



Avaliação do ciclo de vida de métodos de extração
baseados em campos elétricos aplicados a microalgas

José Alves

UMinho | 2022

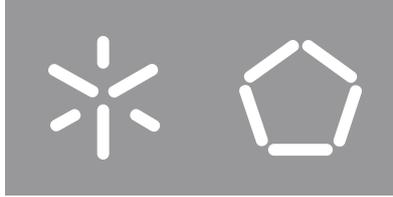


Universidade do Minho
Escola de Engenharia

José Pedro Silva Alves

**Avaliação do ciclo de vida de métodos de
extração baseados em campos elétricos
aplicados a microalgas**

Junho de 2022



Universidade do Minho

Escola de Engenharia

José Pedro Silva Alves

**Avaliação do ciclo de vida de métodos de
extração baseados em campos elétricos
aplicados a microalgas**

Dissertação de Mestrado

Mestrado Integrado em Engenharia Biológica

Trabalho efetuado sob a orientação de

Doutor Ricardo N. Pereira

e sob a coorientação de

Doutor António Augusto Areosa Martins

Junho de 2022

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



**Atribuição
CC BY**

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

AGRADECIMENTOS

Aos orientadores Doutora Teresa Margarida Correia de Poço Mata, Doutor António Augusto Areosa Martins e Doutor Ricardo Nuno Correia Pereira, pelas suas disponibilidades, empenho, compreensão e apoio que foram de grande importância no desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos e a minha irmã pela companhia e suporte durante este processo, que me ajudaram a ter motivação e compromisso comigo próprio de levar esta tarefa até ao fim.

Finalmente, aos meus pais pelo seu esforço e apoio ao longo destes anos escolares e académicos, os quais sem eles não teriam sido possíveis.

O Doutor António Augusto Areosa Martins, coorientador desta dissertação, é membro integrado do LEPABE – Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente Biotecnologia e Energia, e de ALICE, Laboratório Associado Em Engenharia Química, financiados por: UIDB/50016/2020 (CBQF), LA/P/0045/2020 (ALICE), UIDP/00511/2020 (LEPABE), e UIDB/04730/2020 (CIETI), financiada por fundos nacionais através da FCT/MCTES (PIDDAC).

A Doutora Teresa Margarida Correia de Poço Mata, que colaborou na orientação desta dissertação, é investigadora no LAETA-INEGI, Laboratório Associado em Energia, Transportes e Aeronáutica - Instituto de Ciência e Inovação em Engenharia Mecânica e Engenharia Industrial, com financiamento base do projeto UIDB/50022/2020 (LAETA) financiada por fundos nacionais através da FCT/MCTES (PIDDAC) e do projeto NORTE-06-3559-FSE-000107, cofinanciado pelo Programa Operacional Regional do Norte (NORTE2020), através do Fundo Social Europeu (FSE).

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração. Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

RESUMO

A sustentabilidade da exploração de recursos e dos sistemas de processamento são questões importantes da atualidade, dada a realidade da degradação ambiental do nosso planeta. Mas o desenvolvimento de novos sistemas de processamento necessita de inovação tecnológica e estudos para determinar a sua capacidade de mitigação de impacto que o ser humano tem no meio ambiente.

Os métodos extração baseados em campos elétricos são tecnologias simples de elevada eficiência energética que aproveitam as propriedades eletroquímicas dos sistemas biológicos, como as microalgas, para promover a extração de compostos de valor acrescentado. O Aquecimento Óhmico (OH) é uma das tecnologias baseado em campos elétricos que pode ser implementada como pré-tratamento na extração de composto encontrados nas microalgas.

Através da Avaliação de Ciclo de Vida (ACV), definida pelas normas ISO 14040:2006 e ISO 14044:2006, foi feito a avaliação do desempenho ambiental de tecnologias OH de extração de pigmentos provenientes de microalgas, apresentadas no trabalho experimental descrito na Dissertação de Vitor Emanuel da Silva Sousa. Com base a metodologia ReCipe 2016 e auxílio do software SimaPro (v 8.5.2) calcularam-se os indicadores de impacto de categoria.

Os processos de aquecimento óhmico (TOH1, TOH2 e TOH3) tem capacidade de redução do gasto energético e atingir melhores rendimentos em comparação ao aquecimento convencional (AC). O TOH 2 (POH com 133 V/cm durante 15s) constitui o processo com menores indicadores de impacto, sendo 7,7 vezes inferiores, em média, ao processo de AC, devido ao baixo consumo energético e a maior eficiência de extração. Verificou-se que o consumo de eletricidade é o aspeto dominante para os impactes ambientais dos diferentes tratamentos, sendo que para o processo TOH2, 83 % dos resultados dos indicadores deve-se à aplicação dos campos elétricos.

Com a consideração de fontes de energia renovável, através da produção de energia com painéis fotovoltaicos, a componente energética teve uma diminuição de 8 %, em média, na contribuição em impactes potenciais do sistema de TOH 2. Sendo demonstrado que é vantajoso o uso de energia solar para o processamento com aquecimento óhmico.

Palavras-Chave:

ACV; Aquecimento óhmico; Indicadores de categoria; Microalgas

ABSTRACT

The sustainability of resource exploration and processing systems are important issues of today, given the reality of environmental degradation of our planet. But the development of new processing systems requires technological innovation and studies to determine their ability to mitigate the impact that humans have on the environment.

Extraction methods based on electric fields are simple high energy efficient technologies that take advantage of the electrochemical properties of biological systems, such as microalgae, to promote the extraction of value-added compounds. Ohmic heating (OH) is one of the electric field-based technologies that can be implemented as a pre-treatment in the extraction of compounds found in microalgae.

Through Life Cycle Assessment (LCA), defined by ISO 14040:2006 and ISO 14044:2006, the evaluation of the environmental performance of OH technologies for extraction of pigments from microalgae, presented in the experimental work described in the Dissertation by Vitor Emanuel da Silva Sousa, was performed. Based on the ReCipe 2016 methodology and aided by the SimaPro software (v 8.5.2) the category impact indicators were calculated.

The ohmic heating processes (TOH1, TOH2 and TOH3) can reduce energy expenditure and achieve better yields compared to conventional heating (AC). The TOH 2 (POH with 133 V/cm for 15s) is the process with the lowest impact indicators, being 7.7 times lower, on average, than the AC process, due to low energy consumption and higher extraction efficiency. It was found that electricity consumption is the dominant aspect for the environmental impacts of the different treatments, and for TOH 2, 83 % of the indicator results are due to the application of electric fields.

With the consideration of renewable energy sources, through the production of energy with photovoltaic panels, the energy component had a decrease of 8 %, on average, in the contribution in potential impacts of the TOH 2 system. It has been shown that it is advantageous to use solar energy for processing with ohmic heating.

Key-words:

Category indicators; LCA; Ohmic heating; Microalgae

Índice

AGRADECIMENTOS.....	iii
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
NOTAÇÃO E GLOSSÁRIO.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE TABELAS.....	xv
1 Introdução.....	17
1.1 Motivação.....	19
1.2 Objetivos.....	20
1.3 Estrutura do documento.....	21
2 Estado de Arte.....	22
2.1 Biotecnologia das Microalgas.....	22
2.1.1 Biotecnologia na Alimentação Humana.....	23
2.1.2 Vantagens e Limitações na Biotecnologia Alimentar.....	25
2.1.3 Outras Aplicações.....	26
2.2 Tecnologias de processamento.....	28
2.2.1 Processamento de Biomassa.....	28
2.2.2 Processamento na obtenção de compostos bioativos.....	29
2.3 Processamento por aquecimento óhmico.....	35
2.3.1 Princípios tecnológicos e de funcionamento.....	35
2.3.2 Aplicações, Vantagens e Limitações.....	37
2.3.3 Extração na biotecnologia de microalgas.....	39
2.4 Avaliação de Ciclo de Vida (ACV).....	42
2.4.1 Estudos Relacionados.....	46

3	Materiais e Métodos	51
3.1	Definição do Objetivo e Âmbito.....	51
3.1.1	Definição do Sistema	52
3.1.2	Categorias de Impacto Ambiental.....	54
3.2	Inventário de Ciclo de Vida (ICV).....	55
3.2.1	Pré-tratamento	56
3.2.2	Extração	60
3.2.3	Centrifugação	61
3.3	Avaliação de Impacte de Ciclo de Vida (AICV)	62
3.3.1	Metodologia Aplicada.....	62
4	Resultados e Discussão	64
4.1	Resultados de Inventário por unidade funcional	64
4.1.1	Pré-tratamento.....	64
4.1.2	Extração	65
4.1.3	Centrifugação	66
4.2	Análise dos Impactos Ambientais	67
4.3	Proposta de Melhoria	78
5	Conclusões e Recomendações.....	87
6	Bibliografia	89
	Anexo A: Concentrações e condições de extração	94
	Anexo B: Análise do cenário energético renovável	95
	Anexo C: Comparação dos cenários.....	99
	Anexo D: Indicadores de impacte.....	102

NOTAÇÃO E GLOSSÁRIO

Lista de Abreviaturas

ρ	Massa volúmica do etanol	g/cm^3
ΔT	Intervalo de temperatura	$^{\circ}\text{C}$
C	Capacidade de carga mássica	$\text{t} \cdot \text{km}$
cp	Calor específico	$\text{J}/(\text{kg} \cdot \text{K})$
d	Distância média ao fabricante	km
DI	Dado de Inventário	(unidade variável)
E	Energia consumida	J
FC	Factor de Caracterização	(unidade variável)
FPMF	Potencial de Formação de Partículas Finas	$\text{kg PM}_{2,5 \text{ eq}}/\text{mg}$
FRS	Potencial de Escassez de recursos fósseis	$\text{kg óleo}_{\text{eq}}/\text{mg}$
FWE	Potencial de Eutrofização de água doce	$\text{kg P}_{\text{eq}}/\text{mg}$
FWET	Potencial de Ecotoxicidade de água doce	$\text{kg 1,4 - DCB}/\text{mg}$
GW	Potencial de Alterações Climáticas	$\text{kg CO}_2 \text{ eq}/\text{mg}$
HTc	Potencial de Toxicidade humana, carcinogénica	$\text{kg 1,4 - DCB}/\text{mg}$
HTnc	Potencial de Toxicidade humana, não carcinogénica	$\text{kg 1,4 - DCB}/\text{mg}$
I	Intensidade de corrente	A
IC	Indicador de categoria de impacte	(unidade variável)
IR	Potencial de Radiação Ionizada	$\text{kBq Co-60 eq}/\text{mg}$
LU	Potencial de Uso do solo	$\text{m}^2 \text{a crop}_{\text{eq}}/\text{mg}$
m	Massa	kg
ME	Potencial de Eutrofização Marinha	$\text{kg N}_{\text{eq}}/\text{mg}$
MET	Potencial de Ecotoxicidade Marinha	$\text{kg 1,4 - DCB}/\text{mg}$
MRS	Potencial de Escassez de recursos minerais	$\text{kg Cu}_{\text{eq}}/\text{mg}$
OFhh	Potencial de Formação de Ozono Fotoquímico, Saúde Humana	$\text{kg NO}_x \text{ eq}/\text{mg}$
OFte	Potencial de Formação de Ozono Fotoquímico, Ecossistemas Terrestres	$\text{kg NO}_x \text{ eq}/\text{mg}$
P	Potência	W
Q	Calor	J

SOD	Potencial de Depleção de Ozono Estratosférico	$\text{kg CFC}_{11 \text{ eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$
t	Tempo	s
TA	Potencial de Acidificação Terrestre	$\text{kg SO}_2 \text{ eq} \cdot \text{mg}^{-1}$
TET	Potencial de Ecotoxicidade Terrestre	$\text{kg 1,4 - DCB} \cdot \text{mg}^{-1}$
V	Voltagem	volt
V_{et}	Volume de etanol	mL
V_{H2O}	Volume de água desionizada	mL
V_t	Volume total	mL
WC	Potencial de Consumo de água	$\text{m}^3 \cdot \text{mg}^{-1}$

Índices e contadores

i	indicador relativo ao componente
j	indicador relativo ao tratamento
g	indicador relativo à categoria de impacte
Σ	Somatório

Siglas e Acrónimos

AC	Aquecimento Convencional	POH	Aquecimento Óhmico Pulsado
ACV	Avaliação do ciclo de vida	PUFA	Ácidos gordos polinsaturados
AICV	Avaliação do impacte do ciclo de vida	SF	Fluídos Supercríticos
BAP	Péptidos Bioativos	SFE	Extração por Fluídos Supercríticos
C1	Primeira centrifugação	SWE	Extração com água subcrítica
C2	Segunda centrifugação	TOH	Tratamento Óhmico
CO₂	Dióxido de Carbono	UAE	Extração assistida por Ultrassons
E	Extração	UF	Unidade Funcional
HVED	Descargas elétricas de alta tensão	UV	Radiação Ultravioleta
ICV	Inventário do ciclo de vida		
ISO	Organização Internacional de Normalização		
MAE	Extração assistida por micro-ondas		
MEF	Campos Elétricos Moderados		
OH	Aquecimento Óhmico		
PEF	Campos Elétricos Pulsados		

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Aplicações dos diferentes produtos produzidos pelas microalgas (adaptado de Machado et al., 2022).....	22
Figura 2 - Alguns produtos alimentares comercializados contendo <i>Arthrospira</i> (Spirulina) e/ou <i>Chlorella</i> : Spirulina em pó (A); wraps de pão contendo Spirulina (B); Suspensão de Spirulina para comidas e bebidas(C); Spirulina e smoothie de fruta (D); iogurte contendo <i>Chlorella</i> e <i>Spirulina</i> (E); <i>chips</i> de <i>Spirulina</i> (F) [2].....	24
Figura 3 - Representação esquemática dos princípios de funcionamento de um sistema de OH (adaptado da dissertação de Sousa, 2020).....	36
Figura 4 - Esquema iterativo das diferentes fases de uma ACV e aplicações diretas da ACV em várias áreas (reproduzido da Norma ISO 14040).....	42
Figura 5 - Fronteiras do sistema de produto e fluxograma do processo de extração de pigmentos de microalgas baseada em campos elétricos, caso de estudo à escala laboratorial.	53
Figura 6 - Esquema ilustrativo do tratamento óhmico demonstrando os diferentes equipamentos envolvidos no processo (adaptado de Pagels et al, 2021).	57
Figura 7 - Equipamentos laboratorial para o tratamento óhmico de microalgas através de a) gerador de sinal constante ou variável localizados na parte inferior e superior da imagem, respetivamente; b) amplificador de potência; c) sistema da câmara de OH com agitador; d) circulador de arrefecimento/aquecimento.	58
Figura 8 - Microcentrifugadora utilizada para separação das fases líquidas e sólidas das amostras de cada tratamento à esquerda e demonstração do efeito de centrifugação em amostras de microalgas à direita.....	61
Figura 9 – Resultados dos indicadores de categoria de impacte do estudo tendo em conta os processos com diferentes pré-tratamento (TOH1, TOH2, TOH3 e AC), apresentados em valores médios e com desvio-padrão experimental associado.	68
Figura 10 - Variações relativas dos resultados dos indicadores de categorias de impacte para os diferentes processos no seu global, normalizados em relação ao processo com melhor desempenho, TOH2.	69

Figura 11 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 1 (<i>mix</i> elétrico português, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacte.....	71
Figura 12 - Análise percentual de todas as categorias de impacte dado o contributo de cada etapa do processo TOH 1: pré-tratamento (TOH 1), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).....	72
Figura 13 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 2 (<i>mix</i> elétrico português, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacte.....	73
Figura 14 - Análise percentual de todas as categorias de impacte dado o contributo de cada etapa do processo TOH 2: pré-tratamento (TOH 2), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).....	73
Figura 15 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 3 (<i>mix</i> elétrico português, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacte.....	74
Figura 16 - Análise percentual de todas as categorias de impacte dado o contributo de cada etapa do processo TOH 3: pré-tratamento (TOH 3), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).....	75
Figura 17 - Contributo percentual de cada componente presente no processo AC (<i>mix</i> elétrico português, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacte.	75
Figura 18 - Análise percentual de todas as categorias de impacte dado o contributo de cada etapa do processo AC: pré-tratamento (AC), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).	76
Figura 19 – Resultados dos indicadores de categoria de impacto do estudo dos processos com diferentes pré-tratamento (TOH1, TOH2, TOH3 e AC) com fonte de energia proveniente de painéis solares fotovoltaicos, apresentados em valores médios com desvio-padrão associado.....	79
Figura 20 - Variações relativas dos resultados dos indicadores de categorias de impacte para os diferentes processos global, normalizados em relação ao processo com melhor desempenho, TOH2.	80
Figura 21 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 2 (eletricidade de painéis fotovoltaicos, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacte.....	82

Figura 22 - Análise percentual de todas as categorias de impacto dado o contributo de cada etapa do processo TOH 2: pré-tratamento (TOH 1), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).....	82
Figura 23 - Comparação absoluta dos resultados dos indicadores de impacto entre o cenário inicial (com eletricidade proveniente da rede de energia nacional) e o cenário renovável (com eletricidade proveniente de painéis fotovoltaicos).....	84
Figura 24 - Comparação relativa dos resultados dos indicadores de impacto para o processo TOH 2 para ambos os cenários, com normalização dos dados em relação ao cenário inicial.	84
Figura 25 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 1 (eletricidade de painéis fotovoltaicos, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacto.....	95
Figura 26 - Análise percentual de todas as categorias de impacto dado o contributo de cada etapa do processo TOH 1: pré-tratamento (TOH 1), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).....	96
Figura 27 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 3 (eletricidade de painéis fotovoltaicos, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacto.....	96
Figura 28 - Análise percentual de todas as categorias de impacto dado o contributo de cada etapa do processo TOH 3: pré-tratamento (TOH 3), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).....	97
Figura 29 - Contributo percentual de cada componente presente no processo AC (eletricidade de painéis fotovoltaicos, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacto.....	97
Figura 30 - Análise percentual de todas as categorias de impacto dado o contributo de cada etapa do processo AC: pré-tratamento (AC), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).	98
Figura 31 - Comparação absoluta dos resultados dos indicadores de impacto entre o cenário inicial (com eletricidade proveniente da rede de energia nacional) e o cenário renovável (com eletricidade proveniente de painéis fotovoltaicos) para o processo TOH1.	99
Figura 32 - Comparação relativa dos resultados dos indicadores de impacto para o processo TOH 1 para ambos os cenários, com normalização dos dados em relação ao cenário inicial.	99

Figura 33 - Comparação absoluta dos resultados dos indicadores de impacto entre o cenário inicial (com eletricidade proveniente da rede de energia nacional) e o cenário renovável (com eletricidade proveniente de painéis fotovoltaicos) para o processo TOH3. 100

Figura 34 - Comparação relativa dos resultados dos indicadores de impacto para o processo TOH 3 para ambos os cenários, com normalização dos dados em relação ao cenário inicial. 100

Figura 35 - Comparação absoluta dos resultados dos indicadores de impacto entre o cenário inicial (com eletricidade proveniente da rede de energia nacional) e o cenário renovável (com eletricidade proveniente de painéis fotovoltaicos) para o processo AC. 101

Figura 36 - Comparação relativa dos resultados dos indicadores de impacto para o processo AC para ambos os cenários, com normalização dos dados em relação ao cenário inicial. 101

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Principais métodos físicos e mecânicos para ruptura celular na extração de compostos bioativos de microalgas, e os seus princípios de ruptura celular, vantagens e desvantagens [2, 9]	30
Tabela 2- Diferentes técnicas químicas e bioquímicas de ruptura celular para extração de compostos bioativos das microalgas, e os seus princípios de ruptura celular, vantagens e desvantagens [2, 10] ...	32
Tabela 3 – Artigos de investigação referentes a aplicação de aquecimento ôhmico na extração de compostos bioativos de microalgas e principais resultados dos estudos.....	41
Tabela 4- Revisão bibliográfica de estudos de ACV em processos com extração de compostos bioativos de microalgas, incluindo o tipo de sistema de produto, a unidade funcional utilizada, a região onde se realizou o estudo, o software, base de dados e metodologia aplicadas e as conclusões mais pertinentes das ACVs.....	49
Tabela 5 - Fonte de dados primários para a realização do Inventário de Ciclo de Vida para cada fluxo material e energético de cada etapa do processo	55
Tabela 6 - Informações técnicas relevantes para o cálculo da energia gastas no pré-tratamento do agitador magnético e circulador de arrefecimento/aquecimento	58
Tabela 7 - Categorias de impacto <i>midpoint</i> da disponibilizadas pela metodologia ReCipe 2016 e abreviaturas utilizadas na presente avaliação, associado às respetivas unidades.....	62
Tabela 8 - Inventário dos fluxos de entrada e saída, em média, associado aos quatro processos de pré-tratamento estudados e desvio-padrão associado, com dados referenciados à unidade funcional (1 mg de pigmentos)	65
Tabela 9 - Inventário dos fluxos de entrada e saída, em média, associado a extração aplicada aos quatro processos de pré-tratamento estudados e desvio-padrão associado, com dados referenciados à unidade funcional (1 mg de pigmentos)	65
Tabela 10 - Inventário dos fluxos de entrada e saída, em média, associado a primeira centrifugação aplicada aos 4 processos de pré-tratamento estudados e com desvio-padrão associado, com dados referenciados à unidade funcional (1 mg de pigmentos).	66
Tabela 11 - Inventário dos fluxos de entrada e saída, em média, associado a primeira centrifugação aplicada aos 4 processos de pré-tratamento estudados e com desvio-padrão associado, com dados referenciados à unidade funcional (1 mg de pigmentos)	66

Tabela 12 - Concentração de pigmentos total dos três ensaios efetuados para cada tipo de tratamento escolhidos da dissertação de Vitor Sousa e média com desvio-padrão e dados normalizados em função do processo de AC	70
Tabela 13 - Resultados dos indicadores de categoria do processo TOH 2 para ambos os cenários em valores absolutos e normalização dos resultados relativamente ao cenário inicial.....	85
Tabela 14 - Concentrações de extração de Clorofila A, Clorofila B e Carotenoides por 100 g de biomassa para cada ensaio para os diferentes tipo de tratamento e a média com desvio-padrão associado	94
Tabela 15 - Condições de operação para cada tratamento retirados do estudo de SOUSA (2020)	94
Tabela 16 - Resultados dos indicadores de categoria de impacte para o processo global TOH1 no cenário inicial (com consumo de eletricidade do <i>mix</i> português) em triplicado e desvio-padrão associado	102
Tabela 17 - Resultados dos indicadores de categoria de impacte para o processo global TOH1 no cenário renovável (com consumo de eletricidade de painéis fotovoltaicos) em triplicado e desvio-padrão associado	102
Tabela 18 - Resultados dos indicadores de categoria de impacte para o processo global TOH2 no cenário inicial (com consumo de eletricidade do <i>mix</i> português) em triplicado e desvio-padrão associado	103
Tabela 19 - Resultados dos indicadores de categoria de impacte para o processo global TOH2 no cenário renovável (com consumo de eletricidade de painéis fotovoltaicos) em triplicado e desvio-padrão associado	103
Tabela 20 - Resultados dos indicadores de categoria de impacte para o processo global TOH3 no cenário inicial (com consumo de eletricidade do <i>mix</i> português) em triplicado e desvio-padrão associado	104
Tabela 21 - Resultados dos indicadores de categoria de impacte para o processo global TOH3 no cenário renovável (com consumo de eletricidade de painéis fotovoltaicos) em triplicado e desvio-padrão associado	104
Tabela 22 - Resultados dos indicadores de categoria de impacte para o processo global AC no cenário inicial (com consumo de eletricidade do <i>mix</i> português) em triplicado e desvio-padrão associado	105
Tabela 23 - Resultados dos indicadores de categoria de impacte para o processo global AC no cenário renovável (com consumo de eletricidade de painéis fotovoltaicos) em triplicado e desvio-padrão associado	105

1 Introdução

As microalgas são um grupo de organismos microscópicos extremamente diversificado, representando uma das mais antigas formas de vida na Terra. O potencial destes organismos é demonstrado ao longo da história da humanidade, sendo utilizados como uma forma de suplemento da alimentação de populações ancestrais, através, por exemplo, do cultivo das cianobactérias *Arthrospira (Spirulina)* e *Nostoc*, [1]. As microalgas são organismos eucariontes, podendo ser unicelulares ou multicelulares simples, autotróficos e/ou heterotróficos. As cianobactérias, organismos que ao contrário das microalgas são procariontes, mas devido as suas semelhanças macroscópicas e história em comum também se englobam neste grupo [2]. Sendo um dos componentes predominantes do plâncton de ambientes marinhos e de água doce, as microalgas são responsáveis por 40-50% da produção primária de fotossíntese globalmente [3, 4].

Muitas espécies de microalgas têm uma quantidade significativa de proteínas e lípidos com potenciais aplicações. O seu impressionante potencial biotecnológico para produzir diversos compostos (carotenoides, clorofilas, ficobilinas, ácidos gordos, vitaminas, esteróis, etc.) tem sido amplamente abordado na literatura. Os pigmentos são compostos que para além de ter a capacidade de serem usados como corantes naturais, têm um bom suporte na literatura sobre a sua atividade antioxidante e anti-inflamatória [2, 5, 6]. Além disso, as microalgas têm vindo a captar a atenção da comunidade científica e dos mercados, devido ao seu potencial económico e de sustentabilidade. A possibilidade de usar a energia solar como fonte de energia pode ser vantajoso ao nível económico e ecológico e permite evitar o debate “*food vs fuel*”, um ponto importante na consideração de tecnologias para produção de biocombustíveis. A utilização de dióxido de carbono retirado da atmosfera como fonte de carbono, proporciona a mitigação de dióxido de carbono proveniente de fontes industriais e atmosféricas. Demais, estas podem ser cultivadas em terra não arável e continuamente, ao contrário de outros cultivos, também possuem tolerância para um grande intervalo de pH, salinidade e temperatura. Podem ser usada no tratamento de efluentes removendo nutrientes de fosforo e azoto integrada com a produção de certos produtos em *bulk* como biomassa para alimentação animal [1].

Ao longo das últimas décadas, tem havido um grande investimento e evolução do entendimento do potencial destes organismos e das tecnologias que possibilitam o aproveitamento dos seus compostos. A grande biodiversidade de microalgas, o surgimento de novas tecnologias de produção e

processamento e o recente desenvolvimento da engenharia genética nesta área, leva a que estes organismos representem uma das mais promissoras fontes de novos produtos e aplicações [6]. Inicialmente, os estudos científicos sobre as aplicações das microalgas no mercado tinham como foco principal a produção de biocombustíveis, posteriormente começou-se a dar relevância ao potencial dos suplementos para ração animal e alimentação humana e outras aplicações como os cosméticos, e mais recentemente tem crescido o interesse na valorização de compostos de valor acrescentado aplicados à farmacêutica e nutracêutica [7]. Contudo, para a maioria destas aplicações, ainda é necessário algum desenvolvimento, principalmente no contexto da biotecnologia e em outras áreas em expansão.

Olhando para o futuro, os estudos mais relevantes na área de produção e consumo sustentável, utilizando ACV, indicam que o consumo de bens essenciais conduz a um elevado impacte ambiental. Na zona económica da União Europeia, a alimentação, a mobilidade e transportes e a habitação são as áreas que apresentam maior impacte ambiental [8]. Portanto, assim como os combustíveis verdes, a mudança dos sistemas alimentares e a procura de fontes alternativas de alimentação, por exemplo, fontes alternativas de proteína, estabelece um rumo para um horizonte mais verde como é descrito nos Objetivos de Desempenho Sustentáveis da União Europeia para 2030 [9]. Conjuntamente, a transição para uma Economia Verde e Circular procura renovar o sector industrial para uma produção sustentáveis com base em produtos biológicos, e.g. nutracêuticos, minimizando a nossa dependência dos combustíveis fósseis.

Com estes propósitos em mente, torna-se importante perceber quais as técnicas e tecnologias de processamento aplicadas as microalgas que melhor contribuir para a resiliência e sustentabilidade deste tipo de indústria. Os processos de extração são uma parte importante no processamento das microalgas, influenciando bastante os rendimentos de produção, os quais devem ser maximizados de maneira a tornar os produtos competitivos no mercado. Daí que, existem diversos processos de extração que se podem considerar, dependendo das condições de operação, produto desejado, custos, considerações ambientais, entre outros. Em geral, extração é conseguida através do uso de solventes, mas normalmente associada a um pré-tratamento, isto porque, as microalgas estão envolvidas por uma parede celular rígida sendo necessário ou até essencial a rutura da parede celular para a eficiência da extração de moléculas intracelulares, como pigmentos e lípidos [1, 10].

É neste panorama que as tecnologias de campos elétricos entram no contexto biotecnológico das microalgas, ou seja, como possíveis métodos de rutura celular mais eficientes e sustentáveis. De entre as várias tecnologias, a extração baseada em campos elétricos é vista como sendo uma das mais promissoras, visto permitir o processamento da biomassa minimizando a degradação dos compostos de

interesse. A aplicação de campos elétricos nas microalgas em solução gera um potencial transmembranar que induz a criação de poros na membrana celular (eletroporação), permitindo a extração de material intracelular. Entre a variedade de tecnologias baseados em campos elétricos, o aquecimento óhmico (OH) é uma tecnologia que tem sido desenvolvida durante as últimas duas décadas principalmente nas aplicações para a indústria alimentar. A sua capacidade de aquecimento rápido e uniforme juntamente com baixos custo de manutenção e elevadas eficiências de conversão de energia, constituem vantagens económicas e ambientais desta tecnologia [11]. Recentemente, tem ganho algum destaque na biotecnologia devido a sua capacidade de combinar as perturbações térmicas e elétricas provocados pelos campos elétricos moderados (MEF) promovendo a extração de compostos de valor acrescento, em organismos como as microalgas.

A aplicação de sistemas de aquecimento óhmico em processos biotecnológicos aplicados a microalgas ainda padece de pouca literatura que aborde os vários cenários de aplicação e adversidades associados à tecnologia, assim como, as suas vantagens e potencialidades. Desta maneira, uma avaliação da performance ambiental é necessária para garantir a sustentabilidade destas tecnologias inovadoras, capazes de dar respostas à alguns problemas essenciais para garantir o bem da humanidade e dos ecossistemas.

No presente trabalho pretende-se, desta maneira, efetuar uma avaliação do ciclo de vida (ACV) descrita por normas internacionais (ISO 14040:2006 e ISO 14044:2006) que estabelecem os critérios, procedimentos e princípios para perceber os impactes ambientais associados ao sistema de processamento/extração de microalgas com tecnologias baseadas em campos elétricos, nomeadamente de sistemas de aquecimento óhmico, procurando quantificar e mitigar os impactos ambientais.

1.1 Motivação

A temática da presente dissertação foi promovida pelo Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho com o intuito de explorar novas tecnologia face a problemas ambientais que o Homem enfrenta atualmente, como as alterações climáticas, poluição das águas e dos solos, entre muitos. A necessidade de se mover para uma economia mais circular e sustentável implica uma utilização cada vez maior de matérias-primas renováveis para produzir os produtos necessários às atividades humanas. As microalgas são vistas como uma excelente opção devido à sua elevada produtividade, baixas exigências de cultivo especialmente de nutrientes, e capacidade de se obterem

diferentes produtos numa perspetiva de biorrefinaria. A mudança dos sistemas de produção da sociedade dos dias de hoje é uma questão urgente e onde há a necessidade de maior inovação, empreendimento e aplicação.

O interesse próprio pela busca da melhoria da qualidade de vida e do ambiente e a procura do conhecimento e a investigação de tecnologias de vanguarda orientou-me no aproveitamento desta oportunidade como parte dos estudos finais do meu curso superior. A nível pessoal, tenho esperanças de que o trabalho desenvolvido possa ajudar, o pouco que seja, a cumprir a visão que a humanidade tem para o futuro e que retire daqui algumas valências e *know-how* que possam ser úteis no meu futuro profissional.

1.2 Objetivos

A presente dissertação tem como objetivo principal avaliar o desempenho ambiental de um processo de extração de compostos de biomassa de microalgas, com base em campos elétricos, e compará-lo com outros processos de extração para o mesmo objetivo. Deste modo, pretende-se aprofundar o conhecimento sobre as tecnologias e a sustentabilidade destes processos considerados promissores para áreas particulares do sector industrial. Em concreto, procura-se estudar o potencial do aquecimento óhmico para aplicação em processamento de produtos naturais retirados de microalgas, aproveitando a capacidade biotecnológica e ecológica destes organismos.

Com esta intenção, procura-se realizar uma avaliação de ciclo de vida (ACV) permitindo uma análise consistente e uniforme com normas bem estabelecidas, de forma a ser útil para futuros trabalhos nesta área. Assim, as principais metas a atingir são:

- O conhecimento da metodologia de ACV em respeito as normas internacionais ISO 14040 e ISO 14044;
- A análise comparativa da performance ambiental de diferentes sistemas de aquecimento óhmico;
- A identificação de áreas de atuação para melhoria dos potenciais impactes ambientais nestas tecnologias;

1.3 Estrutura do documento

A presente dissertação está repartida em cinco capítulos principais, nomeadamente:

1. Introdução – No capítulo inicial é apresentada uma perspetiva geral do que o presente documento pretende abordar, dando um enquadramento económico, histórico e institucional em relação a exploração de microalgas como recurso biológico e aos sistemas de processamento sustentáveis.
2. Estado de Arte – O segundo capítulo pretende dotar os leitores sobre matérias com relevância nos restantes capítulos e o estado atual de conhecimento dos tópicos sobre a biotecnologia das microalgas, as tecnologias de processamento, a extração por aquecimento óhmico e análise de ciclo de vida.
3. Materiais e Métodos – O terceiro capítulo expõem informações necessárias para a realização do estudo de ciclo de vida de processos de extração utilizando sistemas de OH. Neste caso, o capítulo abrange os primeiros dois tópicos relevantes para a realização da ACV, isto é, a definição do objetivo e âmbito e o inventário de ciclo de vida, servindo de base para os próximos passos na avaliação de ciclo de vida.
4. Resultados e Discussão – O quarto capítulo apresenta os resultados obtidos pela análise dos dados, incorporando a fase de avaliação de impactes de ciclo de vida (ACV) e a interpretação dos resultados. São estabelecidas algumas conclusões sobre a sustentabilidade dos processos analisados e daí uma proposta de resolução sobre alguns pontos-chave, terminando o estudo de ciclo de vida.
5. Conclusões e Recomendações – No capítulo final, são apresentadas as conclusões mais relevante do projeto e algumas limitações e recomendações aplicadas ao longo do desenvolvimento do mesmo.

2 Estado de Arte

2.1 Biotecnologia das Microalgas

Nas últimas décadas, as microalgas têm vindo a ganhar bastante importância no contexto biotecnológico. Este grupo de organismos representa uma das mais promissoras fontes de novos produtos e aplicações, desde a simples produção de biomassa até a extração de compostos bioativos mais valiosos. A grande biodiversidade de espécies e os vários constituintes das microalgas são a base para o interesse comercial em distintas áreas industriais, como a farmacêutica, cosmética, nutrição humana ou animal e biorrefinaria [5].

Na sua generalidade a biomassa das microalgas contém três componentes principais: hidratos de carbono, proteínas e lípidos, podendo se obter várias moléculas bioativas, incluindo pigmentos, antioxidantes, polissacarídeos, ácidos gordos, vitaminas e minerais [6]. Consoante o tipo de microalga utilizada e as condições de crescimento, é possível a obtenção dos diferentes compostos para fins comerciais, como é evidenciado na literatura. Na Figura 1, relaciona-se, numa perspetiva geral, os diferentes compostos com as aplicações no mercado.

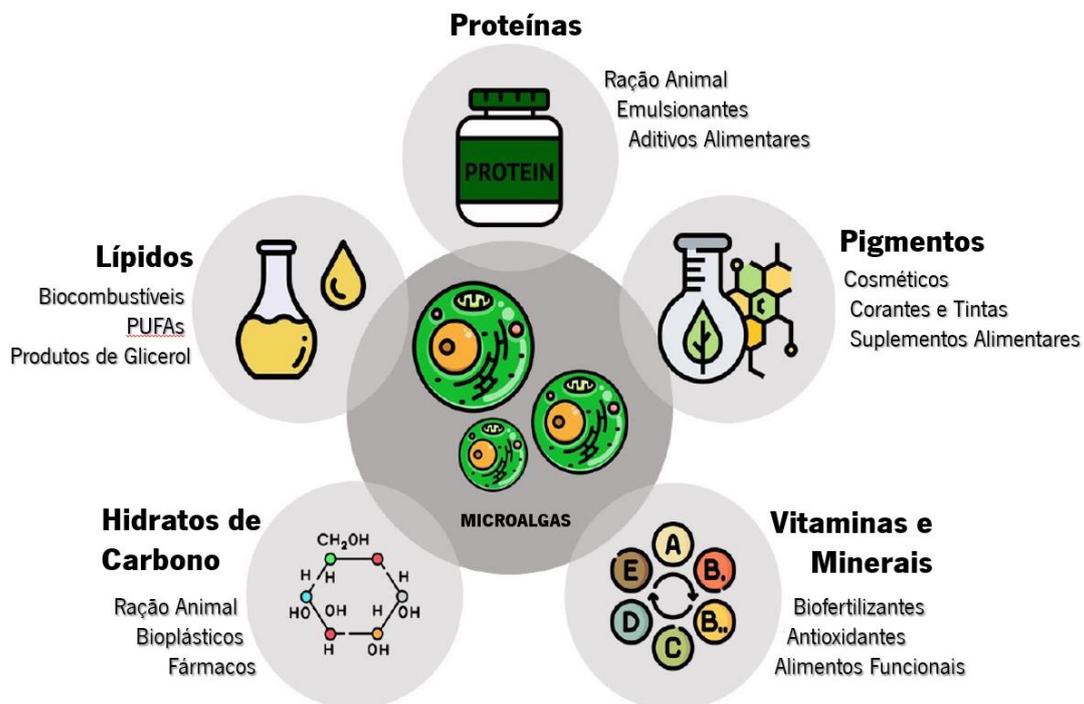


Figura 1 – Aplicações dos diferentes produtos produzidos pelas microalgas (adaptado de Machado et al., 2022).

