela 7), 300 µL de inóculo (microrganismos provenientes de lamas ativadas) e água de diluição até encher. A água de diluição é preparada colocando 1 mL de cada uma das quatro primeiras soluções referidas acima. Estas servem para garantir os minerais necessários para uma correta atividade microbiana. Esta água é arejada de forma a que esteja saturada em oxigênio. Juntamente com as amostras, é necessário fazer um Branco, que apenas tem água de diluição e inóculo, por forma a medir o consumo de oxigênio por via endógena. Por outro lado, para verificar se o

teste foi efetuado corretamente, mede-se, em simultâneo o CBO₅ de uma solução padrão de glucose e ácido glutâmico.

Tabela 5 - Volume de amostra por gama de CQO.

Volume de amostra (mL)	Gama de CQO (mg O ₂ /L)
0.02	30 000 – 105 000
0.05	12 000 – 42 000
0.10	6 000 – 21 000
0.20	3 000 – 10 500
0.50	1 200 – 4 200
1.0	600 – 2 100
2.0	300 – 1 050
5.0	120 – 420
10.0	60 – 210
20.0	30 – 105
50.0	12 – 42
100.0	6 – 21
300.0	0 - 7

Após a preparação de todos os frascos de reação, mede-se o oxigénio dissolvido das amostras ([O₂]_i), do branco ([O₂]_{bi}) e da solução padrão (sabendo-se que com 20 mL da solução padrão em 300 mL de água de diluição com inóculo, o CBO deve-se encontrar no intervalo de 198 ± 30,5 mg/L).

Esta medição é feita com o auxílio de um medidor automático de oxigénio dissolvido (WTW Series inoLab Terminal 740)



Figura 11 - Equipamento de medição de Oxigénio Dissolvido (WTW Series inoLab Terminal 740).

(Figura 12). Colocam-se os frascos durante 5 dias a 20 °C, no escuro, e passado esse tempo, faz-se nova leitura de oxigénio dissolvido, [O₂]_f (amostras) e [O₂]_{bf} (branco). Determinando-se através da equação seguinte o CBO₅.

$$CBO_5(mg O_2/L) = \frac{([O_2]_i - [O_2]_f) - ([O_2]_{bi} - [O_2]_{bf})}{\frac{V_{amostra}}{V_{total}}} \quad [5]$$

Em que V_{amostra} é o volume de amostra que se coloca consoante a gama de CQO, e o V_{total} o volume total do frasco de reação.

3.3. Determinação do Azoto *Kjedhal*

Para determinação de azoto orgânico e amoniacal (vulgarmente chamado *Kjedhal*) nas amostras de efluente, são usadas uma unidade de digestão (*VELP Scientifica – DKL Heating Digester* - Figura 13) e uma unidade de destilação (*VELP Scientifica - UDK 129 Distillation Unit* – Figura 14), através do método *Kjedahl*.



Figura 12 - Unidade de destilação (VELP Scientifica - UDK 129 Distillation Unit).

Nos tubos de digestão inserem-se 50 mL de amostra, reagentes para a digestão: 7 g de Sulfato de Potássio Anidro (K_2SO_4), 350 mg de Óxido de Mercúrio (HgO vermelho), 25 mL de Ácido Bórico, H_3BO_3 (4g/L) e 10 mL de Ácido

Sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Após a inserção de todos os reagentes necessários, os tubos são colocados na unidade de digestão, onde aquecem 60 minutos a $200^\circ C$, para evaporar a água, seguidos de 120 minutos a $370^\circ C$. De seguida deixam-se arrefecer os tubos até $50-60^\circ C$, para que se consiga proceder à destilação.

Para a destilação, que dura 3 minutos, colocam-se os tubos de digestão na posição de destilação, adicionando-lhe 25 mL de Ácido Bórico, obtendo-se o destilado num Erlenmeyer. Para este procedimento são necessários 50 mL de Hidróxido de Sódio (NaOH, entre 25-35% w/w) e vapor de água Mili-Q a 100%.



Figura 13- Unidade de Digestão (VELP Scientifica - DKL Heating Digester).

Por último determina-se a quantidade de nitrogénio existente no destilado, através de uma titulação, com 3 gotas de indicador (indicador de Tashiro) e Ácido Sulfúrico (0,01 M), em que 1 mL de ácido correspondem a 0,028 mg de $N-NH_4$.

Para obter o indicador de Tashiro são necessárias duas soluções conjugadas, a primeira com 0,6 g de vermelho de metilo dissolvidas em 50 mL de álcool etílico, a 95%, e a segunda com 0,1g de solução azul metileno dissolvida em água destilada.

Durante a titulação adicionam-se 3 gotas de indicador ao destilado, ficando verde, que indica que está na gama básica, e conforme se adiciona o Ácido Sulfúrico, a solução passa de cinzento a rosa.

Há sempre necessidade de preparar num tubo de digestão um Branco, em que a amostra é água destilada (sem azoto), e outro que contém uma solução padrão.

Para a solução padrão de azoto (1 L), é necessário 25 mL de uma solução de cloreto de amónia (153 mg por 100 mL de água), 10 mL de H₂SO₄, a 1 M, e água destilada. Esta solução contém 0,01 mg/mL de N-NH₄.

3.4. Medição de pH

O pH mediu-se utilizando um medidor automático (*Crison micropH 2002*) (Figura 14).

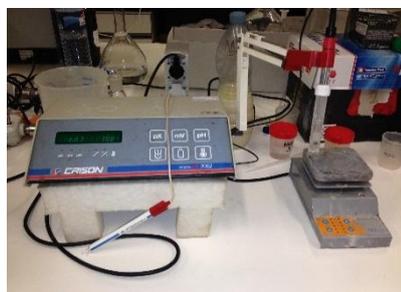


Figura 14 - Medidor de pH.

3.5. Determinação de fitotoxicidade

O nível de toxicidade da água residual teve por base o método de germinação descrito por Trautmann & Krasny (1997). Foram adicionadas as amostras líquidas de efluente (5mL), a três réplicas, para humedecer o papel de filtro presente numa caixa de *petri*. O branco foi determinado da mesma maneira, mas o efluente é substituído por água destilada. Antes de se proceder ao fecho das caixas, colocaram-se 10 sementes de *Lepidium satium*, bem distribuídas, em cada uma. De seguida, as caixas foram colocadas numa estufa a 27°C, onde permaneceram durante 48h. Após esse tempo registou-se o número de sementes germinadas (N_{SG}) em cada caixa, e o comprimento das suas raízes (L_R).

Para determinar o índice de germinação (equação 6) usam-se os parâmetros RSG (percentagem relativa de germinação de sementes) (equação 7) e RRG (percentagem relativa do comprimento das raízes) (equação 8).

$$GI(\%) = \frac{RSG(\%)*RRG(\%)}{100} \quad [6]$$

$$RSG(\%) = \frac{N_{SG,T}}{N_{SG,B}} * 100 \quad [7]$$

$$RRG(\%) = \frac{L_{R,T}}{L_{R,B}} * 100 \quad [8]$$

Onde N_{SG,T} é a média aritmética do número de sementes germinadas em cada caixa com amostra, N_{SG,B} a média aritmética do número de sementes germinadas no branco; L_{R,T} é o comprimento médio das raízes nas amostras e L_{R,B} é comprimento médio das raízes no branco.

Os índices de germinação são classificados em termos de toxicidade:

- >100% - A amostra potencia a germinação e o crescimento da raiz das plantas;
- 80-100% - Não fitotóxico;
- 60-80% - Moderadamente fitotóxico;
- 60-40% - Fitotóxico;
- <40% - Muito fitotóxico.

IV. Resultados e Discussão

Neste capítulo apresentam-se e discutem-se os resultados obtidos no decorrer da investigação levada a cabo.

1. Tratamento Pelo Processo De Fenton

Na realização deste trabalho laboratorial foram analisados vários efluentes vinícolas vindos de diferentes adegas e em diferentes meses de processamento do efluente, e como já referido no capítulo II, estes apresentam variações importantes na sua composição. Este facto pode ser comprovado pelos dados coligidos na Tabela 8 onde estão apresentados, para os parâmetros analisados, os respetivos, valores máximos e mínimos.

Tabela 6 - Parâmetros medidos nos efluentes vinícolas analisados.

Parâmetros	Unidades	Máximo	Mínimo
CQO	mg O ₂ /L	2280	1705
CBO ₅	mg O ₂ /L	1092	597
pH		4,5	5,2
Fitotoxicidade (GI)	%	95	74

O tratamento do efluente vinícola torna-se crucial, e a opção pela melhor técnica de tratamento encontra-se ainda em estudo. No entanto, é provável que a melhor opção em termos eficiência/custo passe pela integração de sistemas de depuração. De facto, os processos avançados de oxidação podem ser utilizados por forma minimizar a toxicidade das águas residuais permitindo a aplicação de um sistema biológico posterior (com custos operatórios mais baixos). Com base nesta filosofia, nesta investigação foi avaliada a potencialidade da integração do Processo de Fenton, seguido de biofiltração com *C. fluminea*. Esta metodologia permite, além do tratamento dos efluentes, estabelecer uma aplicação para a amêijoia asiática que permita o seu controlo.

