



# ESTUDO DA CADEIA DE VALOR DA CELULOSE. AVALIAÇÃO DO CICLO DE VIDA DO ÁCIDO LÁCTICO

**DANIEL MARTINS DA SILVA**

outubro de 2022



## **ESTUDO DA CADEIA DE VALOR DA CELULOSE. AVALIAÇÃO DO CICLO DE VIDA DO ÁCIDO LÁTICO**

Daniel Martins da Silva  
1200457

**2022**

Instituto Superior de Engenharia do Porto  
Departamento de Engenharia Mecânica







## **ESTUDO DA CADEIA DE VALOR DA CELULOSE. AVALIAÇÃO DO CICLO DE VIDA DO ÁCIDO LÁTICO**

Daniel Martins da Silva  
1200457

Dissertação apresentada ao Instituto Superior de Engenharia do Porto para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Energias Sustentáveis, realizada sob a orientação da Doutora Nídia de Sá Caetano, da Doutora Helena Isabel Pereira Monteiro e da Mestre Bruna Carina Duarte Moura.

**2022**

Instituto Superior de Engenharia do Porto  
Departamento de Engenharia Mecânica





# JÚRI

## **Presidente**

Doutor Manuel Carlos Malheiro de Carvalho Felgueiras  
Professor Adjunto do Instituto Superior de Engenharia do Porto

## **Orientador**

Doutora Nídia de Sá Caetano  
Professora Coordenadora do Instituto Superior de Engenharia do Porto

## **Coorientador**

Doutora Helena Isabel Pereira Monteiro  
Investigadora III, Gestora de projeto, Unidade de Baixo Carbono e Eficiência de Recursos,  
I&D-i, ISQ

## **Arguente**

Doutora Gisela Marta Teixeira de Sousa Oliveira  
Investigadora da Universidade Fernando Pessoa



## AGRADECIMENTOS

Aproveito este momento para agradecer a todos os que possibilitaram ou contribuíram para a realização deste estágio e relatório, foram meses de grande aprendizagem e crescimento até ao culminar deste momento.

Antes de tudo, gostaria de agradecer à empresa ISQ, mais especificamente a equipa de *Research, Development and Innovation* por me terem dado esta oportunidade e por me terem acolhido. Trabalhar dentro de uma equipa tão brilhante e divertida como esta certamente contribuiu para o meu desenvolvimento pessoal e profissional. Às minhas orientadoras no ISQ, Doutora Helena Monteiro e Mestre Bruna Moura, um especial agradecimento por me terem orientado nesta nova jornada da minha vida. Um obrigado por todo o tempo despendido, por todo o conhecimento e experiência transmitidos, pela autonomia concedida e pela confiança. Todas as recomendações dadas permitiram que este trabalho chegasse a bom porto.

À minha orientadora do ISEP, Doutora Nídia de Sá Caetano, um obrigado pelo apoio, pelas orientações e por toda a disponibilidade que sempre demonstrou.

Aos meus amigos, um obrigado por todo o incentivo e companhia ao longo destes anos. Em parte, são responsáveis por eu ter atingido o final desta etapa.

Obrigado, Daniela, por seres parte do que eu sou hoje, por seres a minha força de vontade, por nunca me deixares duvidar das minhas capacidades e por todo o incentivo, carinho e amor que me deste.

Aos meus pais, Carla e Manuel, e ao meu irmão, Pedro, um obrigado por me permitirem percorrer este caminho e por estarem lá nos momentos mais difíceis. Atingir este objetivo não seria possível sem todo o vosso apoio e amor. À minha restante família, um grande obrigado.

A todos os que fizeram parte desta jornada, muito obrigado!!!

A Prof. Nídia Caetano, orientadora desta dissertação, é membro integrado do LEPABE – Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente Biotecnologia e Energia, financiado por: LA/P/0045/2020 (ALiCE), UIDB/00511/2020 e UIDP/00511/2020 (LEPABE), financiado por fundos nacionais através da FCT/MCTES (PIDDAC).

A Doutora Helena Monteiro, co-orientadora desta dissertação agradece ao projeto do Horizonte 2020 – “European Sustainable BIObased nanoMATERIALS Community (BIOMAC), Grant agreement ID: 952941.



## PALAVRAS-CHAVE

Ácido láctico; Avaliação de ciclo de vida; Celulose; Fermentação; Hidrólise enzimática

## RESUMO

Atualmente, os plásticos oferecem uma vasta gama de aplicações indispensáveis para a sociedade. Esta dependência torna-se cada vez mais insustentável, com impactos a nível social, ecológico e económico por vários motivos: (1) origem em matéria-prima fóssil; (2) a grande maioria dos polímeros que produzimos são polímeros sintéticos, que possuem uma baixa taxa de degradação. Tendo em conta o referido e as exigências futuras, a necessidade de substituir os plásticos convencionais por novos materiais de origem natural, e, cumulativamente, biodegradáveis é cada vez mais urgente.

No âmbito do estágio curricular no ISQ, este trabalho surge alinhado com o projeto BIOMAC, que procura desenvolver conhecimento ao longo da cadeia de produção dos bio-plásticos. Com este enquadramento, foi desenvolvido um estudo com enfoque na cadeia de valor da celulose. A celulose, juntamente com a lignina e a hemicelulose, pode ser extraída de biomassa lignocelulósica. Esta biomassa, que podemos encontrar em plantas e algas, é a fonte mais abundante e renovável de polímeros naturais. A partir do polímero celulose podemos obter diversos produtos de valor acrescentado como a nanocelulose, o ácido láctico e o ácido succínico. O ácido láctico, químico com elevado potencial e amplamente utilizado na produção de polímeros (PLA, ou *polylactic acid*), foi o elemento selecionado para o caso de estudo desta dissertação. Deste modo, o objetivo do presente trabalho é o de avaliar os impactos ambientais do ciclo de vida do ácido láctico através da metodologia de Avaliação de Ciclo de Vida (ACV).

Foram analisados dois cenários distintos: (i) produção do ácido láctico à escala laboratorial; (ii) produção do ácido láctico à escala piloto. Com suporte na metodologia de ACV foi traçado o perfil ambiental dos dois cenários, identificando quais os principais pontos críticos de cada um, de modo a identificar medidas de melhoria para cada cenário. A unidade funcional utilizada foi 1 kg de ácido láctico.

O inventário do ciclo de vida foi elaborado de acordo com dados da literatura e com a base de dados *Ecoinvent v3*.

Os resultados de impacto ambiental do ciclo de vida foram obtidos através do método de avaliação “*ReCiPe 2016 Midpoint (H) V1.06 / World (2010) H*”, disponível no software *SimaPro*<sup>TM</sup> 9.3.0.3. Assim, foram analisadas 18 categorias de impacto.

Relativamente aos resultados obtidos, no caso da produção de ácido láctico à escala laboratorial, este estudo permitiu concluir que os principais pontos críticos do processo são a produção de polpa de café, a hidrólise enzimática e a fermentação (incluindo o inóculo), representando 12%, 30% e 57% dos impactos totais, respetivamente. No que diz respeito a produção à escala piloto, os pontos críticos são os mesmos, sendo que neste caso o principal é a fase de hidrólise enzimática, com 51% dos impactos totais. A polpa de café e a fase de fermentação (com inóculo) representam 28% e 19% dos impactos totais, respetivamente. Em ambos os cenários, as enzimas e o consumo energético apresentam maior relevância para os impactos totais, sendo que, a principal diferença entre as duas escalas se encontra sobretudo no consumo energético por unidade funcional, que, naturalmente, é muito superior na produção em escala laboratorial.

Com o intuito de entender melhor a importância do consumo de eletricidade nos cenários analisados, este estudo apresenta também uma análise de sensibilidade. Nesta, o *mix* energético inicial foi substituído pelo *mix* energético norueguês (que tem uma maior percentagem de energia de fontes renováveis). Os resultados obtidos demonstram que a substituição por um *mix* que contenha maiores frações de energias renováveis permite diminuir significativamente os impactos associados ao consumo energético. Relativamente ao caso da produção à escala laboratorial, foram registadas reduções entre 80 e 95% dos impactos totais na maioria das categorias. A fase de fermentação (com inóculo), originalmente o principal ponto crítico desta escala, registou uma diminuição acentuada, passando agora a representar apenas 26% dos impactos. No caso da escala piloto, as reduções não são tão acentuadas, registando-se diminuições entre 25 e 65%. A fase de fermentação (com inóculo), anteriormente um ponto crítico do processo, deixa de o ser visto que nesta situação apenas representa 5% dos impactos totais.

Os resultados demonstrados neste trabalho permitem identificar e indicar quais são os processos e/ou produtos que devem ser otimizados de modo a obtermos polímeros que sejam uma solução económica e ambientalmente viável. De modo a melhorar a produção sugere-se a otimização da produção de polpa de café e enzimas, e a redução dos consumos energéticos. Futuramente seria interessante realizar estudos sobre os processos de produção de enzimas e meios de cultura e fazer uma análise *cradle-to-grave* do processo de produção do ácido láctico.

**KEYWORDS**

*Lactic acid; Life cycle assessment; Cellulose; Fermentation; Enzymatic hydrolysis*

**ABSTRACT**

Nowadays, plastics offer a wide range of essential applications for society. This dependence becomes increasingly unsustainable, with social, ecological, and economic impacts for several reasons: (1) origin in fossil raw materials; (2) most polymers that we produce are synthetic polymers, which have a low degradation rate. Considering the above mentioned and the future demands, the need to replace conventional plastics by new materials of natural origin, and biodegradable ones, is increasingly urgent.

Within the scope of the internship at ISQ, the present work aligns with the BIOMAC project that aims to develop and improve processes along the value chain of bioplastics. Under that frame, this study focused on the cellulose value chain. Cellulose, together with lignin and hemicellulose, can be extracted from lignocellulosic biomass. This biomass, which can be found in plants and algae, is the most abundant and renewable source of natural polymers. From the cellulose polymer we can obtain various value-added products such as nanocellulose, lactic acid and succinic acid. The lactic acid, a chemical with high potential and widely used in the production of polymers (PLA, polylactic acid), was the compound selected for the case study of this dissertation. Thus, the objective of this work was to evaluate the life cycle environmental impacts to produce lactic acid through the methodology of Life Cycle Assessment (LCA).

Two distinct scenarios were analyzed: (i) lactic acid production at laboratory scale; (ii) lactic acid production at pilot scale. With support from the LCA methodology the environmental profile of the two scenarios was drawn, identifying which were the main corresponding hotspots, in order to identify improvement measures for each scenario. The functional unit used was 1 kg of lactic acid.

The life cycle inventory was prepared according to literature data and the Ecoinvent v3 database.

The life cycle environmental impact results were obtained using the "ReCiPe 2016 Midpoint (H) V1.06 / World (2010) H" assessment method, available in the SimaProTM 9.3.0.3 software. Thus, 18 impact categories were analyzed.

Regarding the results obtained, in the case of the production of lactic acid at laboratory scale, this study concluded that the main hotspots of the process are the production of coffee pulp, the enzymatic hydrolysis phase and the fermentation (including the inoculum) phase, representing 12%, 3% and 57% of the total impacts, respectively. Regarding pilot scale production, the hotspots are the same, and in this case the main one being the enzymatic hydrolysis phase, representing 51% of total impacts. The coffee pulp and the fermentation (with inoculum) phase represent 28% and 19% of the total impacts, respectively. In both scenarios, enzymes and energy consumption present greater relevance for the total impacts, and the main difference between the two scales is mainly in the energy consumption per functional unit, which is much higher in the laboratory scale.

With the purpose of better understanding the importance of electricity in the analyzed scenarios, this study also presents a sensitivity analysis. Therefore, the initial energy mix was replaced by the Norwegian energy mix. The results obtained demonstrate that the substitution by an energy mix containing greater fractions of renewable energies allows for a significant reduction of the impacts associated with energy consumption. For the case of laboratory-scale production, reductions between 80 and 95% of the total impacts were recorded in most categories. The fermentation and inoculum phase, originally the main hotspots of the laboratory-scale process, registered a significant decrease, now representing only 26% of the impacts. In the case of the pilot scale, the reductions are not so intense, with decreases between 25 and 65%. With a 5% representation of total impacts, the fermentation and inoculation phase is no longer a hotspot of the process.

The results demonstrated in this work allow us to identify and indicate which processes and/or products should be optimized to obtain polymers that represent an economically and environmentally viable solution. To improve production, we suggest optimizing the production of coffee pulp and enzymes and reducing energy consumption. In the future it would be interesting to carry out studies on the production processes of enzymes and culture media and to make a cradle-to-grave analysis of the lactic acid production process.