2.1.1 Biotecnologia na Alimentação Humana

Uma das aplicações mais relevante e com grande potencial de crescimento na comercialização de novos produtos derivados de microalgas é na alimentação humana.

De acordo com a *Food and Agriculture Organization* (FAO) é esperado que a produção global de carne duplique até 2050, contudo o aumento de procura de carne não será sustentável dada a pegada ecológica associada ao seu processo de produção [1]. Assim, a procura de novas fontes de proteína torna-se inevitável. Aqui, as microalgas surgem como bons candidatos para uma fonte de proteína alternativa, dado o elevado teor de proteína de várias espécies de microalgas. Adicionalmente, o padrão de aminoácidos de maior parte das algas é bastante similar com de outras fontes de proteína, sendo capazes de fornecer os aminoácidos essenciais tanto para humanos com para animais [7].

Para além das proteínas, as microalgas podem oferecer outro tipo de macronutrientes com propriedades de interesse para uma alimentação saudável, como os ácidos gordos polinsaturados de cadeias longas (PUFAs). Estes compostos não podem ser sintetizados por plantas superiores e animais, só por microalgas, que surgem como a fonte primária para toda a cadeia alimentar. Para a maioria de nós, a obtenção de PUFAs é feita através do consumo de peixes e dos seus óleos derivados, sendo bastante essenciais na dieta diária, principalmente na alimentação infantil, dado a importância no desenvolvimento das crianças. Contudo, o *stock* global de peixe continua a diminuir devido a pesca intensiva e métodos de pesca insustentáveis. Assim, a produção de PUFAs através das microalgas pode ser vista com uma alternativa aos métodos tradicionais [1, 5].

Neste momento, as microalgas normalmente não são usadas com frequência na alimentação quotidiana, sendo sobretudo comercializadas como suplementos alimentares. Estes suplementos encontram-se no mercado maioritariamente em pós, tablets, pastilhas e cápsulas [2]. Biomassa rica em proteína, das espécies *Spirulina (Arthrospira)* e *Chlorella*, é o produto mais popular para o consumo humano, sem qualquer tipo de processamento exceto a secagem da biomassa. Na Figura 2, são apresentados alguns produtos alimentares acessíveis no mercado.



Figura 2 - Alguns produtos alimentares comercializados contendo *Arthrospira* (*Spirulina*) e/ou *Chlorella*: Spirulina em pó (A); wraps de pão contendo Spirulina (B); Suspensão de Spirulina para comidas e bebidas (C); Spirulina e smoothie de fruta (D); iogurte contendo *Chlorella* e *Spirulina* (E); chips de *Spirulina* (F) [2].

Os benefícios para a saúde e bem-estar dos produtos que incorporam constituintes ou a totalidade da biomassa de microalgas é evidente. A explicação aponta para as características de modulação imunológica, efeitos pré-bióticos nas culturas intestinais e fortificação mineral do organismo [5]. Consequentemente, a incorporação de biomassa de microalgas em produtos alimentares convencionais, adquirindo o termo de alimentos funcionais, é atualmente uma tendência em crescimento, onde as propriedades saudáveis da biomassa processada são incorporadas em alimentos mais atrativos para o consumidor, como por exemplo, bolachas, massas, bebidas, etc.

Para além da utilização da biomassa no seu todo, alguns produtos contendo compostos específicos derivados de microalgas já se encontram disponíveis nos dias de hoje. A maioria em fórmulas para recém-nascidos contendo DHA (ácido docosahexaenóico) um tipo de PUFA, ou em oleorresinas ricas em astaxantina, um carotenoide disponível como nutracêutico, aditivo alimentar ou pigmento [1].

2.1.2 Vantagens e Limitações na Biotecnologia Alimentar

A biomassa de microalgas emerge como uma fonte promissora de proteína não animal, sendo uma alternativa que se destaca dado as várias vantagens em comparação com a biomassa terrestre, como maiores taxas de crescimento, baixo consumo de água (ou mesmo crescimento em água salgada), sem competição por terrenos aráveis, emissões neutras em carbono, possível efeito de biorremediação (tratamento de efluentes) e a possibilidade de produção de um leque de compostos bioativos. Para além disso, a biomassa de microalgas e a sua fração de péptidos bioativos (BAPs) têm várias evidências que suportam os seus benefícios na saúde, que inclui, efeitos antioxidante, anti-hipertensivo, imunológicos, anticancerígenos, entre outros[1].

As microalgas são um grupo muito antigo de microrganismos e, portanto, possuem uma grande variedade de espécies. Existem espécies já bem catalogadas e de acordo com as normas de segurança alimentar, e com elevada composição de proteínas, como a *Arthrospira* e *Chlorella*. Contudo, as microalgas estão ainda muito longe de atingir o seu potencial máximo. É de esperar que a exploração da diversidade biológica das microalgas seja dificultada pelas regulações de qualidade alimentar aplicadas ao consumo humano, principalmente na Europa, onde algumas das espécies mais usadas ainda não estão aprovadas pela Autoridade Europeia para Segurança Alimentar (EFSA)[1, 2].

De forma geral, vários autores reportam que elevada concentração de microalgas (dependendo da espécie de microalgas e produto final) resulta em efeito negativos na cor e sabor do produto final, sendo que diminui a aceitação por parte do consumidor. Extratos de proteína permitiriam melhorar a recetividade dos produtos no mercado, pelo menos, do ponto de vista sensorial. Efetivamente, a limitação mais predominante no acesso aos vários macronutrientes nas microalgas é a presença da parede celular. A disponibilização das microalgas no mercado como um todo para serem consumidas diretamente é mais uma razão que impede a acessibilidade e digestibilidade das proteínas, sendo de igual forma importante entender como todos os outros nutrientes podem ser usados eficientemente [2, 9]. Para ultrapassar estes problemas, o efeito de diferentes métodos de processamento de proteínas na produção, digestibilidade, bioatividade, cor e sabor do resultante extrato de proteínas precisa de ser avaliada, em perspetiva da aplicação final. Complementarmente, a aplicação de estratégias holísticas suportando a economia circular, possibilitam um sustentável e eficiente uso das matérias-primas disponibilizadas pelas microalgas enquanto se concentra nos objetivos de impacto ambiental mínimo e zero desperdício [1].

2.1.3 Outras Aplicações

As microalgas, como um todo, são organismos capazes de produzir uma variedade de moléculas, devido a sua capacidade adaptativa as condições do meio. Elas surgem como uma grande oportunidade na criação de produtos inovadores e naturais e como forma de reinventar o panorama de várias indústrias atuais. A exploração de compostos bioativos de elevado proveito económico torna-se, assim, interessante para aplicações na farmacêutica/nutracêutica, cosmética e alimentação animal.

A qualidade da ração animal é um dos fatores externos mais importantes para a saúde do animal. A adição de pequenas quantidades de biomassa de microalgas na alimentação de animais domésticos pode afetar positivamente a fisiologia dos animais. Em particular, foram detetadas resposta imunitária não específica e um aumento da imunidade no animal. Os benefícios económicos proporcionados pela melhoria da saúde animal em conjunto com a tendência atual de evitar o uso de químicos, como antibióticos, levaram a um crescimento significativo do uso de biomassa como aditivo à ração [5].

De igual forma, os mesmos princípios aplicam-se na aquicultura. As microalgas contêm nutrientes essenciais que determinam a qualidade, sobrevivência, crescimento e resistência a doenças das espécies cultivadas. Usualmente, utiliza-se a biomassa de microalgas no crescimento de peixe miúdo e larvas como forma indireta de alimentação das espécies aquáticas. Porém, o custo de produção das microalgas torna-se dispendioso, devido ao manuseamento de equipamentos tecnicamente inadequados. A mistura de diferentes culturas de microalgas é aconselhada, de maneira a ter um bom perfil de proteínas, vitaminas e elevado conteúdo de PUFAs. Em certos casos, também é necessária atenção a alguns pigmentos importantes, como por exemplo na criação de salmão. Inúmeras análises mostram que alguns tipos de microalgas aparentam ser uma fonte viável de carotenoides para a alimentação dos peixes. De facto, as microalgas podem ser introduzidas na alimentação das culturas, substituindo ou reduzindo bastante o uso de farinha e óleos de peixe na aquicultura, dado que a sua produção advém em grande parte da captura de peixes no seu habitat natural [1, 5, 6].

De forma geral, a maioria das aplicações na alimentação animal terrestre e aquáticos ainda revolvem em torno da utilização da biomassa na sua íntegra, contudo maior atenção se tem dado aos compostos bioativos das microalgas incorporados na biomassa, como os PUFAs e certos pigmentos.

A nutracêutica e a cosmética são duas áreas que beneficiam do aproveitamento destes compostos bioativos. As microalgas são reconhecidas como excelentes fontes de nutracêuticos e corantes naturais, devido ao seu potencial antioxidante dos seus pigmentos. As características antioxidantes das microalgas, desenvolvidas para proteção contra espécies reativas de oxigénio e radicais livres, despertam o interesse na exploração destes compostos para fins nutricionais e cosméticos [7].

Assim, é esperado que estes ultrapassem os compostos sintéticos assim como outras fontes naturais devido a sua sustentabilidade de produção e natureza renovável. Porém, a caracterização avançada das moléculas bioativas que advêm das microalgas ainda é um pouco negligenciada [1].

Vários componentes das microalgas são frequentemente usados em cosméticos como agente espessante, protetor solar, produto capilar, produto antienvhecimento, agente impermeável e antioxidante. O uso de algumas espécies de microalgas já se encontra estabelecido no mercado dos produtos para a pele, sendo as principais *Arthrospira* e *Chlorella*. Certas microalgas também produzem metabolitos orgânicos para proteção de radiação ultravioleta (UV), isto porque estes microrganismos são encontrados principalmente em ambientes aquáticos onde a exposição aos raios UV é elevada. Os compostos responsáveis por esta função são frequentemente usados em cosméticos devido a sua capacidade natural de absorver radiações nocivas. Outros compostos, como o carotenoide astaxantina também tem potencial de aplicação em cosméticos. Astaxantina é um antioxidante forte com possíveis usos na saúde humana, como por exemplo, na proteção contra a luz UV, reforço do sistema imunitário, precursor hormonal, fonte de provitamina A e agente anti-inflamatório. É igualmente um corante intenso usado na coloração dos músculos em peixes. A microalga *H. pluvialis* é uma fonte natural rica em astaxantina e pode produzir 1 a 8 % de astaxantina em peso seco. Muitos dos componentes usados na indústria cosmética podem ser utilizados noutras industrias devido ao seu potencial por explorar em outras aplicações[8].

O mercado global de nutracêuticos tem vindo a aumentar por causa das necessidades da população e tendências atuais em direção ao uso de substâncias naturais com fins medicinais. Nutracêuticos são alimentos ou parte de alimentos que têm um papel importante no normal funcionamento fisiológico do organismo, de maneira a manter este saudável. As microalgas são uma importante fonte de muitos compostos que podem ser classificados como nutracêuticos. Compostos como, os PUFA's e seus derivados, alguns lípidos obtidos por microalgas, clionasterol, luteína ou C-ficocianina são alguns exemplos [8]. O cultivo de *Dunaliella salina* é comum na obtenção de betacarotenos que servem como um nutriente essencial, usado rotineiramente em refrigerantes, queijos, manteigas ou margarinas, apresentando efeitos positivos na saúde dado a atividade de provitamina A, que é típica destes carotenoides [7].

2.2 Tecnologias de processamento

O processamento inclui todos os processos que são necessários aplicar à matéria-prima, isto é, as microalgas, desde a sua colheita até a obtenção do produto desejado. A implementação de tecnologias de processamento varia em função do tipo de produto que se pretende obter, da espécie ou espécies de microalgas envolvidas no processo e de outros requisitos. O sucesso do método de cultivo utilizado permitirá a produção de quantidades elevadas do composto ou compostos que se pretendam valorizar, podendo ser só biomassa simples ou compostos de valor acrescentado. Depois do estágio de maturação, o processo de colheita é efetuado onde a biomassa é separada do meio de cultura. Os processos de separação da fase líquida podem incluir tecnologias como floculação, centrifugação, filtração, sedimentação gravítica, flutuação e métodos de eletroforese [10].

2.2.1 Processamento de Biomassa

Quando se pretender a biomassa como produto final, um processo de pasteurização é aplicado para reduzir o número de quaisquer microrganismos patogénicos existentes. Após este tratamento, a biomassa é processada adquirindo a sua forma final, húmida ou seca. A obtenção de biomassa húmida passa pela concentração de biomassa, por exemplo, através de uma etapa de centrifugação, sendo o produto final uma pasta fresca. No caso de se pretender biomassa seca, é necessário um processo de secagem, por exemplo, *Spray Dryer*, onde as microalgas são processada num pó fino [11].

O método de secagem pode passar por aumentar a temperatura de pasta fresca de microalgas, aquecendo-a pelo meio de fontes como o sol ou correntes convectivas, sendo estes os métodos de secagem convencionais usados em produção de larga escala de biomassa. Outros processos podem ser utilizados para solucionar alguns obstáculos apresentados pelos métodos convencionais e melhorar a extração de compostos de valor acrescentado da biomassa, caso seja pretendido. Estes métodos englobam secagem por pulverização (*Spray Dryer*), liofilização (secagem à frio), por meio de rolo/tambor, secagem em leito fluidizado e secagem mediada por luz infravermelha [2].

Recentes avanços em nanotecnologia possibilitaram a aplicação de partículas e materiais nanométricos (nanopartículas magnéticas e de sílica, nano-argilas, entre outros), na maioria dos processos industriais de microalgas, no sentido de favorecer os processos de desidratação e secagem. A área de superfície elevada das nanopartículas permite uma maior adesão às microalgas em comparação com as moléculas de água, aumentando a capacidade de agregação e facilitando os

processos de desidratação, como no caso da centrifugação. Estas podem ser utilizadas também como floculantes, devido as suas funcionalidades de superfície e atrações eletrostáticas, auxiliando processos de floculação, flutuação e sedimentação. Contudo, apesar das nanopartículas conseguirem melhorar os processos de desidratação de microalgas, a sua toxicidade e o custo de produção continuam a representar um desafio para aplicações comerciais. Por outro lado, em processos de filtração o uso de membranas filtrantes com poros nanométricos são amplamente implementados para remoção de água [2].

Em processo de secagem, a formulação de células de microalgas através do uso de nanopartículas que possuam extrema resistência térmica, trará benefícios para proteger as células e compostos de valor acrescentado de calor excessivo durante a secagem. Consequentemente, a produção de biomassa em pó fino pode constituir como matéria-prima para o desenvolvimento de produtos de elevado interesse [2].

2.2.2 Processamento na obtenção de compostos bioativos

Maioria dos compostos ou frações de interesse encontra-se dentro das células, por isso é necessário estratégias de extração apropriadas para que o processo seja financeiramente viável e ambientalmente sustentável, contribuindo assim para a valorização destes compostos [6]. Apesar de haver investigação considerável em vários métodos de extração, ainda é necessário o desenvolvimento de métodos de produção economicamente viáveis.

As microalgas podem providenciar diferentes compostos, como por exemplo, hidratos de carbono, proteínas e aminoácidos, lípidos, PUFA's (ómega-3 ou -6), pigmentos (carotenoides, clorofilas) e vitaminas. Estes compostos de maior interesse constituem um produto de valor acrescentado no mercado, recentemente com bastante potencial no domínio da nutracêutica (nomeadamente, na aplicação de certos pigmentos), mas aplicações na alimentação humana e animal, cosmética e de biocombustíveis já possuem um bom corpo de pesquisa. Inicialmente, é importante compreender a composição bioquímica das microalgas a utilizar antes de pode ser desenvolvida uma estratégia de extração biomolecular. Posteriormente, a biomassa obtida será processada geralmente em três etapas importantes: Pré-tratamento com perturbação/rutura celular; Extração do composto; Purificação.

2.2.2.1 Pré-tratamento

Na literatura são apresentadas distintas tecnologias associadas a cada uma das etapas. O pré-tratamento é usado para provocar a ruptura da parede celular de forma a aumentar a eficiência de extração de constituintes internos num certo meio solvente. Para além da composição da parede celular, outros critérios básicos devem ser considerados, como a localização do composto desejado nos tecidos da microalga e a sua estabilidade, que diferem consoante a classe do microrganismo [10]. Os recentes métodos de pré-tratamento podem ser categorizados em termos gerais como mecânicos/físicos e não-mecânicos, ou seja, químicos e bioquímicos [2, 7]. De forma geral, os processos físicos são menos seletivos e com maior consumo de energia em comparação com processos químicos e requerem o controlo da temperatura, em contrapartida são mais facilmente aplicados em grande escala, sendo menos tóxicos e com melhores eficiências de ruptura celular [2]. Na Tabela 1 são apresentados alguns métodos mecânicos/físicos, alguns já utilizados industrialmente, como a moagem/agitação com esferas e a homogeneização à alta pressão, por outro lado, técnicas como a aplicação de ultrassons, micro-ondas ou campos elétricos, especificamente, campos elétricos pulsados (PEFs) constituem tecnologias promissoras para tratamentos em grande escala [1, 9].

Tabela 1 - Principais métodos físicos e mecânicos para ruptura celular na extração de compostos bioativos de microalgas, e os seus princípios de ruptura celular, vantagens e desvantagens [2, 9]

Tecnologia	Princípio	Vantagens	Desvantagens
<i>Bead Milling</i> (Moagem e agitação com esferas)	Deformação mecânica por compactação e cisalhamento	<ul style="list-style-type: none"> • Elevada eficiência; • Bom controlo de temperatura; • Equipamento disponível à escala industrial; • Elevada carga de biomassa; 	<ul style="list-style-type: none"> • Elevado consumo de energia; • Procedimento não seletivo; • Formação de detritos celulares muito finos;
<i>Tratamentos Hidrotérmicos</i> (Autoclave/ Explosão de Vapor)	Deformação por calor húmido sob pressão	<ul style="list-style-type: none"> • Simples; • Baixo custo de manutenção; • Técnica de Explosão de Vapor indicado para aplicação comercial; 	<ul style="list-style-type: none"> • Elevado consumo de energia; • Formação de grandes quantidades de detritos celulares; • Não indicado para a compostos sensíveis à temperatura;
<i>Homogeneização à alta pressão</i>	Cavitação e cisalhamento	<ul style="list-style-type: none"> • Bom em processamento de volumes grandes; • Fácil dimensionamento; • Não requer biomassa seca; • Pode ser combinado com tratamento ácidos, alcalinos ou enzimáticos; 	<ul style="list-style-type: none"> • Não seletivo; • Pouco eficaz na ruptura de paredes celulares resistentes; • Reduz a digestibilidade de proteínas; • Não indicado para isolar compostos frágeis; • Elevado consumo energético;

Tabela 1 - Principais métodos físicos e mecânicos para rutura celular na extração de compostos bioativos de microalgas, e os seus princípios de rutura celular, vantagens e desvantagens (continuação) [2, 9]

Tecnologia	Princípio	Vantagens	Desvantagens
<i>Ultrasound</i>	Cavitação e formação de radicais livres	<ul style="list-style-type: none"> • Elevada eficiência; • Custo operacional baixo; • Fácil dimensionamento; • Equipamento disponível à escala industrial; • Curto tempo tratamento; • Menor consumo relativo de solvente; 	<ul style="list-style-type: none"> • Baixa eficiência de rutura celular para algumas espécies de microalgas; • Produção de calor; • Elevado consumo de energia (combinação com diferentes solventes permite maior eficiência e menor gasto energético);
<i>Micro-ondas</i>	Aumento de temperatura e energia molecular	<ul style="list-style-type: none"> • Simples; • Possível de combinar com extração seletiva; • Fácil dimensionamento; 	<ul style="list-style-type: none"> • Não indicado para isolamento de composto voláteis; • Limitado à solventes polares;
<i>PEF</i> (<i>Campos elétricos pulsados</i>)	Formação irreversível de poros na membrana celular provocado por curtos pulsos elétricos (eletroporação)	<ul style="list-style-type: none"> • Eficiência de rutura celular elevadas; • Custo operacional baixo; • Dimensionamento possível • Processo seletivo; • Tempo de processo rápido; 	<ul style="list-style-type: none"> • Pode promover a formação de radicais e reações indesejadas, reduzindo a qualidade do produto; • Dependente da condutividade do meio; • Equipamento dispendioso; • Necessidade de melhorias na rutura celular para grande escala;

Na Tabela 2 são enumerados alguns tratamentos químicos/bioquímicos no pré-tratamento de microalgas. Os métodos químicos têm possibilidade de causar danos as moléculas bioativas e uma grande quantidade de químicos é frequentemente utilizado, levantando várias questões importantes ao nível ambiental e económico, especialmente para a escala industrial [12]. Os tratamentos com uso de ácidos (por exemplo, ácido sulfúrico) ou bases (por exemplo, hidróxido de sódio) são os métodos usualmente usados, enquanto os líquidos iónicos e o choque osmótico são técnicas mais recentes. Os métodos enzimáticos tem a vantagem de serem mais seletivos e menos tóxicos, contudo requerem muito tempo de operação e são mais dispendiosos [9, 10].

Assim, trabalhos futuros deveriam se focar no desenvolvimento de técnicas de rutura celular com controlos de processo avançados, baixas entradas de energia e de solventes e sem contaminação por parte dos agentes de perturbação [2].

Tabela 2- Diferentes técnicas químicas e bioquímicas de ruptura celular para extração de compostos bioativos das microalgas, e os seus princípios de ruptura celular, vantagens e desvantagens [2, 10]

Tecnologia	Princípio	Vantagens	Desvantagens
<i>Tratamento ácido ou alcalino</i>	Deformação química por hidrólise da parede celular	<ul style="list-style-type: none"> • Baixo consumo de energia; • Custo de capital moderado; • Dimensionamento fácil; 	<ul style="list-style-type: none"> • Possibilidade de destruição de compostos bioativos; • Neutralização de produtos líquidos;
<i>Choque osmótico</i>	Pressão osmótica pela membrana celular por adição de sais	<ul style="list-style-type: none"> • Simples; • Extração possível com biomassa húmida; • Melhorias na extração de moléculas intracelulares; 	<ul style="list-style-type: none"> • Não permite recuperar pigmentos dado as estruturas complexas das microalgas; • Aplicação em grande escala dispendiosa;
<i>Líquido iónico</i>	Propriedades polares de mistura de cátions e aniões em fase líquida em condições ambiente	<ul style="list-style-type: none"> • Elevada estabilidade química e térmica; • Baixa volatilidade; • Fácil de ajustar às propriedades específicas do processo; 	<ul style="list-style-type: none"> • Elevado custo do líquido iónico; • Elevado consumo energético; • Toxicidade • Possíveis danos aos compostos bioativos;
<i>Tratamento enzimático</i>	Interação entre substrato (parede celular das microalgas) e enzima	<ul style="list-style-type: none"> • Elevada seletividade; • Condições de processamento moderadas; • Problemas de corrosão inexistentes; • Com potencial de dimensionamento; 	<ul style="list-style-type: none"> • Elevado custo das enzimas; • Requisitos para manter as condições de processamento estáveis; • Elevado tempo de processo;

2.2.2.2 Extração

Vários métodos de extração distintos podem ser utilizados combinados com a ruptura celular ou diretamente aplicados sobre a biomassa completa. Este processo consiste na extração por solventes com afinidade para um certo composto, podendo estes serem solventes orgânicos convencionais ou solventes alternativos, como líquidos iónicos, solventes eutécticos profundos, fluidos supercríticos, entre outros.

Solventes orgânicos: O uso de solventes orgânicos é uma técnica convencional bastante conhecida para a extração de biomoléculas de microalgas. Frequentemente, a este tipo de extração é associado uma fase de disrupção para facilitar o acesso do solvente aos compostos intracelulares, assim melhorando a eficiência de extração. Solventes orgânicos com o metanol, etanol, acetona ou dietilformamida podem ser usados, por exemplo, para extração de clorofila. Estes solventes penetram na membrana celular para dissolver lipoproteínas dos cloroplastos juntamente com os lípidos na fase extrativa [8].

Solventes alternativos: Ao contrário dos solventes convencionais, solventes alternativos são supostos terem baixos impactos ambientais e na saúde, e serem mais seguros. Alguns exemplos de solventes alternativos são os solventes de base biológica, como terpenos, líquidos iônicos, solventes eutéticos profundos e polímeros líquidos.

Fluidos supercríticos: A utilização de extração por fluidos supercríticos (SFE) têm vindo a aumentar, especialmente nas indústrias alimentares e farmacêuticas, como um método extrativo verde e livre de contaminação. SFE combina extração e separação unicamente pelo controlo dos parâmetros do processo como a temperatura, pressão, caudal e tempo de processamento. Assim sendo, esta capacidade seletiva permite obter produtos com maiores purezas e melhores rendimentos. Substâncias em condições de temperatura e pressão acima do seu ponto crítico são chamados de fluidos supercríticos, que combinam propriedades dos líquidos e gases de maneira eficaz. Neste estado, o fluido supercrítico mostra algumas propriedades interessantes, como menores viscosidades do que líquidos e a habilidade para dissolver substâncias melhor que gases e com maior poder de difusão. Para além disto, os fluidos supercríticos (SFs) podem resultar para algumas extrações que são difíceis ou impossíveis usando solventes orgânicos. Do ponto de vista ambiental, SFs são uma alternativa futura aos solventes convencionais, capaz de providenciar produtos com elevada pureza com tecnologias de alta pressão. Para a extração de biomoléculas das microalgas, SFE tem sido vastamente usada, principalmente, na recuperação de PUFA's, pigmentos e vitaminas, em que o solvente mais comum utilizado é o dióxido de carbono supercrítico, puro ou associado com outro solvente [12].

2.2.2.3 Purificação

Depois da extração, as biomoléculas estão normalmente misturadas com solvente ou combinadas numa só fase, sendo necessário a aplicação de métodos de separação para purificar os compostos extraídos. Estes incluem eletroforese, separação membranar (filtração), ultracentrifugação, entre outros [12].

Tecnologias de membranas, como microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração ou osmose inversa são técnicas não-térmicas e amigas do ambiente que podem promover o enriquecimento de proteína, proveniente das microalgas quando estas são conjugadas com os métodos para ruptura celular, permitindo isolar o conteúdo proteico [1].

Outras moléculas de valor acrescentado, como os pigmentos, requerem outro tipo de abordagem para atingir um produto de elevada pureza. Convencionalmente, uma série de etapas de purificação são aplicadas, através do uso de um agente de saponificação, seguido de uso de um solvente orgânico e

consequentemente a separação das suas fases obtendo-se o composto em bruto que posteriormente sofre uma recristalização. Em contrapartida, novas técnicas baseadas em cromatografia são abordagens consideradas mais rápida e sem o uso de solventes poluentes, porém o custo elevado destes métodos recentemente desenvolvidos impedem a aplicação em grande escala [2].

2.2.2.4 Novas tecnologias de processamento

O surgimento de novas tecnologias permite a obtenção de melhores eficiências e menores impactes ambientais. A combinação de diferentes métodos de rutura tem sido frequentemente investigada no sentido de aumentar a eficiência dos pré-tratamentos. Adicionalmente, a combinação da colheita da biomassa e do seu pré-tratamento no mesmo passo constitui uma abordagem bastante promissora. Tais métodos, caso otimizados apropriadamente, podem ter benefícios significantes tanto para o investimento de capital como para o custo de operação, devido à redução do número de unidades de operação à jusante. Um exemplo disso, é a eletroflutuação provocando a flutuação da biomassa e simultaneamente a rutura celular por reações oxidativas indiretas [13].

Entre as várias técnicas inovadoras mencionadas acima, os métodos baseados em campos elétricos (eletrotecnologias) são particularmente interessantes devido à facilidade de *scale-up*, efeitos de eletroporação membranar, eficiência energética e versatilidade de operação. Em condições ótimas, a corrente elétrica é aplicada através de elétrodos que criam um campo elétrico externo que atravessa um material semiconductor (solução com microalgas) [1]. Quando este encontra os agentes biológicos há a formação de um potencial transmembranar que determina a criação de poros na membrana celular permitindo a extração de material intracelular. As estratégias de aplicação de campos elétricos são várias e apoiadas por um corpo de estudos presente na literatura, estas incluem: PEFs, Descargas elétricas de alta tensão (HVED), Campos elétricos moderados (MEF), Aquecimento Óhmico Pulsado (POH), entre outras.

Estas designações distinguem as abordagens conforme a aplicação do campo elétrico em pulsos ou em contínuo, a duração das descargas e a sua voltagem, sempre em vista o efeito que é desejado provocar no meio. O uso de pulsos de nanossegundos com elevada voltagem remete para uma maior eletroporação das membranas, como é o caso dos PEFs, enquanto o uso de baixas voltagem num período contínuo de maior duração promove a geração de calor por efeito de Joule – conhecido como o aquecimento óhmico.

2.3 Processamento por aquecimento ôhmico

No momento, a consciencialização sobre os problemas ambientais tem vindo a aumentar, e as técnicas de aquecimento ôhmico (OH) são vistas como métodos de extração sustentável, permitindo a redução de uso de água e de solventes químicos devido ao aquecimento direto e sinergia peculiar entre os efeitos elétricos e térmicos. OH pode também ser um processo integrado de extração como pré-tratamento ou em combinação com outras técnicas de processamento, como PEF e ultrassons. De certa forma, esta tecnologia tem o potencial de desafiar três importantes objetivos estabelecidos por várias organizações internacionais: 1) utilização eficiente dos recursos; 2) mínimo/zero perigo e poluição; 3) projeção holística de sistemas (usando um pensamento de ciclo de vida) [15].

2.3.1 Princípios tecnológicos e de funcionamento

Tecidos celulares, organismos, alimentos, entre outros, são sistemas biológicos que atuam como materiais semicondutores fornecendo resistência à passagem de corrente elétrica (efeito de Joule). Este efeito é designado muitas vezes por Aquecimento Ôhmico (OH), sendo que a aplicação de um campo elétrico sobre estes sistemas promove a dissipação de calor e fornece uma rápida e homogênea taxa de aquecimento, não dependendo de uma fonte externa de transferência de calor por condução. Para ocorrer aquecimento ôhmico o material deve ser eletricamente condutivo, sendo que a passagem de corrente através do sistema biológico, cause o movimento de iões em direção aos elétrodos de carga oposta. O movimento de iões provoca colisões entre si, levando à resistência ao próprio movimento e aumento da energia cinética. A partir deste momento, o sistema biológico converte-se numa resistência elétrica sendo que calor é instantaneamente gerado no seu interior. A quantidade de calor gerado depende da intensidade de corrente aplicada, voltagem, força do campo elétrico e condutividade elétrica do material biológico [14].

Na Figura 3, está representado o esquema de um sistema de OH com os componentes principais de funcionamento, sendo os elétrodos colocados em posições opostas para aplicar um campo elétrico uniforme sobre a amostra, sendo que a corrente elétrica flui sem interrupções durante um período significativo. Durante OH, os elétrodos encontram-se em contacto direto com o produto, que consoante as condições de aplicação podem promover a eletrolise e erosão dos elétrodos que constituem problemas ao funcionamento da tecnologia. Daí que, a corrente alternada é exclusivamente usada em aplicações OH devido a mudança de polaridade dos elétrodos e controlo das reações eletrolíticas. [15].

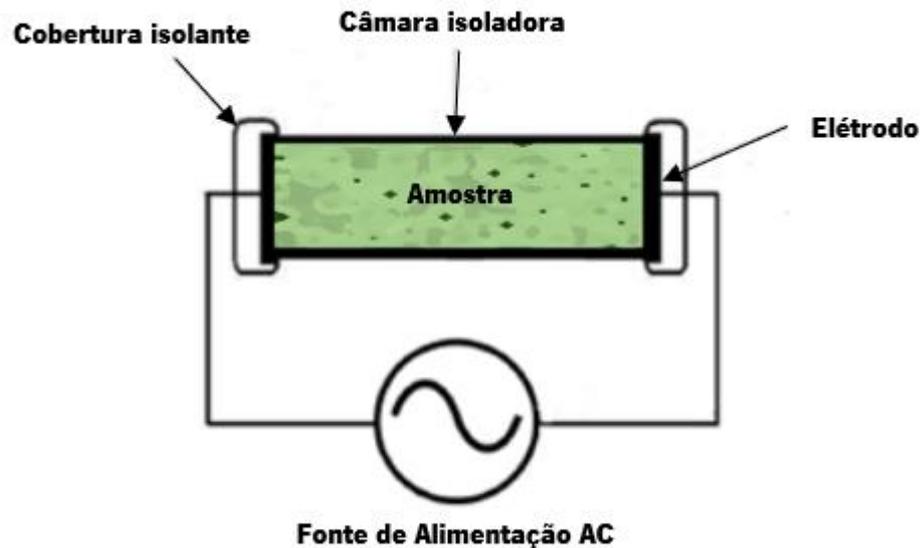


Figura 3 - Representação esquemática dos princípios de funcionamento de um sistema de OH (adaptado da dissertação de Sousa, 2020).

Durante a última década, devido ao resultado de avanços tecnológicos e consequente aumento de investigação fundamental relacionada com o processamento elétrico, várias questões foram colocadas sobre os efeitos de algumas variáveis elétricas, como a frequência e intensidade do campo elétrico [8]. De forma geral, um dos mais importantes parâmetros num processo de OH é a condutividade elétrica, porque depende da temperatura, frequência, concentração de eletrólitos e do gradiente de voltagem aplicado [13, 14].

O uso de frequências mais altas (superiores a 17 kHz) podem eficientemente reduzir as reações eletroquímicas que podem provocar a formação de radicais, corrosão e erosão dos elétrodos e subsequentemente a contaminação do produto desejado [18].

O aumento da força do campo elétrico irá resultar no aumento da condutividade e taxas de aquecimento. Alguns estudos provam a existência de efeitos não-térmicos associados ao OH sendo que o gradiente de voltagens é na ordem dos 1 a 1000 V/cm inserindo-se na especificação de campos elétricos moderados, também conhecidos como MEFs. Para uma melhor compreensão é importante destacar que MEF e OH são termos muitas vezes usados indiscriminadamente, mas normalmente MEF é associado a processos sem efeito térmico ou térmico moderado sendo que o campo elétrico pode ser demonstrado, enquanto OH refere-se a processos térmicos onde efeitos térmicos e elétricos ocorrem em simultâneo [6, 12].

2.3.2 Aplicações, Vantagens e Limitações

Os princípios de funcionamento de OH têm vindo a ser explorados há mais de um século no processamento de alimentos. Nestas últimas décadas, OH tem reemergido como uma das “tecnologias emergentes do amanhã”, devido aos avanços tecnológicos e investigação fundamental e aplicada, que tornam a tecnologia OH bastante promissora dado as suas diversas vantagens [15].

No ponto de vista da aplicação industrial, uma das vantagens mais importantes é o facto de reduzir a exposição dos compostos ao calor, reduzindo o tempo necessário para obter a temperatura desejada para um dado tratamento. Para além desta, o tratamento por OH também possui as seguintes vantagens [8]:

- A ausência de superfícies quentes, reduzindo o processamento excessivo indesejado do produto;
- Elevada eficiência de aquecimento, em termos de tempo de processamento, como em termos de uniformidade de temperatura do produto em estado sólido e líquido. Minimizando a perda de propriedades organoléticas e nutricionais;
- Ideal para o processamento de produtos viscosos, dado que permite o aquecimento uniforme, não limitado pelo fenómeno de condução e convecção;
- Elevada eficiência energética (maior que 95%);
- Tecnologia verde e amiga do ambiente;
- Baixo stresse mecânico, importante quando se pretende que a integridade do produto seja preservada;
- Processo básico e simples com baixo custo de manutenção.

Em contraste, a tecnologia de aquecimento óhmico, apesar das suas aplicações na indústria alimentar, ainda é relativamente pouco estudada. De facto, a principal desvantagem associada a esta tecnologia é a falta de informação e investigação para diferentes processos industriais, dado que ainda há a necessidade de estudar a fiabilidade do processo caso a caso, o que torna difícil a sua validação, e a garantia de investimento inicial. A falta de dados para a validação levanta várias questões em relação à segurança alimentar dos produtos processados, o que acrescenta à relutância das empresas alimentares na adoção de novas tecnologias [6, 12].

É evidente que as limitações económicas são também uma das maiores dificuldades na disseminação desta tecnologia. Para produção a pequena escala, o custo de equipamento de OH pode ser relativamente elevado em comparação com alternativas convencionais. Porém, o custo tende a diminuir ao longo que a tecnologia é disseminada, com melhorias nas técnicas de produção como

também no desenvolvimento de novos equipamentos e tecnologias, em particular fontes de energia. Apesar da eletricidade ser mais cara do que os combustíveis fósseis, a tendência é que esta situação se reverta devido ao aumento da consciencialização ambiental [15].

Quanto a implementação das tecnologias OH existem algumas restrições. De certa forma, as suas aplicações são somente restringidas pela condutividade elétrica do produto a ser tratado. Produtos com elevada condutividade podem em alguns casos causar danos ou deterioração do equipamento e produtos com baixa condutividade (gorduras) poderão impedir a passagem de corrente elétrica. Para além disso, a necessidade de utilização de bandas de frequência estreitas e a corrosão dos eletrodos pelas reações eletrolíticas a baixa frequência elétrica são outros fatores a ter em consideração [11, 12].

Numa perspetiva geral, as tecnologias OH tem emergido maioritariamente no processamento de produtos alimentares de elevada qualidade. O processo é adequado para produto de alta viscosidade e particulados, assim como misturas sólidos/líquidos, como frutas e derivados, vegetais, laticínios, derivados de ovos, algas, xaropes, molhos, e refeições pré-preparadas. Maioria das aplicações industriais de OH estão direcionadas para operações como esterilização ou pasteurização de produtos. A aplicação de MEF pode ser utilizada na inativação de microrganismos contaminantes à temperatura ambiente ou até rutura de tecidos vegetais em processos biotecnológicos. Mas existem outras aplicações bem sucedidas no mercado em branqueamento, evaporação, desidratação, fermentação e extração. A produção de tofu é um bom exemplo da integração de equipamento de OH, permitindo induzir a coagulação do leite de soja. O aquecimento de alimentos para servir é também uma prática com potencialidade para OH, incluindo o aquecimento de alimentos em terreno militar e o desenvolvimento de recipientes alimentares com dispositivos OH integrados destinados para missões espaciais de longa duração [6, 12].