1.1. Análise do impacto das variáveis operacionais do processo de Fenton

As variáveis operacionais chave que controlam a eficiência do processo de Fenton são o pH e a concentração de peróxido de hidrogénio e de ião ferroso. No entanto, diversos estudos (como presente no capítulo II) indicam que este sistema de tratamento opera de forma ótima a pH 3. Neste sentido, optou-se por fixar este parâmetro neste valor no decorrer das experiências.

Por forma a avaliar o impacto das concentrações de ferro e de peróxido de hidrogénio realizaram-se seis experiências. Nas primeiras três analisou-se o efeito da concentração de ferro, mantendo a carga de H_2O_2 e nas restantes estudou-se o efeito da concentração de peróxido de hidrogénio mantendo a carga de ferro.

Para estabelecer a gama de valores de concentração de reagentes a testar, teve-se em conta os vários trabalhos já publicados na literatura envolvendo o processo de Fenton para o tratamento de efluentes vinícolas (Mosteo, *et al.*, 2006; Lucas, *et al.*, 2009; Ornad, *et al.*, 2006 e Ioannou, *et al.*, 2013) e já referidos no estado da arte (Capítulo II.). De notar que estas publicações tratam de foto-Fenton, ou seja, além do reagente de Fenton (peróxido de hidrogénio e ferro) utilizou-se luz para promover a oxidação. Neste caso, apesar de não se ter aplicado radiação, os resultados irão permitir verificar se, sem a presença de luz, será viável usar estas concentrações de reagentes. De facto, tipicamente, a aplicação de radiação permite reduzir a carga de reagentes a utilizar.

Todas as reações ocorreram durante 60 minutos, com uma amostra de efluente vinícola real de 300 mL.

i. Efeito da concentração de Ferro II

Numa primeira fase, procedeu-se à análise da variação do Ferro mantendo-se a concentração de peróxido de hidrogénio. O valor escolhido, com base nos artigos revistos, para o peróxido de hidrogénio é de 0,05 M, e a carga de ferro encontra-se entre 0,133 - 12,298 mM.

Através da Tabela 9 observam-se os resultados de remoção de CQO ao fim de 1 h de reação para as diferentes condições testadas.

Tabela 7 - Remoção de CQO para diferentes concentrações de Ferro II.

Nº da Reação	[H₂O₂] (M)	[Fe²⁺] (mM)	Remoção de CQO (%) *± SD
1.1		0,133	19,2 ± 0,01
1.2	0,05	1,353	16,8 ± 0,31
1.3		13,30	19,4 ± 0,30

*Remoção de CQO (%) = ((Valor Inicial CQO – Valor Final CQO) / Valor Inicial CQO)*100

De um modo geral, pode afirmar-se que a carga de ferro (dentro da gama testada) não afeta significativamente a eficiência do processo tendo-se atingido uma remoção de CQO entre 16.8 – 19.4 %.

ii. Efeito da concentração de Peróxido de Hidrogénio

De seguida analisou-se o efeito da variação de peróxido de hidrogénio, mantendo a concentração de ferro constante. Nesta análise aplicou-se a carga de ferro mais elevada (13.30 mM) tendo em conta que foi nestas condições que se obteve uma remoção de CQO mais elevada. A Tabela 10 mostra os valores de remoção de CQO para as diferentes condições aplicadas.

Tabela 8 - Remoção de CQO usando diversas concentrações de Peróxido de Hidrogénio.

Nº da Reação	[H₂O₂] (M)	[Fe²⁺] (mM)	% Remoção de CQO ± SD
1.4	0,002		1,1 ± 0,93
1.5	0,026	13,30	5,5 ± 0,31
1.6	0,05		19,4 ± 0,30

Como se pode comprovar, a melhor opção, do ponto de vista de remoção de matéria orgânica, quando se realiza a análise do impacto do peróxido, é o uso de 0,05 M deste reagente.

Comparando todas as reações efetuadas, com o mesmo tempo de reação, e variações de ferro ou de peróxido de hidrogénio, os resultados obtidos mostram que a opção que apresenta maior eficiência, a nível de percentagem de remoção de carga orgânica do efluente é com 0,05 M de peróxido e 13,3 mM de ferro.

Na Tabela 11 estão presentes os valores da carência química de oxigénio antes e após o tratamento, sendo possível notar uma remoção de matéria orgânica de apenas 19.4%.

Tabela 9 - Valores de Carência Química de Oxigénio, com as melhores condições obtidas da análise de impacto das variáveis processuais.

	Antes do Processo de Fenton	Depois do Processo de Fenton	Remoção de CQO (%)
	Condições: 300mL de Efluente, $[Fe^{2+}] = 13,30 \text{ mM}$ e $[H_2O_2] = 0,05 \text{ M}$		
CQO (mg O₂/L)	2280	1838	19,4

Comparando com situações em que se aplicou Foto-Fenton, onde se obtinham remoções entre 70 e 97% (Mosteo, *et al.*, 2006; Lucas, *et al.*, 2009; Ornad, *et al.*, 2006 e Ioannou, *et al.*, 2013), comprova-se que sem luz não há possibilidade de atingir tais valor usando estas cargas de reagentes. No entanto, há que ter em conta que a utilização de radiação é apenas possível quando os efluentes são translúcidos permitindo uma melhor penetração da luz. Esta premissa nem sempre é cumprida pelos efluentes vinícolas, pelo que se torna relevante tentar otimizar o sistema de Fenton por forma a que este consiga uma mais eficiente remoção de carga orgânica sem recorrer ao uso de luz. Neste sentido, procedeu-se seguidamente a um novo estudo com concentrações de reagentes mais elevadas.

1.2. Otimização das condições de tratamento

As variáveis mais importantes do processo de Fenton, como já referido, são as concentrações de ferro e de peróxido de hidrogénio. Desta forma, numa tentativa de otimização dessas concentrações, foram feitas experiências, onde se diversificavam as quantidades de ferro e peróxido, numa amostra de 300 mL de efluente vinícola real, analisando o CQO ao final de 60 minutos de reação.

Como ferramenta estatística utilizou-se a metodologia de desenho de experiências, que permite avaliar o efeito das variáveis independentes e das suas interações, analisando um fator resposta, neste caso é a percentagem de remoção de CQO. Esta metodologia permite estudar um processo aplicando poucas experiências. Por outro lado, ajuda a retirar conclusões de qual ou quais as variáveis mais importantes para a descrição do processo e das suas possíveis interações. De facto, a escolha das quantidades de ferro e peróxido de hidrogénio deve ser cuidadosa, devido ao potencial efeito *scavenger* que estes reagentes podem exibir quando em excesso. O peróxido de hidrogénio permite a produção de radicais hidroxilo (que são as principais espécies responsáveis pela oxidação da matéria orgânica), no entanto, quando em

excesso, promove a produção de radicais hidroperóxido que apresentam um menor potencial de oxidação. Também o excesso de ferro promove a decomposição dos radicais hidroxilo em íons hidróxido. Em qualquer uma destas situações há uma diminuição da eficiência de tratamento. No entanto, o excesso de cada um dos reagentes, tipicamente, depende da quantidade do outro que se está a utilizar. Este fato justifica a utilização de um desenho de experiências para analisar o processo.

Com o auxílio da ferramenta computacional *STATISTICA* foi possível realizar a avaliação dos fatores independentes e suas interações, usando o *3 K-p Box Behnken designs*. As variáveis independentes (peróxido de hidrogênio e ferro) foram divididas em três níveis (-1, 0, +1), como se pode ver na Tabela 12. As concentrações usadas derivaram de análise bibliográfica, nomeadamente nos resultados eficientes de Martins, *et al.* (2009).

Tabela 10 - Níveis dos fatores independentes usados no desenho de experiências 1.

Parâmetros	Níveis		
	-	0	+
[H ₂ O ₂] (M)	0,029	0,118	0,206
[Fe ²⁺] (M)	0,03	0,161	0,291

Os três níveis foram divididos aleatoriamente por nove experiências, como mostra a matriz da Tabela 13:

Tabela 11 - Valores codificados das reações realizadas.

Nº da Reação	[H ₂ O ₂]	[Fe ²⁺]
1	-	-
2	+	-
3	0	-
4	-	+
5	+	+
6	0	+
7	-	0
8	+	0
9	0	0

Como resultante das experiências realizadas, a maior remoção de carga orgânica (52%), ao fim de 60 minutos de reação, aconteceu quando os níveis de peróxido de hidrogênio e de ferro utilizados foram o mais elevado e mais baixo, respetivamente. Enquanto que a menor remoção obtida (0,2%) aconteceu com o inverso, isto é, com menor concentração de peróxido e maior concentração de ferro. A Tabela 14 mostra as remoções obtidas em cada reação.

Tabela 12 - Dados relativos ao segundo Desenho de Experiências.

Experiência	[H ₂ O ₂] (M)	[Fe ²⁺] (M)	Remoção de CQO (%) ± SD
1	0,029	0,03	30,4 ± 2,8
2	0,206	0,03	52,0 ± 0,7
3	0,118	0,03	44,9 ± 2,1
4	0,029	0,291	0,2 ± 1,4
5	0,206	0,291	29,8 ± 0,7
6	0,118	0,291	7,2 ± 0
7	0,029	0,161	1,7 ± 3,6
8	0,206	0,161	33,4 ± 4,3
9	0,118	0,161	24,8 ± 0,7

Como análise da significância de cada variável independente sobre a dependente, a Figura 15 mostra a variação de remoção de CQO causada pela mudança de nível de cada variável independente (a – peróxido de hidrogénio e a – ferro II) e o declive aponta a importância de cada uma das variáveis no processo.