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

### Lista de Siglas

ACV	Avaliação de Ciclo de Vida
AFEX	<i>Ammonia Fiber Explosion</i>
APOS	At Point of Substitution
BNC	Nanocelulose Bacteriana
BV	Baixa Voltagem
CNC	Nanocristais de Celulose
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
EOFP	Formação de Ozono, ecossistemas terrestres
FEP	Eutrofização de Água Doce
FETP	Ecotoxicidade de Água Doce
FFP	Depleção de Recursos Fósseis
GWP	Alterações Climáticas
HOFP	Formação de Ozono, saúde humana
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido Sulfúrico
HTP <sub>c</sub>	Toxicidade Humana, cancerígena
HTP <sub>nc</sub>	Toxicidade Humana, não cancerígena
IPCC	<i>Intergovernmental Panel on Climate Change</i>
ISO	Organização Internacional de Normalização
IRP	Radiação Ionizante
LA	Ácido Lático
LOP	Ocupação do Solo
MEP	Eutrofização Marinha
METP	Ecotoxicidade Marinha
MV	Voltagem Média
NaOH	Hidróxido de Sódio
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Carbonato de Sódio
NFC	Celulose Nanofibrilada
ODP	Depleção de Ozono Estratosférico
OH	Hidróxido
PBS	Sucinato de Polibutileno
PLA	Ácido Polilático
PMFP	Formação de Partículas
SHF	Hidrólise e Fermentação Separadas
SOP	Depleção de Recursos Minerais

SSF	Sacarificação e Fermentação Simultâneas
SA	Ácido Succínico
TAP	Acidificação Terrestre
TEMPO	<i>2,2,6,6-Tetramethylpiperidine</i>
TETP	Ecotoxicidade Terrestre
WBCSD	<i>World Business Council for Sustainable Development</i>
WCP	Consumo de Água

### Lista de Unidades

°C	grau Celsius
g	grama
h	hora
kBq Co-60	quilobecquerel de cobalto
kg	quilograma
kg 1,4 – DCB	quilograma de diclorobenzeno
kg CFC – 11	quilograma de clorofluorcarbonetos
kg CO <sub>2</sub> eq	quilograma de dióxido de carbono
kg Cu	quilograma de cobre
kg N	quilograma de Azoto
kg NO <sub>x</sub>	quilograma de óxidos de azoto
kg oil	quilograma de petróleo
kg P	quilograma de fósforo
kg PM2.5	quilograma de matéria particulada
kg SO <sub>x</sub>	quilograma de óxidos de enxofre
kWh	quilowatt-hora
L	litro
m <sup>2</sup> a <i>crop</i> eq	metro quadrado de área equivalente
m <sup>3</sup>	metro cúbico
MPa	megaPascal
nm	nanómetro
ton	tonelada
ton/h	tonelada por hora
wt%	percentagem em massa

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESTRUTURA MOLECULAR DA CELULOSE .....	8
FIGURA 2 - CLASSIFICAÇÃO DA NANOCELULOSE.....	13
FIGURA 3 - OBTENÇÃO DE NFC'S A PARTIR DE TRATAMENTOS MECÂNICOS, ADAPTADO DE [15].....	14
FIGURA 4 – OBTENÇÃO DE CNC’S A PARTIR DE TRATAMENTOS QUÍMICOS, ADAPTADO DE [15] .....	14
FIGURA 5 - ESTRUTURA MOLECULAR DO ÁCIDO SUCCÍNICO.....	17
FIGURA 6 - EVOLUÇÃO DA PRODUÇÃO DE ÁCIDO SUCCÍNICO.....	17
FIGURA 7 - ESTRUTURA MOLECULAR DOS DIFERENTES ENANTIÓMEROS DO ÁCIDO LÁTICO .....	18
FIGURA 8 - PROCESSO TRADICIONAL DE SEPARAÇÃO E PURIFICAÇÃO DO ÁCIDO LÁTICO, RETIRADO DE [119].....	19
FIGURA 9 - PROCESSO DE SEPARAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE ACORDO COM NEU ET AL. [120] .....	19
FIGURA 10 - FASES DO CICLO DE VIDA DE UM PRODUTO .....	31
FIGURA 11 - FRONTEIRAS DO SISTEMA DE PRODUÇÃO DO ÁCIDO LÁTICO, ESCALA LABORATORIAL .....	33
FIGURA 12 - FRONTEIRAS DO SISTEMA DE PRODUÇÃO DO ÁCIDO LÁTICO, ESCALA PILOTO .....	33
FIGURA 13 – IMPACTES ASSOCIADOS À PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO À ESCALA LABORATORIAL .....	45
FIGURA 14 - IMPACTES ASSOCIADOS À PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO À ESCALA LABORATORIAL, SEPARAÇÃO DO CAFÉ NO PROCESSO DE MOAGEM .....	46
FIGURA 15 - IMPACTES ASSOCIADOS À HIDRÓLISE ENZIMÁTICA, ESCALA LABORATORIAL.....	47
FIGURA 16 - IMPACTES ASSOCIADOS À FASE DE FERMENTAÇÃO (COM INÓCULO), ESCALA LABORATORIAL .....	47
FIGURA 17 - IMPACTES ASSOCIADOS À PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO À ESCALA PILOTO, SEPARAÇÃO DO CAFÉ NO PROCESSO DE MOAGEM.....	48
FIGURA 18 - IMPACTES ASSOCIADOS À HIDRÓLISE ENZIMÁTICA, ESCALA PILOTO .....	49
FIGURA 19 - IMPACTES ASSOCIADOS À FASE DE FERMENTAÇÃO (COM INÓCULO), ESCALA PILOTO .....	49
FIGURA 20 – COMPARAÇÃO ENTRE ESCALA LABORATORIAL E PILOTO PARA AS CATEGORIAS GWP E FFP .....	50
FIGURA 21 - ANÁLISE DE SENSIBILIDADE, IMPACTES ASSOCIADOS À PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO À ESCALA LABORATORIAL .....	51
FIGURA 22 - ANÁLISE DE SENSIBILIDADE, IMPACTES ASSOCIADOS À PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO À ESCALA PILOTO .....	52
FIGURA 23 – ANÁLISE SENSIBILIDADE, COMPARAÇÃO ENTRE ESCALA LABORATORIAL E PILOTO PARA AS CATEGORIAS GWP E FFP .....	52



## ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - MÉTODOS DE PRÉ-TRATAMENTO DE BIOMASSA.....	9
TABELA 2 - APLICAÇÕES DA NANOCELULOSE (ADAPTADO DE [12] ).....	15
TABELA 3 - REVISÃO LITERÁRIA DAS ACV'S SOBRE OS PRÉ-TRATAMENTOS UTILIZADOS PELOS PARCEIROS DO PROJETO BIOMAC .....	20
TABELA 4 - REVISÃO LITERÁRIA DOS ESTUDOS DE ACV SOBRE NANOCELULOSE, ÁCIDO SUCCÍNICO E ÁCIDO LÁTICO.....	21
TABELA 5 – DADOS UTILIZADOS PARA A ACV DO ÁCIDO LÁTICO .....	34
TABELA 6 -EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO .....	36
TABELA 7 - DISTÂNCIA DE TRANSPORTE DOS GRÃOS DE CAFÉ VERDE .....	37
TABELA 8 - DADOS DE INVENTÁRIO PARA A PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO À ESCALA LABORATORIAL....	37
TABELA 9 – DADOS DE INVENTÁRIO DA PRODUÇÃO DO INÓCULO À ESCALA LABORATORIAL .....	38
TABELA 10 - DADOS DE INVENTÁRIO PARA A PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO À ESCALA PILOTO.....	39
TABELA 11 - DADOS DE INVENTÁRIO DA PRODUÇÃO DO INÓCULO À ESCALA PILOTO .....	39
TABELA 12 - CATEGORIAS DE IMPACTE AMBIENTAL.....	40



# ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO .....	1
1.1	Enquadramento geral .....	1
1.2	Objetivos da Dissertação.....	2
1.3	Conteúdo da Dissertação .....	2
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1	Biomassa lignocelulósica.....	7
2.1.1	Celulose .....	7
2.1.2	Hemicelulose .....	8
2.1.3	Lignina .....	8
2.1.4	Polpa de Café.....	9
2.2	Pré-tratamentos.....	9
2.3	Hidrólise Enzimática.....	11
2.4	Fermentação .....	12
2.5	Produtos de valor .....	12
2.5.1	Nanocelulose.....	12
2.5.2	Ácido succínico e ácido láctico .....	16
2.6	Revisão da Literatura para estudos de ACV .....	19
3	AVALIAÇÃO DE CICLO DE VIDA.....	31
3.1	Definição do objetivo e âmbito.....	32
3.1.1	Unidade Funcional.....	32
3.1.2	Fronteira do Sistema .....	32
3.1.3	Processos Analisados.....	34
3.2	Inventário .....	34
3.2.1	Equipamento .....	36
3.2.2	Análise de Inventário.....	37

3.3	Avaliação de impacto ambiental .....	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	45
4.1	Resultados da produção de ácido láctico .....	45
4.1.1	Análise de Sensibilidade .....	50
4.1.2	Sugestões de melhoria do processo.....	53
5	CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS .....	57
5.1	Conclusões .....	57
5.2	Sugestões de trabalhos futuros .....	58
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	63
6.1.1	Normas .....	77
7	ANEXOS.....	81
7.1	Anexo A – Inventário da produção de ácido láctico à escala laboratorial.....	81
7.2	Anexo B – Inventário da produção de ácido láctico à escala piloto .....	83
7.3	Anexo C – Análise de sensibilidade .....	85
7.4	Anexo D – Dados sobre o caldo MRS .....	89

# INTRODUÇÃO

- 1.1 Enquadramento Geral
- 1.2 Objetivos da Dissertação
- 1.3 Conteúdo da Dissertação



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Enquadramento geral

Nos tempos que correm, existe uma crescente preocupação com o ambiente e com a utilização dos recursos fósseis. Vivemos numa sociedade dependente destes recursos, do tipo de produtos que são obtidos pelos mesmos, nomeadamente os plásticos. É a partir destes que obtemos diversos tipos de materiais essenciais para o nosso dia a dia como por exemplo embalagens, materiais biomédicos, eletrodomésticos e materiais de construção [1]. A elevada dependência dos plásticos tornou-se insustentável não só ao nível ambiental, como ao nível social e económico. Os polímeros sintéticos são de degradação lenta, ou seja, uma má gestão destes materiais pode levar à acumulação de micro e macro plásticos no ambiente que causam impactos nos seres vivos e comprometem ecossistemas [2]. A acumulação de plásticos não é apenas um problema da atualidade, mas também um problema do futuro. Ainda hoje não se conhecem totalmente os impactos do plástico no ambiente, contudo podemos afirmar que uma das prioridades tem de ser e será a substituição destes plásticos sintéticos por plásticos de origem biológica e biodegradáveis, bem como a substituição de uma economia linear por uma economia circular. Se for possível alcançar esta mudança, estaremos no bom caminho para criar um mundo capaz de satisfazer as necessidades do presente sem comprometer as capacidades de as gerações futuras satisfazerem as suas.

Os bioplásticos apresentam-se então como uma potencial solução para o problema referido. A biomassa lignocelulósica é o material biológico renovável mais abundante no nosso planeta e fonte de polímeros naturais. A partir desta, podemos extrair polímeros como a celulose, a lignina e a hemicelulose [3]. A celulose, polímero natural em maior abundância no planeta, passível de ser utilizada na biorrefinaria para sintetizar e produzir nanocelulose e químicos de valor acrescentado como o ácido succínico e o ácido láctico. Posteriormente, estes compostos podem ser usados como *fillers* (cargas) e precursores na produção de polímeros biológicos [4].

Os bioplásticos podem vir a desempenhar um papel importante para uma economia de carbono zero. Todavia, a biomassa lignocelulósica possui uma estrutura complexa, necessitando assim que sejam aplicados diversos tratamentos para separar os diferentes constituintes e posteriormente tratá-los, para que se obtenham os materiais pretendidos. Vários estudos procuram desenvolver técnicas pré-tratamento de extração e separação da celulose e de bio-componentes, para que estes possam no futuro ser alternativas a produtos de origem fóssil. Contudo, os requisitos energéticos destes processos, o tipo de materiais e químicos usados poderão ter consequências ambientais, que usualmente são ignoradas. Por isso, para uma melhor compreensão dos polímeros

biológicos e para uma comparação com os polímeros sintéticos, torna-se essencial a realização de Avaliações de Ciclo de Vida (ACV).

No âmbito do projeto BIOMAC (*European Sustainable BIO-based Nanomaterials Community*) foi feita uma revisão literária da cadeia de valor da celulose, dos principais métodos para obtenção de nanocelulose, ácido láctico e ácido succínico. Das diversas linhas pilotos apresentadas e projetadas pelos parceiros, o projeto escolhido para desenvolver esta dissertação foi “Hidrólise enzimática e fermentação microbiana para produção de ácido succínico e ácido láctico”. Para este tema, foi aplicada a metodologia de ACV de modo a detalhar os impactos ambientais resultantes da produção do ácido láctico. Esta análise permite entender quais os processos ou produtos com maior dano ambiental e os principais pontos críticos da produção. A partir daí, informa-se os parceiros e sugerem-se alternativas viáveis, de acordo com a literatura.

## 1.2 Objetivos da Dissertação

Este trabalho tem como principal objetivo avaliar o desempenho ambiental de um processo da cadeia de valor da celulose, mais especificamente, da produção de ácido láctico utilizando a metodologia de ACV. Para atingir este objetivo teve ainda os seguintes sub-objetivos:

- Entender quais os principais métodos de processamento da biomassa de modo a obter nanocelulose, ácido succínico e ácido láctico;
- Rever os estudos de ACV aplicados à cadeia de valor da celulose existentes na literatura;
- Identificar os dados de inventário (as entradas e as saídas do sistema) de produção de ácido láctico;
- Identificar os principais pontos críticos associados ao processo e auxiliar os parceiros do projeto, indicando soluções e alternativas caso assim seja necessário.

## 1.3 Conteúdo da Dissertação

O conteúdo presente na dissertação foi organizado em seis capítulos e apresenta a constituição descrita abaixo.

No capítulo 1 foi feita uma breve introdução e descreveu-se o contexto na qual a dissertação foi realizada. Posteriormente definiu-se os objetivos do trabalho e a estrutura do mesmo.

No capítulo 2 realizou-se a revisão dos principais conceitos associados ao estudo. Iniciou-se com a descrição do que é a biomassa e quais são os seus principais constituintes. Posto isto, foram identificados e descritos os principais processos

essenciais para o caso de estudo, neste caso, pré-tratamentos, hidrólise enzimática e fermentação. De seguida foram descritos os produtos de valor que podem ser obtidos a partir dos processos descritos e que são de interesse para a dissertação. Por fim, foi feita uma revisão da literatura dos principais estudos de ACV relacionados com os produtos de valor.

No capítulo 3 apresentou-se a metodologia de ACV seguida, introduziu-se o caso de estudo, identificando qual a unidade funcional adotada, as fronteiras do sistema, processos considerados e as considerações efetuadas. O inventário do caso de estudo e os equipamentos utilizados foram assinalados. Por último, abordou-se o método de avaliação de impacto ambiental aplicado.

No capítulo 4 são apresentados, interpretados e discutidos os resultados obtidos para a ACV. De forma a complementar os resultados, este capítulo apresenta uma análise de sensibilidade e sugestões de melhoria do processo.

No capítulo 5 encontram-se as principais conclusões obtidas. Para finalizar a dissertação, são feitas propostas para trabalhos futuros e possíveis temas de interesse.



# REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- 2.1 Biomassa lignocelulósica
  - 2.1.1 Celulose
  - 2.1.2 Hemicelulose
  - 2.1.3 Lignina
  - 2.1.4 Polpa de Café
- 2.2 Pré-tratamentos
- 2.3 Hidrólise Enzimática
- 2.4 Fermentação
- 2.5 Produtos de valor
  - 2.5.1 Nanocelulose
    - 2.5.1.1 Nanofibras de celulose
    - 2.5.1.2 Nanocristais de celulose
    - 2.5.1.3 Nanocelulose Bacteriana
    - 2.5.1.4 Aplicações
    - 2.5.1.5 Modificações da superfície
  - 2.5.2 Ácido succínico e ácido lático
- 2.6 Revisão da Literatura para estudos de ACV



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A celulose sempre foi essencial para o ser humano, desde de tempos ancestrais onde foi usada como madeira ou como tecido, até tempos mais modernos onde a nível industrial é utilizada para a produção de papel, têxteis, fibras dietéticas e explosivos [5]. A abundância da biomassa lignocelulósica e o desenvolvimento da biorrefinaria têm permitido desenvolver produtos de valor agregado a partir de celulose, como a nanocelulose, o ácido succínico e o ácido láctico.

