



João Miguel Chen

Licenciatura em Engenharia Química e Bioquímica

Estudo de extração e caracterização da mucilagem dos cladódios *Opuntia ficus-indica* (OFI) e sua aplicação como coadjuvante no tratamento de efluentes

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Mário Fernando José Eusébio, Prof. Auxiliar, Departamento Química, FCT NOVA

Júri:

Presidente: Prof Doutor Rui Manuel Freitas Oliveira, Prof. Associado com Agregação,
Departamento de Química, FCT NOVA

Arguente: Prof. Doutora Maria Filomena Andrade de Freitas, Prof Auxiliar,
Departamento Química, FCT NOVA

Vogal: Prof. Doutor Mário Fernando José Eusébio, Prof. Auxiliar, Departamento
Química, FCT NOVA



João Miguel Chen

Licenciatura em Engenharia Química e Bioquímica

Estudo de extração e caracterização da mucilagem dos cladódios *Opuntia ficus-indica* (OFI) e sua aplicação como coadjuvante no tratamento de efluentes

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Mário Fernando José Eusébio, Prof. Auxiliar, Departamento Química, FCT NOVA

Júri:

Presidente: Prof Doutor Rui Manuel Freitas Oliveira, Prof. Associado com Agregação, Departamento de Química, FCT NOVA

Arguente: Prof. Doutora Maria Filomena Andrade de Freitas, Prof Auxiliar, Departamento Química, FCT NOVA

Vogal: Prof. Doutor Mário Fernando José Eusébio, Prof. Auxiliar, Departamento Química, FCT NOVA

Maio, 2021



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Estudo de extração e caracterização da mucilagem dos cladódios *Opuntia ficus-indica* (OFI) e sua aplicação como coadjuvante no tratamento de efluentes

Copyright © João Miguel Chen, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

A presente dissertação não poderia ser realizada sem a ajuda de várias pessoas e entidades, às quais quero agradecer.

À minha família que me deu a oportunidade de ingressar no ensino superior.

Ao professor Mário Eusébio pela orientação desta dissertação e conhecimentos que me transmitiu nestes últimos anos do curso.

Ao Sr. José Ferrão e à Pepe aromas Lda., pelo fornecimento de matéria-prima usada para este estudo.

À professora Filomena Freitas, pela disponibilização de laboratório para a extração e caracterização, e às suas alunas pela ajuda nos trabalhos laboratoriais, em especial à Patrícia Reis, Patrícia Freitas, Inês Ferreira e Ana Teresa Semedo.

À técnica de laboratório D^a Palminha Afonso, pela paciência e enorme ajuda nos momentos difíceis nos trabalhos de laboratório.

À ETAR de Alcântara, pela disponibilização de equipamento, espaço e água residual, para os ensaios *jar test*.

Resumo

O presente trabalho tem por objetivo extrair e caracterizar a mucilagem dos cladódios *Opuntia ficus-indica* (OFI) e estudar a sua eficiência na remoção da turvação da água.

Foram usados 5 métodos diferentes para extrair a mucilagem dos cladódios, obtendo 11 tipos de polímeros distintos (P1, P1-E, P2, P3, P3-E, P3-IPA, P4, P4-E, P4-IPA, P5 e P5-E) com rendimentos de extração entre 0,38-8,05 % (p/p). Caracterizaram-se os polímeros extraídos quanto à composição de proteína (87,2-237,3 µg/mg), açúcares neutros (205,6-478,9 µg/mg), ácidos urónicos (10,9-57,4 µg/mg), e cinzas (13,8-25,8%). Analisou-se o P1 por HPLC, tendo detetado a presença de arabinose (0,77%), galactose (1,17%), xilose (0,44%), ramnose (0,21%) e glucose (21,54%).

Realizaram-se testes preliminares de remoção da turvação numa água turva sintética de argila de 5 g/L, aplicando os polímeros numa concentração de 150 mg/L. Os polímeros P3 e P3-E foram os que melhor removeram a turvação da água, assemelhando-se à performance do cloreto férrico (III) (CF), pela divisão clara da interface após o 1º minuto, apresentando uma remoção quase total da turvação inicial após 10 minutos.

Realizaram-se 8 ensaios *jar test* usando um efluente industrial (64-187 NTU) na ETAR de Alcântara, aplicando os polímeros (10-110 mg/L) e CF (10-30 mg/L). Foram usadas diferentes velocidades de mistura (50, 100, 150 e 200 rpm) e tempos de contacto (2, 5 e 10 minutos). Os melhores rendimentos obtidos foram 89,7%, 88,2% e 85,2% quando aplicados 40 mg/L de P3-E (183 NTU), 25 mg/L de P2 (78 NTU) e 45 mg/L de P2 (84 NTU) em combinação com 15 mg/L de CF, respetivamente.

Neste trabalho, a mucilagem extraída mostrou ser capaz remover a turvação da água, sendo que esta eficiência é melhorada quando aplicada em combinação com o CF, podendo no futuro ser uma alternativa mais sustentável para o tratamento de águas no processo de coagulação-floculação.

Termos chave: *Opuntia ficus-indica*; coagulação-floculação; mucilagem; remoção da turvação; tratamento de águas; *jar test*; caracterização

Abstract

The present work aims to extract and characterize the mucilage of the *Opuntia ficus-indica* (OFI) cladodes and study its efficiency in removing turbidity from the water.

Five different methods were used to extract mucilage from cladodes, obtaining 11 different types of polymers (P1, P1-E, P2, P3, P3-E, P3-IPA, P4, P4-E, P4-IPA, P5 and P5 -E) with an extraction yields between 0.38-8.05% (p / p). The extracted polymers were characterized for protein composition (87.2-237.3 µg/mg), neutral sugars (205.6-478.9 µg/mg), uronic acids (10.9-57.4 µg/mg), and ash (13.8-25.8%). P1 was analyzed by HPLC and detected the presence of arabinose (0.77%), galactose (1.17%), xylose (0.44%), rhamnose (0.21%) and glucose (21.54 %).

Preliminary tests were carried out to remove turbidity in a synthetic turbid clay water of 5 g/L, applying the polymers at a concentration of 150 mg/L. Polymers P3 and P3-E were the ones that best removed turbidity from the water, similarly to the performance of ferric chloride (III) (FC), by the clear division of the interface after the 1st minute, showing an almost complete removal of the initial turbidity after 10 minutes.

Eight jar tests were carried out using an industrial effluent (64-187 NTU) at the Alcântara WWTP, applying polymers (10-110 mg/L) and CF (10-30 mg/L). Different mixing speeds (50, 100, 150 and 200 rpm) and contact times (2, 5 and 10 minutes) were used. The best results were 89.7%, 88.2% and 85.2% when applied 40 mg/L of P3-E (183 NTU), 25 mg/L of P2 (78 NTU) and 45 mg/L of P2 (84 NTU) in combination with 15 mg/L CF, respectively.

In this work, the extracted mucilage showed to be able to remove turbidity from water, and this efficiency is improved when applied in combination with FC and may in the future be a more sustainable alternative for water treatment in the coagulation-flocculation process.

Keywords: coagulation-flocculation; *Opuntia ficus-indica*; mucilage; wastewater treatment; turbidity removal; *jar test*; characterization

Índice

1. Introdução	1
1.1 Enquadramento	1
1.2 Objetivos	3
2. Revisão Bibliográfica.....	4
2.1 Aplicações da OFI.....	4
2.2 Composição da mucilagem.....	5
2.3 Extração e caracterização da mucilagem.....	6
2.4 Uso da mucilagem na remoção da turvação da água	12
3. Materiais e métodos.....	16
3.1 Extração da mucilagem	16
3.1.1 Método de extração 1	17
3.1.2 Método de extração 2	18
3.1.3 Método de extração 3	18
3.1.4 Método de extração 4	19
3.1.5 Método de extração 5	19
3.2. Caracterização da mucilagem	20
3.2.1 Proteína Total.....	21
3.2.2 Açúcares Neutros.....	22
3.2.3 Ácidos Urónicos	23
3.2.4 Cinzas	24
3.2.5 Monossacarídeos.....	24
3.3. Ensaio preliminares de remoção de turvação.....	25
3.4 Ensaio <i>Jar Test</i>	26
4. Apresentação e discussão dos resultados	30
4.1 Extração da mucilagem	30
4.2 Caracterização da mucilagem	34
4.2.1 Proteína Total.....	34
4.2.2 Açúcares Neutros.....	36
4.2.3 Ácidos Urónicos	37
4.2.4 Cinzas	39
4.2.5 Monossacarídeos.....	40

4.3 Testes preliminares de remoção de turvação.....	43
4.4 Ensaio <i>Jar Test</i>	48
4.4.1 Ensaio 1, 2 e 3	49
4.4.2 Ensaio 4	52
4.4.3 Ensaio 5, 6, 7 e 8	54
5. Conclusões e trabalhos futuros	62
Referências Bibliográficas	65
Anexo A – Caracterização da mucilagem	71
Anexo A.1 – Caracterização de proteína total	71
Anexo A.2 – Caracterização de açúcares neutros	77
Anexo A.3 – Caracterização de ácidos urónicos	83
Anexo A.4 – Caracterização de cinzas	89
Anexo A.5 – Resultados <i>HPLC</i>	91
Anexo B – Resultados dos ensaios <i>Jar Test</i>	97

Índice de figuras

Figura 1.1 Figueira da Índia (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	1
Figura 2.1 Esquema do método de extração TFC, MC e PC usado por Bayar et al. (2016)	9
Figura 2.2 Esquema do método de extração das frações GE e NE da mucilagem	10
Figura 2.3 Esquema do método de extração usado por Felkai-Hadache et al. (2016)	11
Figura 3.1 Plantação OFI, Vale do pereiro.....	16
Figura 3.2 Esquema do método de extração 1	17
Figura 3.3 Esquema do método de extração 3	18
Figura 3.4 Esquema do método de extração 4	19
Figura 3.5 Esquema do método de extração 5	20
Figura 3.6 Método usado para a caracterização de proteína	22
Figura 3.7 Método usado para caracterização de ácidos urônicos	24
Figura 3.8 Água residual recolhida.....	27
Figura 3.9 Equipamento <i>jar test Velp Scientifica</i> modelo JLT4	27
Figura 3.10 Sonda usada para medir a turvação.....	28
Figura 4.1 Fotografias ilustrativas do método de extração 1	30
Figura 4.2 Fotografias ilustrativas do método de extração 2	31
Figura 4.3 Fotografias ilustrativas do método de extração 3	31
Figura 4.4 Fotografias ilustrativas do método de extração 4	32
Figura 4.5 Fotografias ilustrativas do método de extração 5	33
Figura 4.6 Gráfico dos resultados de proteína total dos polímeros	35
Figura 4.7 Gráfico dos resultados de açúcares neutros dos polímeros	36
Figura 4.8 Gráfico dos resultados de ácidos urônicos dos polímeros	38
Figura 4.9 Gráfico com os teores de cinzas dos polímeros.....	40
Figura 4.10 Cromatograma do polímero P1	41
Figura 4.11 Sequência de imagens proveta 1 (CF)	44
Figura 4.12 Sequência de imagens proveta 2 (Polímero P1)	44
Figura 4.13 Sequência de imagens proveta 3 (Polímero P3)	45
Figura 4.14 Sequência de imagens proveta 4 Polímero P1-E).....	46
Figura 4.15 Sequência de imagens proveta 5 (Polímero P2)	46
Figura 4.16 Sequência de imagens proveta 6 (Polímero P3-E)	46
Figura 4.17 Sequência de fotos proveta 7 (Polímero P3-IPA).....	47
Figura 4.18 Sequência de imagens proveta 8 (Polímero P4-IPA)	47
Figura 4.19 Sequência de imagens proveta 9 (Polímero P4-E)	47
Figura 4.20 Sequência de imagens proveta 10 (Polímero P5)	48
Figura 4.21 Sequência de imagens proveta 11 (Polímero P5-E)	48
Figura 4.22 Eficiências de remoção dos polímeros aplicados a uma concentração de 30 mg/L nas águas de 67 e 84 NTU	50
Figura 4.23 Eficiências de remoção dos polímeros P1, P2 e P3 na água com 123 NTU	50

Figura 4.24 Eficiências de remoção combinado 15 mg/L CF + 30 mg/L na água de 84 NTU ...	51
Figura 4.25 Eficiências de remoção do polímero 2 combinado com CF na água de 84 NTU....	51
Figura 4.26 Eficiências de remoção combinada com CF na água 123 NTU.....	52
Figura 4.27 Eficiências de remoção combinada (ensaio 4)	53
Figura 4.28 Eficiências de remoção dos polímeros nos ensaios 5 e 6.....	55
Figura 4.29 Eficiências de remoção combinada nos ensaios 5 e 6.....	55
Figura 4.30 Flocos formados pelos polímeros P1 e P2 no ensaio 5	56
Figura 4.31 Eficiências de remoção dos polímeros nos ensaios 7 e 8.....	57
Figura 4.32 Eficiências de remoção combinada nos ensaios 7 e 8.....	58
Figura 4.33 Eficiências de remoção do cloreto férrico 30 mg/L em todos os ensaios <i>jar test</i>	59
Figura A.1 Reta de calibração albumina ensaio 1 (R ₁)	72
Figura A.2 Reta de calibração albumina ensaio 1 (R ₂)	73
Figura A.3 Reta de calibração albumina ensaio 2 (R ₁)	75
Figura A.4 Reta de calibração albumina ensaio (R ₂)	75
Figura A.5 Reta de calibração glucose ensaio 1 (R ₁)	79
Figura A.6 Reta de calibração glucose ensaio 1 (R ₂)	79
Figura A.7 Reta de calibração glucose ensaio 2 (R ₁)	81
Figura A.8 Reta de calibração glucose ensaio 2 (R ₂)	81
Figura A.9 Reta de calibração ácido galacturónico ensaio 1 (R ₁)	85
Figura A.10 Reta de calibração ácido galacturónico ensaio 1 (R ₂)	86
Figura A.11 reta de calibração ácido galacturónico ensaio 2 (R ₁).....	87
Figura A.12 Reta de calibração ácido galacturónico ensaio 2 (R ₂)	87
Figura A.13 Cromatograma 1 mg/L.....	92
Figura A.14 Cromatograma 5 mg/L.....	93
Figura A.15 Cromatograma 10 mg/L.....	93
Figura A.16 Cromatograma 20 mg/L.....	94
Figura A.17 Cromatograma 30 mg/L.....	95
Figura A.18 Cromatograma 40 mg/L.....	95
Figura A.19 Cormatograma 50 mg/L.....	96

Índice de tabelas

Tabela 1.1 Quantidade de água necessária anualmente de regadio das culturas no Alentejo ...	2
Tabela 2.1 Quantidades dos componentes necessário para a produção de uma película bioplástica.....	5
Tabela 2.2 Composição da mucilagem <i>Opuntia</i>	5
Tabela 2.3 Composição da mucilagem extraída por Rodríguez-González (2011).....	7
Tabela 2.4 Rendimentos e composições das diferentes mucilagens extraídas por Sepúlveda et al. (2007)	8
Tabela 2.5 Rendimentos e composições das 3 frações da mucilagem extraídas por Bayar et al. (2016)	9
Tabela 2.6 Composições das mucilagens extraídas por Felkai-Hadache et al. (2016).....	12
Tabela 2.7 Composições de monossacarídeos das mucilagens extraídas por Felkai-Hadache et al. (2016)	12
Tabela 2.8 Tabela resumo dos resultados da literatura.....	15
Tabela 3.1 Composição da argila.....	25
Tabela 3.2 Metodologias utilizadas para cada ensaio <i>jar test</i>	29
Tabela 4.1 Rendimentos de extração dos diferentes polímeros.....	34
Tabela 4.2 Valores de proteína total dos polímeros	35
Tabela 4.3 Valores de açúcares neutros dos polímeros.....	36
Tabela 4.4 Valores de ácidos urónicos dos polímeros	38
Tabela 4.5 Valores de cinzas dos polímeros	39
Tabela 4.6 Resultados da análise HPLC do polímero P1.....	41
Tabela 4.7 Tabela comparativa da composição de monossacarídeos presentes na mucilagem OFI.....	42
Tabela 4.8 Composição dos polímeros extraídos.....	43
Tabela 4.9 Valores de pH dos polímeros e da água tratada	43
Tabela 4.10 Valores de turvação e pH das águas residuais recolhidas (ensaios 1, 2 e 3)	49
Tabela 4.11 Valores de turvação e pH da água residual recolhida (ensaio 4)	53
Tabela 4.12 Valores de turvação e pH das águas residuais recolhidas (ensaios 5 e 6)	54
Tabela 4.13 Dosagens aplicadas para os ensaios 5 e 6	54
Tabela 4.14 Valores de turvação e pH das águas residuais recolhidas (ensaios 7 e 8)	56
Tabela 4.15 Dosagens aplicadas nos ensaios 7 e 8.....	56
Tabela 4.16 Melhores eficiências de remoção.....	60
Tabela 4.17 Resultados <i>jar test</i> Afonso Pereira (2021)	60
Tabela A.1 Concentrações e absorvâncias dos padrões de albumina (ensaio 1).....	72
Tabela A.2 Concentrações e absorvâncias dos polímeros para a caracterização de proteína (ensaio 1).....	73
Tabela A.3 Resultados de proteína (ensaio 1).....	74
Tabela A.4 Desvio padrão e coeficiente de variância relativa de proteína (ensaio 1).....	74

Tabela A.5	Concentrações e absorvâncias dos padrões de albumina (ensaio 2).....	75
Tabela A.6	Concentrações e absorvâncias das amostras para a caracterização de proteína (ensaio 2).....	76
Tabela A.7	Resultados de proteína (ensaio 2).....	76
Tabela A.8	Desvio padrão e coeficiente de variância proteína (ensaio 2)	76
Tabela A.9	Concentrações e absorvâncias dos padrões de glucose (ensaio 1)	78
Tabela A.10	Concentrações das amostras para a caracterização de açúcares (ensaio 1)	79
Tabela A.11	Resultados de açúcares (ensaio 1)	80
Tabela A.12	Desvio e padrão e coeficiente de variância de açúcares (ensaio 1)	80
Tabela A.13	Concentrações e absorvâncias dos padrões de glucose (ensaio 2)	81
Tabela A.14	Concentrações das amostras para caracterização (ensaio 2)	82
Tabela A.15	Resultados açúcares (ensaio 2)	82
Tabela A.16	Desvio padrão e coeficiente de variância de açúcares (ensaio 2)	82
Tabela A.17	Concentrações das amostras para caracterização de ácidos urónicos	84
Tabela A.18	Concentrações e absorvâncias dos padrões de ácido galacturónico (ensaio 1) ...	85
Tabela A.19	Resultados ácidos urónicos (ensaio 1)	85
Tabela A.20	Desvio padrão e coeficiente de variância ácidos urónicos (ensaio 1).....	86
Tabela A.21	Concentrações e absorvâncias dos padrões de ácido galacturónico (ensaio 2) ..	87
Tabela A.22	Resultados ácidos urónicos (ensaio 2).....	88
Tabela A.23	Desvio padrão e coeficiente de variância ácidos urónicos (ensaio 2).....	88
Tabela A.24	Resultados da caracterização de cinzas (ensaio 1)	90
Tabela A.25	Resultados da caracterização de cinzas (ensaio 2)	90
Tabela A.26	Resultados do comatograma 1 mg/L.....	92
Tabela A.27	Resultados do cromatograma 5 mg/L.....	93
Tabela A.28	Resultados do cromatograma 10 mg/L.....	94
Tabela A.29	Resultados do cromatograma 20 mg/L.....	94
Tabela A.30	Resultados do cromatograma 30 mg/L.....	95
Tabela A.31	Resultados do cromatograma 40 mg/L.....	96
Tabela A.32	Resultados do cromatograma 50 mg/L.....	96
Tabela B.1	Resultados <i>jar test</i> (ensaio 1)	98
Tabela B.2	Resultados <i>jar test</i> (ensaio 2)	99
Tabela B.3	Resultados <i>jar test</i> (ensaio 3)	99
Tabela B.4	Resultados <i>jar test</i> (ensaio 4)	100
Tabela B.5	Resultados <i>jar test</i> (ensaio 5)	101
Tabela B.6	Resultados <i>jar test</i> (ensaio 6)	102
Tabela B.7	Resultados <i>jar test</i> (ensaio 7)	102
Tabela B.8	Resultados <i>jar test</i> (ensaio 8)	103

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

AACC - *American Association for Clinical Chemistry* (Associação Americana de Química Clínica)

AOAC – *The Association of Official Analytical Chemists* (Associação dos Químicos Analíticos Oficiais)

CE – *Combine Extract* (Extracto Combinado)

CF - Cloreto férrico (**FeCl₃**)

COD - *Chemical Oxygen Demand* (Demanda de Oxigénio Químico)

ETAR - Estação de Tratamento de Águas Residuais

GE – *Gelling Extract* (Extracto Gelificante)

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

HWS – *High Weight Sample* (Amostra de Alto Peso)

LWS – *Low Weight Sample* (Amostra de Baixo Peso)

MC – *Mucilage* (Mucilagem)

NE- *Non-Gelling Extract* (Extracto Não Gelificante)

NTU – *Nephelometric Turbidity Unit* (Unidade de Turbidez Nefelométrica)

OFI – *Opuntia-ficus indica*

PC – *Pectin* (Pectina)

TFA – Ácido trifluoroacético

TFC – Total Pectic Fraction (Fração Pécica Total)

1. Introdução

1.1 Enquadramento

A planta *Opuntia ficus-indica* (OFI), mais conhecida como figueira da Índia, é uma planta superior que pertence à família da *Cactaceae*. A OFI é originária do México, encontrando-se amplamente distribuída pela América Central, América do Sul, Austrália e África do Sul [1] e países mediterrâneos [2]. Esta planta cresce essencialmente em regiões áridas e semiáridas, caracterizadas pela falta de água e em solos pouco enriquecidos, sendo das poucas plantas que se consegue adaptar às condições climáticas adversas para o seu crescimento [3].

Esta adaptabilidade, advém do facto das plantas da família *Cactaceae* produzirem a mucilagem, um complexo de polissacarídeos, que está distribuída em diferentes partes da planta tais como nas folhas e nos frutos, responsável pela retenção de água [4]. A OFI (figura 1.1) é conhecida pelo seu fruto, o figo da Índia, e as suas folhas, mais conhecido por nopal ou cladódios. Os cladódios têm a forma de uma raquete, podendo chegar a 30-80 cm de comprimento e 18-25 cm de largura. A folha é formada pelo clorênquima, onde ocorre a fotossíntese, e a parte interior branca que é parênquima, onde se encontra a mucilagem [5].



Figura 1.1 Figueira da Índia (*Opuntia ficus-indica*) (Fonte: Pepe Aromas Lda.)

Em Portugal, a utilização OFI é muito reduzida, verificando-se em algumas zonas do país, o uso destas plantas para a delimitação de terrenos privados ou agrícolas, como forragem para os animais e uma pequena parte, para o consumo humano (frutos). A empresa Pepe Aromas Lda, é uma empresa familiar dedicada à exploração do figo da Índia, azeitona e cortiça na região do Alentejo. Atualmente tem 20 ha de plantação OFI, com a finalidade da comercialização do fruto e os seus derivados, como compotas e produtos de cosmética. Para a produção do fruto, a empresa gasta em média 1000 m³/ha anualmente de água em regadio.

Tendo em conta que na região do Alentejo a precipitação média anual é de 500 mm, mas que a mesma acontece numa altura em que a planta está em dormência, verifica-se que é o

verão, na altura do desenvolvimento do fruto, que é necessário uma disponibilidade de água que pode chegar ou mesmo ultrapassar os 500 m³/ha (300-500 m³/ha) [6].

Ainda assim, comparativamente a outras culturas de regadio do Alentejo apresentadas na tabela 1.1, a produção do figo da Índia necessita de menos água de regadio. Segundo a Pepe Aromas Lda, comparativamente com outras culturas existentes na região, o cultivo da figueira da Índia utiliza cerca menos de 80% de água que as culturas da noqueira ou a amendoeira, e menos de 50-60% da cultura das vinhas ou dos olivais.

Segundo as declarações dadas em 2019 pela investigadora Vanda Pires, do IPMA, Portugal tem sofrido desde 1980, grandes períodos de seca, sendo que a partir dos anos 2000, foi mais frequente, tendo passado períodos de seca em 2009, em 2012, 2015, em 2017-2018. A mesma afirma, que os efeitos da seca fazem-se sentir sobretudo na agricultura e na pecuária. [7] Segundo dados do IPMA, a seca mais longa foi entre 1943-46, e em 2004-06, foi o período em que a seca foi mais significativa e intensa [8]. Em 2017, 10 barragens do Alentejo encontravam-se em estado crítico, com menos de 20% do armazenamento [9].

Tabela 1.1 Quantidade de água necessária anualmente de regadio das culturas no Alentejo [10]

Cultura	m ³ /ha
Figo da Índia	1 000
Girassol	2 500
Milho híbrido	7 000
Trigo Duro	3 000
Pimento	8 280
Melão	2 500
Batata	2 500
Maçã	5 500
Pêra	5 500
Pêssego	5 500
Ameixa	5 500

Como referido anteriormente, os cladódios produzem a mucilagem que tem sido alvo de estudo para diversas aplicações como fibra dietética [11], uso medicinal [12,13], digestivo [14,15], aditivo de argamassa de cal [16] e agente emulsificante [17]. Outros estudos, indicam que a mucilagem pode ser usada como agente coagulante/floculante no tratamento de águas na remoção da turvação [18–20].

Por outro lado, como referido anteriormente, a exploração da figueira da Índia, em Portugal rege-se principalmente pela produção do fruto e o uso como forragem, sendo esta última de baixo valor acrescentado à exploração. Neste trabalho pretende-se estudar as aplicações dos cladódios de modo a acrescentar valor à exploração da figueira, que tem por vantagens gastar

menos água de regadio comparativamente a outras culturas existentes na região, suprimindo assim as secas contantes na região.

1.2 Objetivos

O presente trabalho tem como principais objetivos: 1) extrair a mucilagem presente nos cladódios, usando, como referência, os métodos de extração encontrados na literatura; 2) caracterizar a mucilagem produzida pelos diferentes métodos de extração, quanto à sua composição (açúcares neutros, proteína total, ácidos urónicos e monossacarídeos); 3) testar os polímeros extraídos numa água turva sintética, e avaliar o seu desempenho na remoção da turvação e sedimentação dos sólidos que conferem a turvação da água; 4) testar a sua eficiência na remoção da turvação de uma água residual real, face aos agentes de coagulação-floculação usados industrialmente.

Desta forma, pretende-se aumentar o valor da produção desta planta, que é explorada em Portugal para a comercialização do seu fruto. Por outro lado, do ponto vista ambiental, uma possível alternativa mais sustentável para o tratamento de águas no processo de coagulação-floculação.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Estudos realizados da OFI

A planta OFI para além do seu fruto para o consumo humano, as folhas da planta, os cladódios, têm sido consumidos como verdura há desde os tempos antigos no México consumido como verdura. No México, existem vários produtos alimentares derivados dos cladódios em combinação com outros alimentos. Para além de produtos alimentares, existem também produtos farmacêuticos tais como cremes, géis, shampoos e xaropes [21].

Além de servir como alimento, os cladódios têm sido estudados para diversas aplicações, devido à mucilagem presente nos cladódios. Frati et al. (1990) [22] conclui que a ingestão de cladódios pode diminuir os níveis de glucose no sangue, pelo estudo da ingestão no período de 10 dias num pequeno grupo de diabéticos não dependentes de insulina.

A mucilagem extraída dos cladódios tem sido alvo de estudo para uso como biofilme. Os biofilmes comestíveis têm como função revestir alimentos de modo a aumentar a validade dos alimentos frescos e que estes não percam as suas propriedades. Del-Valle et al. (2005) [23] e Alegria et al. (2017) [24] estudaram a mucilagem como revestimento em morangos e figos, respetivamente, mergulhando os frutos na mucilagem, e avaliando as suas propriedades tais como o sabor, a cor, o sabor e firmeza ao longo do período de estudo (12 dias). Ambos concluíram que a mucilagem pode ter efeito protetor nos frutos, sustentada pelas propriedades avaliadas face aos frutos em que não se aplicaram o revestimento.

Cárdenas, Arguelles e Goycoolea (1998) [25] estudaram o sumo extraído dos cladódios como aditivo na argamassa de cal, como agente de impermeabilização. Para tal, misturaram o sumo com Ca(OH)_2 em diferentes proporções (0,65%, 1% e 1,95%). As pastas foram moldadas em forma de cilindro com 1,3 cm de diâmetro e 1,1 cm de altura. Os cilindros foram secos num forno durante 4h a 60 °C. Os cilindros secos foram submetidos a testes mecânicos de resistências no analisador de textura TX-TX2. Este concluíram, que com o aumento da concentração da mucilagem, reduziu drasticamente a tensão máxima e os valores de deformação, quando comparados ao cilindro em que não foi adicionado qualquer sumo.

A investigadora Sandra Pascoe da *Universidad del Valle* de Atemajac, no México, desenvolveu uma tecnologia patenteada (WO 2016 / 093685), de um bioplástico produzido a partir do sumo de nopal. [26]. Segundo a patente, o bioplástico consiste numa mistura de 4 componentes, sendo eles o sumo de nopal, a glicerina, uma proteína rica em colagénio e uma cera de origem vegetal. O método de produção passa por misturar a proteína natural com o sumo de nopal numa relação de 1:5, a 600 rpm durante 10 minutos a 70 °C. Juntar posteriormente o humectante (glicerina) e a cera previamente derretida à mistura anterior a 600 rpm, durante 15 minutos a 90 °C. Na tabela 2.1 são apresentadas as quantidades necessárias para se fazer uma película plástica biodegradável [27].

Tabela 2.1 Quantidades dos componentes necessário para a produção de uma película bioplástica [27]

Componente	Quantidade (g)
Sumo de nopal	64
Gelatina	18
Cera de candelila	9
Glicerina	9

2.2 Composição da mucilagem

Amin et al. (1970) [28] concluiu que a mucilagem é um polissacarídeo neutro, com cerca de 55 resíduos de açúcares, sem vestígios de ácido urónico, composto por arabinose, ramnose, galactose e xilose. Segundo Trachtenberg e Mayer (1981) [29] a mucilagem extraída da OFI de Jerusalém é composta de arabinose, galactose, ramnose, xilose e ácido galacturónico.

O peso molecular da mucilagem reportado por Trachtenberg e Mayer (1981) [29] foi de 4.3×10^6 g.mol⁻¹, enquanto que Cárdenas et al. (1997) [30] foi de 3×10^6 g.mol⁻¹. Por outro lado, Medina-Torres et al. [31] foi de $2,3 \times 10^6$ g.mol⁻¹. De acordo com estes autores, as contradições podem ser explicadas pela contaminação da mucilagem com outros compostos da parede celular, e/ou do método utilizado para a sua purificação.

De um modo geral, a mucilagem pode ter quantidades variadas de L-arabinose, D-galactose, L-ramnose e D-xilose como principais açúcares neutros. A presença de ácido D-galacturónico pode ser também encontrada. Na tabela 2.2 apresentam-se as composições reportadas por diferentes autores, em relação à mucilagem extraída da espécie *Opuntia*. Segundo Trachtenberg e Mayer (1981) [29] e Nobel et al. (1992) [32], a mucilagem presente em OFI é composta por 24,6-42% de arabinose, 21-40,1% de galactose, 8-12,7% de ácido galacturónico, 7-13,1% de ramnose e 22-22,2% de xilose.

Tabela 2.2 Composição da mucilagem *Opuntia* (G-Galactose; R-Ramnose; A-Arabinose; X-xilose; AC-Ácido Galacturónico)

Autor	M _{molecular} g.mol ⁻¹	G	R	A	X	AC
Goycoolea et al. (2000) [33]		+	+	+	+	
Cárdenas et al. (1997) [30]	3×10^6					
Sáenz e Sepúlveda (1993) [5]		+	+	+		+
Sáenz et al. (1992) [5]		+	+	+		+
Trachtenberg e Mayer (1982) [34]	$1,56 \times 10^6$					
McGarvie e Parolis (1981) [35]		+	+	+	+	+
McGarvie e Parolis (1981) [36]		+		+	+	
Trachtenberg e Mayer (1981) [37]	$4,3 \times 10^6$	+	+	+	+	+
McGarvie e Parolis (1979) [38]		+	+	+	+	+

Segundo Goycoolea e Cárdenas (2003), as substâncias de pectina são uma grande família de elementos estruturais de paredes celulares primárias e regiões intercelulares de plantas superiores, onde funcionam como agente hidratante e material de cimentação da rede celulósica [39]. A presença de pectinas foi documentada por Villareal et al. (1963) em 6 espécies e variedades de *Opuntia*, mostrou que o rendimento da extração de pectina solúvel em água foi entre 0,13% e 2,64% de base húmida [5].

Majdoub et al. (2001) isolou 2 frações distintas da mucilagem, denominando-as de peso molecular superior de 13×10^6 g.mol⁻¹ (HWS) e peso molecular inferior de $3,9 \times 10^3$ g.mol⁻¹ (LWS). Os autores reportaram que HWS é composto por polissacarídeos, sem vestígios de proteína, com cerca de 20% de polissacarídeos carregados, sugerindo a possibilidade deste tipo de polissacarídeos interagirem com cátions divalentes [5].

2.3 Extração e caracterização da mucilagem

Para a extração da mucilagem, os cladódios são previamente lavados com água corrente, de modo a eliminar toda a sujidade e poeira existente na superfície das folhas, e retirados os espinhos. As folhas são descascadas ou retirada a cutícula.

A extração e purificação da mucilagem presente nos cladódios tem sido estudada por vários autores, sendo que Rodríguez-González *et al.* (2011) [40] e Hassan et al. (2017) [41] maceraram as folhas em água destilada, cortando-as em pedaços mais pequenos ou liquidificando-as com água destilada. Rodríguez-González et al. (2011) [40] adicionou etanol ao extrato obtido, de modo a precipitar a mucilagem.

Sepúlveda *et al.* (2007) [42] fez um estudo relativamente ao tempo de maceração (4,8 e 16h), à razão de água utilizada (1:5 e 1:7 (v/v)) e à temperatura de maceração (16 °C e 40 °C), chegando à conclusão de que o rendimento foi maior, quando se usou uma razão de 1:7 de folha/água (p/v) a 40 °C durante 4h.

Já Rodríguez-González et al. (2011) [40], fez um estudo de otimização em relação à razão de folha/água (1:1, 1:2, 1:3 e 1:4 (p/v)), ao tempo de extração (1h,2h,3h e 4h) a 80 °C, à razão de extrato/etanol (1:1, 1:2, 1:3 e 1:4 (v/v)) e ao ajuste de pH da solução (4,2,3 e 1), usando o pH não modificado como controlo. Este conclui, que as variáveis em que obteve maior rendimento de extração, foi a uma razão de 1:2 de água/folha, extraídas durante 1h a 80 °C, posteriormente precipitado com etanol a 1:4 (v/v) e sem modificação do pH. Os rendimentos de extração reportados pelo autor foram entre 0,5-0,6 % (g de pó seco/ 100 g de folha fresca). Na tabela 2.3, são apresentados os resultados da caracterização da mucilagem realizada pelo autor, usando os métodos de caracterização descritos em *Association of Official Agricultural Chemists* (AOAC (1990)) e em *American Association for Clinical Chemistry* (AACC (2000)).

Tabela 2.3 Composição da mucilagem extraída por Rodríguez-González (2011) [40]

Humidade	9,31%
Cinzas	11,91%
Proteína	6,69%
Lípidos	0,03%
Fibra dietética Total	57,83%
Solúvel	56,80%
Insolúvel	1,03%
Pectina	2,51%
Açúcares Totais	13,00%

O método convencional de extração passa por cortar os cladódios em pedaços mais pequenos com cerca de 1-2 cm², cozê-los em água destilada e filtrado, de modo a separar o extrato dos pedaços. Por sua vez, este extrato pode ser seco [19] ou precipitado com etanol [43]. O precipitado pode ser separado através de um pano fino de algodão [43] ou centrifugando a solução a 3560×G durante 10 minutos e posteriormente recolhida a goma, descartando o sobrenadante [42]. A goma é lavada com etanol e seca no forno a 45 °C durante 24h [43] ou a 70 °C durante 4h [42]. Por último, a goma seca é moída até se obter um pó esbranquiçado.

Enrique et al. (2013) [18] descascou as folhas, cortou-as em pedaços mais pequenos e lavou-os com água clorada. Após deixar secar durante 1h, os pedaços foram triturados e posteriormente passados numa peneira com poros de 1 mm. O filtrado foi precipitado com diferentes solventes (etanol e isopropanol). O precipitado foi separado e seco num forno a vácuo.

Sepúlveda et al. (2007) [42] realizou também um estudo relativamente ao tipo de solvente de extração (etanol 95% e isopropanol) com diferentes proporções (1:3 e 1:4 (v/v)), concluindo que não obteve diferenças significativas relativamente ao rendimento obtido, contudo o uso de isopropanol, na razão 1:3 (v/v) é preferido, devido ao seu custo comercial ser menor face ao etanol. Sepúlveda et al. (2007) caracterizou a mucilagem extraída pelos diferentes solventes e proporções de volume usados. Na tabela 2.4 encontram-se os rendimentos de extração (g de pó seco/100 g de folha fresca) e as percentagens de humidade, proteína, cinzas e compostos inorgânicos (azoto, cálcio e potássio) das diferentes mucilagens extraídas pelo autor. Para a caracterização da proteína foi usado o método de micro-Kjeldahl, usando o fator de 6,25 para o cálculo da percentagem de proteína. A percentagem de cinzas foi determinada pela inceneração na muffle a 550 °C durante 8h. A humidade foi determinada pela secagem das amostras num forno a vácuo a 73 °C. Para a determinação de compostos inorgânicos foram feitos a partir do método fotométrico. Todos os métodos de caracterização usados pelo autor foram baseados nos métodos descritos em AOAC (1984).

Tabela 2.4 Rendimentos e composições das diferentes mucilagens extraídas por Sepúlveda et al. (2007) (a = nível de significância $p \leq 0,05$) [42]

Solvente Razão (v/v)	Rendimento (g/100 g de folha)	Humidade (g/100 g folha)	Proteína (g/100g)	Cinzas (g/100g)	Compostos Inorgânicos		
					N	Ca	K
Etanol 95% (1:3)	1,51 a±0,1	6,0 a±0,1	7,5 a±0,1	36,8 a±1,0	1,02	8,3	1,15
Etanol 95% (1:4)	1,58 a±0,0	6,0 a±0,4	7,4 a±0,1	37,6 a±3,5	1,18	8,7	1,47
IPA (1:3)	1,36 a±0,1	6,2 a±0,1	6,7 a±0,3	38,1 a±2,5	1,07	8,2	1,15
IPA (1:4)	1,58 a±0,1	5,6 a±0,2	7,3 a±0,2	36,7 a±2,0	1,17	8	1,47

Outro método de extração, usado por Bustillos et al. (2013), passou por extrair o sumo das folhas através de um extrator de sumo de frutas/vegetais. O sumo obtido foi centrifugado a 6000 rpm durante 1h, de modo a obter a mucilagem pura transparente, que foi posteriormente seca num secador de leito fluidizado [19].