De outro modo, o OH tem várias aplicações de nicho em outras áreas de conhecimento, como em engenharia química e biológica. O potencial de OH tem sido identificado e empregue para a utilização na desinfeção de lamas e para tratamento de efluentes. Outra nova área de interesse para OH passa pela síntese orgânica, sendo possível atingir melhores rendimentos em menores tempos de reação devido ao aquecimento rápido e uniforme fornecido pelo OH [15]. Por último, as tecnologias de OH oferecem a possibilidade de facilitar a extração de compostos celulares de interesse e de promover a difusão de solutos dado a combinação dos efeitos térmicos e elétricos, sendo uma alternativa as metodologias de extração existentes [8].

2.3.3 Extração na biotecnologia de microalgas

Nos últimos anos, o uso de MEF associado com OH, tem despertado o interesse da comunidade científica a cerca da sua aplicabilidade no contexto industrial como método de extração de compostos celulares. O potencial de extração com MEF tem sido analisada significativamente, especialmente em tecidos vegetais. OH apresenta altas taxas de aquecimento com controlo preciso da temperatura permitindo um processamento moderado, sendo que promove a preservação das propriedades nutricionais, funcionais e estruturais dos bioprodutos. Contudo ainda há necessidade de mais entendimento fundamental sobre as perturbações dos MEFs nos compostos a ser extraídos. Apesar de alguma investigação tem sido feita, particularmente para proteínas, a informação a cerca do efeito dos MEFs em diferentes tipos de biomoléculas continua escasso [8].

Os dois principais agentes motores presentes nos processos de extração por OH são: 1) efeitos térmicos, o aumento de temperatura causa a permeabilização térmica das células/tecidos celulares, levando a uma maior solubilidade dos solutos e maiores coeficientes de transferência de massa; 2) efeitos de eletroporação, associados com a reorientação da matriz e dano nas membranas celulares (reversível ou irreversível), facilitando a libertação de solutos da matriz celular e sua difusão no solvente.

O aumento da força de campo elétrico aumenta os efeitos de permeabilização onde as perturbações térmicas e elétricas promovidas pela presença do campo elétrico, atuando em sinergia [1, 12]. É demonstrado que OH melhora a extração de material intracelular em organismos unicelular como a *S. cerevisiae*, e que os resultados são proporcionais com o aumento da força do campo elétrico e da frequência [19]. Há evidencias que apontam para um aumento acentuado da permeabilidade para situações onde OH é aplicado em vez de aquecimento convencional. Jaeschke et al. demonstram que MEF de aproximadamente 40 V/cm, quando combinado com temperaturas moderadas (< 35°C) e efeitos dos solventes (i.e., etanol) pode render até 73 % e 83 % para extração de carotenoides e lípidos, respetivamente [8].

Normalmente, baixas frequências usadas em OH (50 – 60 Hz) permite a acumulação de carga nas membranas celulares, formando poros, levando a uma maior extração devido à eletroporação. Contudo estudos mostram que membranas de células específicas (como das cianobactérias) precisam de tratamentos com maiores frequências [20]. Desta forma, as cianobactérias requerem mais energia para atingir eletroporação do que as microalgas, devido ao seu menor tamanho e composição das membranas [21]. De certa forma, a aplicação de MEF em microalgas é considerada ser prejudicada pelo seu tamanho geralmente pequeno e resistência elevada, exigindo tratamentos de elevada intensidade como PEF ou HVED. Apesar disso, existem alguns casos de sucesso de extração por MEF em microalgas

[19]. Na tabela 3 são apresentados alguns estudos com resultados positivos na utilização de MEF/OH na extração de compostos bioativos das microalgas, apresentando as principais conclusões de cada publicação. Apesar das tecnologias PEF serem mais abordadas na literatura no contexto de extração, as condições operacionais menos exigentes dos MEF, assim como as suas características associadas ao OH e ao funcionamento do gerador elétrico, elétrodos e controlo do sistema poderão contribuir para uma fácil implementação desta tecnologia, comparando com as aplicações de pulsos de elevada energia, mais desafiantes.

Dentro dos processos de OH, existem três possíveis abordagens para processos de extração: 1) aplicação de MEF durante longos períodos de tempos com controlo da temperatura (em estado transiente ou estacionário); 2) aplicação de MEF com elevada intensidade mantendo a temperatura o mais baixo possível; 3) combinação de MEF com elevadas temperaturas por curtos períodos de tempo (HTST) na expectativa de combinar os efeitos térmicos e elétricos no seu total potencial.

Tabela 3 – Artigos de investigação referentes a aplicação de aquecimento ôhmico na extração de compostos bioativos de microalgas e principais resultados dos estudos

Objetivo e tipo de tratamento		Parâmetros Elétricos	Organismo	Notas	Ref.
<i>MEF</i>	Tratamento para aumento da transferência de massa através da membrana, e otimização da marcação fluorescente	$E = [500; 2000] \text{ V/cm}$, $f = 10 \text{ MHz}$	<i>C. vulgaris</i> e <i>Spirulina sp.</i>	A redução do decaimento de fluorescência e aumento de fluorescência até 270%.	[22]
<i>MEF</i>	Extração com solvente (etanol) de carotenoides e lípidos assistida por pré-tratamento MEF	$E = [0; 40] \text{ V/cm}$, $f = 60 \text{ Hz}$ T $\leq 35 \text{ }^\circ\text{C}$, $t = 10 \text{ min}$	<i>Heterochorella</i> <i>luteoviridis</i>	Rendimento de carotenoides até 73% sob MEF. A maior percentagem de extração de lípidos foi de 83%.	[23]
<i>MEF & OH</i>	Extração de pigmentos solúveis (carotenoides, clorofila A e B)	$E = 50 \text{ V/cm}$, $f = 25 \text{ kHz}$, T = [22; 45] $^\circ\text{C}$	<i>Chlorella</i> <i>vulgaris</i>	Eficiência de extração de pigmentos total é 15 vezes maior do que em processos convencionais	[24]
<i>MEF</i>	Extração e eletrofloculação por corrente alternada (EFAC) de lípidos em sistema de lagoa de estabilização em tratamento de efluente	$V = 12 \text{ V}$, $I = 5 \text{ A}$ $f = [0; 1,5] \text{ kHz}$	Cultura mista de microalgas de lagoa de estabilização	Melhor rácio custo/eficiência em comparação com outros métodos, com 24.8 % de eficiência de extração. Mais testes devem ser feitos para a possibilidade de <i>scale-up</i> .	[25]
<i>MEF & OH</i>	Extração e recuperação eficiente de C-ficocianina	$E = 6 \text{ V/cm}$, $f = 20 \text{ kHz}$ T = 44 $^\circ\text{C}$, $t = 30 \text{ min}$	<i>Spirulina</i> <i>platensis</i>	Aumento da estabilização com MEFs e melhor extração de ficocianina e de outros compostos em comparação com métodos convencionais	[26]
<i>OH</i>	Extração de pigmentos (carotenoides e ficobiliproteínas)	$f = 20 \text{ kHz}$ (0,3 -170 V) T = 70 $^\circ\text{C}$, $t = 5 \text{ min}$	<i>Cyanobium sp.</i> (cianobactéria)	Melhor tratamento para extração de pigmentos em comparação à extração contínua com solvente pressurizado (CPSE).	[20]
<i>POH⁽¹⁾</i>	Extração e permeabilização de metabolitos (pigmentos, proteínas, lípidos e carboidratos)	$E = 133\text{-}217 \text{ V/cm}$, 50 Hz T = 100 $^\circ\text{C}$, $t = 7 \text{ s}$	<i>Coelastrrella</i> <i>spp.</i>	Aumento da extração de pigmentos e proteínas. A conjugação de temperaturas moderadas ou altas com a aplicação de pulsos elétricos reporta melhorias nos processos de extração.	[8]

(1) POH, Aquecimento Ôhmico Pulsado, ou em inglês, Pulsed Ohmic Heating.

2.4 Avaliação de Ciclo de Vida (ACV)

Na atualidade vivemos momentos de mudança do paradigma social, em que se torna visível a urgência para encontrar soluções sustentáveis para os problemas ambientais que rodeiam o quotidiano da humanidade. Para tal, existe a necessidade de obter o conhecimento holístico dos processos e produtos que são característicos da sociedade tecnológica e extrativa em que nos encontramos, de forma a encontrar maneiras de desenvolvimento mais ecológicas e com menores impactos no meio ambiente.

Um das técnicas que tem vindo a ser desenvolvida para este fim é a Avaliação de Ciclo de Vida (ACV). Esta ferramenta é apoiada por normas internacionais que visam as boas práticas desta perspetiva de análise, nomeadamente: ISO 14040:2006 – “Princípios e enquadramentos” e ISO 14044:2006 – “Requisitos e linhas de orientação”. A ISO 14040 define ACV como: “Compilação dos fluxos de entradas e saídas e avaliação dos impactos ambientais associados a um produto ao longo de seu ciclo de vida”.

Um estudo de ACV inclui quatro fases: a definição do objetivo e do âmbito, a análise de inventário, a avaliação de impacto e a interpretação dos resultados. A relação entre as diferentes fases é ilustrada na Figura 4 [24, 25].

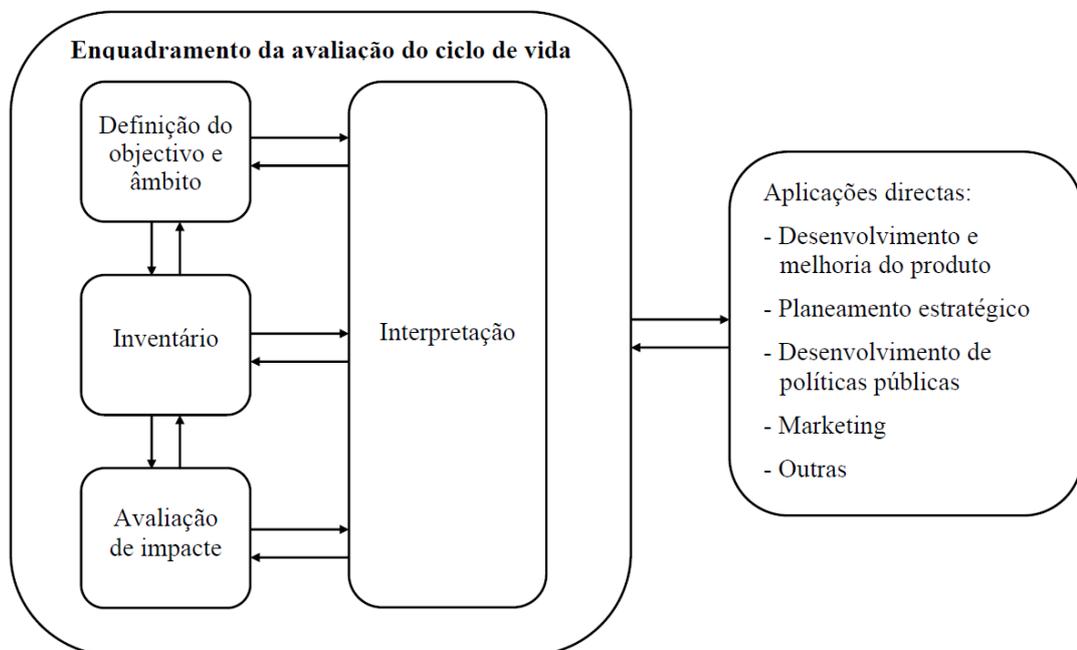


Figura 4 - Esquema iterativo das diferentes fases de uma ACV e aplicações diretas da ACV em várias áreas (reproduzido da Norma ISO 14040).

- Definição do objetivo e âmbito: O objetivo da ACV estabelece a aplicação pretendida, quais as razões para a realização do estudo, qual o público-alvo a que se destinam os resultados e se estes serão utilizados em declarações comparativas para divulgação pública.

O âmbito do estudo passa pela definição do sistema de produto a estudar, que deve ser especificado quanto a sua função, as fronteiras do sistema (que englobem todo o ciclo de vida do produto, ou seja, do berço-ao-túmulo) e fluxo de referência e procedimentos de alocação. Associado a este procedimento estabelece-se a unidade funcional que permite a uniformização de todos os dados e cálculos efetuados nas fases seguintes de forma a facilitar a comparação entre as entradas e saídas do sistema. A descrição clara desta etapa é importante para posteriores comparações com estudos semelhantes, sendo também incluídos elementos como: categorias de impacte, metodologias de avaliação e interpretações de impacte a ser utilizadas, pressuposto e limitações, entre outros.

- Inventário do ciclo de vida (ICV): Nesta fase procede-se a recolha e cálculo de dados de forma a quantificar as entradas e saídas dos vários processos unitários dentro do sistema. Para cada processo, podemos destacar as seguintes categorias: Entradas de energia e matérias-primas, ou outras entradas físicas; produtos, coprodutos e resíduos; emissões e descargas para o ar, água e solo; e outros aspetos ambientais.

Durante o processo de recolha e cálculo deve ser realizada uma validação constante dos dados, através de balanços de massa e energia, ou através da verificação das fontes utilizadas, para que haja conformidade com o objetivo do estudo. Os cálculos finais devem resultar na associação de todos os dados de entrada e saída do sistema ao fluxo de referência e de acordo com a unidade funcional. Depois a agregação dos dados pode ser efetuada com cuidado e somente entre substâncias equivalentes ou impactes ambientais similares. Por fim, uma análise de sensibilidade pode ser importante para refinar a fronteira do sistema conforme a significância dos dados para o objetivo da ACV.

- Avaliação do impacte do ciclo de vida (AICV): Os dados de inventário calculados na fase anterior são imputados a cada categoria de impacto nesta fase, de maneira a obter o resultado do indicador de categoria, ou seja, o valor quantitativo de impacte ambiental. Este procedimento é conseguido através de fatores derivados de um modelo de caracterização que convertem os resultados do inventário do ciclo de vida à unidade comum dos indicadores de categoria.

O modelo de caracterização deve ter validação técnica e científica, recorrendo a bases de dados, com auxílio de *softwares* adequados, e em que todo o processo de caracterização seja baseado num mecanismo ambiental identificável e empírico. Durante a imputação dos resultados do ICV poderá haver alterações nas categorias de impacte, dadas as limitações impostas pelo modelo de caracterização, as fronteiras do sistema de produto, definidos previamente, e a significância dos resultados do ICV. Dado o resultado do indicador de categoria, pretende-se compreender a relevância ambiental associada ao(s) impacte(s) final(ais) por categoria. Desta forma, é possível verificar se os indicadores de categoria são relevantes do ponto de vista ambiental e obter uma avaliação quantitativa e qualitativa dos impactes envolvidos no processo, avaliando o potencial de impacto ambiental do sistema examinado, produto e processo.

- *Interpretação do ciclo de vida*: A última fase da ACV serve para considerar os resultados do inventário (com identificação de aspetos significativos) e a avaliação de impacte em conjunto, permitindo obter conclusões, explicar limitações e fazer recomendações, sempre consistentes com o objetivo e âmbito definidos. A fase de interpretação poderá envolver o processo iterativo de revisão e modificação do âmbito da ACV, bem como da natureza e qualidade dos dados recolhidos, de modo que haja consonância com o objetivo definido. A interpretação deverá refletir que os resultados da AICV são baseados numa abordagem relativa, que indicam efeitos ambientais potenciais, e que não preveem efeitos reais em impactes finais por categoria.

Esta ferramenta pode ser implementada eficazmente para a identificação de implicações ambientais desconhecidas, dando oportunidades de melhoria no desempenho ambiental de um sistema de produto ou do ciclo de vida do produto. De certa forma, a informação fornecida pela ACV pode ser importante nas decisões tomadas por indústrias (e.g. na conceção de um novo produto), entidades governamentais ou organização não governamentais. Mais, a ACV pode oferecer soluções aquando a análise de problemas ambientais relevantes, por exemplo, em técnicas de medição e técnicas de marketing [25, 26].

O número de entidades, de diversas áreas de negócio, que recorre a esta metodologia tem vindo a aumentar, a maioria destas empresas procura estabelecer aspetos ambientais a trabalhar dentro da organização, tentando gerir os impactos ambientais associados ao longo da cadeia de valor. Não é só a quantidade, mas também a qualidade das ACV que tem sofrido uma evolução e com isso a facilidade

com que estas podem ser empregues. Novas empresas particulares têm surgido com a especificidade de facilitar a implementação de estudos de ACV a parceiros interessados, a criação de base de dados mais completas, e melhores modelos de caracterização, metodologias e softwares, constituem contributos essenciais para o exercício das boas práticas. São diversas as iniciativas que têm surgido na literatura com o intuito de gerar um modelo de abordagem da ACV que possa ser adaptado a qualquer tipo de produto ou serviço, através da uniformização da informação disponível relativa às categorias de impacto e dos rótulos ambientais [27, 28].

De facto, o crescente grau de complexidade dos sistemas de produção e de consumo torna importante que não haja lacunas nos dados de inventário e que a qualidade dos dados seja elevada para conseguir dar resposta ao objetivo pretendido. Isto inclui também eliminar as possíveis limitações técnicas do estudo que desvaloriza a ACV, como por exemplo, categorias de impacto insuficientes, processos/parâmetros não considerados e definição restritiva do objetivo e âmbito. Em contrapartida, o tempo necessário para a recolha de informação e custos associados e o facto de não se considerar os aspetos sociais e económicos do produto constituem as desvantagens mais preponderantes na ACV. Apesar disso, com o tempo, os estudos de ciclo de vida têm sido aperfeiçoados, com maior número de publicações e de partilhas, e com menores limitações, como por exemplo, a inclusão de mais categorias de impacto nas publicações [28, 3].

A ACV pode ser utilizada numa vasta gama de aplicações. Para além das análises de berço-ao-túmulo, em inglês, *cradle-to-grave*, a que se referem as Normas Internacionais, a técnica de ACV poderá ser aplicada, com a devida justificação, em outros estudos que não estudos de ACV. Sendo que nem todos os requisitos das normas ISO se aplicam à fronteira do sistema, os estudos detêm uma perspetiva de ciclo de vida. Exemplos disso são:

1. Estudos do berço-ao-portão, em inglês, *cradle-to-gate*: quando se pretende estudar a produção do produto e não a sua comercialização. Em casos em que as microalgas não são produzidas à escala comercial, mas sim a escala piloto pode se aplicar este tipo de estudos [31];
2. Estudos do portão-ao-portão, em inglês, *gate-to-gate*: quando se pretende estudar unicamente o processamento do produto;
3. Partes específicas do ciclo de vida: por exemplo, gestão de resíduos, componentes de um produto.

Como indicado pela Diretiva Europeia 2008/98/CE, a ACV é uma ferramenta capaz de suportar decisões na gestão de resíduos, sendo importante adquirir uma abordagem que englobe todo o ciclo de

vida dos produtos e materiais e onde são reforçadas medidas para a prevenção, valorização e eliminação de resíduos [32]. Atualmente, o crescente interesse das indústrias farmacêuticas e nutracêuticas em compostos biológicos de valor acrescentado e a perspectiva de valorização do potencial máximo de vários coprodutos, subprodutos e resíduos originados pelas microalgas, traz a atenção para o conceito de biorrefinaria. A Biorrefinaria é um processo capaz de obter biocombustíveis, energia e produtos de valor acrescentado através da transformação da biomassa por diferentes processos de separação sequenciais [33].

2.4.1 Estudos Relacionados

Vários estudos de ACV na produção de biomassa de algas têm sido feitos nos últimos anos, com a preocupação pelas consequências ambientais na produção de biogás, biodiesel e eletricidade. Recentemente, a ACV tem se tornado significativa para a otimização do desenvolvimento de produtos de valor acrescentado extraídos das microalgas. Preocupações a cerca do tipo de microalgas indicadas para produtos específicos, localização para cultivo das microalgas e modificação de parâmetros do processo tem sido levantadas para minimizar o impacto ambiental [33]. Contudo, ainda existe pouca informação de estudos de ACV em relação a compostos bioativos provenientes da biomassa de microalgas [31].

A informação gerada por um estudo de ciclo de vida de um sistema de produto é também influenciada pelas ferramentas de suporte selecionadas (software, metodologia de AICV) e os dados subjacentes [34].

O software é a plataforma que facilita a gestão dos cálculos e auxilia a análise dos resultados e estruturação dos mecanismos ambientais presentes ao nosso sistema de produto. Os softwares mais conhecidos são o SimaPro, Gabi, Umberto e OpenLCA. O SimaPro e o Gabi são os softwares comerciais mais aplicados, sendo que o SimaPro é utilizado no maior número de publicações. A escolha do software influencia os resultados e decisões tomadas e também o acesso as bases de dados (p.e. Ecoinvent), que podem estar incorporadas no próprio programa ou não. Em termos comparativos, diferentes softwares conduzem a diferenças na implementação da metodologia de AICV, estas discrepâncias podem advir, principalmente, pelo facto de fatores de caracterização de certas substâncias não são considerados em todos os softwares de ACV [33, 34].

A metodologia de AICV incorpora modelos e fatores de caracterização para várias categorias de impacte. Estas diferenciam-se pelos modelos considerados e impactes abrangidos. Uma distinção nas metodologias é a aplicação de uma abordagem *midpoint* e/ou *endpoint*. A abordagem *midpoint* permite

a caracterização com o uso de indicadores ao longo do mecanismo ambiental antes de chegar ao ponto final da categoria, enquanto na abordagem *endpoint* a caracterização considera todo o mecanismo ambiental até ao ponto final, ou seja, refere-se a danos específico relacionado com uma área mais ampla de proteção, que pode ser a saúde humana, os ecossistemas ou os recursos naturais [36].

A primeira metodologia a ser desenvolvida foi a CML (Centrum voor Milieukunde Leiden) em 1992 e desde então regularmente atualizada. O método ReCipe integra a CML *midpoint* e Eco-Indicator 99 *endpoint*, e procura harmoniza as abordagens *midpoint* e *endpoint* numa estrutura consistente e comum. De origem holandesa, foi publicada pela primeira vez em 2009. Este método tem um âmbito de aplicação global para as categorias de impacto de aquecimento global, destruição de camada de ozono e consumo de recursos, sendo que tem aplicação válida para a Europa para as demais categorias de impacto [36]. Adicionalmente, dá acesso a diferentes perspetivas de acordo com o horizonte temporal e perspetiva cultural que advém dos efeitos dos impactes e desta forma aumentar a qualidade e coerência da análise na avaliação dos impactes do ciclo de vida do produto.

Outras metodologias utilizadas, como por exemplo, TRACI 2.0, IMPACT 2002+, CEENE, entre outras, também são consideradas em estudos de microalgas. O método de AICV selecionado deve ser consistente com a definição de objetivo e âmbito do estudo e envolver um conjunto compreensivo de categorias de impacto ambiental, com probabilidade de serem afetadas pelo sistema de produto [34].

Na Tabela 4 estão enumerados alguns estudos de ACV publicados que mais se assemelham a análise que se pretende efetuar com a presente dissertação. Nesta revisão bibliográfica são descritos os tipos de fronteiras de sistemas do produto e a unidade funcional utilizada, dado que são aspetos importante ao longo de todo um estudo de ACV. Também são apresentados o software, base de dados e metodologias de AICV utilizadas. Algumas conclusões são descritas de forma a entender o contributo de cada estudo no entendimento dos impactes ambientais dos processos de extração. Verifica-se que a etapa de cultivo e colheita das microalgas é muitas vezes a que apresenta maior impacto ambiental, e por isso é o foco de bastantes publicações.

Ao longo das últimas décadas, a pesquisa e investigação para a otimização ambiental e económica dos produtos derivados de microalgas tem sido vasta e com constantes mudanças na dinâmica e temática dos estudos. Primeiramente, os biocombustíveis mostraram um elevado potencial levando a uma extensa literatura a este respeito, com a descoberta de novos propósitos para estes organismos novos processos foram visionados para as microalgas, e atualmente essa descoberta ainda continua. Assim, a extração de compostos bioativos apresenta-se como um desafio interessante para a Engenharia Verde e Sustentável.

Da pesquisa realizada não foram encontrados ACV relacionadas as tecnologias de aquecimento ôhmico aplicados a microalgas e pouca literatura existe para as restantes tecnologias de campos elétricos. Assim, o presente trabalho constituirá uma avaliação pioneira em direção à sustentabilidade do processamento de campos elétricos (nomeadamente, aquecimento ôhmico) aplicado a microalgas.

Tabela 4- Revisão bibliográfica de estudos de ACV em processos com extração de compostos bioativos de microalgas, incluindo o tipo de sistema de produto, a unidade funcional utilizada, a região onde se realizou o estudo, o software, base de dados e metodologia aplicadas e as conclusões mais pertinentes das ACVs.

Sistema	Unidade Funcional	Região	[Software] [Base de Dados] [Metodologia]	Conclusões	Ref.
<i>Cradle to gate</i>	1 kg de biomassa de <i>Tetraselmis suecica</i>	Espanha	SimaPro 7.3 Ecoinvent CML2 2001 (v2.04)	O cultivo de microalgas é a etapa com maior contributo em termos de impacte ambiental, sendo que a produção de nutrientes (especialmente a fonte de nitrogênio, nitrato de sódio) é um dos fatores mais relevantes em algumas categorias de impacte. A valorização da pasta residual de microalgas como fonte de nutrientes (N,P e K) é uma alternativa interessante, de entre outras. A extração é o segundo processo com maiores impactes, devido ao consumo de eletricidade, sendo que a recuperação dos solventes (hexano, etanol, metanol, ...) constitui 99 % da eletricidade necessária para a extração de compostos bioativos.	[31]
<i>Cradle to gate</i>	100 g de composto ativo de <i>Sarcotragus spinosulus</i>	Sardenha, Itália	SimaPro 8.0.2 Ecoinvent 2.2 CML 2001/ReCipe	Os processos <i>downstream</i> foram a principal causa de impactes ambientais, dado que o cultivo marinho de microalgas permite o crescimento contínuo dos organismos com <i>inputs</i> relativamente baixos, usando os recursos naturais como substituto de matérias-primas. A ACV destaca a extração com solventes, responsável por mais de 80 % do impacte ambiental para todas as categorias analisadas, sendo possível melhorias se proceder à recuperação combinada de todos os solventes usados.	[37]
<i>Cradle to gate</i>	1 kg eq. de astaxantina de <i>Haematococcus pluvialis</i>	Grécia	SimaPro 7.1 Ecoinvent 2.0 CML2 2000	Extração assistida por Ultrassons foi o método mais sustentável, o uso de Micro-ondas provoca degradação térmica, diminuindo rendimentos, e a extração com solventes precisa de elevada quantidade de solventes. A substituição de solventes orgânicos não-polares por alternativas (óleos vegetais ou essenciais) reduz o impacto ambiental.	[38]
<i>Gate to gate</i> (etapa de extração)	1 kg de lípidos (PUFAs)	Porto, Portugal	SimaPro 8.4.0.0 Dados da Literatura IMPACT 2002+	Uma ACV comparativa entre 4 métodos diferentes de extração de lípidos para aplicação industrial, concluiu que: SFE é o processo com maior consumo de energia e, portanto, o menos sustentável, enquanto MAE e SWE foram os métodos com menor impacte ambiental. Contudo, o método de UAE é o menos eficiente, e por isso com o potencial de maior impacte ambiental se o sistema incluisse o cultivo e colheita de microalgas (1).	[41]

(1) SFE, extração com fluidos supercríticos; MAE, extração assistida por micro-ondas; SWE, extração com água subcrítica; UAE, extração assistida por ultrassons.

Tabela 4- Revisão bibliográfica de estudos de ACV em processos com extração de compostos bioativos de microalgas, incluindo o tipo de sistema de produto, a unidade funcional utilizada, a região onde se realizou o estudo, o software, base de dados e metodologia aplicadas e as conclusões mais pertinentes das ACVs (continuação)

Sistema	Unidade Funcional	Região	[Software] [Base de Dados] [Metodologia]	Conclusões	Ref.
<i>Gate to gate</i>	1 kg de compostos (ficocianina, proteínas, etc) de <i>Spirulina</i>	Alemanha	SimaPro 8.0.1 Artigo publicado [33] IMPACT 2002+ (v2.11)	A aplicação de PEFs para a rutura celular atingiu aproximadamente 90 % de aumento de extração de C-ficocianinas em comparação com <i>Bead Milling</i> . As frações de ficocianina e proteína em <i>bulk</i> foram extraídas com elevada pureza (água como solvente), permitindo que a alocação dos impactes ambientais fosse duas vezes menor do que frações semelhantes obtidas sem tratamento PEF.	[40]
<i>Cradle to gate</i>	1 kg de ficocianina de <i>Spirulina platensis</i>	Grécia	SimaPro 7.0 Ecoinvent 2.0 CML2 2000 (v2.04)	Extração assistida por Ultrassons melhora rendimentos e possui impactos ambientais médios. O uso de biomassa seca em combinação com solvente tampão de fosfato (em comparação a solventes polares como a água e etanol) leva a extratos ricos em proteína, é o caso com menores impactos, apesar do processo de secagem.	[39]
<i>Cradle to gate</i>	1 g (à escala labs) 800 g (à escala piloto) de astaxantina de <i>Haematococcus pluvialis</i>	Bélgica/ Irlanda	SimaPro 7.3 Ecoinvent/ IDEMAT 2001 CML 2001	O consumo de eletricidade representa o maior contributo para a carga ambiental na produção de astaxantina. À escala laboratorial, a produção dos solventes para a extração e o material usado foram significantes em várias categorias de impacto. À escala piloto, os impactes ambientais relativos tiveram uma grande redução, devido as implementações no sistema resultantes do ACV à escala laboratorial. O processo de extração à escala piloto, isto é, SFE, mostra uma redução de impactos de cerca de 50 vezes menor do que a escala laboratorial (extração com solvente convencional) na maioria das categorias. Uma análise de sensibilidade foi proposta para melhorar a configuração do cultivo de microalgas, onde o consumo de eletricidade é maior.	[42]
<i>Cradle to gate</i>	1 kg de β -caroteno da microalga <i>Dunaliella salina</i> ou de cenoura <i>Daucus carota</i>	Grécia/ Macedónia	SimaPro 7.1 Ecoinvent 2.0 CML2 2000	A análise comparativa, para ambas as matrizes à escala laboratorial, revela que o cultivo e colheita das microalgas em lagoa, em geral, possui um maior impacte ambiental do que o cultivo de cenouras. Porém, <i>D. salina</i> detêm maior concentração de β -caroteno levando a maiores rendimentos na extração e assim a um processo de extração com baixo impacte. Entre os diferentes métodos de extração (UAE, MAE e solventes convencionais), a MAE é indicada para cenouras e UAE para microalgas, sendo esta a técnica mais sustentável.	[43]

3 Materiais e Métodos

A avaliação da performance ambiental do processo de extração baseado na aplicação de campos elétricos aplicado à extração de compostos de biomassa de microalgas, foi efetuada usando a metodologia de Avaliação de Ciclo de Vida, ACV, de acordo com as normas ISO 14040:2006 e ISO 14044:2006 [27, 28]. De acordo com as normas ISO, a metodologia pode ser dividida em quatro etapas:

- Definição do âmbito e do objetivo;
- Análise do inventário do ciclo de vida;
- Avaliação dos impactos do ciclo de vida;
- Interpretação do ciclo de vida.

Neste capítulo são descritas as duas primeiras etapas do ACV. Para isso são definidos o sistema de produto e as suas fronteiras, necessárias para a obtenção do inventário do processo, que corresponde à contabilização de entradas de materiais e energia através das fronteiras do sistema. Após a recolha dos dados de inventário e escolhidas as categorias de impacto ambiental relevantes para o estudo, os impactos ambientais foram obtidos usando o software SimaPro™ 8,5.2, com recurso a base de dados Ecoinvent 3.5, e a metodologia utilizada na avaliação ambiental foi a ReCiPe Midpoint 2016 V1.02.

3.1 Definição do Objetivo e Âmbito

O estudo tem como objetivo avaliar o desempenho ambiental em termos comparativos de processos de extração de compostos de biomassa (nomeadamente, pigmentos) provenientes de microalgas, com base em tecnologias com aplicação de campos elétricos. Em particular, será analisada a extração de pigmentos (nomeadamente, clorofila A, clorofila B e carotenoides) que estão presentes na biomassa de microalgas, neste caso da espécie *Coelastrrella spp*, visto serem pigmentos essenciais para a fotossíntese. As tecnologias de Aquecimento Óhmico (OH) serão o ponto central desta avaliação de ciclo de vida, pretendendo-se abordar três diferentes variações deste pré-tratamento. A realização desta avaliação será importante para comparar as diferentes tecnologias utilizadas de acordo com o seu impacto ambiental, e consequentemente identificar quais são os aspetos dominantes na performance ambiental do processo de extração baseado em campos elétricos, assim como propor e avaliar melhorias para reduzir o impacto ambiental, com recurso à análise de diferentes cenários. Será também feita a

comparação com outras tecnologias de extração de compostos de microalgas, para determinar quais as vantagens e desvantagens das tecnologias de extração baseadas em campos elétricos em relação as tecnologias já existentes. Para isso, o estudo de métodos convencionais de aquecimento também será realizado. A literatura limitada e a falta de valores *benchmark* tendo em conta o tema deste estudo de ACV, impossibilitam a análise comparativa com fontes externas. Assim, pretende-se que as várias conclusões desta avaliação possam ser publicadas e utilizada para futuros projetos onde esta tecnologia possa ser aplicada mais eficientemente e a maior escala, dada a necessidade de procurar novas formas mais sustentáveis e eficientes de processamento de compostos de bioativos de valor acrescentado.

A unidade funcional (UF) escolhida para o estudo é 1 mg de pigmentos em *bulk* (mistura de clorofila A e B e carotenoides) proveniente do processo de extração em escala laboratorial. Sendo uma unidade de medida mais adequada para representar a unidade de massa do produto, todos os dados do inventário recolhidos foram ajustados à unidade funcional, permitindo também incorporar o rendimento de cada extração no estudo de ACV. Os dados foram retirados do trabalho laboratorial apresentado na dissertação de SOUSA (2020) realizado no Departamento de Engenharia da Universidade do Minho, e de informação sobre as características técnicas do equipamento envolvido. Desta forma, o estudo é considerado do tipo atributivo, visto que os impactes ambientais são atribuídos ao ciclo de vida de um produto, e não as consequências de modificação de um sistema existente. Como os processos abrangidos pelo âmbito do estudo apenas resultam num único produto não foram necessários procedimentos de alocação no inventário e no cálculo dos indicadores de impacte ambiental.

3.1.1 Definição do Sistema

A ACV no presente trabalho considera as etapas de ciclo de vida correspondentes ao processamento das microalgas, ou seja, processo de extração assistida por um pré-tratamento, correspondendo a um estudo *gate-to-gate* (ou porta á porta). Posto isto, exclui-se as etapas antecedentes, de cultivo e colheita, uma vez que é um estudo comparativo em que estas etapas são similares, por outro lado, estas já são alvo de análise em outras publicações, e atualmente tem mais fundamento a aplicação de uma ACV à escala piloto ou até industrial. Posteriormente, as etapas de purificação, secagem, distribuição, consumo e disposição final e/ou reciclagem também não são incluídas por aumentarem a complexidade e variabilidade da análise, não desejável a pequena escala, não favorecendo o cumprimento do objetivo pretendido. As etapas posteriores à produção do produto, simplesmente ou não existe informação suficiente ou a sua obtenção é dificultada pela falta de representatividade do

produto no mercado e pela gama alargada de aplicações do produto, o que, estas não se encontram descritas na dissertação de Vitor Sousa [4].

Na Figura 5 é apresentado o sistema considerado no estudo de ACV, considerando as fases de ciclo de vida correspondentes ao processo de extração das microalgas até à obtenção de um extrato rico em pigmentos. São representados os fluxos elementares de entrada, em que incluem as matérias-primas, recursos hídricos e energéticos (renováveis ou combustíveis fósseis) necessários para extrair os pigmentos da biomassa. Estes sistemas de *background* constituem sistemas auxiliares ao processo principal. O processo começa com a entrada no sistema de microalgas provenientes de uma unidade de cultivo como matéria-prima, podendo ser foto bioreatores fechados e/ou abertos. A água na cultura de microalgas é removida usando centrifugação sendo adicionada água destilada à biomassa. Inicialmente, a solução de microalgas passa pela etapa de pré-tratamento. De seguida, a água é retirada por centrifugação. O solvente, neste caso etanol, é de seguida adicionado à biomassa, de modo a fazer a extração de pigmentos com ou sem a aplicação de campos elétricos. Por fim, uma segunda centrifugação estabelece o fluxo de produto de saída, separando o extrato de pigmentos e os subprodutos/resíduos que poderão ser posteriormente valorizados. Os fluxos elementares de saída são: emissões para o ar, e fluentes para a água e solo. No sistema de produto também são incluídos o transporte de etanol para a localização do processo, e o tratamento de efluentes que advém do processo. Estes fluxos serão quantificados na análise de inventário, de modo que seja possível avaliar os impactes ambientais do processo em função da unidade funcional.