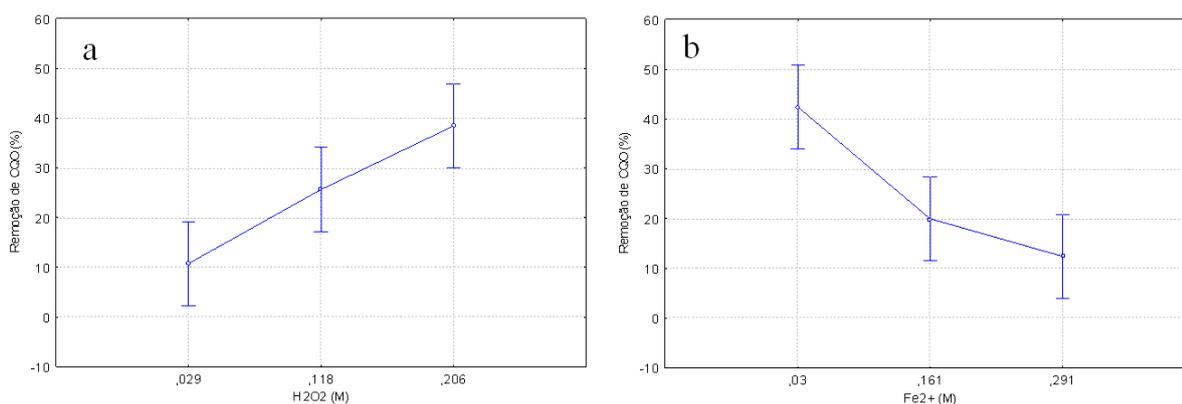


Figura 15 - Significância das variáveis independentes sobre a dependente. a - peróxido de hidrogénio e b – ferro II.

Ambas as variáveis são significativas para o processo, visto que o declive observado é bastante diferente de zero. Para a variável presente na Figura 15.a nota-se que o seu aumento influencia positivamente a eficiência na remoção de CQO, e pelo contrário com o Ferro (Figura 15.b), quanto menor é a sua concentração maior remoção acontece. Visualiza-se uma maior remoção de CQO para o valor mais elevado de concentração de peróxido de hidrogénio e mais baixo de ferro. Estes resultados indicam que existe um excesso de Ferro no sistema o que significa que o aumento da sua concentração leva a uma diminuição da quantidade de radicais hidroxilo o que inibe a eficiência do processo.

Com esta metodologia há uma análise não só da importância de cada variável, mas também a interação entre elas. Na Figura 16 estão representadas essas interações com influência na remoção de carga orgânica.

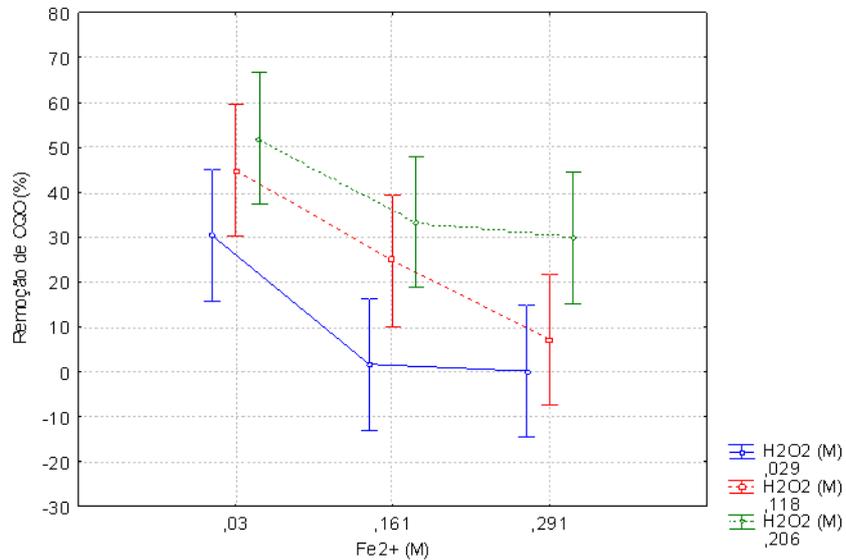


Figura 16 - Interações entre as variáveis do processo de Fenton.

Como se pode verificar, as linhas são paralelas, o que permite concluir que as interações entre as variáveis independentes são desprezáveis.

Como forma de analisar as condições operacionais mais favoráveis ao processo, determinou-se a superfície correspondente à regressão polinomial dada pelo ANOVA (Figura 17).

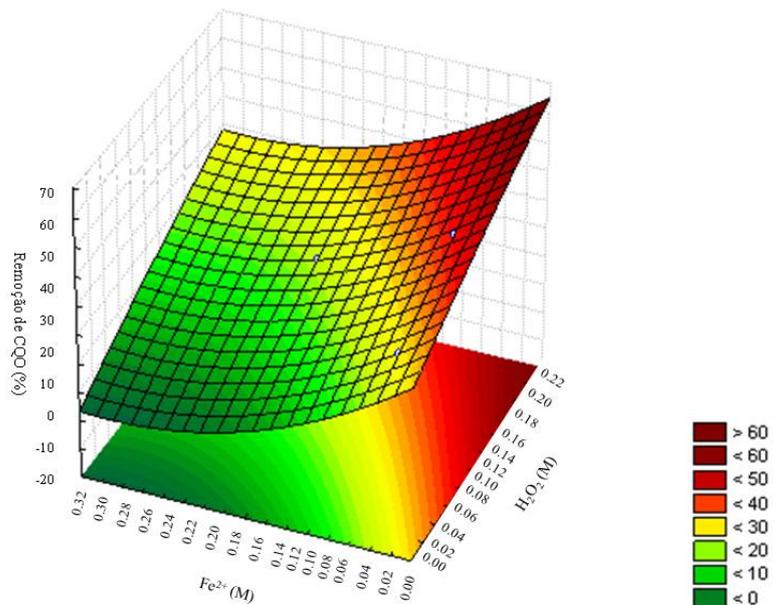


Figura 17 - Efeitos dos parâmetros independentes na remoção de CQO.

Analisando esta superfície visualmente, nota-se que, para a gama de valores de concentração de Fe^{2+} e H_2O_2 estudados, não se atingiu um ótimo com este desenho de experiências. Pela indicação do gráfico, é visível que a busca de um potencial ótimo de remoção de carga orgânica, deveria seguir no sentido da aplicação de uma maior concentração de peróxido de hidrogênio e uma menor carga de ferro.

Mesmo sem um ótimo, a reação que se mostrou mais eficiente ($[\text{Fe}^{2+}] = 0,03 \text{ M}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2] = 0,206 \text{ M}$), do ponto de vista de percentagem de remoção de matéria orgânica ao fim de 60 minutos, levou a uma redução da CQO de 995 $\text{mg O}_2/\text{L}$ a cerca 478 $\text{mg O}_2/\text{L}$ (Tabela 15).

Deve ter-se em conta que o valor da CQO atingido no âmbito do presente trabalho, usando o processo de Fenton, se encontra ainda acima do limite de descarga imposto, quando se pretende encaminhar uma água residual para os meios hídricos (150 mgO_2/L). Assim sendo, há a necessidade de estudar a aplicação de um sistema de tratamento subsequente. Neste caso foi testado o processo de biofiltração com a amêijoa asiática, apresentado no subcapítulo seguinte.

Tabela 13 - Valores de Carência Química de Oxigênio, com as melhores condições do segundo Desenho de Experiências.

	Antes do Processo de Fenton	Depois do Processo de Fenton	Remoção de CQO (%)
Condições: 300mL de Efluente, $[\text{Fe}^{2+}] = 0,03 \text{ M}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2] = 0,206 \text{ M}$			
CQO (mg O₂/L)	995	478	52,0

Para que se possa comparar os dados à escala laboratorial com os dados industriais, foi realizada uma reação com as concentrações usadas na indústria (Rodrigues, 2014), Com uma amostra de 300 mL de efluente vinícola, durante 60 minutos, com concentrações de ferro e peróxido de hidrogênio, de 0,01 e 0,10M, respetivamente, obteve-se uma remoção de 27% de CQO. Concluindo-se assim, que as condições testadas nesta investigação realizada se tornam mais eficientes do que a praticada atualmente na indústria. No entanto, há que ressaltar que o efluente usado durante este trabalho provém de adegas diferentes daquelas onde o processo de Fenton está a ser aplicado industrialmente.

2. Avaliação do potencial da amêijoia asiática enquanto biofiltro

2.1. Testes de Mortalidade

Foram realizados três testes de mortalidade, com efluentes vinícolas originais (i.e., pré-Fenton) de diferentes alturas do ano.

O primeiro teste de mortalidade ocorreu em condições de elevada carga orgânica (2280 mg O₂/L), visto que o efluente proveio de uma adega no início de Outubro, em plena época de vindimas (pico de produção do efluente), sendo usado no final do mesmo mês. No segundo, o resíduo líquido adveio no meio de Novembro, onde ocorrem ainda lavagens a cubas e a equipamentos na produção e melhoria do vinho, tendo de carência química de oxigénio 1930 mgO₂/L e usado no final do mês. O terceiro teste foi realizado sob a combinação de três efluentes, vindos em Dezembro, Janeiro e Fevereiro, com quantidade matéria orgânica inferior, de 1700 mgO₂/L, este combinado foi usado no de fim de Abril.