Segundo Bouatay e Mhenni (2014) [44], T. Nharingo et al. (2015) [45] e Bayar et al. (2016) [46], estes secaram as folhas num forno durante 24h a 60-70 °C, as folhas secas foram posteriormente moídas até obter um pó e armazenado num recipiente hermético até ao seu uso.

Bayar et al. (2016) [46] extraiu 3 tipos de polissacarídeos do pó de cladódio seco, sendo eles a fração total péctica da mucilagem (TFC), a mucilagem (MC) e a pectina (PC). Este, usou o método descrito por Bagherian et al. (2011) [47] para extrair TFC e o método descrito por Habibi et al. (2004) [48] para extrair MC, representados pelo esquema da figura 2.1. Os resíduos resultantes da extração de MC foram usados para extrair PC, usando o método para TFC. Este concluiu, que PC contem uma maior quantidade de ácidos urónicos face a MC e TFC.

Bayar et al. (2016) [46] caracterizou as diferentes frações da mucilagem obtidas. Na tabela 2.5 apresentam-se os resultados de cada caracterização das diferentes frações da mucilagem, expressas em percentagem de peso seco. Para a determinação das percentagens de humidade e cinzas usaram-se os métodos 930.15 e 942.05 presentes em AOAC (2000), respetivamente. Para a caracterização de proteína, açúcares totais e ácidos urónicos foram usados o método de Bradford [49], método do fenol sulfúrico [50] e o método descrito por Filisetti-Coza Carpita [51], respetivamente.

Young et al. (2008) [52] e Pichler et al. (2012) [20] usaram o método descrito por Goycoolea e Cárdenas (2003) [39] e representado pelo esquema da figura 2.2, de modo a obter as frações gelificante (GE) e não gelificantes (NE) da mucilagem. Nos cladódios e no fruto da espécie *Opuntia* pode-se encontrar dois tipos distintos de polissacarídeos pécticos, sendo a mais conhecida a mucilagem e a fração gelificante sensível ao cálcio.

Tabela 2.5 Rendimentos e composições das 3 frações da mucilagem extraídas por Bayar et al. (2016) [46]

	TFC	PC	MC
	% (p/p) seco		
Rendimento	13,12 ±2,19 ^a	6,13±0,60 ^a	10,25±0,69 ^a
Humidade %	10,66 ±0,73 ^a	9,67 ±1,44 ^a	10,25 ±2,62 ^a
Cinzas	13,78 ±1,15 ^a	5,08±0,13 ^b	35,52 ±0,41 ^c
Proteína	0,32 ±0,01 ^a	0,47±0,02 ^b	0,92 ±0,03 ^c
Açúcares Totais	85,31 ±1,77 ^a	93,81±0,48 ^b	63,45 ±1,75 ^c
Ácidos Urónicos	60,66±7,02 ^a	79,82 ±0,25 ^b	11,64 ±0,51 ^c

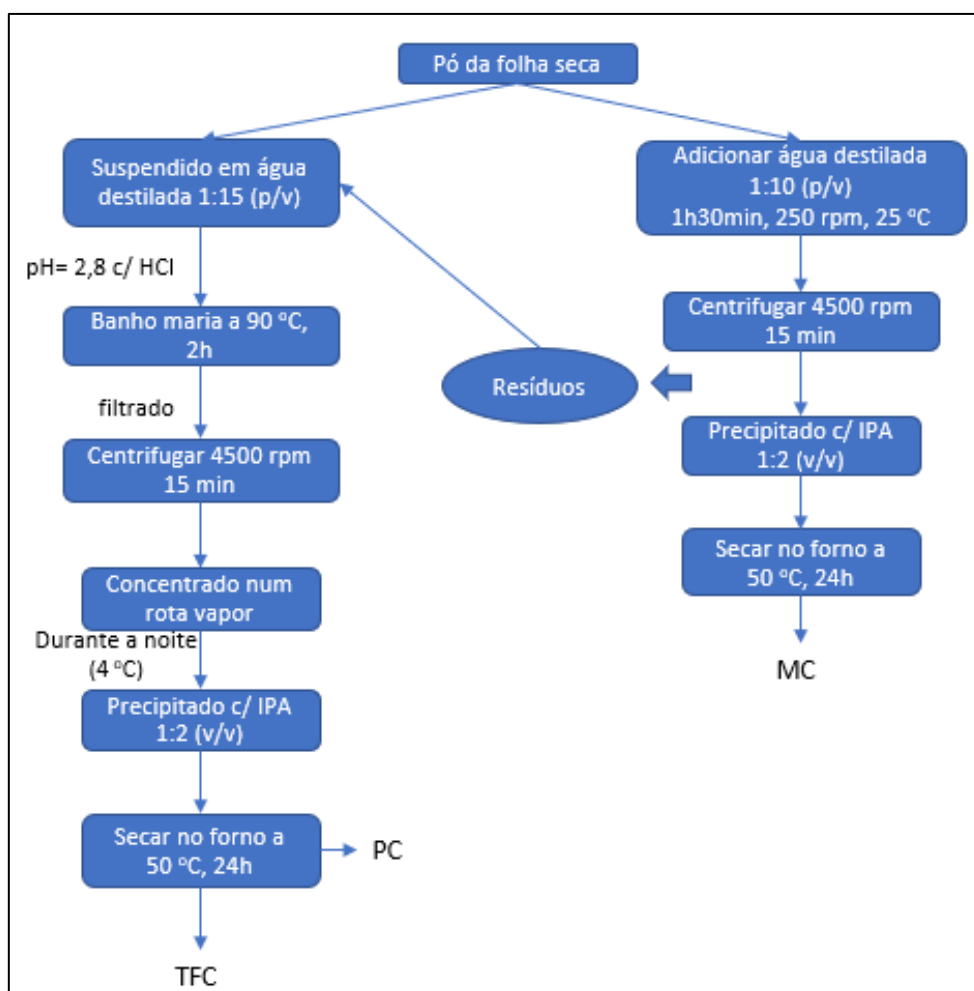


Figura 2.1 Esquema do método de extração TFC, MC e PC usado por Bayar et al. (2016) [46]

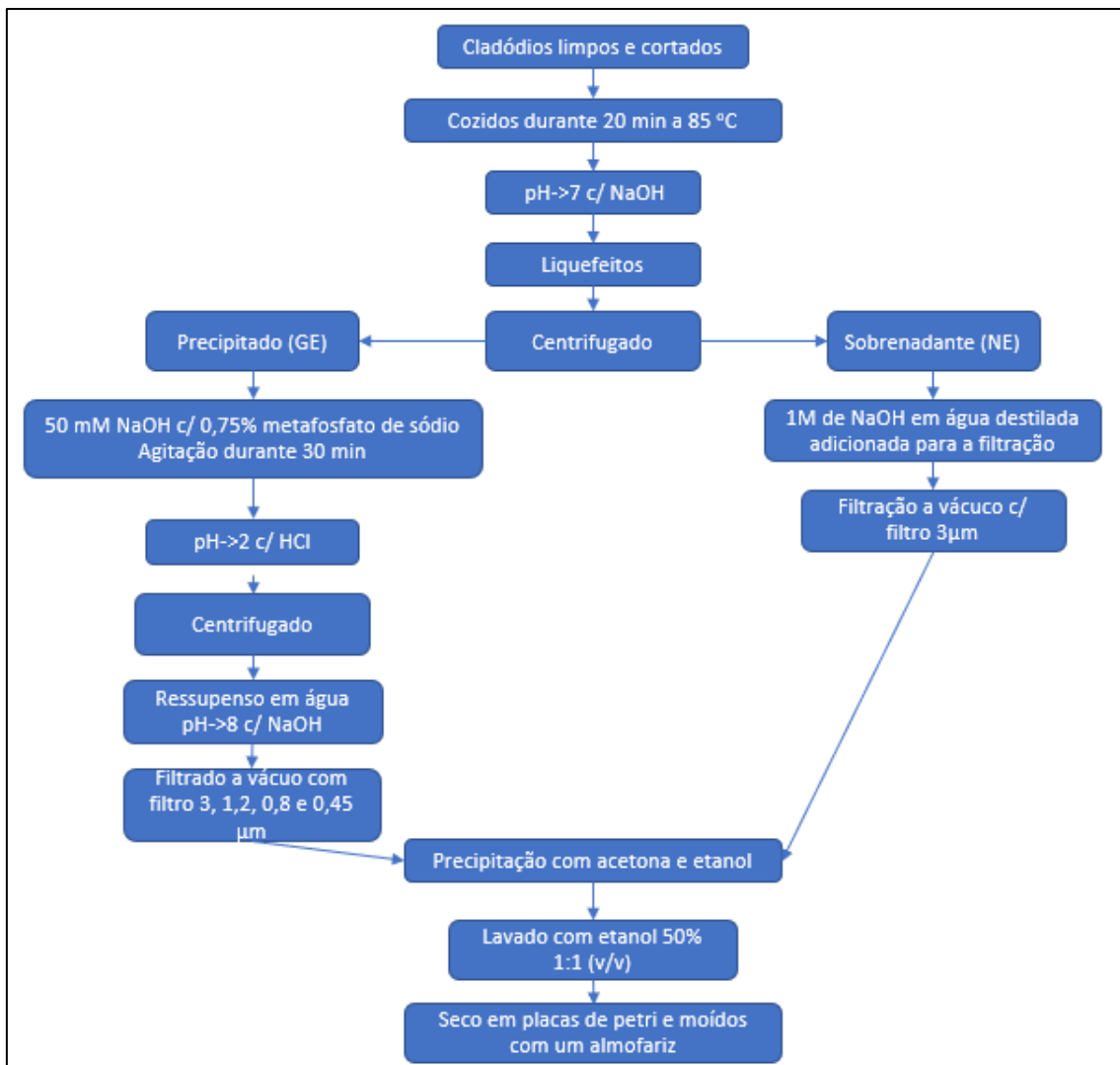


Figura 2.2 Esquema do método de extração das frações GE e NE da mucilagem [39]

Segundo Felkai-Haddache et al. (2016) [53] e Adjeroud et al. (2018) [54], foi feita a extração da mucilagem assistida por micro-ondas, triturando as folhas com água destilada, e levando a mistura ao micro-ondas.

Felkai-Haddache et al. (2016) [53] realizou um estudo, comparando a extração da mucilagem assistida por micro-ondas face ao método convencional. Para o método assistido por micro-ondas, usou 3 potências diferentes (500W, 700W e 900W), durante 7 minutos, 1 minuto por passo, enquanto para o método convencional usou 2 temperaturas diferentes (20 e 80 °C) com diferentes tempos de extração (1h, 2h, 3h e 4h). Os extratos obtidos foram centrifugados, o sobrenadante foi recolhido e precipitado com etanol 95% na proporção de 1:3 (v/v). O precipitado foi separado, congelado e liofilizado. O método é representado pelo esquema da figura 2.3.

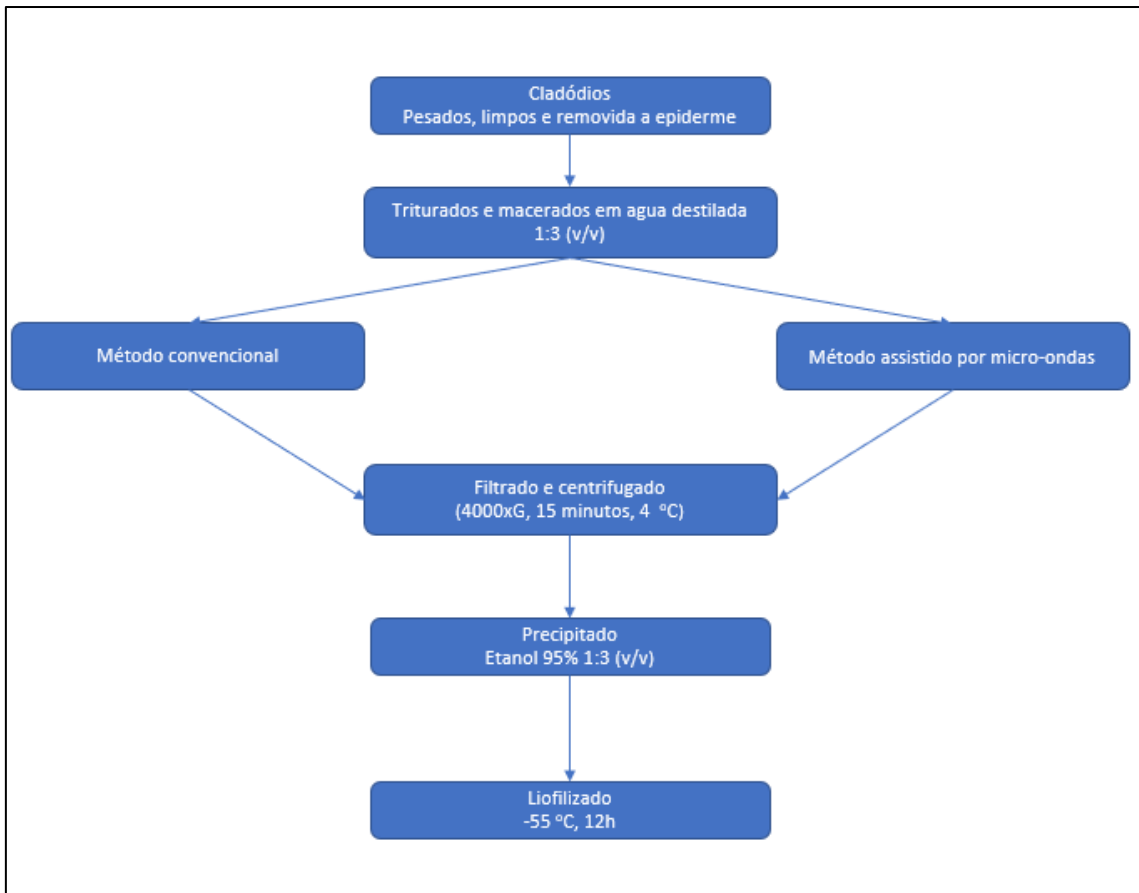


Figura 2.3 Esquema do método de extração usado por Felkai-Hadache et al. (2016) [53]

Os melhores rendimentos obtidos por Felkai-Hadache et al. (2016) [53] de extração que obteve foram de 8.03%, 8.81% e 8.95% (p/p seco) para a extração feita a 500W/7 min, 700W/5 min e 900W/3min respetivamente. Enquanto para o método convencional, o melhor resultado obtido foi de 6.91%, para a extração feita a 80 °C durante 2h. Este, observou que a 80 °C, com tempo de extração superior a 2h (3h) reduziu significativamente o rendimento de de extração (4,87 %) devido ao facto explicado por Zheng et al. (2011) [52], que com o aumento da temperatura faz com que a viscosidade do solvente diminua, o que melhora a difusão do soluto na matriz vegetal, aumentando a solubilidade dos polissacarídeos na solução. Mais, o aumento do tempo de extração induzirá a gelificação dos polissacarídeos, o que dificultará a separação.

Felkai-Hadache et al. (2016) [53] caracterizou a mucilagem obtida pelos diferentes métodos, em relação à proteína, açúcares neutros, ácidos urónicos e monossacarídeos. Na tabela 2.6 são apresentados os valores reportados pelo autor em relação à proteína, ácidos urónicos e açúcares totais. Os métodos usados para cada caracterização foram os métodos de Pierce BCA, Blumenkrantz e Asboe-Hansen [55] e o método descrito por DuBois et al. (1956) [50], respetivamente. Para a determinação da composição de monossacarídeos, o autor usou o método descrito por Ray et al. (2004) [56] determinados por GC. Os monossacarídeos reportados pelo autor apresentam-se na tabela 2.7.

Tabela 2.6 Composições das mucilagens extraídas por Felkai-Hadache et al. (2016) (a,b,c,d = nível de significância $p \leq 0,05$) [53]

Método		Proteína	Ácidos urónicos	Açúcares totais
		µg / mg polímero		
Convencional	20 °C/3h	155 ±0,96a	45 ±0,6c	494 ±9a
	80 °C/2h	156 ±1,01a	51 ±0,5e	558 ±5ab
Micro-ondas	500W/7 min	162 ±1,48b	48 ±0,1dc	746 ±5b
	700W/5 min	164 ±0,57a	44 ±0,8b	744 ±8b
	900W/3 min	169 ±0,99d	39 ±0,3a	752 ±3b

Tabela 2.7 Composições de monossacarídeos das mucilagens extraídas por Felkai-Hadache et al. (2016) [53] (A-Arabinose; G-Galactose; X-Xilose; R-Ramnose)

Método		A	G	X	R
		Razão molar			
Convencional	20 °C/3h	41 ±0,6c	31 ±1,1b	19 ±0,6b	7 ±0,6d
	80 °C/2h	39 ±2,0c	31 ±0,4b	20 ±0,8c	7 ±0,4d
Micro-ondas	500W/7 min	36 ±0,6a	32 ±0,8c	18 ±1,0a	6 ±1,2d
	700W/5 min	38 ±0,4b	30 ±0,4a	20 ±1,3c	5 ±0,5b
	900W/3 min	42 ±1,6d	30 ±1,3a	21 ±0,8d	4 ±1,7a

2.4 Uso da mucilagem na remoção da turvação da água

Vários investigadores têm usado a mucilagem extraída, no processo de coagulação-floculação no tratamento de águas para a remoção da turvação da água [19, 20, 43, 57–59]. Outros autores estudaram também a mucilagem para a remoção de metais pesados [45, 54].

Os termos de coagulação e floculação são frequentemente usados como sinónimos, ambos dizem respeito ao processo integral de aglomeração de partículas. O processo de coagulação-floculação é usado no tratamento primário das águas residuais [60].

As águas residuais dependendo da sua origem, podem conter diferentes tipos de constituição. As partículas presentes numa água em suspensão podem apresentar vários diâmetros. Existem partículas que sedimentam e outras de menor dimensão que nunca chegam a sedimentar, designados por partículas coloidais. As partículas coloidais apresentam diâmetros compreendidos entre 0,001 e 1 µm. Estas partículas são responsáveis, na maioria das vezes pela cor e turvação presente nas águas [60].

A turvação é a medida, em NTU (*Nephelometric Turbidity Units*), da clareza relativa de um líquido. É a medida da intensidade de luz espalhada a 90 graus conforme um feixe de luz passa pela amostra de água. Quanto maior a intensidade da luz espalhada, maior a turvação [61].

Os sólidos suspensos na água têm uma carga negativa e uma vez que tenham o mesmo tipo de carga superficial, estas repelem-se entre elas quando estas se aproximam. Por isso, os sólidos suspensos permanecem estáveis em suspensão [62].

O objetivo principal de um processo de coagulação-floculação é promover a agregação de coloides em suspensão, de modo que adquiram densidade suficiente para precipitar e assim serem removidos. Desta forma, o processo elimina a turvação, cor aparente, matéria orgânica natural e microrganismos [62].

No processo de coagulação ocorre a destabilização das cargas das partículas existentes na água. Para o efeito são adicionados coagulantes químicos com carga oposta aos sólidos suspensos, de modo a neutralizar as cargas negativas não sedimentáveis por ação da gravidade. A carga uma vez neutralizada, as partículas suspensas são capazes de se agregarem. As partículas formadas neste processo são chamadas de microflocos, invisíveis a olho nu. Nesta fase é induzida a mistura rápida de modo a dispersar o coagulante adicionado e promover a colisão entre partículas [60].

Os coagulantes metálicos mais usados são essencialmente, os que contêm iões de alumínio (sulfato de alumínio, cloreto de alumínio e aluminato de sódio) e os que contêm iões de ferro (sulfato férrico, cloreto férrico). A eficácia destes coagulantes surge principalmente pela sua habilidade de formar complexos polinucleares multicarregados [62].

A floculação tem por objetivo a aglomeração das partículas por efeito de transporte de fluido, de modo a formar partículas de maiores dimensões. Destina-se a promover a colisão das partículas destabilizadas e a favorecer a sua agregação em flocos de massa específica superior à água através da mistura lenta [60].

Bustillos et al (2013) estudou a mucilagem extraída de 4 métodos diferentes, como agente coagulante-floculante no tratamento de água residuais, com pH=5,51 e uma turvação inicial de 3390 NTU, comparando o desempenho de cada um com o cloreto férrico. As respostas medidas foram a percentagem de remoção da turvação inicial e da remoção de COD. Os produtos foram aplicados na água a tratar com uma concentração de 150 mg L⁻¹. Os resultados preliminares mostraram que o método de extração teve efeito na performance na operação de coagulação-floculação. A melhor eficiência de remoção da turvação inicial obtida foi de 88.4%, usando o pó obtido do cladódio seco no forno. Por outro lado, ao ter aplicado pó de mucilagem, pela secagem do extrato de mucilagem, não houve qualquer remoção da turvação. Obteve uma remoção de COD inicial de 41,2% ao ter aplicado o pó obtido do cladódio seco no forno, face a 27,6% quando aplicado o cloreto férrico [19].

Pichler et al (2012) testou 3 tipos de frações da mucilagem, a fração gelificante (GE), não gelificante (NE) e a combinada (CE), como agente floculante em comparação com o sulfato de alumínio numa água turva sintética com pH=7, para a remoção da turvação da mesma. Os resultados mostraram que GE teve uma melhor performance face ao sulfato de alumínio aplicadas a uma água turva com 5 g L⁻¹ de caulino, numa concentração de 3 mg L⁻¹. Os resultados

mostraram também numa diminuição do tempo de sedimentação em comparação ao sulfato de alumínio [20].

Por outro lado, Enrique et al. (2013) aplicou a mucilagem numa água real com uma turvação inicial de 276 NTU e pH=7,22, em comparação ao sulfato de alumínio em diferentes concentrações (35 e 40 g L⁻¹) e diferentes velocidades de agitação em ensaios de *jar test* (100 e 200 rpm). Este verificou que para o caso de sulfato de alumínio, houve uma maior remoção (99,8 %) para uma maior velocidade (200 rpm) e menor concentração (35 mg L⁻¹). No caso da mucilagem, obteve um melhor desempenho para uma menor velocidade de rotação (100 rpm) e maior concentração aplicada (40 mg L⁻¹). Contudo, obteve uma melhor remoção da turvação inicial usando o sulfato de alumínio (99,8%) face à mucilagem (93,25%) [18].

Al-aubadi et al. (2015) realizou estudos da mucilagem extraída dos cladódios OFI como coagulante natural e aditivo de floculante juntamente com alumínio para o tratamento de água potável. A influência do pH mostrou que para pH=7 obteve-se a maior remoção de turvação. [43]. Muitos estudos indicaram que o pH típico de maior parte dos coagulantes naturais para remover a turvação da água está entre 6.5-7.5, e o pH tem um papel importante na mudança da carga elétrica dos grupos ativos tais como o ácido galacturónico na mucilagem dos catos, e isto afeta incluindo a ligação entre os grupos ativos do coagulante e as partículas suspensas. (Jadhav e Maharan (2013) [63] ; Omer et al (2013) [64]). Bouatay e Mhenni (2014) reportaram que o pH da água entre 7-8 é o mais adequado para o uso da mucilagem do cato como coagulante [44].

Foi estudada também o uso da mucilagem como agente floculante na remoção de metais pesados nas águas. Hassan et al. (2017) reportou uma remoção entre 72-77% de zinco e níquel, e uma remoção quase total de cádmio e cobre no efluente industrial de um esgoto [41].

Nharingo et al. (2015) aplicou a mucilagem extraída na remoção de iões de chumbo presentes nas águas residuais, efetuando um estudo em relação aos fatores que influenciam que a floculação tais como o pH, o tempo de contato, a temperatura, a dose floculante, a força iónica e a concentração do alvo poluente. Este, conclui que as condições ótimas foram para a água a tratar com valor de pH=5 a uma concentração de 8 mg L⁻¹ de pó de mucilagem. O processo foi mais eficiente com tamanho das partículas do pó de mucilagem menores que 75 µm a 35 °C para um tempo de sedimentação de 3h [45]. Na tabela 2.8 são apresentados os resultados de eficiências de remoção de diversos autores.

Beyene et al. (2016) [66] testou o pó de cladódio em diferentes concentrações (0.5, 1.5, 2,5 e 3,5 g/L) , numa água com turvação inicial de 48 NTU verificou que o aumento da dosagem aplicada, traduziu-se num aumento da remoção da turvação inicial, tendo obtido a eficiência máxima de remoção de 54%, quando aplicados 3,5 g L⁻¹ de pó de cladódio.

Tabela 2.8 Tabela resumo dos resultados da literatura (TDS = Total Dissolved solids; DOC = Dissolved Organic Carbon; TOC = Total Organic Carbon; COD = Chemical Oxygen Demand; DO = Dissolved Oxygen)

Autor	Água tratada		Jar test		Polímero (mucilagem)	
	Tipo	Características iniciais		Dosagens	Eficiências máximas	Preparação
Shilpa et al. (2012) [65]	Lago Kukkarahalli, Índia	83 NTU	100 rpm/1min => 30 rpm/10 min => Sedimentação 20 min	10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg/L	NTU 89,3% (20 mg/L)	Pedaços de cladódios (1cm2) secos no forno a 60 °C, 24h; Moído e peneirado (300 um)
Bustillos et al. (2013) [19]	Efluente industrial cosmético	3390 NTU COD = 16700 mg/L pH = 5,51	100 rpm/3 min => 20 rpm/15 min => sedimentação 20 min	150 mg/L	COD 41,4% NTU 88,4%	Cladódios secos a 60-70 °C, moído
Enrique et al. (2013) [18]	Rio Magdalena, Colômbia	276 NTU pH = 7,22 TDS = 2755,5 mg/L	100 e 200 rpm/1 min => Sedimentação 30 min	35 e 45 mg/L	NTU 93,25% (40 mg/L; 100 rpm)	Cladódios descascados => pedaços triturados; peneirado a 1 mm=> precipitado com etanol; seco a vácuo
Bouatay e Mhenni (2014) [44]	Efluente Têxtil	38 NTU; COD = 2350 mg O ₂ /L pH = 11,9	200 rpm/5 min=> 20-100 rpm/2-20 min=> sedimentação 30 min	30 mg/L Al ₂ (SO ₄) ₃ + 20-100 mg/L P	COD 99,84% NTU 91,66% (pH=7, 40 mg/L, 30 rpm, 11 min)	Cladódios secos ao sol 3h; cortado em pedaços, secos no forno 60 °C, 24h; moído
Aubadi et al. (2015) [43]	Rio Tigre, Jádriya + água sintética de argila	53, 100 e 200 NTU pH = 7,4; 7,8; 8,2 DOC = 3,7-4 mg/L TOC = 14,3-26,1 mg/L	200 rpm/1 min => 40 rpm/20 min Sedimentação 20 min	5, 10, 20, 30 e 40 mg/L	53 NTU - 5 mg/L (66,6%) 100 NTU - 10 mg/L (70%) 200 NTU - 30 mg/L (76%)	Pedaços cozidos => extrato precipitado com etanol 1:1 (v/v), goma seca a 45 °C, 24h
Beyene et al. (2016) [66]	Adigrat, Etiópia	41,38 NTU; pH = 7,81; TDS = 354 mg/L DO = 6,94 mg/L	100 rpm/1min => 30 rpm/20 min => Sedimentação 20 min	0,5; 1,5; 2,5 e 3,5 g/L	NTU 54% (3,5g/L)	Cladódios secos a 70-90 °C; moídos num almofariz
Amira et al. (2017) [67]	Rio Hammam Melouan, Argélia	120 NTU; 790 µS/cm TDS=506 mg/L pH=8,2	150 rpm/2min => 40 rpm/15 min => sedimentação 30 min	0,025-0,8 ml	NTU 99,56 % (0,08 ml/L = 0,3 mg liofilizado/L)	Pedaços de cladódios descascados com água destilada no forno a 100 °C, 2h; extrato obtido armazenado a 4 °C

3. Materiais e métodos

Neste capítulo serão apresentados todos os procedimentos experimentais e os materiais usados no decorrer das experiências. Os ensaios da extração da mucilagem e as suas caracterizações foram realizadas nos laboratórios 407, 521 e 610 de *BioEng* da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade NOVA. Realizaram-se testes preliminares de remoção de turvação, usando uma água turva sintética preparada a partir de argila, no laboratório 521. Os ensaios de *jar test* foram realizados na ETAR de Alcântara.

3.1 Extração da mucilagem

A folhas do cato da espécie OFI foram colhidas na Herdade da Azinheira, Vale do Pereiro no distrito de Évora em Portugal. As folhas foram doadas pela empresa *Pepe Aromas, Lda*.



Figura 3.1 Plantação OFI, Vale do pereiro

Os métodos de extração da mucilagem escolhidos tiveram com base nos artigos científicos encontrados e na sua possibilidade de execução face aos equipamentos requeridos. Os métodos de extração utilizados neste trabalho tiveram com base os métodos descritos por Sepúlveda et al. (2007) [42], Bustillos et al. (2013) [19] e Felkai-Hadache et al. (2016) [53].

Para a extração da mucilagem foram usados os seguintes equipamentos:

- Centrífuga da *SIGMA 4-16KS* rotor 12356
- Micro-ondas da *Flama 1824 FL*
- Extrator de frutas da *Clatronic*
- Liquidificadora da *Phillips ProBlend 5*
- Estufa da *HOLE LAB*
- Liofilizador da *Scanvac CoolSafe*
- Balança 1 da *Science Education VWR* modelo SE 1202 (Legibilidade 0,01g; Linearidade ± 20 mg)

- Balança 2 da *Kern* modelo ABJ-NM/ABS-N (Legibilidade 0,01g; Linearidade \pm 0,3 mg)
- Medidor de pH da *Sartorius Docu-PHmeter* (\pm 0,005)

Todas as folhas usadas para extração da mucilagem foram removidos os espinhos e a cutícula, raspando a folha com ajuda de uma faca, posteriormente lavadas com água da torneira à temperatura ambiente e secas à temperatura ambiente. Foram pesados (balança 2) tubos de amostra previamente, para posteriormente se pesar a quantidade exata de amostra liofilizada. Os tubos foram selados com filme de parafina plástica, de modo a proteger da humidade. Todas as folhas foram pesadas a partir da balança 1.

3.1.1 Método de extração 1

Pesaram-se cerca de 1 kg de cladódios e cortaram-se longitudinalmente em tiras com cerca de 2 cm de largura. Foi extraído o sumo no extrator de frutas/vegetais. O sumo obtido foi centrifugado a 4°C, durante 1h e 6000 rpm. Após concluída a centrifugação, descartou-se *pellet* verde e foi recolhida a mucilagem pura transparente. Da mucilagem pura transparente recolhida, uma parte foi congelada a -80 °C, e restante foi precipitada com etanol 95% na razão de 1:3 (v/v). Deixou-se a mistura (mucilagem + etanol) no frigorífico a 4°C durante a noite, de modo a obter uma melhor agregação da mucilagem. O precipitado foi separado, filtrando a mistura através de um pano fino de algodão. O precipitado foi lavado com água destilada e posteriormente congelado a -80 °C. Por fim, liofilizaram-se as amostras a -91 °C. Foram designados P1 e P1-E aos polímeros obtidos sem e com precipitação de solvente, respetivamente. O método é ilustrado pelo esquema da figura 3.2.

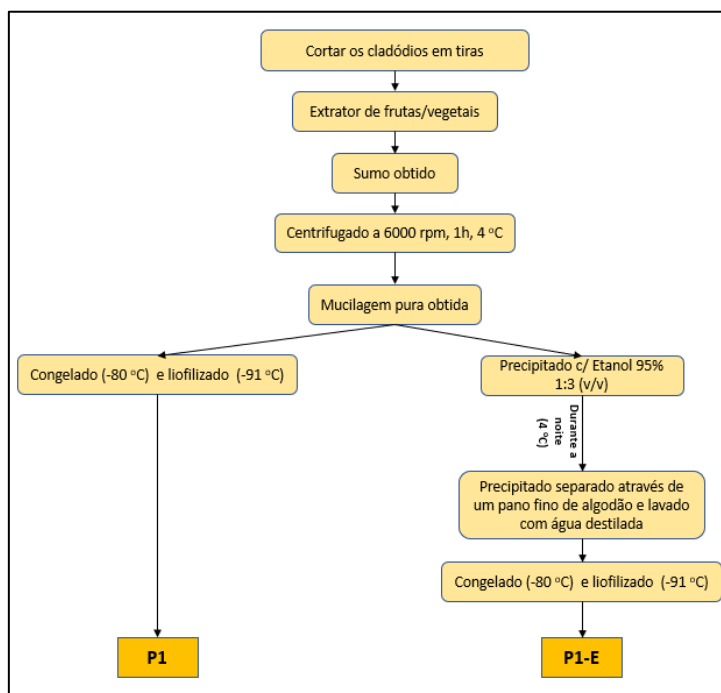


Figura 3.2 Esquema do método de extração 1

3.1.2 Método de extração 2

Pesaram-se cerca de 300 g de cladódio. Cortou-se o cladódio em pedaços, e posteriormente foram secos na estufa durante 24h a 60-70 °C. Após a secagem, os pedaços secos foram moídos num almofariz até se obter cerca de 0,5 mm de diâmetro. O pó seco obtido foi armazenado num frasco de vidro até ao seu uso. Foi designado como P2 ao pó seco obtido.

3.1.3 Método de extração 3

Pesaram-se cerca de 1 kg de cladódios e cortaram-se em pedaços com cerca de 1 cm². Os pedaços foram cozidos numa panela com 1L de água destilada, a 80 °C durante 30 minutos. Separaram-se os pedaços do extrato com uma peneira de cozinha/escorredor. Arrefeceu-se imediatamente o extrato obtido em banho gelado. Uma parte do volume do extrato obtido foi congelado a -80 °C. Dividiu-se o restante volume de extrato em duas porções. Uma porção foi precipitada com etanol 95% na razão de 1:3 (v/v) e a outra porção foi precipitada com isopropanol 96% (1:3 (v/v)). Deixaram-se as misturas (extrato + solvente) no frigorífico durante a noite, de modo a obter uma melhor agregação da mucilagem. Filtraram-se as misturas através de um pano fino de algodão, de modo a separar os precipitados. Lavaram-se os precipitados com água destilada e congelaram-se a -80 °C. Por fim, as amostras foram liofilizadas a -91 °C. Foram designados P3, P3-E e P3-IPA, os polímeros obtidos sem precipitação, precipitação com etanol e IPA, respetivamente. O método é ilustrado pelo esquema da figura 3.3.

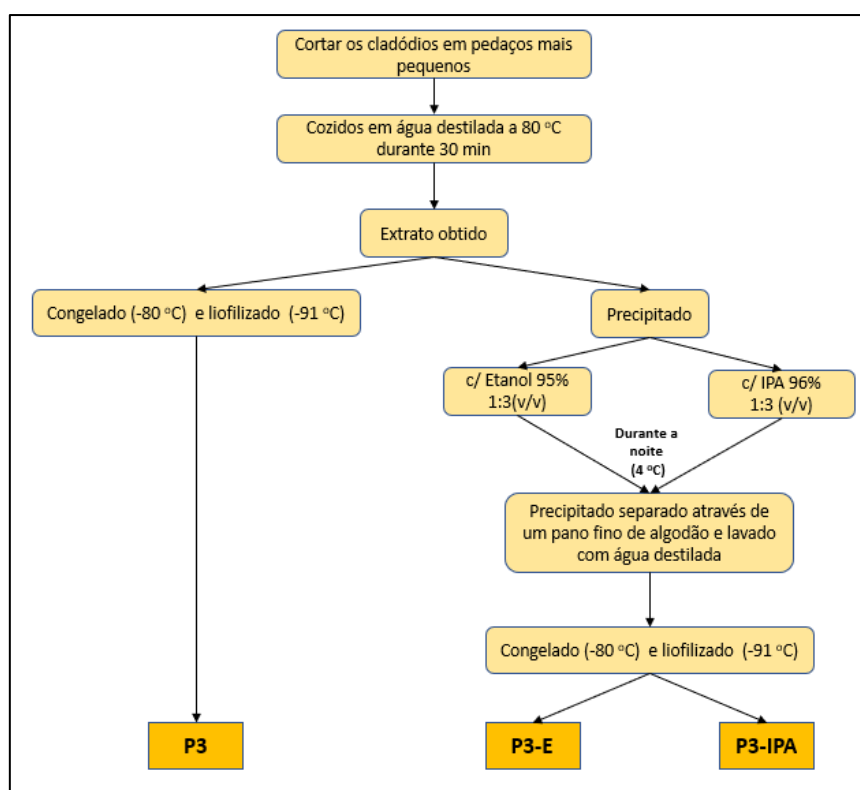


Figura 3.3 Esquema do método de extração 3

3.1.4 Método de extração 4

Pesaram-se cerca de 300 g de cladódio e cortou-se em pedaços com cerca de 1 cm². Os pedaços foram liquefeitos na liquidificadora com água destilada na razão de 1:5 (p/v). Deixou-se a macerar durante 24h, à temperatura ambiente. Mediu-se o pH antes e depois da maceração. A mistura foi filtrada através de um pano de algodão, de modo a remover a polpa. Congelou-se parte do filtrado obtido a -80 °C e dividiu-se o restante volume em duas porções. Precipitou-se uma porção com etanol 95% na razão de 1:3 (v/v) e a outra com IPA 96% na razão de 1:3 (v/v). As soluções foram centrifugadas (extrato + solvente) a 4000xG, durante 10 minutos a 4 °C. Descartou-se o sobrenadante e recolheu-se o precipitado. Os precipitados foram recolhidos e congelados a -80 °C. Liofilizaram-se os polímeros obtidos a -91 °C. Foram designados P4, P4-E e P4-IPA, os polímeros obtidos sem precipitação, precipitação com etanol e IPA, respetivamente. O método é ilustrado pelo esquema da figura 3.4.