### 2.1 Biomassa lignocelulósica

A biomassa lignocelulósica corresponde à matéria orgânica presente na parede celular das plantas e constituída na sua maioria por celulose, lignina e hemicelulose. Surge como a principal e mais importante fonte de biomassa, um recurso natural essencial para substituir o uso de recursos fósseis. A sua abundância garante uma fonte acessível de biomassa a partir de onde irá ser extraída a celulose. Esta matéria é proveniente de resíduos agrícolas, florestais, industriais e urbanos [6].

#### 2.1.1 Celulose

A celulose é o polímero natural em maior abundância no nosso planeta e é um material renovável, biodegradável, biocompatível e não tóxico. Pode ser produzida por plantas, algas, bactérias e animais *Tunicata* e a sua produção anual, no ano de 2018, foi estimada em  $7,5 \times 10^{10}$  toneladas [9]–[11].

Celulose, como polímero, possui uma cadeia longa que contém apenas um monómero, a glicose. A molécula de celulose, representada na Figura 1, é formada a partir da repetição das moléculas  $\beta$ -D-glucopiranosose (glicose) que condensam entre si através de ligações glicosídicas  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4). Durante a condensação, o hemiacetal de um anel (extremidade redutora) reage com o grupo álcool de outro anel (não redutor) formando um acetal [12]. Esta reação liberta uma molécula de água que permite a união das moléculas de glicose. As unidades de repetição da celulose são denominadas de anidroglicopiranosose ou celobioses [13].

As ligações de hidrogénio entre os grupos hidroxilo e os átomos de oxigénio da molécula adjacente permitem criar ligações estáveis. Isto confere à celulose uma estrutura linear, rica em grupos hidroxilo [14]. Estas características permitem que as moléculas de celulose formem fibras que são caracterizadas por possuírem regiões amorfas (estruturas com um baixo grau de organização) e regiões cristalinas (estruturas com um grau elevado de organização). Estas regiões variam em quantidade conforme o tipo de biomassa e o tratamento a que foram sujeitas. A estrutura singular da celulose confere-

As propriedades como elevada resistência, flexibilidade, hidrofiliidade, quiralidade, biodegradabilidade, renovabilidade e uma ampla capacidade de ser modificada quimicamente devido à presença de um vasto número de grupos hidroxilo [15].

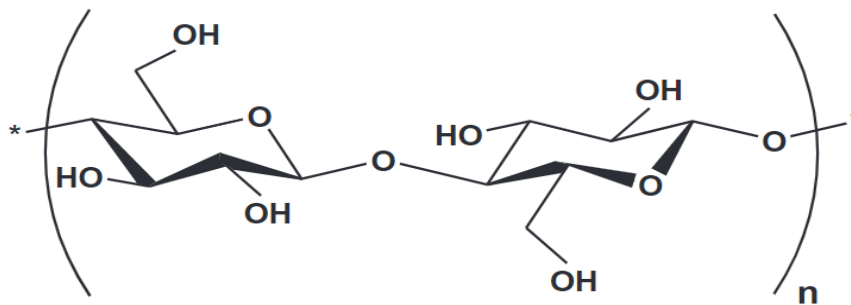


Figura 1 - Estrutura molecular da celulose

### 2.1.2 Hemicelulose

A hemicelulose representa 20 a 35% da massa da biomassa lignocelulósica [16]. É um heteropolímero constituído por cadeias curtas, lineares e ramificadas de diferentes tipos de açúcares monoméricos, como pentoses e hexoses [17]. Possui um baixo grau de polimerização e não apresenta regiões cristalinas pelo que é facilmente degradada nos respetivos monossacarídeos que a constituem [18]. Contudo, a fácil degradação leva a que se formem coprodutos indesejados como furfurais e hidroximetilfurfurais. Estes coprodutos são inibidores do processo de fermentação, no entanto, a produção de nanocelulose não é afetada pelos mesmos [6], [19].

A hemicelulose liga-se à celulose via ligações de hidrogénio e interações Van der Waals. Para além disso, está interligada com a lignina. A estrutura hidrofílica da hemicelulose cria ligações entre a celulose e a lignina proporcionando assim maior resistência e estabilidade à parede celular da planta [20], [21].

As hemiceluloses mais proeminentes são constituídas por xiloses e pelas galactoglucomanas, sendo que as xiloses se encontram em maior abundância. As xiloses são encontradas em grandes quantidades em madeiras ditas “duras” (angiospérmicas) enquanto as galactoglucomanas são encontradas na sua maioria em madeiras ditas “macias” (gimnospérmicas) [22].

### 2.1.3 Lignina

Lignina é a maior fonte de polímeros aromáticos naturais e é responsável por 30% do carbono orgânico na biosfera [16], [23]. É um polímero amorfo constituído por três unidades de fenilpropano: álcool cumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico. Estas três unidades fazem a ligação entre si via ligações carbono-carbono e ligações éter. A lignina apesar de ser um polímero hidrofóbico, é responsável pelo transporte de água e pela integridade estrutural da planta [24].

Durante vários anos a lignina foi vista como um resíduo que servia apenas para ser queimado para gerar energia e calor em biorrefinarias. Nos últimos anos, esta fração da biomassa tem ganho maior importância tendo aplicações em resinas, adesivos,

materiais de enchimento, misturas resistentes à oxidação, dispositivos biomédicos e mais recentemente na produção de biomateriais, a partir da conversão da lignina em nanolignina [23], [25].

Juntamente com a hemicelulose, a lignina forma uma matriz amorfa que embebe as fibras de celulose prevenindo assim que esta se degrade e que seja acessível por enzimas [26], [27]. Torna-se por isso necessário recorrer a pré-tratamentos para isolar as fibras de celulose dos restantes componentes.

#### 2.1.4 Polpa de Café

A polpa de café é a camada que envolve o grão de café (semente) e por isso é o primeiro coproduto que se obtêm durante o processamento das cerejas do café (fruto). Possui elevadas quantidades de celulose (23 a 63%) e por isso é considerado um bom substrato para utilizar em processos microbianos para produzir produtos de alto valor acrescentado. A produção está estimada em 9,4 milhões de toneladas por ano [7].

Contudo, na natureza, a polpa de café é tóxica, afetando terrenos agrícolas, rios e lagos nas proximidades das zonas de processamento de café. A gestão deste coproduto continua a acarretar graves problemas ambientais nos países produtores de café e por isso a exploração e utilização desta biomassa para produção de produtos de valor acrescentado pode significar uma redução dos impactes [8].

## 2.2 Pré-tratamentos

Para se proceder à produção de produtos de alto valor acrescentado, é necessário isolar a celulose da sua matriz inicial. Esta fase consiste em pré-tratamentos que permitem remover a lignina, hemicelulose, ceras, óleos e outros componentes não celulósicos presentes na biomassa lignocelulósica [28]. Geralmente estes métodos são classificados como sendo físicos, químicos, biológicos ou então combinações entre si [29]. O tipo de pré-tratamento usado depende da fonte de biomassa lignocelulósica e a morfologia que a celulose deve apresentar na próxima fase [30]. Os pré-tratamentos mais comuns são descritos brevemente na Tabela 1:

Tabela 1 - Métodos de pré-tratamento de biomassa

Pré-tratamento	Explicação
<b>Moagem</b>	Consiste na redução do tamanho das partículas até ao tamanho adequado aos próximos tratamentos. Existem diversos tipos tais como a moagem de bolas, moagem coloidal, moagem vibratória ( <i>vibro-energy milling</i> ), moagem de martelos, moagem de dois rolos [31], [32]
<b>Irradiação por micro-ondas</b>	Pode ser considerado um tratamento físico-químico devido aos seus efeitos térmicos e não térmicos. Quebra o complexo lignina-hemicelulose e remove parte da lignina [33]

Tabela 1 - Métodos de pré-tratamento de biomassa (cont.)

Pré-tratamento	Explicação
<b>Extrusão</b>	Tratamento físico na qual a celulose é sujeita a calor, compressão e forças de cisalhamento resultando em modificações físicas e químicas [34]
<b>Pré-tratamento ácido</b>	Neste tipo de tratamento podemos usar tanto ácidos concentrados como ácidos diluídos. Estes levam à dissolução da maioria da hemicelulose. Contudo, este tratamento promove a formação de componentes inibidores tornando-o assim menos atrativo [35]
<b>Pré-tratamento alcalino</b>	Este tratamento assenta no uso de bases para remover a lignina. Hidróxidos de amónia, sódio e cálcio podem ser usados para este tratamento, mas o mais comum é o hidróxido de sódio [36]
<b>Explosão a vapor</b>	Neste tratamento, a biomassa é sujeita a elevadas pressões durante um determinado período. A libertação abrupta da pressão leva à rutura das fibras [37]
<b>Líquidos iónicos</b>	Sais que se encontram no estado líquido à temperatura ambiente e que levam à dissolução da lignina e de carboidratos. Estes sais compostos por grandes catiões orgânicos e pequenos aniões inorgânicos [38]
<b>Ozonólise</b>	O ozono é um oxidante forte que leva à degradação da lignina. A hemicelulose e a celulose pouco ou nada são afetados [39]
<b>Expansão de fibra de amoníaco (AFEX)</b>	Mistura-se a biomassa com amónia líquida a temperaturas e pressões elevadas. A repentina diminuição da pressão leva à expansão do gás amónia que provoca a disrupção da biomassa e desicristaliza parcialmente a celulose [35], [40]
<b>Organosolv</b>	Adição de solventes orgânicos e/ou catalisadores ácidos. Tanto a lignina como a hemicelulose são dissolvidas, preservando a celulose.
<b>Pré-tratamento biológico</b>	Este tratamento utiliza micro-organismos, mais concretamente fungos, que degradam a lignina e a hemicelulose. Normalmente são utilizados fungos de podridão castanhos, fungos de podridão brancos ou fungos de podridão suave [41]

Apesar dos diversos pré-tratamentos referidos, mais recentemente, o interesse tem estado direcionado para o pré-tratamento organosolv e para os pré-tratamentos hidrotérmicos [42], [43].

O processo organosolv consiste na adição de solventes orgânicos (etanol, metanol, acetona ou fenóis) e/ou a adição de catalisadores ácidos (ácido sulfúrico ou ácido clorídrico). O tratamento ocorre entre os 100-250 °C. Grande parte da lignina e da hemicelulose são dissolvidos sendo que a celulose permanece no estado sólido [44]. A vantagem deste processo é que a lignina solubilizada pode posteriormente ser

recuperada e usada para diversos propósitos. Como desvantagem, está o facto de serem usados solventes orgânicos de custo elevado e que precisam de ser recuperados praticamente na totalidade, aumentando assim o consumo energético [45], [46].

O pré-tratamento hidrotermal consiste no uso de água (líquida ou vaporizada) a alta temperatura e pressão com o objetivo de penetrar na biomassa. Isto altera a estrutura da biomassa lignocelulósica, removendo a lignina e a hemicelulose e modificando a estrutura cristalina da celulose permitindo assim a separação da mesma dos restantes componentes e maior acessibilidade por parte de enzimas [47]. Dos diversos tipos de pré-tratamento hidrotérmico, explosão a vapor é aquela que é mais utilizada e que tem maior sucesso. A biomassa é sujeita a vapor pressurizado, com temperaturas e pressões que variam entre os 160 e os 260 °C e os 0.69 e 4.83 MPa [48]. É mantida nessas condições durante um período que pode ser de apenas alguns segundos até vários minutos, dependendo do tipo de biomassa lignocelulósica. Depois, a pressão é libertada de forma abrupta, resultando numa descompressão explosiva que leva a rutura das fibras [37]. Em determinadas situações utiliza-se um catalisador (geralmente H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) para uma melhor solubilização da hemicelulose [49]. Este método para além de ter reduzido impacte ambiental, requer um baixo capital, baixos consumos energéticos e é passível de ser executado sem o uso de químicos perigosos [50].

### 2.3 Hidrólise Enzimática

Após a fase de pré-tratamento, a celulose encontra-se praticamente isolada e acessível a enzimas. Contudo, continua a ser necessário transformar as cadeias poliméricas da celulose nos respetivos monómeros visto que só assim será possível ocorrer fermentação [51]. O processo responsável por esta transformação é a hidrólise, sendo que existem dois tipos: hidrólise química ou hidrólise enzimática. Esta última tem vindo a ganhar relevância ao longo dos anos visto ser uma solução ecológica, pelo simples facto das enzimas serem biodegradáveis, promoverem elevadas eficiências com baixa produção de inibidores e não utilizarem nem formarem compostos tóxicos [52].

A função das enzimas, mais especificamente das celulasas, será clivar as ligações glicosídicas das regiões amorfas da celulose, produzindo assim novas extremidades nas cadeias de celulose e conseqüentemente libertando monómeros e oligossacarídeos de glicose [53]. As hemiceluloses, caso não tenham sido eliminadas na totalidade, também podem ser hidrolisadas e convertidas nos seus respetivos monómeros [54]. Contudo o hidrolisado geralmente não possui apenas açúcares, possui também componentes prejudiciais denominados de inibidores, provenientes das fases anteriores. Estes componentes podem ser classificados em três grupos: compostos furano (furfural e hidroximetilfurfural), ácidos fracos (acético, fórmico e levulínico) e compostos fenólicos (provenientes da degradação da lignina). Por serem componentes com impacto negativo no processo de fermentação, estes devem ser eliminados antes da fermentação [55].

As enzimas são consideradas potenciais biocatalisadores para muitas aplicações, sendo que a sua utilização permite reduzir consumos energéticos e o uso de químicos. Contudo, a produção de enzimas é altamente intensiva em energia e vapor, acarretando assim elevados impactes ambientais. A utilização de matérias-primas com elevados teores de açúcares, como por exemplo o bagaço de maçã, pode permitir a redução ou evitar a utilização de enzimas. Esta modificação do processo reduz o rendimento do mesmo, mas permite reduzir significativamente os impactes ambientais [56], [57].

## 2.4 Fermentação

A fermentação é o processo metabólico no qual um microrganismo transforma um carboidrato em fármacos, alimentos, bebidas, biocombustível e químicos *building blocks*. Os microrganismos são cultivados em meios de cultura aquosos onde irá ocorrer a fermentação. Os meios possuem uma fonte de carbono, como a glicose (serve como fonte de energia e como precursor de diversos produtos), uma fonte de nitrogénio e outros nutrientes essenciais para o crescimento dos microrganismos [58], [59]. As bactérias são mais eficientes quando há uma abundância de carbono e poucas quantidades de nitrogénio [60].