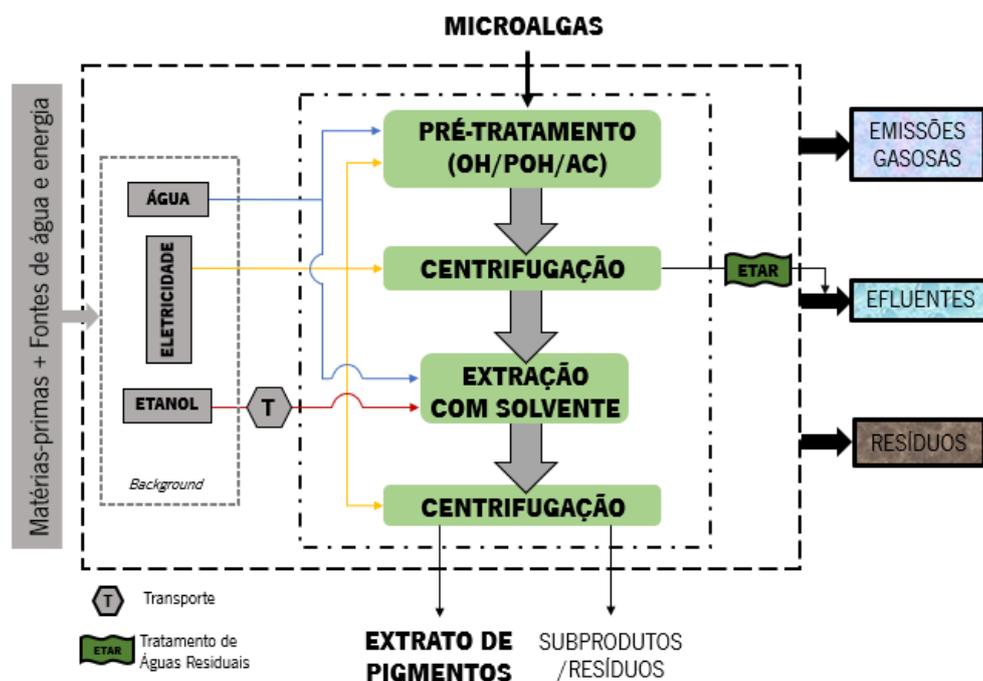


Figura 5 - Fronteiras do sistema de produto e fluxograma do processo de extração de pigmentos de microalgas baseada em campos elétricos, caso de estudo à escala laboratorial.

No presente estudo, diferentes tipos de tratamento serão considerados na etapa de pré-tratamento utilizando o mesmo equipamento. Será feita a aplicação de campos elétricos em condições de aquecimento óhmico (OH), de aquecimento óhmico pulsado (POH), e de aquecimento convencional (AC). O equipamento utilizado não é considerado como fazendo parte do sistema, excluindo-se assim os impactos ambientais do seu fabrico. Dado que se trata de um estudo comparativo e os equipamentos são os mesmo para os diferentes tipos de extração, justifica-se não considerar esses impactos ambientais. O processo de limpeza dos equipamentos também não foi incluído no sistema de produto pelas mesmas razões.

3.1.2 Categorias de Impacto Ambiental

No segmento da análise qualitativa dos impactos ambientais do sistema, é possível aferir as categorias de impacto que melhor definem os aspetos ambientais a ter mais presentes no nosso ACV.

Posto isto, os fluxos materiais e energéticos mais relevantes, fora e dentro do sistema, são:

- Consumo de energia em maioria das etapas do processo;
- Geração de emissões gasosas pelos sistemas auxiliares;
- Formação de efluentes e resíduos nas etapas de centrifugação;
- Consumo de etanol na etapa de extração.

A escolha das categorias de impacto ambiental a serem utilizadas num ACV deve ter em conta quais serão os impactos ambientais mais importantes a partir dos dados do inventário de ciclo de vida. Também a metodologia escolhida é relevante, devendo ser moderna e usada regularmente na área. Neste trabalho será considerada a metodologia RECIPE, como se descreve no subcapítulo 3.3.1. Por um lado, tomando em conta a descrição do processo, o consumo de energia, em particular eletricidade, é claramente o termo mais importante. Por outro lado, a falta de estudos publicados nesta matéria levou-nos a considerar o maior número de categorias de impacto ambiental para assegurarmos a maior cobertura possível dos potenciais impactos ambientais do sistema de produto. Deste modo, foram consideradas neste estudo as categorias de impacto ambiental definidas na metodologia RECIPE, que inclui categorias relevantes para a situação em que o consumo de energia é dominante, como por exemplo a categoria mudança climáticas (*global warming*)

3.2 Inventário de Ciclo de Vida (ICV)

O Inventário de Ciclo de Vida é a contabilização dos fluxos e materiais e energia, constituindo o ponto de partida para a avaliação dos impactos ambientais da unidade funcional tomando em conta o seu ciclo de vida. Para assegurar que os valores dos impactos ambientais calculados são representativos do produto estudado, é importante utilizar dados primários baseados no próprio processo de extração. Os dados usados neste trabalho foram retirados, e subsequentemente manipulados, da dissertação de Vitor Sousa [4]. Desta fonte foram recolhidas informações sobre os fluxos de entrada e saída do sistema, e condições de operação das diferentes operações unitárias para cada tipo de tratamento. Como foram feitas três réplicas de cada experiência, é possível avaliar a incerteza dos valores dos impactos ambientais estimados no estudo de ACV. Outros dados foram obtidos das condições laboratoriais do processo, e das características do equipamento laboratorial. Durante esta recolha de dados algumas aproximações, considerações e cálculos foram necessários. Na Tabela 5 é resumido a origem dos dados para cada fluxo de cada processo unitário.

Tabela 5 - Fonte de dados primários para a realização do Inventário de Ciclo de Vida para cada fluxo material e energético de cada etapa do processo

Etapa	Fluxo	Fonte de dados
Pré-tratamento	Microalgas	Dissertação Vitor Sousa
	Água	Dissertação Vitor Sousa
	Energia de OH	Trabalho laboratorial
	Energia de agitação	Equipamento
	Energia de recirculação	Equipamento
Centrifugação 1	Energia	Equipamento
	Efluentes	Cálculos de dados de Vitor Sousa
Extração	Etanol	Dissertação Vitor Sousa
Centrifugação 2	Energia	Equipamento
	Pigmentos	Dissertação Vitor Sousa

Os dados de entrada e saída do sistema foram ajustados de modo a serem expressos por unidade funcional. Para isso todos os dados de inventário foram uniformizados tendo em conta a quantidade de pigmentos total (clorofila A e B e carotenoides) associado a cada ensaio experimental realizado. Os valores retirados do trabalho laboratorial de Vitor Sousa estão apresentados no Anexo A, conjuntamente com as condições de operação de cada pré-tratamento.

Para além dos dados primários recolhidos foi necessário usar a base de dados de inventário EcolInvent 3.5 para obter informação adicional relativa aos fluxos auxiliares, como por exemplo a produção de etanol e o seu transporte, a produção de eletricidade, a produção da água usada no processo, e o tratamento de efluentes. Apoiado pela base de dados EcolInvent, neste estudo serão propostos dois cenários diferentes para a fonte de energia elétrica usada no processo: *mix* elétrico português que corresponde ao cenário base, e produção elétrica fotovoltaica (renovável) local.

De seguida, são apresentados os vários itens de inventário por fase de ciclo de vida, com uma descrição das hipóteses e dos cálculos necessários.

3.2.1 Pré-tratamento

O primeiro processo do sistema é o pré-tratamento, que tem como objetivo principal aumentar a permeabilidade das membranas celulares das microalgas, auxiliando o processo de extração, com objetivo de alcançar melhores rendimentos de extração. No presente trabalho foram usados quatro métodos diferentes de pré-tratamento com diferentes condições de funcionamento, com o propósito de adquirir mais conhecimento sobre as tecnologias de Aquecimento Óhmico (OH) e o seu desempenho ambiental. Os pré-tratamentos considerados foram selecionados entre os tratamentos com melhor desempenho experimental e com características de operação semelhantes entre si de forma a favorecer a comparação dos resultados. Os tratamentos são os seguintes:

- TOH 1 - Tratamento de Aquecimento Óhmico Pulsado: a solução de microalgas é aquecida a uma temperatura próxima dos 100 °C através da aplicação de campos elétricos de intensidade 217 V/cm num pulso de duração de 5 segundos e frequência de 50 Hz;
- TOH 2 – Tratamento de Aquecimento Óhmico Pulsado: a solução de microalgas é aquecida a uma temperatura próxima dos 100 °C através da aplicação de campos elétricos de intensidade 133 V/cm num pulso de duração de 15 segundos e frequência de 50 Hz;
- TOH 3 – Tratamento de Aquecimento Óhmico: a solução de microalgas é aquecida até atinge uma temperatura de 70 °C através da aplicação de campos elétricos de intensidade 12 V/cm em regime contínuo durante 10 minutos e frequência de 50 Hz;

- AC – Tratamento com Aquecimento Convencional: a solução de microalgas é aquecida até atingir uma temperatura 70 °C através do aquecimento fornecido pelo circulador de aquecimento, com uma duração de 10 minutos.

Todos estes métodos de tratamento foram efetuados no sistema apresentado na Figura 6, assim como o tratamento AC. Neste caso particular as tecnologias de campos elétricos não foram utilizadas, unicamente é utilizado o circulador de água para aquecer a solução de microalgas através da camisa de vidro que envolve a câmara de OH. Para todos os tratamentos, o circulador de água tem a função de arrefecer a solução de microalgas no final de cada procedimento, para manter as condições de processamento e não deteriorar os compostos bioativos das microalgas. O gerador de sinal permite capacitar o circuito com a voltagem desejada para o tratamento, e o amplificador modela o sinal elétrico tanto em intensidade como em voltagem e frequência para que em conjunto seja possível manipular o sinal elétrico imitado pela rede portuguesa (220 V e 50 Hz). Na Figura 7 são apresentados os equipamentos utilizados nos tratamentos. Para alguns dados do inventário, relativos a energia utilizada pelo agitador e pelo circulador, foi necessário examinar as características técnicas dos equipamentos.

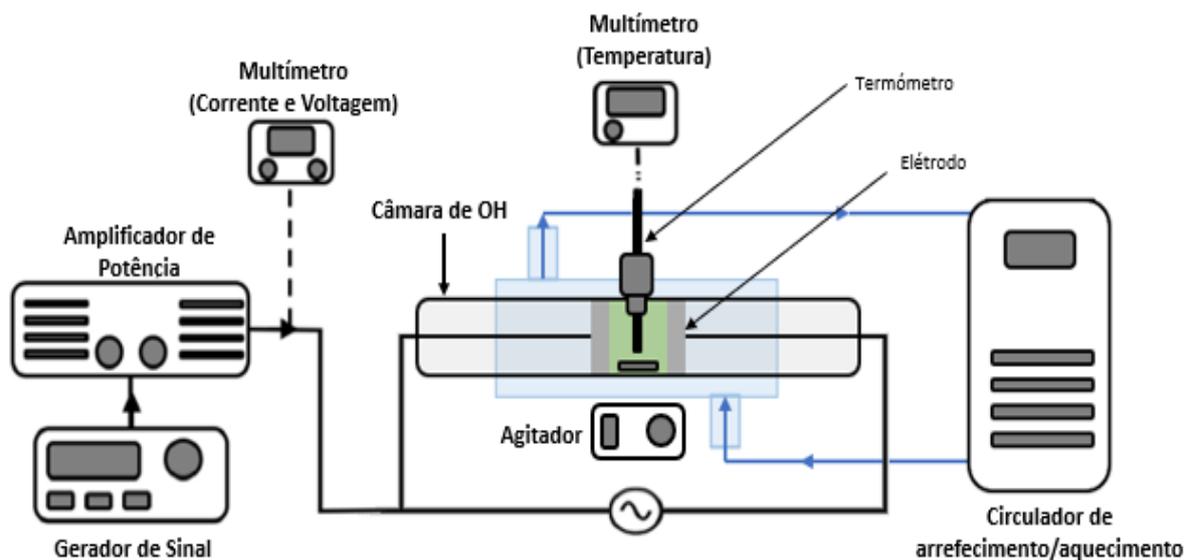


Figura 6 - Esquema ilustrativo do tratamento ôhmico demonstrando os diferentes equipamentos envolvidos no processo (adaptado de Pagels et al, 2021).

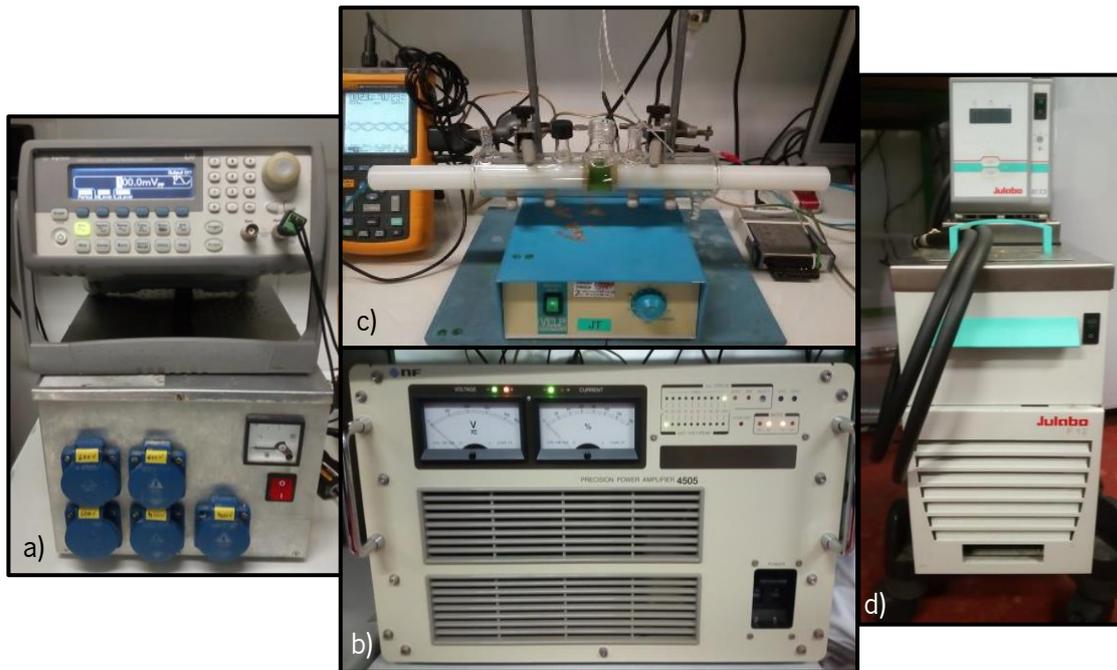


Figura 7 - Equipamentos laboratorial para o tratamento óhmico de microalgas através de a) gerador de sinal constante ou variável localizados na parte inferior e superior da imagem, respetivamente; b) amplificador de potência; c) sistema da câmara de OH com agitador; d) circulador de arrefecimento/aquecimento.

Na Tabela 6 são apresentadas as informações técnicas (nomeadamente, a potência do equipamento) sobre estes dois equipamentos obtidas da ficha de dados do produto e das indicações encontradas no próprio equipamento. Para cálculo da energia gasta por cada um dos tratamentos, usaram-se as Equações 1, 2 e 3.

Tabela 6 - Informações técnicas relevantes para o cálculo da energia gastas no pré-tratamento do agitador magnético e circulador de arrefecimento/aquecimento

Equipamento	Marca registada	Informações técnicas	Fonte
<i>Agitador</i>	Velp Scientifica™ AGE <i>Magnetic Stirrer</i>	40 W de potência	[44]
<i>Circulador</i>	Julabo ® F12-ED <i>Refrigerated/heating circulators</i>	2 kW de potência (230 V e 9 A)	Equi.(1)

(1) Informações retiradas do rótulo do equipamento instalado em laboratório.

$$P = V \times I \quad \text{(Equação 1)}$$

(P – Potência do equipamento, V – Voltagem, I – Intensidade de corrente)

$$E = P \times t \quad \text{(Equação 2)}$$

(E – Energia consumida, t – tempo de utilização)

$$Q = m \times cp \times \Delta T \quad \text{(Equação 3)}$$

(Q – Calor, m – massa, cp – calor específico, ΔT – intervalo de temperatura)

No caso do circulador foi usada a Equação 1 para calcular a potência (P) através da voltagem (V) e amperagem (I) do equipamento. Posteriormente, foi possível calcular a energia gasta em cada equipamento para cada tipo de tratamento, conhecido o tempo de utilização (t). O tempo de utilização no caso da agitação considera-se o tempo de tratamento, isto é, 5 s para TOH1, 15 s para TOH2 e 10 min para TOH3 e AC. Contudo, o tempo de utilização do circulador difere para cada tipo de tratamento. Enquanto o processamento com campos elétricos (TOH1, TOH2 e TOH3) tem duração de 5 minutos após a conclusão do tratamento para diminuir a temperatura da amostra, o tratamento AC têm uma duração de 15 min, sendo 10 min de aquecimento mais 5 min de arrefecimento no fim do AC.

Conjuntamente, foi necessário ajustar a energia gasta pelo circulador no arrefecimento de acordo com a temperatura atingida em cada tratamento. Os processos TOH1 e TOH2 atingiram 100 °C e os processos TOH3 e AC atingiram 70 °C, pelo que de acordo com a Equação 3 verificamos que o calor necessário retirar da solução de microalgas é 1,6 maior nos dois primeiros tratamentos, dado que o calor é diretamente proporcional a diferença de temperaturas.

Para cada tratamento são preparados 10 mL de solução de microalgas com uma concentração de 10 g/L de biomassa, sendo de seguida colocados na câmara de OH para tratamento. Dado que o cultivo de microalgas não é considerado no presente trabalho, supõem-se que a biomassa entra no sistema de produto no estado sólido (em pasta ou em pó), implicando necessariamente um consumo de água desionizada, à entrada do processo para obtenção da solução com a concentração pretendida. A água desionizada permite que a solução de microalgas não tenha impurezas que possa comprometer o produto final. A massa de biomassa necessária foi calculada de acordo com a concentração e volume de solução pretendidos. Por outro lado, é considerado desprezável o consumo e as perdas de água utilizada no circulador de arrefecimento/aquecimento, visto ser um circuito fechado. De modo a evitar a introdução de impurezas no processo que podem interferir na extração e reduzir a qualidade do produto final, foi considerado que a água usada no processo era desionizada e isenta de matéria orgânica.

A base de dados de inventário de ciclo de vida Ecolnvent permitiu o acesso a informação sobre a produção de eletricidade, tanto para o caso *mix* elétrico português como para a produção elétrica renovável fotovoltaica, para que posteriormente se possa se determinar e comparar os impactos ambientais associados aos gastos energéticos dos processos.

3.2.2 Extração

O procedimento de extração do sistema inclui a adição de 10 mL de etanol 70 % à biomassa previamente separada do conteúdo líquido por centrifugação. De seguida, o solvente permanece em contacto com o substrato durante 30 minutos à temperatura ambiente. O etanol é o solvente orgânico escolhido dada a sua afinidade a compostos como as clorofilas e os carotenoides, como descrito na dissertação de Vitor Sousa [4]. Por outro lado, o etanol é um solvente orgânico considerado verde (pode ser produzido a partir de matérias-primas renováveis) e com baixos custo de produção [45].

Como já foi mencionado anteriormente, os dados de inventário da produção e transporte de etanol foram obtidos usando a base de dados EcolInvent 3.5. De acordo com a base de dados o transporte de etanol é efetuado por um camião de carga com capacidade igual ou superior a 32 toneladas métricas. Para a determinação da capacidade de carga mássica (C) necessária para transporte de etanol recorreu-se a Equação 4. Com esse objetivo, algumas considerações foram tomadas. Postulou-se que a distância média ao fabricante (d) em território nacional continental é de 50 km e que a massa volúmica do etanol (ρ) é de $0,789 \text{ g/cm}^3$ para $20 \text{ }^\circ\text{C}$ de temperatura, com o propósito de converter as unidades de volume em unidades de tonelada-quilómetro (t.km), unidades estipuladas pela base de dados para cálculo dos impactes ambientais. Adicionalmente, devido à falta de dados relativos ao composto etanol de 70 %, os dados de inventário da produção de etanol descritos na EcolInvent são relativos a produção de etanol de 99,7 %. Assim, foi necessário efetuar uma diluição do solvente, para uma quantidade de 7 mL de etanol 99,7 %, com a adição de 3 mL de água desionizada, de forma a obter a quantidade desejada de etanol 70 % para o processo. A quantidade de água desionizada e etanol necessários para perfazer um volume total de 10 mL de etanol 70 % foram calculados através das Equações 5 e 6.

$$C = d \times \rho \times V_{\text{et}} \quad \text{(Equação 4)}$$

(C – Capacidade de carga; d – distância média ao fabricante;
 ρ – massa volúmica do etanol; V_{et} – Volume de etanol necessário)

$$V_{\text{H}_2\text{O}} + V_{\text{et}} = V_{\text{t}} \quad \text{(Equação 5)}$$

$$V_{\text{et}} = 0,7 \cdot V_{\text{t}} \quad \text{(Equação 6)}$$

($V_{\text{H}_2\text{O}}$ – Volume de água desionizada; V_{et} – Volume de etanol; V_{t} – Volume total)

3.2.3 Centrifugação

Neste processo foi necessário recorrer à unidade de centrifugação antes e após a extração com solvente. A primeira centrifugação (C1) permitiu a separação do sobrenadante do resto da biomassa, permitindo a adição do solvente sem problemas de diluição para proceder a extração. Depois da extração, uma segunda centrifugação (C2) permitiu a separação da biomassa residual do extrato de pigmentos em etanol, o produto de interesse. Em ambas foi considerado que os 10 mL de cada ensaio para todos os tratamentos foram centrifugados durante 5 minutos a 10000 g de força numa microcentrifugadora (Mikro 120, AndreasHettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Germany) ilustrada na Figura 8, com capacidade máxima de 48 mL e potência de 230 W.

Deve-se ter em atenção que em vez de se utilizar uma fração de 1 mL de amostra no total de 10 mL de solução, como descrito na dissertação de Vitor Sousa, considerou-se a totalidade da solução para que se quantifique a matéria dentro do sistema de forma consistente e válida, de modo a respeitar as entradas e saídas de materiais descritas anteriormente.



Figura 8 - Microcentrifugadora utilizada para separação das fases líquidas e sólidas das amostras de cada tratamento à esquerda e demonstração do efeito de centrifugação em amostras de microalgas à direita.

Na primeira centrifugação, as fases líquidas e sólidas da solução de 10 mg/mL biomassa em água são separadas. O efluente gerado nesta operação vai posteriormente sofrer tratamento, para isso recorre-se à informação disponível na base de dados de inventário Ecolnvent acerca do tratamento de águas residuais, com base na quantidade de efluente calculado e assumindo que as águas residuais geradas no processo podem ser consideradas como sendo urbanas.

3.3 Avaliação de Impacte de Ciclo de Vida (AICV)

3.3.1 Metodologia Aplicada

A quantificação dos impactes ambientais deve ser feita de acordo com uma metodologia que melhor se adequa ao sistema em avaliação. A revisão biográfica apresentada no capítulo 2.4.1 fornece uma ideia geral de que *software*, base de dados e metodologia foram usadas para temas semelhantes. A AICV no presente trabalho aplica o método ReCipe 2016 Midpoint (E) v1.02, sendo que se apenas se consideram os *midpoints* com 18 indicadores, usando a perspetiva Iguatária (E), ou seja, baseado no longo prazo (superior a 1000 anos) e considerando explicitamente o princípio da precaução na ponderação de todos os efeitos dos impactos ambientais [46]. Na Tabela 11 estão listadas as 18 categorias de impacto abordadas pela metodologia ReCipe 2016.

Tabela 7 - Categorias de impacte disponibilizadas pela metodologia ReCipe 2016 Midpoint e abreviaturas utilizadas na presente avaliação, associado às respetivas unidades.

Categoria de impacto	Abreviatura	Unidades
Alterações Climáticas (<i>Global Warming</i>)	GW	kg CO ₂ eq
Depleção de Ozono Estratosférico (<i>Ozone Depletion</i>)	SOD	kg CFC ₁₁ eq
Radiação Ionizada (<i>Ionizing Radiation</i>)	IR	kBq Co-60 eq
Formação de Ozono Fotoquímico, Saúde Humana (<i>Photochemical Ozone Formation, human health</i>)	OFhh	kg NO _x eq
Formação de Partículas Finas (<i>Fine Particulate Matter Formation</i>)	FPMF	kg PM _{2,5} eq
Formação de Ozono Fotoquímico, Ecossistemas Terrestres (<i>Photochemical Ozone Formation, Terrestrial Ecosystems</i>)	OFte	kg NO _x eq
Acidificação Terrestre (<i>Terrestrial Acidification</i>)	TA	kg SO ₂ eq
Eutrofização de água doce (<i>Freshwater Eutrophication</i>)	FWE	kg P _{eq}
Eutrofização Marinha (<i>Marine Eutrophication</i>)	ME	kg N _{eq}
Ecotoxicidade Terrestre (<i>Terrestrial Ecotoxicity</i>)	TET	kg 1,4 – DCB
Ecotoxicidade de água doce (<i>Freshwater Ecotoxicity</i>)	FWET	kg 1,4 – DCB
Ecotoxicidade Marinha (<i>Marine Ecotoxicity</i>)	MET	kg 1,4 – DCB
Toxicidade humana, carcinogénica (<i>Human Toxicity: cancer</i>)	HTc	kg 1,4 – DCB
Toxicidade humana, não carcinogénica (<i>Human Toxicity: non-cancer</i>)	HTnc	kg 1,4 – DCB
Uso do solo (<i>Land Use</i>)	LU	m ² a crop _{eq}
Escassez de recursos minerais (<i>Mineral resource Scarcity</i>)	MRS	kg Cu _{eq}
Escassez de recursos fósseis (<i>Fossil resource Scarcity</i>)	FRS	kg óleo _{eq}
Consumo de água (<i>Water Consumption</i>)	WC	m ³

Para além da versatilidade desta metodologia, a sua escolha é vantajosa em comparação a outras porque: usa um conjunto alargado de categorias de impactes ambiental que abarca os impactes ambientais que se espera serem relevantes para o sistema em estudo; é possível usar mecanismos ambientais com âmbito global assumido apenas impactes que tenham sido incluídos no inventário [47]. Desta forma, este método considera-se indicado para a avaliação do nosso sistema de produto.

3.3.1.1 Fatores de Caracterização

Com o auxílio do software SimaPro (v 8,5.2) e das bases de dados de inventário incorporadas no mesmo, nomeadamente a Ecolnvent 3.5, foi possível aplicar a metodologia ReCipe através da determinação de fatores de caracterização para cada um dos itens do inventário de ciclo de vida, para o cálculo posterior dos indicadores de categoria de cada categoria de impacte. Os valores expressos pelos fatores de caracterização ($FC_{g,i}$) relacionam as componentes i (mássicas, energéticas, transporte, etc.) com os impactos associados a cada categoria g , assim as unidades dos fatores são dadas pela unidade da categoria corresponde tendo por base a unidade de referência da componente em análise (e.g, kg de etanol ou 1 kWh de eletricidade). Após o conhecimento dos fatores de caracterização é possível determinar os indicadores de categoria de impacto ambiental ($IC_{g,i}$) para cada componente, de acordo com a Equação 5. Somando os valores dos indicadores de categoria de impacto ambiental para os vários itens de inventário obtemos os indicadores para cada categoria de impacte do processo (IC_g), usando-se a Equação 6. Todo este procedimento teve que ser efetuado para cada tratamento j , sendo depois analisados os resultados obtidos para cada componente, passo de ciclo de vida ou mesmo para o processo global, sendo essa análise feita no próximo capítulo.

$$IC_{g,i,j} = FC_{g,i} \times DI_{i,j} \quad \text{(Equação 7)}$$

$$I_{g,j} = \sum_i^n I_{g,i,j} \quad \text{(Equação 8)}$$

Em que:

$FC_{g,i}$ – Fator de caracterização da categoria de impacte g , por unidade de referência, para o componente i .

$DI_{i,j}$ – Dado do inventário para a componente i , por unidade funcional, do tratamento j .

$IC_{g,i,j}$ – Indicador da categoria de impacte g para a componente i , por unidade funcional, do tratamento j .

$IC_{g,j}$ – Indicador da categoria de impacte g para processo global, por unidade funcional, do tratamento j .

4 Resultados e Discussão

No presente capítulo são apresentados os dados de inventário utilizados e os resultados do estudo de ciclo de vida da extração de compostos bioativos, neste caso, pigmentos, provenientes de microalgas através do uso de tecnologia baseada em campos elétricos. Os objetivos principais são:

- Observar os aspetos e resultados significativos apresentados no inventário e na análise de ciclo de vida e estabelecer ligações entre os dados de inventário e os indicadores de impacto;
- Avaliar a performance ambiental dos diferentes tratamentos tomando em conta os passos do ciclo de vida considerados, componentes analisadas (energia, etanol, transporte, água e tratamento de efluentes), e o processo no seu global;
- Comparar o desempenho ambiental entre os diferentes tratamentos, focando em particular no método convencional (AC) em relação aos métodos baseados em campos elétricos. E também estabelecer o paralelo entre os métodos OH pulsados (TOH1 e TOH2) e não pulsados (TOH3);
- Analisar a influência da fonte de eletricidade usada no processo no desempenho ambiental dos processos de extração, como proposta de melhoria. Considerando um novo cenário “renovável” (com consumo de eletricidade de produção solar fotovoltaica).

4.1 Resultados de Inventário por unidade funcional

4.1.1 Pré-tratamento

Na Tabela 7 são reportados os dados de inventários resultantes dos vários pré-tratamentos, uma média dos três ensaios com desvio-padrão associado, calculados com referência à unidade funcional, mencionando as componentes materiais e energéticas do processo. A componente energética no pré-tratamento é mais afetada pela energia consumida pelo circulador, sendo que o tratamento AC é o processo com maiores valores devido ao elevado tempo de utilização do circulador. O tratamento TOH2 tem os menores gasto de eletricidade por unidade funcional.

Tabela 8 - Inventário dos fluxos de entrada e saída, em média, associado aos quatro processos de pré-tratamento estudados e desvio-padrão associado, com dados referenciados à unidade funcional (1 mg de pigmentos)

Componente	Fluxos	Processo				Unidades
		TOH 1	TOH 2	TOH 3	AC	
Material de Entrada	Água	58,43 ± 3,30	46,71 ± 5,86	118,70 ± 28,51	206,00 ± 26,02	mL/mg
	Biomassa	584,30 ± 32,96	467,10 ± 58,61	1187,01 ± 285,09	2059,97 ± 260,16	mg/mg
Energético	Eléttodos	6,54 ± 0,37	5,84 ± 0,73	124,64 ± 29,93	—	W.h/mg
	Agitador	0,32 ± 0,02	0,78 ± 0,10	79,13 ± 19,01	137,33 ± 17,34	W.h/mg
	Circulador	1612,67 ± 90,98	1289,19 ± 161,78	2047,59 ± 491,78	10660,34 ± 1346,34	W.h/mg
	Total	1619,54	1295,80	2251,36	10797,68	W.h/mg
Material de Saída	Solução de Microalgas	58,43 ± 3,30	46,71 ± 5,86	118,70 ± 28,51	206,00 ± 26,02	mL/mg

4.1.2 Extração

Na Tabela 8 são reportados os dados de inventário para a componente material do processo. A componente de transporte alusiva à carga de transporte de etanol, em unidades de tonelada-quilômetro (t.km) de etanol, também constitui um fluxo de entrada no processo de extração, sendo que a distância média ao fabricante, considerada de 50 km, é um dado de inventário. Todos os dados estão referenciados à unidade funcional.

Tabela 9 - Inventário dos fluxos de entrada e saída, em média, associado a extração aplicada aos quatro processos de pré-tratamento estudados e desvio-padrão associado, com dados referenciados à unidade funcional (1 mg de pigmentos)

Componente	Fluxo	Processo				Unidade
		E (TOH 1)	E (TOH 2)	E (TOH 3)	E (AC)	
Material de Entrada	Etanol	40,90 ± 2,31	32,70 ± 4,10	83,09 ± 19,96	144,20 ± 18,21	mL/mg
	Água	17,53 ± 0,99	14,01 ± 1,76	35,61 ± 8,55	61,80 ± 7,80	mL/mg
	Biomassa	584,30 ± 32,96	467,10 ± 58,61	1187,01 ± 285,09	2059,97 ± 260,16	mg/mg
Material de Saída	Microalgas em etanol	58,43 ± 3,30	46,71 ± 5,86	118,70 ± 28,51	206,00 ± 26,02	mL/mg

4.1.3 Centrifugação

Na Tabela 9 e 10 estão reportados os dados de inventário para a componente material e energética do processo de centrifugação, assim como a componente de tratamento de efluentes necessária para a primeira centrifugação e segunda centrifugação, respectivamente. Todos os dados estão referenciados à unidade funcional. Na primeira centrifugação, a energia utilizada é calculada através da potência do equipamento e do tempo de utilização, conforme a Equação 2.

Tabela 10 - Inventário dos fluxos de entrada e saída, em média, associado a primeira centrifugação aplicada aos 4 processos de pré-tratamento estudados e com desvio-padrão associado, com dados referenciados à unidade funcional (1 mg de pigmentos).

Componente	Fluxo	Processo				Unidade
		C1(TOH 1)	C1(TOH 2)	C1(TOH 3)	C1(AC)	
Material de Entrada	Solução de microalgas	58,43 ± 3,30	46,71 ± 5,86	118,70 ± 28,51	206,00 ± 26,02	mL/mg
	Energético	Centrifugadora	111,99 ± 6,32	89,53 ± 11,23	227,51 ± 54,64	394,83 ± 49,86
Material de Saída	Efluente (Sobrenadante)	58,43 ± 3,30	46,71 ± 5,86	118,70 ± 28,51	206,00 ± 26,02	mL/mg
	Biomassa	584,30 ± 32,96	467,10 ± 58,61	1187,01 ± 285,09	2059,97 ± 260,16	mg/mg

Para a segunda centrifugação, a separação das fases da solução de 10 mg/mL de biomassa em etanol permitiu obter o extrato de pigmentos e a biomassa restante. O cálculo energético da operação é efetuado da mesma forma como na primeira centrifugação.

Tabela 11 - Inventário dos fluxos de entrada e saída, em média, associado a primeira centrifugação aplicada aos 4 processos de pré-tratamento estudados e com desvio-padrão associado, com dados referenciados à unidade funcional (1 mg de pigmentos)

Componente	Fluxo	Processo				Unidade
		C2 (TOH 1)	C2 (TOH 2)	C2 (TOH 3)	C2 (AC)	
Material de Entrada	Microalgas em etanol	58,43 ± 3,30	46,71 ± 5,86	118,70 ± 28,51	206,00 ± 26,02	mL/mg
	Energético	Centrifugadora	111,99 ± 6,32	89,53 ± 11,23	227,51 ± 54,64	394,83 ± 49,86
Material de Saída	Extrato de Pigmentos	58,43 ± 3,30	46,71 ± 5,86	118,70 ± 28,51	206,00 ± 26,02	mL/mg
	Biomassa residual	584,30 ± 32,96	467,10 ± 58,61	1187,01 ± 285,09	2059,97 ± 260,16	mg/mg

4.2 Análise dos Impactos Ambientais

No presente capítulo são apresentados os resultados dos indicadores para as diferentes categorias de impacto, de acordo com a caracterização aplicada aos dados de inventário. Nesta fase é efetuada a avaliação da significância dos impactes ambientais potenciais. Durante a análise recorreu-se a operações de normalização dos resultados de maneira a estabelecer comparações entre os diferentes processos em estudo e também a ponderações dos resultados de acordo com os itens de inventário e os passos de ciclo de vida.

Neste estudo não foi possível estabelecer comparações com resultados de outros estudos de ACV do mesmo tipo, devido a falta de literatura sobre o tema em avaliação. Todos os resultados dos indicadores de categoria de impacto para os diferentes processos globais e para ambos os cenários podem ser consultados no Anexo D, mostrado os resultados para os três ensaios de cada processo e o desvio-padrão experimental associado.

Na Figura 9 são apresentados os valores dos impactes ambientais globais para os quatro tipos de tratamento, escalados de modo a permitir a representação na mesma figura. A representação dos resultados no mesmo gráfico facilita a comparação entre os diferentes tratamentos. Na mesma figura é apresentada a incerteza associada aos valores dos indicadores de impacto devido à variabilidade experimental, usando barras de erro, dado que cada tratamento foi realizados em triplicado.

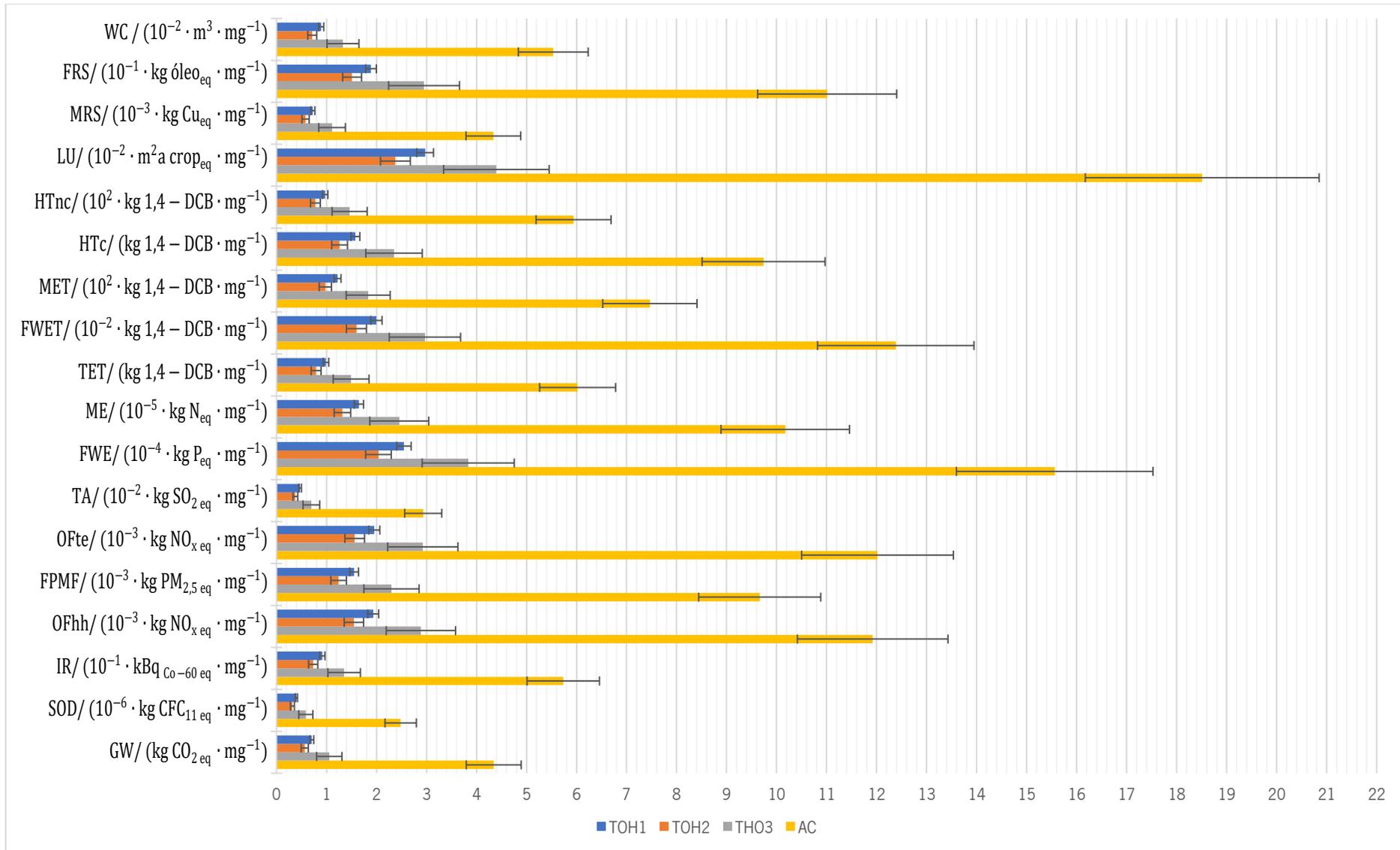


Figura 9 – Resultados dos indicadores de categoria de impacto do estudo tendo em conta os processos com diferentes pré-tratamento (TOH1, TOH2, TOH3 e AC), apresentados em valores médios e com desvio-padrão experimental associado.