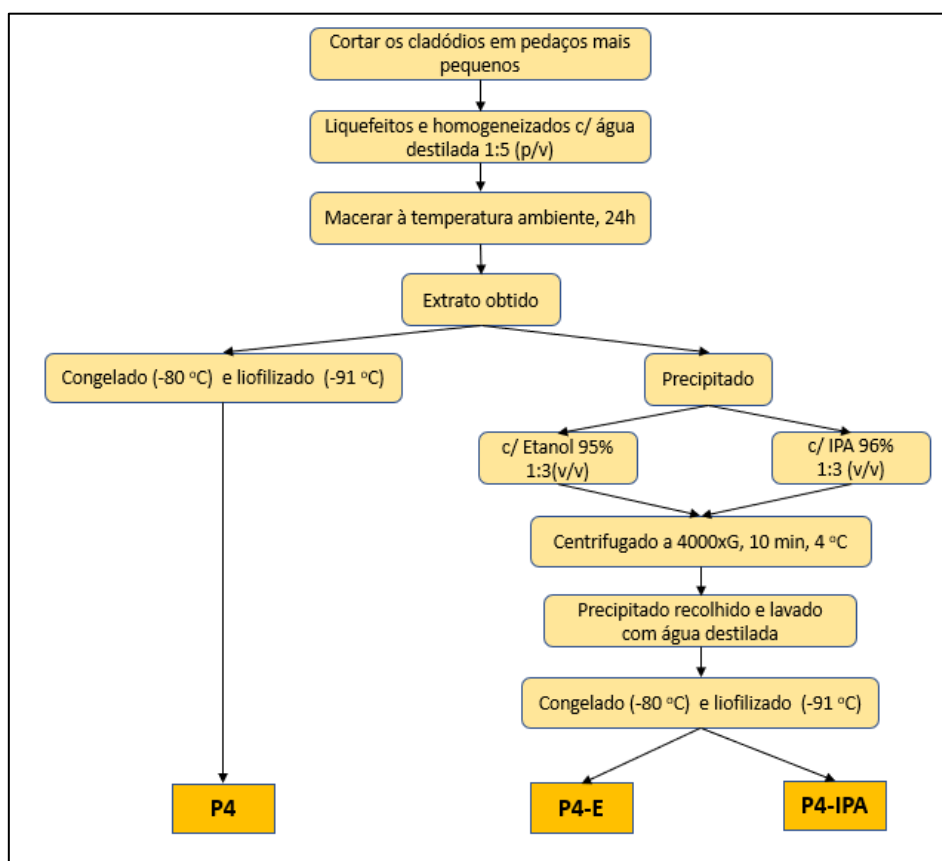


Figura 3.4 Esquema do método de extração 4

3.1.5 Método de extração 5

Pesaram-se cerca de 300 g de cladódio e cortaram-se em pedaços com cerca de 1 cm². Trituraram-se os pedaços com água destilada na razão de 1:5 (p/v) na liquidificadora. A mistura foi levada ao micro-ondas a 700W durante 3 minutos. Posteriormente, a mistura foi arrefecida

em banho gelado. Filtrou-se a mistura através de um pano fino de algodão de modo a remover a polpa. Mediu-se o pH do filtrado e centrifugou-se a 5000xG durante 15 minutos a 4 °C. Foi recolhido o sobrenadante, e congelou-se uma parte a -80 °C. A outra porção foi precipitada com etanol 95% na razão de 1:3 (v/v). Deixou-se a mistura (extrato + solvente) no frigorífico a 4 °C durante a noite, de modo a obter uma melhor agregação da mucilagem. Filtrou-se com um pano fino de algodão, de modo a separar o a mucilagem precipitada. O precipitado foi lavado com água destilada e congelado a -80 °C. Todos os polímeros foram liofilizados a -91 °C. Foram designados P5 e P5-E aos polímeros obtidos sem e com precipitação, respetivamente.

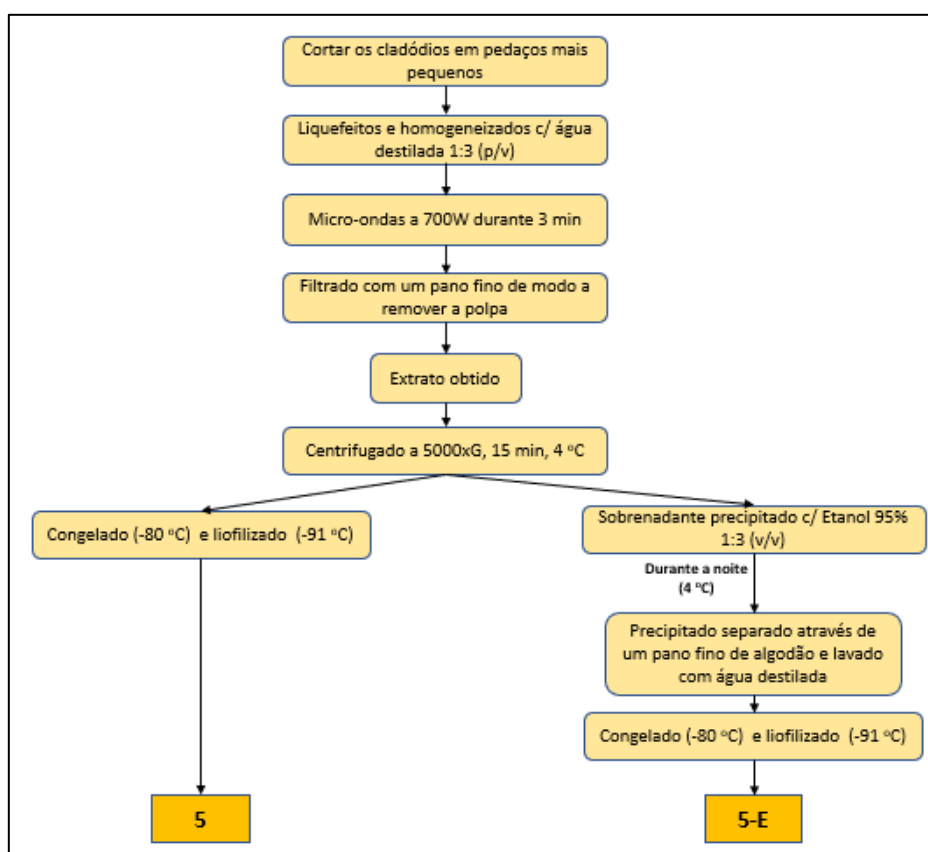


Figura 3.5 Esquema do método de extração 5

Foi calculado o rendimento de cada extração a partir da equação 3.1.

$$\text{Rendimento \%} = \frac{\text{Peso de pó seco otido (g)}}{\text{Peso de folha fresca equivalente (g)}} \times 100 \quad (3.1)$$

3.2. Caracterização da mucilagem

A mucilagem extraída foi caracterizada quanto à sua composição em termos de açúcares neutros, proteína total, ácidos urónicos e cinzas. Os valores foram comparados com os valores

encontrados na literatura. Por fim, foi escolhido um dos polímeros extraídos para caracterização de monossacarídeos na sua composição, de modo a identificar, segundo a literatura, os principais monossacarídeos presentes na mucilagem OFI (arabinose, galactose, xilose e ramnose).

Para a caracterização da mucilagem foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Digestor da *OHAUS* modelo HB4DG
- Balança 2 *Kern* modelo ABJ-NM/ABS-N (Legibilidade 0,01g; Linearidade $\pm 0,3$ mg)
- Balança 3 da *Sartorius CPA 225D* (Legibilidade 0,1 mg; Linearidade $\pm 0,2$ mg)
- Centrifugadora da *SIGMA 4-16KS* rotor 12168
- Muffla da *Nabertherm B150*
- Estufa da *Memmert U15*

Foram realizados métodos colorimétricos para as caracterizações em relação à proteína total, açúcares neutros e ácidos urónicos. Foram preparadas sempre concentrações padrão para cada ensaio, de modo a obter a reta de calibração, para se calcular o componente em questão. Foram obtidas duas retas do tipo $y=ax + b$, onde a e b são o declive e ordenada na origem da reta. Foi escolhida a reta com maior coeficiente de determinação da reta (R^2). Este valor varia entre 0 e 1. Quanto mais próximo de 1, melhor a reta se ajusta aos pontos obtidos.

Foi calculado o coeficiente de variância relativo (C_v) entre os duplicados pela equação 3.2, onde μ e σ correspondem à média dos duplicados e o desvio padrão entre os duplicados, respetivamente. Caso seja superior a 10%, repetir a análise da amostra em causa.

$$C_v\% = \frac{\sigma}{\mu} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.1 Proteína Total

Para a determinação de proteínas aplicou-se o método descrito em Concórdio-Reis et al. (2020) [68] representado pelo esquema da figura 3.6.

Para preparar a solução de NaOH 20%, pesar 20 g de NaOH (Labchem, 215-185-5) e dissolver em 100 ml de água destilada numa placa com agitador magnético. Para a preparação da solução de cobre, pesar 25 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (PRS >99%) e dissolver em 100 ml de água destilada. Preparar as soluções no dia anterior e deixar no frigorífico envolvidas em papel de alumínio, de modo a proteger da luz.

Dissolver cerca de 25 mg do polímero a analisar em 5,5 ml de água destilada em tubos de hidrólise (*Duran GL 18*). Posteriormente, adicionar 1 ml de NaOH 20% à mistura no vortex,

cerca de 10-20 segundos, imediatamente antes de levar os tubos ao digestor a 100 °C durante 5 minutos. Depois da digestão, arrefecer os tubos em banho gelado, Adicionar 170 µL de CuSO₄.5H₂O 25% à mistura e agitar. Centrifugar as amostras a 3500xG durante 5 minutos. Recolher o sobrenadante e medir a absorvância do mesmo a 560 nm. Utilizar a albumina (Sigma-Aldrich) como padrão. Fazer duplicados, tanto para os padrões, como para as amostras de polímeros a analisar.

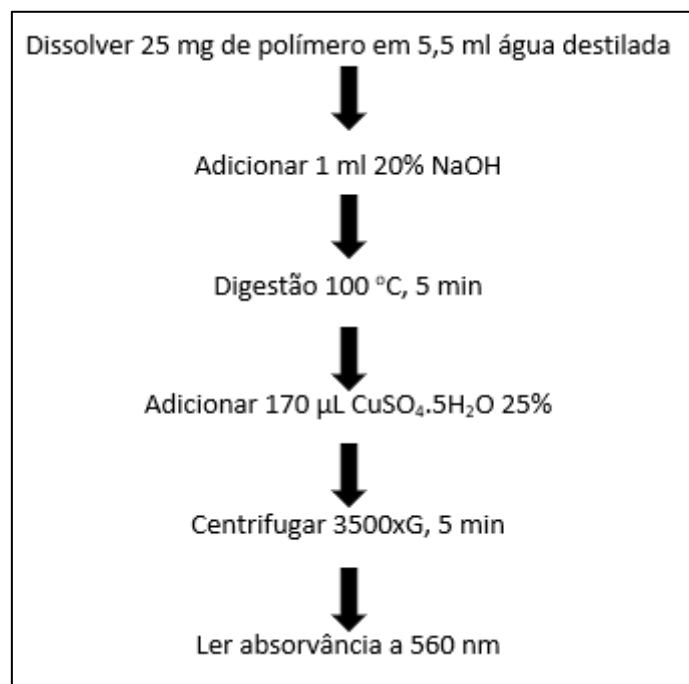


Figura 3.6 Método usado para a caracterização de proteína

Os resultados são apresentados em µg de proteína por mg de polímero, sendo estes a média dos duplicados. Para o cálculo usou-se a equação 3.3.

$$\frac{\mu\text{g Proteína}}{\text{mg Polímero}} = \frac{\text{Concentração de Proteína (g/L)}}{\text{Concentração de Polímero (g/L)}} \times 1000 \quad (3.3)$$

3.2.2 Açúcares Neutros

Na determinação da quantidade de açúcares totais presentes no polímero, usou-se o método da antrona. Em primeiro lugar para preparar o reagente de digestão, dissolveu-se 0,125 g de antrona (Sigma-Aldrich, 97%, 319899-25G) em 100 ml de ácido sulfúrico (Fluka, >97%), com auxílio do agitador magnético, em banho gelado e envolvido com folha de alumínio, de modo a proteger da luz. Depois de dissolvido, deixar repousar 2h antes do uso. Usar a glucose (Fluka,

G/0500/60) como padrão, e preparar amostras padrão com diferentes concentrações (5-100 ppm). Preparar soluções dos polímeros a analisar em balões volumétricos.

Para a análise, adicionar 2,5 ml de reagente de digestão a 0,5 ml de amostra de polímero num tubo de hidrólise, arrefecer imediatamente em banho gelado e agitar gentilmente, uma vez aquece instantaneamente, de modo que todas as amostras tenham o mesmo tratamento e tempo de digestão. Depois de arrefecerem, levar os tubos ao digestor a 100 °C durante 14 minutos e arrefecer novamente em banho gelado após a digestão. Analisar dois brancos (água destilada), duas réplicas da amostra padrão e duas réplicas da amostra de polímero. Por fim, medir as absorvâncias a 625 nm. Usou-se a equação 3.4 para o cálculo da quantidade de açúcares, que é apresentada como µg de açúcares totais por mg de polímero.

$$\frac{\mu\text{g Açúcares Neutros}}{\text{mg Polímero}} = \frac{\text{Concentração de Açúcares Neutros (g/L)}}{\text{Concentração de Polímero (g/L)}} \times 1000 \quad (3.4)$$

3.2.3 Ácidos Urónicos

Os ácidos urónicos foram determinados pelo método de Blumenkrantz e Asboe-Hansen (1973) [68], representado pelo esquema da figura 3.7. Em primeiro lugar, preparar a solução do reagente de digestão, ácido sulfúrico/tetraborato, e a solução de m-hidroxidifenil. 0,15% em 0,5% NaOH. Para a primeira, dissolver 0,25 g de tetraborato de sódio (Alfa Aesar, 99,5%) em 100 ml de ácido sulfúrico numa placa de aquecimento verificando a temperatura com o termómetro, uma vez que a 70 °C é quando este se dissolve melhor. Para a solução de m-hidroxidifenil, dissolver 0,15 g de m-hidroxidifenil e 0,5 g de (NaOH Labchem, 215-185-5) em 100 ml de água destilada. Caso sejam preparadas no dia anterior, guardar no frigorífico a 4 °C, envolvidas em papel de alumínio de modo a proteger da luz.

Para os polímeros a analisar, preparar soluções com a concentração cerca de 1 g L⁻¹. Para análise, adicionar 1,2 ml de reagente de digestão a 0,2 ml de amostra de polímero em tubos de hidrólise. Arrefecer os tubos em banho gelado, agitar no vortex 5-10 segundo e levar os tubos ao digestor a 100 °C durante 5 minutos. Após digestão, arrefecer em banho gelado. Adicionar 20 µL de m-hidroxidifenil e agitar. Deixar estabilizar durante 20 minutos e ler absorvâncias a 520 nm. Usou-se a equação 3.5 para o cálculo da quantidade de ácidos urónicos no polímero, que é apresentada como µg de ácidos urónicos por mg de polímero.

$$\frac{\mu\text{g Ácidos Urónicos}}{\text{mg Polímero}} = \frac{\text{Concentração de Ácidos Urónicos (mg/L)}}{\text{Concentração de Polímero (g/L)}} \quad (3.5)$$

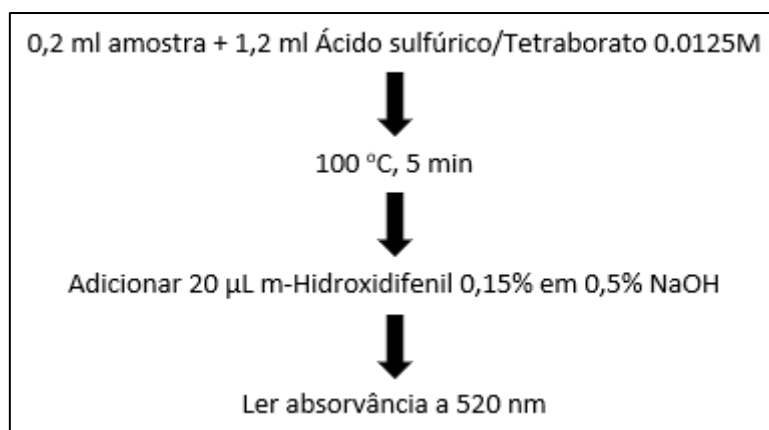


Figura 3.7 Método usado para caracterização de ácidos urônicos

3.2.4 Cinzas

Para a quantificação de cinzas, em primeiro lugar, colocar os filtros de fibra de vidro (VWRI 516-0861, grau 691) durante 30 minutos na muffla a 550 °C. Num cadinho de porcelana, colocar o filtro previamente pesado. Pesar cerca de 100 mg de amostra diretamente no filtro colocado no cadinho. Deixar as amostras durante a noite na estufa a 100 °C. Na manhã seguinte, pesar as amostras e posteriormente levá-las à muffla a 550 °C durante 6h. Retirar os cadinhos da muffla, e colocá-las num exsiccador até arrefecer. Por fim, pesar as cinzas. As amostras foram e devem ser pesadas na mesma balança. Neste caso, utilizou-se a balança 3. Fizeram-se duplicados de amostras sempre que possível, uma vez que a quantidade mínima de amostra a analisar são de 100 mg. Realizou-se mais que um ensaio, uma vez que só existiam 10 cadinhos. Todos os cálculos e pesos registados dos ensaios, encontram-se no Anexo A.4. Para o cálculo das cinzas usou-se a equação 3.6, onde P1 é o peso (g) do cadinho mais o filtro, P2 o peso (g) do cadinho com filtro mais o peso da amostra e P3 o peso do cadinho com o filtro mais o peso das cinzas retiradas da muffla a 550 °C, após 6h.

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{P3 - P1}{P2 - P1} \times 100 \quad (3.6)$$

3.2.5 Monossacarídeos

Foi feita uma análise aos monossacarídeos presentes na mucilagem extraída dos cladódios OFI. Devido aos custos associados a esta análise, só se analisou um dos polímeros extraídos. Para isso, escolheu-se o polímero P1, visto que não se aplicou nenhum tratamento de temperatura e/ou não se usou nenhum solvente para extrair. Pretende-se detetar e quantificar os principais monossacarídeos reportados segundo a literatura. Sendo eles a arabinose, ramnose, xilose e galactose.

A análise foi feita por HPLC pelo laboratório *Requimte* da FCT/NOVA. Antes de se entregar a amostra de polímero para análise, foi necessário realizar a hidrólise da amostra. Para a hidrólise, pesar cerca de 5 mg de polímero num tubo de hidrólise e adicionar 5 ml de água destilada. Adicionar 0,1 ml de TFA 99% (Sigma-aldrich) imediatamente antes de lavar o tubo ao digestor a 120 °C durante 2h. Deixar arrefecer o tubo. Filtrar a amostra com filtros de *Eppendorf* e colocar em *vials* de HPLC.

Para análise foi necessário preparar uma solução padrão com 1 g L⁻¹ dos monossacarídeos que se pretende identificar. Pesar 10 mg de L-ramnose (Fluka >99%), 10 mg de D-xilose (Sigma-aldrich >99%), 10 mg D-galactose (Fluka) e 10 mg de L-arabinose (TCI >98%) e dissolver num balão volumétrico de 10 ml com água destilada.

O equipamento (*Dionex ICS3000*) onde se realizou a análise, a coluna é da *Thermo Carbopac PA10 4x250 mm* mais a pré-coluna *Thermo Aminotrap 4x5mm*. O eluente utilizado foi o NaOH (18 mM) a 1 ml/min, a 25 °C. O volume de injeção foi 10 µl e a deteção eletroquímica PAD (*Pulsed Amperometric Detection*).

3.3. Ensaios preliminares de remoção de turvação

Realizaram-se ensaios preliminares numa água turva sintética preparada a partir de argila comercial do Celeiro com a composição descrita na tabela 3.1. Realizaram-se estes ensaios de modo a avaliar a efetividade na remoção da turvação e na velocidade de sedimentação das partículas de flocos formadas. Testaram-se os polímeros com uma concentração de 150 mg L⁻¹ na água turva sintética.

Tabela 3.1 Composição da argila

Composto	% (m/m)
Perda ao rubro	27
SiO ₂	25
Al ₂ O ₃	10
Fe ₂ O ₃	2,8
CaO	28
MgO	3,7
Na ₂ O	<0,5
K ₂ O	1,6
TiO ₂	0,32
MnO	<0,3
P ₂ O ₅	<0,3

Em primeiro lugar, prepararam-se as soluções de água turva sintética com concentração de 5 g L⁻¹, dissolvendo 5 g de argila seca em 1 L de água destilada em frascos de *Schott*. Deixou-se a solução numa placa com agitador magnético durante 1h. Após a agitação, deixou-se a

solução repousar durante 24h à temperatura ambiente até ao seu uso, de modo a hidratar a argila. A composição da argila usada para este trabalho encontra-se na tabela 3.1.

Testaram-se os polímeros numa concentração de 150 mg L⁻¹. Para isso, transferiu-se 100 ml de água turva sintética para um gobelé, usando uma proveta graduada de 100 ml. Teve-se o cuidado de agitar e inverter o frasco de *Schott* várias vezes, de modo a garantir uma solução homogénea entre enchimentos. Levou-se o gobelé a uma placa com agitador magnético, e foi injetado o polímero com uma micropipeta. Depois de injetado o polímero, deixou-se agitar por 20 segundos. Após o tempo de agitação, verteu-se imediatamente a mistura para uma proveta graduada de 100 ml. Observou-se o comportamento nos primeiros 10 minutos. Como padrão, usou-se o cloreto férrico (Merck 22-38-41). O volume de polímero a injetar foi obtido pela equação 3.7. OS ensaios foram realizados à temperatura ambiente.

$$V_{\text{polímero}} = \frac{150 \text{ mg L}^{-1} \times 0,1 \text{ L}}{[\text{solução preparada mg ml}^{-1}]} \quad (3.7)$$

Foi feita uma avaliação qualitativa, visto que não foi possível medir a turvação final, uma vez que não houve nenhum aparelho para o efeito (turbidímetro).

3.4 Ensaios *Jar Test*

Foram realizados ensaios de *jar test* de modo a avaliar a eficiência na remoção da turvação numa água residual real. Os ensaios foram realizados ao longo do dia. Para isso foram sempre recolhidos cerca de 16 L de água residual (figura 3.8) na parte da manhã e na parte da tarde, de modo a apanhar a variabilidade do efluente. A amostragem recolhida é a água tratada resultante do tratamento preliminar (gradagem) onde são removidos os sólidos grosseiros, areias, óleos e gorduras, e que segue para o tratamento primário (coagulação, floculação e decantação). Notou-se que as águas recolhidas em diferentes alturas do dia apresentavam diferentes níveis de turvação. Com a limitação de quantidade de alguns polímeros extraídos, nem sempre foi possível realizar os ensaios numa água com o mesmo nível de turvação para todos os polímeros e/ou testar todos os polímeros com concentrações diferentes.

Para a realização dos ensaios foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Equipamento *Jar test* da *Velp Scientifica*, modelo JLT4 (figura 3.9), disponibilizados pela da ETAR de Alcântara
- Sonda da *Lange* para medir a turvação em NTU, disponibilizado pela ETAR de Alcântara (figura 3.10)
- Medidor de pH da *Sartorius Docu-PHmeter*, disponibilizado pela FCT



Figura 3.8 Água residual recolhida

Em todos os ensaios foram usados 800 ml de água residual para cada teste. Para cada recolha de água feita, foi registado o nível a turvação inicial, em NTU, e o seu pH. Foram preparadas soluções de polímero em água destilada. Compararam-se os desempenhos dos polímeros extraídos com o cloreto férrico (30 mg L^{-1}). De seguida, o plano foi feito de acordo com as respostas de cada polímero. As soluções de polímeros foram preparadas sempre no dia anterior e deixadas no frigorífico ($4 \text{ }^\circ\text{C}$) até ao seu uso. Realizaram-se no total 8 ensaios, em 4 dias diferentes da parte da manhã e da parte da tarde.



Figura 3.9 Equipamento *jar test* Velp Scientifica modelo JLT4

A metodologia para testar o polímero sozinho foi a seguinte:

1. Encher gobelé com 800 ml de água residual
2. Injetar polímero e ajustar a velocidade de agitação a 200 rpm permitindo um tempo de contacto de 2 minutos
3. Reduzir a velocidade de agitação para 100 rpm e permitir um tempo de contacto de 5 minutos
4. Deixar repousar/sedimentar durante 20 minutos
5. Medir turvação final do sobrenadante e pH

A metodologia usada para testar o polímero em combinação com o CF foi a seguinte:

1. Encher gobelé com 800 ml de água residual
2. Injetar CF e ajustar a velocidade de agitação para 200 rpm e permitir um tempo de contacto de 2 minutos
3. Injetar o polímero e reduzir a velocidade de agitação para 100 rpm e permitir um tempo de contacto de 5 minutos
4. Deixar repousar/sedimentar durante 20 minutos
5. Medir turvação final do sobrenadante e pH

Além das velocidades de 200 rpm durante 2 minutos e 100 rpm durante 5 minutos, foram testadas também velocidades de 150 rpm durante 2 minutos (passo 2), seguido de 50 rpm durante 10 minutos (passo 3). Foi ainda realizado um ensaio combinado (polímero + CF), com uma agitação constante.

A metodologia usada para testar o polímero em combinação com o CF, com agitação constante foi a seguinte:

1. Encher gobelé com 800 ml de água residual
2. Injetar CF e polímero simultaneamente e ajustar a velocidade de agitação para 100 rpm e permitir um tempo de contacto de 5 minutos
3. Deixar repousar/sedimentar durante 20 minutos
4. Medir turvação final do sobrenadante e pH



Figura 3.10 Sonda usada para medir a turvação

Calculou-se a atividade coagulante de cada polímero usando a equação 3.8, sendo a t_{Branco} , a turvação obtida da performance sem o uso de qualquer tipo de coagulante/polímero, e t_{final} , a turvação do sobrenadante, medida no final do ensaio.

Para a medição turvação inicial, encheram-se 3 gobelés com a água residual recolhida, e considerou-se a média das turvações dos 3 gobelés. Antes de encher cada gobelé, agitou-se o garrafão de modo a homogeneizar a água residual.

$$\% \text{ Atividade coagulante} = \frac{\text{Turvação}_{\text{Branco}} - \text{Turvação}_{\text{inicial}}}{\text{Turvação}_{\text{Branco}}} \times 100 \quad (3.8)$$

Calculou-se também a eficiência de remoção da turvação da água de cada polímero pela equação 3.9.

$$\% \text{ Remoção de turvação} = \frac{\text{Turvação}_{\text{inicial}} - \text{Turvação}_{\text{final}}}{\text{Turvação}_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (3.9)$$

A solução de CF, foi preparada a partir da solução de CF comercial usada na ETAR de Alcântara. Foi criada uma solução de CF com concentração de 20 g L⁻¹.

$$V_{\text{CF}} = \frac{\text{mg L}^{-1} \text{ CF pretendido} \times 0,8 \text{ L}}{20 \text{ mg L}^{-1}} \quad (3.10)$$

O volume de polímero a injetar foi calculado pela equação 3.11.

$$V_{\text{polímero}} = \frac{\text{mg L}^{-1} \text{ P pretendido} \times 0,8 \text{ L}}{[\text{mg ml}^{-1}] \text{ da solução preparada}} \quad (3.11)$$

Na tabela 3.2 encontram-se os valores das velocidades de rotação e os tipos de testes (polímero e/ou polímero combinado com cloreto férrico) efetuados em cada ensaio.

Tabela 3.2 Metodologias utilizadas para cada ensaio *jar test* (P-Polímero; CF-Cloreto Férrico (III))

Ensaio	Metodologia	P	P+CF
1	200 rpm/2 min => 100 rpm/5min => 20 min sedimentação	X	X
2		X	X
3		X	X
4	100 rpm/5 min => 20 min sedimentação	-	X
5	150 rpm/2 min => 50 rpm/10 min => 20 min sedimentação	X	X
6		X	X
7		X	X
8		X	X

4. Apresentação e discussão dos resultados

4.1 Extração da mucilagem

Para o método 1 foram pesados 1012,14 g de cladódios e obtiveram-se 730 ml de sumo, dos quais 725 ml foram centrifugados, obtendo 547 ml de mucilagem pura. O pH da mucilagem pura medido foi de 4,76. Da mucilagem pura obtida, 345 ml foram congelados num tabuleiro e 180 ml foram precipitados com etanol. O precipitado foi separado no dia seguinte, congelado e liofilizado. Obtiveram-se 17,88 g de P1 e 1,79 g de P1-E. Na figura 4.1 são apresentadas fotografias ilustrativas do método de extração 1.

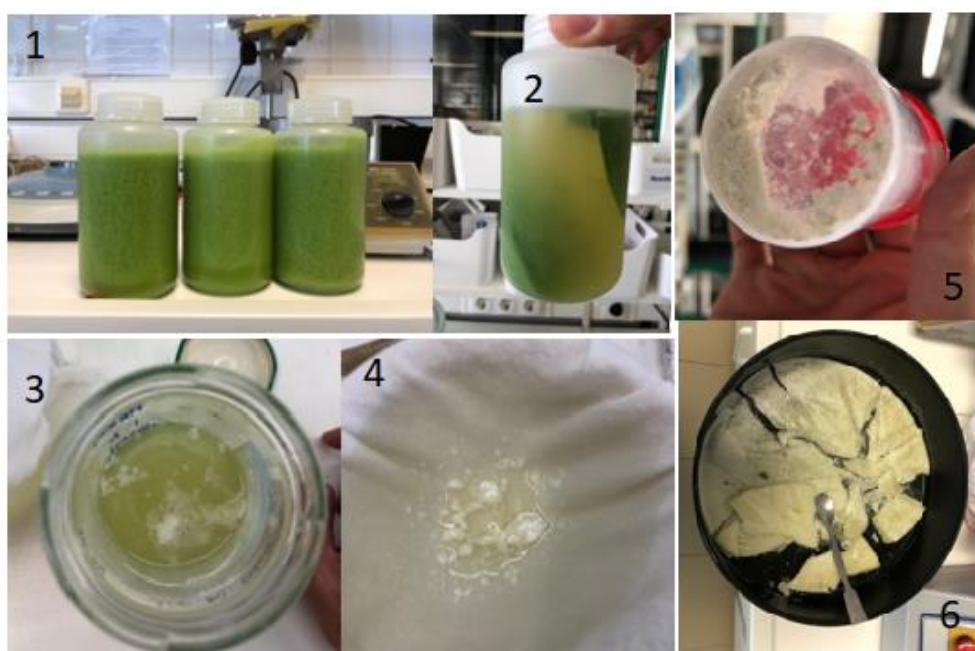


Figura 4.1 Fotografias ilustrativas do método de extração 1: 1-Sumo obtido; 2-Sumo centrifugado, mucilagem pura transparente; 3-Mucilagem precipitada; 4-Precipitado; 5-Polímero P1-E; 6-Polímero P1

Pelo método 2, secaram-se 300,12 g de folha, e obtiveram-se 24,17 g de pó seco (P2). Para a secagem, as folhas permaneceram na estufa 48h, uma vez que após as 24h estas ainda não estavam completamente secas. Isto, deveu-se ao facto também que a estufa utilizada serve para secar o material do laboratório, o que leva a um abrir e fechar constante da estufa e humedificação da estufa. Na figura 4.2 estão apresentadas fotografias ilustrativas do método de extração 2.

Para o método 3 pesaram-se 995,94 de cladódios cortaram-se em pedaços com cerca de 1 cm². Cozeram-se os pedaços em 1 L de água destilada. Obteve-se cerca de 1 L de extrato, com pH=4,61. Do extrato obtido, 500 ml foram congelados num tabuleiro e liofilizado. Obtiveram-se 10,02 g de liofilizado (P3). Foram usados 540 ml de IPA 96% para precipitar 180 ml de extrato

e 750 ml de etanol 95% para precipitar 250 ml de extrato. O precipitado foi separado no dia seguinte, congelado e liofilizado. Obtiveram-se, respectivamente 0,70 g (P3-IPA) e 0,93 g (P3-E) de liofilizados. Na figura 4.3 estão apresentadas fotografias ilustrativas do método de extração 3.



Figura 4.2 Fotografias ilustrativas do método de extração 2: 1-folha fresca; 2-folha seca; 3-folha seca moída (P2)

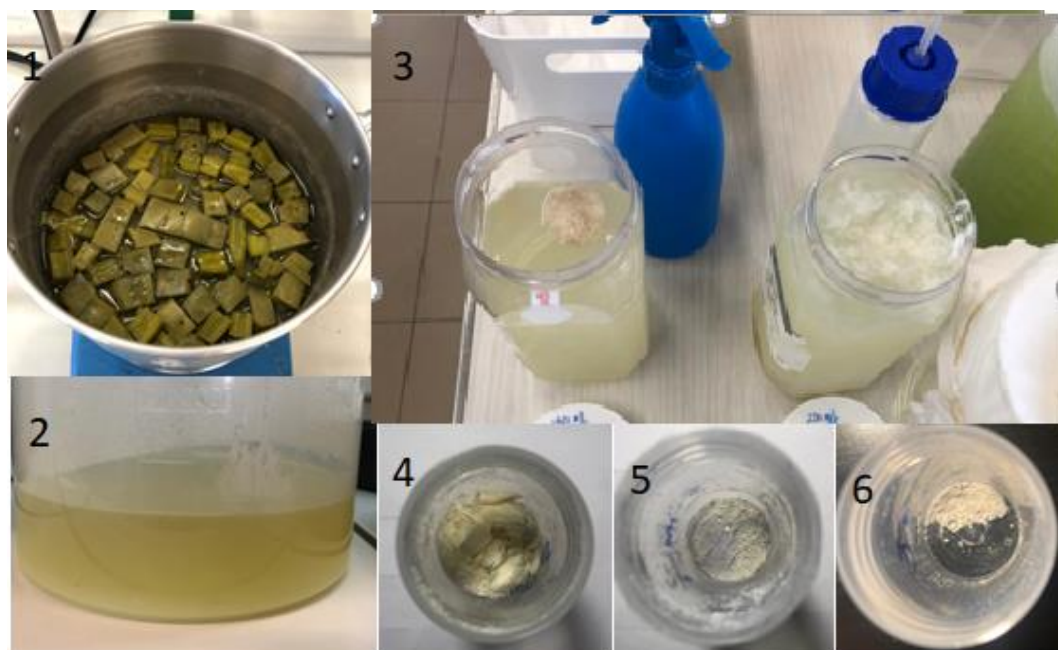


Figura 4.3 Fotografias ilustrativas do método de extração 3: 1-Pedaços de cladódio; 2-Extrato obtido; 3- Extrato precipitado com IPA e etanol; 4-Polímero P3; 5-Polímero P3-IPA; 6-Polímero P3-E

Para o método 4 pesou-se 309,57 g de cladódio e cortou-se em pedaços com cerca de 1 cm². Foram adicionados cerca de 1548 ml de água destilada para liquefazer os pedaços,

obtendo aproximadamente 2025 ml de filtrado. Verificou-se que o pH medido antes da maceração foi de 4,79, e depois da maceração de 4.817. Obtiveram-se 3,28 g (P4) de liofilizado, a partir de 500 ml de extrato congelado. Foram usados 900 ml de IPA 96% para precipitar 300 ml de extrato e 900 ml de etanol 95% para precipitar 250 ml de extrato. Obtiveram-se, respectivamente 0,48 g (P4-IPA) e 0,36 g (P4-E) de liofilizado. Na figura 4.4 estão apresentadas fotografias ilustrativas do método de extração 4.

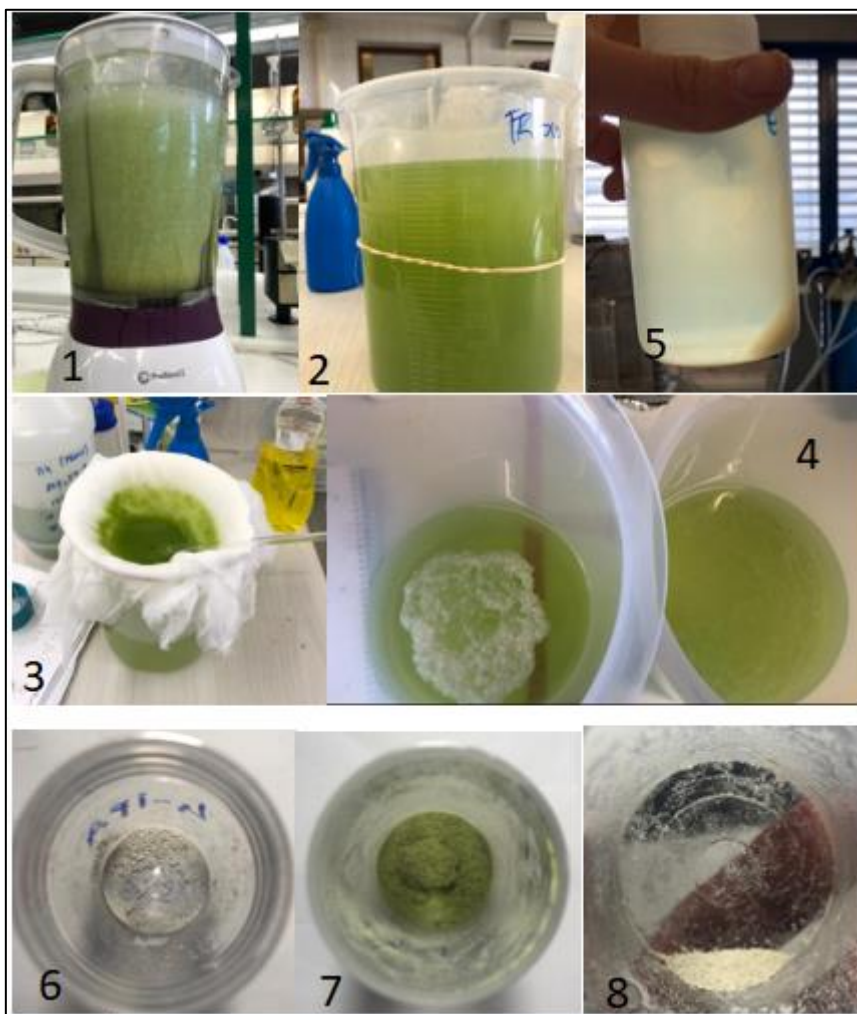


Figura 4.4 Fotografias ilustrativas do método de extração 4: 1-Folhas trituradas para maceração; 2-Extrato obtido; 3-polpa; 4- Extrato precipitado com IPA e etanol; 5-Solução centrifugada com a mucilagem precipitada (goma branca); 6-Polímero P4-IPA; 7-Polímero P4; 8-Polímero P4-E

Por fim, pelo método 5 foram liquefeitos 310,24 g de folha com cerca de 931 ml de água destilada na liquidificadora, durante cerca de 20 segundo na potência máxima. A mistura foi filtrada posteriormente, obtendo 1050 ml de extrato. Depois de centrifugado, foram obtidos 978 ml de sobrenadante. Dos 500 ml de mucilagem pura, resultaram-se 6,44 g (P5) de liofilizado. O restante extrato foi precipitado com 1434 ml de etanol 95%. Da mucilagem precipitada,

obtiveram-se 0,87 g de liofilizado (P5-E). Na figura 4.5 estão apresentadas fotografias ilustrativas do método de extração 5.

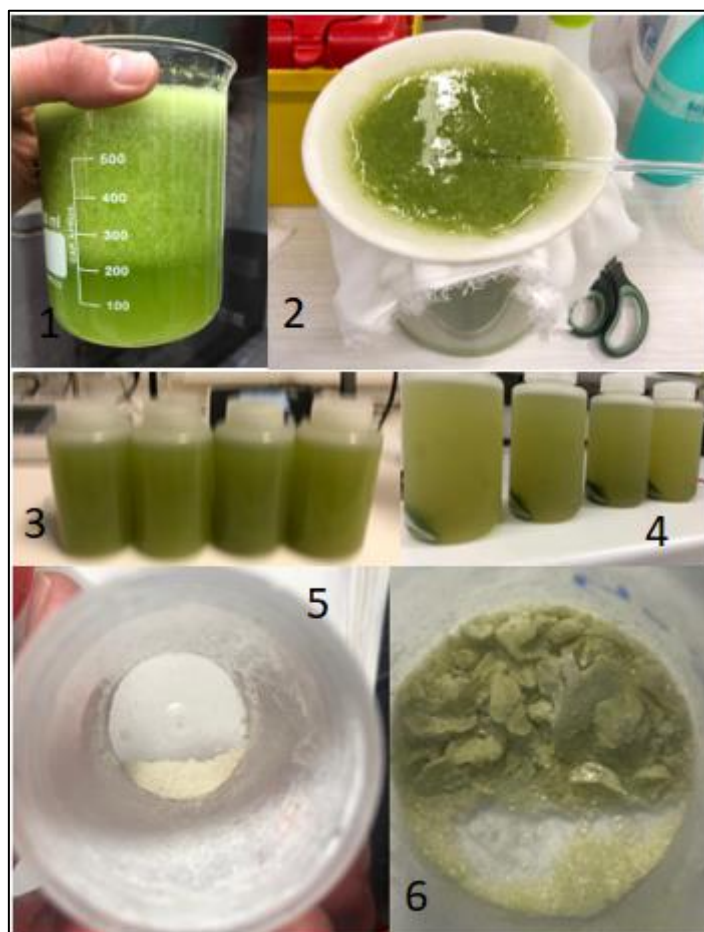


Figura 4.5 Fotografias ilustrativas do método de extração 5: 1-folha trituras com água destilada; 2-Polpa; 3-Filtrado (extrato); 4-Extrato centrifugado; 5-Polímero P5-E; 6-Polímero P5

Na tabela 4.1 apresentam-se os rendimentos obtidos dos diferentes polímeros obtidos pelos métodos de extração. Os polímeros P1, P3, P4 e P5 obtidos pela liofilização dos extratos resultantes dos métodos 1, 3, 4 e 5, respetivamente, verificaram-se maiores rendimentos (2,01-4,86%) quando comparados aos polímeros P1-E, P3-E, P3-IPA, P4-E, P4-IPA e P5-E, obtidos pela precipitação com solvente do respetivo extrato (0,38-1,04%). Os polímeros P1 e P3, com rendimentos de 2,82% e 2,01% respetivamente, foram o dobro quando comprados com os valores obtidos por Bustillos et al. (2013) [19] de 0,88% e 1,04%. Isto pode ser explicado pelo método de secagem utilizado pelo autor, que secou o extrato obtido num secador de leito fluidizado, enquanto os extratos obtidos neste trabalho foram liofilizados.