As fermentações podem realizar-se em três diferentes modos de operação: *batch*, *fed-batch*, contínua. Numa fermentação *batch*, todos os nutrientes são adicionados no início e o processo ocorre a um volume fixo de meio, sem posterior adição de nutrientes. A fermentação *fed-batch* assemelha-se à fermentação *batch* com a diferença que neste caso, ao longo do processo, são adicionados nutrientes. A taxa de adição dos nutrientes deve aumentar gradualmente de acordo com o crescimento dos microrganismos. Por último, a fermentação contínua consiste, como o próprio nome indica, na contínua adição de meio de cultura. O volume de meio adicionado é correspondente ao valor de meio de cultura gasto que é removido [61]. A seleção do modo de operação irá depender dos microrganismos, do tipo de substrato e de considerações económicas [54].

A fermentação do hidrolisado de celulose permite produzir ácido láctico e ácido succínico, bem como outros produtos como a nanocelulose bacteriana, o etanol e o butanol [62].

## 2.5 Produtos de valor

### 2.5.1 Nanocelulose

Os materiais celulósicos com uma dimensão dentro da nanoescala são denominados de nanocelulose. O tipo de biomassa e o tipo de condições de tratamento a que a celulose foi sujeita são fatores cruciais para as características e propriedades da nanocelulose [63], [64]. Este tipo de material, para além de possuir as características da celulose, possui características da nanoescala como: grande área de superfície, resistência mecânica, resistência à tração, alta rigidez e um baixo coeficiente de expansão térmica [64]. Estas características tornam a nanocelulose um bom *nanofiller* (compostos ou

materiais que são adicionados aos plásticos para melhorar as suas propriedades [65]) para a produção de bio-polímeros [66]. A nanocelulose, como apresentado na Figura 2, pode ser classificada, tendo em conta a sua fonte e dimensão, em 2 categorias, *top-down* e *bottom-up*, e em 3 subcategorias: celulose nanofibrilada (NFC); nanocristais de celulose (CNC) e nanocelulose bacteriana (BNC). Para a produção de nanocelulose pode-se utilizar uma abordagem *top-down* que consiste em tratamentos mecânicos, químicos ou ambos para desintegrar as estruturas da celulose. CNC's e NFC's são obtidos por esta via e distinguem-se pela quantidade de regiões amorfas e regiões cristalinas que possuem [67]. A abordagem *bottom-up* sintetiza a celulose a partir de culturas de bactérias, obtendo assim BNC's [12], [68].

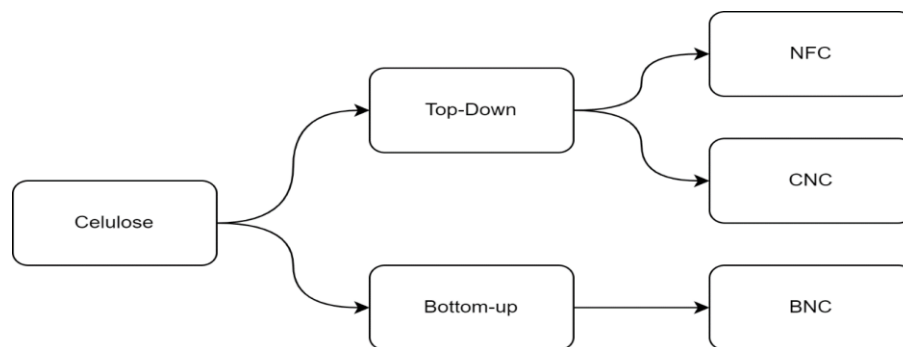


Figura 2 - Classificação da Nanocelulose

#### 2.5.1.1 Nanofibras de celulose

Celulose nanofibrilada ou nanofibras de celulose (NFC) são caracterizadas por serem longas, leves, altamente flexíveis e por possuírem boas propriedades mecânicas. Comparativamente ao CNC's, NFC's são termicamente mais estáveis, mas são menos cristalinas uma vez que existem diversas zonas amorfas [69]. As nanofibras possuem diâmetros entre os 3 e os 100 nm e vários micrómetros em comprimento [70].

Para obtenção destas nanofibras geralmente utilizam-se tratamentos mecânicos. Como é demonstrado na Figura 3, estes consistem na aplicação de forças de cisalhamento que levam à clivagem das fibras ao longo do seu eixo longitudinal [71]. Dentro dos diversos processos mecânicos, os mais comuns são a homogeneização a alta pressão, *cryocrushing*, moagem e despolimerização ultrassónica [72]. A grande variedade de tratamentos permite obter NFC's que variam na sua forma, morfologia e propriedades, influenciados também pelo tipo de biomassa utilizado [73]. Contudo, este tipo de tratamentos está associado a elevados gastos de energia e consequentemente maior impacto ambiental e maiores custos financeiros [74]. Tendo em conta este fator, tem-se combinado tratamentos mecânicos com pré-tratamentos químicos ou enzimáticos. Ultimamente a oxidação por *TEMPO* (2,2,6,6-Tetramethylpiperidine) tem sido amplamente utilizada visto que permite a conversão dos grupos hidroxilo em grupos carboxilato, fazendo assim que a superfície da celulose fique carregada negativamente, facilitando posteriormente a fibrilação da mesma [75]. Estas combinações abrem portas a um produto que requer menos gastos energéticos e que é mais amigo do ambiente [76].

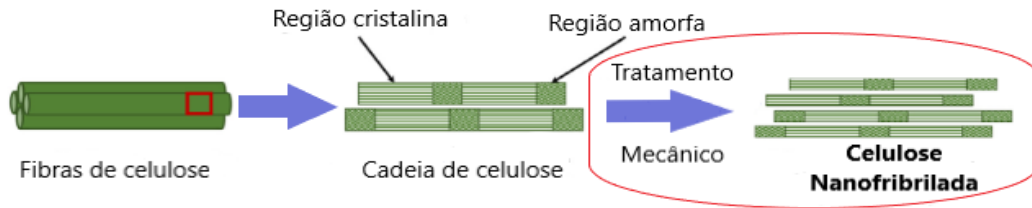


Figura 3 - Obtenção de NFC's a partir de tratamentos mecânicos, adaptado de [15]

### 2.5.1.2 Nanocristais de celulose

Nanocristais de celulose (CNC) ou *nanowhiskers* são obtidos maioritariamente por hidrólise ácida ou hidrólise enzimática, sendo que este último é o processo menos comum visto que é um processo que requer bastante tempo [77]. Como é possível verificar na Figura 4, a hidrólise ácida consiste no uso de ácidos fortes, nomeadamente o ácido sulfúrico, que digerem/hidrolisam grande parte das regiões amorfas, mantendo intactas as regiões cristalinas. Outros ácidos como o ácido clorídrico, ácido fosfórico, ácido bromídrico e ácido nítrico também já foram reportados [78]. A hidrólise permite assim obter um material altamente cristalino, caracteristicamente em forma de agulha ou vara. CNC's apresentam elevada resistência, baixo coeficiente de expansão térmica, alta estabilidade térmica, elevada área de superfície e alta relação de aspeto [67], [79]. Este tipo de nanocelulose apresenta tipicamente diâmetros entre os 3 e os 50 nm e um comprimento que pode variar desde as dezenas de nanómetros até vários micrómetros, dependendo da fonte de biomassa de onde provém [80].

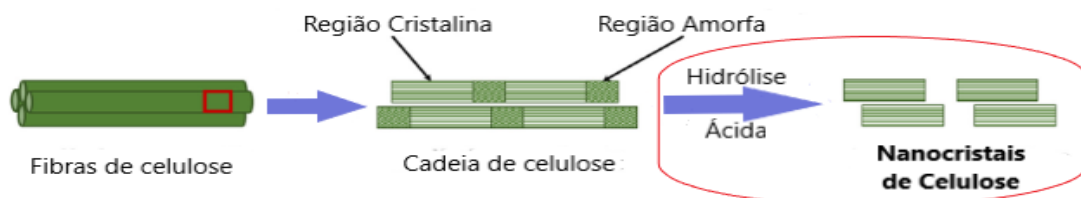


Figura 4 – Obtenção de CNC's a partir de tratamentos químicos, adaptado de [15]

### 2.5.1.3 Nanocelulose Bacteriana

Nanocelulose bacteriana (BNC) ou microbial consiste em finas fibras de celulose em forma de fita que são obtidas via fermentação. É caracterizada por ser altamente pura, cristalina, porosa, com capacidade de absorção e retenção de água e a possibilidade de ser moldada em estruturas tridimensionais durante a síntese [81], [82]. Possui uma largura entre 50-80 nm e uma espessura de 3-8 nm [83].

A produção deste tipo de celulose é realizada por diferentes tipo de bactérias, entre elas: *Gluconacetobacter*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Alcaligenes*. No entanto, a bactéria mais utilizada e que demonstrou maior taxa de produção de BNC's foi a bactéria *Gluconacetobacter xylinum* [64], [83]. Uma

característica importante deste processo está relacionada com o facto de as culturas serem reguláveis, permitindo assim manipular as propriedades e a estrutura da BNC consoante o tipo de bactéria usada e as condições de fermentação [84].

Dois tipos de cultura são utilizados para produzir BNC: cultura estática e cultura agitada. Estes diferem entre si no tipo e características de material obtido. A cultura estática resulta na acumulação de uma película branca espessa enquanto a cultura agitada dispersa a celulose no meio de cultura sobre a forma de *pellets* ou fibras em suspensão. Em comparação, a cultura estática apresenta maiores rendimentos que a cultura agitada, contudo, este tipo de cultura implica uma grande área e tempo de cultivo [85], [86].

#### 2.5.1.4 Aplicações

A nanocelulose, por todas as características referidas anteriormente, é um material promissor e que apresenta diversas aplicações. A Tabela 2 apresenta parte dessas aplicações.

Tabela 2 - Aplicações da nanocelulose (adaptado de [12] )

NFC	CNC	BNC
Cristais fotónicos, filmes barreira, polímeros com memória de forma, materiais de cura por luz, reforço de compósitos, administração de medicamentos, nanocompósitos mecanicamente adaptáveis, membranas para tratamento de água, dispositivos biomédicos, papel, embalagens, tintas, nanodispositivos de resposta a estímulos, materiais para eliminação de odores, armazenamento de energia, eletrónica flexível, díodos emissores de luz, construção, cosméticos e aplicações alimentares.	Filmes barreira transparentes, fotónica, cristais, polímeros com memória de forma, transporte de fármacos, compósitos, dispositivos óticos e eletrónicos, materiais de captura de energia, elétrodos supercapacitores, filtragem seletiva, embalagem, aplicações estruturais de compósitos, modificadores de reologia, aplicações industriais como tintas, revestimentos, adesivos, lacas, alimentos, cosméticos, medicamentos, cimentos, nanodispositivos de resposta a estímulos, construção e aplicações alimentares.	Diversas aplicações em biomedicina que inclui produtos antimicrobianos, vasos sanguíneos artificiais, modificação de pastilhas, engenharia de tecidos, material de suporte para produtos para tratamento de feridas na córnea, administração de medicamentos, hormonas e proteínas, lentes de contacto, excertos vasculares, órgãos artificiais, indústria alimentar, indústria do papel, fonte de energia, flexível, fotocatalise, biossensores e dispositivos óticos.

#### 2.5.1.5 Modificação da superfície

A nanocelulose, por todas as características que possui, apresenta diversos benefícios e abre portas a um futuro mais sustentável. Não obstante, a nanocelulose apresenta limitações que devem e podem ser contornadas. Devido à elevada presença de grupos

-OH na sua superfície, a nanocelulose é naturalmente hidrofílica. Consequentemente, esta apresenta fraca dispersão em solventes não polares e fraca compatibilidade com polímeros hidrofóbicos. Isto acarreta implicações nas propriedades físicas e mecânicas da molécula e limita o seu leque de aplicações [87]. A solução encontrada para contrariar este problema assenta na modificação da superfície da molécula a partir de métodos químicos ou físicos [88]. As modificações podem ocorrer a qualquer altura do tratamento da celulose [89].

As modificações químicas podem ser obtidas por: esterificação/acetilação, eterificação, sililação, oxidação por *TEMPO*, enxertos de polímeros, amidação e sulfonação. As modificações físicas podem ser alcançadas a partir de: descarga elétrica, corrente elétrica, irradiação, ultrassons, fibrilação de superfície [90].

As modificações superficiais permitem não só alterar a natureza hidrofílica da nanocelulose, como permitem melhorar as propriedades estruturais e químicas da molécula. Este tipo de tratamento permite uma maior compatibilidade entre nanocelulose e polímeros hidrofóbicos e abre portas para um maior número de aplicações [91].

### 2.5.2 Ácido succínico e ácido láctico

Na biorrefinaria, os produtos químicos dominantes são denominados de *building blocks*, químicos que podem ser convertidos noutros químicos ou materiais. Dentro deste grupo de químicos, o ácido succínico e o ácido láctico destacam-se por serem produtos capazes de gerar bio-polímeros [92], [93].

A produção do ácido succínico e do ácido láctico pode ser realizada por dois métodos distintos. Hidrólise e fermentação em fases distintas (SHF), utilizando dois reatores diferentes ou então sacarificação e fermentação em simultâneo (SSF), usando um único reator. SSF apresenta diversas vantagens em comparação com o outro método visto ser um processo eficiente e que permite reduzir custos e tempos de produção [94], [95].

O ácido succínico, Figura 5, denominado também por ácido butanodióico, é um ácido de enorme relevância na indústria tendo aplicações na produção de alimentos, fármacos, solventes verdes e detergentes. Mais recentemente também serve como precursor para a produção de bio-polímeros, como o succinato de polibutileno (PBS) [96], [97]. Este ácido pode ser obtido por processos químicos (via petroquímica) a partir da hidrogenação do ácido maleico, oxidação do 1,4-butanodiol, ou carbonilação do etilenoglicol, ou então por processos biológicos, a partir da fermentação de açúcares como a glicose [98]. A produção do ácido succínico tem vindo a aumentar gradualmente ao longo dos anos. Como demonstrado na Figura 6, em 1999 a produção anual estava registada nas 15 000 toneladas e em 2015 já se encontrava nas 35 mil toneladas. Este aumento está intrinsecamente ligado à crescente procura por PBS [99].