Numa perspetiva geral e tomando em conta apenas os valores médios dos impactos ambientais (correspondentes às barras), observamos que para todas as categorias de impacto ambiental o processo com pré-tratamento de Aquecimento Convencional (AC) tem os valores de impacto ambiental mais elevados em comparação com os restantes. De facto, os processos com aquecimento óhmico mostram resultados bastante inferiores, sendo que o processo TOH2 tem os melhores resultados, seguido do processo TOH1, e por fim o processo TOH3 com os valores mais elevados dos três processos de OH. As diferenças entre TOH1 e TOH2 são menores que em relação às diferenças com TOH3 também para todas as categorias de impacto ambiental.

Tomando em conta a natural variabilidade experimental, as conclusões anteriores baseadas apenas nos valores médios podem deixar de ser válidas. Desse modo, foram incluídas na Figura 9 os valores do desvio padrão associados a cada categoria de impacto ambiental para cada tratamento, baseados nos dados experimentais. Observa-se que a inclusão da variabilidade não altera as conclusões anteriores, mostrando que as diferenças entre os tratamentos são significativas.

Na Figura 10 é possível observar que os valores relativos dos indicadores ambientais dentro da mesma categoria de impacto ambiental são similares. No gráfico abaixo os resultados são normalizados em relação ao processo de TOH2, verificando-se que para todas as categorias do processo de AC é em média 7,7 vezes superior a este, enquanto os processos de TOH1 e TOH3 são em média 1,25 e 1,87 vezes superiores, ao processo TOH2, respetivamente. Observa-se também, como esperado, que as diferenças variam pouco entre categorias de impacto ambiental.

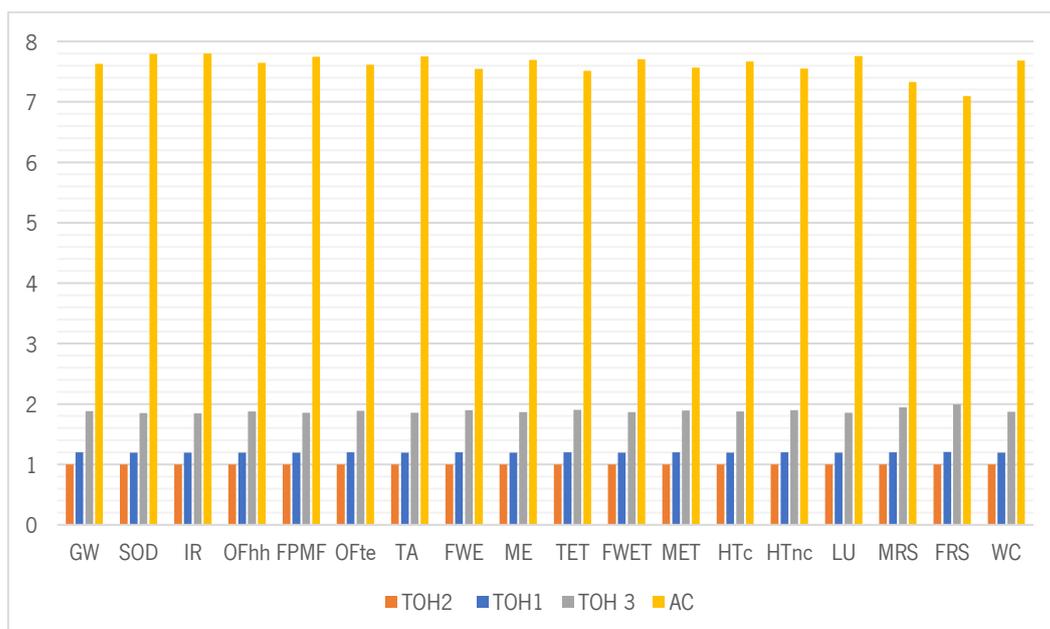


Figura 10 - Variações relativas dos resultados dos indicadores de categorias de impacto ambiental para os diferentes processos no seu global, normalizados em relação ao processo com melhor desempenho, TOH2.

Estes resultados podem ser explicados de duas formas. Em primeiro lugar, o facto de o rendimento de extração de pigmentos ser desigual para cada tratamento, significa que as entradas e saídas do sistema ao serem contabilizadas em referência à unidade funcional vão variar em função do rendimento de extração em cada processo. Assim, é esperado que processos com menores rendimentos tenham maiores impactos por unidade funcional (1 mg). Pela Tabela 12, observa-se que no processo TOH2 obteve-se uma concentração total de pigmentos aproximadamente quatro vezes superior à concentração obtida no processo de AC. A diferença observada na Figura 10 entre TOH 2 e AC é superior, o que se deve às diferenças nos inventários de ciclo de vida entre os dois processos e mudanças no próprio processo de extração. Em comparação aos restantes processos, TOH1 e TOH3, verifica-se que os valores relativos dos indicadores ambientais são maiores em comparação ao TOH2 devido também às diferenças observadas na Tabela 12, provocadas pelas distinções nos inventários de ciclo de vida entre os processos e condições de operação diferentes, contudo menos significativos que no caso de AC.

Tabela 12 - Concentração de pigmentos total dos três ensaios efetuados para cada tipo de tratamento escolhidos da dissertação de Vitor Sousa e média com desvio-padrão e dados normalizados em função do processo de AC

	Concentração Total de Pigmentos (mg/ 100g de biomassa)					Normalização em função do processo AC
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média	Desvio-padrão	
TOH 1	161,72	171,82	180,98	171,51	± 9,63	3,50
TOH 2	191,52	246,63	211,11	216,42	± 27,94	4,41
TOH 3	116,45	72,86	75,2	88,17	± 24,52	1,80
AC	50,3	42,58	54,25	49,04	± 5,94	1

Por outro lado, o comportamento similar para todas as categorias de impacte ambiental mostra que deverá existir um fator dominante no processo de extração. Tendo em conta a descrição do processo, é possível concluir que a componente energética deverá ter um papel dominante nos resultados da ACV, contribuindo para esse comportamento nos resultados. Efetivamente, a variação relativa entre os diferentes processos é constante para as diversas categorias de impacto, apoiando a conclusão de que a energia é um fator dominante em todos os processos, dado que outros contributos se encontram num plano secundários, não introduzindo variabilidade nos resultados.

Nos gráficos seguintes é feita uma análise da importância relativa dos resultados dos indicadores de categoria impacte dadas as características do sistema de produto, ou seja, dos componentes que compõem os itens de inventário que representam as fontes de impacte ambiental, e conjuntamente em

relação às várias operações unitárias do processo (fases de ciclo de vida do processo) que são o motivo da causa dos impactos ambientais.

A partir da análise relativa dos gráficos percentuais pretende-se:

- Perceber quais as características do sistema de produto que mais afetam os resultados de indicadores de impacto tanto para as categorias de impacto no seu global ou para categorias de impacto específicas;
- Estabelecer uma relação entre as componentes e etapas do processo, de forma a reforçar o entendimento dos resultados para as diversas categorias de impacto;
- Apontar explicações para as diferentes distribuições de resultados de impacto;
- Observar e interpretar a evolução dos contributos relativos ao longo dos diferentes processos, permitindo tirar conclusões.

Nas próximas figuras é feita uma análise da importância relativa dos vários itens de inventário, Figura 11, e dos passos de ciclo de vida, Figura 12. Na Figura 11 é possível observar que a eletricidade é o termo dominante em todas as categorias de impacto ambiental, seguido do etanol, tendo os restantes itens de inventário pouca importância.

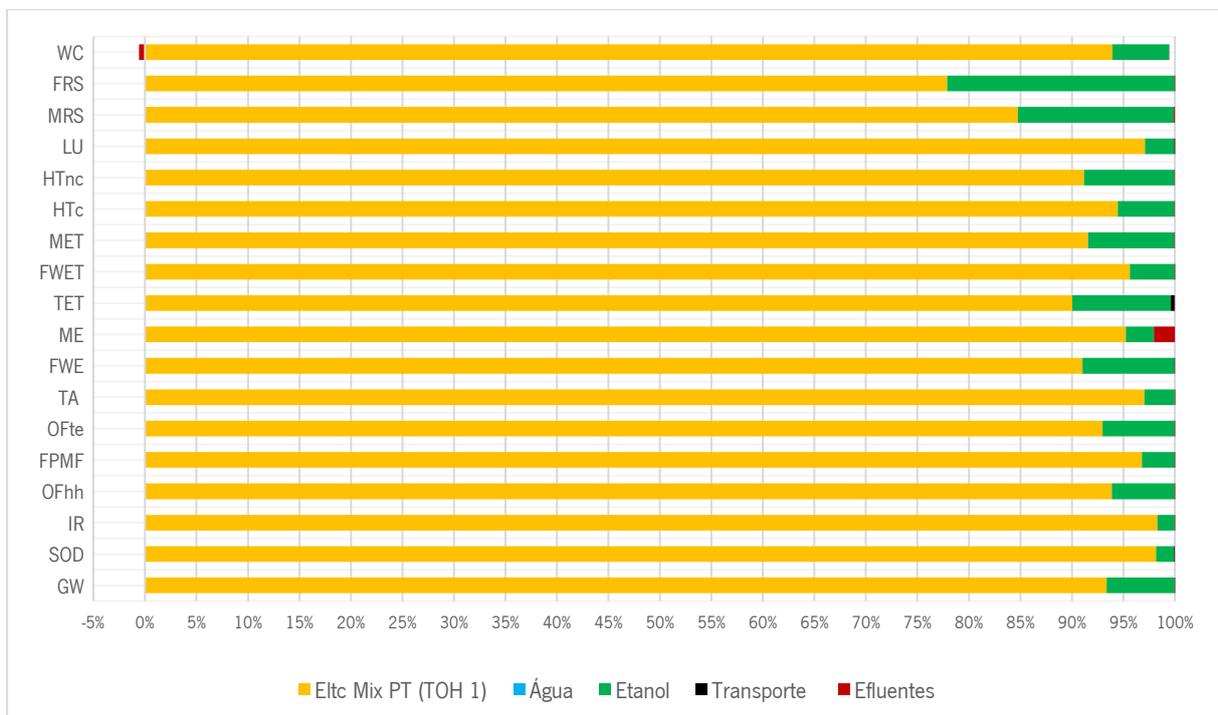


Figura 11 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 1 (mix elétrico português, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacto.

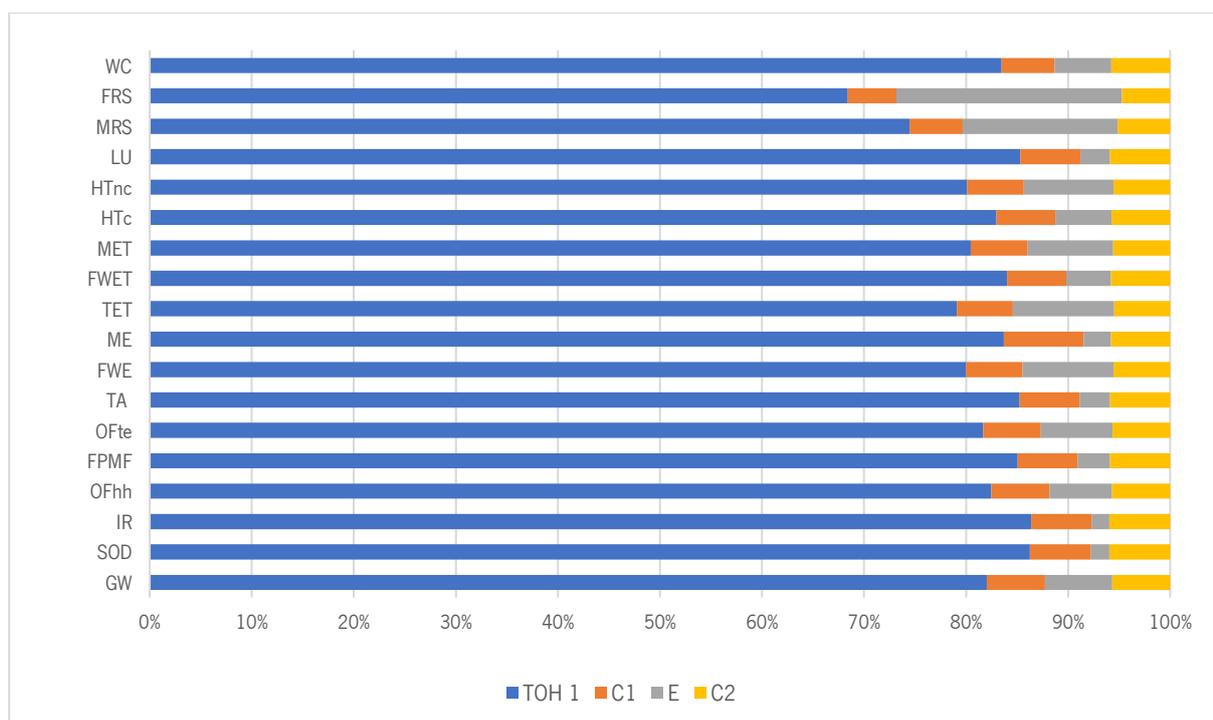


Figura 12 - Análise percentual de todas as categorias de impacto dado o contributo de cada etapa do processo TOH 1: pré-tratamento (TOH 1), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).

O consumo de eletricidade é a componente responsável por aproximadamente 95 % (em média) dos resultados de impacto para a maioria das categorias de impacto no processo total. A exceção das categorias de Escassez de Recursos Fósseis (FRS) e Escassez de Recursos Minerais (MRS), que apresentam, respetivamente, 17 % e 11 % de contribuição por parte do consumo de etanol. O tratamento de efluentes apenas contribui com 2 % na Eutrofização Marinha (ME) e 0,6 % como contribuição negativa para o Consumo de Água (WC), dado que a água é tratada e devolvida à natureza. A contribuição implicada pelo transporte de etanol é negligente, de apenas 0,3 % na categoria de Ecotoxicidade Terrestre (TET).

Observando ambos os gráficos, pode-se concluir que as etapas do pré-tratamento POH de 217 V/cm e centrifugações antes e após a extração são responsáveis pelo consumo de eletricidade no processo. Analisando a importância relativa dos vários passos do ciclo de vida, na Figura 12 constata-se que a fase do ciclo de vida correspondente ao pré-tratamento é sempre dominante, representando aproximadamente 83 % do valor global de cada indicador ambiental. Sendo que ambas centrifugações são responsáveis em média por 6 % dos resultados. A primeira centrifugação também engloba os impactos ambientais provenientes do tratamento de efluentes, mas com mínima contribuição, como vimos no gráfico anterior. A extração segue o mesmo perfil dado pelo consumo de etanol, isto porque, é a única entrada dessa etapa.

Nas Figuras 13 e 14 são apresentadas as distribuições percentuais dos resultados de impacto em vista as componentes envolvidas e as diferentes etapas, respetivamente, para o processo TOH2.

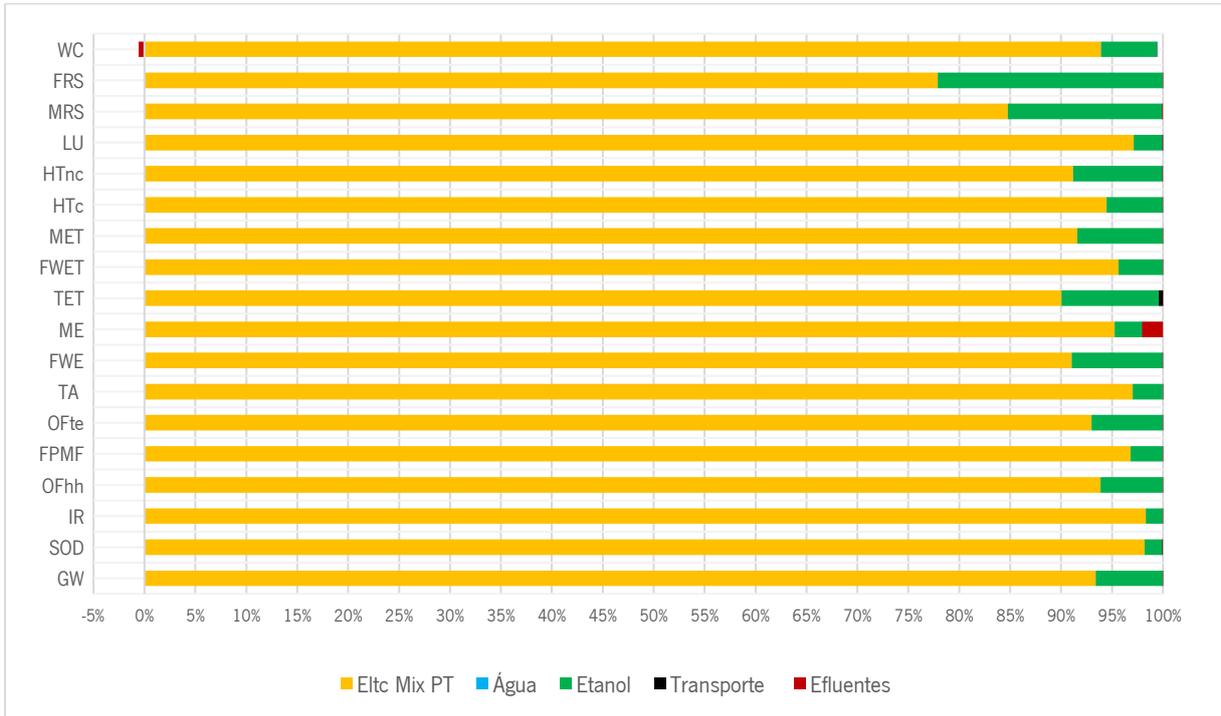


Figura 13 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 2 (mix elétrico português, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacto.

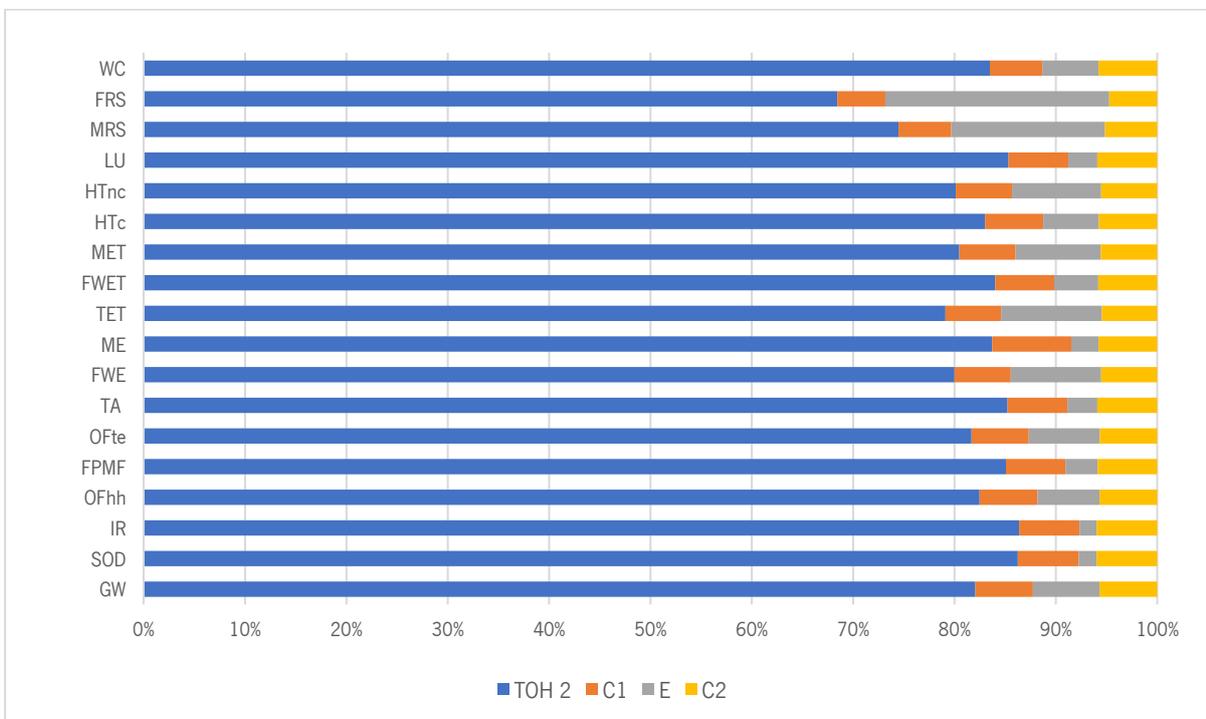


Figura 14 - Análise percentual de todas as categorias de impacto dado o contributo de cada etapa do processo TOH 2: pré-tratamento (TOH 2), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).

O consumo de eletricidade é a contribuição dominante no global do processo. Para o processo de TOH 2 o contributo de cada operação unitária é semelhante ao que acontece no processo TOH 1, dado que a grande diferença entre ambos os processos é o facto do rendimento de TOH 1 ser inferior ao TOH 2, contudo isto não afeta as percentagens de contribuição tanto por componente, como por etapa de processo, dado que afeta todas as componentes e etapas da mesma forma.

Nas Figuras 15 e 16 são apresentadas as distribuições percentuais dos resultados de impacte em vista as componentes envolvidas e as diferentes etapas, respetivamente, para o processo TOH 3.

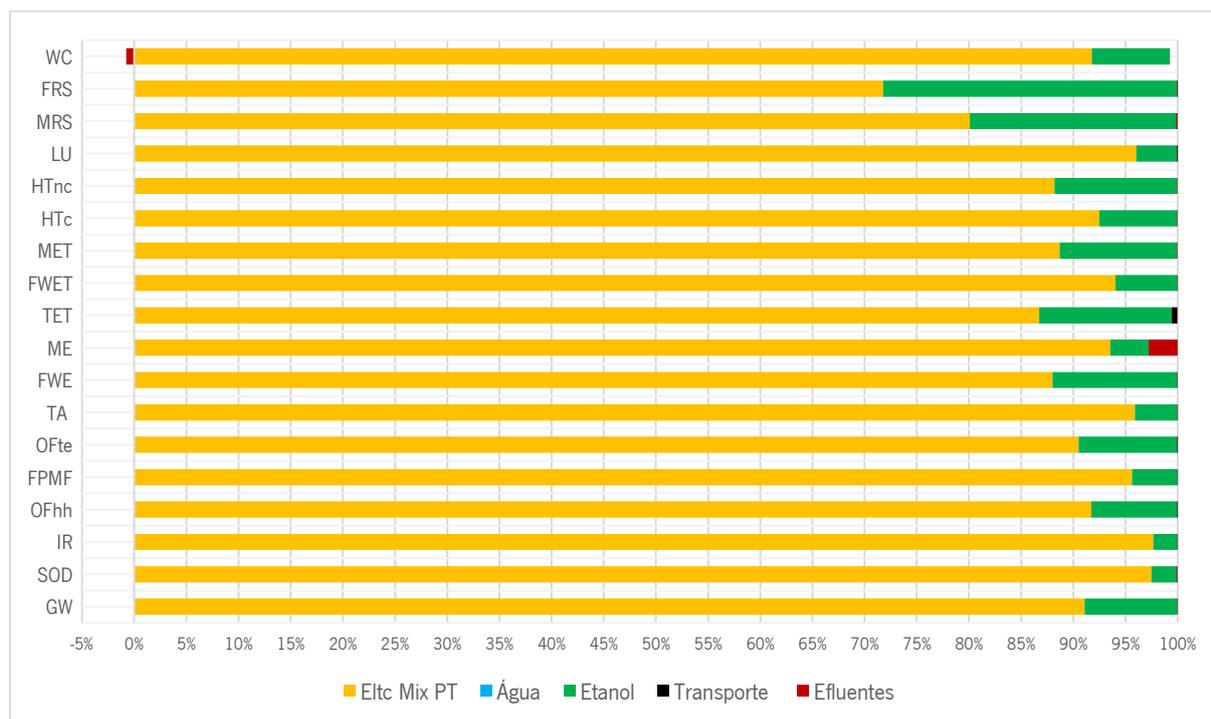


Figura 15 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 3 (*mix* elétrico português, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacte.

Para o processo de TOH3 observa-se que há uma pequena descida na percentagem de contribuição da eletricidade, para 93 %, em média, e aumento na relevância dos outros componentes. Isto é devido ao TOH3 ser o processo que apresenta menores consumos elétricos (mais especificamente no pré-tratamento). Assim, para as categorias de impacte ambiental com maior dependência pela contribuição do consumo de etanol ou da etapa de extração, ou seja, FRS e MRS, obtém-se valores superiores com 22 % e 15 % de contribuição em ambos gráficos, respetivamente. Analisando a figura abaixo, o pré-tratamento OH passa a ter 78 % em média de contribuição para os resultados globais, e ambas centrifugações passam a ter aproximadamente 8 % do bolo, em média, um acréscimo de 2 % face aos dois processos anteriores. O mesmo acréscimo ocorre na extração, em média.

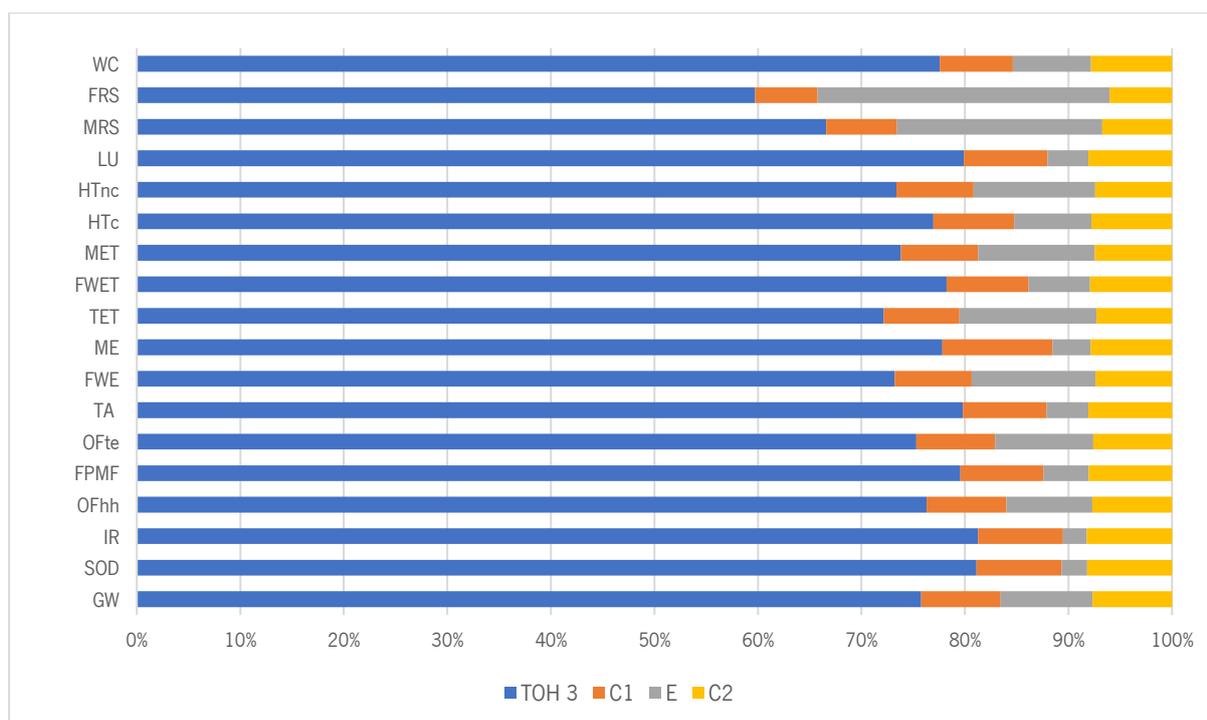


Figura 16 - Análise percentual de todas as categorias de impacte dado o contributo de cada etapa do processo TOH 3: pré-tratamento (TOH 3), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).

Nas Figuras 17 e 18 são apresentadas as distribuições percentuais dos resultados de impacte em vista as componentes envolvidas e as diferentes etapas, respetivamente, para o processo AC.

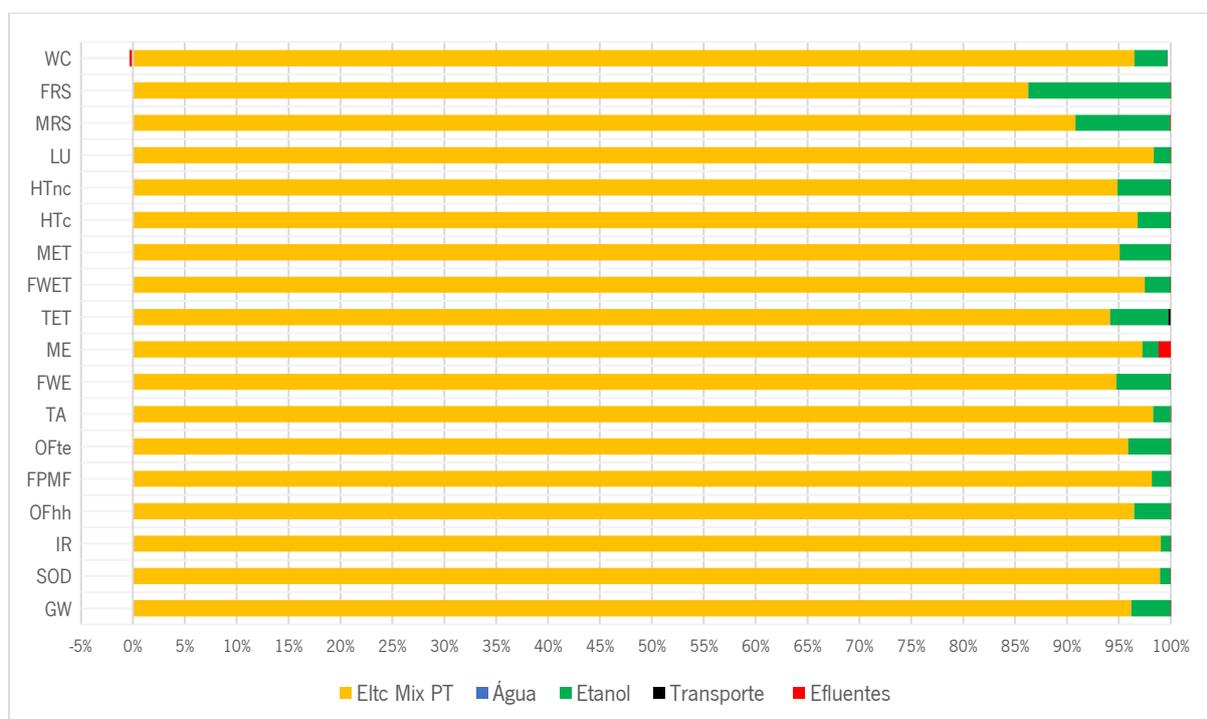


Figura 17 - Contributo percentual de cada componente presente no processo AC (mix elétrico português, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacte.

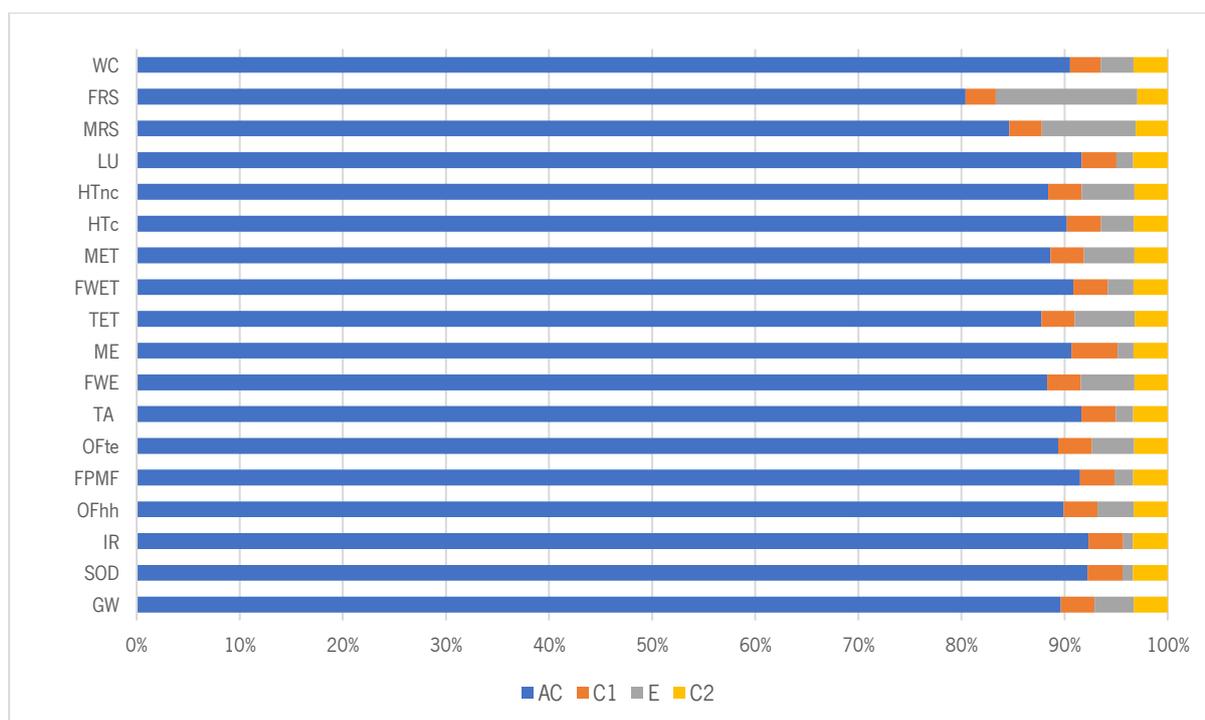


Figura 18 - Análise percentual de todas as categorias de impacto dado o contributo de cada etapa do processo AC: pré-tratamento (AC), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).

Para o processo AC, há um aumento do contributo da componente energética, dado pelo aumento de consumo de eletricidade no processo AC, mais propriamente no pré-tratamento de aquecimento convencional. Assim, o gráfico da Figura 17 demonstra que a componente dominante do processo, o consumo de eletricidade, constitui, em média, 97 % dos potenciais impactos para maioria das categorias. Devido a este aumento relativo, as outras componentes têm um decréscimo na sua contribuição, sendo que o consumo de etanol para as categorias FRS e MRS, têm uma contribuição de 10 % e 7 %, respetivamente.

A etapa de pré-tratamento sofreu um aumento significativo em comparação aos outros processos, com uma contribuição de 90 % para todas as categorias exceto os resultados dos indicadores de Escassez de Recursos Marinhos e Fósseis, que detêm uma maior percentagem de contribuição pela etapa de extração, sofrendo um decréscimo, assim com ambas as etapas de centrifugação.

Em suma, observa-se que para todos os casos, o contributo da componente energética, com o *mix* elétrico português, é responsável por maioria dos impactos calculados, sobretudo associada ao processo de pré-tratamento. O consumo de etanol é a segunda componente mais relevante, associada exclusivamente a etapa de extração. De igual forma, a componente de transporte está associada ao consumo de etanol, mas com contributo negligente em todas as categorias de impacto, sendo que para a categoria de impacto de Ecotoxicidade Terrestre (TET) existe um contributo vestigial, atingindo um

máximo de 0,4 % no processo TOH 3. A componente de consumo de água é considerada desprezável dado que os seus indicadores de impacto são irrelevantes para todos os tratamentos. E o tratamento de efluentes revela uma pequena percentagem de impacto nas categorias de Eutrofização Marinha (ME) e consumo de água (WC), com contributo negativo para esta última.

De facto, observa-se que a diferença nas distribuições relativas dos impactes potenciais está correlacionada com a variação do consumo de eletricidade no pré-tratamento, dependendo do processo. Todas as outras operações unitárias são similares entre os diferentes processos, não sendo responsáveis pelas diferenças no perfil relativo da avaliação de impactes do ciclo de vida. O processo TOH3 é o processo com menores consumos energéticos, os processos TOH1 e TOH2 apresentam os mesmos gastos de energia e o processo AC é o que releva mais consumo de eletricidade.

Em nota, verifica-se que as categorias FRS, MRS, HTnc, MET, TET, FWE, OFte, OFhh e GW, têm um maior contributo dado pelo consumo de etanol efetuado na etapa de extração, enquanto as restantes têm percentagens menores de contribuição pelo consumo de etanol. Estes resultados advêm dos fatores de caracterização que estabelecem um peso relativo de maior impacto potencial ao consumo de etanol quando comparado ao consumo de eletricidade. Só para as categorias de Depleção de Ozono Estratosférico (SOD) e Radiação Ionizante (IR) é que os fatores de caracterização são maiores para o consumo de energia, comparado com o consumo de etanol.