Obteve-se um rendimento elevado para o polímero P2 comparativamente aos outros métodos, o que seria esperado, uma vez que o pó seco obtido contém o material fibroso da folha. Obteve-se um rendimento superior para P4-IPA em relação a P4-E, ao contrário pelos valores

reportados por Sepulveda et al. (2007) [42], em que obteve um maior rendimento quando o extrato obtido por maceração das folhas foi precipitado com etanol em vez de IPA, 1,51% e 1,36 %, respetivamente. Cárdenas et al. (1997) [30] obteve um rendimento de 0,07%. Já Pichler et al. (2012) [20], obteve rendimentos entre 0,5 e 0,67%, para extrações das frações gelificantes (GE) e não gelificantes (NE) da mucilagem.

Tabela 4.1 Rendimentos de extração dos diferentes polímeros

Polímero	Extrato (ml)	Peso de folha (g)	Pó seco (g)	Rendimento % (g pó/ 100 g folha fresca)
P1	345	634	17,88	2,82%
P1-E	180	330,8	1,79	0,54%
P2	-	300,1	24,17	8,05%
P3	500	498	10,02	2,01%
P3-E	250	249	0,93	0,38%
P3-IPA	180	179,3	0,7	0,39%
P4	500	76,4	3,28	4,29%
P4-E	300	45,9	0,36	0,79%
P4-IPA	300	45,9	0,48	1,04%
P5	500	147,7	6,44	4,36%
P5-E	478	141,2	0,87	0,61%

4.2 Caracterização da mucilagem

4.2.1 Proteína Total

Na tabela 4.2 estão os valores de proteína obtidos para cada amostra. Foi feita a média dos duplicados, com o respetivo desvio padrão entre eles. Os valores obtidos estão representados no gráfico da figura 4.6. Uma vez que foi necessário efetuar mais que um ensaio, encontram-se no anexo A.1 todos os valores de absorvâncias obtidos e retas de calibração usadas para o cálculo da proteína.

De um modo geral, os polímeros obtidos pela liofilização dos extratos de cada método, apresentaram um maior teor de proteína comparativamente aos respetivos polímeros obtidos por precipitação com solvente. Os polímeros P1, P3 e P5 têm um teor de proteína superior a 200 µg/mg de polímero. Para os polímeros P3 e P5, houve uma redução para cerca de metade quando estes foram precipitados com etanol (P3-E, P5-E) ou IPA (P3-IPA).

Os valores reportados por Felkai-Hadache et al. (2016) [53] foram de 155 µg/mg e 169 µg/mg. Este, encontrou uma maior quantidade de proteína quando a extração foi assistida por micro-ondas, em comparação ao método convencional. Neste trabalho também se verificou essa evidência. Os polímeros P3-E (110 µg/mg) e P3-IPA (87,2 µg/mg), resultantes da precipitação do extrato obtido das folhas a 80 °C com etanol e IPA, contêm menos proteína quando comparado com P5-E (160,6 µg/mg). Os teores de proteína obtidos dos polímeros foram todos superiores aos valores de 68,2 e 52 µg/mg, reportados por Rodríguez-González et al. (2014) [69]

e N. Gebresamuel e Tsige Gebre-miriam (2012) [70] . Sepúlveda et al. (2007) [42] reportou 75 e 62,2 µg/mg na mucilagem precipitada com etanol e IPA, respetivamente.

Tabela 4.2 Valores de proteína total dos polímeros

Polímero	Proteína Total µg Proteína / mg Polímero	
		Literatura
P1	237,3 ± 9,9	Rodriguez-González et al. (2011) [40]
P1-E	185,4 ± 4,9	69,3
P2	158,3 ± 0,3	N. Gebresamuel e Tsige Gebre-miriam (2012) [70]
P3	201,7 ± 2,2	52,4
P3-E	110,0 ± 1,3	Rodriguez-González et al. (2014) [69]
P3-IPA	87,2 ± 3,3	68,2
P4	175,6 ± 4,2	Felkai-Haddache et al. (2016) [53]
P4-E	114,3 ± 8,2	155-169
P4-IPA	113,1 ± 2,1	Sepúlveda et al. (2007) [42]
P5	221,0 ± 2,9	62-75
P5-E	160,6 ± 21,1	

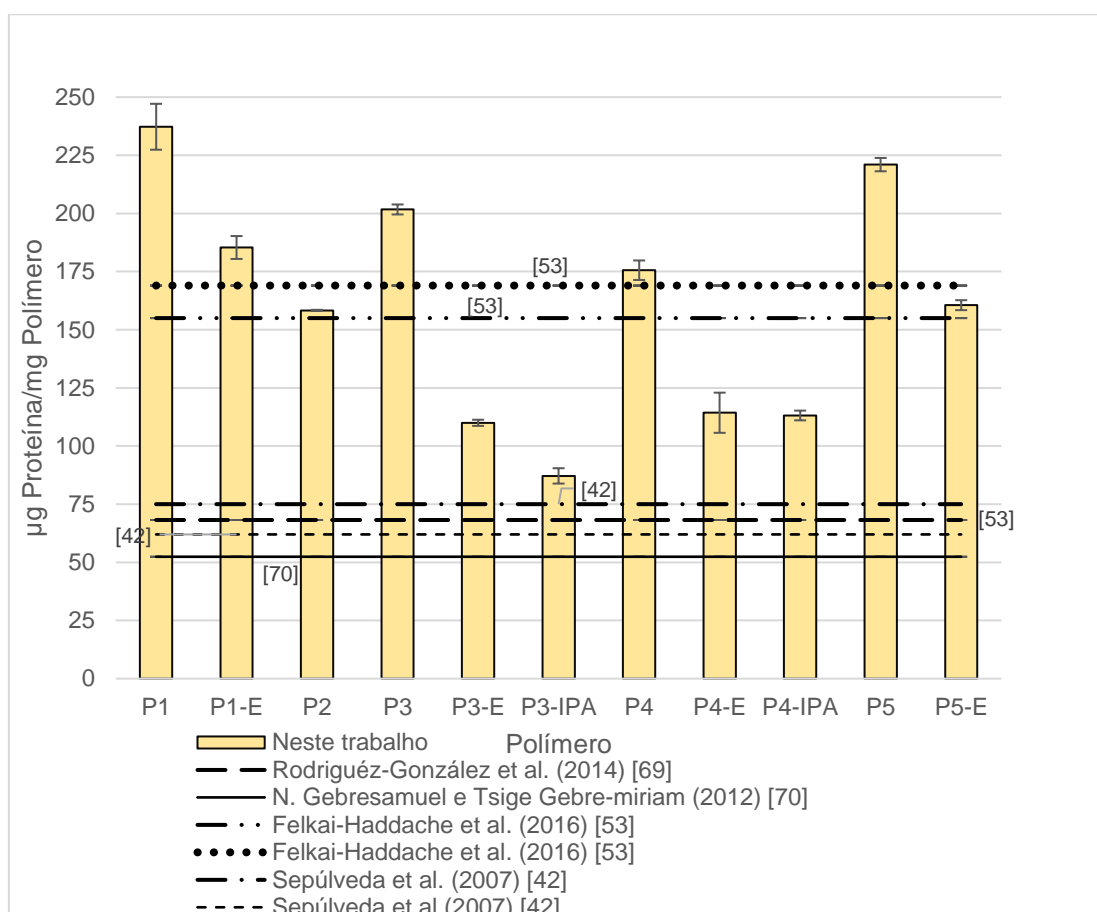


Figura 4.6 Gráfico dos resultados de proteína total dos polímeros

4.2.2 Açúcares Neutros

Na tabela 4.3, apresentam-se os resultados obtidos relativos à caracterização dos açúcares dos polímeros, sendo a média entre os replicados e o respetivo desvio padrão entre eles. Os valores foram representados no gráfico da figura 4.7. Uma vez que se realizaram mais que um ensaio, encontram-se no anexo A.2 as retas de calibração obtidas, assim como os valores das absorvâncias obtidas.

Tabela 4.3 Valores de açúcares neutros dos polímeros

Polímero	Açúcares Neutros µg Açúcares / mg Polímero	
	P1	476,6 ± 12,2
P1-E	205,6 ± 9,1	
P2	335,6 ± 1,7	
P3	375,0 ± 7,0	
P3-E	181,4 ± 17,0	
P3-IPA	218,1 ± 16,4	
P4	370,3 ± 33,3	
P4-E	385,2 ± 1,3	
P4-IPA	289,5 ± 15,8	
P5	478,9 ± 4,8	
P5-E	336,7 ± 7,0	

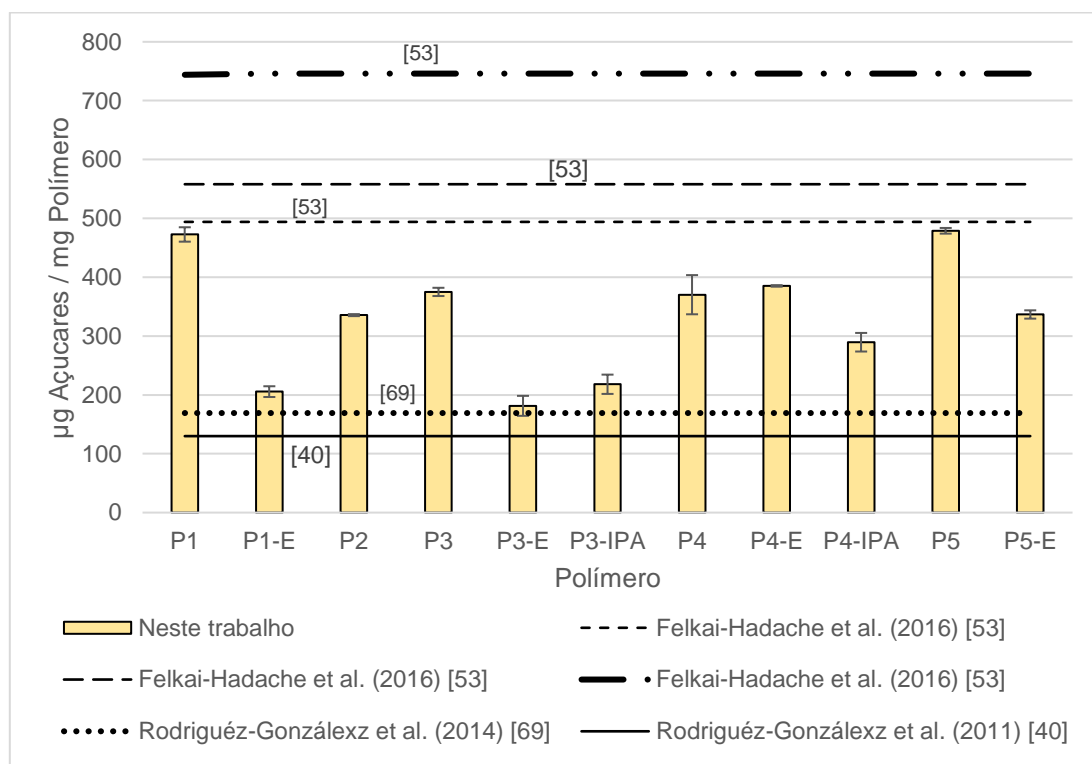


Figura 4.7 Gráfico dos resultados de açúcares neutros dos polímeros

As quantidades de açúcares neutros nos polímeros extraídos variaram entre 181,4-478,9 µg/mg de polímero. Os polímeros P1 e P5, obtidos pela liofilização dos extratos obtidos pela centrifugação do sumo de cladódio e pelo método assistido por micro-ondas, foram os que apresentaram maior teor de açúcares na sua composição. Verificou-se que os polímeros obtidos pela precipitação continham menos açúcares em relação ao respectivo extrato em que foi feita a precipitação da mucilagem. No caso do polímero P1-E, continha cerca de metade dos açúcares em relação ao polímero P1. Pelo método de extração 3, o polímero P3-IPA apresentou mais açúcares na sua constituição face ao P3-E. Por outro lado, os polímeros obtidos pelo método 4, em que existem mais açúcares no polímero em que foi precipitado com etanol (P4-E) face ao que foi precipitado com IPA (P4-IPA).

Os valores reportados pela literatura foram bastante diferentes entre eles. Rodríguez-González, em 2011 [40], reportou 130 µg/mg na mucilagem extraída através da maceração das folhas trituradas, e posteriormente precipitado o extrato obtido. Em 2014, este obteve valores ligeiramente acima com 169,2 µg/mg. Rodríguez-González [69] usou o método da antrona, que foi usado neste trabalho também. Felkai-Hadache et al. (2016) [53] extraiu os polímeros pela precipitação dos diferentes extratos obtidos com etanol. Obteve os extratos através da maceração das folhas trituradas a 20 °C durante 3h, maceração a 80 °C durante 2h e assistido por micro-ondas a 700W durante 5 minutos. Os polímeros apresentaram valores de 494, 558 e 744 µg/mg de açúcares, respetivamente. Os polímeros extraídos pelo autor, assemelham-se aos polímeros P4-E, P3-E e P5-E.

Os valores obtidos neste trabalho foram mais baixos comparativamente aos de Felkai-Hadache et al. (2016) [53]. O autor usou o método de fenol sulfúrico para a determinação de açúcares neutros. Esta diferença pode ser explicada pelos métodos de extração e caracterização usados, as folhas que foram usadas para a extração, uma vez que a composição das folhas varia consoante a região para região, ou da idade das folhas usadas para a extração. As folhas usadas por Felkai-Hadache et al. (2016) [53] e Rodriguez-Gonzalez (2014) [69] foram colhidas no nordeste da Argélia e México, respetivamente.

4.2.3 Ácidos Urónicos

Na tabela 4.4 encontram-se os valores de ácidos urónicos obtidos para cada polímero. Foi feita a média dos duplicados, com o respetivo desvio padrão entre eles. Os valores obtidos estão representados no gráfico da figura 4.8. Encontram-se no anexo A.3 as absorvâncias e retas de calibração obtidas para efetuar a quantificação de ácidos urónicos.

Foi detetada a presença de ácidos urónicos em todos os polímeros. Os polímeros P1 e P1-E detetaram-se sensivelmente 30 µg/mg polímero. Verificou-se que o polímero P5-E foi o polímero com maior quantidade de ácidos urónicos, com 57,4 µg/mg, de seguida o P4-E com 50,4 µg/mg. Já os polímeros obtidos pelo método 3, foram os que menos ácidos urónicos tinham, não havendo diferenças significativas entre eles. Os polímeros P4 e P5 contêm quantidades idênticas de ácidos urónicos, 26,6 µg/mg.

Felkai-hadache et al (2016) [53], determinou o teor de ácidos urónicos, pelo mesmo método usado neste trabalho, dos diferentes polímeros obtidos pela precipitação com etanol, dos diferentes extratos resultantes de vários métodos de extração. Reportou 45 µg/mg quando o extrato foi obtido por maceração a 20 °C durante 3h, 51 µg/mg quando cozeu os cladódios triturados a 80 °C durante 2 h, e valores entre 39-48 µg/mg, quando extraiu com recurso ao micro-ondas nas diferentes potências de 500-900W durante 3-7 minutos. Já Rodríguez-González (2014) [69], reportou uma menor quantidade de 23,5 µg/mg de ácidos urónicos na composição da mucilagem extraída.

Tabela 4.4 Valores de ácidos urónicos dos polímeros

Polímero	Ácidos Urónicos µg A.U. / mg Polímero	
P1	31,8 ± 0,7	Literatura Rodríguez-González et al. (2014) [69] 23,5
P1-E	29,2 ± 1,1	
P2	23,0 ± 0,8	
P3	10,9 ± 0,1	
P3-E	11,7 ± 0,3	
P3-IPA	12,6 ± 1,0	
P4	26,6 ± 0,9	Felkai-Haddache et al. (2016) [53] 39-51
P4-E	50,4 ± 1,7	
P4-IPA	19,0 ± 0,0	
P5	26,6 ± 0,7	
P5-E	57,4 ± 1,5	

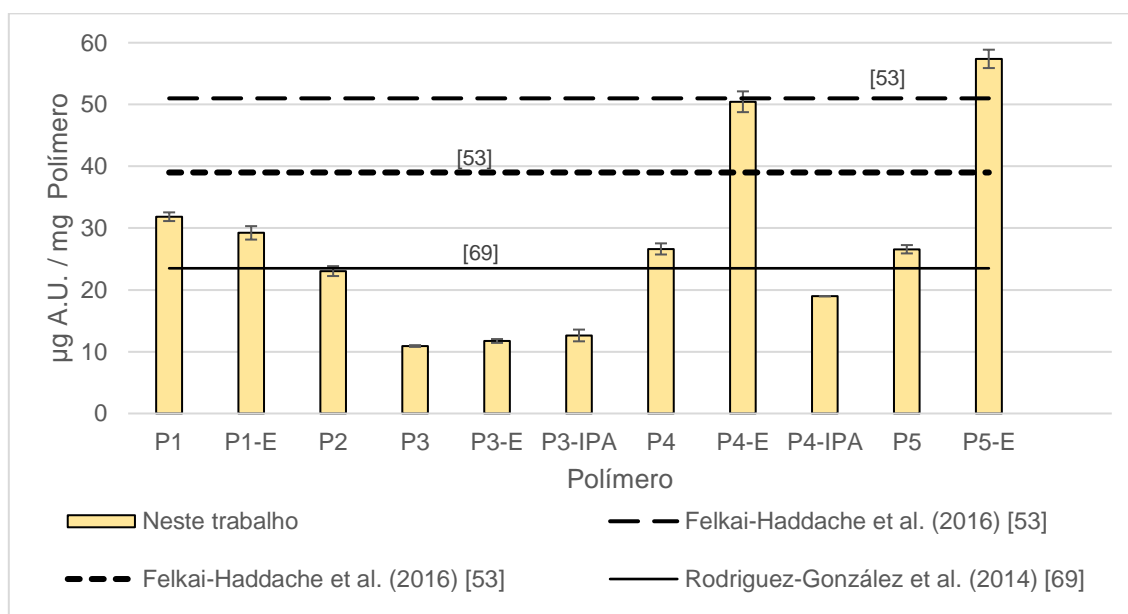


Figura 4.8 Gráfico dos resultados de ácidos urónicos dos polímeros

4.2.4 Cinzas

Os resultados obtidos relativamente ao teor de cinzas para cada amostra são apresentados na tabela 4.5. Para os polímeros P3-IPA, P4-IPA e P5-E, uma vez que a quantidade mínima para realizar a caracterização de cinzas é de 100 mg, por limitação de quantidade existente dos polímeros em causa, não foi possível realizar réplicas. Não foi realizada a caracterização do polímeros P4-E. Os valores encontram-se representados no gráfico da figura 4.9. Os pesos registados ao longo da caracterização encontram-se no anexo A.4.

Tabela 4.5 Valores de cinzas dos polímeros (*resultado de uma amostra só)

Polímero	Cinzas (p/p) %
P1	14,7%
P1-E	19,1%
P2	13,5%
P3	21,7%
P3-E	23,9%
P3-IPA*	25,8%
P4	13,8%
P4-IPA*	13,9%
P5	15,1%
P5-E*	16,1%

Cinzas (p/p) %	
Literatura	
Sepúlveda et al. (2007) [42] 36,8-38,1%	
Rodríguez-González et al. (2011) [40] 11,91 %	
N. Gebresamuel e Tsige Gebre-miriam (2012) [70] 33,96%	
Rodríguez-González et al. (2014) [69] 15,13%	

Os polímeros obtidos pelo método 3 mostraram ter maior teor de cinzas em relação aos outros polímeros, com teores de cinzas superiores a 20% (p/p). De um modo geral, verificou-se uma maior percentagem de cinzas nas amostras precipitadas com solvente em relação ao respetivo extrato em que foi precipitado. Houve um aumento de cerca de 4%, de P1-E para P1 e de P3-IPA para P3. Por outro lado, pelo método 4 não houve diferenças significativas quando o extrato foi precipitado com IPA.

Rodríguez-González et al. (2011) [40] e N.Gebresamuel e Tsige Gebre-miriam (2012) [70] reportaram valores de 11,91% e 15,13%, respetivamente. Sendo que, Rodríguez-Gonzalez (2014) [69] extraiu a mucilagem, cozendo os pedaços de cladódios triturados a 80 °C, e posteriormente precipitado com etanol, semelhante à amostra 3-E obtida neste trabalho. Já N.Gebresamuel e Tsige Gebre-miriam (2012) [70] obteve o extrato pela maceração dos pedaços dos cladódios, precipitando também depois com etanol, semelhante ao polímero 4-E obtido neste trabalho.

Em 2014, Rodríguez-Gonzalez et al. [69] precipitou o extrato com etanol, obtendo teores de cinzas de 33,96%, bastante mais elevados comparativamente com os que obteve em 2011. Sepúlveda et al. (2007) [42] obteve teores de cinzas nos polímeros extraídos semelhantes a Rodríguez-González et al. (2014), com 36,8% e 38,1% para a mucilagem precipitada com etanol e IPA, respetivamente.

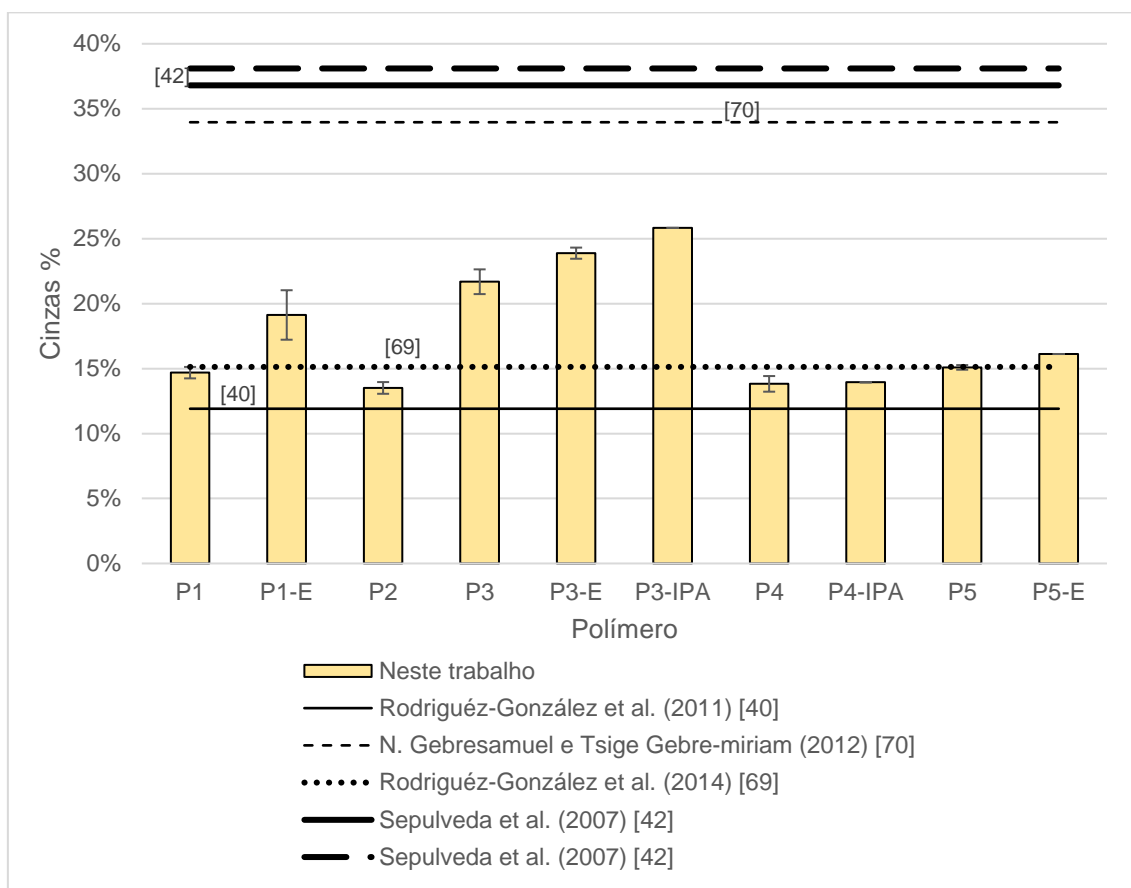


Figura 4.9 Gráfico com os teores de cinzas dos polímeros

4.2.5 Monossacarídeos

Foram pesados 5,12 mg de polímero P1 e dissolvidos em 5 ml de água destilada, obtendo uma concentração de polímero analisado de 1,024 g L⁻¹. Para a preparação da solução padrão de monossacarídeos foram pesados 9,9 mg de galactose, 10 mg de arabinose, 10,1 mg de xilose e 10 mg de ramnose, dissolvidos em 10 ml de água destilada. No anexo A.5 encontram-se os cromatogramas das soluções padrão com diferentes concentrações (1, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 mg L⁻¹). Na figura 4.10 é apresentado o cromatograma obtido da análise do polímero P1, e na tabela 4.6 os valores dos tempos de retenção e áreas dos picos do cromatograma da figura 4.10. Para o cálculo da quantidade dos monossacarídeos presentes no polímero, usou-se a equação 4.1.

$$\text{Monossacarídeo \% (p/p)} = \frac{\text{Concentração de monossacarídeo (mg/L)}}{1024 \text{ (mg/L)}} \times 100 \quad (4.1)$$

Pela observação do cromatograma da figura 4.10, podemos observar que os picos correspondentes aos monossacarídeos a analisar (7, 8, 10 e 12), são bastantes baixos, ao contrário do que se esperava. Verifica-se um pico bastante maior face aos outros (11). Uma vez que a solução padrão de monossacarídeos entregue em laboratório só continha arabinose, ramnose, xilose e galactose, foi pedido ao laboratório uma comparação com os tempos de retenção de outras amostras analisadas de outros trabalhos, de modo a saber o monossacarídeo em questão. Segundo a resposta do laboratório, trata-se da glucose, com quantidade estimada de 220,62 mg L⁻¹. Na tabela 4.7, apresentam-se as percentagens de cada monossacarídeo detetados no polímero analisado neste trabalho e percentagens reportadas por outros autores.

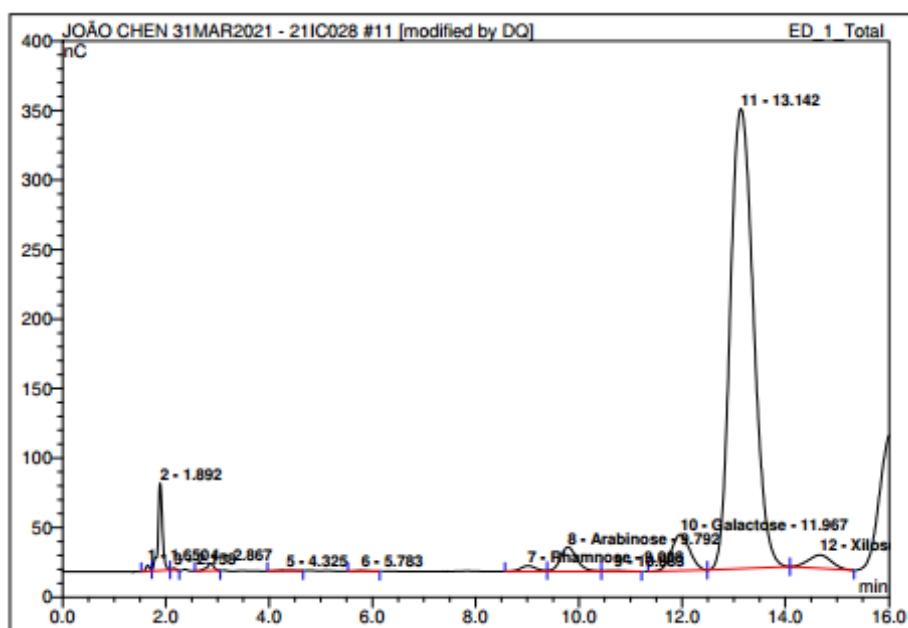


Figura 4.10 Cromatograma do polímero P1

Tabela 4.6 Resultados da análise HPLC do polímero P1

No.	Ret.Time min	Peak Name	Height nC	Area nC*min	Rel.Area %	Amount mg/l	Type
1	1.65	n.a.	4.399	0.361	0.18	n.a.	BM
2	1.89	n.a.	62.631	6.081	2.99	n.a.	Mb
3	2.16	n.a.	1.472	0.117	0.06	n.a.	bMB
4	2.87	n.a.	5.410	0.837	0.41	n.a.	BMB
5	4.33	n.a.	0.367	0.138	0.07	n.a.	BMB
6	5.78	n.a.	0.481	0.119	0.06	n.a.	BMB
7	9.01	Rhamnose	3.995	1.368	0.67	2.180	BM
8	9.79	Arabinose	17.465	6.421	3.16	7.900	M
9	10.68	n.a.	0.556	0.244	0.12	n.a.	MB
10	11.97	Galactose	26.030	10.723	5.28	11.935	BMB*
11	13.14	n.a.	330.659	171.913	84.57	n.a.	bMB*
12	14.67	Xilose	9.575	4.958	2.44	4.493	bMB*
Total:			463.040	203.280	100.00	26.507	

Ao contrário dos valores reportados por diversos autores mencionados na tabela 4.7, verificou-se que o polímero analisado, as razões de arabinose, xilose, ramnose e galactose

foram extremamente baixas. Por outro lado, tal como Rodriguez-Gonzalez (2014) [69], foi detetada a presença de glucose na composição. Pelo cromatograma, foram identificados 12 tipos distintos de monossacarídeos na sua composição para o tempos de retenção até 16 minutos. Contudo, a análise foi incompleta, uma vez que pode-se observar que saem mais sinais após a eluição da xilose (14,47 minutos). Os baixos valores podem estar relacionados com uma hidrólise incompleta do polímero analisado.

Tabela 4.7 Tabela comparativa da composição de monossacarídeos presentes na mucilagem OFI (a-% molar; b-% mássica)

Autor	Ara	Gal	Xil	Glu	Ram	Ac. Uró
Neste trabalho ^b	0,77	1,17	0,44	21,54	0,21	-
Felkay-Hadache (2016) ^a [53]	38-42	30-32	19-21	-	4-7	-
Rodriguez-Gonzalez et al (2014) [69]	35,36	27,76	16,32	5,18	1,93	-
Cárdenas et al. (2008) ^b [71]	6	7	1	-	0,6	84,5
Medinas-Torres et al. (2000) ^b [31]	44,04	20,43	23,45	-	7,03	6,38
McGarvie and Parolis (1981) ^a [35]	42,4	18,4	24,5	-	6,4	8,4
Trachtenberg and Mayer (1981) ^a [37]	24,6	40,1	22,2	-	13,1	-
Nobel et al. (1992) ^a [32]	46,68	17,92	22	-	7	8

Outro aspeto a ter em consideração são os métodos usados tanto para a extração como para a caracterização da mucilagem extraída. Enquanto neste trabalho e Medina-Torres et al. (2000) [31], a mucilagem foi caracterizada por HPLC, os restantes caracterizaram a mucilagem por GC. A caracterização do polímero foi realizada no intuito de identificar os monossacarídeos maioritários na composição (arabinose, xilose, galactose e ramnose) da mucilagem segundo a literatura [28–30, 32, 35–37], embora em quantidades muito inferiores, a presença destes foram detetadas. Não foi possível repetir a análise e/ou analisar os outros polímeros extraídos.

Num trabalho futuro, seria indicado entregar uma mistura padrão com maior quantidade de tipos analitos, de modo a identificar e quantificar os outros compostos que constituem a mucilagem presente nos cladódios OFI estudados.

Relativamente à caracterização da mucilagem realizada (proteína, açúcares neutros, ácidos urónicos e cinzas), neste trabalho foram realizados ensaios singulares e em duplicados dos polímeros a analisar. Seria indicado realizar os ensaios em triplicado e réplicas em triplicado, de modo a realizar um estudo estatístico dos valores obtidos.

Na tabela 4.8, encontram-se os valores da caracterização dos polímeros extraídos, em relação à proteína total, açúcares neutros, ácidos urónicos e cinzas.

Tabela 4.8 Composição dos polímeros extraídos

Polímero	Rendimento % (g pó/ 100 g folha fresca)	Proteína	Açúcares Neutros	Ácidos Urônicos	Cinzas % (p/p)	Monossacarídeos % (g/g polímero)
		µg/ mg polímero				
P1	2,82%	237,3 ± 9,9	476,6 ± 12,2	31,8 ± 0,7	14,7%	Polímero P1
P1-E	0,54%	185,4 ± 4,9	205,6 ± 9,1	29,2 ± 1,1	19,1%	Arabinose
P2	8,05%	158,3 ± 0,3	335,6 ± 1,7	23,0 ± 0,8	13,5%	0,77%
P3	2,01%	201,7 ± 2,2	375,0 ± 7,0	10,9 ± 0,1	21,7%	Xilose
P3-E	0,38%	110,0 ± 1,3	181,4 ± 17,0	11,7 ± 0,3	23,9%	0,44%
P3-IPA	0,39%	87,2 ± 3,3	218,1 ± 16,4	12,6 ± 1,0	25,8%	Ramnose
P4	4,29%	175,6 ± 4,2	370,3 ± 33,3	26,6 ± 0,9	13,8%	0,21%
P4-E	0,79%	114,3 ± 8,6	385,2 ± 1,3	50,4 ± 1,7	-	Galactose
P4-IPA	1,04%	113,1 ± 2,1	289,5 ± 15,8	19,0 ± 0,0	13,9%	1,17%
P5	4,36%	221,0 ± 2,9	478,9 ± 4,8	26,6 ± 0,7	15,1%	Glucose
P5-E	0,61%	160,6 ± 21,1	336,7 ± 7,0	57,4 ± 1,5	16,1%	21,54%

4.3 Testes preliminares de remoção de turvação

São apresentadas as fotografias da proveta onde foi aplicado cada polímero. Para os polímeros testados são apresentadas uma sequência de 11 fotos, correspondendo aos tempos 0 a 10 minutos, 1 minuto por passo. Sendo o 0, o momento em que a solução agitada foi totalmente vertida para a proveta. Como padrão, aplicou-se o cloreto férrico. Não foi testado o polímero 4, uma vez que, quando foi realizado o ensaio, o polímero P4 ainda não tinha liofilizado. Foram criadas 2 soluções de água turva sintética. Na tabela 4.8 apresentam-se os valores de pH da água testada e da solução de cada polímero. Nas figuras 4.19, 4.20 e 4.21, as águas parecem mais turvas, uma vez as provetas em questão foram filmadas do lado oposto às outras.

Tabela 4.9 Valores de pH dos polímeros e da água tratada

Proveta	Polímero	pH	
		Polímero	Água
1	FeCl₃	2,092	9,661
2	P1	4,867	9,661
3	P3	4,837	9,661
4	P1-E	4,878	9,661
5	P2	5,287	9,661
6	P3-E	5,17	9,661
7	P3-IPA	5,883	9,661
8	P4-IPA	6,92	9,661
9	P4-E	6,682	9,661
10	P5	4,792	9,661
11	P5-E	5,795	9,461

Observou-se que o cloreto férrico se mostrou extremamente eficaz tanto na remoção da turvação como na velocidade de sedimentação dos flocos formados, embora não seja perceptível nas imagens. Contudo, observa-se pela figura 4.11, que após o 1º minuto existe uma remoção quase total. Apresentando ao final de 10 minutos, uma água transparente.

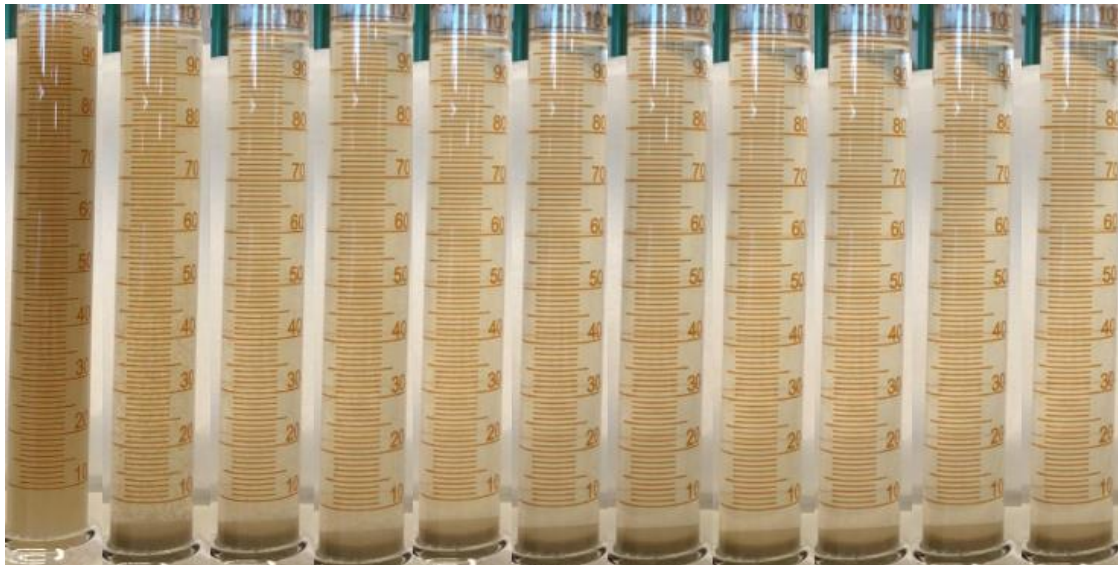


Figura 4.11 Sequência de imagens proveta 1 (CF)

Quando aplicados os polímeros obtidos pelo método 1, o polímero P1-E observou-se a formação de aglomerados, enquanto o polímero P1 isso não se observou. Após os 10 minutos, ambos os polímeros reduziram a turvação inicial, no entanto a água continuou bastante turva.