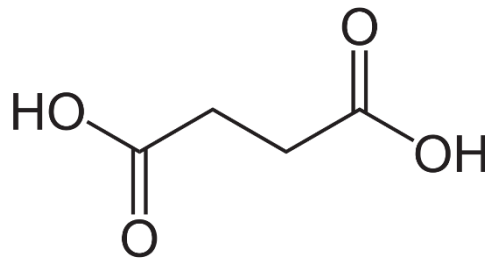


Figura 5 - Estrutura molecular do ácido succínico

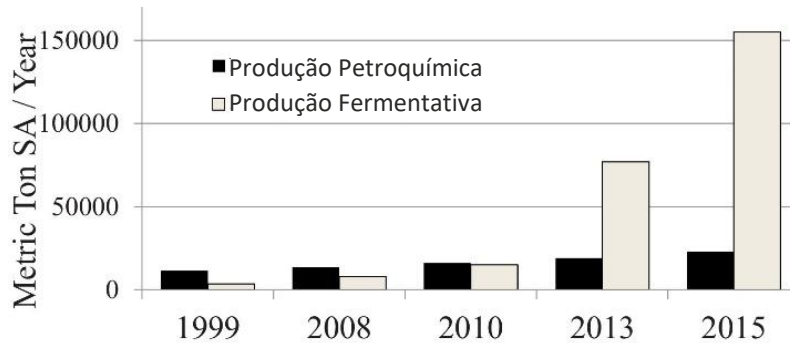


Figura 6 - Evolução da produção de ácido succínico

Bactérias como *Actinobacillus succinogenes*, *Anaerobiospirillum succiniciproducens*, *Mannheimia succiniciproducens* e *Escherichia coli* recombinante podem e são responsáveis pela produção de ácido succínico [100]. De entre as referidas, destaque-se *Actinobacillus succinogenes* uma vez que esta bactéria consegue produzir elevadas quantidades de ácido a partir de diferentes tipos de açúcar [101]. Para uma produção eficiente por parte das bactérias, a fermentação tem de ocorrer em condições anaeróbicas, provocada pela elevada presença de dióxido de carbono (gás imprescindível à produção do ácido) [102]. A utilização de fungos também é uma solução viável para a produção deste ácido, sendo que estes conseguem produzir elevadas quantidades de ácido tanto em condições de aerobiose como de anaerobiose [103]. A fermentação para produção de ácido succínico pode ocorrer em modo *batch*, em modo *fed-batch* ou em modo contínuo, contudo, segundo o estudo feito por Ferone et al. [104], a partir de uma compilação dos principais estudos sobre processos de fermentação, a fermentação contínua é mais eficiente em comparação com os restantes modos.

Posteriormente à fermentação é necessário separar e purificar o ácido succínico dado que este não se encontra no estado puro, mas sim em forma de sal. O método tradicional consiste na precipitação do ácido, mas isto implica o uso de um ácido forte que não pode ser regenerado [105]. Por esse motivo, diferentes métodos tem surgido, entre eles: extração com solventes baseados em aminas [106]; destilação a vácuo combinado com cristalização [107]; eletrodialise [108]; cristalização direta do caldo proveniente da fermentação [109]. Esta fase do processo é bastante dispendiosa, correspondendo a mais de 60% dos custos de produção [110].

O ácido láctico, designado também por ácido 2-hidroxiopropanoico, à semelhança do ácido succínico, apresenta elevado potencial para produção de bioplásticos, mais

precisamente para a produção do polímero de ácido polilático (PLA). O ácido láctico é produzido industrialmente quer por síntese química quer por fermentação microbiana. Recorrentemente é usado na indústria alimentar, farmacêutica, cosmética e química, mais especificamente na produção de químicos oxigenados e reguladores de crescimento de plantas [111], [112]. A crescente procura e interesse em bioplásticos levou ao aumento da produção de ácido láctico para posterior produção de PLA. Em 2015, a produção de ácido láctico estava estimada em 329 000 toneladas enquanto para 2020 estava estimada uma produção anual superior a 600 000 toneladas. Isto representa uma taxa de crescimento a rondar os 13% [113].

Como representado na Figura 7, o ácido láctico apresenta dois enantiómeros, que dependendo do tipo de aplicação, podem ser utilizados simultaneamente ou individualmente. Estes podem ser produzidos a partir da hidrólise ácida do lactonitrilo (derivado da petroquímica) ou então a partir da fermentação de açúcares utilizando bactérias ou fungos [114]. *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* e *Weissella* são alguns géneros de bactérias usados na produção de ácido láctico [115]. Estas bactérias podem ser divididas em dois grupos: homoláticas e heteroláticas. Bactérias homoláticas convertem quase exclusivamente glicose em ácido láctico, a partir de processos de glicólise e redução. Uma vez que a maioria de glicose é transformada em ácido láctico, uma mol de glicose gera duas moles de ácido láctico. As bactérias heteroláticas convertem, pela via das pentoses fosfato, a glicose não só em ácido láctico, mas também em etanol e dióxido de carbono. Visto não ter um produto maioritário, neste tipo de bactérias uma mol de glicose gera apenas uma mol de ácido láctico. Sendo assim, de acordo com referido, constata-se que as bactérias homoláticas tem mais interesse a nível industrial por apresentarem melhores rendimentos [116].

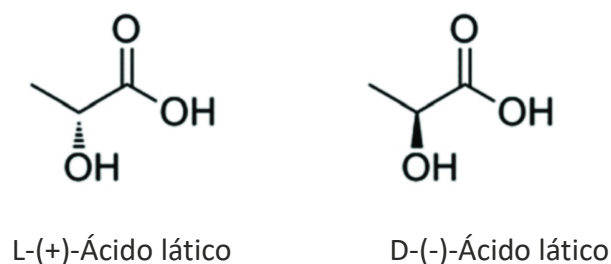


Figura 7 - Estrutura molecular dos diferentes enantiómeros do ácido láctico

As fermentações para produção de ácido láctico ocorrem em modo *batch*, *fed-batch* ou contínuo. As maiores concentrações de ácido são obtidas em modo *batch* ou *fed-batch*, no entanto, maior produtividade é alcançada em modo contínuo [116]. A via fermentativa apresenta diversos benefícios visto que utiliza biomassa, é rápida, eficiente, requer baixa temperatura de produção, baixo consumo energético e produz ácido láctico opticamente puro. Contudo, este processo requer meios de cultura complexos, que acarretam um aumento significativo no custo de produção [117], [118]. Para além disso, após a fermentação, o ácido láctico obtido não se encontra purificado, mas sim sobre a forma de sal láctico, devido aos agentes neutralizantes usados para

controlar o pH. Deste modo, torna-se indispensável separar e purificar o ácido láctico. A separação pode ser efetuada de um modo mais tradicional, de acordo com a Figura 8, ou a partir de tecnologias mais recentes, como apresentado Figura 9 [119], [120]. Estes processos apesar de serem essenciais, são bastante dispendiosos e por esse mesmo motivo representam a fase com maiores custos monetários [121].

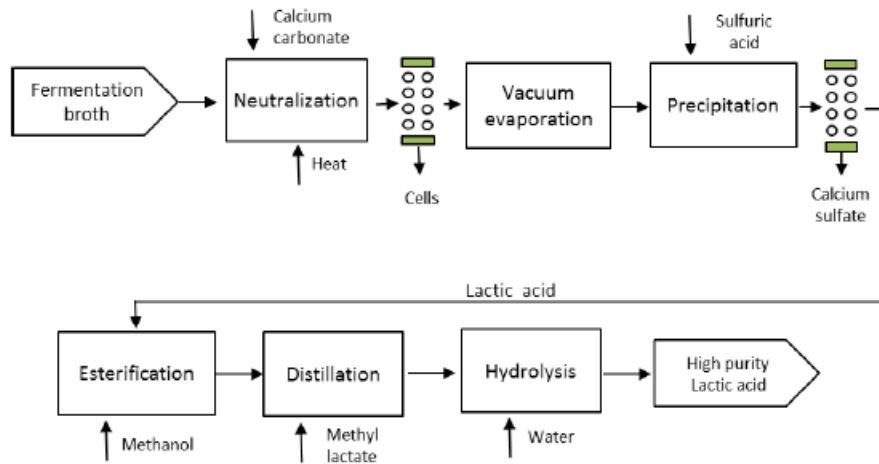


Figura 8 - Processo tradicional de separação e purificação do ácido láctico, retirado de [119]

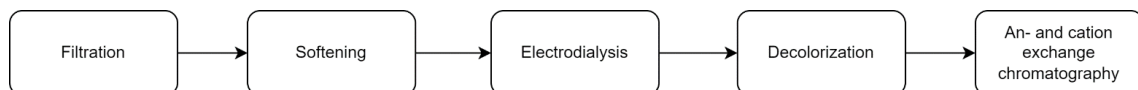


Figura 9 - Processo de separação e purificação de acordo com Neu et al. [120]

O bioprocessamento do ácido succínico e do ácido láctico tem-se tornado cada vez mais atrativo e importante para uma economia circular de baixo carbono. Contudo, os benefícios ambientais destes compostos ainda não foram completamente compreendidos. Para uma melhor compreensão é necessário a realização e comparação de diversas análises de ciclo de vida [57], [122].

## 2.6 Revisão da Literatura para estudos de ACV

Os polímeros biológicos apresentam-se atualmente como materiais mais sustentáveis em comparação com os polímeros tradicionais. Porém, ainda não se conhecem bem os benefícios da produção e introdução no mercado destes polímeros. Torna-se por isso essencial entender o ciclo de vida associado a estes processos, desde o momento em que a matéria-prima é extraída até ao momento em que acaba o processamento ou o produto chega ao seu fim de vida. A metodologia de Avaliação de Ciclo de Vida permite exatamente isso, avaliar o desempenho ambiental de um produto e identificar os principais pontos críticos ao longo de todo o ciclo de vida, ou parte dele.

Nos últimos anos, diversos estudos de ACV tem vindo a ser publicados. A diversidade dos estudos apresentados está relacionada com o facto de tanto na produção da nanocelulose, como nos precursores de monómeros, existirem diversos e distintos tratamentos e pré-tratamentos. Tendo em conta as linhas piloto apresentadas pelos parceiros deste projeto, a revisão literária da cadeia de valor da celulose foca-se em estudos de ACV que obtenham como produtos nanofibras de celulose, nanocristais de celulose, nanocelulose bacteriana, ácido succínico e ácido láctico e estudos ACV sobre pré-tratamentos organosolv e pré-tratamentos térmicos

As análises encontradas permitem compreender melhor quais são os processos mais utilizados e os respetivos impactes ambientais. Permitem recolher informações e ilustrar quais são os desafios para o desenvolvimento desta metodologia.

A Tabela 3 e a Tabela 4, sintetizam os estudos de ACV encontrados na literatura, distinguindo-os por tipo de processo e de produto obtido. Posteriormente, é feita uma análise mais detalhada sobre os estudos de ACV do ácido succínico e do ácido láctico.

Tabela 3 - Revisão literária das ACV's sobre os pré-tratamentos utilizados pelos parceiros do projeto BIOMAC

Processos	Artigo	Matéria-Prima	Unidade funcional
Organosolv	[123]	Madeira de abeto e milho	1 kg de açúcares
	[124]	Resíduos de atividades florestais, serração e trituração	1 ton/h de madeira dura
	[125]	Resíduos de cana-de-açúcar verde	1 kg de NFC
	[126]	Resíduos agrícolas	100 kg de rebentos de videira
	[127]	Aparas de madeira provenientes da indústria	1 kg de glicose
	[128]	Resíduos agrícolas	1 kg de cascas de amêndoas
Explosão a vapor	[129]	Palha de milho	1 kg de açúcares
	[130]	Palha de milho e palha de trigo	1 ton de biomassa lignocelulósica
	[131]	Pedúnculo da <i>Cynara cardunculus</i> L.	1 kg de hidrocarbonados fermentáveis
	[132]	Palha de arroz	1 kg de isolante de fibra
Água Quente Líquida	[129]	Palha de milho	1 kg de açúcares
	[133]	Espiga de milho	10 g de acetato de celulose
	[126]	Resíduos agrícolas	100 kg de rebentos de videira
	[128]	Resíduos agrícolas	1 kg de cascas de amêndoas

Nota: Para todos os estudos aqui apresentados foi realizada uma avaliação *cradle-to-gate*

Tabela 4 - Revisão literária dos estudos de ACV sobre nanocelulose, ácido succínico e ácido láctico

Produto	Artigo	CtGate	CtGrave	Unidade Funcional	Pré-tratamento	Tratamento	
NFC	[134]	X		1 kg de nanofibra de cenoura a 2 wt%	1; 2	15	
	[135]	X		1 kg de NFC-composto epoxídico reforçado	11	15	
	[76]	X		1 kg de NFC	0; 3; 4	16; 17	
	[68]	X		10 g de NFC	0	16; 18	
	[136]	X		1 kg de Fios	4	16	
	[10]	X		1 kg de NFC	5	16	
	[137]	X		10 g de NFC	4; 5	16	
	[125]			X	1 kg de NFC	1; 2; 5; 6; 7	16
CNC	[138]	X		1 g de CNC	1; 2; 8	19	
	[80]	X		1 kg de CNC	8	19	
	[139]	X		1 kg de CNC	2; 3; 6; 9	19	
	[140]	X		1 g de CNC	2; 8; 10	18; 19	
	[141]	X		1 kg de CNC	1; 2	19	
	[142]			X	1 kg de CNC	11	19
	[128]	X			1 kg de casca de amêndoa		
BNC	[135]	X		1 kg de NFC-composto epoxídico reforçado	0	20	
	[82]	X		1 kg de BNC	0	20	
	[143]	X		1 g de BNC	0	20	
	[144]	X		1 kg de SA	8; 12	20	
SA	[145]	X		1 kg de PBS	3; 12	20	
	[146]	X		1 kg de SA	8; 13	20	
	[147]	X		1 ton de SA	2; 3	20	
	[57]	X		1 kg de SA	0	21	
	[148]	X		X	1 kg de SA	13	20

Tabela 4 - Revisão literária de ACV's sobre nanocelulose, ácido succínico e ácido láctico (cont.)

Produto	Artigo	CtGate	CtGrave	Unidade Funcional	Pré-tratamento	Tratamento
LA	[145]	X		1 kg de PLA	3; 12	20
	[149]		X	1 kg de LA	12	20
	[150]	X		1 kg de LA	3; 12	20
	[151]	X		1 kg de LA	1; 3 <sup>1</sup>	20
	[152]	X		1 ton de LA	14	21
	[148]	X		1 kg de LA	13	20
				X		
	[153]	X		1 kg de LA	14	21

<sup>1</sup> Neste artigo a hidrólise não é considerada um pré-tratamento, mas sim um tratamento anterior à fermentação. Contudo, por questões de simplificação, na tabela foi considerado como sendo um processo de pré-tratamento.