Os três testes de mortalidade realizados permitiram analisar não só o efeito da concentração, mas também da data de produção do efluente na sua toxicidade para a amêijoia asiática. (Figura 18).

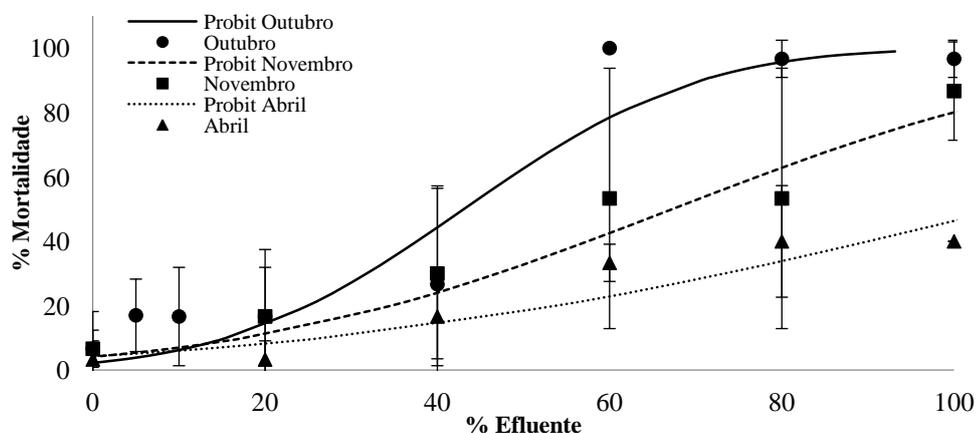


Figura 18 - Comparação da toxicidade dos três efluentes para um período de exposição de 96h.

Pela análise do gráfico da Figura 18, pode verificar-se que o aumento da concentração de efluente leva a um aumento da mortalidade da amêijoia asiática, numa clara dose-resposta, qualquer que seja o efluente em questão. Comparando as três curvas, tal como se previa, nota-se que a toxicidade é mais elevada quando estamos perante o pico de produção do efluente (Outubro), devido à carga orgânica associada. Aparentemente, uma maior carga orgânica leva a maior toxicidade, apesar de não terem sido identificados os compostos presentes na composição dos efluentes (devido à complexidade destas águas residuais).

Para que se consiga progredir para o teste de biofiltração, há necessidade de avaliar a toxicidade do efluente tratado pelo processo de Fenton, para então se determinar uma gama de operação para os biofiltros. Assim, para uma segunda ronda de testes de mortalidade, o efluente correspondente ao mês de Abril, no gráfico anterior, foi sujeito a dois tratamentos pelo processo de Fenton, sendo um deles com gamas mais baixas de reagentes (o mais eficiente na análise de impacto de variáveis – $[\text{Fe}^{2+}] = 13,30 \text{ mM}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2] = 0,05 \text{ M}$) e outro com a gama mais elevada (o mais eficaz na remoção de CQO do desenho de experiências - $[\text{Fe}^{2+}] = 0,03 \text{ M}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2] = 0,206 \text{ M}$). O efluente foi depois aplicado em três condições (Figura 19): efluente puro sem tratamento (Abril), efluente tratado pelas condições menos severas (Condição 1 (Gama baixa de reagentes de Fenton)) e efluente tratado pelas condições mais severas (Condição 2 (Gama alta de reagentes de Fenton)).

Para obter o volume de efluente pós-Fenton necessário para os testes de mortalidade, a reação de Fenton teve que ser realizada em vários *batch*, de um ou dois litros. Por esta razão, a eficiência na remoção de carga orgânica não se mostrou tão elevada como nas experiências realizadas antes (análise de impacto de variáveis e desenho de experiências) (Tabela 16). Este facto pode dever-se à agitação não perfeita uma vez que se utilizou as mesmas condições de agitação para um volume maior de reator, pelo que poderia ultrapassar-se esta descompensação aumentando o tempo de reação.

Tabela 14 - Carência Química de Oxigénio do Efluente Puro e suas condições de tratamento.

	CQO (mg O₂/L)	Remoção de CQO (%)
Efluente	1705	
Efluente Condição 1	1453	15
Efluente Condição 2	1328	22

De seguida, na Figura 19, são mostrados os resultados de mortalidade obtidos com o efluente vinícola sem tratamento e nas duas condições de tratamento.

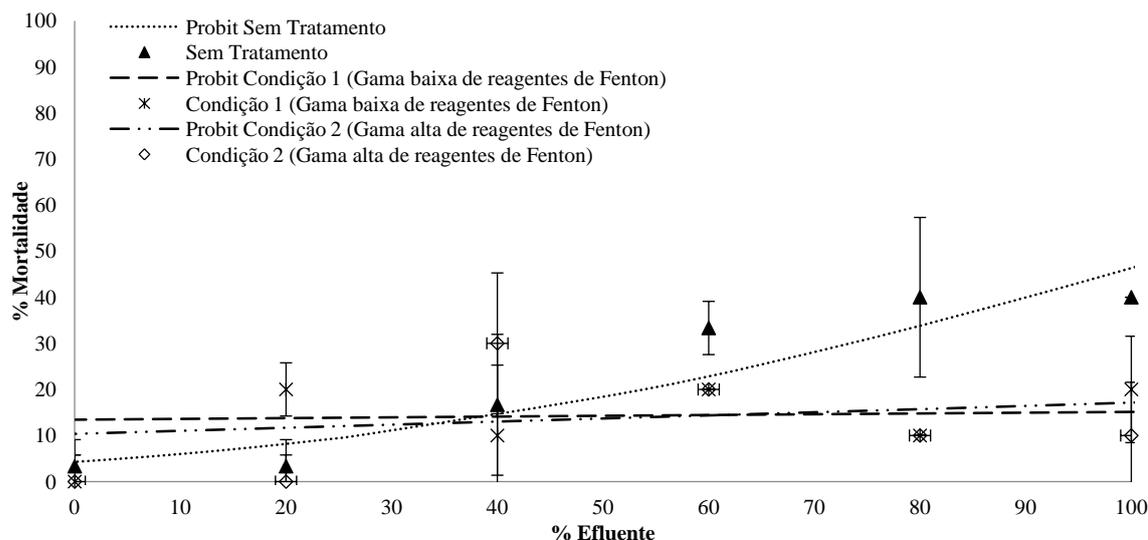


Figura 19- Mortalidade produzida, em 96h, por efluente original (de Abril) e por efluente sujeito a tratamento de Fenton em duas condições distintas.

Analisando os resultados obtidos constata-se que a toxicidade do efluente diminui após tratamento por processo Fenton. No efluente original, sem tratamento, às 96 horas, há morte de aproximadamente 45% dos indivíduos expostos, enquanto que para exposições a efluentes tratados a mortalidade não excede 10-15%, não sendo significativamente diferente dos valores obtidos e aceitáveis para o controle (menor que 10%).

Quanto à comparação das duas condições de tratamento Fenton, o aumento de concentração dos reagentes de Fenton, e conseqüente remoção da CQO (Tabela 16), não aparenta resultar numa diminuição significativa da toxicidade. Isto é, parece que por mais que se diminua a carga orgânica, abaixo do valor já alcançado com a gama baixa de reagente Fenton, não ocorre diminuição da toxicidade, traduzida pela mortalidade às 96 horas. Aparentemente, mesmo as condições de Fenton menos severas são capazes de satisfatoriamente remover os compostos que levam a uma acentuada morte das ameijoas.

Na escolha da gama de operação para a biofiltração, os dois efluentes pós-Fenton não se mostraram tóxicos, pelo que se optou pela aplicação do efluente puro, a 100% (situação mais conservadora e mais facilmente aplicada industrialmente) e a 50%, para que haja informação acerca da relação concentração de efluente e eficiência do processo.

2.2. Testes de Biofiltração

Para este teste de biofiltração o efluente usado foi o mesmo que o empregue na 2ª ronda de testes de mortalidade (Figura 19). O efluente foi aplicado nas mesmas três condições anteriores (sem tratamento Fenton, condição 1 e condição 2).

Por forma a avaliar as condições para a sobrevivência das amêijoas, foram determinados alguns parâmetros chave ao longo do teste de biofiltração: mortalidade, pH, oxigénio dissolvido e amónia. A evolução da qualidade dos efluentes processados pelas amêijoas foi avaliada com base na medição da carência química de oxigénio, quantificando a remoção de carga orgânica por ação dos bivalves, carência bioquímica de oxigénio e fitotoxicidade.

A Tabela 17 mostra o LT_{50} (tempo letal mediano) e a mortalidade ao fim de 10 dias de biofiltração para ameijoas expostas aos vários efluentes.

Tabela 15 - Toxicidade dos efluentes no teste de biofiltração.

	Controlo	Efluente Puro Sem Tratamento	50% de Efluente Sem Tratamento	Efluente Puro Condição 1	50% de Efluente Condição 1	Efluente Puro Condição 2	50% de Efluente Condição 2
LT₅₀ (dias)	10	3,2	3,6	5,8	8,1	7,9	7
Mortalidade ao fim de 10 dias (%)	50	100	100	95	85	75	95

* LT_{50} – tempo de mortalidade mediano (*median lethal time*), tempo de exposição a substâncias tóxicas que provoca a morte de 50% dos indivíduos expostos.