No geral desta AICV, verifica-se melhores desempenhos ambientais dos processos de OH, que possibilita melhores rendimentos com menores consumos de energia. E verifica-se o contributo dominante da componente energética em toda a AICV do nosso sistema de produto, sendo que apesar do consumo de etanol ser caracterizado por fatores de maior impacto ambiental devido à sua produção, a eletricidade necessária para o sistema em estudo é, sem dúvida alguma, a causa principal dos impactes ambientais potenciais.

4.3 Proposta de Melhoria

Como foi constatado anteriormente, o consumo de eletricidade é o fator dominante em todos os tratamentos, mesmo para o tratamento com resultados dos indicadores de categorias mais baixos, nomeadamente o processo TOH 2. Deste modo, existe a necessidade de estudar outras fontes de energia que possibilitem diminuir os impactos ambientais. Para isso, propõem-se um diferente modelo de caracterização para o gasto energético do sistema, utilizando eletricidade proveniente de painéis solares fotovoltaicos, como fonte de energia renovável.

Na Figura 19 é apresentado o perfil de AICV do processo global para os quatro diferentes tipos de tratamento, indicando os resultados de todos os indicadores de categorias de impacto, sendo que a componente energética do sistema é produzida por painéis solares fotovoltaicos. A compilação dos dados no mesmo gráfico facilita a comparação entre os diferentes tratamentos, contudo é necessária atenção para as alterações de ordem de grandeza na maioria das categorias de impacto, de forma a tornar acessível a visualização dos valores para escala do eixo considerado. O eixo estipulado pretende facilitar a comparação com os dados do gráfico da Figura 19, onde se apresentam os valores dos indicadores de impacto para o cenário com consumo elétrico de energia solar fotovoltaica.

No gráfico abaixo analisa-se os processos globais de extração com pré-tratamento de: Aquecimento ôhmico pulsado em duas condições diferentes, TOH 1 e TOH2, Aquecimento ôhmico habitual, TOH 3, e por fim Aquecimento convencional, AC.

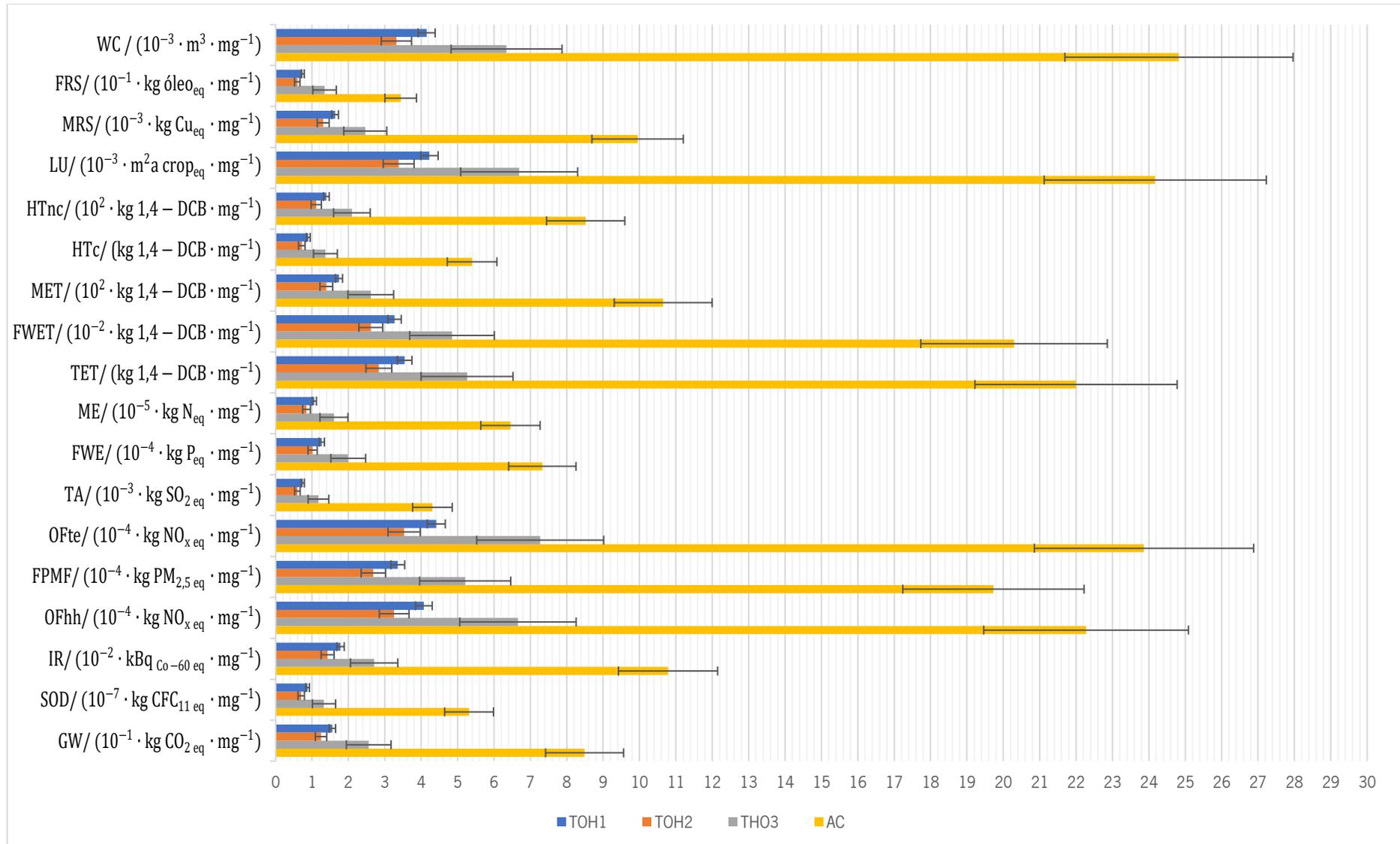


Figura 19 – Resultados dos indicadores de categoria de impacto do estudo dos processos com diferentes pré-tratamento (TOH1, TOH2, TOH3 e AC) com fonte de energia proveniente de painéis solares fotovoltaicos, apresentados em valores médios com desvio-padrão associado.

Em comparação com o gráfico da Figura 9, observamos que, para a Figura 19, para metade das categorias de impacto (GW, SOD, IR, OFhh, FPMF, OFte, TA, LU e WC) ocorre a descida em uma ordem de grandeza nos resultados dos indicadores, quando se considera a entrada de eletricidade proveniente da energia solar. Os restantes indicadores de impacto permaneceram com a mesma ordem de grandeza em relação aos apresentados na Figura 9, ou seja, no cenário inicial.

Tomando em conta a natural variabilidade experimental, as conclusões anteriores baseadas apenas nos valores médios podem deixar de ser válidas. Desse modo, foram incluídas na Figura 19 os valores do desvio padrão associados a cada categoria de impacto ambiental para cada tratamento, baseados nos dados experimentais. Observa-se que a inclusão da variabilidade não altera as conclusões anteriores, mostrando que as diferenças entre os tratamentos são significativas.

Comparando os diferentes processos, verifica-se o mesmo perfil de desempenho ambiental à semelhança do cenário inicial, sendo que para os processos de aquecimento óhmico os resultados dos indicadores de impacto são bastante mais baixos do que para o processo de aquecimento convencional, com o processo TOH2 com os valores mais baixos. Na Figura 20 são normalizados os dados de acordo com processo TOH2, de forma a analisar a relação entre os diferentes processos e observar a variação relativa para as diferentes categorias de impacto.

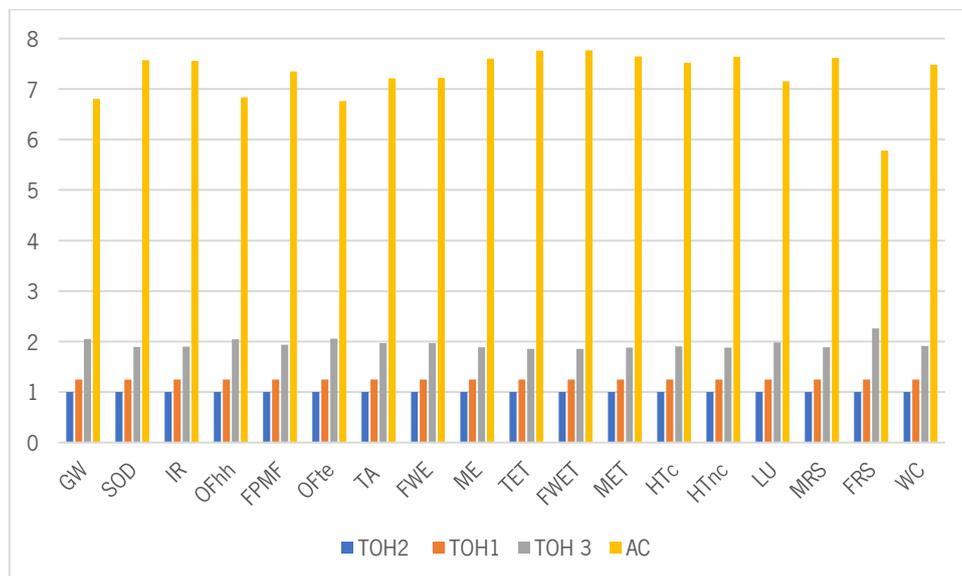


Figura 20 - Variações relativas dos resultados dos indicadores de categorias de impacto para os diferentes processos global, normalizados em relação ao processo com melhor desempenho, TOH2.

A partir do gráfico observa-se que, em média, o tratamento AC tem resultados 7,4 vezes superior ao TOH 2, enquanto a proporção para os tratamentos TOH1 e TOH3 é bastante mais baixa, sendo 1,25 e 1,92 vezes superior ao tratamento TOH2, respetivamente.

Em comparação ao cenário inicial (com *mix* elétrico português) constata-se uma relação semelhante entre os diferentes tratamentos, sendo que as justificações apresentadas anteriormente são indicadas para este cenário potencialmente mais ecológico. Ou seja, os diferentes rendimentos de extração de pigmentos e os diferentes consumos de energia elétrica em cada tratamento são fatores preponderantes nos resultados dos indicadores de impacto e nas discrepâncias destes entre os diferentes tratamentos.

Contudo, pode-se aferir que ocorre uma diminuição do contributo da componente energética nos impactos gerados pelo sistema. Sendo possível a diminuição dos impactos pelo uso de energias renováveis, assume-se que outras componentes como o consumo de etanol tenham mais relevância nos resultados de performance ambiental. Daí que, a variação relativa dos processos entre as diferentes categorias de impacto neste cenário seja menos uniforme quando comparado com o que se observa no gráfico da Figura 10. Pelos fatores relativos médios apresentados denota-se que o TOH 1 mantém o mesmo valor apresentado no gráfico da Figura 10, enquanto o TOH 3 apresenta uma ligeira subida e contrariamente o processo AC uma ligeira descida. Por exemplo, na categoria de Escassez de Recursos Fósseis (FRS), sendo a categoria com maior contributo por parte do consumo de etanol, comprova-se uma maior variabilidade nos resultados em relação ao tratamento TOH 2. Assim, sendo o TOH 3 o processo com menores consumos de energia, verifica-se um aumento da variação relativa ao TOH 2 e sendo o processo AC com maiores consumos energéticos verifica-se um decréscimo desta variação. A variação no caso do TOH 1 mantém-se igual dado que os consumos energéticos do TOH 1 e TOH 2 são iguais.

De forma a complementar a avaliação descrita acima, os gráficos seguintes permitem visualizar melhor os contributos de cada componente e etapa dos processos e averiguar as repercussões do uso de energia solar. Neste caso, só se irá analisar o processo TOH 2, uma vez que é o processo com melhor desempenho ambiental. Dado que os contributos de cada componente ou etapa do processo nos indicadores de impacto, para os restantes processos, segue a mesma tendência apresentada nas análises relativas das Figuras 11 até à 18, não há necessidade de estender a avaliação para os outros tratamentos. Isto porque as características do processamento das microalgas, ou seja, os dados de inventário, para os vários tratamentos são mantidas iguais, e da mesma forma os seus rendimentos. Por outro lado, os cálculos são só afetados pela mudança do modelo de caracterização que é aplicado da mesma maneira para todos os processos. Os gráficos de análise relativa para os restantes processos no cenário energético renovável estão disponíveis no Anexo B.

Nas Figuras 21 e 22 são apresentadas as distribuições percentuais dos resultados de impacto do processo TOH 2 em vista as componentes envolvidas e as diferentes etapas, respetivamente.

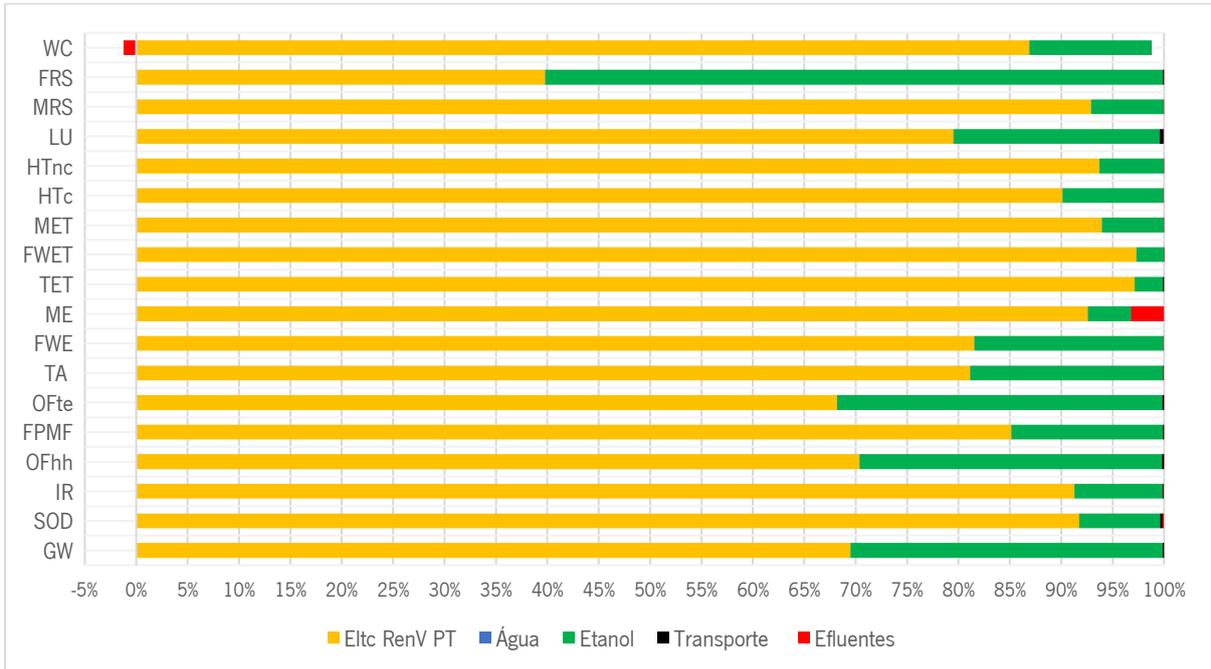


Figura 21 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 2 (eletricidade de painéis fotovoltaicos, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacto.

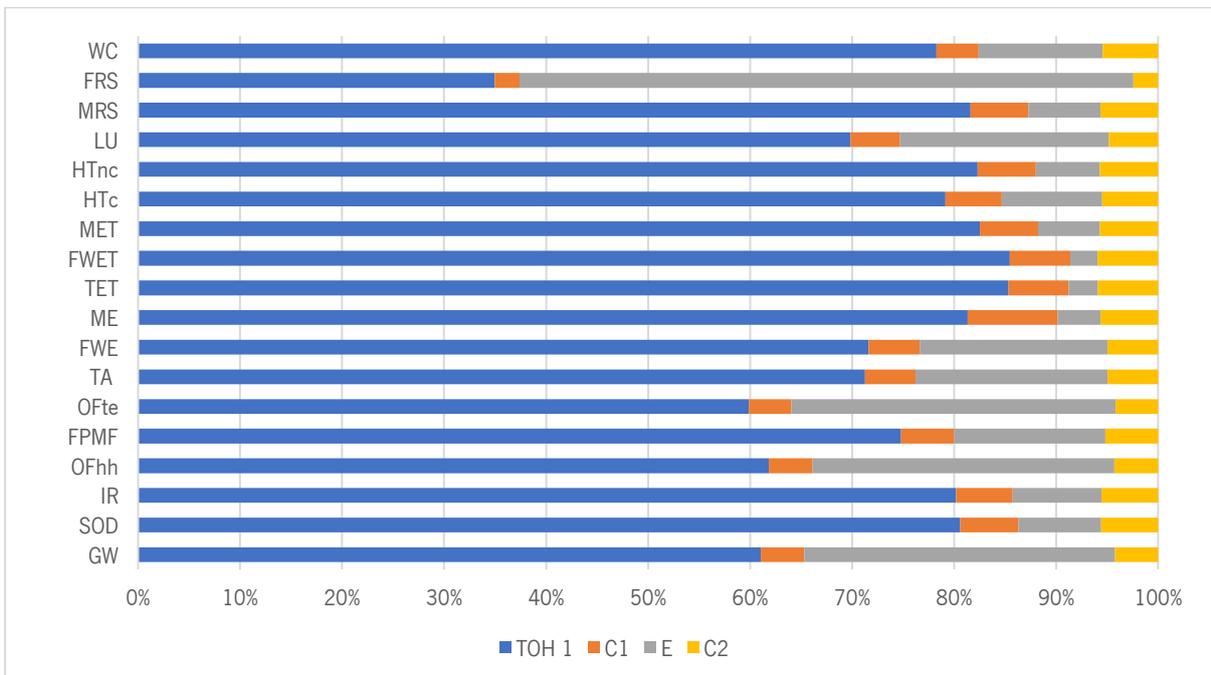


Figura 22 - Análise percentual de todas as categorias de impacto dado o contributo de cada etapa do processo TOH 2: pré-tratamento (TOH 1), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).

Pela análise do gráfico da Figura 21, conclui-se que a componente energética do sistema é responsável por 87 % dos resultados dos indicadores de impacto. As categorias de Alterações Climáticas (GW), de Formação de Ozono Fotoquímico, na saúde humana e ecossistemas terrestres, (OFhh e OFtt) e Escassez de Recursos Fósseis (FRS) são as categorias onde a componente de consumo de etanol é mais preponderante, com mais ou menos 23 % de incidência nos resultados para as três primeiras e 50 % na categoria FRS. Em média, a componente de consumo de etanol tem um peso de 12 % nos resultados dos indicadores. O tratamento de efluentes detém 3,2 % de contributo para a categoria de Eutrofização Marinha (ME) e 1,26 % de contributo negativo para o Consumo de Água (WC). A contribuição implicando o transporte de etanol é negligente, sendo o valor mais alto de 0,28 % na categoria de Uso do solo (LU). O contributo dado pelo consumo de água é inexistente, para todos os efeitos.

Quanto ao gráfico da Figura 22, observa-se que as etapas de pré-tratamento e de centrifugação antes e após a extração são responsáveis pelo consumo de eletricidade no processo. Sendo que 77% deve-se ao pré-tratamento e ambas a centrifugação tem aproximadamente 5 % de contributo nos resultados dos indicadores. A extração segue o mesmo perfil dado pelo consumo de etanol, sendo que é a única entrada desta etapa.

Desta forma, pode-se concluir que, em comparação ao processo TOH 2 no cenário inicial, há de facto uma descida na contribuição da componente energética para os potenciais impactos na maioria das categorias, diminuindo, em termos médios, de 95 % para 87 %, uma descida de 8 %. Em contraste, observa-se que para algumas categorias de impacto há um aumento do contributo da componente energética, como por exemplo, para a categoria de Escassez de Recursos Minerais, em que neste cenário a contribuição do consumo energético aumenta nos resultados, sendo que a margem de contributo por parte do consumo de etanol é cortada a metade, de 11 % para 5 % de contribuição.

No seguimento da avaliação da proposta de melhoria, dado pelo cenário energético renovável com aproveitamento da energia solar, estão representados no gráfico da Figura 23, os valores absolutos de modo a comparar os resultados obtidos para o tratamento TOH 2 para ambos os cenários. Na Figura 24, é feita uma comparação normalizada ao cenário inicial de forma a observar a variação relativa entre os dois cenários para as diferentes categorias de impacto. A Tabela 13 mostra os resultados dos indicadores entre os dois cenários para o processo TOH 2, em valores absolutos e valores percentuais normalizados em relação ao cenário inicial, de maneira que se possa efetuar uma análise mais objetiva. Conjuntamente, é apontado o desvio-padrão associado aos valores dos indicadores de impacto dado que os resultados foram calculados em triplicado. Denota-se que os valores de desvio-padrão não afetam quaisquer conclusões comparativas que se possam aferir com o uso dos valores médios calculados.

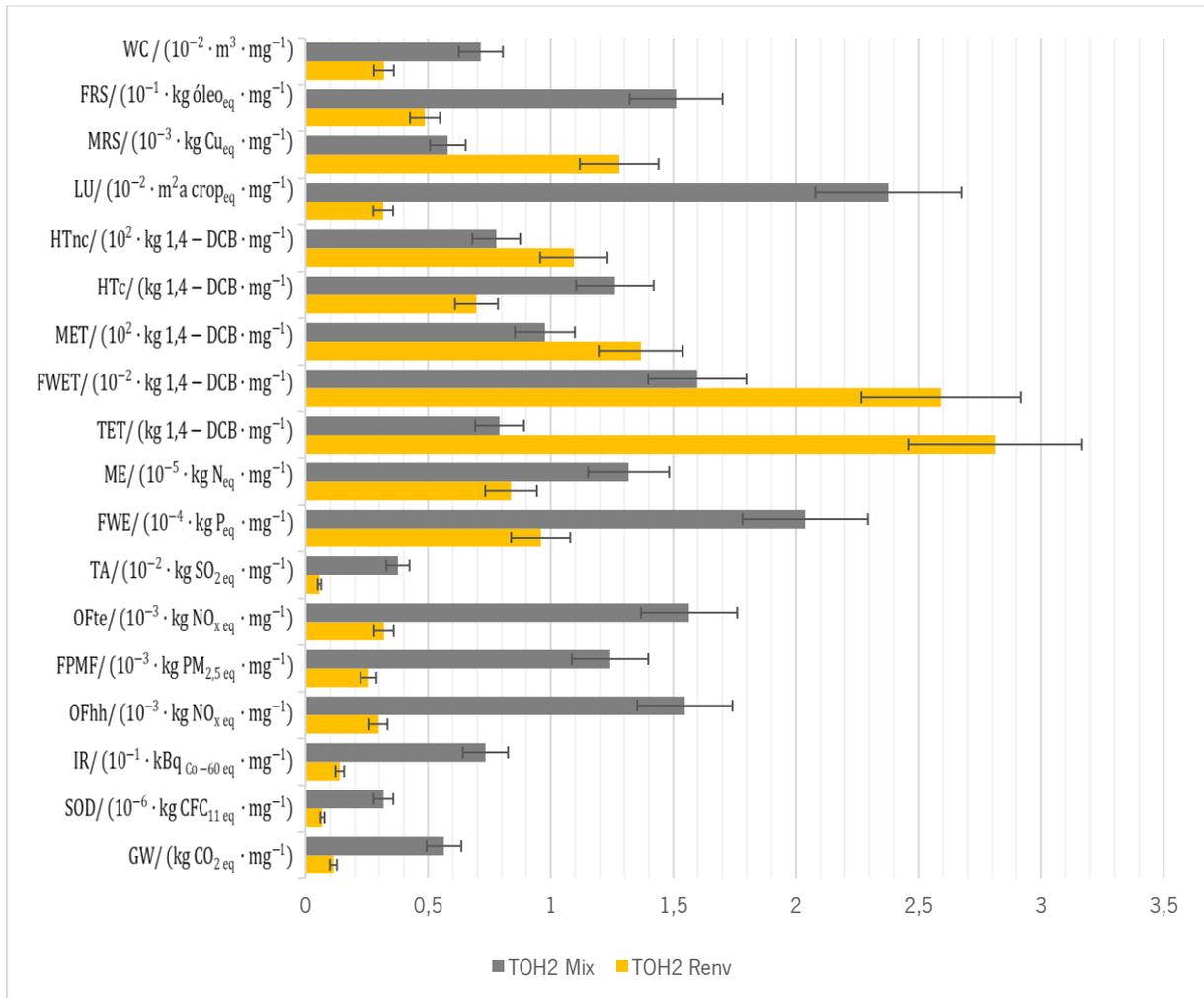


Figura 23 - Comparação absoluta dos resultados dos indicadores de impacto entre o cenário inicial (com eletricidade proveniente da rede de energia nacional) e o cenário renovável (com eletricidade proveniente de painéis fotovoltaicos).

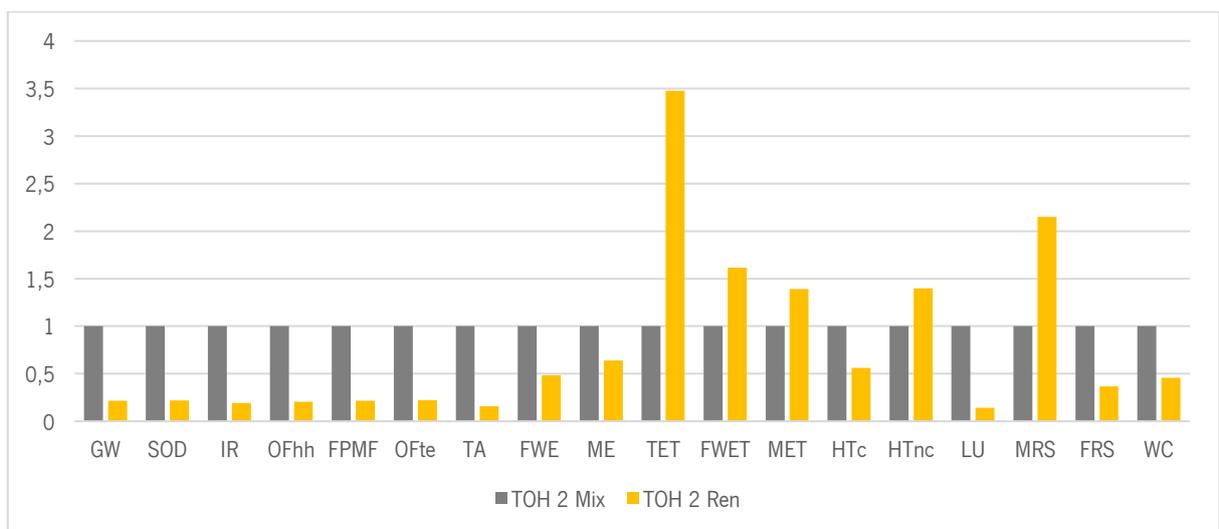


Figura 24 - Comparação relativa dos resultados dos indicadores de impacto para o processo TOH 2 para ambos os cenários, com normalização dos dados em relação ao cenário inicial.

Tabela 13 - Resultados dos indicadores de categoria do processo TOH 2 para ambos os cenários em valores absolutos e normalização dos resultados relativamente ao cenário inicial

Categorias	Cenário Inicial (TOH 2)	Desvio-Padrão	Cenário Renovável (TOH 2)	Desvio-Padrão	Varição com normalização ao cenário inicial
GW	$5,64 \times 10^{-1}$	$7,08 \times 10^{-2}$	$1,13 \times 10^{-1}$	$1,42 \times 10^{-2}$	20 %
SOD	$3,18 \times 10^{-7}$	$3,99 \times 10^{-8}$	$6,85 \times 10^{-8}$	$8,60 \times 10^{-9}$	22 %
IR	$7,34 \times 10^{-2}$	$9,21 \times 10^{-3}$	$1,39 \times 10^{-2}$	$1,74 \times 10^{-3}$	19 %
OFhh	$1,55 \times 10^{-3}$	$1,94 \times 10^{-4}$	$2,97 \times 10^{-4}$	$3,73 \times 10^{-5}$	19 %
FPMF	$1,24 \times 10^{-3}$	$1,56 \times 10^{-4}$	$2,57 \times 10^{-4}$	$3,22 \times 10^{-5}$	21 %
OFte	$1,56 \times 10^{-3}$	$1,96 \times 10^{-4}$	$3,19 \times 10^{-4}$	$4,01 \times 10^{-5}$	20 %
TA	$3,77 \times 10^{-3}$	$4,73 \times 10^{-4}$	$5,64 \times 10^{-4}$	$7,08 \times 10^{-5}$	15 %
FWE	$2,04 \times 10^{-4}$	$2,56 \times 10^{-5}$	$9,59 \times 10^{-5}$	$1,20 \times 10^{-5}$	47 %
ME	$1,32 \times 10^{-5}$	$1,65 \times 10^{-6}$	$8,38 \times 10^{-6}$	$1,05 \times 10^{-6}$	64 %
TET	$7,91 \times 10^{-1}$	$9,93 \times 10^{-2}$	2,81	$3,53 \times 10^{-1}$	355 %
FWET	$1,60 \times 10^{-2}$	$2,01 \times 10^{-3}$	$2,59 \times 10^{-2}$	$3,25 \times 10^{-3}$	162 %
MET	$9,76 \times 10^1$	$1,22 \times 10^1$	$1,37 \times 10^2$	$1,72 \times 10^1$	140 %
HTc	1,26	$1,58 \times 10^{-1}$	$6,97 \times 10^{-1}$	$8,75 \times 10^{-2}$	55 %
HTnc	$7,76 \times 10^1$	9,76	$1,09 \times 10^2$	$1,37 \times 10^1$	141 %
LU	$2,38 \times 10^{-2}$	$2,98 \times 10^{-3}$	$3,17 \times 10^{-3}$	$3,98 \times 10^{-4}$	13 %
MRS	$5,80 \times 10^{-4}$	$7,28 \times 10^{-5}$	$1,28 \times 10^{-3}$	$1,61 \times 10^{-4}$	220 %
FRS	$1,51 \times 10^{-1}$	$1,90 \times 10^{-2}$	$4,87 \times 10^{-2}$	$6,11 \times 10^{-3}$	32 %
WC	$7,15 \times 10^{-3}$	$8,97 \times 10^{-4}$	$3,20 \times 10^{-3}$	$4,01 \times 10^{-4}$	45 %

Através dos dados fornecidos, podemos observar que para a maioria das categorias de impacte há uma descida nos resultados dos indicadores de impacte. O potencial de Alterações Climáticas (GW) revela que as emissões de carbono equivalente (pegada de carbono) para o cenário renovável é aproximadamente 1/5 do valor dado para o cenário inicial, isto porque não há a queima de combustíveis fósseis para produção de energia, e menos emissões de CO₂ libertadas na atmosfera. Outras categorias sofrem o mesmo decréscimo devido a este aspeto ambiental.

Por outro lado, constata-se que as categorias de impacte de Escassez de Recursos Fósseis (MRS), Toxicidade Humana não carcinogénica (HTnc), Ecotoxicidade Marinha (MET), Ecotoxicidade de Água Doce (FWET) e Ecotoxicidade Terrestre (TET) sofreram um aumento significativo nos indicadores de impacte potencial, especialmente para as categorias TET e MRS, onde a categoria MRS obtém resultados superiores ao dobro dos resultados calculados no cenário inicial (com aumento em 120 %) e a categoria TET com resultados superiores ao triplo dos valores dados no caso inicial (com aumento em 255 %).

O aumento dos impactos potenciais nestas categorias é causado pela os impactos da produção dos painéis fotovoltaicos. As tecnologias utilizadas nos painéis solares necessitam da exploração de recursos naturais para obtenção de matérias-primas, como metais (abundantes e raros) e o processamento do silício necessário para vários componentes dos painéis é um dos principais contributos dos impactos ambientais associados a sua produção [46, 47].

Apesar dos aumentos nas cinco categorias descritas nos parágrafos anteriores, a restante categoria tem uma diminuição substancial dos seus indicadores de impacto, podendo afirmar que há melhorias no desempenho ambiental do sistema de produto. Para além disso a facilidade de instalação e a possibilidade de localização dos painéis fotovoltaicos perto do sítio de produção constituem vantagens destes sistemas de produção energética. Conjuntamente, a escolha desta fonte energética renovável em contraste com outras fontes renováveis (e.g. energia eólica) passa pela energia solar ser a mais indicada para projetos de pequena escala (processos laboratoriais), onde não há necessidade de tensões altas de corrente.

5 Conclusões e Recomendações

As tecnologias de extração baseados em campos elétricos são atualmente consideradas uma vertente promissora no contexto da biotecnologia das microalgas, e com crescente importância dada a atenção dos mercados para o potencial dos produtos retirados destes organismos. Para além do interesse económico, a procura de meios mais sustentáveis destaca as microalgas como candidatos para novos projetos industriais com melhor desempenho ambiental. Desta forma, procurou-se neste trabalho quantificar e comparar os impactos ambientais potenciais de sistemas de extração assistidos com tecnologias de Aquecimento Óhmico (OH), utilizando uma perspectiva de ciclo de vida, de acordo com as normas ISO 14040:2006 e ISO 14044:2006. Para tal, fez-se a análise de quatro processos de: aquecimento óhmico pulsado (TOH 1 e TOH 2), aquecimento óhmico (TOH 3) e aquecimento convencional (AC). Os objetivos do estudo foram alcançados, propondo melhorias ao desempenho ambiental das tecnologias de campos elétricos. Contudo, a falta de literatura sobre o tema abordado não permitiu tirar mais conclusões e consolidar os resultados calculados.

Entre os processos analisados, o processo TOH 2 com auxílio de campos elétricos de 133 V/cm durante 15 segundos, mostrou-se o processo com melhores indicadores ambientais para a extração de pigmentos das microalgas em todas as categorias de impacto, devido a sua elevada eficiência e baixo consumo energético. Em média, os resultados dos indicadores para o processo de AC são 7,7 vezes superiores aos resultados de TOH2, enquanto para os processos TOH1 e TOH3 são 1,25 e 1,87 vezes superiores, respetivamente. Demonstrando a capacidade dos sistemas de OH de reduzir o gasto energético dos processos e alcançar melhores rendimentos.

De facto, a componente energética do sistema constitui-se como o fator dominante nos resultados dos indicadores de impacto em todos os tipos de tratamento, principalmente associado a implementação do pré-tratamento. Para o processo TOH2, o consumo de eletricidade é responsável, em média, por 95 % das contribuições nos resultados dos indicadores para a maioria das categorias de impacto no processo global, sendo 83 % devido a etapa de aquecimento óhmico pulsado. À exceção das categorias de Escassez de Recursos Fósseis (FRS) e Escassez de Recursos Minerais (MRS), que apresentam, respetivamente, 17 % e 11 % de contribuição por parte do consumo de etanol, que é o segundo fator de contributo nos resultados dos impactos potenciais efetuado na etapa de extração.

Na sequência do estudo foi apresentada uma proposta de melhoria com o objetivo de mitigar os

impactos potenciais causados pela vertente energética, visto ser a componente dominante no sistema de produto. Para isso, considerou-se o uso de eletricidade produzida por painéis fotovoltaicos, invés do cenário inicial com uso de eletricidade da rede nacional portuguesa, para o processo TOH2. Pela comparação entre os dois cenários observou-se que a maioria das categorias de impacto tiveram uma diminuição substancial dos seus indicadores de impacto. A pegada de carbono, com uso de energia solar, diminuiu aproximadamente 1/5 face ao cenário inicial. Por outro lado, constata-se que as categorias de impacto de Escassez de Recursos Fósseis (MRS), Toxicidade Humana não carcinogénica (HTnc), Ecotoxicidade Marinha (MET), Ecotoxicidade de Água Doce (FWET) e Ecotoxicidade Terrestre (TET) sofreram um aumento nos indicadores de impacto potencial, especialmente para a categoria de MRS com aumento de 120 % face aos resultados do cenário inicial e a categoria de TET com um aumento de 255 %. Na generalidade, a componente energética teve uma diminuição de 8 %, em média, na contribuição em impactos potenciais do sistema. Em suma, o aproveitamento da energia solar é recomendado para nosso processo, beneficiando de um melhor desempenho ambiental em todo o seu ciclo de vida.

6 Bibliografia

- [1] E. Jacob-Lopes, M. M. Maroneze, M. I. Queiroz, and L. Q. Zepka, *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*. 2020.
- [2] P. Geada *et al.*, “Algal proteins : Production strategies and nutritional and functional properties,” *Bioresour. Technol.*, no. February, 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125125.
- [3] P. Geada *et al.*, “Electrotechnologies applied to microalgal biotechnology – Applications, techniques and future trends,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 94, no. June, pp. 656–668, 2018, doi: 10.1016/j.rser.2018.06.059.
- [4] V. E. Sousa, “Evaluation of Ohmic Heating processing on extraction of bioactive compounds from microalgae biomass,” 2020.
- [5] P. S. Corrêa, W. G. Morais Júnior, A. A. Martins, N. S. Caetano, and T. M. Mata, “Microalgae biomolecules: Extraction, separation and purification methods,” *Processes*, vol. 9, no. 1, pp. 1–40, 2021, doi: 10.3390/pr9010010.
- [6] O. Pulz and W. Gross, “Valuable products from biotechnology of microalgae,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 65, no. 6, pp. 635–648, 2004, doi: 10.1007/s00253-004-1647-x.
- [7] G. Reinhardt, “LCA of algal products: state of the art and perspectives,” 2016, no. December, pp. 1–54, [Online]. Available: <https://www.cwla.org/about-us/%0Ahttps://www.cofcointernational.com/who-we-are/what-we-do/>.
- [8] A. Tukker *et al.*, *Environmental Impact of Products (EIPRO): Analysis of the life cycle environmental impacts related to the final consumption of the EU25*, vol. EUR 22284, no. May. 2006.
- [9] E. Commission, “Food 2030.” https://ec.europa.eu/info/research-and-innovation/research-area/environment/bioeconomy/food-systems/food-2030_en#10-pathways-to-achieve-the-goals (accessed Jun. 15, 2022).
- [10] C. Nitsos, R. Filali, B. Taidi, and J. Lemaire, “Current and novel approaches to downstream processing of microalgae: A review,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 45, 2020, doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107650.