*CtGate – Cradle-to-gate*

*CtGrave – Cradle-to-grave*

#### Legenda:

##### Pré-tratamento:

**0** – Sem pré-tratamento ou não é especificado; **1** – Tratamento alcalino; **2** - Branqueamento; **3** – Tratamento/hidrólise com enzimas; **4** – Carboximetilação; **5** - Oxidação por TEMPO; **6** – Organosolv; **7** – Hidrólise com sumo de lima; **8** – Moagem; **9** – Pré-tratamento hidrotérmico; **10** – Polpação; **11** – Processo Kraft; **12** - Hidrólise ácida; **13** – Hidrólise; **14** - Explosão a vapor.

##### Tratamento:

**15** – Moagem; **16** – Homogeneização; **17** – Microfluidização; **18** – Sonicação; **19** – Hidrólise ácida; **20** – Fermentação; **21** – Sacarificação e Fermentação simultânea

Shaji et al. [144], conduziram um estudo de ACV e um estudo técnico-económico para a produção de ácido succínico a partir de bagaço de cana-de-açúcar. O processo de produção consistia numa fase inicial de pré-tratamento, utilizando  $H_2SO_4$  para fazer a hidrólise do bagaço, seguindo-se a fase de fermentação do hidrolisado, separação e purificação. O processo referido foi analisado à escala comercial tendo como objetivo uma fábrica capaz de tratar quatro toneladas por hora de bagaço seco. O estudo de ACV foi realizada utilizando a metodologia *ReCiPe (H) midpoint*, sendo que a fase de separação foi simulada utilizando o programa *ASPEN PLUS*.

Do estudo técnico-económico os autores concluíram que para os rendimentos obtidos durante a fermentação, a produção de ácido succínico não era viável economicamente, sendo que, as fases de pré-tratamento e fermentação foram as que mais contribuíram para o elevado custo de produção. Quanto ao estudo de ACV, das oito categorias de impacto analisadas, as alterações climáticas e a depleção das águas são as categorias que apresentam os maiores impactes. Os resultados obtidos para as alterações climáticas e para a depleção das águas devem-se sobretudo ao elevado consumo energético, necessário para as fases de pré-tratamento, fermentação e purificação. Posteriormente este estudo comparou as emissões de carbono (categoria de alterações climáticas) observadas para o ácido succínico de fonte biológica e o ácido succínico de fonte fóssil. Inferiram então que, apesar de o ácido succínico de fonte biológica apresentar melhores valores, a diferença para o de fonte fóssil não era significativa. O estudo conclui dizendo que é necessário melhorar o procedimento de modo a obter benefícios ambientais que sejam de facto significativos.

No trabalho realizado por Smidt et al. [146], na perspetiva de uma ACV, foi estudada a produção de ácido succínico a partir de milho. O processo utilizado assemelha-se ao do estudo anterior sendo que neste caso não é especificado o tipo de hidrólise utilizado e a fase de purificação consiste numa cristalização direta. O objetivo deste estudo foi o de comparar os impactes ambientais da produção de ácido succínico de fonte biológica com uma de fonte fóssil. Este estudo utiliza as diretrizes fornecidas *WBCSD Chemical Sector* para calcular quinze impactes ambientais, sendo que, especificamente para a pegada de carbono, os cálculos foram feitos utilizando o IPCC 2007 GWP 100a. As categorias de saúde humana, depleção de recursos e qualidade do ecossistema foram calculadas utilizando a metodologia *ReCiPe*.

A avaliação do impacto ambiental segundo as diretrizes do *WBCSD Chemical Sector*, demonstrou que o ácido succínico de base biológica apresenta impactes superiores na maioria das categorias, com exceção da pegada de carbono, depleção de recursos, eutrofização de água doce e depleção de ozono. A libertação de pó/partículas e o uso de solo é onde o ácido succínico de fonte biológica se destaca mais pela negativa, devido sobretudo, à produção do milho e à hidrólise, sendo que estas duas fases correspondem aos pontos críticos de todo o processo. A metodologia *ReCiPe* demonstrou que o ácido succínico de fonte biológica apresenta melhores valores para as categorias de saúde humana e depleção de recursos, contudo, apresenta valores bastante altos para a

categoria de *qualidade do ecossistema*, fazendo assim que a totalidade dos impactes seja semelhante aos do ácido succínico de fonte fóssil.

O estudo apresenta como solução o uso de fontes de carbono que apresentem melhores valores em termos de uso de solo e libertação de partículas, tendo demonstrado que o uso de cana-de-açúcar origina valores ambientais que são bastante favoráveis à produção de base biológica.

No estudo de ACV realizado por Brunklaus et al. [147], é feita a comparação entre produção de ácido succínico utilizando resíduos alimentares e milho e a produção de biogás a partir de resíduos alimentares. O processo via resíduos alimentares inicia-se com uma hidrólise enzimática, seguindo-se as fases de fermentação e de purificação (centrifugação, adsorção, permuta iónica, cristalização e secagem). A produção via milho assemelha-se à anterior com a exceção de que não necessita de realizar hidrólise enzimática.

A partir de seis categorias de impacto, o estudo faz as comparações entre as diferentes vias de produção de ácido succínico. Os resultados obtidos demonstram que, para a categoria de impacto *potencial de aquecimento global*, o uso de resíduos alimentares apresenta valores mais baixos que o uso de milho, sendo os valores 667 kg CO<sub>2</sub> e 2340 kg CO<sub>2</sub>, respetivamente. Utilizando resíduos alimentares, a fermentação e a purificação são os que contribuem mais para esta categoria. Utilizando o milho, a produção do mesmo e da glicose são os grandes responsáveis pelos valores de *potencial de aquecimento global*, devido sobretudo ao grande consumo de energia e ao uso de fertilizantes e pesticidas. No geral, para a produção do ácido succínico, a fase de fermentação foi a que mais contribuiu para o *potencial de aquecimento global*, *potencial de eutrofização*, *potencial de acidificação* e *potencial de toxicidade humana*. Para as restantes categorias, uso de energia renovável e uso de energia não renovável, a fase de purificação foi a que mais contribuiu.

Apesar de não fazer aqui referência aos valores de produção de biogás, este apresentou melhores valores ambientais do que a produção de ácido succínico, permitindo assim afirmar que a melhor solução a nível ambiental irá sempre depender do enquadramento do problema e do sistema que está a ser estudado.

González-García et al. [57] realizaram um estudo de ACV para a produção de ácido succínico a partir de bagaço de maçã. O processo de obtenção do produto consiste em três fases distintas. A primeira fase é de acondicionamento e armazenagem, a segunda é de sacarificação e fermentação simultâneas e por último a fase de purificação. O método usado para avaliação dos impactes ambientais foi o CML 2021 method v2.05.

Este estudo faz uma análise inicial ao processo com e sem a produção de enzimas. Quando o estudo considera a produção de enzimas, os impactes ambientais do processo estão maioritariamente associados a essa produção, visto que, a produção de enzimas é um processo altamente intensivo em energia e vapor. Quando o estudo não considera a produção de enzimas, a fase de purificação é aquela que apresenta maiores impactes para todas as categorias. Para melhor compreensão do processo, foi realizada uma

análise detalhada de cada uma das fases, não considerando a produção de enzimas. Na primeira fase, o ponto crítico foi identificado como sendo a combustão do gás natural e a eletricidade consumida pelos equipamentos para fazer a secagem e armazenamento do bagaço de maçã. Esta fase tem impactes significativos nas categorias de *potencial de aquecimento global* e *consumo de energia primária*. Na segunda fase, a energia necessária para os equipamentos é o principal ponto crítico. A produção de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  também representa um ponto crítico, especialmente nas categorias de *potencial de eutrofização* e *potencial de depleção da camada de ozono*. Os nutrientes usados na SFF também apresentam impactes significativos nas categorias de *potencial de aquecimento global*, *depleção da camada de ozono* e *procura de energia*. A terceira fase, que é a fase da purificação, consiste em diversos processos, entre eles a destilação. O processo de destilação envolve o consumo de muitos solventes e energia, tornando-se por isso o ponto crítico desta fase e o principal de todo o processo.

Posteriormente à análise ambiental, o estudo fez uma análise de sensibilidade. Tendo sido identificado o principal ponto crítico do processo, a análise de sensibilidade propôs substituir a fase de purificação anterior, por uma que consiste no uso de colunas de permuta iónica, nanofiltração e evaporação. Esta análise concluiu que o novo método de purificação permite reduzir consumos energéticos e o uso de químicos, sendo que, dependendo da categoria, os impactes podem ser reduzidos entre 82% e 97%. Outra análise de sensibilidade sugeria substituir o processo inicial por um processo que não usasse enzimas visto que o bagaço de maçã já contém elevadas quantidade de açúcares solúveis, ou seja, elevados teores de glicose e frutose livres e polissacarídeos que facilmente são hidrolisados por enzimas. O que se verificou é que apesar de o rendimento ter diminuído cerca de 35%, os impactes ambientais obtidos são bastante inferiores. Conclui-se então que a não utilização de enzimas pode ser uma alternativa interessante e com potencial de exploração, desde que usemos matéria-prima com elevados teores de açúcar.

Ögmundarson et al. [149], realizou um estudo de ACV para a obtenção de ácido láctico a partir de três fontes de biomassa diferentes: milho, palha do milho e macroalgas (*Laminaria sp.*). O processo de produção consiste numa fase de colheita de biomassa, seguindo-se a fase de biorrefinaria, a fase de polimerização e o fim-de-vida do produto. A fase de biorrefinaria está subdividida noutras fases, consistindo num pré-tratamento físico, pré-tratamento químico, fermentação e purificação.

O estudo concluiu que quando a produção de ácido láctico é feita a partir de milho, os pontos críticos do processo encontram-se na produção de biomassa e na fase de biorrefinaria. Dentro da biorrefinaria, o processo com maiores impactes é o da purificação, causado pelo uso de trietanolamina e pelo tratamento das lamas da refinaria. Quando a produção é feita a partir da palha de milho, a fase predominante a nível de impactes é novamente a biorrefinaria. Neste caso, são assinalados como pontos críticos a purificação do ácido láctico e as quantidades de energia necessárias para o processo. A partir de macroalgas, os pontos críticos encontram-se na secagem da biomassa e na energia utilizada durante o processo de refinaria, sendo que, dos

diferentes processos, este é o que consome mais energia. De um modo geral, a produção a partir de milho apresenta melhores resultados a nível ambiental, especialmente para os indicadores de saúde humana e depleção de recursos naturais. Pelo contrário, a produção a partir de macroalgas apresenta piores resultados. Os maus resultados para as macroalgas indicam que este processo tem maiores margens para ser otimizado, sendo que é possível tornar-se numa solução compatível ou até melhor que os restantes processos.

No estudo de Helmes et al. [150], foi feito uma ACV com intuito de avaliar os impactes ambientais da utilização da alga verde *Ulva* spp. para produção de ácido láctico e posteriormente para produção de bioplásticos. O estudo tem como base três cenários. O primeiro cenário, que é a base do estudo, consiste no cultivo da alga, na hidrólise enzimática e química da alga, fermentação dos açúcares e purificação do ácido láctico. O cenário número dois é semelhante ao anterior, só que neste caso houve uma otimização do cultivo da alga. O terceiro cenário tem como objetivo avaliar a influência da matéria-prima e por isso em vez da alga, é usado grão de milho. A avaliação dos impactes é feita utilizando a metodologia *ReCiPe*.

A avaliação ambiental demonstrou que, para o cenário de base, os prejuízos para a saúde humana devido às alterações climáticas representam 42% da totalidade dos impactes. Isto deve-se maioritariamente ao consumo de eletricidade durante o cultivo da alga e, em menor quantidade, devido às emissões durante a hidrólise. Este cenário também apresenta valores consideráveis para as categorias de depleção de recursos fósseis e formação de partículas. No cenário dois, foi possível constatar que a otimização do cultivo permite reduzir significativamente o consumo energético e, conseqüentemente, reduzir os impactes ambientais. No cenário três, a utilização de grão de milho como matéria-prima levou à obtenção de impactes ambientais melhores que os dois cenários anteriores. Isto indica e permite afirmar que o cultivo da *Ulva* spp. não só acarreta grandes impactes como é também o grande obstáculo à produção de ácido láctico por este meio. A identificação deste obstáculo permite uma melhor compreensão do cenário, promovendo possíveis melhorias e até alternativas que levem esta espécie de alga a ser uma alternativa viável.

Munagala et al. [151] realizaram um estudo de ACV e um estudo técnico-económico sobre a produção de ácido láctico a partir de bagaço de cana-de-açúcar. O estudo de ACV, realizado segundo a metodologia *ReCiPe*, incidiu sobre um processo de quatro fases: pré-tratamento, hidrólise enzimática, fermentação e purificação.

Os principais pontos críticos do processo foram identificados como sendo a fase de pré-tratamento, causado pela produção de NaOH, e a hidrólise. Considerando estes fatores, o estudo realizou três análises de sensibilidade. Estas consistiam no aumento da carga sólida, reciclagem do NaOH e redução da quantidade de enzimas, mantendo sempre inalteradas as restantes condições do processo. As análises identificaram que o aumento da carga sólida e a reciclagem de NaOH podem ser formas de melhorar os impactes visto que estariam a ser reduzidas as quantidades necessárias do NaOH. A redução da

quantidade de enzimas representa também uma diminuição significativa do impacto das alterações climáticas.

No estudo realizado por Daful et al. [153], foi avaliado o desempenho ambiental da produção de ácido láctico a partir de bagaço e folhas de cana-de-açúcar e fontes petroquímicas, utilizando uma abordagem de avaliação de ciclo de vida. A produção de base biológica consiste nos seguintes processos: cultivo, apanha e transporte da cana; pré-tratamento; hidrólise enzimática; fermentação; purificação. O estudo tinha como objetivo a comparação entre a base biológica e base fóssil, utilizando a metodologia *ReCiPe* para categorizar os impactos ambientais.

Das dezoito categorias de impacto analisadas, dezasseis delas apresentam melhores valores para ácido láctico obtido a partir da cana-de-açúcar. As exceções são a ocupação de terrenos agrícolas, relacionado com a produção de cana-de-açúcar, e o potencial de depleção de água, relacionado com o cultivo de cana-de-açúcar e a produção do ácido láctico, mais especificamente o uso de químicos como trietanolamina, hidróxido de magnésio e etanol. As restantes categorias apresentam impactos significativamente melhores, com valores que variam entre os 61% e os 99%. O estudo conclui que a maioria dos encargos ambientais do ácido láctico de base fóssil podem ser reduzidos mediante a substituição pelo equivalente de base biológica.