A tabela anterior mostra que o efluente sem tratamento Fenton é mais tóxico do que os efluentes tratados. Com as condições 1, como era de esperar, o resíduo líquido puro é mais tóxico que o diluído. Nas condições 2, o efluente diluído provocou mortalidade marginalmente superior ao puro, mas as diferenças estão dentro do esperado, tendo em conta a variabilidade normal nos controlos. Quanto à mortalidade observada nos controlos, esta é muito menor quando comparada com os outros meios de exposição, mas para tempos de exposição mais longos aumenta, chegando aos 50%, devendo-se este facto à não renovação do meio e possivelmente não alimentação dos organismos.

Do ponto de vista da toxicidade para a amêijoa asiática, e tal como já tinha indicado o teste de mortalidade (Figura 19), a condição de tratamento Fenton com maior carga de reagentes (condição 1) não resulta numa significativa diminuição da toxicidade, quando comparada com a condição 2.

Em relação ao pH, durante o tempo em que a biofiltração ocorreu, houve um ligeiro aumento de cerca de 7,5 para 8-8,5, estando estes valores dentro dos limites de sobrevivência deste bivalve invasor (pH > 5,6; Rosa, *et al.*, 2011 e Lucy, *et al.*, 2012). No que toca ao oxigénio dissolvido no meio, no geral, manteve-se constante, com média de $8 \pm 0,75$ mg O₂/L. A análise da amónia foi apenas realizada para o início, meio e final da biofiltração e os resultados estão presentes na Figura 20.

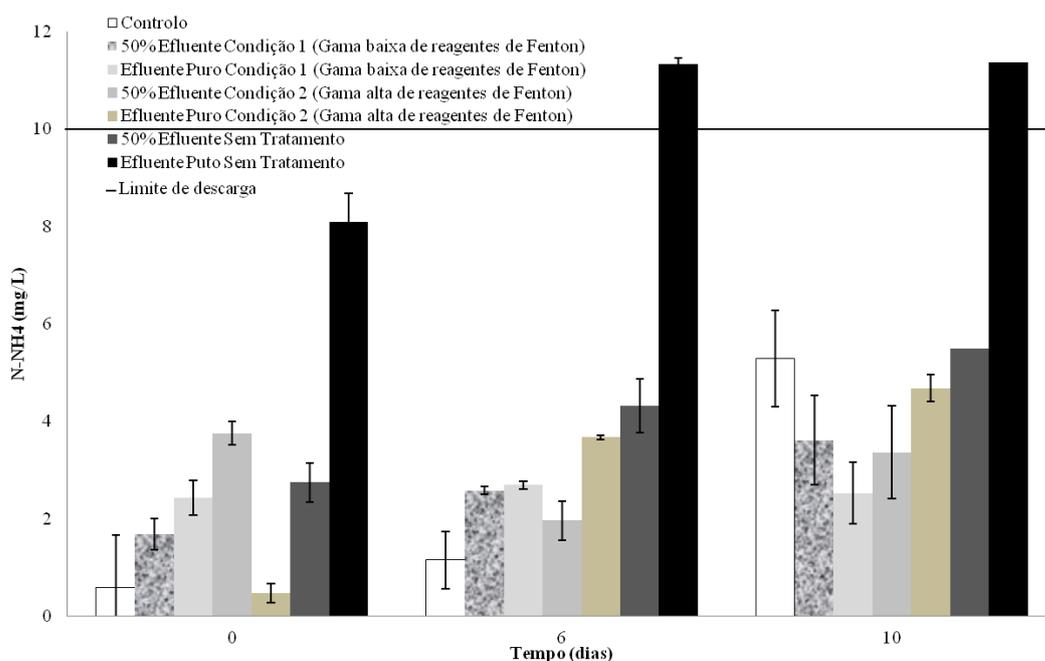


Figura 20 – Análise da amónia ao longo do teste de Biofiltração.

No geral, e como era de esperar, o valor da amónia sofre um aumento ao longo do tempo, acompanhando a mortalidade das amêijoas. O incremento deste parâmetro deve-se à acumulação de produtos de excreção das amêijoas vivas e de produtos resultantes da decomposição das mortas. O valor para o efluente a 50% nas condições 2, inicialmente aparenta ser um *outlier*, provavelmente de caráter experimental, a esta tendência.

Como é possível visualizar através do limite de descarga para o meio hídrico (Decreto-Lei nº 236/98, 1 de Agosto de 1998), representado pela linha horizontal (azoto amoniacoal = 10 mg/L), apenas o efluente sem tratamento Fenton não se encontra abaixo deste valor.

Finalizando, a remoção de matéria orgânica dos efluentes de teste por ação dos bivalves, é apresentado nas Figuras 21 e 22.

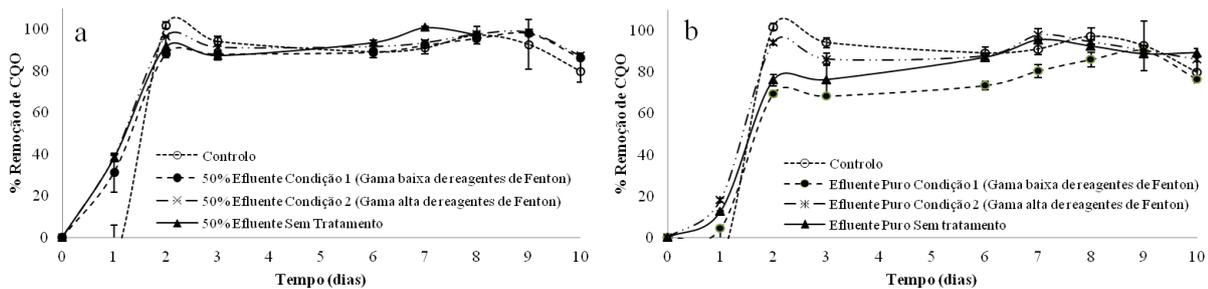


Figura 21 - Remoção de CQO ao longo do teste de Biofiltração. a- meios com 50% de efluente e b- efluente puro.

Pela análise dos gráficos de remoção de carga orgânica (Figura 21) constatam-se duas zonas temporais distintas no que diz respeito à evolução da CQO. No geral, observa-se um rápido aumento na remoção de matéria orgânica no período inicial, o que é justificável pela elevada capacidade de biofiltração da *C. fluminea*. A esta, segue-se uma primeira diminuição da remoção, que corresponde ao início da morte das amêijoas em teste; esta diminuição pode ainda ser devida à libertação de compostos que poderiam estar adsorvidos nas conchas ou retidos no interior dos bivalves, o que resulta num aumento temporário da carga orgânica na água. O segundo decréscimo da remoção da CQO já no final do teste, aproximadamente no dia 8, coincide com mortalidade já bastante elevadas, pelo que deve estar relacionado com a libertação de compostos, provenientes da decomposição dos animais mortos. É de ressaltar, que os dados parecem indicar que, no início do teste, a capacidade de filtração de carga orgânica destes moluscos é menor nos efluentes puros, ainda que no final se consigam remoções próximas de 100% em todos os casos.

Para uma análise mais detalhada na Figura 22 apresentam-se os valores de carência química de oxigénio no início, o mínimo atingido e o valor no final deste teste de biofiltração.

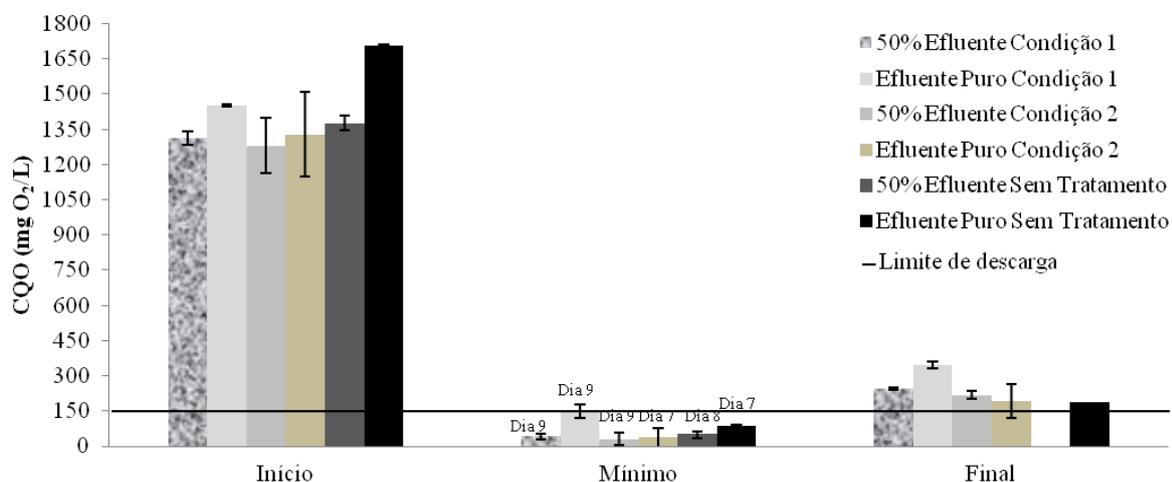


Figura 22 - Variação da CQO no teste de Biofiltração.