- [11] M. Sakr and S. Liu, "A comprehensive review on applications of ohmic heating (OH)," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 39, pp. 262–269, 2014, doi: 10.1016/j.rser.2014.07.061.
- [12] A. Yousuf, *Fundamentals of microalgae cultivation*. Elsevier Inc., 2019.
- [13] L. Gouveia, A. P. Batista, I. Sousa, A. Raymundo, and N. M. Bandarra, *Microalgae in novel food products*. 2009.
- [14] M. F. Barreiro, "Microalgae-Derived Pigments: A 10-Year Bibliometric Review and Industry and Market Trend Analysis," pp. 1–23, 2020.
- [15] natural products Allmicroalgae, "O Nosso Processo: Microalgas." <https://www.allmicroalgae.com/pt-pt/o-nosso-processo-microalgas/> (accessed Dec. 11, 2021).
- [16] Z. T. Alkanan, A. B. Altemimi, A. R. S. Al-Hilphy, D. G. Watson, and A. Pratap-Singh, "Ohmic heating in the food industry: Developments in concepts and applications during 2013–2020," *Appl. Sci.*, vol. 11, no. 6, 2021, doi: 10.3390/app11062507.
- [17] Engel, *Green Food Processing Techniques. Preservation, transformation and extraction*. Elsevier Inc., 2014.
- [18] C. M. R. Rocha *et al.*, "Electric field-based technologies for valorization of bioresources," *Bioresour. Technol.*, vol. 254, no. November 2017, pp. 325–339, 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2018.01.068.
- [19] A. A. bin Azmi *et al.*, "Current application of electrical pre-treatment for enhanced microalgal biomolecules extraction," *Bioresour. Technol.*, vol. 302, no. January, p. 122874, 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2020.122874.
- [20] F. Pagels, R. N. Pereira, H. M. Amaro, and V. Vasconcelos, "Continuous pressurized extraction versus electric fields-assisted extraction of cyanobacterial pigments," vol. 334, no. May, pp. 35–42, 2021, doi: 10.1016/j.jbiotec.2021.05.004.
- [21] F. Pagels, R. N. Pereira, A. A. Vicente, and A. C. Guedes, "Extraction of pigments from microalgae and cyanobacteria-a review on current methodologies," *Appl. Sci.*, vol. 11, no. 11, 2021, doi: 10.3390/app11115187.
- [22] L. C. Su, Y. H. Hsu, and H. Y. Wang, "Enhanced labeling of microalgae cellular lipids by application of an electric field generated by alternating current," *Bioresour. Technol.*, vol. 111, pp. 323–327,

- 2012, doi: 10.1016/j.biortech.2012.01.180.
- [23] D. P. Jaeschke, T. Menegol, R. Rech, G. D. Mercali, and L. D. F. Marczak, "Carotenoid and lipid extraction from *Heterochlorella luteoviridis* using moderate electric field and ethanol," *Process Biochem.*, vol. 51, no. 10, pp. 1636–1643, 2016, doi: 10.1016/j.procbio.2016.07.016.
- [24] G. Fraccola *et al.*, "Enhancing extraction of food-grade pigments from the microalgae *Chlorella vulgaris* through application of ohmic heating," *Poster Sess. Present. Meet. 2016 IFT, Chicago*, p. 2016, 2016, [Online]. Available: <https://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/45038>.
- [25] A. Patrícia *et al.*, "Comparison of pretreatment methods for total lipids extraction from mixed microalgae," *Renew. Energy*, vol. 63, pp. 762–766, 2014, doi: 10.1016/j.renene.2013.10.038.
- [26] P. Ferreira-santos *et al.*, "LWT - Food Science and Technology Influence of thermal and electrical effects of ohmic heating on C-phycoyanin properties and biocompounds recovery from *Spirulina platensis*," vol. 128, no. April, 2020, doi: 10.1016/j.lwt.2020.109491.
- [27] NP EN ISO 14040:2006, "Gestão ambiental/Avaliação do ciclo de vida/Princípios e enquadramento.," *Norma Port.*, vol. 2005, p. 29, 2006.
- [28] IPQ, "NP EN ISO 14044:2010 - Avaliação do ciclo de vida - Requisitos e linhas de orientação," 2010.
- [29] S. M. Rodrigues, "Mestrado Integrado em Engenharia do Ambiente Análise de Ciclo de Vida de um Vinho do Porto Dissertação de Mestrado Departamento de Engenharia Química," 2020.
- [30] M. Z. Hauschild *et al.*, "Identifying best existing practice for characterization modeling in life cycle impact assessment," *Int. J. Life Cycle Assess.*, vol. 18, no. 3, pp. 683–697, 2013, doi: 10.1007/s11367-012-0489-5.
- [31] P. Pérez-López, S. González-García, R. G. Ulloa, J. Sineiro, G. Feijoo, and M. T. Moreira, "Life cycle assessment of the production of bioactive compounds from *Tetraselmis suecica* at pilot scale," *J. Clean. Prod.*, vol. 64, pp. 323–331, 2014, doi: 10.1016/j.jclepro.2013.07.028.
- [32] Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia, "DIRECTIVA 2008/98/CE de 19 de Novembro de 2008 relativa aos resíduos e que revoga certas directivas," *J. Of. da União Eur.*, vol. 9, pp. 3–30, 2008.
- [33] K. W. Chew *et al.*, "Microalgae biorefinery: High value products perspectives," *Bioresour. Technol.*,

- vol. 229, pp. 53–62, 2017, doi: 10.1016/j.biortech.2017.01.006.
- [34] M. Bussa, A. Eisen, C. Zollfrank, and H. Röder, “Life cycle assessment of microalgae products: State of the art and their potential for the production of polylactid acid,” *J. Clean. Prod.*, vol. 213, pp. 1299–1312, 2019, doi: 10.1016/j.jclepro.2018.12.048.
- [35] D. A. Lopes Silva, A. O. Nunes, C. M. Piekarski, V. A. da Silva Moris, L. S. M. de Souza, and T. O. Rodrigues, “Why using different Life Cycle Assessment software tools can generate different results for the same product system? A cause–effect analysis of the problem,” *Sustain. Prod. Consum.*, vol. 20, no. July 2019, pp. 304–315, 2019, doi: 10.1016/j.spc.2019.07.005.
- [36] N. C. Mendes, C. Bueno, and A. R. Ometto, “Life Cycle Impact Assessment: A review of the main methods,” *Producao*, vol. 26, no. 1, pp. 160–175, 2015, doi: 10.1590/0103-6513.153213.
- [37] P. Pérez-López *et al.*, “Life cycle assessment of in situ mariculture in the Mediterranean Sea for the production of bioactive compounds from the sponge *Sarcotragus spinosulus*,” *J. Clean. Prod.*, vol. 142, pp. 4356–4368, 2017, doi: 10.1016/j.jclepro.2016.11.137.
- [38] S. G. Papadaki, K. E. Kyriakopoulou, and M. K. Krokida, “Life cycle analysis of microalgae extraction techniques,” *Chem. Eng. Trans.*, vol. 52, pp. 1039–1044, 2016, doi: 10.3303/CET1652174.
- [39] S. Papadaki, K. Kyriakopoulou, I. Tzovenis, and M. Krokida, “Environmental impact of phycocyanin recovery from *Spirulina platensis* cyanobacterium,” *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 44, pp. 217–223, 2017, doi: 10.1016/j.ifset.2017.02.014.
- [40] A. Käferböck, S. Smetana, R. de Vos, C. Schwarz, S. Toepfl, and O. Parniakov, “Sustainable extraction of valuable components from *Spirulina* assisted by pulsed electric fields technology,” *Algal Res.*, vol. 48, no. April, 2020, doi: 10.1016/j.algal.2020.101914.
- [41] M. Da and C. Ferreira, “Extracção verde de composto marinhos bioactivos para aplicação industrial,” Instituto Superior de Engenharia do Porto, 2017.
- [42] P. Pérez-López *et al.*, “Life cycle assessment of the production of the red antioxidant carotenoid astaxanthin by microalgae: From lab to pilot scale,” *J. Clean. Prod.*, vol. 64, pp. 332–344, 2014, doi: 10.1016/j.jclepro.2013.07.011.
- [43] K. Kyriakopoulou, S. Papadaki, and M. Krokida, “Life cycle analysis of β -carotene extraction techniques,” *J. Food Eng.*, vol. 167, pp. 51–58, 2015, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2015.03.008.

- [44] fisherscientific, “Velp Scientifica Magnetic stirrer AGE.” <https://www.fishersci.co.uk/shop/products/age-model-epoxy-painted-metal-magnetic-stirrer/11775694> (accessed Oct. 08, 2021).
- [45] N. Winterton, “The green solvent: a critical perspective,” *Clean Technol. Environ. Policy*, vol. 23, no. 9, pp. 2499–2522, 2021, doi: 10.1007/s10098-021-02188-8.
- [46] “Life Cycle Assessment.” <https://www.rivm.nl/en/life-cycle-assessment-lca/recipe> (accessed Jun. 15, 2022).
- [47] Pr. Fact-based sustainability, “ReCipe,” 2016. <https://pre-sustainability.com/articles/recipe/> (accessed Jun. 20, 2022).
- [48] J. Lieberei and S. H. Gheewala, “Resource depletion assessment of renewable electricity generation technologies—comparison of life cycle impact assessment methods with focus on mineral resources,” *Int. J. Life Cycle Assess.*, vol. 22, no. 2, pp. 185–198, 2017, doi: 10.1007/s11367-016-1152-3.
- [49] A. Rashedi and T. Khanam, “Life cycle assessment of most widely adopted solar photovoltaic energy technologies by mid-point and end-point indicators of ReCiPe method,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 27, no. 23, pp. 29075–29090, 2020, doi: 10.1007/s11356-020-09194-1.

Anexo A: Concentrações e condições de extração

De forma a uniformizar os dados de inventário em referência a unidade funcional (1 mg de pigmentos), foi necessário utilizar os dados de concentrações de extração de Clorofila A, Clorofila B e Carotenoides resultante do trabalho laboratorial descrito na dissertação de Vitor E. Sousa [4]. Na tabela X é demonstrado os valores de concentração por 100 g de biomassa para os quatro tratamentos estudados na ACV com três ensaios cada. As condições de funcionamento para os tratamentos escolhidos estão descritas na Tabela X, sendo as condições para o qual se obteve os melhores rendimentos.

Tabela 14 - Concentrações de extração de Clorofila A, Clorofila B e Carotenoides por 100 g de biomassa para cada ensaio para os diferentes tipo de tratamento e a média com desvio-padrão associado

Trat.	Ensaio	Clorofila A (mg/100 g)	Média	Clorofila B (mg/100 g)	Média	Carotenoides (mg/100 g)	Média	Total
TOH 1	1	101,63	101,85 ± 0,19	31,04	34,95 ± 3,17	29,05	34,71 ± 4,5	161,72
	2	101,83		34,99		35		171,82
	3	102,1		38,81		40,07		180,98
TOH 2	1	118	135,03 ± 14,89	35,05	38,84 ± 3,87	38,47	42,56 ± 4,13	191,52
	2	154,26		44,15		48,22		246,63
	3	132,82		37,3		40,99		211,11
TOH 3	1	75,87	56,28 ± 13,86	20,23	16,37 ± 2,76	20,35	15,52 ± 3,42	116,45
	2	45,97		13,97		12,92		72,86
	3	46,99		14,92		13,29		75,2
AC	1	29,67	28,55 ± 3,65	11,61	11,59 ± 0,46	9,02	8,9 ± 0,74	50,3
	2	23,62		11,02		7,94		42,58
	3	32,35		12,15		9,75		54,25

Tabela 15 - Condições de operação para cada tratamento retirados do estudo de SOUSA (2020)

Trat.	Condições de operação de cada tratamento				
	Duração (t)	Temperatura (T)	Frequência (f)	Campo elétrico (E)	Nº de ciclos
TOH1	5 s	100 °C	50 Hz	217 V/cm	1
TOH2	15 s	100 °C	50 Hz	133 V/cm	1
TOH3	10 min	70 °C	50 Hz	12 V/cm	
AC	10 min	70 °C			

Anexo B: Análise do cenário energético renovável

De seguida visualizam-se, em gráficos, a análise percentual dos restantes processos (TOH1, TOH3 e AC) associado ao cenário com eletricidade proveniente de painéis fotovoltaicos para todas as categorias de impacto, dado o contributo de acordo com cada componente do processo (eletricidade de painéis fotovoltaicos, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) e separadamente o contributo de cada etapa do processo: pré-tratamento (TOH/AC), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).

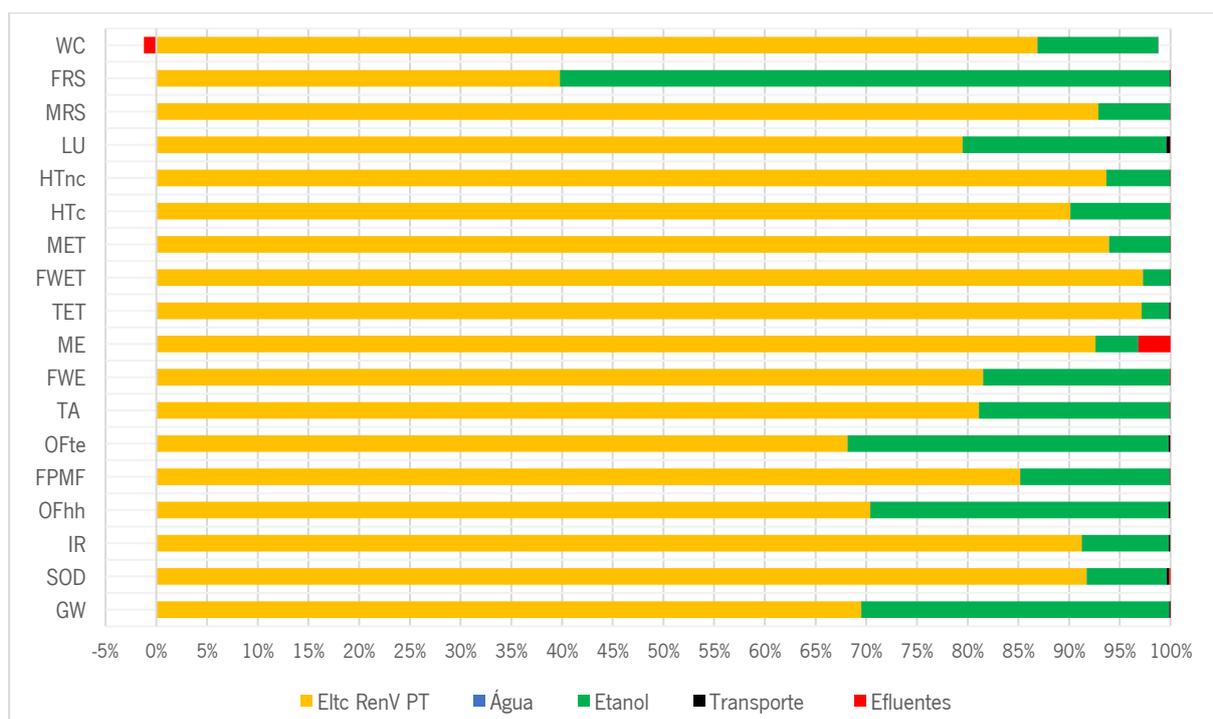


Figura 25 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 1 (eletricidade de painéis fotovoltaicos, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacto.

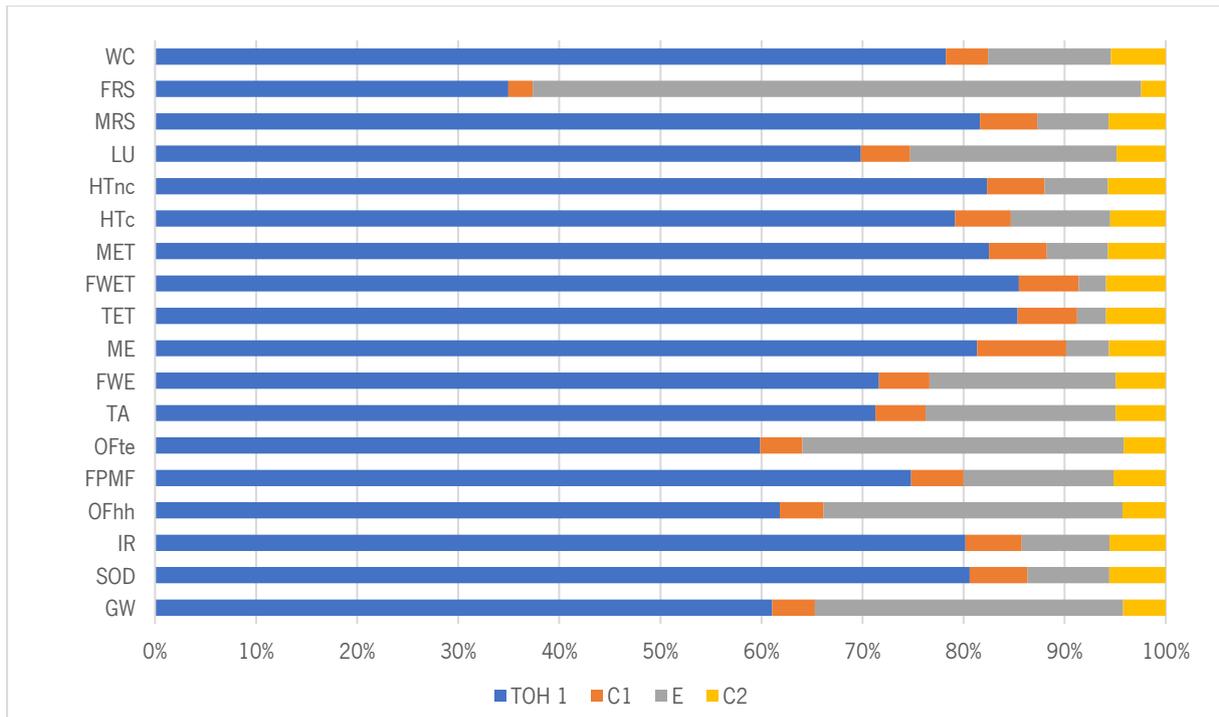


Figura 26 - Análise percentual de todas as categorias de impacto dado o contributo de cada etapa do processo TOH 1: pré-tratamento (TOH 1), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).

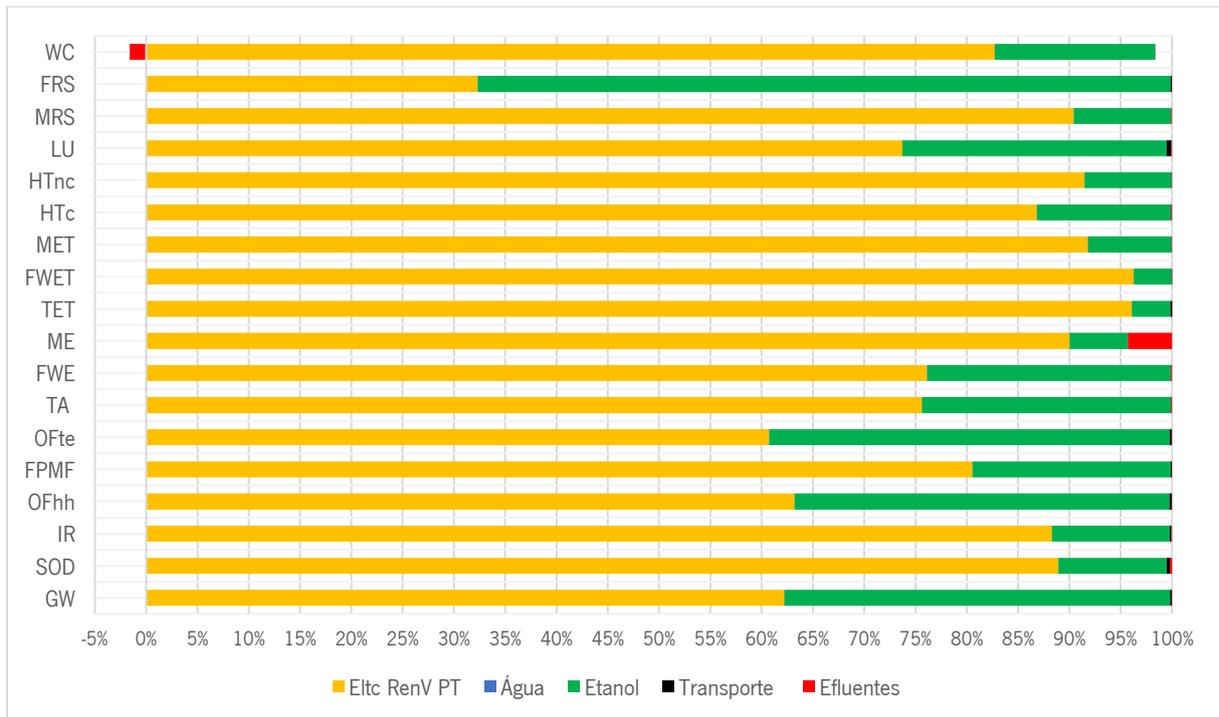


Figura 27 - Contributo percentual de cada componente presente no processo TOH 3 (eletricidade de painéis fotovoltaicos, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacto.

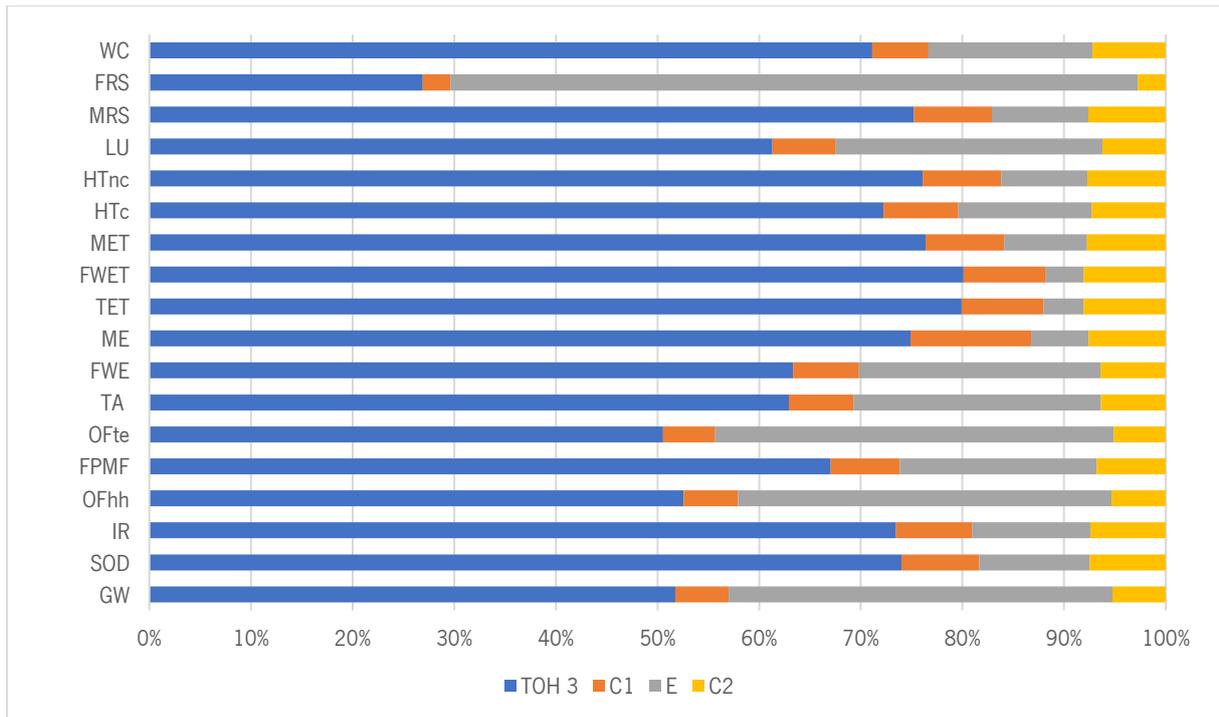


Figura 28 - Análise percentual de todas as categorias de impacto dado o contributo de cada etapa do processo TOH 3: pré-tratamento (TOH 3), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).

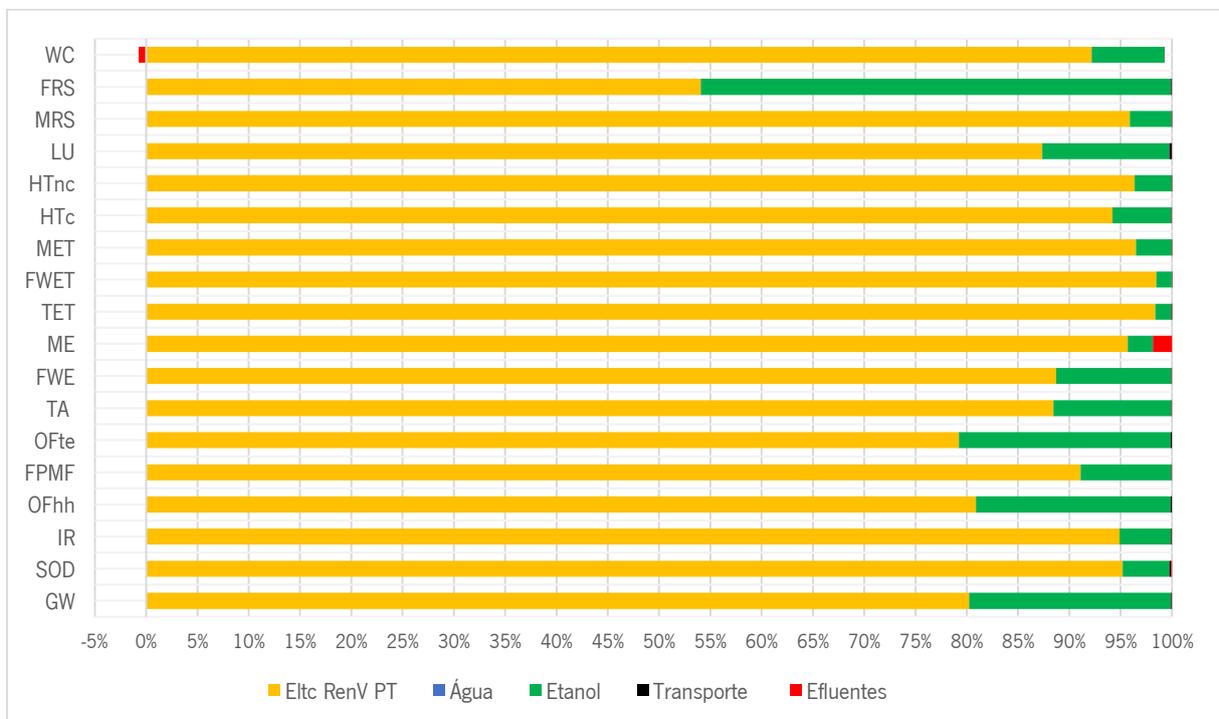


Figura 29 - Contributo percentual de cada componente presente no processo AC (eletricidade de painéis fotovoltaicos, água, etanol e o seu transporte e tratamento de efluentes) para as diferentes categorias de impacto.

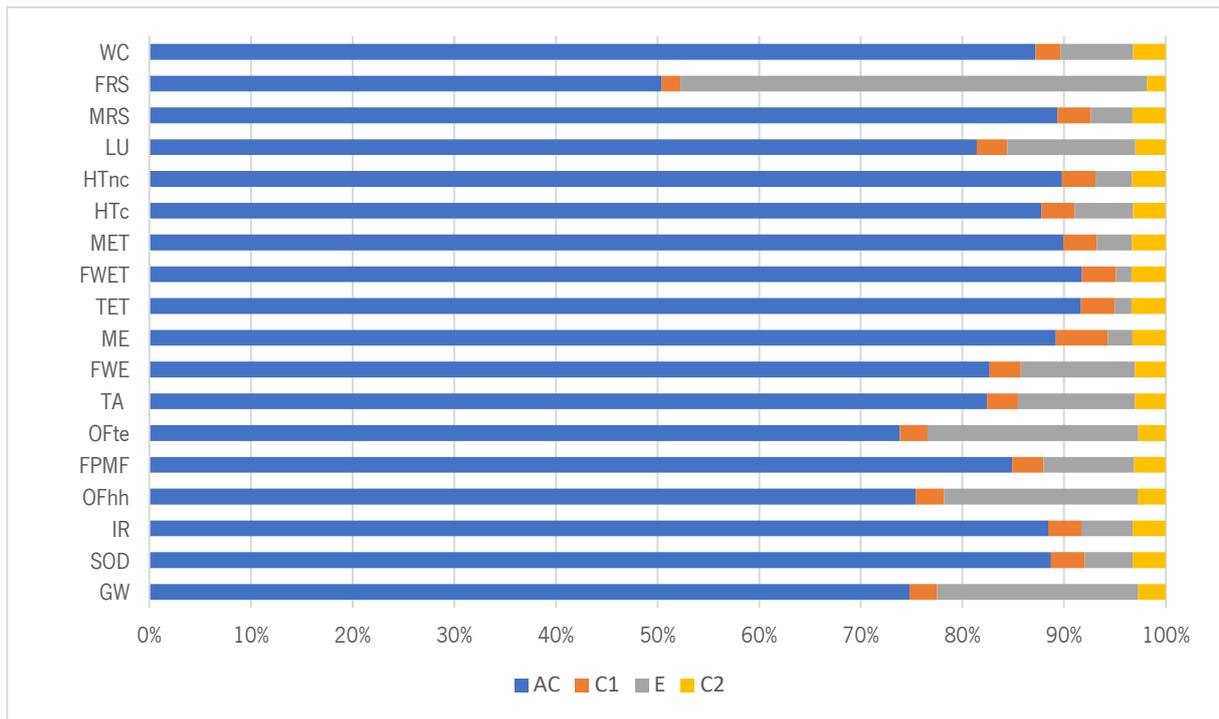


Figura 30 - Análise percentual de todas as categorias de impacto dado o contributo de cada etapa do processo AC: pré-tratamento (AC), primeira centrifugação (C1), extração (E) e segunda centrifugação (C2).

Anexo C: Comparação dos cenários

Nas figuras seguintes são apresentados os resultados dos indicadores de categoria dos restantes processos TOH1, TOH2 e AC. É comparado os valores absolutos e normalizados entre os dois cenários, ou seja, entre o consumo de eletricidade do *mix* português disponibilizado pela rede nacional e de painéis fotovoltaicos.

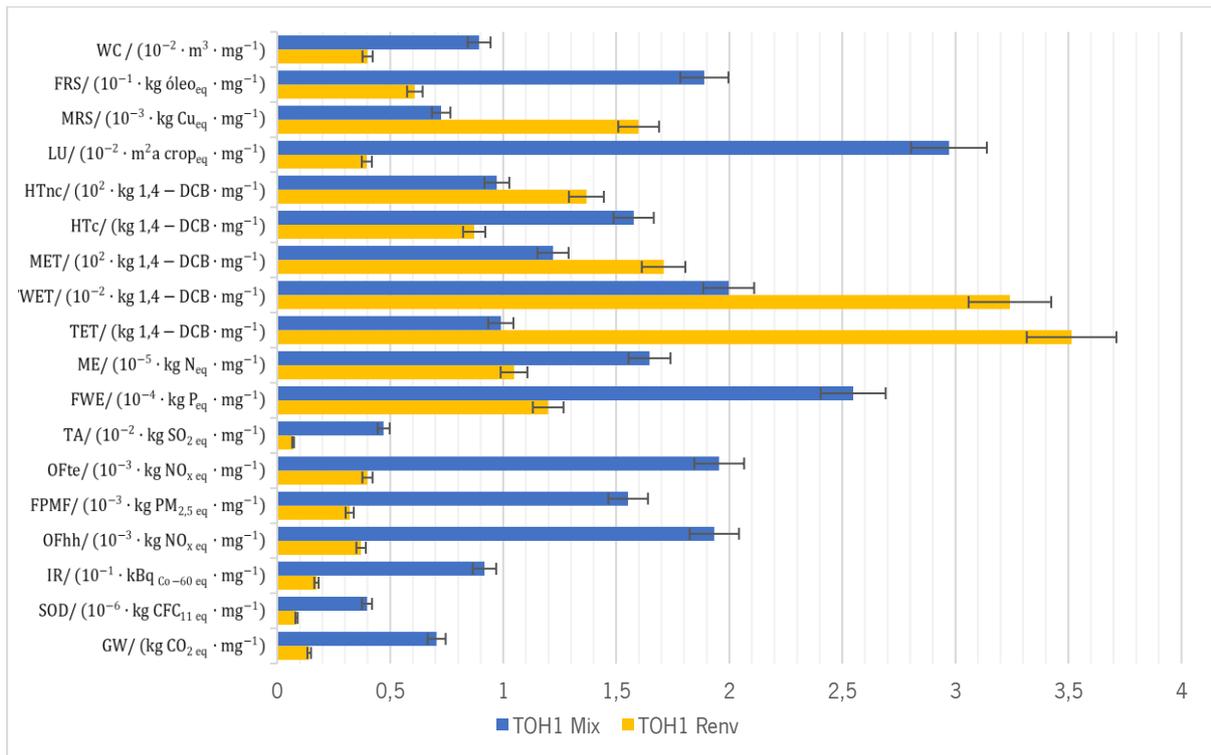


Figura 31 - Comparação absoluta dos resultados dos indicadores de impacte entre o cenário inicial (com eletricidade proveniente da rede de energia nacional) e o cenário renovável (com eletricidade proveniente de painéis fotovoltaicos) para o processo TOH1.

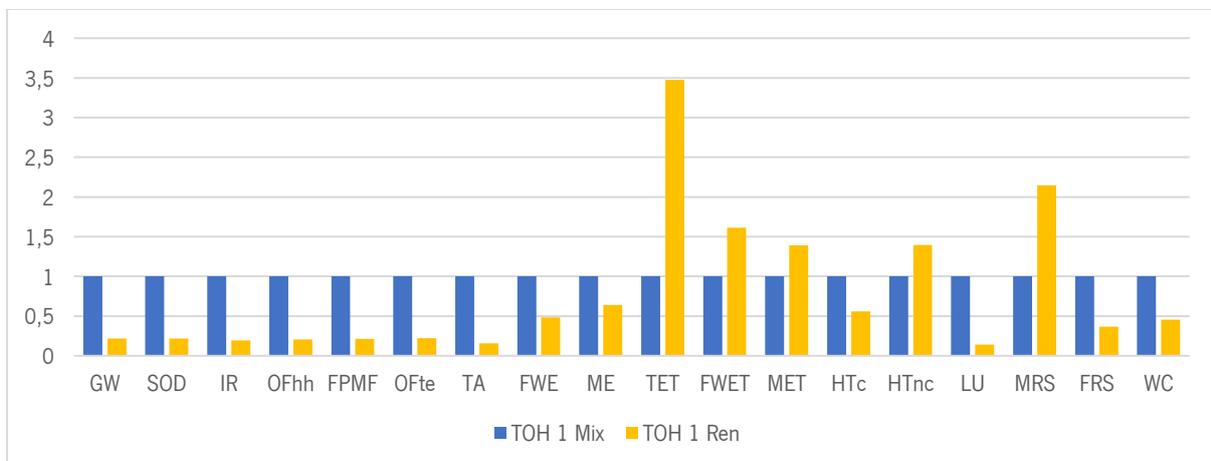


Figura 32 - Comparação relativa dos resultados dos indicadores de impacte para o processo TOH 1 para ambos os cenários, com normalização dos dados em relação ao cenário inicial.

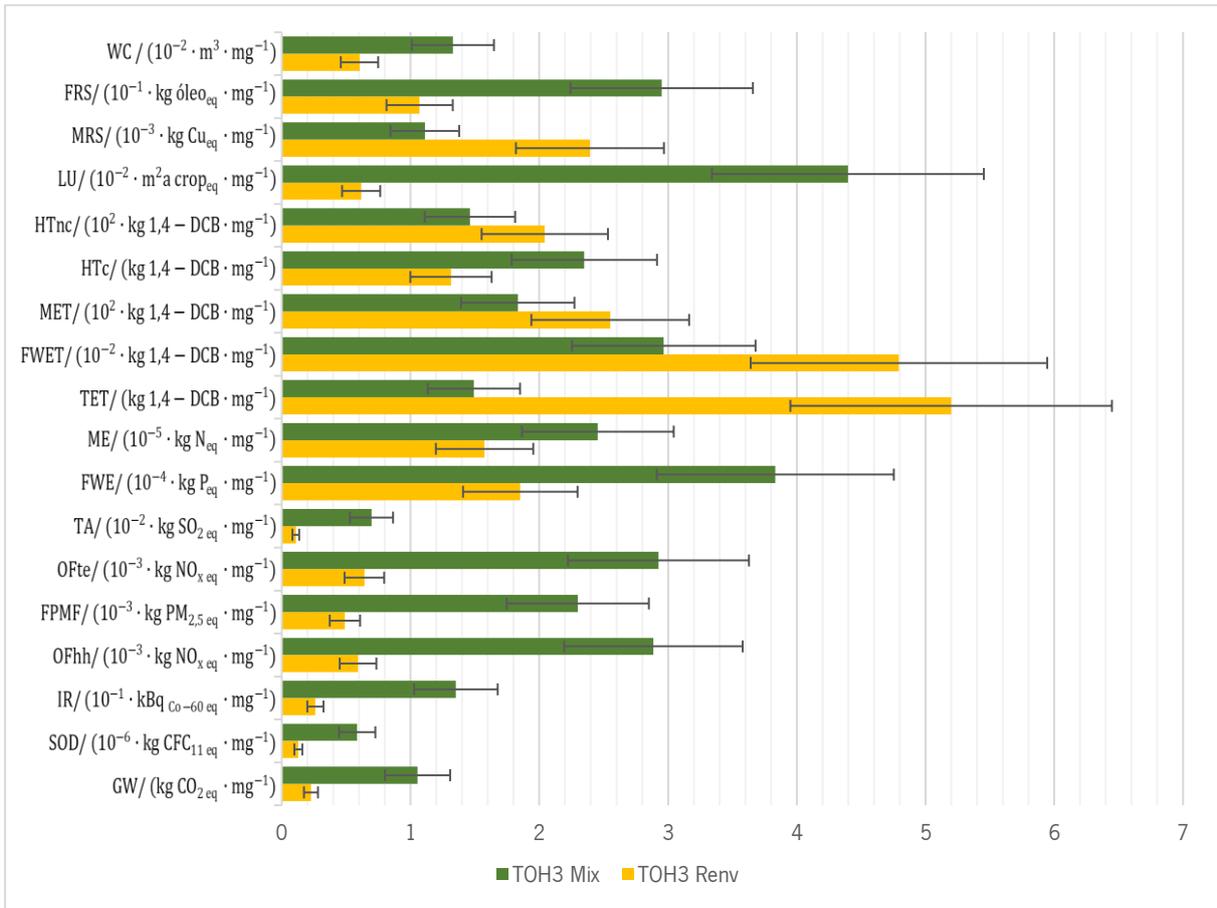


Figura 33 - Comparação absoluta dos resultados dos indicadores de impacto entre o cenário inicial (com eletricidade proveniente da rede de energia nacional) e o cenário renovável (com eletricidade proveniente de painéis fotovoltaicos) para o processo TOH3.