Torres de Matos et al. [148] conduziram estudos de ACV para avaliar o desempenho ambiental da produção do ácido succínico e do ácido láctico. Este estudo diferencia-se dos restantes uma vez que faz uma avaliação *cradle-to-gate* e uma *cradle-to-grave*, apesar que para a última, a única categoria de impacto analisada foi o potencial para alterações climáticas. A produção dos dois ácidos assenta na utilização de milho, paleta de milho e cana-de-açúcar como matérias-primas. A matéria-prima é subsequentemente hidrolisada, fermentada e purificada (cristalização, eletrodialise e precipitação), para a avaliação *cradle-to-gate*. Caso estejamos a considerar a avaliação *cradle-to-grave*, o sistema inclui o transporte, distribuição, uso e fim-de-vida dos ácidos.

Tanto para o ácido succínico como para o ácido láctico, a avaliação ambiental permite-nos observar que os valores com maiores impactos ambientais são obtidos em *cradle-to-grave*. Isto indica que a fase de uso e fim de vida apresentam impactos ambientais significativos. Para além disso, das três matérias-primas utilizadas, a fermentação utilizando cana-de-açúcar é que apresenta menores impactos ambientais para as categorias alterações climáticas e utilização de energias não renováveis. Estes resultados devem-se essencialmente ao elevado rendimento dos açúcares desta matéria-prima.

No estudo do ácido succínico, também foi possível concluir que os maiores impactos para alterações climáticas, uso de solo e consumo de energia primária são encontrados quando a fermentação ocorre em modo *batch*. Isto indica que a utilização de uma fermentação contínua possivelmente permitirá diminuir os impactos ambientais.

Os estudos de ACV anteriormente referidos são os mais relevantes para este caso de estudo. Na sua grande maioria, o desempenho ambiental dos ácidos obtidos

biologicamente é melhor do que os dos mesmos ácidos obtidos pela via tradicional. Contudo, foi demonstrado que o processo biológico ainda está longe de ser otimizado e ser considerado um processo verde. Dependendo da matéria-prima e dos processos que utilizamos, os pontos críticos podem variar. Alguns dos pontos críticos identificados são o uso de químicos na fase de pré-tratamento ou purificação, altos consumos energéticos associados à utilização de biorreatores, utilização de enzimas e produção da matéria-prima.

O estudo aqui apresentado procura avaliar o impacte ambiental da produção do ácido láctico a partir de celulose, extraída da polpa de café, identificando os pontos críticos do processo, sugerindo alternativas e procedimentos para o otimizar e essencialmente demonstrar que de facto este é um processo verde que se apresenta como uma alternativa preferível aos métodos tradicionais.

# AVALIAÇÃO DE CICLO DE VIDA

- 3.1 Definição do objetivo e âmbito
- 3.2 Inventário
- 3.3 Avaliação do impacto ambiental



### 3 AValiação de ciclo de vida

A avaliação de ciclo de vida é uma ferramenta que permite avaliar o desempenho ambiental de um produto, serviço ou material. Esta avaliação tem como objetivo analisar os impactos ambientais das diferentes fases do ciclo de vida. A análise pode ser feita desde a extração das matérias-primas até à deposição final do produto, denominando-se assim *cradle-to-grave*, ou então a análise é apenas feita desde a extração da matéria-prima até ao momento em que sai do local de produção, denominando-se *cradle-to-gate*. Para cada etapa do ciclo, consideram-se os fluxos de entradas e saídas do sistema, como demonstrado na Figura 10.

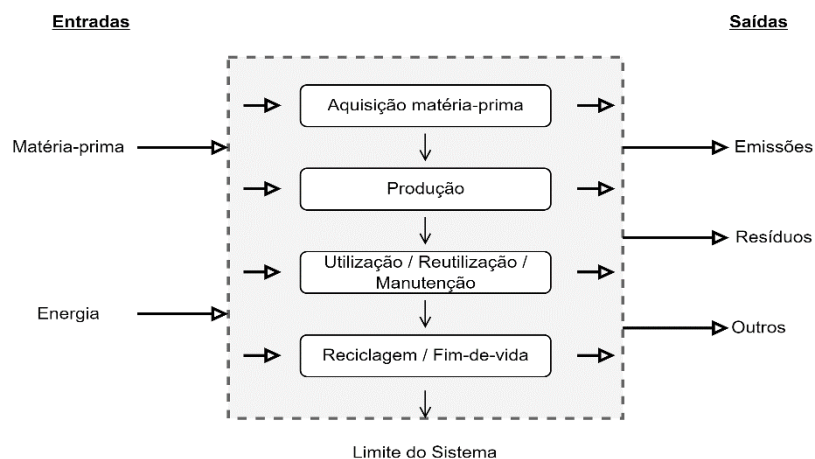


Figura 10 - Fases do ciclo de vida de um produto

Esta metodologia está assente nas normas ISO 14040 e ISO 14044, referenciadas internacionalmente. A primeira norma é referente aos princípios e estrutura da ACV, enquanto a segunda aborda os requisitos e as diretrizes. De acordo com a norma ISO 14040, o modelo de ACV incorpora quatro fases que se interrelacionam [154]:

- Definição do objetivo e âmbito – Fase do projeto onde é feita a descrição do objeto em estudo, bem como quais serão as suas aplicações e qual será o público-alvo. Estabelece-se qual é a unidade funcional e caracteriza-se as fronteiras do sistema;
- Avaliação do Inventário – Esta fase constitui um ponto fulcral em todo o processo. De acordo com os objetivos definidos, o inventário compreende a recolha de dados e cálculos que são necessários para quantificar os fluxos de entradas e saídas do sistema;
- Avaliação de impacto ambiental – De acordo com os dados quantificados na fase de inventário, são calculados os impactos ambientais;

- Interpretação – Fase na qual se avalia, interpreta e formula conclusões sobre os impactes ambientais obtidos.

Os estudos de ACV permitem identificar quais os impactes dos processos e sugerir possíveis modificações e alternativas. A realização destes estudos apresenta diversas vantagens, particularmente: desenvolvimento e melhoria de produtos ou serviços; definição de cenários prioritários em empresas, indústrias e organizações governamentais ou não governamentais; políticas ambientais; estratégias de marketing, através da alegação de carácter ambiental [155]. No entanto, o estudo de ACV também apresenta limitações uma vez que este não consegue indicar quais são os custos dos processos e quais é que exibem melhores desempenhos [156].

### 3.1 Definição do objetivo e âmbito

O principal objetivo deste trabalho consiste na realização de um estudo de avaliação de ciclo de vida que permita traçar o perfil ambiental do ácido láctico e dos processos associados, identificando pontos críticos e comunicando com os parceiros possíveis melhorias com a intenção de obter produtos altamente eficientes e com baixo impacto ambiental.

Neste trabalho e no âmbito do projeto BIOMAC, o caso de estudo é o ácido láctico, produzido com o objetivo de ser utilizado na síntese de bio-polímeros. Este polímero será aprimorado e preparado para aplicações de mercado. Este tipo de material é essencial para implementação bem-sucedida de uma economia circular.

O produto em si foi modelado de modo a ser possível obtê-lo a partir de matéria-prima biológica, mais precisamente celulose extraída a partir de polpa de café. Os materiais, processos e condições do processamento foram selecionados e otimizados pelos parceiros do projeto. No caso referente ao ácido láctico, são analisadas escalas diferentes: escala laboratorial e escala piloto.

#### 3.1.1 Unidade Funcional

A unidade funcional é uma medida da função do sistema estudado e fornece uma referência com a qual as entradas e saídas podem ser relacionadas.

Para este estudo, a unidade funcional é a produção de um quilograma (1 kg) de ácido láctico.

#### 3.1.2 Fronteira do Sistema

Fronteira do sistema é uma linha conceptual que divide e define o sistema que se quer estudar de tudo o resto. As fronteiras consideradas neste estudo encontram-se representadas na Figura 11 e Figura 12. Foram criadas de acordo com os estudos de Pleissner et al. [157], que utiliza a polpa de café como matéria-prima inicial.

O caso de estudo aqui apresentado foi avaliado para *cradle-to-gate*, ou seja, no processo apenas não foram consideradas as fases de uso e fim-de-vida dos produtos porque estas fases são iguais para o produto alternativo. A análise teve como base as normas ISO 14040 e ISO 14044.

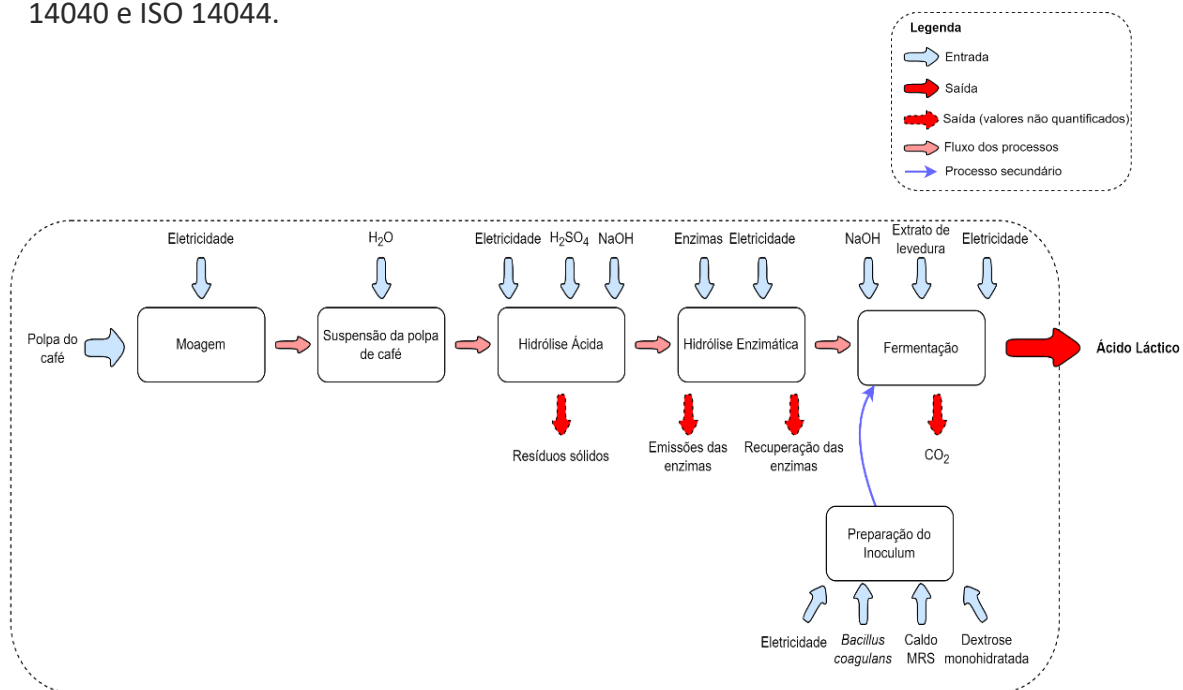


Figura 11 - Fronteiras do sistema de produção do ácido láctico, escala laboratorial

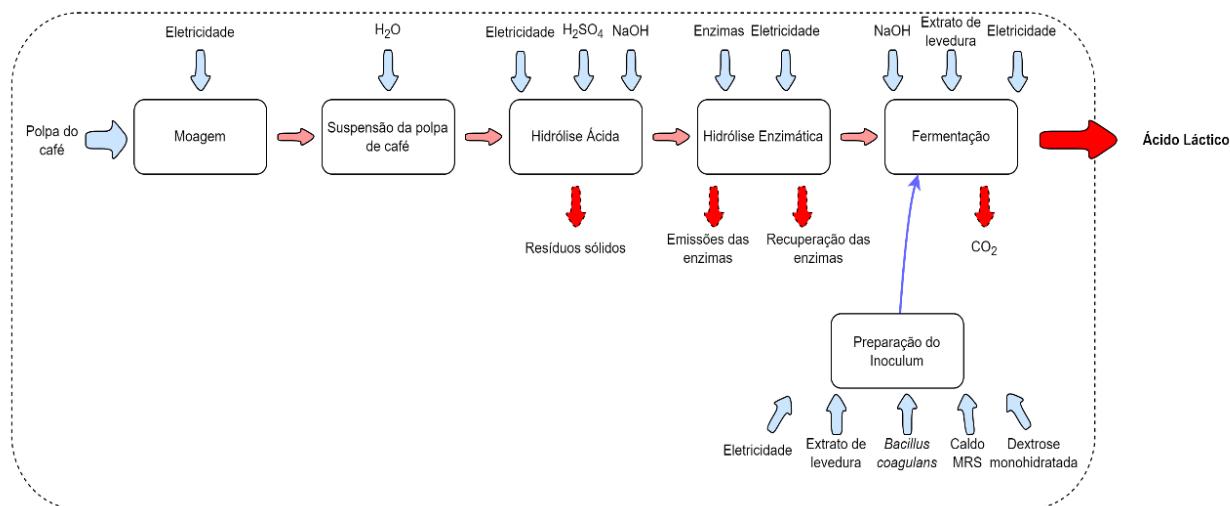


Figura 12 - Fronteiras do sistema de produção do ácido láctico, escala piloto

Para cada uma das imagens é possível verificar que existem tanto entradas como saídas. As entradas estão devidamente identificadas e quantificadas. As saídas, apesar de estarem identificadas para alguns processos, foram impossíveis de quantificar visto tratar-se de um estudo experimental. A exceção é o ácido láctico, onde foi possível quantificar o fluxo de saída.

### 3.1.3 Processos Analisados

Na avaliação de ciclo de vida do ácido láctico, foram analisados os seguintes processos:

- Moagem: Fase onde a polpa do café é moída até se obter as dimensões pretendidas para o processo, que neste caso serão partículas com um milímetro;
- Hidrólise Ácida: Fase de pré-tratamento onde é aplicado um ácido forte,  $H_2SO_4$ , para isolar a celulose e outros açúcares redutores das restantes impurezas presentes na polpa do café;
- Hidrólise Enzimática: Posteriormente ao pré-tratamento, a celulose encontra-se mais acessível às enzimas. Nesta fase as enzimas degradam a celulose nos seus respetivos monómeros (glicose);
- Inoculação: Etapa onde se prepara a suspensão de microrganismos com uma concentração adequada para posteriormente ser usada na fermentação. O microrganismo utilizado neste caso é a bactéria *Bacillus coagulans*;
- Fermentação: Fase no qual a bactéria transforma os açúcares em ácido láctico.