A figura anterior mostra que o valor da carência química de oxigénio diminui ao longo da biofiltração, e chega mesmo a atingir um mínimo, entre os dias 7 e 9, consoante o efluente. Este valor mínimo encontra-se abaixo do limite de descarga na vala hídrica (Decreto-Lei nº 236/98, 1 de Agosto de 1998), pelo que seria uma boa opção para parar a biofiltração neste período, visto que posteriormente a CQO aumenta novamente. De notar que para esses dias, com exceção do caso do efluente sem tratamento, também o valor do azoto se encontra dentro dos limites legais para descarga.

A utilização de duas condições do processo de Fenton tornou-se uma mais-valia no estudo das cargas de reagentes para o tratamento químico, concluindo-se que (i) ambas resultam em efluente de baixa toxicidade para as amêijoas e (ii) na biofiltração há remoção quase completa de matéria orgânica qualquer que seja a condição de Fenton usada. Assim sendo, a escolha do tratamento mais eficiente em termos custo-eficiência, passa pela preferência das Condições 1 para o processo de Fenton. De facto, o uso de uma menor carga de reagentes diminui os custos operacionais da tecnologia.

Foram avaliados outros dois parâmetros ambientalmente importantes, como demonstração da eficiência do sistema integrado de tratamento, o CBO₅ (Carência Bioquímica de Oxigénio) (Figura 23) e a fitotoxicidade (Figura 24). Estes foram apenas estimados para o efluente puro nas três condições de teste, no início e no final da biofiltração.

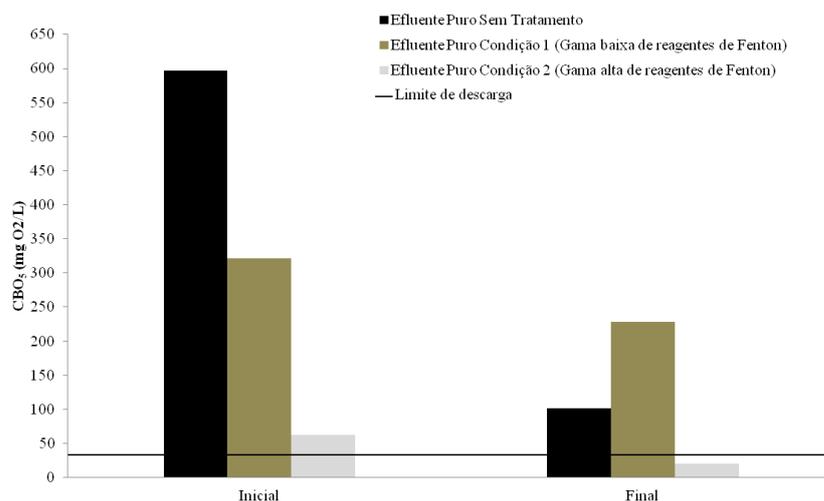


Figura 23 - Análise da CBO₅ no início e final da biofiltração.

É de notar que o grau de poluição biodegradável do efluente diminui do início para o final do teste de biofiltração, isto é, há remoção da matéria orgânica, pelo que se conclui que o organismo exposto, a amêijoas asiática, tem capacidades elevadas de filtração de compostos de

carbono, corroborando o que já se havia concluído pela análise de CQO. Nas três condições de efluente ocorreu um decréscimo da matéria orgânica, com remoções de CBO_5 de 83%, 29% e 69%, nos efluentes puros sem tratamento, na condição 1 e na condição 2, respetivamente. Para descarga (valor limite: $40 \text{ mgO}_2/\text{L}$) apenas o efluente sob as condições 2 tem características vantajosas. No entanto, há que ter em conta que no final do teste a remoção não foi máxima, como já visto e discutido para a carência química de oxigénio, pelo que é espectável que no dia 8, aproximadamente, quando o valor da CQO é diminuto a CBO também o seja, o que faz prever que haja possibilidade de descarregar o efluente para o meio hídrico sem problemas.

Tendo em conta que, na prática, as águas residuais vinícolas tratadas são utilizadas geralmente para a irrigação dos campos, torna-se relevante avaliar a sua fitotoxicidade. Este parâmetro medido para o início e fim da biofiltração encontra-se na Figura 24.

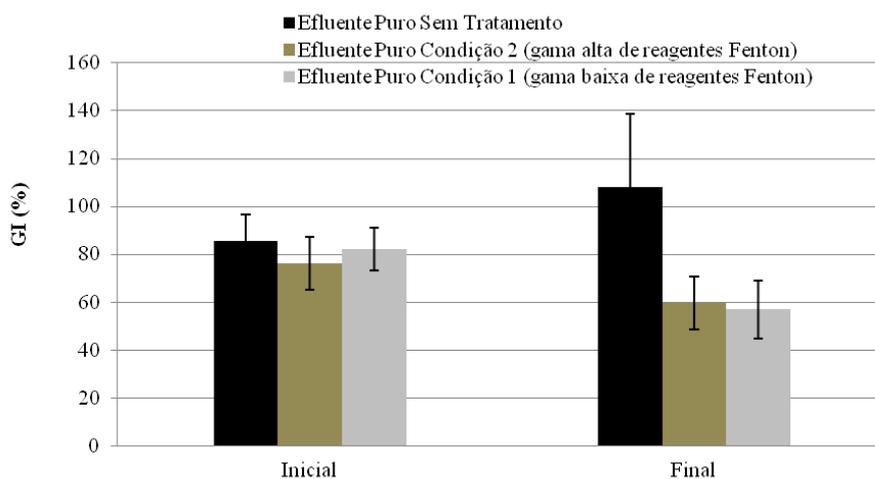


Figura 24 – Análise da fitotoxicidade no início e final da biofiltração.

Através da análise do gráfico da figura anterior, nota-se uma ligeira redução de índice de germinação, durante o teste de biofiltração, para os efluentes pré-tratados pelo processo de Fenton, traduzindo-se num aumento de fitotoxicidade, enquanto que no efluente sem tratamento acontece o contrário. Mesmo assim, podem considerar-se efluentes apropriados para irrigação, devido aos seus desvios apresentados e ao facto de este teste ter a duração de apenas 48 h, tornando-se uma análise pouco significativa para avaliações a longo prazo. Apesar do efluente não tratado apresentar um interessante índice de germinação, há que ter em conta o potencial efeito crónico que a contínua irrigação com uma água rica em compostos orgânicos potencialmente tóxicos pode ter para a saúde de um solo a longo prazo.

V. Conclusões e Trabalhos Futuros

De maneira a culminar este trabalho, neste último capítulo são apresentadas as principais conclusões do estudo realizado, bem como sugestões para trabalhos futuros.

Para o processo de Fenton, procedeu-se a uma análise do impacto que as variáveis operacionais, mais importantes para o processo, originam, por avaliação da CQO que caracterizava cada reação. Assim, foram variadas concentrações de ferro ou de peróxido de hidrogénio. As cargas de reagente testadas foram as otimizadas para foto-Fenton, pelo que se pode concluir que, sem aplicação de luz, pequenas quantidades de reagentes não são eficientes para remoção de matéria orgânica. Assim, nesta gama, a remoção mais elevada atingida foi de 19,4%, com concentrações de ferro de 13,3 mM e de peróxido de hidrogénio de 0,05 M. Esta foi considerada a Condição 1 de tratamento por processo Fenton, com gama baixa de reagentes.

Como tentativa de otimização das condições de tratamento por Fenton foi realizado um desenho de experiências partindo de concentrações mais elevadas de reagentes, já que pela análise feita às variáveis independentes do processo se mostrou baixa eficiência. Desde já se lembra que maiores concentrações de reagentes geram um processo mais caro. Mas, com a gama de concentrações usada (Ferro 0,03 – 0,291 M e Peróxido de hidrogénio 0,029 – 0,206 M), conseguem-se maiores percentagens de remoção. A maior remoção (52%) aconteceu com o uso da maior quantidade de peróxido de hidrogénio e menor concentração de ferro, mas a superfície dada pelo teste ANOVA mostra não haver um valor ótimo com estas condições, sendo apenas possível concluir que este valor se encontra para concentrações ainda mais baixas de ferro e mais elevadas de peróxido de hidrogénio. As melhores condições encontradas neste desenho de experiências correspondem às condições 2 de tratamento Fenton, com gama alta de reagentes.

De maneira a seguir para o segundo tratamento, por biofiltração, foram realizados testes de mortalidade, com efluentes originados em diferentes datas de produção e outro teste com efluentes sem tratamento de Fenton e com as condições 1 e 2. Da comparação dos efluentes de diferentes origens temporais, conclui-se que é tanto mais tóxico o efluente, para a amêijoia asiática, quanto maior a carga orgânica que ele possui. Comparou-se, por outro lado, o tratamento por biofiltração quando aplicado ao efluente não tratado e após ser sujeito às condições 1 e 2 do processo de Fenton. Com esta experiência concluiu-se que o efluente sem tratamento de Fenton é mais tóxico para os bivalves que os efluentes nas condições 1 e 2. Por

outro lado, tendo em conta as duas condições de tratamento consideradas, ambas apresentam toxicidade relativamente baixa, e aproximadamente igual, para o período de exposição de 96 horas. Pelo que, não há necessidade de usar gamas mais altas de concentrações de reagentes, no que toca a toxicidade com bivalves. Isto leva a uma diminuição dos custos operacionais associados ao processo de Fenton.