Figura 4.12 Sequência de imagens proveta 2 (Polímero P1)

Os polímeros P3 e P3-E foram os que obtiveram melhores resultados. Produziu flocos/aglomerados maiores, levando a um tempo de sedimentação menor. Podemos observar pelas figuras 4.13 e 4.16, tendo o polímero um desempenho idêntico ao CF. Após o 1º minuto, observou-se uma divisão clara da interface, removendo quase na totalidade a turvação inicial. Por outro lado, não se observou essa divisão quando foi aplicado o polímero P3-IPA.

Os polímeros P5 e P5-E, apresentaram uma remoção gradual, contudo o polímero P5-E, mostrou um poder remoção maior face ao polímero P5, uma vez que pelas figuras 4.20 e 4.21, observa-se que após os 10 minutos, este apresenta uma turvação residual maior. Os polímeros P2, P4-E e P4-IPA, houve igualmente uma remoção, mas não se mostraram tão eficazes.

De um modo geral, podemos afirmar que efetivamente os polímeros extraídos quando aplicados numa água turva sintética, estes melhoram a o tempo de sedimentação quando não foi aplicado nenhum composto. Contudo, não foi possível verificar a interface uma vez que o dispositivo usado para gravar não permitiu uma imagem nítida o suficiente. Por outro lado, seria indicado medir a turvação final com recurso a um turbidímetro, de modo a ter uma avaliação quantitativa da da remoção da turvação.

O pH da água turva tratada foi cerca de 9,6, e segundo os estudos realizados por Pichler et al. (2012) [20] e Al-Aubadi et al. (2015) [43], estes reportaram que o pH ótimo em que houve uma maior remoção de turvação foi de 7. Para um estudo mais completo deveria ser estudado para uma água turva sintética com diferentes valores de pH, de modo a perceber a influência do pH na remoção da turvação.



Figura 4.13 Sequência de imagens proveta 3 (Polímero P3)

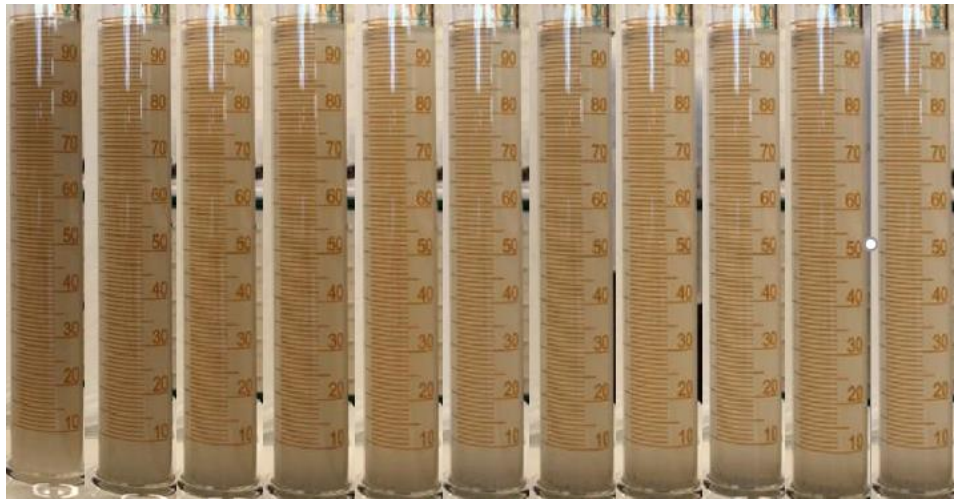


Figura 4.14 Sequência de imagens proveta 4 Polímero P1-E)

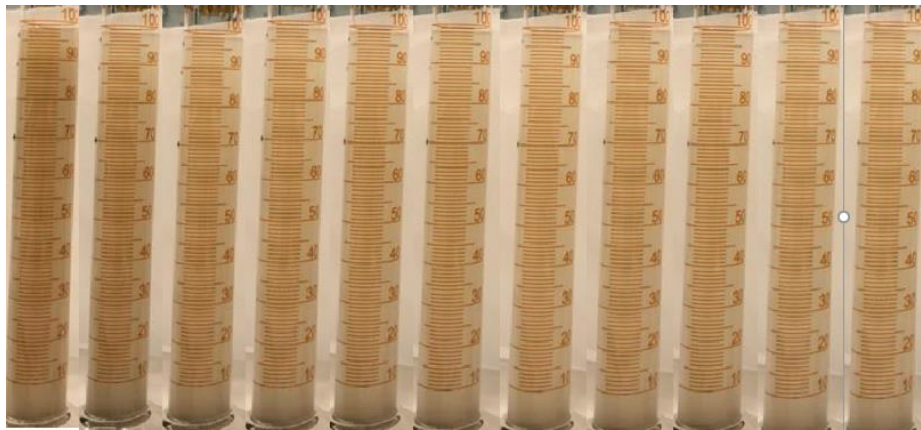


Figura 4.15 Sequência de imagens proveta 5 (Polímero P2)

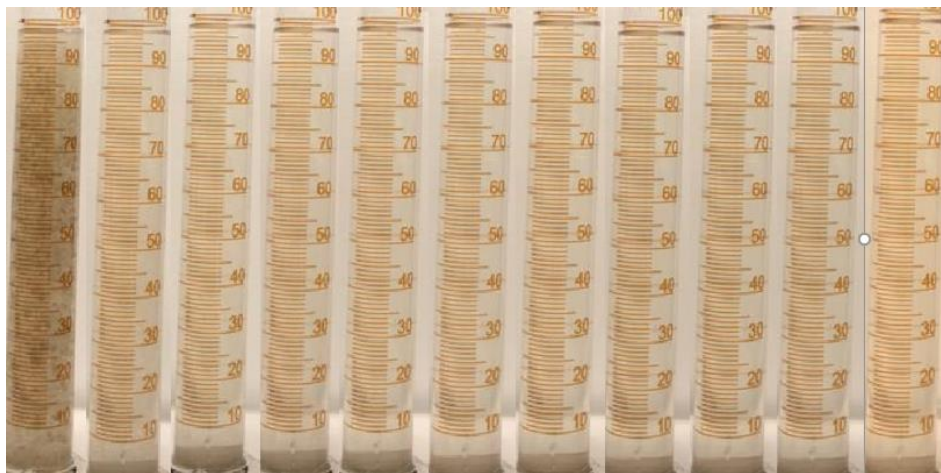


Figura 4.16 Sequência de imagens proveta 6 (Polímero P3-E)



Figura 4.17 Sequência de fotos proveta 7 (Polímero P3-IPA)



Figura 4.18 Sequência de imagens proveta 8 (Polímero P4-IPA)



Figura 4.19 Sequência de imagens proveta 9 (Polímero P4-E)



Figura 4.20 Sequência de imagens proveta 10 (Polímero P5)

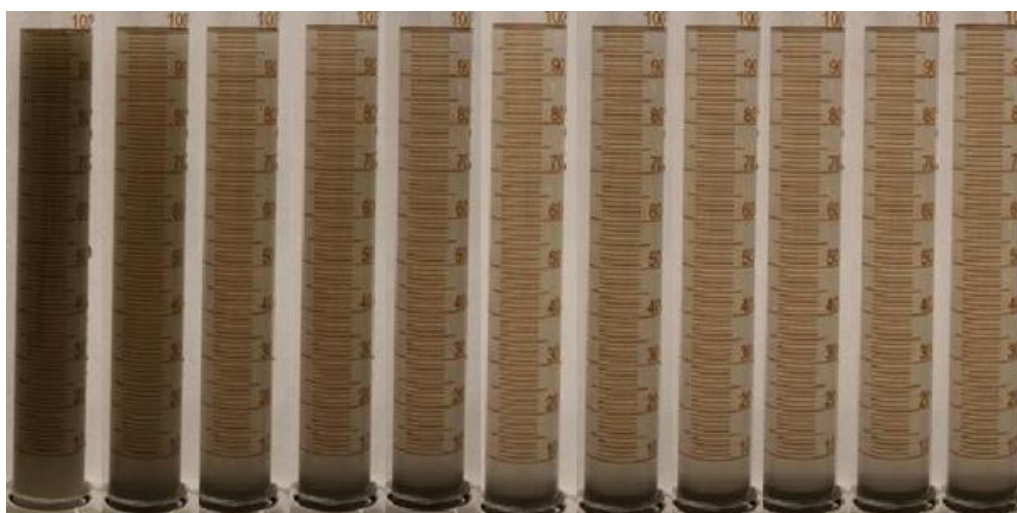


Figura 4.21 Sequência de imagens proveta 11 (Polímero P5-E)

4.4 Ensaio *Jar Test*

São apresentadas as eficiências obtidas pela aplicação dos polímeros extraídos nas águas residuais recolhidas. Para este trabalho foram recolhidas águas residuais com níveis entre 67 NTU e 187 NTU. As recolhas da parte da manhã foram entre as 10h e 11h, enquanto as recolhas da parte da tarde foram entre as 13h e 15h.

As águas residuais tratadas na ETAR de Alcântara são de origem doméstica, conseqüentemente os diferentes níveis de turvação estão de acordo com as necessidades domésticas do quotidiano. A turvação mais baixa da parte da manhã pode ser explicada, por exemplo, pela toma de banhos, o que leva a uma maior diluição da água, e conseqüente baixo nível de turvação. O pH das águas recolhidas oscilou entre 7,8-8.

Realizaram-se os ensaios em diferentes em diferentes alturas do dia (manhã e tarde), de modo a apanhar a variabilidade do efluente (NTU e pH), com diferentes combinações de velocidades de mistura (50, 100, 150 e 200 rpm) e tempos de contacto (2, 5 e 10 minutos), aplicando os polímeros extraídos em diferentes concentrações (10-110 mg/L) e em combinação com o cloreto férrico em diferentes concentrações (10-25 mg/L).

4.4.1 Ensaio 1, 2 e 3

Na tabela 4.10 são apresentados os valores de turvação e pH iniciais das águas recolhidas para cada ensaio e as velocidades de rotação utilizadas. No gráfico da figura 4.22, podemos observar as eficiências de remoção da turvação inicial para os polímeros aplicados a uma concentração de 30 mg L⁻¹, em águas com valores de turvação iniciais de 67 e 84 NTU. A eficiência máxima para 67 NTU, foi obtida pelo polímero P4 com 68,2%. Contudo, a maioria dos polímeros mostraram uma eficiência abaixo do branco, isto é, a turvação residual foi maior quando não se aplicou nenhum polímero ou CF, refletindo-se em atividades de coagulação negativas. Somente os polímeros P1, P1-E, P4, P4-IPA e P5 mostraram-se mais eficazes quando comparado ao branco. Observou-se, ainda que marginal, uma menor eficiência quando água apresentou uma turvação de 84 NTU. No entanto, quando se aplicou uma dose maior, não se traduziu num aumento da eficiência. Houve um maior decréscimo da eficiência de remoção dos polímeros P4 e P5, quando aplicados a uma turvação de 84 NTU.

Tabela 4.10 Valores de turvação e pH das águas residuais recolhidas (ensaio 1, 2 e 3)

Ensaio	NTU	pH	Recolha	Tempo
1	67	7,935	Manhã	Chuva
2	123	7,866	Tarde	Chuva
3	84	8,014	Manhã	Seco
Metodologia				
200 rpm/2 min =>100 rpm/5min=> 20 min sedimentação				

Pelo gráfico da figura 4.23, para um valor de turvação de 123 NTU, aplicaram-se os polímeros P1, P2 e P3 com uma concentração superior a 55 mg L⁻¹, a eficiência não ultrapassou os 41%. Por sua vez, as eficiências mostraram-se abaixo da linha do branco (46,7 %), traduzindo-se em atividades coagulantes negativas.

Testaram-se os polímeros (30 mg L⁻¹) em combinação com 10 mg L⁻¹ de CF. A partir dos resultados apresentados no gráfico da figura 4.24, pode-se observar que foi notória o aumento de eficiência quando aplicado com o CF, com eficiências acima de 72%, superiores ao branco (58,5%).

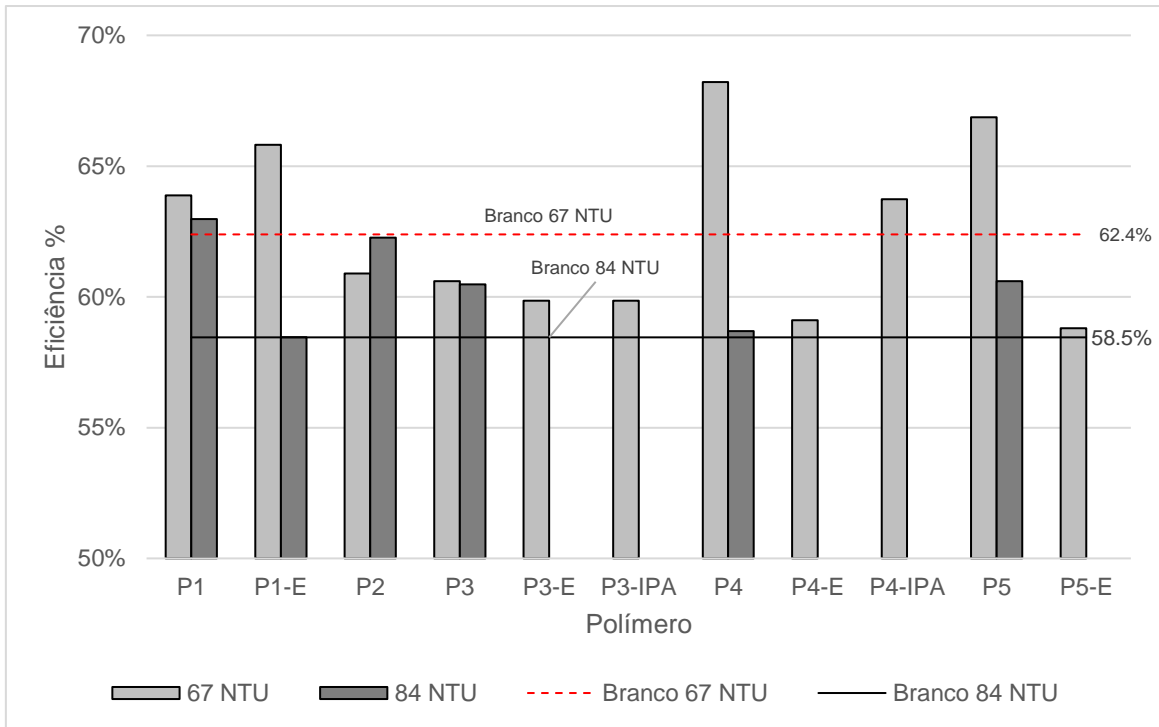


Figura 4.22 Eficiências de remoção dos polímeros aplicados a uma concentração de 30 mg/L nas águas de 67 e 84 NTU

Testou-se o polímero P2 em diferentes concentrações em combinação com diferentes concentrações de CF, uma vez que dos polímeros testados anteriormente numa água turva de 84 NTU (figura 4.24), foi o que obteve maior eficiência de remoção (79,2%). Aplicaram-se 12,5 mg L⁻¹ e 15 mg L⁻¹ de CF, combinados com diferentes concentrações de P2 (20, 45, 60 e 80 mg L⁻¹). Os valores de eficiências estão representados no gráfico da figura 4.25.

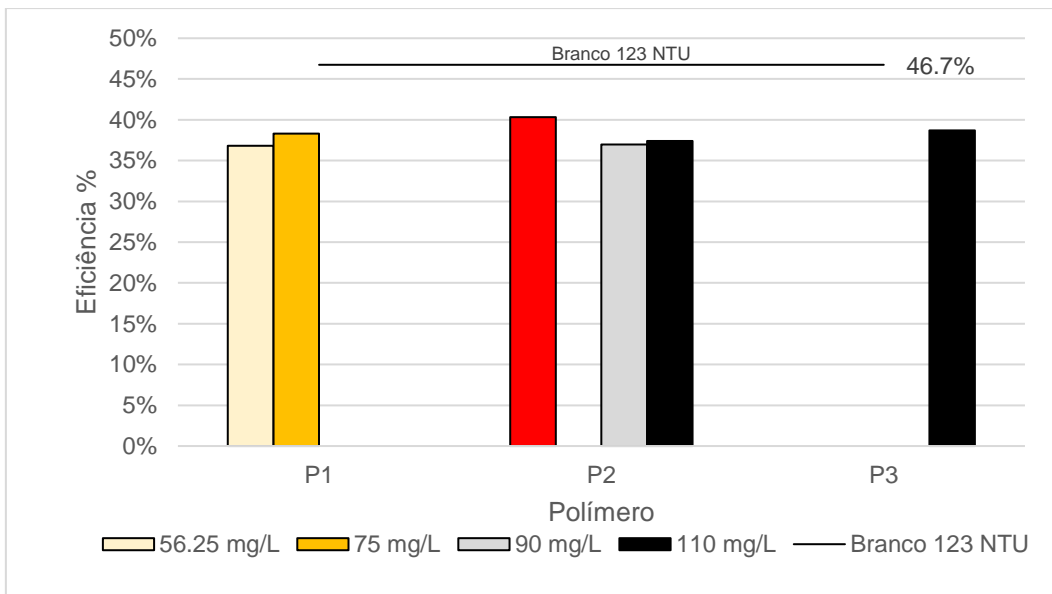


Figura 4.23 Eficiências de remoção dos polímeros P1, P2 e P3 na água com 123 NTU

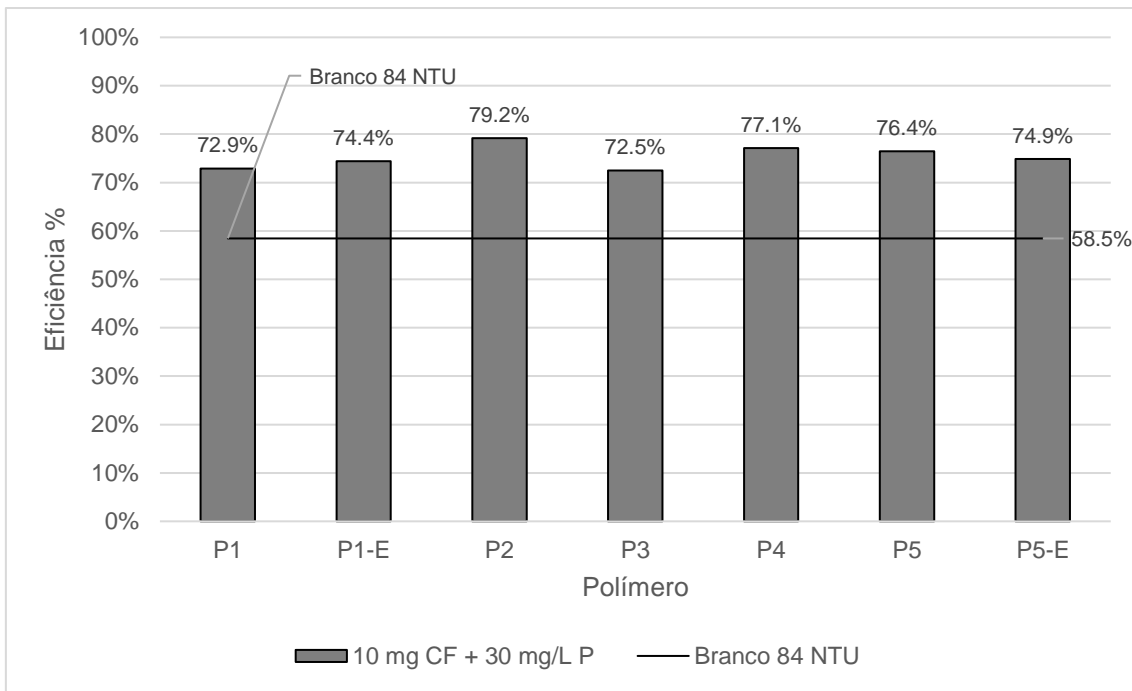


Figura 4.24 Eficiências de remoção combinado 15 mg/L CF + 30 mg/L P na água de 84 NTU

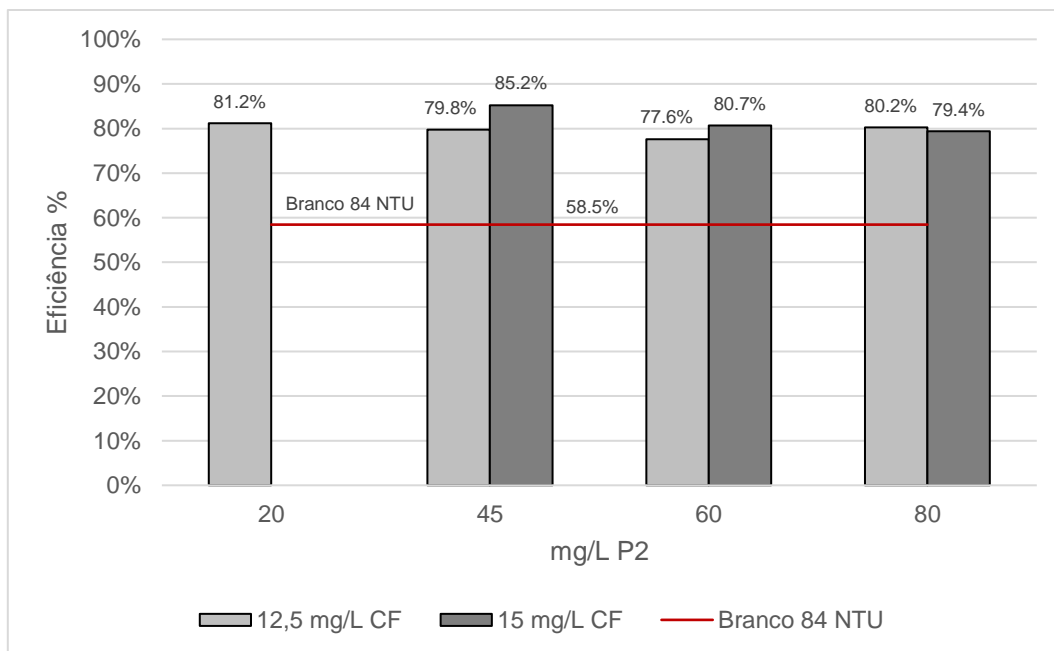


Figura 4.25 Eficiências de remoção do polímero 2 combinado com CF na água de 84 NTU

Verificou-se, como esperado, o aumento da concentração de CF traduziu-se numa maior eficiência de remoção. quando foram usados 45 e 60 mg L⁻¹ de polímero P2. A eficiência de remoção foi máxima (85,2%) quando aplicados 45 mg L⁻¹ de polímero P2 em combinação com 15 mg L⁻¹ de CF.

Aplicaram-se os polímeros P1-E, P5 e P5-E com o CF para uma água com turvação inicial de 123 NTU. Foram usadas 2 concentrações em conjunto (30 e 45 mg L⁻¹) com diferentes proporções de CF e P5. Isto é, para cada concentração total, de 30 e 45 mg L⁻¹, diferentes razões de CF e P5. É possível pela observação do gráfico da figura 4.26, que quando se usou uma concentração combinada de 45 mg L⁻¹, houve uma maior eficiência de remoção, tendo sido mais significativa essa subida quando foi usada a razão de 0,5:0,5.

Fez-se o mesmo teste para o P1-E, e verificou-se também que ao aumentar a quantidade de CF, obteve-se melhores eficiências, ainda que baixas. O P1-E, mostrou ser melhor para proporções 0.5:0.5 e 0.66:0.33 face ao P5. O P5-E, quando aplicado na razão de 0.5:0.5, numa concentração total de 45 mg L⁻¹, obteve-se uma eficiência idêntica quando P1-E e P5 foram aplicados numa concentração total de 30 mg L⁻¹. Os polímeros P1-E e P5, quando aplicados em conjunto com CF, com uma concentração total de 30 mg L⁻¹, na razão 0.33:0.66, não aumentou significativamente a eficiência de remoção.

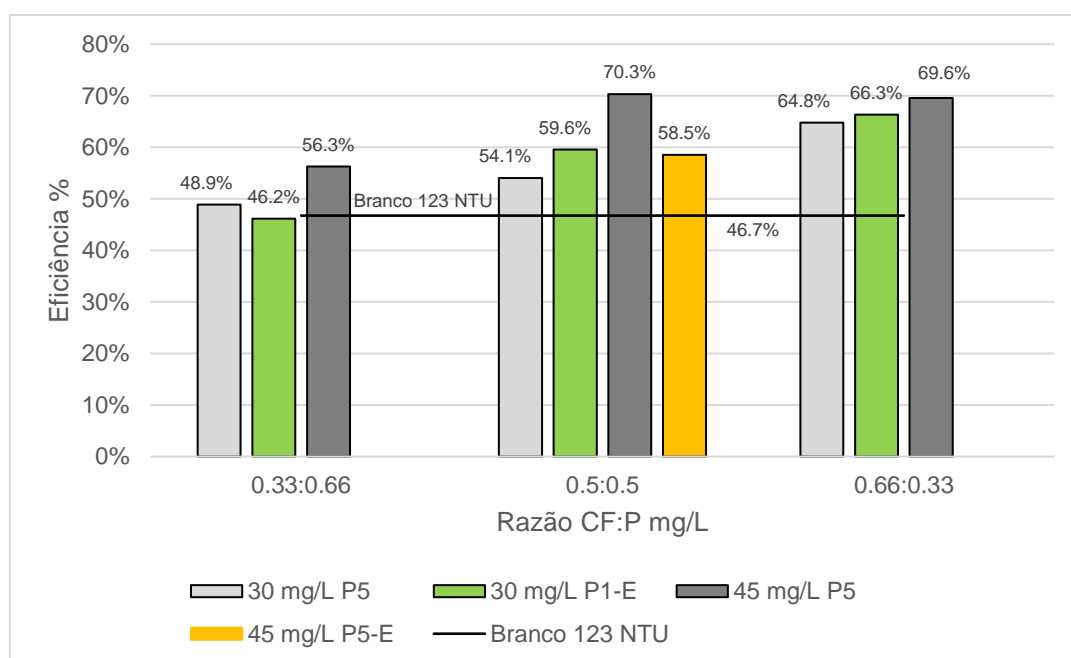


Figura 4.26 Eficiências de remoção combinada com CF na água 123 NTU

4.4.2 Ensaio 4

Para este ensaio foi utilizado uma mistura constante de 100 rpm, usada por Enrique et al. [18], com um tempo de contacto de 5 minutos. Os polímeros foram testados em diferentes concentrações (10, 20, 30 e 45 mg L⁻¹) combinando com diferentes concentrações de CF (17.5, 20, 22.5 e 25 mg L⁻¹). O CF e o polímero a testar foram injetados simultaneamente. Após o tempo de contacto, foram deixadas a sedimentar durante 20 minutos. Por fim, foram medidos a turvação residual e o pH final. Na tabela 4.11 são apresentados o valor da turvação e pH iniciais da água tratada.

Tabela 4.11 Valores de turvação e pH da água residual recolhida (ensaio 4)

Ensaio	NTU	pH	Recolha	Tempo
4	187	7,782	Tarde	Seco
Metodologia				
100 rpm/5min=> 20 min repouso				

Pelos resultados obtidos, representados pelo gráfico da figura 4.27, verificou-se que todos os polímeros aplicados em combinação com o CF, tiveram uma melhor eficiência que o branco (44,9%), embora não representado no gráfico. O P1-E, mostrou ser o menos eficaz, comparativamente a P2, quando aplicado nas mesmas quantidades ou menores tando de CF como de polímero. Contudo, quando aumentamos a quantidade de CF de 17,5 para 25 mg L⁻¹, a eficiência teve um aumento de 10%. O P1 não teve diferenças significativas quando aplicado numa mesma concentração e aumentando a concentração de CF de 20 para 25 mg L⁻¹. O melhor resultado obtido foi quando se aplicaram 45 mg L⁻¹ de P2, em combinação com 25 mg L⁻¹ de CF, com uma eficiência de 76,1%. Já quando se aplicou 30 mg L⁻¹ de CF observou-se uma remoção de 75,9%. O que se poderá traduzir numa diminuição de 5 mg L⁻¹ de CF necessário.

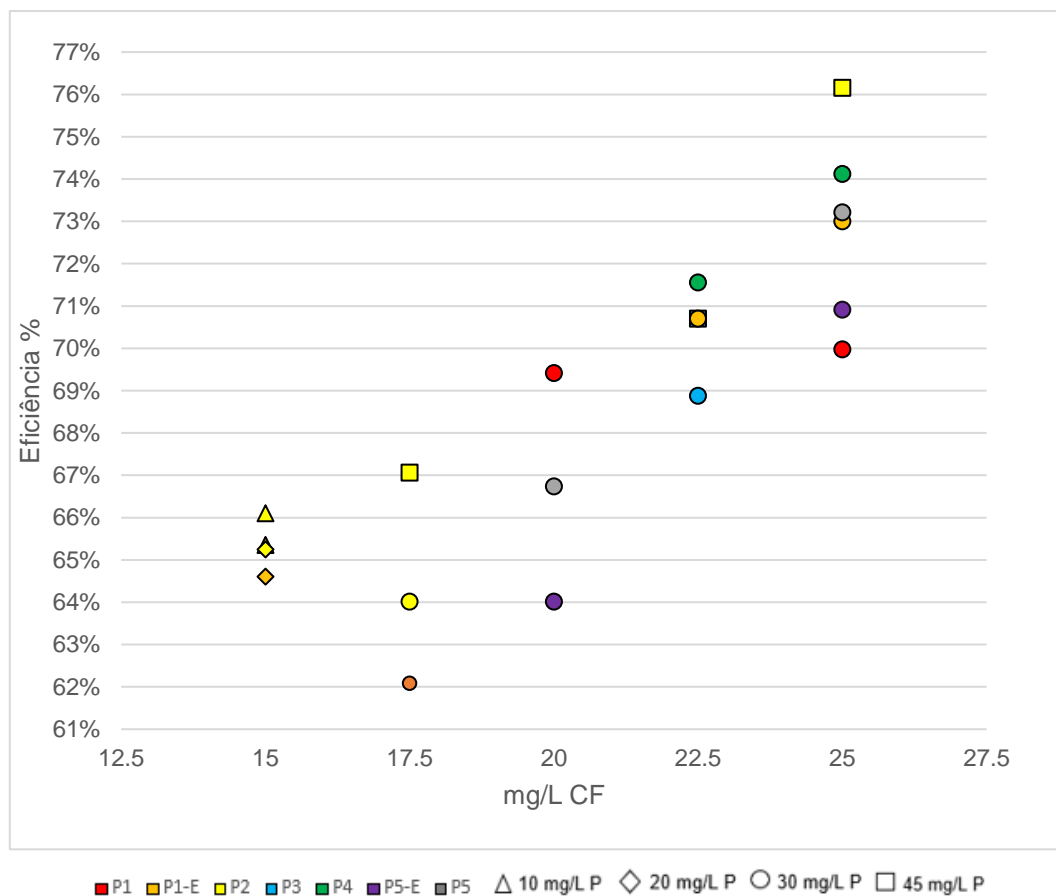


Figura 4.27 Eficiências de remoção combinada (ensaio 4)

4.4.3 Ensaio 5, 6, 7 e 8

Realizaram-se por último. 4 ensaios, com uma mistura rápida de 150 rpm durante 2 minutos, seguido de uma mistura lenta de 50 rpm durante 10 minutos. Isto, uma vez que, segundo estudo de realizado por Bouatay e Mhenni (2014) [44], aplicando a mucilagem OFI na dose ótima (40 mg L^{-1}) como floculante, em combinação com 30 mg L^{-1} de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (coagulante) obteve uma eficiência de remoção de 89%, para um efluente têxtil com turvação inicial de 38 NTU. Quando se aplicou 100 rpm a eficiência de remoção diminui para 52,33%. Desta forma, nos ensaios 5 e 6, testaram-se os polímeros P1, P2, P3, P4 e P5 sozinhos e combinados com o CF. Na tabela 4.12 são apresentados os valores da turvação e pH iniciais das águas tratadas. Na tabela 4.13, são apresentadas as dosagens usadas de cada polímero em cada ensaio.

Tabela 4.12 Valores de turvação e pH das águas residuais recolhidas (ensaios 5 e 6)

Ensaio	NTU	pH	Recolha	Tempo
5	78	8,015	Manhã	Chuva
6	156	8,052	Tarde	Seco
Metodologia				
150 rpm/2min=> 50 rpm/10 min=> 20 min sedimentação				

Tabela 4.13 Dosagens aplicadas para os ensaios 5 e 6

Polímero	Ensaio 5 e 6		
	Polímero	Combinado	
	mg/L	CF mg/L	P mg/L
P1	30 e 45	15	25 e 40
P2	30 e 45	15	25 e 40
P3	30 e 45	15	25 e 40
P4	30 e 45	15	25 e 40
P5	30 e 45	15	25 e 40

Os resultados obtidos, representados no gráfico da figura 4.27, mostraram que houve uma maior eficiência quando aplicadas a uma água menos turva (78 NTU). No entanto, foram menos eficientes que o branco (65,5%). Para uma água mais turva (156 NTU), as eficiências obtidas foram superiores ao branco (50,6%), ainda que marginais, quando aplicados os polímeros P1, P2 e P3. Contudo, as eficiências não ultrapassaram os 70%.

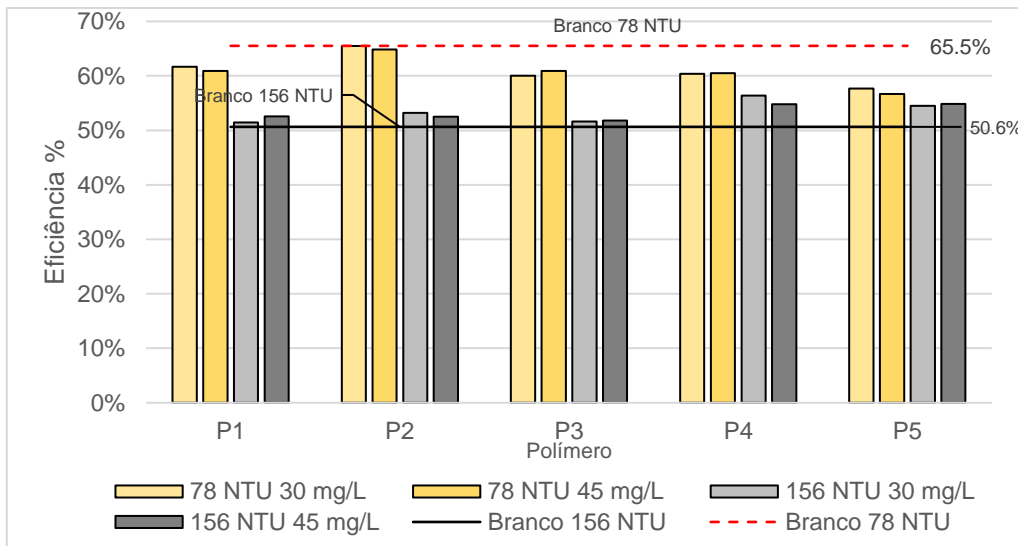


Figura 4.28 Eficiências de remoção dos polímeros nos ensaios 5 e 6

Quando aplicados em combinação com o CF, as eficiências obtidas encontram-se todas acima do respetivo branco. Para um nível de turvação mais baixo (78 NTU), as eficiências foram entre 80-90%, enquanto para um nível mais alto (156 NTU) foram entre 75-80%. Para o nível baixo de turvação (78 NTU) o aumento da concentração de polímero P1, diminui a eficiência de remoção de 85,1% para 82,3%. Por outro lado, o aumento de concentração dos polímeros P2 (83,9%) e P5, não alterou as eficiências de remoção e nos casos de P3 e P4, aumentou a eficiência.

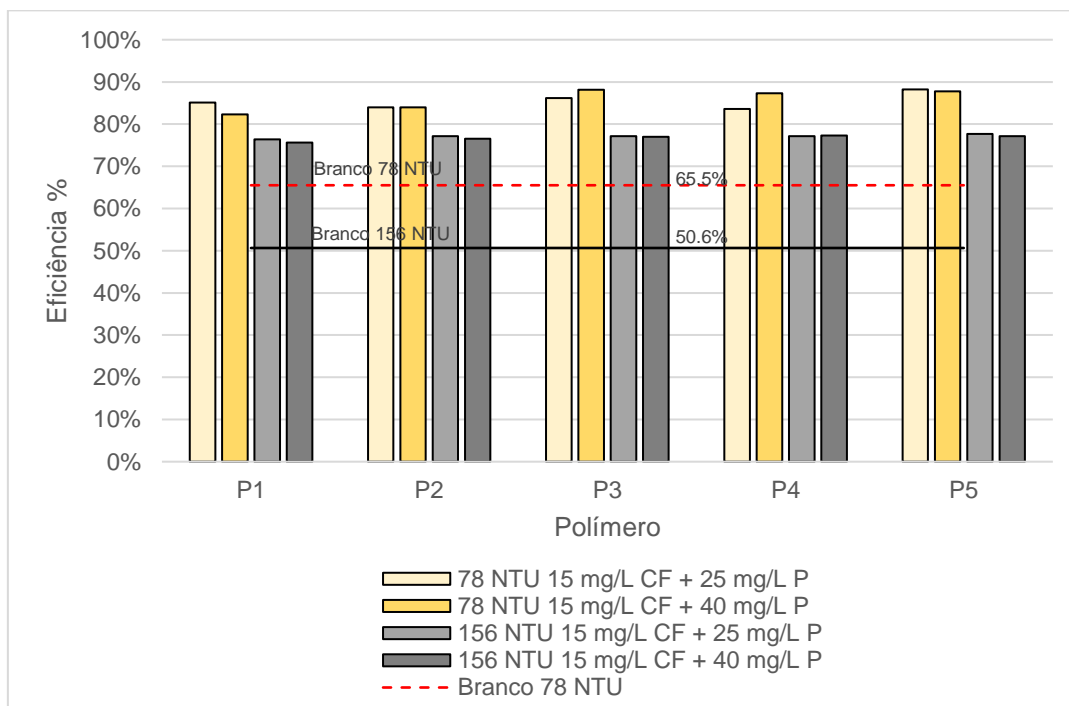


Figura 4.29 Eficiências de remoção combinada nos ensaios 5 e 6

Verificou-se que os polímeros P1 e P2, quando aplicado sozinhos, apresentaram uma formação de flocos visivelmente maiores em comparação aos outros, embora não se refletiu numa remoção significativamente maior, ilustradas pela figura 4.30.

Quando foram aplicados em conjunto com o CF, as dimensões dos flocos formados foram menores. Nos ensaios 7 e 8, testaram-se os polímeros P1-E, P3-E, P4-IPA e P5-E. Foi feito um planeamento igual aos ensaios 5 e 6. Contudo, não foi possível aplicar os polímeros P3-E e P4-IPA nas duas alturas do dia. Aplicaram-se somente da parte da manhã. Nas tabelas 4.14 e 4.15 são apresentados os valores de turvação e pH iniciais das águas tratadas e as dosagens aplicadas, respetivamente, nos ensaios 7 e 8.