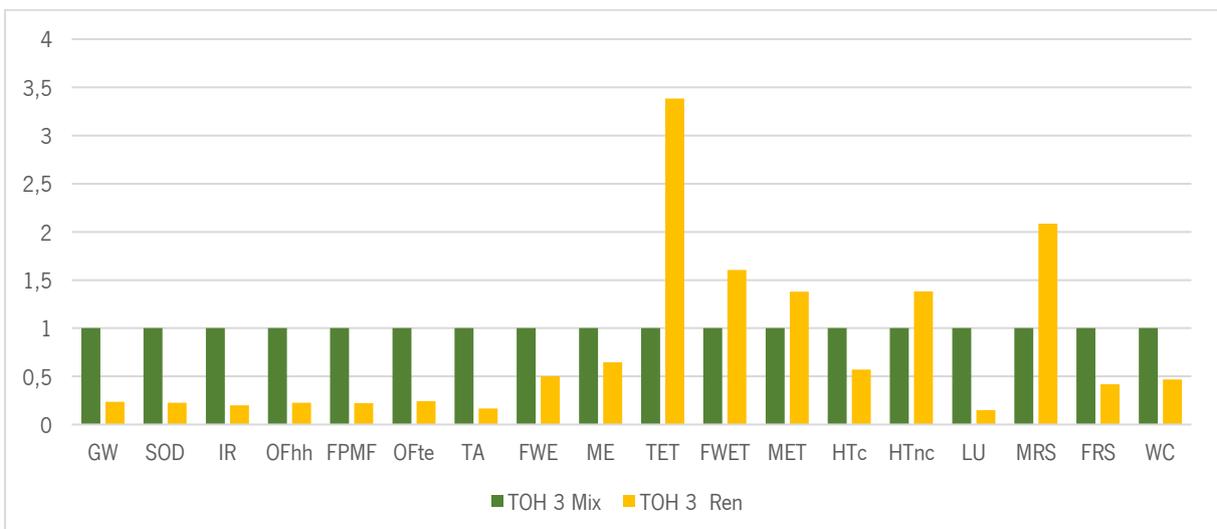


Figura 34 - Comparação relativa dos resultados dos indicadores de impacto para o processo TOH 3 para ambos os cenários, com normalização dos dados em relação ao cenário inicial.

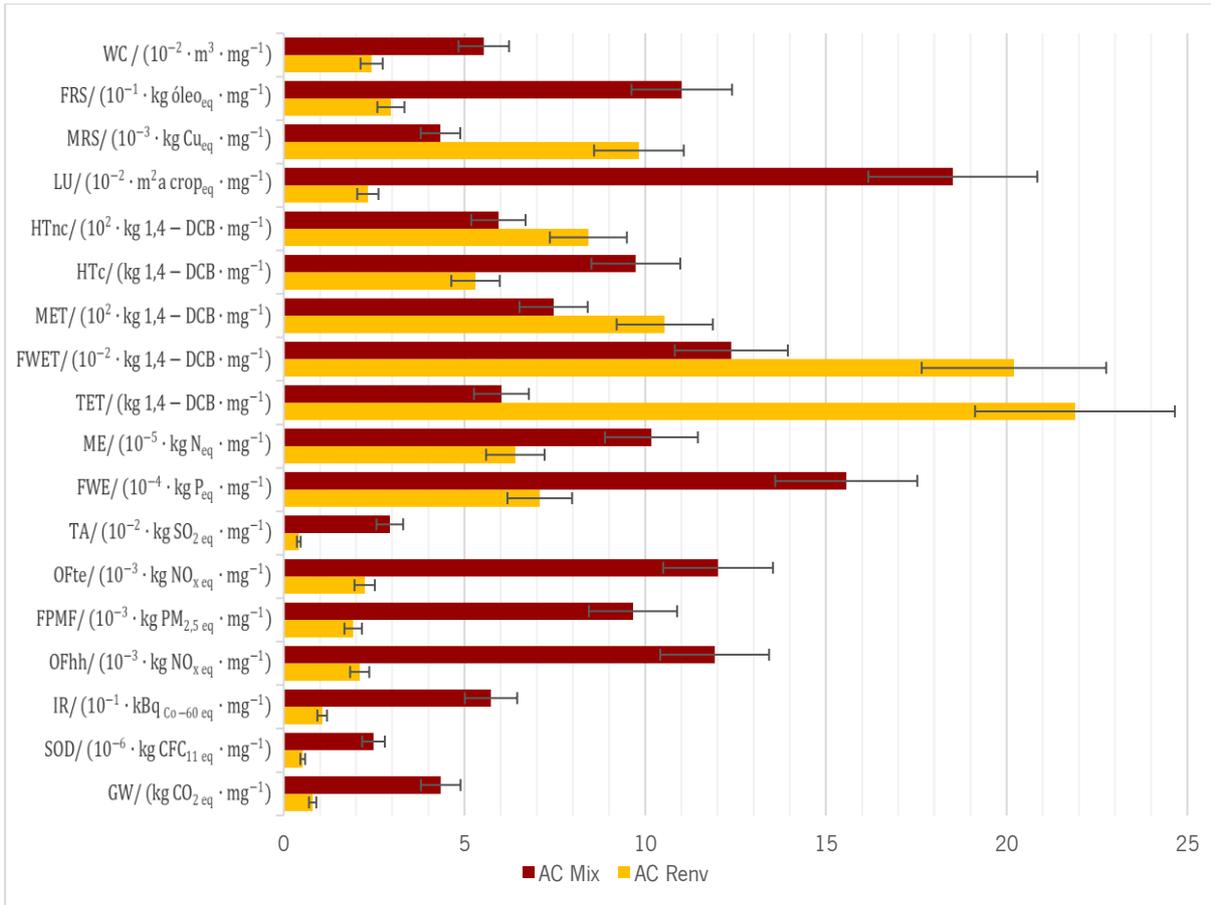


Figura 35 - Comparação absoluta dos resultados dos indicadores de impacto entre o cenário inicial (com eletricidade proveniente da rede de energia nacional) e o cenário renovável (com eletricidade proveniente de painéis fotovoltaicos) para o processo AC.

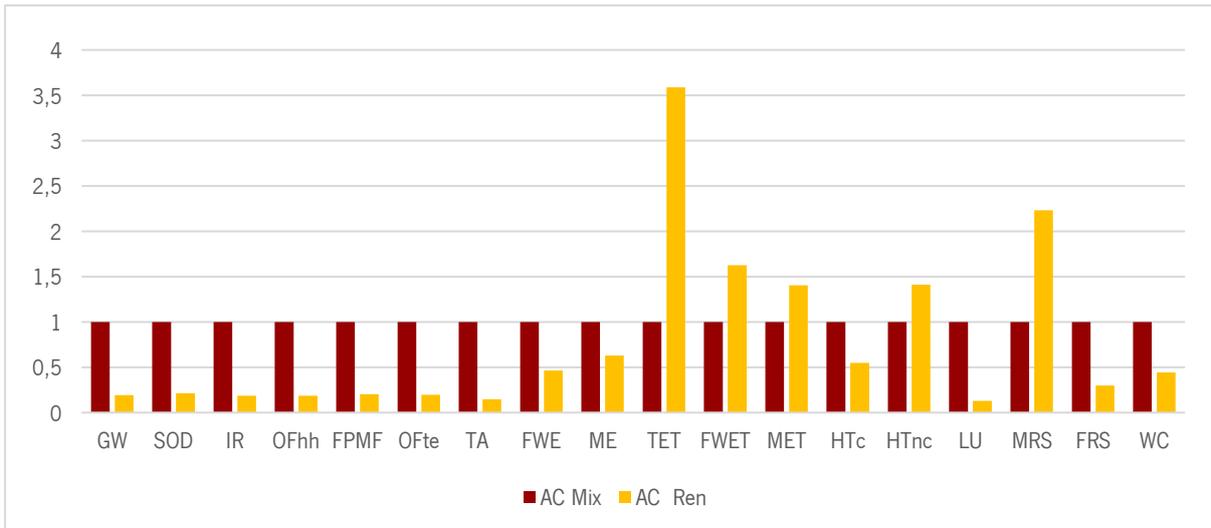


Figura 36 - Comparação relativa dos resultados dos indicadores de impacto para o processo AC para ambos os cenários, com normalização dos dados em relação ao cenário inicial.

Anexo D: Indicadores de impacto

Tabela 16 - Resultados dos indicadores de categoria de impacto para o processo global TOH1 no cenário inicial (com consumo de eletricidade do *mix* português) em triplicado e desvio-padrão associado

Resultado dos indicadores de categoria	-	TOH1 Mix	+	Desvio-padrão
WC / ($\text{m}^3 \cdot \text{mg}^{-1}$)	$6,67 \times 10^{-1}$	$7,03 \times 10^{-1}$	$7,47 \times 10^{-1}$	$3,98 \times 10^{-2}$
FRS/ ($\text{kg } \text{óleo}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$3,76 \times 10^{-7}$	$3,96 \times 10^{-7}$	$4,20 \times 10^{-7}$	$2,24 \times 10^{-8}$
MRS/ ($\text{kg } \text{Cu}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$8,67 \times 10^{-2}$	$9,13 \times 10^{-2}$	$9,70 \times 10^{-2}$	$5,17 \times 10^{-3}$
LU/ ($\text{m}^2 \text{a crop}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,83 \times 10^{-3}$	$1,93 \times 10^{-3}$	$2,05 \times 10^{-3}$	$1,09 \times 10^{-4}$
HTnc/ ($\text{kg } 1,4 - \text{DCB} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,47 \times 10^{-3}$	$1,56 \times 10^{-3}$	$1,64 \times 10^{-3}$	$8,76 \times 10^{-5}$
HTc/ ($\text{kg } 1,4 - \text{DCB} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,85 \times 10^{-3}$	$1,95 \times 10^{-3}$	$2,07 \times 10^{-3}$	$1,10 \times 10^{-4}$
MET/ ($\text{kg } 1,4 - \text{DCB} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$4,45 \times 10^{-3}$	$4,69 \times 10^{-3}$	$4,98 \times 10^{-3}$	$2,66 \times 10^{-4}$
FWET/ ($\text{kg } 1,4 - \text{DCB} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$2,41 \times 10^{-4}$	$2,54 \times 10^{-4}$	$2,70 \times 10^{-4}$	$1,44 \times 10^{-5}$
TET/ ($\text{kg } 1,4 - \text{DCB} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,56 \times 10^{-5}$	$1,64 \times 10^{-5}$	$1,74 \times 10^{-5}$	$9,29 \times 10^{-7}$
ME/ ($\text{kg } \text{N}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$9,35 \times 10^{-1}$	$9,85 \times 10^{-1}$	1,05	$5,58 \times 10^{-2}$
FWE/ ($\text{kg } \text{P}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,89 \times 10^{-2}$	$1,99 \times 10^{-2}$	$2,11 \times 10^{-2}$	$1,13 \times 10^{-3}$
TA/ ($\text{kg } \text{SO}_{2\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,15 \times 10^2$	$1,22 \times 10^2$	$1,29 \times 10^2$	6,88
OFte/ ($\text{kg } \text{NO}_{\text{x eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	1,49	1,57	1,67	$8,90 \times 10^{-2}$
FPMF/ ($\text{kg } \text{PM}_{2,5\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$9,19 \times 10^1$	$9,68 \times 10^1$	$1,03 \times 10^2$	5,48
OFhh/ ($\text{kg } \text{NO}_{\text{x eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$2,81 \times 10^{-2}$	$2,96 \times 10^{-2}$	$3,15 \times 10^{-2}$	$1,68 \times 10^{-3}$
IR/ ($\text{kBq } \text{Co-60}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$6,86 \times 10^{-4}$	$7,23 \times 10^{-4}$	$7,68 \times 10^{-4}$	$4,09 \times 10^{-5}$
SOD/ ($\text{kg } \text{CFC}_{11\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,79 \times 10^{-1}$	$1,88 \times 10^{-1}$	$2,00 \times 10^{-1}$	$1,17 \times 10^{-2}$
GW/ ($\text{kg } \text{CO}_{2\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$8,45 \times 10^{-3}$	$8,90 \times 10^{-3}$	$9,46 \times 10^{-3}$	$5,04 \times 10^{-4}$

Tabela 17 - Resultados dos indicadores de categoria de impacto para o processo global TOH1 no cenário renovável (com consumo de eletricidade de painéis fotovoltaicos) em triplicado e desvio-padrão associado

Resultado dos Indicadores de categoria	-	TOH1 Renv.	+	Desvio-padrão
WC / ($\text{m}^3 \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,34 \times 10^{-1}$	$1,41 \times 10^{-1}$	$1,50 \times 10^{-1}$	$7,90 \times 10^{-3}$
FRS/ ($\text{kg } \text{óleo}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$8,10 \times 10^{-8}$	$8,53 \times 10^{-8}$	$9,06 \times 10^{-8}$	$4,83 \times 10^{-9}$
MRS/ ($\text{kg } \text{Cu}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,64 \times 10^{-2}$	$1,73 \times 10^{-2}$	$1,84 \times 10^{-2}$	$9,80 \times 10^{-4}$
LU/ ($\text{m}^2 \text{a crop}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$3,51 \times 10^{-4}$	$3,70 \times 10^{-4}$	$3,93 \times 10^{-4}$	$2,09 \times 10^{-5}$
HTnc/ ($\text{kg } 1,4 - \text{DCB} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$3,03 \times 10^{-4}$	$3,20 \times 10^{-4}$	$3,40 \times 10^{-4}$	$1,81 \times 10^{-5}$
HTc/ ($\text{kg } 1,4 - \text{DCB} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$3,78 \times 10^{-4}$	$3,98 \times 10^{-4}$	$4,23 \times 10^{-4}$	$2,25 \times 10^{-5}$
MET/ ($\text{kg } 1,4 - \text{DCB} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$6,67 \times 10^{-4}$	$7,02 \times 10^{-4}$	$7,46 \times 10^{-4}$	$3,98 \times 10^{-5}$
FWET/ ($\text{kg } 1,4 - \text{DCB} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,13 \times 10^{-4}$	$1,19 \times 10^{-4}$	$1,27 \times 10^{-4}$	$6,76 \times 10^{-6}$
TET/ ($\text{kg } 1,4 - \text{DCB} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$9,91 \times 10^{-6}$	$1,04 \times 10^{-5}$	$1,11 \times 10^{-5}$	$5,91 \times 10^{-7}$
ME/ ($\text{kg } \text{N}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	3,32	3,50	3,72	$1,98 \times 10^{-1}$
FWE/ ($\text{kg } \text{P}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$3,07 \times 10^{-2}$	$3,23 \times 10^{-2}$	$3,43 \times 10^{-2}$	$1,83 \times 10^{-3}$
TA/ ($\text{kg } \text{SO}_{2\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,62 \times 10^2$	$1,70 \times 10^2$	$1,81 \times 10^2$	9,64
OFte/ ($\text{kg } \text{NO}_{\text{x eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$8,24 \times 10^{-1}$	$8,68 \times 10^{-1}$	$9,22 \times 10^{-1}$	$4,92 \times 10^{-2}$
FPMF/ ($\text{kg } \text{PM}_{2,5\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,29 \times 10^2$	$1,36 \times 10^2$	$1,45 \times 10^2$	7,72
OFhh/ ($\text{kg } \text{NO}_{\text{x eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$3,75 \times 10^{-3}$	$3,95 \times 10^{-3}$	$4,20 \times 10^{-3}$	$2,24 \times 10^{-4}$
IR/ ($\text{kBq } \text{Co-60}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,51 \times 10^{-3}$	$1,59 \times 10^{-3}$	$1,69 \times 10^{-3}$	$9,02 \times 10^{-5}$
SOD/ ($\text{kg } \text{CFC}_{11\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$5,76 \times 10^{-2}$	$6,07 \times 10^{-2}$	$6,45 \times 10^{-2}$	$3,44 \times 10^{-3}$
GW/ ($\text{kg } \text{CO}_{2\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$3,78 \times 10^{-3}$	$3,98 \times 10^{-3}$	$4,23 \times 10^{-3}$	$2,26 \times 10^{-4}$

Tabela 18 - Resultados dos indicadores de categoria de impacto para o processo global TOH2 no cenário inicial (com consumo de eletricidade do mix português) em triplicado e desvio-padrão associado

Resultado dos Indicadores de categoria	-	TOH2 Mix	+	Desvio-padrão
WC / ($\text{m}^3 \cdot \text{mg}^{-1}$)	$4,90 \times 10^{-1}$	$5,72 \times 10^{-1}$	$6,31 \times 10^{-1}$	$7,08 \times 10^{-2}$
FRS/ (kg óleo _{eq} · mg ⁻¹)	$2,76 \times 10^{-7}$	$3,22 \times 10^{-7}$	$3,55 \times 10^{-7}$	$3,99 \times 10^{-8}$
MRS/ (kg Cu _{eq} · mg ⁻¹)	$6,37 \times 10^{-2}$	$7,44 \times 10^{-2}$	$8,20 \times 10^{-2}$	$9,21 \times 10^{-3}$
LU/ ($\text{m}^2\text{a crop}_{\text{eq}}$ · mg ⁻¹)	$1,34 \times 10^{-3}$	$1,57 \times 10^{-3}$	$1,73 \times 10^{-3}$	$1,94 \times 10^{-4}$
HTnc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$1,08 \times 10^{-3}$	$1,26 \times 10^{-3}$	$1,39 \times 10^{-3}$	$1,56 \times 10^{-4}$
HTc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$1,36 \times 10^{-3}$	$1,59 \times 10^{-3}$	$1,75 \times 10^{-3}$	$1,96 \times 10^{-4}$
MET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$3,27 \times 10^{-3}$	$3,82 \times 10^{-3}$	$4,21 \times 10^{-3}$	$4,73 \times 10^{-4}$
FWET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$1,77 \times 10^{-4}$	$2,07 \times 10^{-4}$	$2,28 \times 10^{-4}$	$2,56 \times 10^{-5}$
TET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$1,14 \times 10^{-5}$	$1,34 \times 10^{-5}$	$1,47 \times 10^{-5}$	$1,65 \times 10^{-6}$
ME/ (kg N _{eq} · mg ⁻¹)	$6,87 \times 10^{-1}$	$8,03 \times 10^{-1}$	$8,85 \times 10^{-1}$	$9,93 \times 10^{-2}$
FWE/ (kg P _{eq} · mg ⁻¹)	$1,39 \times 10^{-2}$	$1,62 \times 10^{-2}$	$1,79 \times 10^{-2}$	$2,01 \times 10^{-3}$
TA/ (kg SO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$8,47 \times 10^1$	$9,90 \times 10^1$	$1,09 \times 10^2$	$1,22 \times 10^1$
OFte/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	1,10	1,28	1,41	$1,58 \times 10^{-1}$
FPMF/ (kg PM _{2,5 eq} · mg ⁻¹)	$6,75 \times 10^1$	$7,89 \times 10^1$	$8,69 \times 10^1$	9,76
OFhh/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	$2,06 \times 10^{-2}$	$2,41 \times 10^{-2}$	$2,66 \times 10^{-2}$	$2,98 \times 10^{-3}$
IR/ (kBq Co-60 eq · mg ⁻¹)	$5,04 \times 10^{-4}$	$5,89 \times 10^{-4}$	$6,49 \times 10^{-4}$	$7,28 \times 10^{-5}$
SOD/ (kg CFC _{11 eq} · mg ⁻¹)	$1,31 \times 10^{-1}$	$1,53 \times 10^{-1}$	$1,69 \times 10^{-1}$	$1,90 \times 10^{-2}$
GW/ (kg CO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$6,21 \times 10^{-3}$	$7,25 \times 10^{-3}$	$7,99 \times 10^{-3}$	$8,97 \times 10^{-4}$

Tabela 19 - Resultados dos indicadores de categoria de impacto para o processo global TOH2 no cenário renovável (com consumo de eletricidade de painéis fotovoltaicos) em triplicado e desvio-padrão associado

Resultado dos Indicadores de categoria	-	TOH2 Renv.	+	Desvio-padrão
WC / ($\text{m}^3 \cdot \text{mg}^{-1}$)	$9,84 \times 10^{-2}$	$1,15 \times 10^{-1}$	$1,27 \times 10^{-1}$	$1,42 \times 10^{-2}$
FRS/ (kg óleo _{eq} · mg ⁻¹)	$5,95 \times 10^{-8}$	$6,95 \times 10^{-8}$	$7,66 \times 10^{-8}$	$8,60 \times 10^{-9}$
MRS/ (kg Cu _{eq} · mg ⁻¹)	$1,21 \times 10^{-2}$	$1,41 \times 10^{-2}$	$1,55 \times 10^{-2}$	$1,74 \times 10^{-3}$
LU/ ($\text{m}^2\text{a crop}_{\text{eq}}$ · mg ⁻¹)	$2,58 \times 10^{-4}$	$3,01 \times 10^{-4}$	$3,32 \times 10^{-4}$	$3,73 \times 10^{-5}$
HTnc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$2,23 \times 10^{-4}$	$2,60 \times 10^{-4}$	$2,87 \times 10^{-4}$	$3,22 \times 10^{-5}$
HTc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$2,77 \times 10^{-4}$	$3,24 \times 10^{-4}$	$3,57 \times 10^{-4}$	$4,01 \times 10^{-5}$
MET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$4,90 \times 10^{-4}$	$5,72 \times 10^{-4}$	$6,31 \times 10^{-4}$	$7,08 \times 10^{-5}$
FWET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$8,33 \times 10^{-5}$	$9,73 \times 10^{-5}$	$1,07 \times 10^{-4}$	$1,20 \times 10^{-5}$
TET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$7,28 \times 10^{-6}$	$8,50 \times 10^{-6}$	$9,37 \times 10^{-6}$	$1,05 \times 10^{-6}$
ME/ (kg N _{eq} · mg ⁻¹)	2,44	2,85	3,14	$3,53 \times 10^{-1}$
FWE/ (kg P _{eq} · mg ⁻¹)	$2,25 \times 10^{-2}$	$2,63 \times 10^{-2}$	$2,90 \times 10^{-2}$	$3,25 \times 10^{-3}$
TA/ (kg SO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$1,19 \times 10^2$	$1,39 \times 10^2$	$1,53 \times 10^2$	$1,72 \times 10^1$
OFte/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	$6,05 \times 10^{-1}$	$7,07 \times 10^{-1}$	$7,79 \times 10^{-1}$	$8,75 \times 10^{-2}$
FPMF/ (kg PM _{2,5 eq} · mg ⁻¹)	$9,50 \times 10^1$	$1,11 \times 10^2$	$1,22 \times 10^2$	$1,37 \times 10^1$
OFhh/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	$2,75 \times 10^{-3}$	$3,22 \times 10^{-3}$	$3,55 \times 10^{-3}$	$3,98 \times 10^{-4}$
IR/ (kBq Co-60 eq · mg ⁻¹)	$1,11 \times 10^{-3}$	$1,30 \times 10^{-3}$	$1,43 \times 10^{-3}$	$1,61 \times 10^{-4}$
SOD/ (kg CFC _{11 eq} · mg ⁻¹)	$4,23 \times 10^{-2}$	$4,94 \times 10^{-2}$	$5,45 \times 10^{-2}$	$6,11 \times 10^{-3}$
GW/ (kg CO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$2,78 \times 10^{-3}$	$3,24 \times 10^{-3}$	$3,57 \times 10^{-3}$	$4,01 \times 10^{-4}$

Tabela 20 - Resultados dos indicadores de categoria de impacto para o processo global TOH3 no cenário inicial (com consumo de eletricidade do mix português) em triplicado e desvio-padrão associado

Resultado dos Indicadores de categoria	-	TOH3 Mix	+	Desvio-padrão
WC / ($\text{m}^3 \cdot \text{mg}^{-1}$)	$7,63 \times 10^{-1}$	1,28	1,22	$2,53 \times 10^{-1}$
FRS/ (kg óleo _{eq} · mg ⁻¹)	$4,24 \times 10^{-7}$	$6,57 \times 10^{-7}$	$6,78 \times 10^{-7}$	$1,41 \times 10^{-7}$
MRS/ (kg Cu _{eq} · mg ⁻¹)	$9,78 \times 10^{-2}$	$1,51 \times 10^{-1}$	$1,56 \times 10^{-1}$	$3,25 \times 10^{-2}$
LU/ ($\text{m}^2 \text{a crop}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$2,09 \times 10^{-3}$	$3,23 \times 10^{-3}$	$3,34 \times 10^{-3}$	$6,93 \times 10^{-4}$
HTnc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$1,66 \times 10^{-3}$	$2,58 \times 10^{-3}$	$2,66 \times 10^{-3}$	$5,52 \times 10^{-4}$
HTc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$2,12 \times 10^{-3}$	$3,28 \times 10^{-3}$	$3,38 \times 10^{-3}$	$7,03 \times 10^{-4}$
MET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$5,04 \times 10^{-3}$	$7,81 \times 10^{-3}$	$8,06 \times 10^{-3}$	$1,67 \times 10^{-3}$
FWET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$2,77 \times 10^{-4}$	$4,29 \times 10^{-4}$	$4,43 \times 10^{-4}$	$9,21 \times 10^{-5}$
TET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$1,78 \times 10^{-5}$	$2,75 \times 10^{-5}$	$2,84 \times 10^{-5}$	$5,90 \times 10^{-6}$
ME/ (kg N _{eq} · mg ⁻¹)	1,08	1,67	1,73	$3,58 \times 10^{-1}$
FWE/ (kg P _{eq} · mg ⁻¹)	$2,15 \times 10^{-2}$	$3,32 \times 10^{-2}$	$3,43 \times 10^{-2}$	$7,13 \times 10^{-3}$
TA/ (kg SO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$1,33 \times 10^2$	$2,05 \times 10^2$	$2,12 \times 10^2$	$4,40 \times 10^1$
OFte/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	1,70	2,63	2,72	$5,64 \times 10^{-1}$
FPMF/ (kg PM _{2,5 eq} · mg ⁻¹)	$1,06 \times 10^2$	$1,64 \times 10^2$	$1,69 \times 10^2$	$3,51 \times 10^1$
OFhh/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	$3,8 \times 10^{-2}$	$4,93 \times 10^{-2}$	$5,08 \times 10^{-2}$	$1,06 \times 10^{-2}$
IR/ (kBq Co-60 _{eq} · mg ⁻¹)	$8,04 \times 10^{-4}$	$1,24 \times 10^{-3}$	$1,28 \times 10^{-3}$	$2,67 \times 10^{-4}$
SOD/ (kg CFC _{11 eq} · mg ⁻¹)	$2,13 \times 10^{-1}$	$3,31 \times 10^{-1}$	$3,41 \times 10^{-1}$	$7,09 \times 10^{-2}$
GW/ (kg CO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$9,61 \times 10^{-3}$	$1,59 \times 10^{-2}$	$1,54 \times 10^{-2}$	$3,19 \times 10^{-3}$

Tabela 21 - Resultados dos indicadores de categoria de impacto para o processo global TOH3 no cenário renovável (com consumo de eletricidade de painéis fotovoltaicos) em triplicado e desvio-padrão associado

Resultado dos Indicadores de categoria	-	TOH3 Renv.	+	Desvio-padrão
WC / ($\text{m}^3 \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,64 \times 10^{-1}$	$2,54 \times 10^{-1}$	$2,62 \times 10^{-1}$	$5,45 \times 10^{-2}$
FRS/ (kg óleo _{eq} · mg ⁻¹)	$9,30 \times 10^{-8}$	$1,44 \times 10^{-7}$	$1,49 \times 10^{-7}$	$3,09 \times 10^{-8}$
MRS/ (kg Cu _{eq} · mg ⁻¹)	$1,89 \times 10^{-2}$	$2,93 \times 10^{-2}$	$3,02 \times 10^{-2}$	$6,27 \times 10^{-3}$
LU/ ($\text{m}^2 \text{a crop}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$4,29 \times 10^{-4}$	$6,64 \times 10^{-4}$	$6,85 \times 10^{-4}$	$1,42 \times 10^{-4}$
HTnc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$3,55 \times 10^{-4}$	$5,50 \times 10^{-4}$	$5,67 \times 10^{-4}$	$1,18 \times 10^{-4}$
HTc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$4,64 \times 10^{-4}$	$7,19 \times 10^{-4}$	$7,42 \times 10^{-4}$	$1,54 \times 10^{-4}$
MET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$7,89 \times 10^{-4}$	$1,22 \times 10^{-3}$	$1,26 \times 10^{-3}$	$2,62 \times 10^{-4}$
FWET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$1,34 \times 10^{-4}$	$2,08 \times 10^{-4}$	$2,14 \times 10^{-4}$	$4,45 \times 10^{-5}$
TET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$1,14 \times 10^{-5}$	$1,76 \times 10^{-5}$	$1,82 \times 10^{-5}$	$3,78 \times 10^{-6}$
ME/ (kg N _{eq} · mg ⁻¹)	3,76	5,82	6,01	1,25
FWE/ (kg P _{eq} · mg ⁻¹)	$3,47 \times 10^{-2}$	$5,37 \times 10^{-2}$	$5,54 \times 10^{-2}$	$1,15 \times 10^{-2}$
TA/ (kg SO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$1,85 \times 10^2$	$2,86 \times 10^2$	$2,95 \times 10^2$	$6,13 \times 10^1$
OFte/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	$9,51 \times 10^{-1}$	1,47	1,52	$3,16 \times 10^{-1}$
FPMF/ (kg PM _{2,5 eq} · mg ⁻¹)	$1,48 \times 10^2$	$2,29 \times 10^2$	$2,36 \times 10^2$	$4,91 \times 10^1$
OFhh/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	$4,46 \times 10^{-3}$	$6,91 \times 10^{-3}$	$7,13 \times 10^{-3}$	$1,48 \times 10^{-3}$
IR/ (kBq Co-60 _{eq} · mg ⁻¹)	$1,73 \times 10^{-3}$	$2,68 \times 10^{-3}$	$2,77 \times 10^{-3}$	$5,75 \times 10^{-4}$
SOD/ (kg CFC _{11 eq} · mg ⁻¹)	$7,75 \times 10^{-2}$	$1,20 \times 10^{-1}$	$1,24 \times 10^{-1}$	$2,57 \times 10^{-2}$
GW/ (kg CO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$4,37 \times 10^{-3}$	$6,76 \times 10^{-3}$	$6,98 \times 10^{-3}$	$1,45 \times 10^{-3}$

Tabela 22 - Resultados dos indicadores de categoria de impacto para o processo global AC no cenário inicial (com consumo de eletricidade do mix português) em triplicado e desvio-padrão associado

Resultado dos Indicadores de categoria	-	AC Mix.	+	Desvio-padrão
WC / ($\text{m}^3 \cdot \text{mg}^{-1}$)	3,89	4,19	4,95	$5,48 \times 10^{-1}$
FRS/ (kg óleo _{eq} · mg ⁻¹)	$2,22 \times 10^{-6}$	$2,40 \times 10^{-6}$	$2,83 \times 10^{-6}$	$3,14 \times 10^{-7}$
MRS/ (kg Cu _{eq} · mg ⁻¹)	$5,13 \times 10^{-1}$	$5,53 \times 10^{-1}$	$6,54 \times 10^{-1}$	$7,24 \times 10^{-2}$
LU/ ($\text{m}^2 \text{a crop}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,07 \times 10^{-2}$	$1,16 \times 10^{-2}$	$1,36 \times 10^{-2}$	$1,51 \times 10^{-3}$
HTnc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$8,65 \times 10^{-3}$	$9,32 \times 10^{-3}$	$1,10 \times 10^{-2}$	$1,22 \times 10^{-3}$
HTc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$1,08 \times 10^{-2}$	$1,16 \times 10^{-2}$	$1,37 \times 10^{-2}$	$1,52 \times 10^{-3}$
MET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$2,62 \times 10^{-2}$	$2,83 \times 10^{-2}$	$3,34 \times 10^{-2}$	$3,70 \times 10^{-3}$
FWET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$1,39 \times 10^{-3}$	$1,50 \times 10^{-3}$	$1,77 \times 10^{-3}$	$1,97 \times 10^{-4}$
TET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$9,10 \times 10^{-5}$	$9,82 \times 10^{-5}$	$1,16 \times 10^{-4}$	$1,28 \times 10^{-5}$
ME/ (kg N _{eq} · mg ⁻¹)	5,39	5,81	6,87	$7,60 \times 10^{-1}$
FWE/ (kg P _{eq} · mg ⁻¹)	$1,11 \times 10^{-1}$	$1,20 \times 10^{-1}$	$1,41 \times 10^{-1}$	$1,56 \times 10^{-2}$
TA/ (kg SO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$6,68 \times 10^2$	$7,21 \times 10^2$	$8,51 \times 10^2$	$9,43 \times 10^1$
OFte/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	8,72	9,40	$1,11 \times 10^1$	1,23
FPMF/ (kg PM _{2,5 eq} · mg ⁻¹)	$5,32 \times 10^2$	$5,73 \times 10^2$	$6,77 \times 10^2$	$7,50 \times 10^1$
OFhh/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	$1,66 \times 10^{-1}$	$1,79 \times 10^{-1}$	$2,11 \times 10^{-1}$	$2,34 \times 10^{-2}$
IR/ (kBq Co-60 _{eq} · mg ⁻¹)	$3,88 \times 10^{-3}$	$4,18 \times 10^{-3}$	$4,94 \times 10^{-3}$	$5,48 \times 10^{-4}$
SOD/ (kg CFC _{11 eq} · mg ⁻¹)	$1,03 \times 10^{-1}$	1,06	1,26	$1,39 \times 10^{-1}$
GW/ (kg CO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$4,95 \times 10^{-2}$	$5,34 \times 10^{-2}$	$6,31 \times 10^{-2}$	$6,99 \times 10^{-3}$

Tabela 23 - Resultados dos indicadores de categoria de impacto para o processo global AC no cenário renovável (com consumo de eletricidade de painéis fotovoltaicos) em triplicado e desvio-padrão associado

Resultado dos Indicadores de categoria	-	AC Renv.	+	Desvio-padrão
WC / ($\text{m}^3 \cdot \text{mg}^{-1}$)	$7,15 \times 10^{-1}$	$7,71 \times 10^{-1}$	$9,11 \times 10^{-1}$	$1,01 \times 10^{-1}$
FRS/ (kg óleo _{eq} · mg ⁻¹)	$4,69 \times 10^{-7}$	$5,06 \times 10^{-7}$	$5,98 \times 10^{-7}$	$6,62 \times 10^{-8}$
MRS/ (kg Cu _{eq} · mg ⁻¹)	$9,50 \times 10^{-2}$	$1,03 \times 10^{-1}$	$1,21 \times 10^{-1}$	$1,34 \times 10^{-2}$
LU/ ($\text{m}^2 \text{a crop}_{\text{eq}} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$1,88 \times 10^{-3}$	$2,03 \times 10^{-3}$	$2,39 \times 10^{-3}$	$2,65 \times 10^{-4}$
HTnc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$1,72 \times 10^{-3}$	$1,85 \times 10^{-3}$	$2,19 \times 10^{-3}$	$2,43 \times 10^{-4}$
HTc/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$2,00 \times 10^{-3}$	$2,16 \times 10^{-3}$	$2,55 \times 10^{-3}$	$2,83 \times 10^{-4}$
MET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$3,72 \times 10^{-3}$	$4,01 \times 10^{-3}$	$4,74 \times 10^{-3}$	$5,25 \times 10^{-4}$
FWET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$6,34 \times 10^{-4}$	$6,84 \times 10^{-4}$	$8,07 \times 10^{-4}$	$8,94 \times 10^{-5}$
TET/ (kg 1,4 – DCB · mg ⁻¹)	$5,73 \times 10^{-5}$	$6,18 \times 10^{-5}$	$7,30 \times 10^{-5}$	$8,09 \times 10^{-6}$
ME/ (kg N _{eq} · mg ⁻¹)	$1,96 \times 10^1$	$2,11 \times 10^1$	$2,50 \times 10^1$	2,76
FWE/ (kg P _{eq} · mg ⁻¹)	$1,81 \times 10^{-1}$	$1,95 \times 10^{-1}$	$2,30 \times 10^{-1}$	$2,55 \times 10^{-2}$
TA/ (kg SO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$9,43 \times 10^2$	$1,02 \times 10^3$	$1,20 \times 10^3$	$1,33 \times 10^2$
OFte/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	4,75	5,12	6,05	$6,70 \times 10^{-1}$
FPMF/ (kg PM _{2,5 eq} · mg ⁻¹)	$7,54 \times 10^2$	$8,13 \times 10^2$	$9,61 \times 10^2$	$1,06 \times 10^2$
OFhh/ (kg NO _{x eq} · mg ⁻¹)	$2,08 \times 10^{-2}$	$2,24 \times 10^{-2}$	$2,65 \times 10^{-2}$	$2,94 \times 10^{-3}$
IR/ (kBq Co-60 _{eq} · mg ⁻¹)	$8,79 \times 10^{-3}$	$9,48 \times 10^{-3}$	$1,12 \times 10^{-2}$	$1,24 \times 10^{-3}$
SOD/ (kg CFC _{11 eq} · mg ⁻¹)	$2,65 \times 10^{-1}$	$2,86 \times 10^{-1}$	$3,38 \times 10^{-1}$	$3,74 \times 10^{-2}$
GW/ (kg CO _{2 eq} · mg ⁻¹)	$2,17 \times 10^{-2}$	$2,34 \times 10^{-2}$	$2,77 \times 10^{-2}$	$3,07 \times 10^{-3}$