Para o teste de biofiltração foram usadas concentrações de 50% e 100% de efluente, propostas pelo teste de mortalidade. Neste teste a avaliação de parâmetros diariamente foi necessária. Posto isto, a leitura de pH e oxigénio dissolvido demonstraram haver uma boa qualidade do meio para a sobrevivência animal. A quantidade de amónia, como previsível, aumentou ao longo do processo sem, no entanto, atingir o valor limite de descarga no meio hídrico, com exceção do efluente não tratado. Em relação à medição da carência química de oxigénio, conclui-se que a *C. fluminea* possui uma elevada capacidade de remoção de carga orgânica, tendo atingido percentagens de remoção, perto de 100%, para os efluentes testados nas 3 condições. No entanto, para os últimos dias do teste, verificou-se um aumento nos valores de CQO. Este fenómeno deve-se inicialmente ao começo da morte das amêijoas e excreção de compostos que poderiam estar acumulados nas cascas ou retidos dentro delas, e mais para o final do ensaio causado pela mortalidade bastante elevada, provavelmente relacionada com a libertação de compostos da decomposição de animais mortos. Avaliando este parâmetro, conclui-se que as amêijoas têm elevada capacidade de filtração de compostos carbonados. Foi avaliada também a carência bioquímica de oxigénio, no início e fim do teste, onde se demonstrou que a carga orgânica presente no efluente sofre grande diminuição. A medição de toxicidade pelo método de germinação foi realizada também para o início e fim da biofiltração, de onde se conclui que as águas residuais tratadas apresentam boas condições para irrigação. Apesar do efluente sem tratamento ter mostrado não ser fitotóxico, há que considerar o potencial impacto para o solo devido à contínua irrigação com uma água contendo uma elevada quantidade de matéria orgânica. Com todas os parâmetros analisados, o efluente apresenta características aceitáveis, dentro do limite, para descarga na vala hídrica.

O estudo de duas condições de gamas de reagente para o processo Fenton foi uma boa aposta, concluindo-se que entre condições há realmente melhoria, e ambas resultam em efluente de baixa toxicidade para as amêijoas, mas analisando a biofiltração e todas as condições, os resultados obtidos são aproximadamente iguais. Assim sendo, a escolha do tratamento mais eficiente em termos custo-eficiência, passa pela preferência das Condições 1 para o processo de Fenton, que apresenta menores quantidades de reagentes reduzindo assim os custos operacionais.

De um modo geral pode concluir-se que a integração entre o processo de Fenton e a biofiltração é uma estratégia interessante para o tratamento dos efluentes vinícolas levando à reutilização da água. Por outro lado, esta metodologia permite o controlo da *C. fluminea* dando-lhe uma aplicação ecologicamente relevante.

Quanto a trabalhos futuros, são apresentadas algumas sugestões:

- Otimização das concentrações de reagentes do processo de Fenton, no sentido em que o desenho de experiências aponta.
- Otimizar as condições para o processo Fenton, como por exemplo a rotação, dimensão e material das pás, bem como tempo de reação.
- Otimização do número de amêijoas em cada recipiente, para melhoria na remoção.
- Estudos do teste de biofiltração em contínuo.

VI. Bibliografia

- (ISSG), N. B. (). *Global Invasive Species Database*. Obtido em de de , de <http://www.issg.org>
- Aguirre, W. a. (1999). Non-indigenous Species in the Gulf of.
- Bautista, P., Mohedano, A. F., Casas, J. A., Zazo, J. A., & Rodriguez, J. J. (2008). Review: An overview of the application of Fenton oxidation to industrial wastewater treatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 83, 1323-1338.
- Bianco, B., Michelis, I. D., & Vegliò, F. (2011). Fenton treatment of complex industrial wastewater: Optimization of process. *Elsevier - Journal of Hazardous Materials* , 186, 1733–1738.
- Braz, R., Pirra, A., Lucas, M., & Peres, J. (2010). Combination of long term aerated storage and chemical coagulation/flocculation to winery wastewater treatment. *Desalination* , 263, 226–232.
- Bullard, A. E., & Hershey, A. E. (2013). Impact of *Corbicula fluminea* (Asian clam) on seston in an urban stream receiving wastewater effluent. *The Society for Freshwater Science*, 32(3), 976-990.
- Burkhead, N. M. (2001). *USGS science for a changing world*. Obtido em 8 de Junho de 2015, de Adult Asian clam are hermaphrodites which are capable of both cross and self-fertilization and it takes only 1 individual to start a population. Adults can live 3-4 years, and typically reproduce two times a year, de http://nyis.info/?action=invasive_detail&id=52.
- Dana M. Franka, J. E. (2008). Application of particle image velocimetry to the study of suspension feeding in marine invertebrates. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 41, n^o1, 1-28.
- Dominguez, C. M., Quintanilla, A., Casa, J. A., & Rodriguez, J. J. (2014). Treatment of real winery wastewater by wet oxidation at mild temperature. *Elsevier - Separation and Purification Technology*, 129, 121-128.
- Dreier H, T. J. (1981). Reproduction, growth, distribution, and abundance of *Corbicula* in an Illinois cooling lake. *Illinois Natural History Survey Bulletin*, 32, 378–393.
- El-Gohary, F., Badawy, M., El-Khateeb, M., & El-Kalliny, A. (2011). Integrated treatment of olive mill wastewater (OMW) by the combination of Fenton's reaction and anaerobic treatment. *Elsevier - Journal of Hazardous Materials*, 162 (2–3), 1536–1541.
- Gabriel, R. G., Ré, A., Gonçalves, F., Costa, R., & Pereira, J. L. (2013). Monitorização e controlo da amêijoia invasora *Corbicula fluminea* em indústrias hidro-dependentes. *CAPTAR ciência e ambiente para todos*, 4, n^o1, 92-112.
- Gabriel, R. G., Ré, A., Gonçalves, F., Pereira, J. L., & Costa, R. (2014). Os bivalves invasores *Corbicula fluminea* e *Dreissena polymorpha* em Portugal: contributos da sociedade

para uma gestão integrada das pestes. *CAPTAR ciência e ambiente para todos*, 5, n°2, 8-26.

- Gifford, S., Dunstan, R. H., O'Connor, W., Roberts, T., & Toia, R. (2004). Pearl aquaculture—profitable environmental remediation? *Elsivier - Science of The Total Environment*, 319 (1–3), 27–37.
- Ioannou, L. A., C. Michael, N. V., Drosou, K., Xekoukoulotakis, N., Diamadopoulos, E., & Fatta-Kassinou, D. (2013). Winery wastewater purification by reverse osmosis and oxidtion of the concentrate by solar photo-Fenton. *Elsevier - Separation and Purification Technology*, 118, 659-669.
- Ioannou, L., Michael, C., Kyriakou, S., & Fatta-Kassinou, D. (2014). Solar Fenton. from pilot to industrial scale application for polishing winery wastewater pretreated by MBR. *J Chem Technol Biotechnol*, 89, 1067-1076.
- Ioannou, L., Puma, G. L., & Fatta-Kassinou, D. (2015). Treatment of winery wastewater by physicochemical, biological and advanced processes: a review. *Elsievier - Journal of Hazardous Materials*, 286, 343-368.
- Janech MG, H. R. (1995). *Corbicula fluminea* in a Michigan River: implication for low temperature tolerance. . *Malacological Review* , 28: 119–124.
- Kara, S., Gürbulak, E., Eyvaz, M., & Yüksel, E. (2013). Treatment of winery wastewater by electrocoagulation process. *Desalin. Water Treat.* , 51, 28–30.
- Karatayev AY, H. R. (2005). History of spread and current distribution of *Corbicula fluminea* (Müller) in Texas. *Journal of Shellfish Research*, 24: 553-559.
- Kumar, A., Saison, C., Grocke, S., Doan, H., Correll, R., & Kookana, R. (2006). *IMPACT OF WINERY WASTEWATER ON ECOSYSTEM HEALTH- AN INTRODUCTORY ASSESSMENT*.
- Li, R., Yang, C., Chenb, H., Zeng, G., Yub, G., & Guo, J. (2009). Removal of triazophos pesticide from wastewater with Fenton reagent. *Elsevier - Journal of Hazardous Materials*, 167 (1–3), 1028–1032.
- Lucas, M. S., & Peres, J. A. (2011). Processos de Tratamento de Efluentes Vinícolas: Breve Perspectiva. *Química* 122.
- Lucas, M. S., Beltrán-Heredia, J., Sanchez-Martin, J., Garcia, J., & Peres, J. A. (2013). Treatment of high strength olive mill wastewater by Fenton's reagent and aerobic biological process. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 48 (8).
- Lucas, M. S., Dias, A. A., Bezerra, R. M., & Peres, J. A. (2008). Gallic acid photochemical oxidation as a model compound of winery wastewater. *Journal of Environmental Science and Health: Part A*, 43, 1288-1295.
- Lucas, M. S., Mosteo, R., Maldonado, M. I., Malato, S., & Peres, J. A. (2009). Solar Photochemical Treatment of Winery Wastewater in a CPC Reactor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 11242-11248, 57.