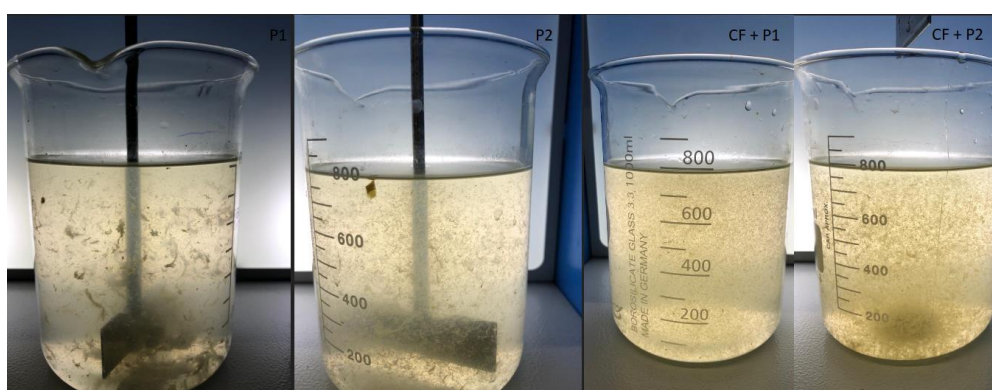


Figura 4.30 Flocos formados pelos polímeros P1 e P2 no ensaio 5

Tabela 4.14 Valores de turvação e pH das águas residuais recolhidas (ensaios 7 e 8)

Ensaio	NTU	pH	Recolha	Tempo
7	183	8,015	Manhã	Seco
8	138	7,964	Tarde	Seco
Metodologia				
150 rpm/2min=> 50 rpm/10 min=> 20 min sedimentação				

Tabela 4.15 Dosagens aplicadas nos ensaios 7 e 8

Manhã e Tarde (Ensaios 7 e 8)			
Polímero	Polímero mg/L	Combinado	
		CF mg/L	P mg/L
P1-E	30 e 45	15	25 e 40
P3-E	30 e 45	15	25 e 40
P4-IPA	30	15	25 e 40
P5-E	30 e 45	15	25 e 40

Ao contrário dos polímeros testados nos ensaios 5 e 6, estes apresentaram uma eficiência maior quando aplicados a uma água com um nível de turvação maior. Pela observação do gráfico da figura 4.31, o aumento dosagem aplicada, tal como nos ensaios 5 e 6, não traduziu num aumento de eficiência. Para a água de 138 NTU, os polímeros mostraram ser ineficientes, isto é, não aumentaram significativamente face ao branco (49,2%), verificando em alguns casos uma menor eficiência (P5-E a 45 mg L⁻¹). Por outro lado, quando aplicados na parte da manhã, numa água com turvação de 186 NTU, as eficiências de remoção (75-80%) foram superiores comparativamente às eficiências da tarde (45-52%). Verificou-se também que para ambas as águas, o aumento da dosagem dos polímeros aplicados, a eficiência de remoção diminuiu.

Aubadi et al. (2015) [43], reportou uma dose ótima 30 mg L⁻¹ da mucilagem extraída, para uma água com turvação inicial de 200 NTU, obtendo uma eficiência de remoção de 76%. Quando aplicou 40 mg L⁻¹, a eficiência de remoção diminuiu para 70%.

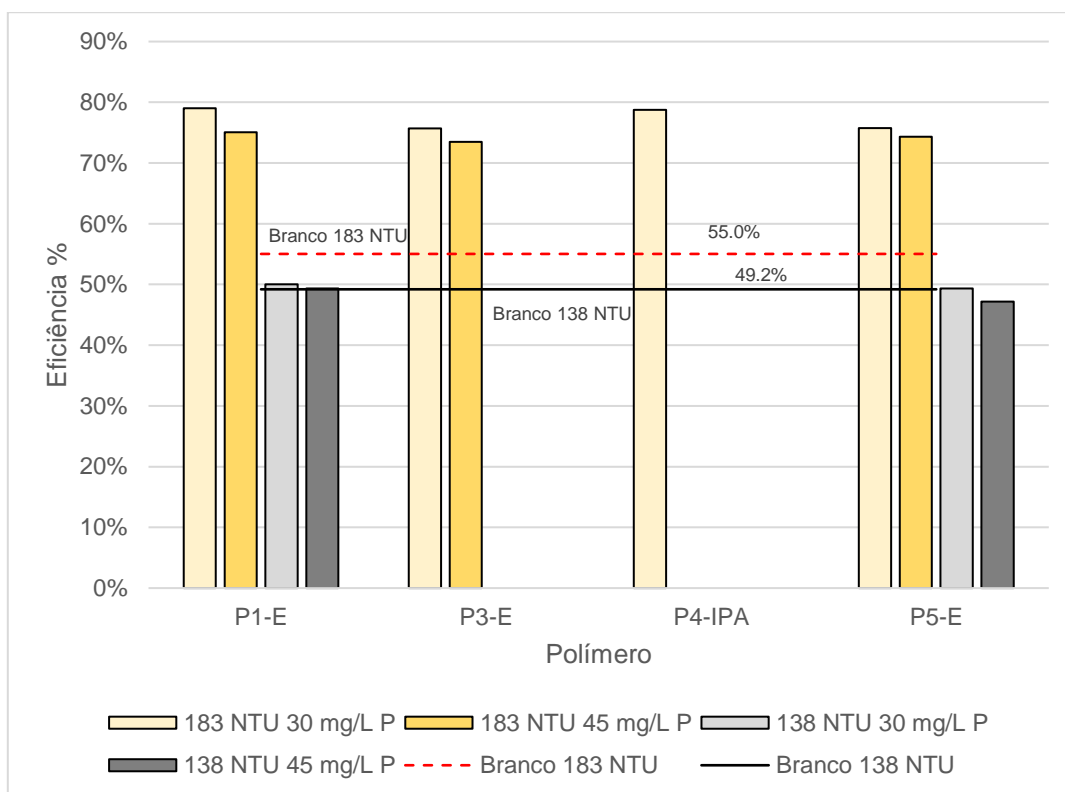


Figura 4.31 Eficiências de remoção dos polímeros nos ensaios 7 e 8

Pelo gráfico da figura 4.32, verifica-se que quando os polímeros foram aplicados em combinação com o CF, o aumento da dosagem do polímero teve como consequência o aumento da remoção da turvação inicial da água mais turva (186 NTU). Já o polímero P5-E, diminuiu a eficiência com o aumento da concentração aplicada. Essa queda é mais significativa quando aplicada à água com nível de turvação de 138 NTU, de 75,3% para 56,1%. Para o polímero P1-E, o aumento da concentração, não teve impacto na eficiência de remoção para 138 NTU.

Obtiveram-se eficiências superiores a 89%, quando aplicados os polímeros P1-E e P3-E numa concentração de 40 mg L⁻¹ com 15 mg L⁻¹ de CF.

Nos ensaios 1, 2 e 3 aplicaram-se uma velocidade de agitação de 200 rpm durante 2 minutos, seguida de agitação lenta de 100 rpm. Ora, segundo Bouatay e Mhenni (2014) [44], que realizaram um estudo de otimização da velocidade de agitação lenta e tempo de contacto para o uso da mucilagem como bio-floculante, agitação ótima foi de 30 rpm. Acima de 50 rpm, observou um decréscimo significativo da eficiência de remoção da turvação. Além disso, quando aplicada uma velocidade acima da ótima pode quebrar o floco já formado, diminuindo o tamanho do floco e conseqüentemente demorar mais tempo a sedimentar [72].

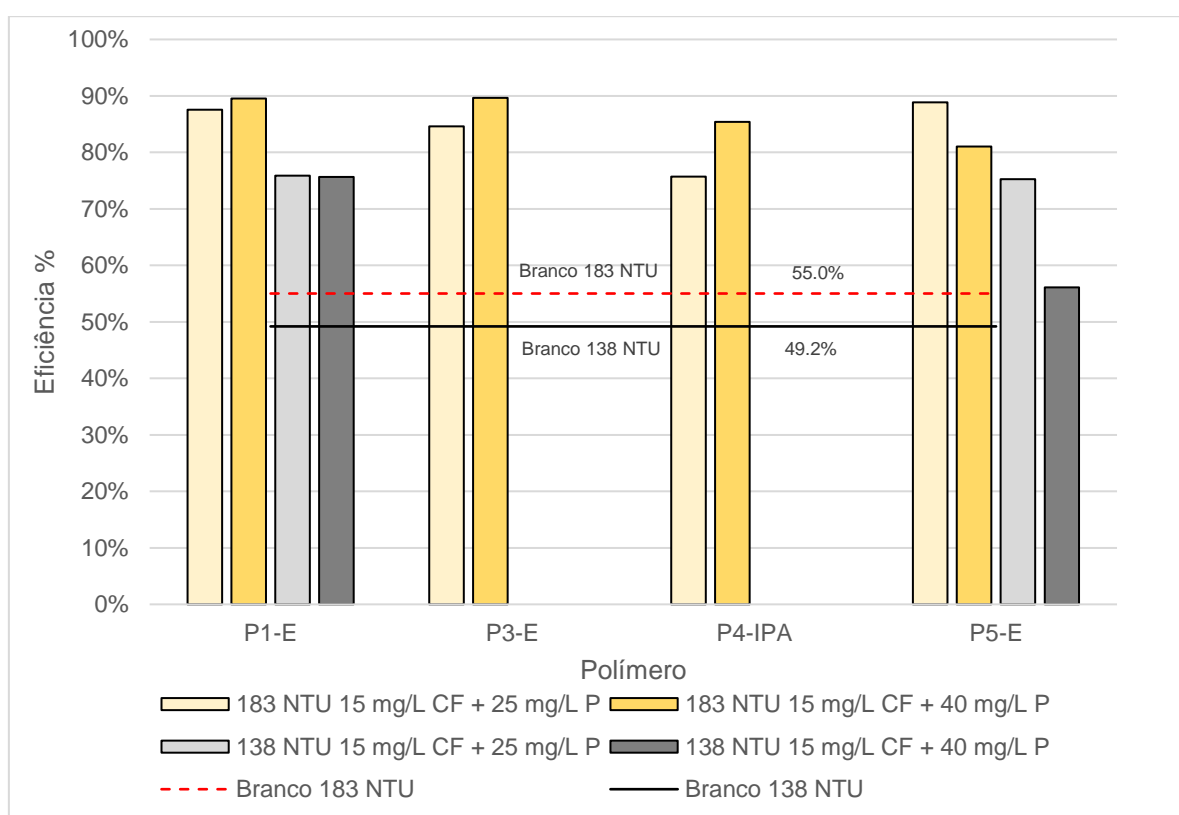


Figura 4.32 Eficiências de remoção combinada nos ensaios 7 e 8

Outra justificação possível, segundo estudo realizado por Shilpa et al. (2012) [65], verificou que a para a dose ótima de 20 mg L⁻¹ aplicado a uma água com turvação inicial de 83 NTU, obteve uma remoção de 89,03%. Quando aplicado uma dose de 60 mg L⁻¹, a eficiência foi inferior a 80%. Segundo o autor, a eficiência diminui, pelo facto de que, com o aumento da razão de polímero aplicado e partículas coloidais presentes na água tratada, leva a uma restabilização das partículas coloidais.

Para todos ensaios realizados, aplicou-se o CF com uma concentração de 30 mg L⁻¹, sendo claro, que o seu desempenho foi superior em todas as águas aplicadas comparativamente

aos polímeros extraídos, e quando não se aplicou nenhum composto à água residual (branco), refletindo-se sempre em atividades de coagulação superiores a 50%. Como podemos verificar pelo gráfico da figura 4.33, as eficiências de remoção foram sempre superiores a 75%, sendo que na maioria dos casos foi superior a 80%.

No entanto, em todos os ensaios em que foi aplicado somente o CF, verificou-se uma diminuição de 0,6-0,7 do pH inicial. Quando se aplicaram os polímeros em concentrações de 30 e 45 mg L⁻¹, o pH final manteve-se praticamente inalterado. Segundo Beyene et al. (2016) [66], a mucilagem não mostrou uma alteração significativa no pH final da água tratada. Na tabela 4.16 são apresentadas as melhores eficiências obtidas pela aplicação do polímero sozinho, aplicação do CF sozinho e quando se aplicou o polímero em combinação com o CF.

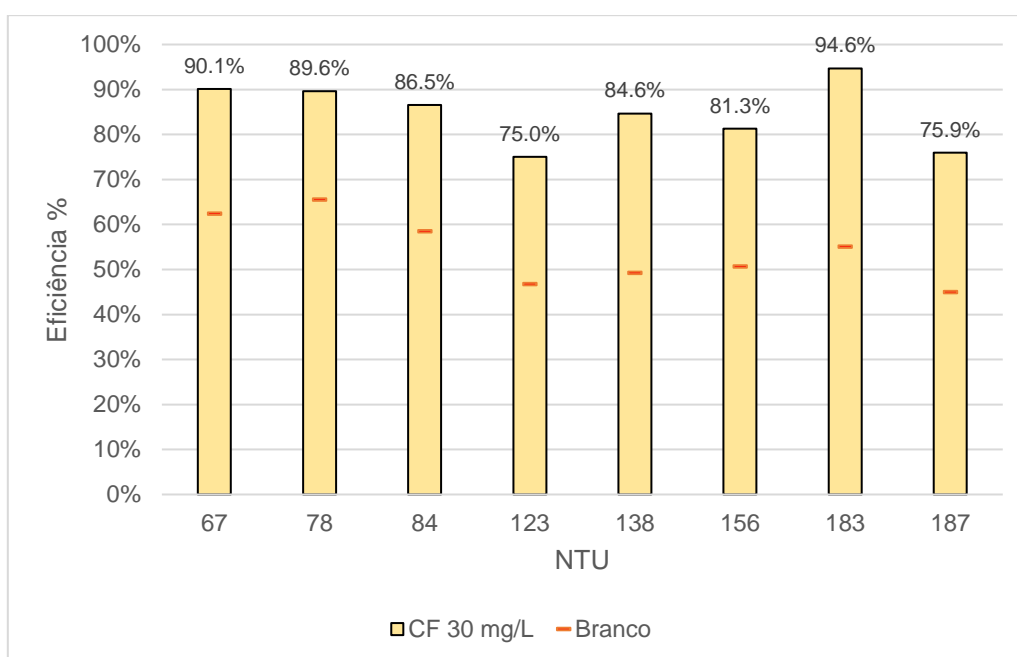


Figura 4.33 Eficiências de remoção do cloreto férrico 30 mg/L em todos os ensaios *jar test*

Verificou-se que, independentemente do método utilizado nos ensaios *jar test*, as melhores eficiências de remoção para cada água variaram entre 50-79%, quando se aplicaram os polímeros extraídos sozinhos (30 mg L⁻¹). A eficiência de remoção máxima obtida foi de 79%, ao ter aplicado o polímero P1-E numa água turva de 183 NTU.

De um modo geral, verificou-se que quando os polímeros foram aplicados em combinação com o CF, as eficiências foram sempre superiores comparativamente às eficiências obtidas quando se aplicaram os polímeros sozinhos. Obtiveram-se eficiências de remoção superiores a 85%, quando aplicados 15 mg L⁻¹ de CF em combinação com os polímeros (25 e 40 mg L⁻¹) extraídos, em diferentes níveis de turvação (78, 84 e 183 NTU).

As melhores eficiências para diferentes níveis de turvação 89,7% (183 NTU), 88,2 % (78NTU) e 85,2% (84 NTU), quando aplicados 15 mg L⁻¹ de CF em combinação com 40 mg L⁻¹ P3-E, 25 mg L⁻¹ e 45 mg L⁻¹ de P2, respetivamente.

Na tabela 4.17, são apresentados os resultados obtidos por Afonso Pereira (2021) [73], em que testou diferentes dosagens (8-18 mg L⁻¹) de cloreto férrico (coagulante) em combinação com diferentes dosagens (0,8-1,4 mg L⁻¹) de polímero aniónico (floculante) nas águas residuais na ETAR de Alcântara. Para águas menos turvas recolhidas da parte da manhã (139-172 NTU) obteve eficiências de remoção entre 85,3-88,1%. Já para águas mais turvas, recolhidas da parte da tarde (240-264 NTU) obteve eficiência de remoção entre 71,9-79,8%.

Tabela 4.16 Melhores eficiências de remoção (*200rpm / 2min => 100 rpm / 5min; ** 100 rpm / 5min; ***150 rpm / 2 min => 50 rpm / 10 min; AD = altura do dia; M = manhã; T = tarde)

Água tratada			Polímero			Combinado				CF 30 mg/L
A.D.	pH	NTU	Tipo	mg/L	% R	mg/L CF	Tipo	mg/L	% R	% R
M	7,935	67*	P4	30	68,2%	10	P4	20	81,9%	90,1%
M	8,015	78***	P2	30	65,5%	15	P5	25	88,2%	89,6%
M	8,014	84*	P1	30	63,0%	15	P2	45	85,2%	86,5%
T	7,866	123*	P2	56,25	40,3%	22,5	P5	22,5	70,3%	75,0%
T	7,964	138***	P1-E	30	50,0%	15	P1-E	25	75,9%	84,6%
T	8,052	156***	P4	30	56,4%	15	P5	25	77,7%	81,3%
M	8,015	183***	P1-E	30	79,0%	15	P3-E	40	89,7%	94,6%
T	7,782	187**	-	-	-	25	P2	45	76,1%	75,9%

Verificou-se, tal como neste trabalho, em que as águas recolhidas da parte da manhã foram menos turvas que as que foram recolhidas da parte da tarde. Os melhores resultados obtidos, 89,7% (183 NTU) e 88,2% (78 NTU), foi quando se usou uma metodologia idêntica a Afonso Pereira (2021) para águas menos turvas recolhidas da parte da manhã (139-172 NTU).

Tabela 4.17 Resultados *jar test* Afonso Pereira (2021) (A.D = altura do dia; CF =cloreto férrico (III); PA = polímero aniónico) [73]

A.D	NTU	CF (mg/L)	PA (mg/L)	% R
M	139	14	1,2	87,9%
T	240			79,8%
M	149	12	1	87,6%
T	261			77,4%
M	166	18	1,4	88,1%
T	264			78,3%
M	172	8	0,8	85,3%
T	263			71,9%
Metodologia				
150 rpm/2 min => 85 rpm/ 5 min => sedimentação 3 min				

Numa primeira análise, foi verificada a eficiência da mucilagem na remoção da turvação, contudo, esta eficiência foi superior quando usada em combinação com o CF. São necessários mais estudos, nomeadamente analisar as características do efluente antes e depois de ser tratado, tais como concentração de COD, sólidos totais dissolvidos, concentração de metais.

Segundo Bustillos et al. (2013) [19] e Bouatay e Mhenni (2014) [43], estes reportaram que a mucilagem extraída diminui os níveis de COD nas águas tratadas. Hassan et al. (2017) [41] e Nharingo et al. (2015) [45] reportaram a diminuição de metais presente na água tratada com a mucilagem extraídas dos cladódios.

Por outro lado, devido ao elevado número de polímeros extraídos, e sendo que alguns deles, pela falta de polímero disponível, nem sempre foi possível testar os mesmos polímeros, em diferentes concentrações numa água com a mesma característica. Desta forma, em trabalho futuro, seria indicado realizar um estudo de otimização de concentrações (10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg L⁻¹) [65] para diferentes níveis de turvação da água, de modo a determinar a concentração ótima de cada polímero para diferentes níveis de turvação.

Após a determinação das doses ótimas de polímero, outro aspeto importante a estudar seria estudar as velocidades de agitação (20-100 rpm) e tempos de contacto (2-20 minutos) ótimos [44]. Neste trabalho, embora se tenham usado diferentes velocidades e tempos de contacto, não foi possível concluir a influência destes na remoção da turvação, visto que a matriz tratada (efluente) nem sempre foi a mesma. Contudo, pode-se afirmar que a mucilagem extraída teve influência na remoção da turvação das águas tratadas.

5. Conclusões e trabalhos futuros

O presente trabalho teve como objetivos: 1) estudar a extração da mucilagem presente nos cladódios *Opuntia ficus-Indica* (OFI); 2) a caracterização da mucilagem extraída; 3) por fim aplicar a mucilagem extraída na remoção da turvação da água. Numa primeira fase, numa água turva sintética; 4) numa última fase num efluente real da ETAR.

Foram usados 5 métodos de extração, obtendo 11 tipos de polímeros distintos. Obtiveram-se os polímeros P1, P3, P4 e P5 pela liofilização dos extratos obtidos a partir do sumo do cladódio (método 1), cozendo os pedaços dos cladódios (método 3), da maceração dos cladódios (método 4) e pelo método assistido por micro-ondas (método 5), respetivamente. Obtiveram-se os polímeros P1-E, P3-E, P3-IPA, P4-E, P4-IPA e P5-E, precipitando os extratos usando um solvente (etanol ou IPA) e um polímero P2 obtido pela secagem do cladódio (método 2).

Os rendimentos de extração foram superiores, para os polímeros P1, P3, P4 e P5, obtidos pela liofilização dos extratos (2,01-4,36%), quando comparados aos polímeros P1-E, P3-E, P3-IPA, P4-E, P4-IPA e P5-E obtidos por precipitação usando etanol e/ou IPA (0,38-1,04%). Obteve-se um rendimento superior no método 2 (8,05%), o que seria esperado, uma vez que o polímero P2 contém a parte fibrosa do cladódio. Ao contrário de Sepúlveda et al. (2007) [42] os polímeros P4-IPA (1,04%) e P4-E (0,79%), idênticos aos polímeros extraídos pelo autor, o rendimento foi superior quando se precipitou o extrato com etanol (P4-E) do que com IPA (P4-IPA).

Os valores obtidos de proteína variaram entre 87,5-237,3 µg/mg de polímero, de açúcares neutros variaram entre 181,4-478,9 µg/mg de polímero, de ácidos urónicos variaram entre 10,9-57,4 µg/mg de polímero e o teor de cinzas variaram entre 13,8-25,8 % (p/p),

Verificou-se um maior teor de proteína e açúcares neutros e um menor teor de cinzas nos extratos liofilizados (P1, P3 P4 e P5) comparativamente aos polímeros obtidos pela precipitação, com etanol e/ou IPA, do respetivo extrato (P1-E, P3-E, P3-IPA, P4-E, P4-IPA e P5-E), à exceção dos polímeros obtidos pelo método 4, onde se verificou um maior teor de açúcares neutros em P4-E (385,2 µg/mg) do que em P4 (370,3 µg/mg).

O P1 foi o que mostrou ter uma maior quantidade de proteína (237,3 µg/mg) e açúcares neutros (476,6 µg/mg), enquanto P3-IPA foi o que continha menos proteína (87,5 µg/mg). O P1-E (205,6 µg/mg) apresentou menos de metade de açúcares neutros na sua composição, quando comparado a P1. Os polímeros P4-E e P5 foram os que mais ácidos urónicos continham na sua composição, com 50,4 e 57,4 µg/mg, respetivamente. Verificou-se que os polímeros obtidos pelo método de extração 3 (P3, P3-E e P3-IPA) foram os que menos ácidos urónicos continham na sua composição, com cerca de 10 µg/mg. No entanto, estes apresentaram um maior teor de cinzas (>20%), comparativamente aos restantes polímeros.

Para a caracterização dos polímeros, foram realizados somente um ensaio para cada caracterização, tendo feito sempre duplicados dos polímeros a analisar. Seria indicado, em trabalho futuro, realizar ensaios em triplicados e analisar os polímeros em triplicados, de modo a fazer uma análise estatística aos valores obtidos.

Foram detetados no P1, por HPLC, percentagens mássicas de 0,77% de arabinose, 1,17% de galactose, 0,44 de xilose, 0,21% de ramnose e 21,54 % de glucose. Os valores obtidos neste trabalho foram baixos comparativamente a Felkai-Hadache et al. (2016) [53] de arabinose (38-42%), galactose (30-32%), xilose (17-21%) e ramnose (4-7%), não tendo sido reportado a presença de glucose. Em trabalho futuro seria indicado realizar esta caracterização para os restantes polímeros.

Foram realizados ensaios preliminares de remoção de turvação numa água turva sintética de argila (5 g L^{-1}), de modo avaliar a sua eficiência na remoção da turvação. Nos ensaios preliminares de remoção de turvação, os polímeros P3 e P3-E (150 mg L^{-1}) foram os que tiveram melhor resultados visuais na turvação, tendo um desempenho idêntico ao CF (150 mg L^{-1}). Verificando após o 1º minuto, uma divisão clara da interface, produzindo uma água menos turva, após 10 minutos. Seria indicado no futuro, medir as turvações finais e iniciais, de modo a quantificar a eficiência de remoção da turvação. Ora, segundo os resultados de cinzas, os polímeros extraídos pelo método 3 (extrato obtido por cozedura dos pedaços de cladódio) contêm um maior teor de cinzas (21,7-25,8 %), isto é, contêm maior matéria inorgânica. Por outro lado, contêm menor quantidade de ácidos urónicos (10,9-12,6 $\mu\text{g/mg}$), que tem por sua natureza carga negativa. Uma vez que argila tem carga essencialmente negativa, os possíveis catiões existentes na sua composição podem estar na eficiência de remoção da turvação.

Por último, realizaram-se ensaios *jar test* na ETAR de alcântara, aplicando os polímeros extraídos num efluente real. A turvação do efluente recolhido para os 8 ensaios realizados variaram entre 67-187 NTU, com pH entre 7,8-8. Para os ensaios foram utilizadas diferentes velocidades de agitação (50, 100, 150 e 200 rpm) e tempos de contacto (2, 5 e 10), aplicando os polímeros extraídos sozinhos (30, 45, 52,5, 60, 80) e os polímeros ($10\text{-}45 \text{ mg L}^{-1}$) combinados com cloreto férrico (CF) ($10\text{-}22,5 \text{ mg L}^{-1}$).

À exceção do ensaio 4, que foi usado um momento de mistura (100 rpm durante 5 minutos), foram usados dois tempos de mistura. Nos ensaios 1, 2 e 3, foi usada uma agitação rápida de 200 rpm durante 2 minutos, seguida de uma agitação lenta de 100 rpm durante 5 minutos. Nos ensaios 5, 6, 7 e 8, foi usada uma agitação rápida de 150 rpm durante 2 minutos, seguida de uma agitação lenta de 50 rpm durante 10 minutos.

As melhores eficiências obtidas, quando aplicados os polímeros sozinhos (30 mg L^{-1}), usando uma velocidade de 150 rpm durante 2 min, seguindo uma velocidade de 100 rpm durante 10 minutos, tendo sido máxima (79%) quando se aplicou P1-E a uma água com 183 NTU. No entanto, para certos níveis de turvação (67 e 78 NTU), verificou-se a ineficiência da remoção da turvação, visto que foram inferiores ao branco (62,4 e 65,5%).

De um modo geral, verificou-se que quando os polímeros foram aplicados em combinação com o CF, as eficiências foram sempre superiores comparativamente às eficiências obtidas quando se aplicaram os polímeros sozinhos. Obtiveram-se eficiências de remoção superiores a 85%, quando aplicados 15 mg L⁻¹ de CF em combinação com os polímeros (25 e 40 mg L⁻¹) extraídos, em diferentes níveis de turvação (78, 84 e 183 NTU). As eficiências de remoção obtidas estão na gama de eficiências (71,9-88,1%) de remoção obtidas na ETAR de Alcântara [73].

Futuramente, para um estudo mais completo, seria indicado caracterizar o efluente antes e depois de ser tratado, de modo a quantificar a remoção de outros compostos tais como COD, sólidos totais dissolvidos e/ou metais. Segundo o estudo realizado por Bustillos et al. (2013) [19], Bouatay e Mhenni (2014) [44] reportaram a remoção de COD na água tratada. Já Hassan et al (2017) [41] e Nharingo et al. (2015) [45], reportaram a eficiência da mucilagem na remoção de metais pesados na água tratada.

Por outro lado, devido ao elevado número de polímeros extraídos, e sendo que alguns deles, pela falta de polímero disponível, nem sempre foi possível testar os mesmos polímeros, em diferentes concentrações numa água com a mesma característica. Desta forma, em trabalho futuro, seria indicado realizar um estudo de otimização de concentrações (10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg L⁻¹) [65] para diferentes níveis de turvação da água, e estudar as velocidades de agitação (20-100 rpm) e tempos de contacto (2-20 minutos) ótimos [44].

Com os resultados obtidos neste trabalho, pôde-se concluir que o método de extração da mucilagem teve influência na sua composição e na sua eficiência na remoção da turvação inicial de uma água turva sintética e nas águas residuais. A mucilagem extraída dos cladódios OFI, contribuiu para a remoção da turvação e quando usado em combinação com o CF, esta eficiência é maior, o que mostra que esta pode poderá ser usada como bio-floculante [44] no tratamento de águas residuais.

Referências Bibliográficas

- [1] M. De Leo, M. B. De Abreu, A. M. Pawlowska, P. L. Cioni, and A. Braca, "Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC-PDA-ESI-MS and GC/EIMS analyses", *Phytochemistry Letter.*, vol. 3, no. 1, pp. 48–52, 2010, doi: 10.1016/j.phytol.2009.11.004.
- [2] J.P. Roger, "Figueira-da-índia", *Revista Saúde e Lar*, nº 731, p. 35, 2008.
- [3] E. Barbera, G. Inglese, P., Pimenta, " *Agroecologia, cultivo y usos del nopal. Estudio FAO Producción y Protección vegetal*", pp. 132,225, 1999.
- [4] L. M. K. Saag, G. R. Sanderson, P. Moyna, and G. Ramos, "Cactaceae mucilage composition", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 26, no. 7, pp. 993–1000, 1975, doi: 10.1002/jsfa.2740260716.
- [5] C. Sáenz, E. Sepúlveda, and B. Matsuhira, "Opuntia spp. mucilage's: A functional component with industrial perspectives", *Journal of Arid Environments.*, vol. 57, no. 3, pp. 275–290, 2004, doi: 10.1016/S0140-1963(03)00106-X.
- [6] Associação dos Jovens Agricultores de Portugal, "Manual Boas Práticas para Culturas Emergentes A Cultura do Figo-da-Índia", pp. 16-17, 35, 2017.
- [7] Diário de notícias, "Seca: Situações em Portugal vão tornar-se mais frequentes e graves - IPMA." <https://www.dn.pt/lusa/seca-situacoes-em-portugal-vao-tornar-se-mais-frequentes-e-graves---ipma--10747990.html> (accessed Apr. 23, 2021).
- [8] *Palmer Drought Severity Index* "Instituto Português do Mar e da Atmosfera." <https://www.ipma.pt/pt/oclima/observatorio.secas/pdsi/apresentacao/evolu.historica/> (accessed Apr. 23, 2021).
- [9] "SIC Notícias | Apesar da chuva dos últimos dias, a seca no Alentejo continua a ser preocupante." <https://sicnoticias.pt/pais/2019-11-25-Apesar-da-chuva-dos-ultimos-dias-a-seca-no-Alentejo-continua-a-ser-preocupante> (accessed Apr. 23, 2021).
- [10] R. Fragoso and C. Marques, "A gestão económica da água na agricultura: perspectivas de utilização no Alentejo," *Economia e Sociologia*, no. 81, pp. 131–152, 2006.
- [11] C. Saenz, "Cladodes: a Source of Dietary Fiber", *Journal of the Professional Association for cactus Development*, vol. 2, pp. 117-123, 1998.
- [12] M.L. Cárdenas Medellín, S.O. Serna Saldívar e J. Velazco de la Garza, "[Effect of raw and cooked nopal (*Opuntia ficus indica*) ingestion on growth and profile of total cholesterol, lipoproteins, and blood glucose in rats] - PubMed." <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10347696/> (accessed Apr. 08, 2021).
- [13] E. M. Galati, M.R. Mondello, Maria T. Monforte, M. Galluzzo, Natalizia Miceli, Maria M. Tripodo, "Effect of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Cladodes in the wound-healing process", *Journal of the Professional for Cactus Development*, Vol. 5, 2003.
- [14] R. Lamghari El Kossori *et al.*, "Comparison of effects of prickly pear (*Opuntia ficus indica* sp) fruit, arabic gum, carrageenan, alginic acid, locust bean gum and citrus pectin on viscosity and in vitro digestibility of casein", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 80, no. 3, pp. 359–364, Feb. 2000, doi: 10.1002/1097-0010(200002)80:3<359::AID-JSFA534>3.0.CO;2-8.
- [15] E. M. Galati, S. Pergolizzi, N. Miceli, M. T. Monforte, and M. M. Tripodo, "Study on the increment of the production of gastric mucus in rats treated with *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. cladodes", *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 83, no. 3, pp. 229–233, Dec. 2002, doi: 10.1016/S0378-8741(02)00243-X.
- [16] R. Cárdenas, M. Arguelles, and M. Goycoolea, "On the Possible Role of *Opuntia ficus-indica*

- Mucilage in Lime Mortar Performance in the Protection of Historical Buildings”, *Journal of the Professional Association of Cactus Development*, vol. 3, pp. 64–71, 1998.
- [17] N. Garti and M. E. Leser, “Emulsification properties of hydrocolloids”, *Polymers and Advanced Technologies*, volume 12, no. 1–2, pp. 123–135, 2001, doi:10.1002/10991581(200101/02)12:1/2<123::AID-PAT105>3.0.CO;2-0.
- [18] R. Enrique Olivero Verbel, Iván D.M. Martínez and Luz Elena M. Gazabón, “Remoción de la turbidez del agua del río Magdalena usando el mucílago del nopal *Opuntia ficus-indica*”, *Producción + Limpia*, vol. 8, no. 1, pp. 19–27, 2013.
- [19] L. G. T. Bustillos, S. Carpinteyro-Urban, and C. Orozco, “Production and characterization of *Opuntia ficus-indica* mucilage and its use as coagulant-flocculant aid for industrial wastewaters”, *International Journal of Biotechnology Research*, vol. 1, no. 3, pp. 38–45, 2013.
- [20] T. Pichler, K. Young, and N. Alcantar, “Eliminating turbidity in drinking water using the mucilage of a common cactus”, *Water Science & Technology: Water Supply*, vol. 12, no. 2, pp. 179–186, 2012, doi: 10.2166/ws.2012.126.
- [21] Saenz-Hernandez, “Food manufacture and by-products”, *FAO Plant Production and Protection Paper (FAO)*, pp. 137-143, 1995.
- [22] A. C. Frati, E. Jiménez, and C. R. Ariza, “Hypoglycemic effect of *Opuntia ficus indica* in non insulin-dependent diabetes mellitus patients,” *Phytherapy Research*, vol. 4, no. 5, pp. 195–197, 1990, doi: 10.1002/ptr.2650040507.
- [23] V. Del-Valle, P. Hernández-Muñoz, A. Guarda, and M. J. Galotto, “Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life,” *Food Chemistry - Journal*, vol. 91, no. 4, pp. 751–756, 2005, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.07.002.
- [24] A. Allegra, G. Sortino, P. Inglese, L. Settanni, A. Todaro, and A. Gallotta, “The effectiveness of *Opuntia ficus-indica* mucilage edible coating on post-harvest maintenance of ‘Dottato’ fig (*Ficus carica* L.) fruit”, *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 12, pp. 135–141, 2017, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.010.
- [25] R. Cárdenas, M. Arguelles, and M. Goycoolea, “On the Possible Role of *Opuntia ficus-indica* Mucilage in Lime Mortar Performance in the Protection of Historical Buildings”, *Journal of the Professional Association of Cactus Development*, vol. 3, pp. 64–71, 1998.
- [26] Scott Snowden, “Scientist In Mexico Creates Biodegradable Plastic From Prickly Pear Cactus.” <https://www.forbes.com/sites/scottsnowden/2019/07/14/scientist-in-mexico-creates-biodegradable-plastic-from-prickly-pear-cactus/?sh=1d294a056c49> (accessed Apr. 08, 2021).
- [27] Sandra Pascoe, "Mixture and method for producing a biodegradable plastic material", Patent, *Organización Mundial de la Propiedad Intelectual*, P. Intelectual, 2016.
- [28] E. S. Amin, O. M. Awad, and M. M. El-Sayed, “The mucilage of *Opuntia ficus-indica* mill.”, *Carbohydrate Research*, vol. 15, no. 1, pp. 159–161, 1970, doi: 10.1016/S0008-6215(00)80304-3.
- [29] S. Trachtenberg and A. M. Mayer, “Composition and properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage”, *Phytochemistry*, vol. 20, no. 12, pp. 2665–2668, 1981, doi: 10.1016/0031-9422(81)85263-6.
- [30] A. Cardenas, I. Higuera-Ciapara, and F. Goycoolea, “Rheology and Aggregation of Cactus (*Opuntia ficus-indica*) Mucilage in Solution”, *Journal of the Professional Association of Cactus Development*, vol. 2, pp.152-159, 1997.
- [31] L. Medina-Torres, E. la Fuente, B. Torrestiana-Sánchez, and R. Katthain, “Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*)”, *Food Hydrocolloids*, pp. 417–424, 2000, doi: 10.1016/S0268-005X(00)00015-1.
- [32] P. S. Nobel, J. Cavelier and J. L. Andrade, “Mucilage in cacti: Its apoplastic capacitance, associated

- solutes, and influence on tissue 5", *Journal of Experimental Botany*, vol. 43, no. 5, pp. 641–648, 1992, doi: 10.1093/jxb/43.5.641.
- [33] F. Goycoolea, J. Lizardi-Mendoza, and F. J. Soto, "Polisacáridos Aislados del Mezquite y otras Plantas del Desierto", *II Simposio Internacional sobre la Utilidad y Aprovechamiento de la flora Silvestre en Zonas Áridas*, pp. 245–260, 2000.
- [34] S. Trachtenberg and A. M. Mayer, "Biophysical properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage" *Phytochemistry*, vol. 21, no. 12, pp. 2835–2843, 1980, doi: 10.1016/0031-9422(80)85052-7.
- [35] D. McGarvie and H. Parolis, "Residues Mainly", *Carbohydrates Research*, vol. 88, pp. 305–314, 1981.
- [36] D. McGarvie and H. Parolis, "The acid-labile, peripheral chains of the mucilage of *Opuntia ficus-indica*", *Carbohydrates Research*, vol. 94, no. 1, pp. 57–65, 1981, doi: 10.1016/S0008-6215(00)85595-0.
- [37] S. Trachtenberg and A. Mayer, "Composition and properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage", *Phytochemistry*, vol. 20, pp. 2665–2668, 1981.
- [38] D. McGarvie and H. Parolis, "The mucilage of *Opuntia ficus-indica*", *Carbohydrates Research*, vol. 69, no. 1, pp. 171–179, 1979, doi: [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)85762-6](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)85762-6).
- [39] F. M. Goycoolea and A. Cárdenas, "Pectins from *Opuntia* spp.: A short review," *Journal of the Professional Association of Cactus Development*, vol. 5, pp. 17–29, 2003.
- [40] S. Rodríguez-González, H. E. Martínez-Flores, J. L. Órnelas-Nuñez, and M. G. Garnica-Romo, "Optimización de la extracción del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*)", *XIV Congreso Nacional del Biotecnología y Bioingeniería Poster*, 2011.
- [41] S. Hassan, A. U. Nisa, and J. U. Din, "Biosorption of heavy metals from sewage effluent using prickly pear cactus", *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, vol. 10, no. 2, pp. 16–24, 2017.
- [42] E. Sepúlveda, C. Sáenz, E. Aliaga, and C. Aceituno, "Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp.", *Journal of Arid Environments*, vol. 68, no. 4, pp. 534–545, 2007, doi: 10.1016/j.jaridenv.2006.08.001.
- [43] I. M. Al-Aubadi and L. Q. Hashim, "Application of Cactus *Cladodes* Mucilage (*Opuntia ficus-indica*) as an Eco-Friendly Natural Coagulant and Flocculent Aid with Alum for Potable Water Treatment", *International Journal of Science and Research*, vol. 6, no. 8, 2015, doi: 10.21275/28071705.
- [44] F. Bouatay and F. Mhenni, "Use of the cactus *cladodes* mucilage (*Opuntia ficus indica*) as an eco-friendly flocculants: Process development and optimization using stastical analysis", *International Journal of Environmental Research*, vol. 8, no. 4, pp. 1295–1308, 2014, doi: 10.22059/ijer.2014.822.
- [45] T. Nharingo, M. T. Zivurawa, and U. Guyo, "Exploring the use of cactus *Opuntia ficus indica* in the biocoagulation–flocculation of Pb(II) ions from wastewaters," *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 12, no.12, pp. 3791–3802, 2015, doi: 10.1007/s13762-015-0815-0.
- [46] N. Bayar, M. Kriaa, and R. Kammoun, "Extraction and characterization of three polysaccharides extracted from *Opuntia ficus indica cladodes*", *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 92, pp. 441–450, 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.07.042.
- [47] H. Bagherian, F. Zokae Ashtiani, A. Fouladitajar, and M. Mohtashamy, "Comparisons between conventional, microwave and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit", *Chemical Engineering and Processing:Process Intensification*, vol. 50, no. 11–12, pp. 1237–1243, 2011, doi: 10.1016/j.cep.2011.08.002.
- [48] Y. Habibi, A. Heyraud, M. Mahrouz, and M. R. Vignon, "Structural features of pectic polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits", *Carbohydrates Research*,

vol. 339, no. 6, pp. 1119–1127, 2004, doi: 10.1016/j.carres.2004.02.005.

- [49] M. M. Bradford, "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding," *Analytical Biochemistry Journal*, vol. 72, no. 1–2, pp. 248–254, 1976, doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- [50] M. DuBois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith, "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances", *Analytical Chemistry Journal*, vol. 28, no. 3, pp. 350–356, 2002, doi: 10.1021/ac60111a017.
- [51] T. M. C. C. Filisetti-Cozzi and N. C. Carpita, "Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars", *Analytical Biochemistry Journal*, vol. 197, no. 1, pp. 157–162, 1991, doi: 10.1016/0003-2697(91)90372-Z.
- [52] K. A. Young, T. Pichler, A. Anzalone, and N. Alcantar, "Mucilage of *Opuntia Ficus-Indica* for use as a Flocculant of Suspended Particulates and Arsenic", *Arsenic Contamination of Groundwater: Mechanism, Analysis and Remediation*, pp. 207–225, 2008, doi: 10.1002/9780470371046.ch9.
- [53] L. Felkai-Haddache, H. Remini, V. Dulong, K. Mamou-Belhabib, L. Picton, L. Madani, C. Rihouey, "Conventional and Microwave-Assisted Extraction of Mucilage from *Opuntia ficus-indica* Cladodes: Physico-Chemical and Rheological Properties", *Food and Bioprocess Technology Journal*, vol. 9, no. 3, pp. 481–492, 2016, doi: 10.1007/s11947-015-1640-7.
- [54] N. Adjeroud, S. Elabbas, B. Merzouk, Y. Hammoi, Hocine Remini, L. Fekai-Hadache, Jean Pierre Leclerc and Khodir Madani, "Effect of *Opuntia ficus indica* mucilage on copper removal from water by electrocoagulation-electroflotation technique", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 811, pp. 26–36, 2018, doi: 10.1016/j.jelechem.2017.12.081.
- [55] N. Blumenkrantz and G. Asboe-Hansen, "New Method for Quantitative Determination of Uronic Acids", *Analytical Biochemistry*, vol. 54, pp. 484–489, 1973.
- [56] B. Ray, C. Loutelier-Bourhis, C. Lange, E. Condamine, A. Driouich, and P. Lerouge, "Structural investigation of hemicellulosic polysaccharides from *Argania spinosa*: Characterisation of a novel xyloglucan modification", *Carbohydrates Research*, vol. 339, no. 2, pp. 201–208, 2004, doi: 10.1016/j.carres.2003.10.011.
- [57] J. Rodiño Arguello, J. Feria, R. Paternina, and J. Marrugo-Negrete, "Sinú River raw water treatment by natural coagulants", *Revista Facultad de Ingeniería, Universidad Antioquia*, no. 76, pp. 90–98, 2015, doi: 10.17533/udea.redin.n76a11.
- [58] A. Amira, A. Aouabed, and O. Bouras, "Synthesis and application of a new biomaterial based on *Opuntia Ficus Indica* (cactus) in water treatment", *Algerian Journal of Engineering Research*, vol. 1, no. 1, pp. 11–17, 2017.
- [59] N. H. A. Al-Saati, E. H. Hwaidi, and S. H. Jassam, "Comparing cactus (*Opuntia* spp.) and alum as coagulants for water treatment at Al-Mashroo Canal: a case study", *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 13, no. 12, pp. 2875–2882, 2016, doi: 10.1007/s13762-016-1114-0.
- [60] Félicien Mazille, Dorothee Spuhler, "Coagulation-Flocculation | SSWM - Find tools for sustainable sanitation and water management", <https://sswm.info/sswm-university-course/module-6-disaster-situations-planning-and-preparedness/further-resources-0/coagulation-flocculation> (accessed Apr. 14, 2021).
- [61] United States Geological Survey, "Turbidity and Water", https://www.usgs.gov/special-topic/water-science-school/science/turbidity-and-water?qt-science_center_objects=0#qt-science_center_objects (accessed Mar. 10, 2021).
- [62] John Bratby, "Coagulation and Flocculation in Water and Wastewater Treatment", 3rd edition, IWA Publishing, pp. 33–39, 2016
- [63] R. A. Binayke and Jadhav MV, "Application of Natural Coagulants in Water Purification",

- International Journal of Advanced Technology: Civil Engineering*, vol. 2, no. 1, pp. 118–123, 2013.
- [64] Omer R.M., El Hassan B.M Hassan E.A. and Sebahelkhier M.K., “ Effect of Guar Gum (Cyamopsis Tetragonolobus) Powdered as Natural Coagulant Aid with Alum on Drinking Water Treatment”, *ARNP Journal of Science and Techonlogy*, vol. 13, no. 12, pp. 1222-1228, 2013
- [65] B. S. Shilpa, Akanksha, Kavita, and P. Girish, “Evaluation of Cactus and Hyacinth Bean Peels as Natural Coagulants,” *International Journal of Chemical and Environmental Engineering*, vol. 3, no. 3, pp. 187–191, 2012, doi: 10.13140/RG.2.2.31066.98247.
- [66] H. D. Beyene, T. D. Hailegebrial, and W. B. Dirersa, “Investigation of Coagulation Activity of Cactus Powder in Water Treatment”, *Journal of Applied Chemistry*, vol. 2016, pp. 1–9, 2016, doi: 10.1155/2016/7815903.
- [67] A. Amira, A. Ali, and B. Omar, “Synthesis and application of a new biomaterial based on Opuntia Ficus Indica (cactus) in water treatment”, *Algerian Journal of Engineering Research*, vol. 1, pp. 11–17, 2017.
- [68] P. Concórdio-Reis, C. V. Pereira, M. P. Batista, C. Sevrin, C. Grandfils, A. C. Marques, E. Furtunato, F. B. Gaspar, A.A Matias, F. Freitas, and Maria A.M. Reis, “Silver nanocomposites based on the bacterial fucose-rich polysaccharide secreted by Enterobacter A47 for wound dressing applications: Synthesis, characterization and in vitro bioactivity”, *International Journal of Biologiacl Macromolecules*, vol. 163, pp. 959–969, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.072.
- [69] S. Rodríguez-González, H. E. Martínez-Flores, C. K. Chávez-Moreno, L. I. Marcias-Rodrróquez, E. Zavala-Mendonza, M. G. Garnica-Romo and L. Chacón-García, “Extraction and characterization of mucilage from wild species of opuntia”, *Journal of Food Process Engineering*, vol. 37, no. 3, pp. 285–292, 2014, doi: 10.1111/jfpe.12084.
- [70] N. Gebresamuel and Tsige Gebre-mariam, “Comparative Physico-Chemical Characterization of the Mucilages of Two Cactus Pears (Opuntia spp .) Obtained from Mekelle, Nothern Ethiopia”, *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, vol. 3, pp. 79–86, 2012, doi: 10.4236/jbnb.2012.31010
- [71] A. Cárdenas, F. M. Goycoolea, and M. Rinaudo, “On the gelling behaviour of ‘nopal’ (Opuntia ficus indica) low methoxyl pectin”, *Carbohydrates Polymers*, vol. 73, no. 2, pp. 212–222, 2008, doi: 10.1016/j.carbpol.2007.11.017.
- [72] R. Khiari, S. Dridi-Dhaouadi, C. Aguir, and M. F. Mhenni, “Experimental evaluation of eco-friendly flocculants prepared from date palm rachis”, *Journal of Environmental Science*, vol. 22, no. 10, pp. 1539–1543, 2010, doi: 10.1016/S1001-0742(09)60286-2.
- [73] Afonso Fernandes Pereira, “Otimização do funcionamento de um ACTIFLO em tempo seco na ETAR de Alcântara”, *Dissertação de Mestrado da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa*, 2021.

Anexo A – Caracterização da mucilagem

Anexo A.1 – Caracterização de proteína total

Ensaio 1

Pesaram-se 200,6 mg de albumina, e foram dissolvidas em 100 ml de água destilada. Obtendo assim, uma solução mãe com concentração de 2 g L⁻¹. Para a preparação da solução do reagente de digestão foram pesados 20,02 mg de NaOH e dissolvidos em 100 ml de água destilada. Para a solução de cobre, dissolveram-se 25,02 mg de CuSO₄.5H₂O em 100 ml de água destilada. Na tabela A.1 são apresentadas as concentrações das soluções padrão e as respectivas absorvâncias. Nas figuras A.1 e A.2 estão representadas as retas de calibração.

Tabela A.1 Concentrações e absorvâncias dos padrões de albumina (ensaio 1)

Padrão	Solução mãe			Concentração (g/L)	Absorvância	
	ml	Qtd. (mg)	Balão (ml)		R ₁	R ₂
P0	0	0	0	0	0,0033	0,019
P1	0,25	0,5	10	0,05	0,028	0,033
P2	0,5	1	10	0,1	0,041	0,035
P3	0,75	1,5	10	0,15	0,046	0,046
P4	1	2,01	10	0,2	0,063	0,058
P5	1,5	3,01	10	0,3	0,084	0,08
P6	2,5	5,02	10	0,5	0,12	0,134
P7	3,75	7,52	10	0,75	0,2	0,196
P8	5	10,03	10	1	0,261	0,258
P9	6,25	12,54	10	1,25	0,315	0,34
P10	7,5	15,05	10	1,5	0,387	0,386
P11	8,75	17,55	10	1,76	0,436	0,441

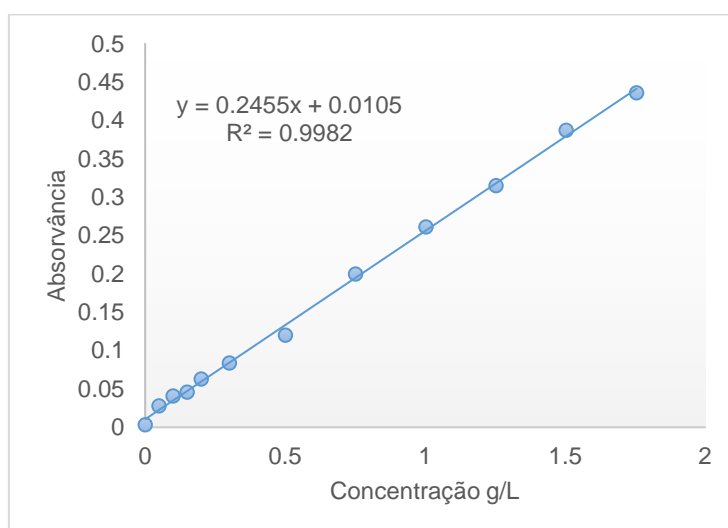


Figura A.1 Retas de calibração albumina ensaio 1 (R₁)

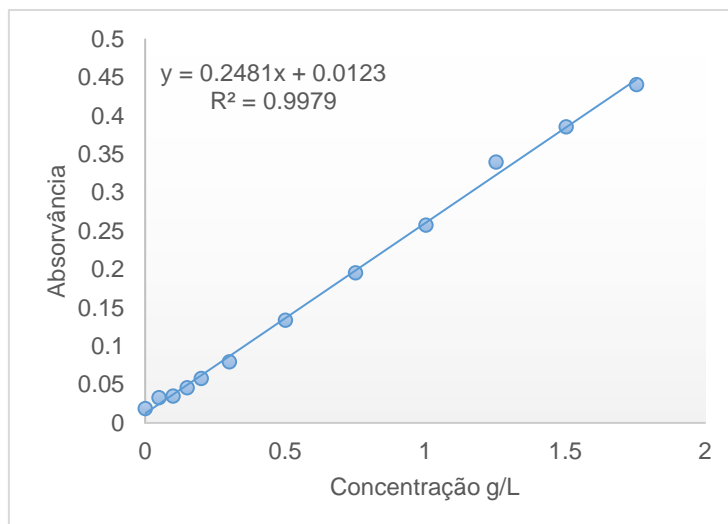


Figura A.2 Reta de calibração albumina ensaio 1 (R^2)

Utilizou-se a equação da reta obtida a partir do 1º replicado ($y=0,2455x + 0,0105$), visto apresentar maior valor R^2 (0,9982).

Na tabela A.2, apresentam-se as quantidades pesadas de cada polímero para cada réplica, e a sua respectiva concentração e absorvância. Na tabela A.3 apresentam-se os valores obtidos em relação à quantidade de proteína total existente em cada amostra. Na tabela A.4 estão os valores de desvio padrão (σ) e o coeficiente de variância relativo (C_v) entre os duplicados de cada polímero.

Tabela A.2 Concentrações e absorvâncias dos polímeros para a caracterização de proteína (ensaio 1)

Polímero	Quantidade (mg)		Concentração (g/L)		Absorvância	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
P1	26,65	25,79	4,85	4,69	0,281	0,295
P1-E	25,02	25,02	4,55	4,55	0,212	0,223
P2	25,3	25,22	4,6	4,59	0,189	0,189
P3	25,09	25,11	4,56	4,57	0,234	0,239
P3-E	25,05	25,06	4,55	4,56	0,132	0,135
P3-IPA	26,87	25,78	4,89	4,69	0,119	0,107
P4-E	27,35	27,15	4,97	4,94	0,138	0,158
P4-IPA	26,15	25,72	4,75	4,68	0,145	0,138
P5	25,42	25,57	4,62	4,65	0,258	0,266
P5-E	25,13	25,95	4,57	4,72	0,193	0,194

Tabela A.3 Resultados de proteína (ensaio 1)

Polímero	Absorvância		Proteína (g/L)		µg Proteína/ mg Amostra		
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	µ
P1	0,281	0,295	1,10	1,16	227,4	247,1	237,3
P1-E	0,212	0,223	0,82	0,87	180,4	190,3	185,4
P2	0,189	0,189	0,73	0,73	158,1	158,6	158,3
P3	0,234	0,239	0,91	0,93	199,6	203,9	201,7
P3-E	0,132	0,135	0,49	0,51	108,7	111,3	110,0
P3-IPA	0,119	0,107	0,44	0,39	90,5	83,9	87,2
P4-E	0,138	0,158	0,52	0,60	104,4	121,7	113,1
P4-IPA	0,145	0,138	0,55	0,52	115,2	111,1	113,1
P5	0,258	0,266	1,01	1,04	218,1	223,9	221,0
P5-E	0,193	0,194	0,74	0,75	162,7	158,4	160,6

Tabela A.4 Desvio padrão e coeficiente de variância relativa de proteína (ensaio 1)

Polímero	σ	Cv
P1	9,9	4,2%
P1-E	4,9	2,7%
P2	0,3	0,2%
P3	2,2	1,1%
P3-E	1,3	1,2%
P3-IPA	3,3	3,8%
P4-E	8,6	7,6%
P4-IPA	2,1	1,8%
P5	2,9	1,3%
P5-E	2,1	1,3%

Ensaio 2:

Realizou-se outro ensaio, uma vez que quando se realizou o primeiro ensaio, o polímero 4 ainda não tinha sido liofilizado. Pesaram-se 200,3 mg de albumina, e dissolveram-se em 100 ml de água destilada. Obtendo assim uma solução mãe de 2 g L⁻¹. Na tabela seguinte são apresentadas as concentrações das soluções padrão. Para a preparação da solução do reagente de digestão foram pesados 20,03 mg de NaOH e dissolvidos em 100 ml de água destilada. Usou-se a solução de cobre preparada no ensaio 1. Na tabela A.5 são apresentadas as concentrações das soluções padrão e as respectivas absorvâncias. Nas figuras A.3 e A.4 estão representadas as retas de calibração.

Tabela A.5 Concentrações e absorvâncias dos padrões de albumina (ensaio 2)

Padrão	Solução mãe			Concentração (g/L)	Absorvância	
	ml	Qtd. (mg)	Balão (ml)		R1	R2
P0	0	0	10	0	0,008	0,018
P1	0,25	0,5	10	0,05	0,024	0,047
P2	0,75	1,5	10	0,15	0,044	0,054
P3	1,5	3	10	0,3	0,173	0,083
P4	5	10,02	10	1	0,26	0,258
P5	6,25	12,52	10	1,25	0,332	0,342
P6	7,5	15,02	10	1,5	0,37	0,411
P7	8,75	17,53	10	1,75	0,398	0,439

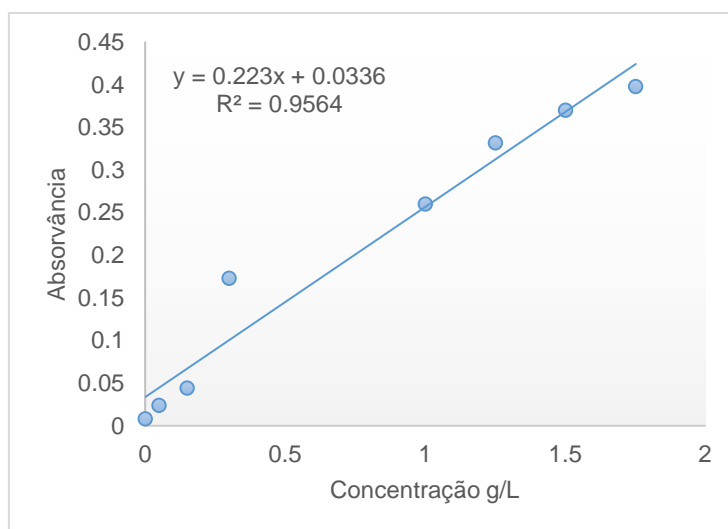


Figura A.3 Retas de calibração albumina ensaio 2 (R₁)

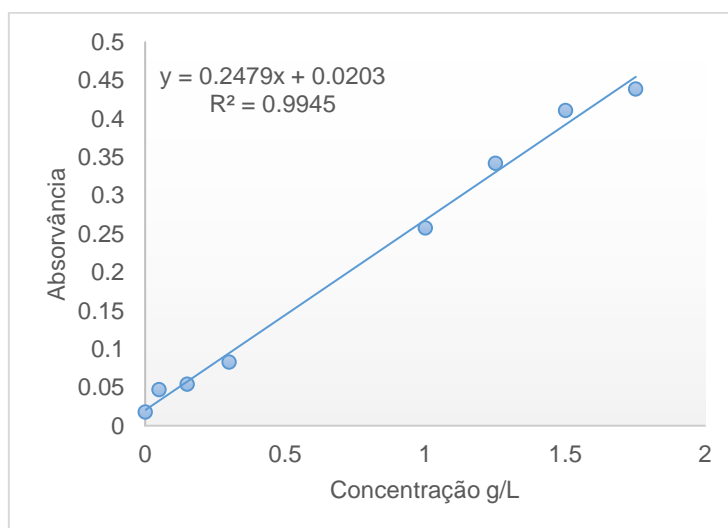


Figura A.4 Retas de calibração albumina ensaio (R₂)

Utilizou-se a equação da reta obtida a partir do 2º replicado ($y=0,2479x + 0,0203$), visto apresentar maior valor R^2 (0,9945).

Na tabela A.6, apresentam-se as quantidades pesadas do polímero 4 para cada réplica e a sua respectiva concentração e absorvância. Na tabela A.7 apresentam-se os valores obtidos em relação à quantidade de proteína total existente em cada amostra. Na tabela A.8 estão os valores de desvio padrão (σ) e o coeficiente de variância relativo (C_v) entre os duplicados do polímero.

Tabela A.6 Concentrações e absorvâncias das amostras para a caracterização de proteína (ensaio 2)

Polímero	Quantidade (mg)		Concentração (g/L)		Absorvância	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
P4	22,7	25,1	4,13	4,56	0,204	0,214

Tabela A.7 Resultados de proteína (ensaio 2)

Polímero	Absorvância		Proteína (g/L)		μg Proteína/ mg Amostra		
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	μ
P4	0,204	0,214	0,74	0,79	179,5	172,7	176,1

Tabela A.8 Desvio padrão e coeficiente de variância proteína (ensaio 2)

Polímero	σ	C_v
P4	3,4	1,9%

Anexo A.2 – Caracterização de açúcares neutros

Em primeiro lugar, preparou-se uma solução mãe de glucose com concentração de 1000 ppm, dissolvendo 100 mg de glucose com água destilada num balão volumétrico de 100 ml. De seguida prepararam-se as soluções padrão com concentrações 50-100 ppm em balões volumétricos de 50 ml, pipetando o volume necessário, pelo seguinte planeamento.

- 0,25 ml -> 5 ppm
- 0,5 ml -> 10 ppm
- 1,25 ml -> 25 ppm
- 2,5 ml -> 50 ppm
- 3,75 ml -> 75 ppm
- 5 ml -> 100 ppm

Ensaio 1

Pesaram-se 100,3 mg de glucose e dissolveram-se em 100 ml de água destilada num balão volumétrico. Para a solução de digestão, dissolveram-se 125,4 mg de antrona em 100 ml de HCl. Na tabela A.9 apresentam-se as concentrações das soluções padrão, o respetivo volume pipetado da solução mãe para a preparação dos mesmos e as respetivas absorvâncias obtidas. Nas figuras A.5 e A.6 estão representadas as retas de calibração de glucose.

Tabela A.9 Concentrações e absorvâncias dos padrões de glucose (ensaio 1)

Padrão	Solução mãe			Concentração (g/L)	Absorvância	
	ml	mg	Balão (ml)		R1	R2
P0	0	0	0	0	0,013	0,008
P1	0,25	0,25	50	0,005	0,044	0,034
P2	0,5	0,50	50	0,010	0,08	0,074
P3	1,25	1,25	50	0,025	0,222	0,242
P4	2,5	2,51	50	0,050	0,589	0,451
P5	3,75	3,76	50	0,075	0,638	0,467
P6	5	5,02	50	0,100	0,816	0,813

Utilizou-se a equação da reta obtida a partir do 1º replicado ($y=8,4039x + 0,024$), visto apresentar maior valor R^2 (0,9616).

Na tabela A.10, apresentam-se as quantidades pesadas de cada polímero para a preparar as soluções a analisar, e a respetiva concentração.

Na tabela A.11 são apresentados os valores das absorvâncias obtidas dos replicados de cada polímero. Na tabela A.12 estão os valores de desvio padrão (σ) e o coeficiente de variância relativo (C_v) entre os duplicados de cada polímero e a média dos duplicados (μ).

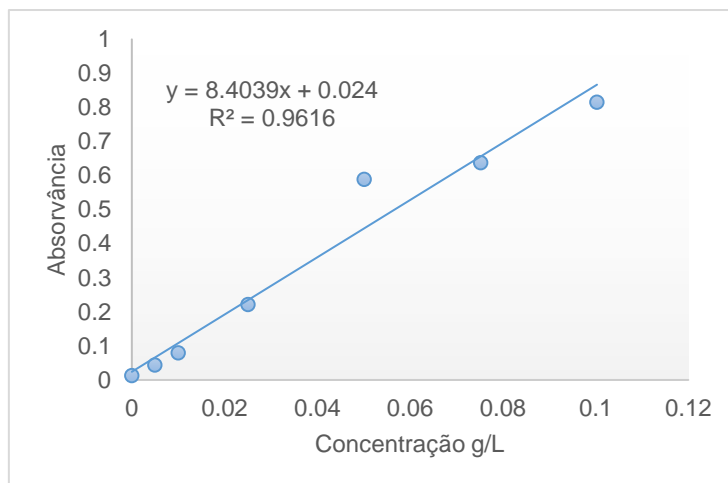


Figura A.5 Retas de calibração glucose ensaio 1 (R₁)

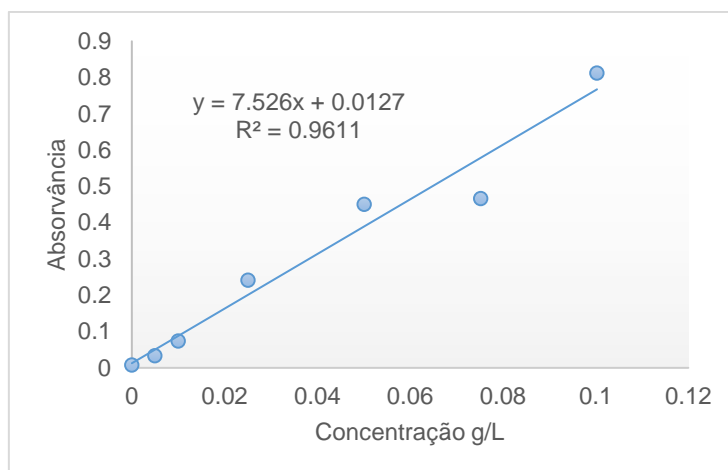


Figura A.6 Retas de calibração glucose ensaio 1 (R₂)

Tabela A.10 Concentrações das amostras para a caracterização de açúcares (ensaio 1)

Polímero	Peso (mg)	Balão (ml)	Concentração (g/L)
P1	5,35	100	0,054
P1-E	5,21	100	0,052
P2	6,95	50	0,139
P3	6,79	100	0,068
P3-E	5,21	100	0,052
P3-IPA	2,36	25	0,094
P4	14,3	250	0,057
P4-E	4,68	50	0,094
P4-IPA	2,19	50	0,044
P5	2,46	50	0,049
P5-E	2,96	50	0,059

Tabela A.11 Resultados de açúcares (ensaio 1)

Polímero	Concentração (g/L)	Absorvância		Açúcares totais (g/L)		µg Aç. / g Poli	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2
P1	0,054	0,242	0,231	0,026	0,025	484,9	460,4
P1-E	0,052	0,118	0,11	0,011	0,010	214,7	196,4
P2	0,139	0,418	0,414	0,047	0,046	337,3	333,9
P3	0,068	0,242	0,234	0,026	0,025	382,0	368,0
P3-E	0,052	0,221	0,169	0,023	0,017	449,9	331,2
P3-IPA	0,094	0,184	0,21	0,019	0,022	201,7	234,5
P4	0,057	0,218	0,186	0,023	0,019	403,6	337,0
P4-E	0,094	0,326	0,328	0,036	0,036	383,9	386,5
P4-IPA	0,044	0,18	0,125	0,019	0,012	423,8	274,4
P5	0,049	0,224	0,22	0,024	0,023	483,7	474,0
P5-E	0,059	0,188	0,195	0,020	0,020	329,6	343,7

Tabela A.12 Desvio e padrão e coeficiente de variância de açúcares (ensaio 1)

Polímero	μ	σ	Cv
P1	472,6	12,2	2,60%
P1-E	205,6	9,1	4,40%
P2	335,6	1,7	0,50%
P3	375	7	1,90%
P3-E	390,6	59,4	15,20%
P3-IPA	218,1	16,4	7,50%
P4	370,3	33,3	9,00%
P4-E	385,2	1,3	0,30%
P4-IPA	349,1	74,7	21,40%
P5	478,9	4,8	1,00%
P5-E	336,7	7	2,10%

Foi realizado um segundo ensaio para a analisar os polímeros P3-E e P4-IPA, uma vez que o coeficiente de variância relativo entre os duplicados foi superior a 10%.

Ensaio 2

Pesaram-se 50,33 mg de glucose e dissolveram-se em 50 ml de água destilada num balão volumétrico. Na tabela A.13 apresentam-se as concentrações das soluções padrão, o respetivo volume pipetado da solução mãe para a preparação dos mesmos e as respetivas absorvâncias obtidas. Para o reagente de digestão, dissolveram-se 125,1 mg de antrona em 100 ml de HCl. Nas figuras A.7 e A.8, estão representadas as retas de calibração da glucose.

Tabela A.13 Concentrações e absorvâncias dos padrões de glucose (ensaio 2)

Padrão	Solução mãe			Concentração (g/L)	Absorvância	
	ml	mg	Balão (ml)		R1	R2
P0	0	0	0	0	0,01	0,013
P1	0,25	0,25	50	0,005	0,036	0,038
P2	0,5	0,50	50	0,010	0,085	0,109
P3	1,25	1,26	50	0,025	0,202	0,213
P4	2,5	2,52	50	0,050	0,353	0,371
P5	3,75	3,77	50	0,075	0,51	0,527
P6	5	5,03	50	0,101	0,647	0,628

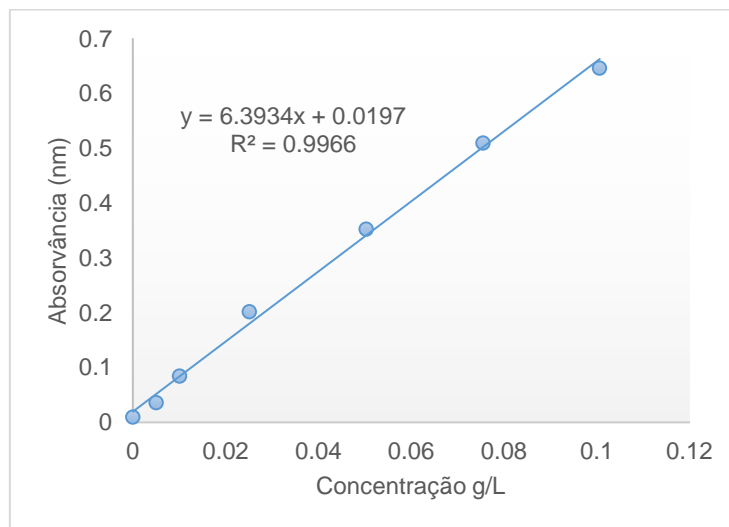


Figura A.7 Retas de calibração glucose ensaio 2 (R1)

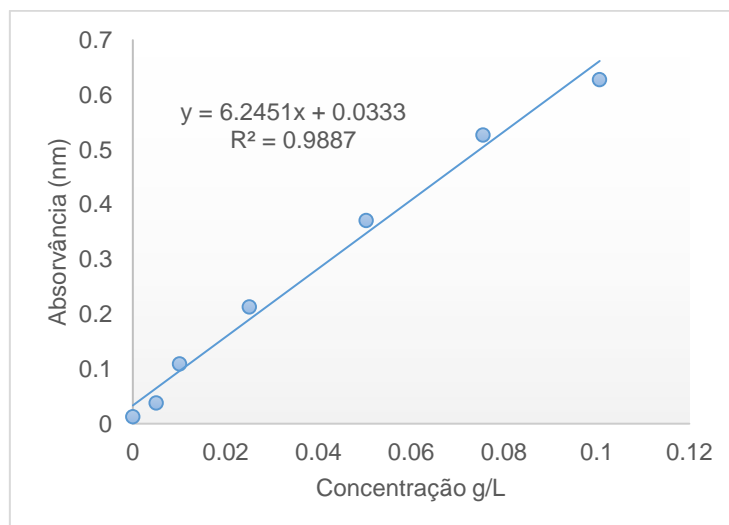


Figura A.8 Retas de calibração glucose ensaio 2 (R2)

Utilizou-se a equação da reta obtida a partir do 1º replicado ($y=6,3934x + 0,0197$), visto apresentar maior valor R^2 (0,9966).

Na tabela A.14, apresentam-se as quantidades pesadas de amostra para a preparar as soluções a analisar, e a respetiva concentração.

Na tabela A.15 são apresentados os valores das absorvâncias obtidas dos replicados de cada polímero. Na tabela A.16 estão os valores de desvio padrão (σ) e o coeficiente de variância relativo (C_v) entre os duplicados de cada polímero e a média dos duplicados (μ).

Tabela A.14 Concentrações das amostras para caracterização (ensaio 2)

Polímero	Peso (mg)	Balão (ml)	Concentração (g/L)
P3-E	5,07	100	0,0507
P4-IPA	1,98	50	0,0396

Tabela A.15 Resultados açúcares (ensaio 2)

Polímero	Concentração (g/L)	Absorvância		Açúcares totais (g/L)		$\mu\text{g Aç. / g Poli}$	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2
P3-E	0,051	0,073	0,084	0,008	0,01	164,4	198,4
P4-IPA	0,04	0,097	0,089	0,012	0,011	305,3	273,7

Tabela A.16 Desvio padrão e coeficiente de variância de açúcares (ensaio 2)

Polímero	μ	σ	C_v
P3-E	181,4	17,0	9,4%
P4-E	289,5	15,8	5,5%

Anexo A.3 – Caracterização de ácidos urónicos

Em primeiro lugar, preparou-se uma solução mãe de ácido galacturónico com concentração de 250 mg L⁻¹, dissolvendo 25 mg de ácido galacturónico com água destilada num balão de volumétrico de 100 ml. Foram preparados padrões com 8 concentrações distintas, com diluições sucessivas de 1:2. Prepararam-se soluções mãe dos polímeros a analisar. Depois de cada ensaio, as soluções foram congeladas, e usadas posteriormente caso fosse necessário realizar ou repetir outro ensaio. Na tabela A.17 são apresentadas as concentrações das soluções mãe de cada polímero.

Tabela A.17 Concentrações das amostras para caracterização de ácidos urónicos

Polímero	Peso (mg)	Balão (ml)	Concentração (g/L)
P1	500	500	1,00
P1-E	50	50	1,00
P2	250	250	1,00
P3	500,1	500	1,00
P3-E	10	10	1,00
P3-IPA	50	50	1,00
P4	15,6	15	1,04
P4-E	25	25	1,00
P4-IPA	14,9	15	0,99
P5	250	250	1,00
P5-E	20	20	1,00

Ensaio 1

Pesaram-se 25 mg de ácido galacturónico, e foram dissolvidos em 100 ml de água destilada. Obtendo assim, uma solução mãe com concentração de 250 mg L⁻¹. Na tabela A.18 são apresentadas as concentrações das soluções padrão e as respetivas absorvâncias. Para a solução de m-hidroxifenil, dissolveram-se 0,15 g de m-hidroxifenil e 0,15 g de NaOH em 100 ml de água destilada. Para o reagente de digestão, dissolveram-se 250,1 mg de tetraborato de sódio em 100 ml de HCl. Nas figuras A.9 e A.10 estão representadas as retas de calibração de ácido galacturónico.

Utilizou-se a equação da reta obtida a partir do 1º replicado ($y=0.0069x + 0.0778$), visto apresentar maior valor R² (0.9853). Na tabela A.19, encontram-se os resultados obtidos, e na tabela A.20 estão os valores de desvio padrão (σ) e o coeficiente de variância relativo (C_v) entre os duplicados de cada polímero e a média dos duplicados (μ).

Tabela A.18 Concentrações e absorvâncias dos padrões de ácido galacturônico (ensaio 1)

Padrão	Concentração (mg/L)	Absorvância	
		R ₁	R ₂
P0	0	0,0203	0,018
P1	1,95	0,0353	0,0317
P2	3,91	0,0604	0,0608
P3	7,81	0,1021	0,113
P4	15,63	0,1884	0,2081
P5	31,25	0,3794	0,3981
P6	62,5	0,6498	0,7489
P7	125	0,9316	1,3873
P8	250	1,7507	1,7902

Tabela A.19 Resultados ácidos urônicos (ensaio 1)

Polímero	Absorvância		A.U. (mg/L)		µg A.U. / mg Amostra		
	R ₁	R ₂	R ₁	R ₂	R ₁	R ₂	µ
P1	0,2153	0,2832	19,9	29,8	19,9	29,8	24,8
P1-E	0,272	0,287	28,1	30,3	28,1	30,3	29,2
P3	0,1522	0,1541	10,8	11,1	10,8	11,1	10,9
P3-E	0,1885	0,1258	16,0	7,0	16,0	7,0	11,5
P3-IPA	0,3357	0,682	37,4	87,6	37,4	87,6	62,5
P4-E	0,4143	0,4375	48,8	52,1	48,8	52,1	50,4
P5-E	0,436	0,3438	51,9	38,6	51,9	38,6	45,2

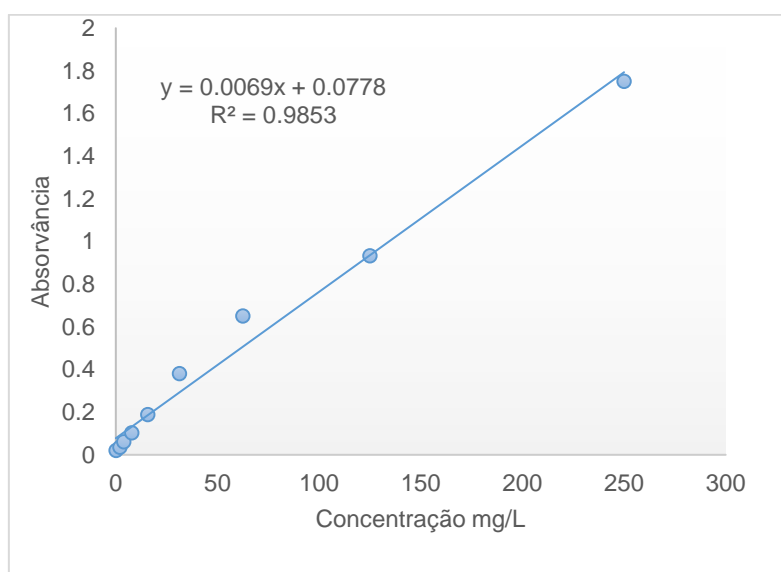


Figura A.9 Reta de calibração ácido galacturônico ensaio 1 (R₁)

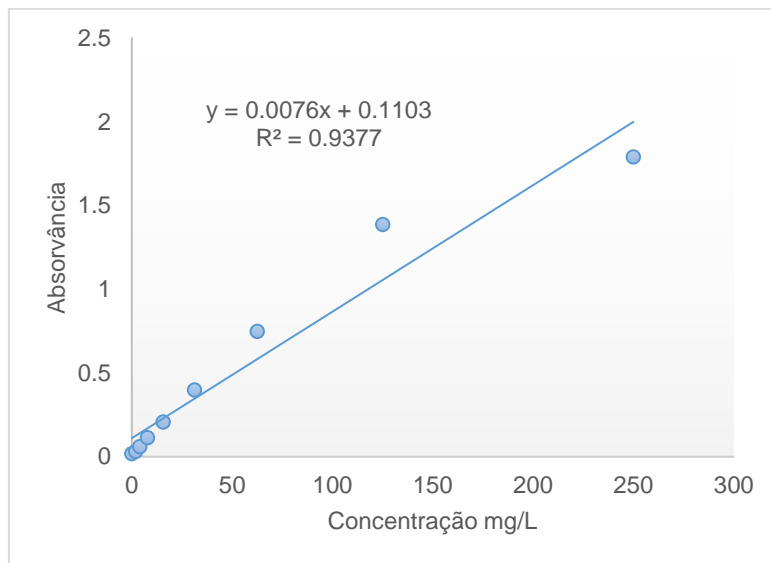


Figura A.10 Retas de calibração ácido galacturônico ensaio 1 (R_2)

Tabela A.20 Desvio padrão e coeficiente de variância ácidos urônicos (ensaio 1)

Polímero	μ	σ	C_V
P1	24,8	4,9	19,8%
P1-E	29,2	1,1	3,7%
P3	10,9	0,1	1,3%
P3-E	11,5	4,5	39,5%
P3-IPA	62,5	25,1	40,2%
P4-E	50,4	1,7	3,3%
P5-E	45,2	6,7	14,8%

Repetiu-se o ensaio para os polímeros P1, P3-E, P3-IPA e P5-E, juntamente com as restantes amostras que faltavam analisar, uma vez que quando se realizou o ensaio 1, as restantes ainda não se tinham liofilizado.