- Lucas, M. S., Peres, J. A., Amor, C., Prieto-Rodríguez, L., & Maldonado, M. I. (2012). Tertiary treatment of pulp mill wastewater by solar photo-Fenton. *Elsevier - Journal of Hazardous Materials*, 173-181.
- Lucy, F. E., Karatayev, A. Y., & Burlakova, L. E. (2012). Predictions for the spread, population density, and impacts of *Corbicula fluminea* in Ireland. *Aquatic Invasions*, 7, 465-474.
- Mackie, G. L., & Claudi, R. (2010). *Monitoring and Control of Macrofouling Mollusks in Fresh Water Systems* (2nd ed.). CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Martínez-Córdova, L. R., López-Elias, J. A., Leyva-Miranda, G., Armenta-Ayón, L., & Martínez-Porchas, M. (2011). Bioremediation and reuse of shrimp aquaculture effluents to farm whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*: a first approach. *Aquaculture Research*, 42 (10), 1415–1423.
- Martínez-Córdova, L. R., Lopez-Elías, J. A., Matínez-Porchas, M., Bernal-Jaspeado, T., & Miranda-Baeza, A. (2011). Studies on the bioremediation capacity of the adult black clam, *Chione fluctifraga*, of shrimp culture effluents. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 46, n°1, 105-113.
- Martins, R. C., Abegão, F. J., Silva, A. M., & Quinta-Ferreira, R. M. (2009). Integrated Strategy for Treatment of Winery Wastewaters Using. *J. Adv. Oxid. Technol.*, Vol. 12, No. 2, 255-264.
- Martins, R. C., Rossi, A. F., & Quinta-Ferreira, R. M. (2010). Fenton's oxidation process for phenolic wastewater remediation and biodegradability enhancement. *Elsevier - Journal of Hazardous Materials*, 180, 716-721.
- McLaughlan, C., Rose, P., & Aldridge, D. C. (2014). Making the Best of a Pest: The Potential for Using Invasive Zebra Mussel (*Dreissena Polymorpha*) Biomass as a Supplement to Commercial Chicken Feed. *Springer - Environmental Management*, 54, 1102–1109.
- Minchin, D. (2014). The distribution of the Asian Clam *Corbicula fluminea* and its potential to spread in Ireland. *Reabic - Management of Biological Invasions*, 5, 165-17715.
- Moreira, F. C., Vilar, V. J., Ferreira, A. C., Santos, F. R., Dezotti, M., Sousa, M., . . . Alpendurada, M. (2012). Treatment of a pesticide-containing wastewater using combined biological and solar-driven AOPs at pilot scale. *Elsevier - Chemical Engineering Journal*, 209, 429–441.
- Moreira, M. C., & Maia, M. O. (). Estratégias do Processo de Vinificação face à Poluição Provocada pelos Efluentes das Adeegas.
- Mosse, K. P., Patti, A. F., Christen, E. W., & Cavagnaro, T. R. (2011). Review: Winery wastewater quality and treatment options in Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17.
- Mosteo, R., Ornad, P., Mozas, E., Sarasa, J., & Ovelleiro, J. L. (2006). Factorial experimental design of winery wastewaters treatment by heterogeneous photo-Fenton process. *Elsevier*, 40, 1561-1568.

- Mosteo, R., J. Sarasa, Ornad, M. P., & Ovelleiro, J. (2008). Sequential Solar Photo-Fenton-Biological System for the Treatment of Winery Wastewaters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 7333-7338.
- Mosteo, R., Sarasa, J., Ornad, M. P., & Ovelleiro, a. J. (2008). Sequential Solar Photo-Fenton-Biological Systema for the Treatment of Winery Wastewater. *Journal of Agricultura and Food Chemistry*, 56 (16), 7333–7338.
- Navarro, P., Sarasa, J., Sierra, D., Esteban, S., & Ovelleiro, J. (2005). Degradation of wine industry wastewaters by photocatalytic advanced oxidation. *Water Science and Technology*, Vol 51 No 1, 113–120.
- New York Invasive Species Information*. (de). Obtido de : <http://nyis.info/>
- Nietoa, L. M., Hodaifa, G., Rodríguez, S., Giménez, J. A., & Ochandoa, J. (2011). Degradation of organic matter in olive-oil mill wastewater through. *Elsevier - Chemical Engineering Journal*, 173 (2), 503–510.
- Ornad, M. P., Mosteo, R., Ibarz, C., & Ovelleiro, J. (2006). Multivariate approach to the photo-Fenton process applied to the degradation of winery wastewater. *Elsevier - Applied Catalysis B: Environmental*, 66, 58-63.
- P, K. (1982). Shell dissolution as a significant cause of mortality for *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae) inhabiting acidic waters. *Malacological Review*, 15: 129–134
- Peltier, G. L., Meyer, J. L., Jagoe, C. H., & A.Hopkins, W. (2008). Using trace element concentration in *Corbicula Fluminea* to identify potential sources of contamination in an urban river. *Elsevier - environmental pollution*, 154, 283-290.
- Peres, J. A., & Lucas, M. S. (2011). *Processos de oxidação avançados: fundamentos teóricos e aplicações no tratamento de águas e efluentes*. Vila Real: Sector Editorial dos SDB.
- Pipolo, M. (2015). *Developing Integrated Decontamination Methods Involving Chemical Treatment (Fenton's Reaction and Ozonation) and Biofiltration by Invasive Asian Clams for Challenging Effluents*. Coimbra.
- Rajagopal S, v. d. (2000). Reproductive biology of the Asiatic clams *Corbicula fluminea* in the River Rhine. *Archiv fur Hydrobiologie*, 149: 403–420.
- Riley, L. W. (2008). *Freshwater clams as a treatment mechanism for phosphorus in agricultural wastewater*. Florida.
- Rizzo, L., Lofrano, G., & Belgiorno, V. (2010). Olive mill and winery wastewaters pre-treatment by coagulation with chitosan. *Sep. Sci. Technol.*, 45, 2447–2452.
- Rodrigues, E. A.-H. (2014). *Processo de Fenton Homogéneo para Tratamento de Efluentes Vinícolas – Piloto Industrial*. Porto.
- Rosa, I. C., Costa, R., Gonçalves, F., & Pereira, J. (2011). *Corbicula fluminea*: Utilização de uma espécie invasora como organismo experimental. *CAPTAR ciência e ambiente para todos*, 3, nº1, 40-59.

- Rosa, I. C., Costa, R., Gonçalves, F., & Pereira, J. L. (2014). Bioremediation of Metal-Rich Effluents: Could the Invasive Bivalve *Corbicula fluminea* Work as a Biofilter? *Journal of Environmental Quality*, 45, n°5, 1536-1545.
- Rosa, I. C., Pereira, J. L., Gomes, J., Saraiva, P. M., Gonçalves, F., & Costa, R. (2011). The Asian clam *Corbicula fluminea* in the European freshwater-dependent industry: A latent threat or a friendly enemy. *Elsevier - Ecological Economics*, 70, 1805-1813.
- Rossi, A. F., Amaral-Silva, N., Martins, R. C., & Quinta-Ferreira, R. M. (2012). Heterogeneous Fenton using ceria based catalysts: effects of the calcination temperature in process efficiency. *Elsevier - Applied Catalysis B: Environmental*, 111-112, 254-263.
- Sampaio, E., & Rodil, I. F. (2014). Effects of the invasive clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) on a representative macrobenthic community from two estuaries at different stages of invasion. *Limnetica*, 33, 249-262.
- Santos, C., Lucas, M. S., Dias, A. A., Bezerra, R. M., Peres, J. A., & Sampaio, A. (2014). Winery wastewater treatment by combination of *Cryptococcus laurentii* and Fenton's reagent. *Elsevier - Chemosphere*, 117, 53-58.
- SE, B. (1991). The effect of dissolved oxygen, sediment, and sewage treatment plant discharges upon growth, survival and density of Asiatic clams. *Hydrobiologia*, 218: 113-126.
- Sevimli, M. F. (2007). Post-Treatment of Pulp and Paper Industry Wastewater . *Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association*.
- Souza, B. S., Moreira, F. C., Dezotti, m. W., & Vilar, V. J. (2013). Application of biological oxidation and solar driven advanced oxidation processes to remediation of winery wastewater. *Elsevier - Catalysis Today*, 209, 201-208.
- Tambosi, J. L., Domenico, M. D., Schirmer, W. N., José, H. J., & Moreira, R. d. (2006). Treatment of paper and pulp wastewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 333 (1-3), 37-58.
- Trautmann, N. M., & Krasny, M. E. (1997). *Composting in the classroom - Inquiry for High School Students* (2nd ed.). Dubuque, Iowa: Kendall Hunt Publishing Company.
- Wittenberg, R., & Cock, M. J. (2001). *INVASIVE ALIEN SPECIES: A Toolkit of Best Prevention and Management Practices*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
- Zapata, A., Oller, I., Sirtori, C., Rodríguez, A., Sánchez-Pérez, J., López, A., . . . Malato, S. (2010). Decontamination of industrial wastewater containing pesticides by combining large-scale homogeneous solar photocatalysis and biological treatment. *Elsevier - Chemical Engineering Journal*, 160 (2), 447-456.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., & Jiang, J. S. (2008). Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Elsevier - Analytica chimica acta*, 606, 135-150.