Ensaio 2

Pesaram-se 25,9 mg de ácido galacturônico, e foram dissolvidos em 100 ml de água destilada. Obtendo assim, uma solução mãe com concentração de 259 mg L⁻¹. Na tabela A.21 são apresentadas as concentrações das soluções padrão e as respetivas absorvâncias. Neste ensaio utilizou-se a solução de m-hidroxifenil preparada no ensaio anterior. Para o reagente de digestão, dissolveram-se 251,5 mg de tetraborato de sódio. Nas figuras A.11 e A.12 estão representadas as retas de calibração de ácido galacturônico.

Tabela A.21 Concentrações e absorvâncias dos padrões de ácido galacturônico (ensaio 2)

Padrão	Concentração (mg/L)	Absorvância	
		R ₁	R ₂
P0	0	0,0256	0,0231
P1	2,02	0,0471	0,0455
P2	4,05	0,05	0,0736
P3	8,09	0,094	0,0943
P4	16,19	0,1974	0,182
P5	32,38	0,269	0,2971
P6	64,75	0,6047	0,4413
P7	129,5	1,1363	1,0768
P8	259	1,948	1,8537

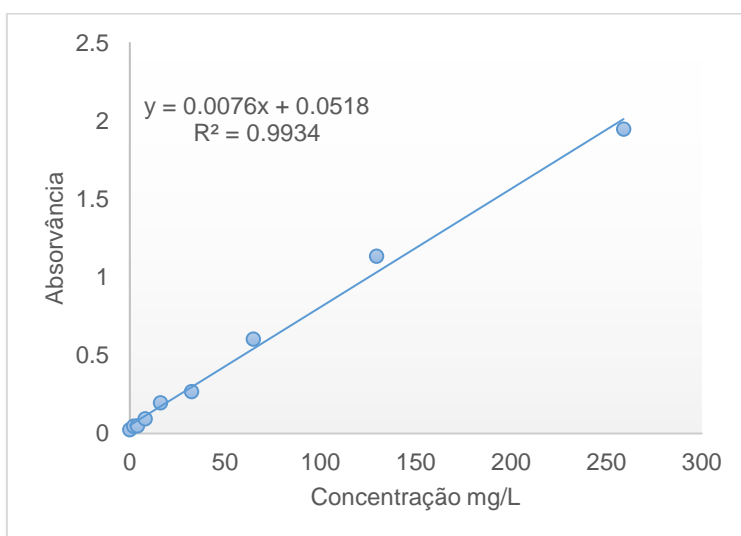


Figura A.11 Retas de calibração ácido galacturônico ensaio 2 (R₁)

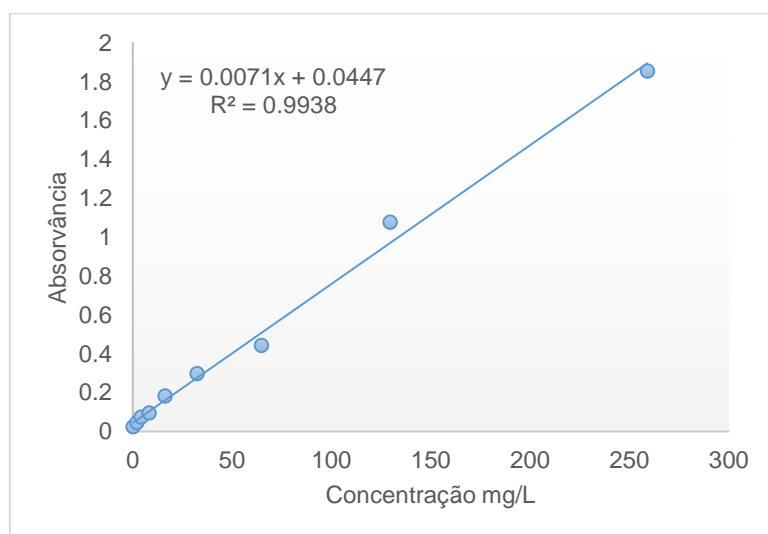


Figura A.12 Retas de calibração ácido galacturônico ensaio 2 (R₂)

Utilizou-se a equação da reta obtida a partir do 2º replicado ($y=0,0071x + 0.0447$), visto apresentar maior valor R^2 (0.9938). Na tabela A.22, encontram-se os resultados obtidos, e na tabela A.23 estão os valores de desvio padrão (σ) e o coeficiente de variância relativo (C_v) entre os duplicados de cada polímero e a média dos duplicados (μ).

Tabela A.22 Resultados ácidos urônicos (ensaio 2)

Polímero	Absorvância		A.U. (mg/L)		$\mu\text{g A.U. / mg Amostra}$		
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	μ
P1	0,2758	0,2658	32,5	31,1	32,5	31,1	31,8
P2	0,214	0,2026	23,8	22,2	23,8	22,2	23,0
P3-E	0,1302	0,1258	12,0	11,4	12,0	11,4	11,7
P3-IPA	0,1276	0,1411	11,7	13,6	11,7	13,6	12,6
P4	0,248	0,2347	28,6	26,8	27,5	25,7	26,6
P4-IPA	0,1784	0,1788	18,8	18,9	19,0	19,0	19,0
P5	0,2286	0,2382	25,9	27,3	25,9	27,3	26,6
P5-E	0,4416	0,4627	55,9	58,9	55,9	58,9	57,4

Tabela A.23 Desvio padrão e coeficiente de variância ácidos urônicos (ensaio 2)

Polímero	μ	σ	C_v
P1	31,8	0,7	2,2%
P2	23,0	0,8	3,5%
P3-E	11,7	0,3	2,6%
P3-IPA	12,6	1,0	7,5%
P4	26,6	0,9	3,4%
P4-IPA	19,0	0,0	0,1%
P5	26,6	0,7	2,5%
P5-E	57,4	1,5	2,6%

Anexo A.4 – Caracterização de cinzas

Nas tabelas A.24 e A.25 estão os pesos registados nos ensaios 1 e 2, respetivamente. O teor de cinzas foi calculado pela seguinte equação A.1

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{P3 - P1}{P2 - P1} \times 100 \quad (\text{A.1})$$

Onde:

P1 = peso cadinho + filtro (g)

P2 = peso do cadinho + filtro + amostra (g)

P3 = cadinho + filtro + cinza (g)

Tabela A.24 Resultados da caracterização de cinzas (ensaio 1)

Nº	Cadinho	Filtro (g)	P1 (g)	Polímero		P2 (g)	P3 (g)	P4 (g)	Cinzas % (p/p)
	Peso (g)			Tipo	(mg)				
1	41,21216	0,09666	41,30882	P1	100,42	41,40924	41,39278	41,32401	15,1%
2	42,0823	0,09642	42,17872	P1	100,17	42,27889	42,25957	42,19299	14,2%
3	42,27266	0,09645	42,36911	P1-E	100,57	42,46968	42,45411	42,38643	17,2%
4	39,43872	0,09666	39,53538	P1-E	100,38	39,63576	39,62671	39,55649	21,0%
5	40,39244	0,09714	40,48958	P2	100,38	40,58996	40,58001	40,50269	13,1%
6	45,52541	0,09653	45,62194	P2	100,85	45,72279	45,71382	45,63602	14,0%
7	42,64645	0,09703	42,74348	P3	100,77	42,84425	42,82926	42,76629	22,6%
8	38,10978	0,09754	38,20732	P3	100,9	38,30822	38,29256	38,22824	20,7%
9	37,69682	0,0969	37,79372	P5	131,11	37,92483	37,90492	37,81374	15,3%
10	37,13139	0,09609	37,22748	P5	131,83	37,35931	37,34156	37,24714	14,9%

Tabela A.25 Resultados da caracterização de cinzas (ensaio 2)

Nº	Cadinho	Filtro (g)	P1 (g)	Polímero		P2 (g)	P3 (g)	P3 (g)	Cinzas % (p/p)
	Peso (g)			Tipo	(mg)				
1	42,0812	0,09688	42,17808	P4	101,27	42,27935	42,26133	42,19147	13,2%
2	45,52485	0,0968	45,62165	P4	101,63	45,72328	45,70672	45,63631	14,4%
3	38,10925	0,09724	38,20649	P3-IPA	102,45	38,30894	38,30123	38,23295	25,8%
4	42,27171	0,09727	42,36898	P4-IPA	100,16	42,46914	42,46079	42,38295	13,9%
5	42,64604	0,09744	42,74348	P3-E	101,18	42,84466	42,83258	42,76721	23,5%
6	40,39076	0,09692	40,48768	P3-E	101,27	40,58895	40,57659	40,5123	24,3%
7	39,43744	0,09747	39,53491	P5-E	101,55	39,63646	39,62876	39,55128	16,1%

Anexo A.5 – Resultados *HPLC*

São apresentados os cromatogramas das diluições da solução padrão de monossacarídeos (arabinose, galactose, ramnose e xilose) com concentração de 1 g L⁻¹. Foram feitas soluções padrão com concentrações de 1, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 mg L⁻¹, a partir da solução entregue, obtendo os cromatogramas das figuras A.13, A.14, A.15, A.16, A.17, A.18 e A.19., respetivamente. Os resultados dos cromatogramas são apresentados nas tabelas A.26, A.27, A.28, A.29, A.30, A.31 e A.32, respetivamente. Deste modo, foi possível calcular a quantidade de cada monossacarídeo na solução, pela reta padrão obtida de cada monossacarídeo. A reta é do tipo $y=ax+b$, onde a e b são o declive e ordenada na origem da reta. As variáveis x e y correspondem à concentração (mg/L) e à área, respetivamente.

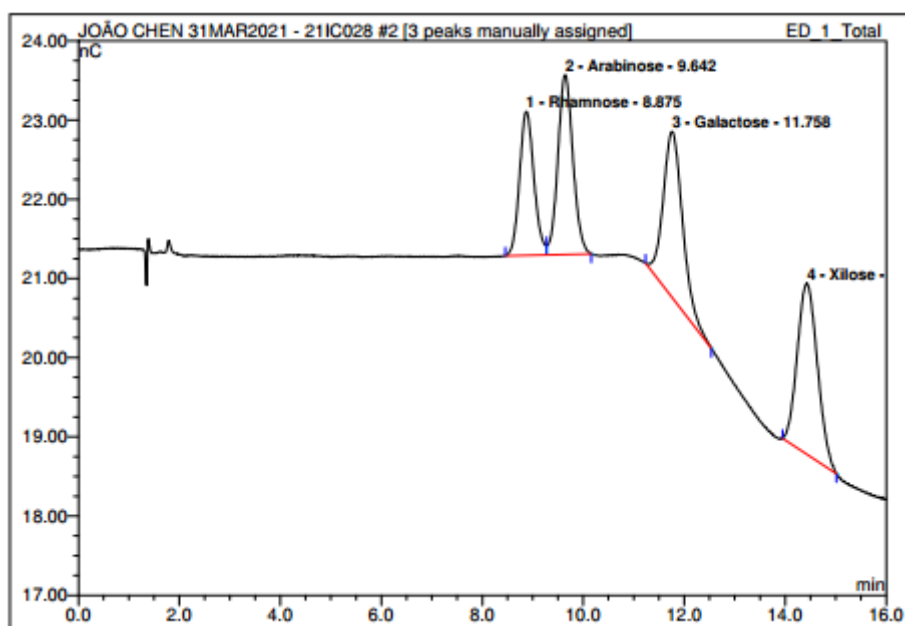


Figura A.13 Cromatograma 1 mg/L

Tabela A.26 Resultados do comatograma 1 mg/L

No.	Ret.Time min	Peak Name	Height nC	Area nC*min	Rel.Area %	Amount mg/l	Type
1	8.88	Rhamnose	1.816	0.603	18.14	0.905	BM ^
2	9.64	Arabinose	2.268	0.784	23.60	0.926	MB
3	11.76	Galactose	2.096	0.937	28.22	0.984	BMB^
4	14.43	Xilose	2.168	0.998	30.04	0.986	BMB^
Total:			8.348	3.321	100.00	3.801	

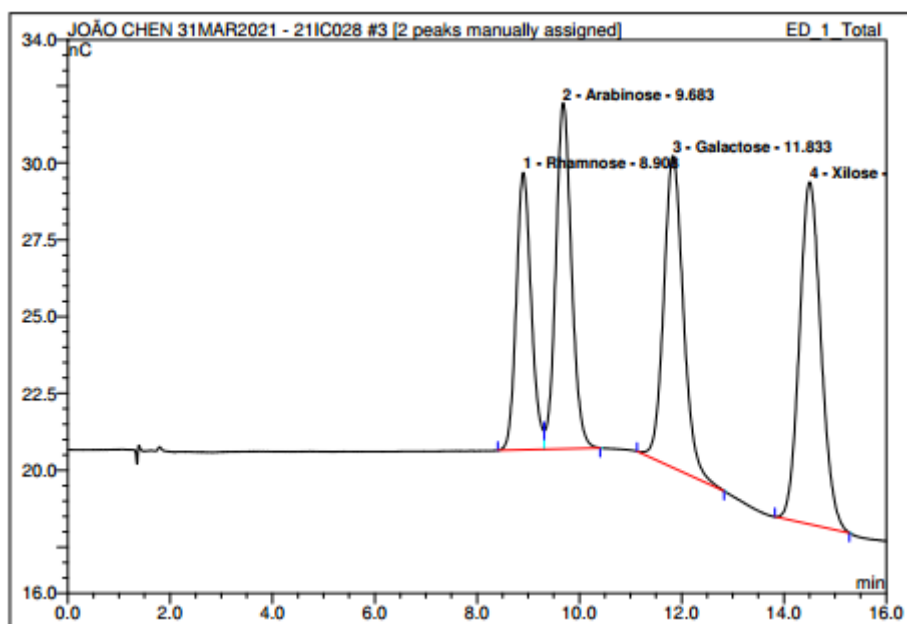


Figura A.14 Cromatograma 5 mg/L

Tabela A.27 Resultados do cromatograma 5 mg/L

No.	Ret.Time min	Peak Name	Height nC	Area nC*min	Rel.Area %	Amount mg/l	Type
1	8.91	Rhamnose	9.020	3.037	17.88	4.960	BM ^
2	9.68	Arabinose	11.253	4.001	23.55	4.906	MB
3	11.83	Galactose	10.142	4.501	26.49	4.972	BMB
4	14.51	Xilose	11.130	5.450	32.08	4.929	BMB^
Total:			41.545	16.989	100.00	19.767	

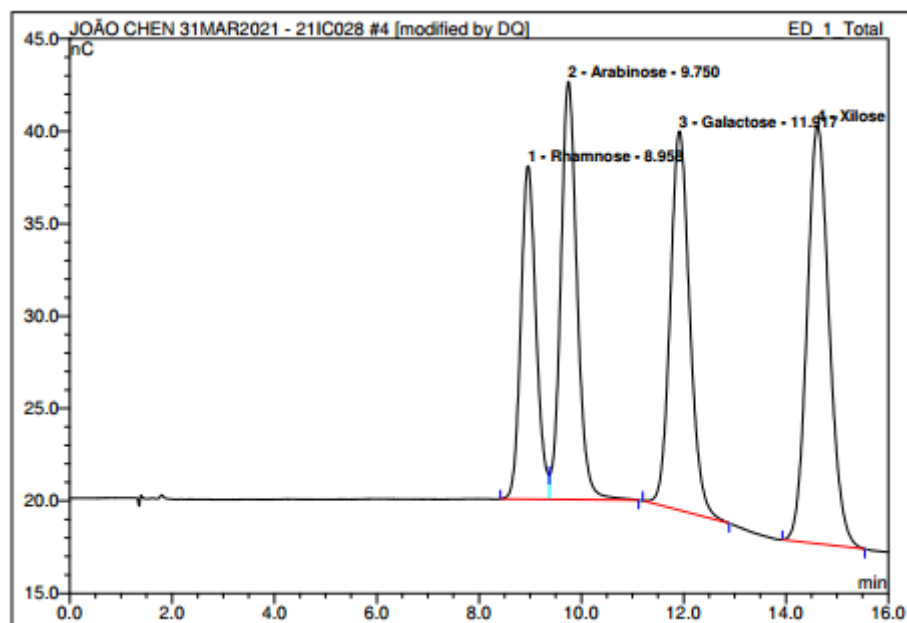


Figura A.15 Cromatograma 10 mg/L

Tabela A.28 Resultados do cromatograma 10 mg/L

No.	Ret.Time min	Peak Name	Height nC	Area nC*min	Rel.Area %	Amount mg/l	Type
1	8.96	Rhamnose	18.039	6.207	17.77	10.240	BM
2	9.75	Arabinose	22.617	8.346	23.89	10.281	MB
3	11.92	Galactose	20.514	9.059	25.93	10.072	BMB*
4	14.62	Xilose	22.644	11.327	32.42	10.134	BMB
Total:			83.814	34.939	100.00	40.727	

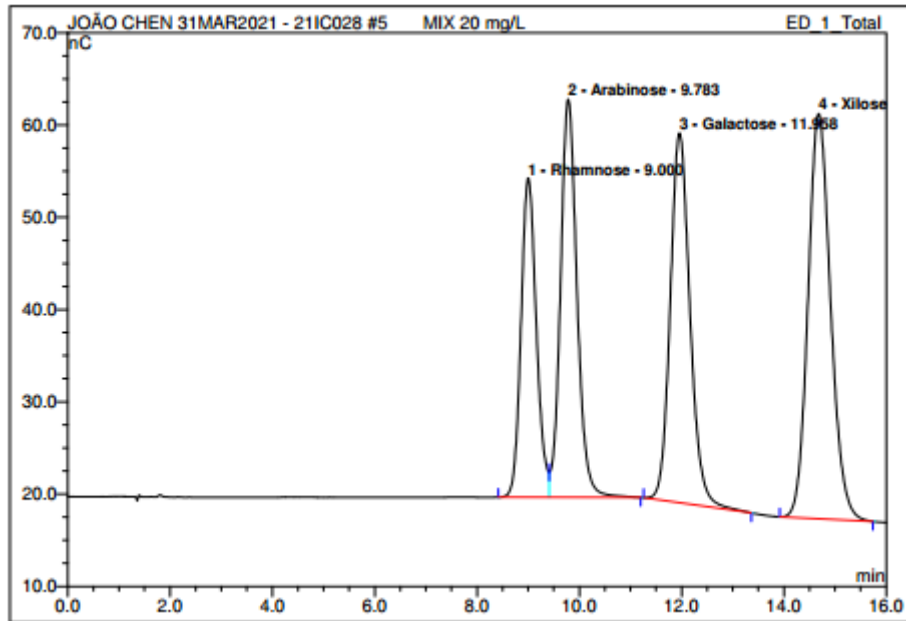


Figura A.16 Cromatograma 20 mg/L

Tabela A.29 Resultados do cromatograma 20 mg/L

No.	Ret.Time min	Peak Name	Height nC	Area nC*min	Rel.Area %	Amount mg/l	Type
1	9.00	Rhamnose	34.604	12.003	17.54	19.895	BM
2	9.78	Arabinose	43.155	16.111	23.54	19.887	MB
3	11.96	Galactose	40.059	17.906	26.17	19.972	BMB
4	14.68	Xilose	43.902	22.412	32.75	19.952	BMB
Total:			161.720	68.432	100.00	79.705	

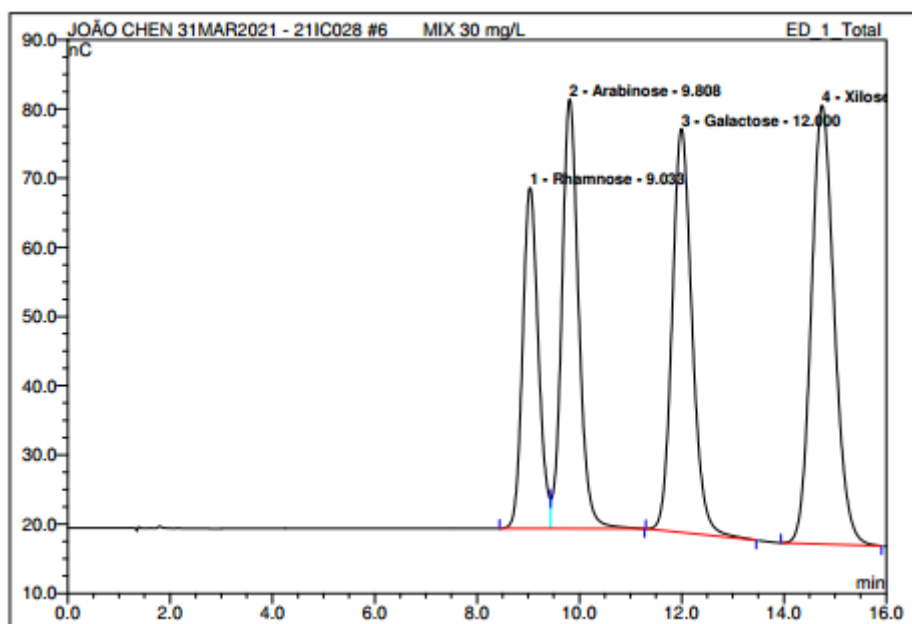


Figura A.17 Cromatograma 30 mg/L

Tabela A.30 Resultados do cromatograma 30 mg/L

No.	Ret.Time min	Peak Name	Height nC	Area nC*min	Rel.Area %	Amount mg/l	Type
1	9.03	Rhamnose	49.251	17.411	17.39	28.901	BM
2	9.81	Arabinose	62.054	23.546	23.51	29.085	MB
3	12.00	Galactose	58.316	26.263	26.23	29.323	BMB
4	14.75	Xilose	63.413	32.923	32.88	29.261	BMB
Total:			233.034	100.143	100.00	116.569	

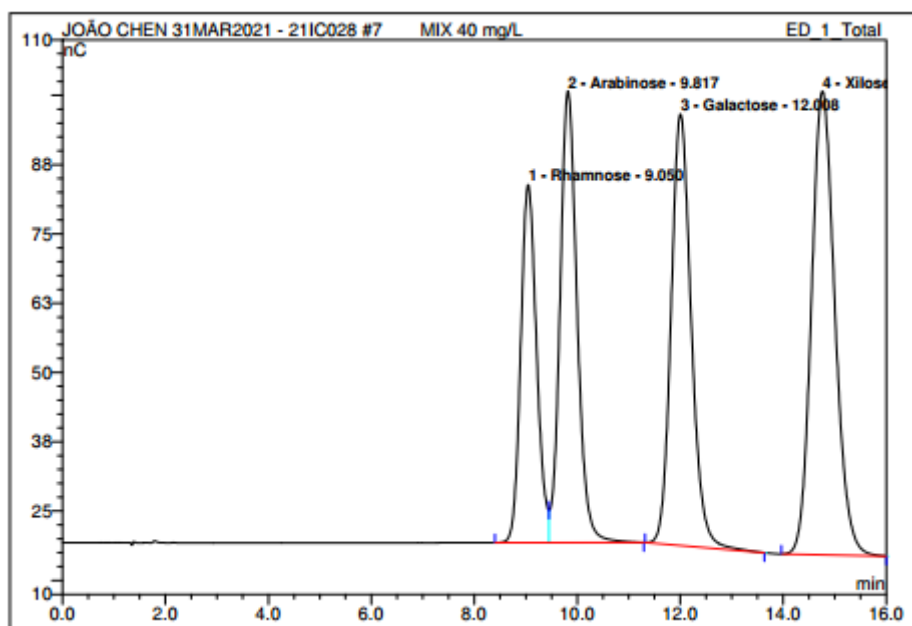


Figura A.18 Cromatograma 40 mg/L

Tabela A.31 Resultados do cromatograma 40 mg/L

No.	Ret.Time min	Peak Name	Height nC	Area nC*min	Rel.Area %	Amount mg/l	Type
1	9.05	Rhamnose	64.560	23.065	17.28	38.318	BM
2	9.82	Arabinose	81.432	31.262	23.42	38.629	MB
3	12.01	Galactose	77.827	35.228	26.39	39.355	BMB
4	14.77	Xilose	83.599	43.933	32.91	39.011	BMB
Total:			307.418	133.488	100.00	155.314	

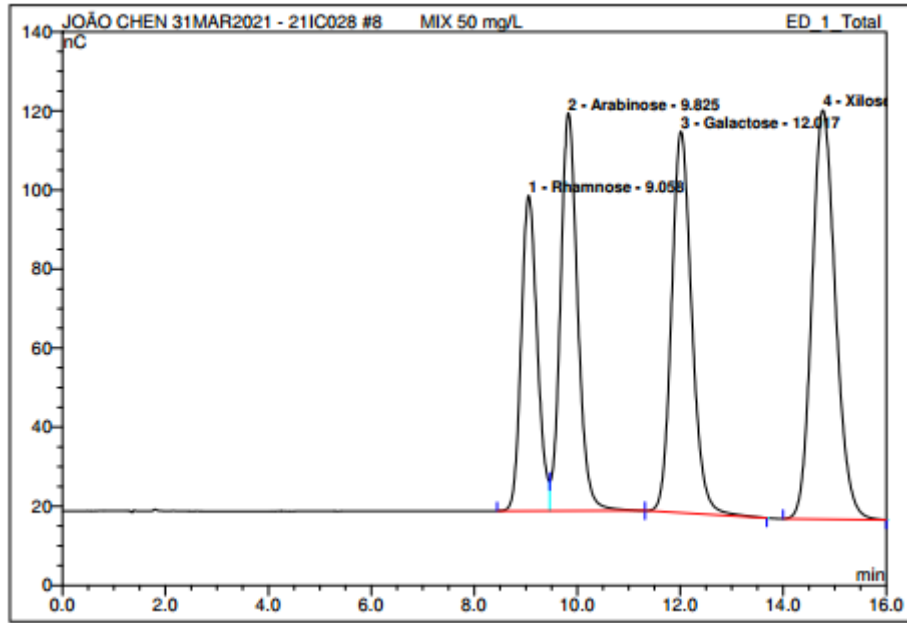


Figura A.19 Cormatograma 50 mg/L

Tabela A.32 Resultados do cromatograma 50 mg/L

No.	Ret.Time min	Peak Name	Height nC	Area nC*min	Rel.Area %	Amount mg/l	Type
1	9.06	Rhamnose	79.765	28.792	17.32	47.858	BM
2	9.83	Arabinose	100.586	38.854	23.38	48.022	Mb
3	12.02	Galactose	96.460	43.845	26.38	48.997	bMB
4	14.78	Xilose	103.401	54.707	32.92	48.553	BMB
Total:			380.212	166.199	100.00	193.431	

Anexo B – Resultados dos ensaios *Jar Test*

Preparação da solução de CF:

A solução comercial de CF usada foi de 40% (kg/L ou 40g CF/100 g solução) com densidade relativa de 1,42. Pretendeu-se preparar uma solução de CF com uma concentração de 20 g L⁻¹. Foi usado um balão de 100 ml, logo foi necessário pipetar 2 g. Foi calculado o volume correspondente a 2g de CF.

$$\text{Volume}_{\text{equivalente a 100 g de solução}} = \frac{100 \text{ g}}{1,42 \text{ g cm}^{-3}} = 70,42 \text{ cm}^3 = 72,42 \text{ ml}$$

$$\text{Volume}_{\text{a pipetar}} = \frac{2 \text{ g} \times 70,42 \text{ ml}}{40 \text{ g}} = 3,52 \text{ ml}$$

Foram pipetados 3,52 ml para o balão, e enchido até perfazer o volume de 100 ml.

Nas tabelas B.1, B.2, B.3 B.4, B.5, B.6, B7 e B.8 são apresentados os resultados obtidos nos ensaios *jar test* 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, respetivamente.

Tabela B.1 Resultados *jar test* (ensaio 1)

Manhã		Data	Hora	NTU	pH	Branco
		24/jan	10h00	67	7,935	25,2
FeCl3 mg/L	Polímero		Turvação NTU	pH	% Remoção	% Coagulação
	Tipo	mg/L				
30	-	-	6,6	7,388	90,1%	73,8%
0	P1	30	24,2	7,934	63,9%	4,0%
0	P1-E	30	22,9	7,901	65,8%	9,1%
0	P2	30	26,2	7,913	60,9%	-4,0%
0	P3	30	26,4	7,928	60,6%	-4,8%
0	P3-E	30	26,9	7,969	59,9%	-6,7%
0	P3-IPA	30	26,9	7,968	59,9%	-6,7%
0	P4	30	21,3	7,991	68,2%	15,5%
0	P4-E	30	27,4	7,939	59,1%	-8,7%
0	P4-IPA	30	24,3	7,919	63,7%	3,6%
0	P5	30	22,2	7,915	66,9%	11,9%
0	P5-E	30	27,6	7,903	58,8%	-9,5%
10	P4	20	12,1	7,69	81,9%	52,0%
15	P4	15	12,4	7,59	81,5%	50,8%

Tabela B.2 Resultados *jar test* (ensaio 2)

Tarde		Data	Hora	NTU	pH	Branco
		24/jan	14h30	123	7,866	65,5
FeCl ₃ mg/L	Polímero		Turvação NTU	pH	% Remoção	% Coagulação
	Tipo	mg/L				
0	-	-	30,7	7,365	75,0%	53,1%
0	P1	56,25	77,7	7,609	36,8%	-18,6%
0	P1	75	75,9	7,628	38,3%	-15,9%
0	P2	56,25	73,4	7,73	40,3%	-12,1%
0	P2	90	77,5	7,623	37,0%	-18,3%
0	P2	110	77	7,645	37,4%	-17,6%
0	P3	110	75,4	7,601	38,7%	-15,1%
10	P1-E	20	66,2	7,644	46,2%	-1,1%
15	P1-E	15	49,7	7,537	59,6%	24,1%
20	P1-E	10	41,4	7,461	66,3%	36,8%
10	P5	20	62,9	7,651	48,9%	4,0%
15	P5	15	56,5	7,566	54,1%	13,7%
20	P5	10	43,3	7,482	64,8%	33,9%
15	P5	30	53,8	7,474	56,3%	17,9%
22,5	P5	22,5	36,5	7,393	70,3%	44,3%
30	P5	15	37,4	7,328	69,6%	42,9%
22,5	P5-E	22,5	51	7,353	58,5%	22,1%

Tabela B.3 Resultados *jar test* (ensaio 3)

Manhã		Data	Hora	NTU	pH	Branco
		05/fev	11h00	84	8,014	34,9
FeCl ₃ mg/L	Polímero		Turvação NTU	pH	% Remoção	% Coagulação
	Tipo	mg/L				
30	-	-	11,3	7,46	86,5%	67,6%
0	P1	30	31,1	7,914	63,0%	10,9%
0	P1-E	30	34,9	7,892	58,5%	0,0%
0	P2	30	31,7	7,95	62,3%	9,2%
0	P3	30	33,2	7,902	60,5%	4,9%
0	P4	30	34,7	7,897	58,7%	0,6%
0	P5	30	33,1	7,906	60,6%	5,2%
10	P1	30	22,8	7,708	72,9%	34,7%
10	P1-E	30	21,5	7,71	74,4%	38,4%
10	P2	30	17,5	7,717	79,2%	49,9%
10	P3	30	23,1	7,688	72,5%	33,8%
10	P4	30	19,2	7,624	77,1%	45,0%
10	P5	30	19,8	7,67	76,4%	43,3%
10	P5-E	30	21,1	7,666	74,9%	39,5%
12,5	P2	20	15,8	7,65	81,2%	54,7%
12,5	P2	45	17	7,625	79,8%	51,3%
12,5	P2	60	18,8	7,618	77,6%	46,1%
12,5	P2	80	16,6	7,611	80,2%	52,4%
15	P2	45	12,4	7,58	85,2%	64,5%
15	P2	60	16,2	7,592	80,7%	53,6%
15	P2	80	17,3	7,585	79,4%	50,4%

Tabela B.4 Resultados *jar test* (ensaio 4)

Tarde		Data	Hora	NTU	pH	Branco
		05/fev	14h00	187	7,872	103
FeCl ₃ mg/L	Polímero		Turvação NTU	pH	% Remoção	% Coagulação
	Tipo	mg/L				
30	-	-	45	7,18	75,9%	56,3%
15	P1-E	10	66,2	7,381	64,6%	35,7%
15	P1-E	20	64,8	7,377	65,3%	37,1%
15	P2	10	65	7,397	65,2%	36,9%
15	P2	20	63,4	7,41	66,1%	38,4%
17,5	P1-E	30	70,9	7,307	62,1%	31,2%
17,5	P2	30	67,3	7,312	64,0%	34,7%
17,5	P2	45	61,6	7,292	67,1%	40,2%
20	P1	30	57,2	7,243	69,4%	44,5%
20	P5	30	62,2	7,229	66,7%	39,6%
20	P5-E	30	67,3	7,248	64,0%	34,7%
22,5	P3	30	58,2	7,193	68,9%	43,5%
22,5	P3	45	54,8	7,183	70,7%	46,8%
22,5	P4	30	53,2	7,189	71,6%	48,3%
22,5	P1-E	30	54,8	7,205	70,7%	46,8%
25	P1-E	30	50,5	7,149	73,0%	51,0%
25	P1	30	56,15	7,112	70,0%	45,5%
25	P2	45	44,6	7,16	76,1%	56,7%
25	P4	30	48,4	7,154	74,1%	53,0%
25	P5	30	50,1	7,173	73,2%	51,4%
25	P5-E	30	54,4	7,171	70,9%	47,2%

Tabela B.5 Resultados *jar test* (ensaio 5)

Manhã		Data	Hora	NTU	pH	Branco
		24/fev	10h00	78	8,015	26,9
FeCl ₃	Polímero		Turvação	pH	% Remoção	% Coagulação
mg/L	Tipo	mg/L	NTU			
30	-	-	8,11	7,543	89,6%	69,9%
0	P1	30	29,9	8,033	61,7%	-11,2%
0	P1	45	30,5	8,004	60,9%	-13,4%
0	P2	30	26,9	8,06	65,5%	0,0%
0	P2	45	27,4	8,069	64,9%	-1,9%
0	P3	30	31,2	8,048	60,0%	-16,0%
0	P3	45	30,5	7,979	60,9%	-13,4%
0	P4	30	30,9	8,974	60,4%	-14,9%
0	P4	45	30,8	7,969	60,5%	-14,5%
0	P5	30	33	8,021	57,7%	-22,7%
0	P5	45	33,8	7,992	56,7%	-25,7%
15	P1	25	11,6	7,713	85,1%	56,9%
15	P1	40	13,8	7,761	82,3%	48,7%
15	P2	25	12,5	7,771	84,0%	53,5%
15	P2	40	12,5	7,802	84,0%	53,5%
15	P3	25	10,8	7,684	86,2%	59,9%
15	P3	40	9,27	7,656	88,1%	65,5%
15	P4	25	12,8	7,677	83,6%	52,4%
15	P4	40	9,87	7,686	87,3%	63,3%
15	P5	25	9,2	7,734	88,2%	65,8%
15	P5	40	9,56	7,729	87,7%	64,5%

Tabela B.6 Resultados *jar test* (ensaio 6)

Tarde		Data	Hora	NTU	pH	Branco
		24/fev	13h30	156	8,052	77
FeCl ₃ mg/L	Polímero		Turvação	pH	% Remoção	% Coagulação
	Tipo	mg/L	NTU			
30	-	-	29,2	7,542	81,3%	62,1%
0	P1	30	75,7	7,981	51,5%	1,7%
0	P1	45	74	7,968	52,6%	3,9%
0	P2	30	73	7,967	53,2%	5,2%
0	P2	45	74,1	7,949	52,5%	3,8%
0	P3	30	75,5	7,92	51,6%	1,9%
0	P3	45	75,2	7,908	51,8%	2,3%
0	P4	30	68	7,872	56,4%	11,7%
0	P4	45	70,5	7,864	54,8%	8,4%
0	P5	30	71	7,881	54,5%	7,8%
0	P5	45	70,4	7,899	54,9%	8,6%
15	P1	25	36,8	7,624	76,4%	52,2%
15	P1	40	38	7,61	75,6%	50,6%
15	P2	25	35,6	7,634	77,2%	53,8%
15	P2	40	36,6	7,624	76,5%	52,5%
15	P3	25	35,7	7,684	77,1%	53,6%
15	P3	40	35,9	7,645	77,0%	53,4%
15	P4	25	35,7	7,647	77,1%	53,6%
15	P4	40	35,4	7,609	77,3%	54,0%
15	P5	25	34,8	7,632	77,7%	54,8%
15	P5	40	35,7	7,603	77,1%	53,6%

Tabela B.7 Resultados *jar test* (ensaio 7)

Manhã		Data	Hora	NTU	pH	Branco
		26/fev	183	183	8,015	82,3
FeCl ₃ mg/L	Polímero		Turvação	pH	% Remoção	% Coagulação
	Tipo	mg/L	NTU			
30	-	-	9,8	7,392	94,6%	88,1%
0	P1-E	30	38,4	7,935	79,0%	53,3%
0	P1-E	45	45,6	7,919	75,1%	44,6%
0	P3-E	30	44,5	7,934	75,7%	45,9%
0	P3-E	45	48,5	7,908	73,5%	41,1%
0	P4-IPA	30	38,9	7,782	78,7%	52,7%
0	P5-E	30	44,4	7,494	75,7%	46,1%
0	P5-E	45	47	7,944	74,3%	42,9%
15	P1-E	25	22,8	7,581	87,5%	72,3%
15	P1-E	40	19,1	7,537	89,6%	76,8%
15	P3-E	25	28,2	7,578	84,6%	65,7%
15	P3-E	40	18,9	7,537	89,7%	77,0%
15	P4-IPA	25	44,4	7,583	75,7%	46,1%
15	P4-IPA	40	26,7	7,578	85,4%	67,6%
15	P5-E	25	20,4	7,56	88,9%	75,2%
15	P5-E	40	34,7	7,5	81,0%	57,8%

Tabela B.8 Resultados *jar test* (ensaio 8)

Tarde		Data	Hora	NTU	pH	Branco
		26/fev	13h30	138	7,964	70,1
FeCl ₃ mg/L	Polímero		Turvação NTU	pH	% Remoção	% Coagulação
	Tipo	mg/L				
30	-	-	21,2	7,361	84,6%	69,8%
0	P1-E	30	69	7,862	50,0%	1,6%
0	P1-E	45	69,9	7,87	49,3%	0,3%
0	P5-E	30	69,9	7,875	49,3%	0,3%
0	P5-E	45	72,9	7,812	47,2%	-4,0%
15	P1-E	25	33,3	7,483	75,9%	52,5%
15	P1-E	40	33,6	7,476	75,7%	52,1%
15	P5-E	25	34,1	7,54	75,3%	51,4%
15	P5-E	40	60,6	7,55	56,1%	13,6%