## 3.2 Inventário

Nesta etapa do estudo de ACV, foram recolhidos dados de inventário associados ao processo de produção e realizaram-se cálculos para estimar os fluxos de entrada, respeitando sempre a unidade funcional definida. Os inventários recolhidos estão em conformidade com os dados dos estudos de Pleissner et al. [157], produção de ácido láctico. A origem dos dados utilizados para a produção dos ácidos encontra-se presente na Tabela 5. A maioria das bases de dados consultadas encontram-se presentes no software *SimaPro*<sup>TM</sup>.

Tabela 5 – Dados utilizados para a ACV do ácido láctico

Inventário	
Polpa de café	<i>Coffee, green bean {CO}  coffee green bean production, arabica   APOS, U</i>
Eletricidade, baixa voltagem	<i>Electricity, low voltage {GR}  electricity voltage transformation from medium to low voltage   APOS, U</i>
Eletricidade, voltagem média	<i>Electricity, medium voltage {GR}  electricity voltage transformation from high to medium voltage   APOS, U</i>
Água desionizada	<i>Water, deionised {Europe without Switzerland}   market for water, deionised   APOS, U</i>
$H_2SO_4$	<i>Sulfuric acid {RER}  market for sulfuric acid   APOS, U</i>

Tabela 5 - Dados utilizados para a ACV do ácido láctico (cont.)

<b>Inventário</b>	
NaOH	<i>Sodium hydroxide, without water, in 50% solution state {GLO}  market for   APOS, U</i>
Enzimas	<i>Enzymes {GLO}  market for enzymes   APOS, U</i>
Everzit Dol dolomite	<i>Dolomite {RoW}  market for dolomite   APOS, U</i>
Dextrose monoidratada	<i>Glucose {GLO}  market for glucose   APOS, U</i>
Extrato de levedura	<i>Protein feed, 100% crude {GLO}  fodder yeast to generic market for protein feed   APOS, U</i>
Caldo MRS	De acordo com o estudo de Arias et al. [158]

Nota: Os dados, à exceção do caldo MRS, foram retirados do *Ecoinvent v3*.

Em diversas ocasiões, durante esta fase do processo, foi difícil associar e recolher dados que coincidissem/existissem nos artigos e nas bases de dados. Por esse motivo, foi necessário desprezar alguns processos e fazer alguns pressupostos, utilizando sempre a literatura como suporte.

No que diz respeito aos processos desprezados, o facto de estarmos a trabalhar numa análise *cradle-to-gate* indica que o processo só vai ocorrer até ao final da fase de produção. Tendo isto em conta, as fases de transporte, vida útil e fim de ciclo-de-vida do produto não foram contabilizadas. Dentro da fase de produção, a purificação do ácido láctico foi excluída por ser impossível quantificar as entradas e saídas, mesmo conhecendo o processo.

No caso da polpa do café, não existe informação na base de dados acerca da sua produção e, por isso, a solução passou pela utilização da matéria-prima virgem de onde é extraída a polpa, neste caso, o grão de café verde. O relatório “*Environmental Footprint of Coffee in Colombia*” [159] fornece informação a cerca da produção do grão de café verde e dos seus respetivos coprodutos. A partir desses dados foi possível fazer uma alocação mássica para a polpa de café. Este relatório indica que por cada quilograma de café verde obtemos 0,65 kg de polpa. Isto significa que 39% dos impactes da produção de grão de café verde estão alocados à produção de polpa.

Em relação às enzimas, não foi possível encontrar na base de dados informação relativa à produção da enzima *Accellerase 1500* (Danisco). Por esse motivo e segundo Ögmundarson et al., neste caso de estudo iremos substituir a produção da enzima *Accellerase 1500* por uma produção de enzimas mais generalizada.

O extrato de levedura, à semelhança dos anteriores, não existe na base de dados. Assim, o extrato de levedura foi substituído por proteína alimentar, de acordo com o que foi feito por Barbanera et al. [160].

A dextrose monoidratada, sinónimo de D-(+)-Glicose monoidratada, também não se encontra disponível no *SimaPro™*. Posto isto e tendo em conta o que existe na base de dados, substituiu-se a dextrose monoidratada pela glicose.

O NaOH utilizado em ambas as fermentações foi excluído visto não existir informação suficiente para o quantificar.

Relativamente ao caldo MRS, não existem na base de dados informações sobre o seu processo de produção. Assim, os impactes associados ao caldo foram retirados do estudo de Arias et al. [158]. A partir dos dados fornecidos pelo estudo, modelaram-se os impactes para a produção de um quilograma de caldo (Anexo D).

### 3.2.1 Equipamento

A produção dos ácidos também envolve a utilização de equipamento específico. A Tabela 6 lista os equipamentos utilizados em cada um dos processos.

Tabela 6 -Equipamentos utilizados na produção de ácido láctico

Processo	Equipamento	Potência
Moagem	Grindomix GM 200 (Retsch, Germany)	0,32 kWh.kg
Hidrólise Química	Hot Plate Stirrers, 15 L capacity	0,75 kW
Hidrólise Enzimática	2 L BIOSTAT bioreactor (Sartorius AG, Germany)	0,2 kW
Inoculação, escala laboratorial	ES-20/60 Orbital shaker-incubator	0,5 kW
Inoculação, escala piloto	5 L BIOSTAT bioreactor (Sartorius AG, Germany)	0,4 kW
Fermentação, escala laboratorial	2 L BIOSTAT bioreactor (Sartorius AG, Germany)	0,2 kW
Fermentação, escala piloto	72 L BIOSTAT UD bioreactor (B-Braun Biotech, Germany)	1,08 kW




Neste caso de estudo foi necessário fazer algumas suposições em relação ao equipamento utilizado. No processo de moagem, o valor de potência apresentado na Tabela 6 corresponde ao fornecido pelo estudo de Moiceanu et al. [161], valor esse que é referente à moagem do milho. Apesar de o pretendido ser a moagem do café, o valor apresentado pelo estudo apresenta-se como adequado para ser utilizado neste caso de estudo.

Relativamente ao biorreator a ser utilizado na fermentação à escala piloto, não foi possível encontrar um com capacidade de 72 L da marca referida. Contudo, foi possível adquirir potências para biorreatores de 50 e 100 L e a partir daí estimou-se a potência para os 72 L.

O estudo também não indica quais os equipamentos utilizados para a hidrólise química e para as inoculações e por isso foi necessário pressupor que tipo de equipamento poderá ter sido utilizado.


### 3.2.2 Análise de Inventário

Esta fase abrange a recolha de dados e a quantificação das entradas e saídas dos sistemas em estudo. Aqui encontram-se todos os dados de inventário considerados para as análises de ciclo de vida. De salientar que todos os dados de inventário estão de acordo com o artigo referido anteriormente e de acordo com as suposições feitas. Os dados foram inventariados e posteriormente apresentados por unidade funcional. A cada dado do inventário foi atribuída uma de três cores, de acordo com a sua fiabilidade.

 Fiável  Fiável, mas com incertezas  Não fiável

A respeito dos grãos de café, uma vez que os dados não incluem o transporte dos mesmos, foi necessário fazer uma consideração desse transporte no inventário. A distância apresentada, Barranquilla até Atenas, justifica-se pelo facto de os grãos de café serem provenientes da Colômbia e os parceiros desta linha piloto serem Gregos. O transporte marítimo foi selecionado visto ser o método mais comum para o transporte deste tipo de matéria-prima [162]. A Tabela 7 apresenta as distâncias consideradas.

Tabela 7 - Distância de transporte dos grãos de café verde

Transporte	Trajetos	Distância	Unidade	Distância UF	Escala	
Transporte marítimo	Distância entre Barranquilla e Atenas	9984	tkm	51,15	Laboratorial	
				35,41	Piloto	

A Tabela 8 apresenta as entradas e saídas consideradas para a produção de ácido láctico à escala laboratorial e a Tabela 9 apresenta o inventário da produção do inóculo.

Tabela 8 - Dados de inventário para a produção de ácido láctico à escala laboratorial



Processo	Entradas	Quantidade	Quantidade UF	Unidade	
Moagem	Polpa de café	1000	5,1	kg	
	Eletricidade	320	1,6	kWh	
Suspensão da polpa de café	Polpa de café moída	0,17	5,1	kg	
	Água desionizada	1,00	30,9	kg	

Tabela 8 - Dados de inventário para a produção de ácido láctico à escala laboratorial (cont.)

Processo	Entradas	Quantidade	Quantidade UF	Unidade	
<b>Hidrólise Ácida</b>	Suspensão da polpa de café	1	30,9	L	Green
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,018	0,5	kg	Green
	NaOH	0,0015	0,0	kg	Red
	Eletricidade BV	0,38	11,6	kWh	Yellow
<b>Hidrólise enzimática</b>	Fluxo hidrólise química	1	30,9	L	Yellow
	Enzimas	0,065	2,0	kg	Green
	Eletricidade BV	4,8	148,1	kWh	Green
<b>Fermentação</b>	Hidrolisado	1	30,9	L	Green
	Inóculo	0.06	1,9	L	Yellow
	Extrato de levedura	0,01	0,31	kg	Green
	NaOH			kg	Red
	Eletricidade BV	8,4	259,3	kWh	Green
	Ácido láctico (saída)	0,032	1	kg	Green

Tabela 9 – Dados de inventário da produção do inóculo à escala laboratorial

Processo	Entradas	Quantidade	Quantidade UF	Unidade	
<b>Inoculação</b>	Caldo MRS	0,0033	0,102	kg	Yellow
	Everzit Dol dolomite	0,00067	0,021	kg	Green
	Eletricidade BV	8	246,9	kWh	Yellow
	<i>Bacillus coagulans</i>	-	-	-	

A Tabela 10 apresenta as entradas e saídas consideradas para a produção de ácido láctico à escala piloto e a Tabela 11 apresenta o inventário da produção do inóculo.

Tabela 10 - Dados de inventário para a produção de ácido láctico à escala piloto

Processo	Entradas	Quantidade	Quantidade UF	Unidade	
<b>Moagem</b>	Polpa de café	1000	3,5	kg	Yellow
	Eletricidade MV	320	1,1	kWh	Yellow
<b>Suspensão da polpa de café</b>	Polpa de café moída	7,47	3,5	kg	Green
	Água desionizada	45	21,4	kg	Green
<b>Hidrólise Ácida</b>	Suspensão da polpa de café	45	21,4	L	Green
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,79	0,4	kg	Green
	NaOH	0,066	0,4	kg	Red
	Eletricidade MV	1,13	0,53	kWh	Yellow
<b>Hidrólise Enzimática</b>	Fluxo hidrólise química	45	21,4	L	Yellow
	Enzimas	2,91	1,4	kg	Green
	Eletricidade MV	25,92	12,3	kWh	Yellow
<b>Fermentação</b>	Hidrolisado	45	21,4	L	Green
	Inóculo	2,25	1	L	Yellow
	Extrato de levedura	0,45	0,21	kg	Green
	NaOH			kg	Red
	Eletricidade MV	30,24	14,4	kWh	Yellow
	Ácido láctico (saída)	2,11	1	kg	Green

Tabela 11 - Dados de inventário da produção do inóculo à escala piloto

Processo	Entradas	Quantidade	Quantidade UF	Unidade	
<b>Inoculação</b>	Caldo MRS	0,0066	0,063	kg	Yellow
	Dextrose monoidratada	0,13	0,063	kg	Yellow
	Extrato de levedura	0,03	0,014	kg	Green
	Eletricidade MV	8,5	4,0	kWh	Yellow
	<i>Bacillus coagulans</i>	-	-	-	-

### 3.3 Avaliação de impacto ambiental

A avaliação de impacto ambiental (AIA) é uma fase essencial para que se estude e avalie os potenciais impactos ambientais existentes no ciclo de vida dos produtos. Esta avaliação abrange todo o sistema, desde as entradas até às saídas, de modo a identificar os pontos críticos do processo, pontos com maior relevância em termos ambientais e conhecer os impactos reais do ciclo de vida. A análise utiliza categorias ambientais de modo a quantificar os impactos.

Neste estudo o método utilizado para quantificar os impactos foi o método “*ReCiPe 2016 Midpoint (H) V1.06 / World (2010) H*”, disponível no software *SimaPro™ 9.3.0.3*. A quantificação dos impactos é feita por fatores de caracterização, fatores estes que indicam o impacto ambiental por unidade de *stress*. Existem duas formas de caracterização de fatores: *midpoint* e *endpoint*. A caracterização por *midpoint* apresenta as categorias presentes na Tabela 12 [163]:

Tabela 12 - Categorias de impacto ambiental

<b>Categoria</b>	<b>Sigla</b>	<b>Unidade Midpoint</b>	<b>Descrição</b>
Alterações climáticas	GWP	kg CO <sub>2</sub> eq.	Alterações da temperatura global provocado pelas emissões de gases com efeito de estufa.
Depleção de ozono estratosférico	ODP	kg CFC-11	Categoria associada à diminuição da camada de ozono provocado por emissões de substâncias que degradam essa camada, como por exemplo os clorofluorcarbonetos. Esta degradação leva ao aumento da penetração de radiação UV-B.
Radiação Ionizante	IRP	kBq Co-60	Categoria relacionada com a emissão de radionuclídeos. Estas emissões podem estar ligadas à utilização de energia nuclear, queima de carvão e extração de rocha fosfática. Os impactos da radiação estão associados à saúde humana.
Formação de Partículas	PMFP	kg PM <sub>2.5</sub>	Categoria relacionada com a poluição gerada por partículas. Estas partículas apresentam um diâmetro de 2,5 µm, provenientes de substâncias orgânicas e inorgânicas.
Formação de Ozono, saúde humana	HOFP	kg NO <sub>x</sub>	Esta categoria está relacionada com a formação de ozono ao nível do solo, causado pela oxidação fotoquímica de compostos orgânicos voláteis (COV) e monóxido de carbono (CO) na presença de óxidos de azoto (NO <sub>x</sub> ) e luz solar.
Formação de Ozono, ecossistemas terrestres	EOFP	kg NO <sub>x</sub>	

Tabela 12 – Categorias de impacto ambiental (cont.)

<b>Categoria</b>	<b>Sigla</b>	<b>Unidade Midpoint</b>	<b>Descrição</b>
Acidificação Terrestre	TAP	kg SO <sub>2</sub>	Categoria associada à deposição de substâncias inorgânicas, como sulfatos, nitratos e fosfatos, que causam alterações na acidez do solo.
Eutrofização de Água Doce	FEP	kg P (Fósforo) na água doce	Eutrofização de água doce ocorre quando há descarga de nutrientes no solo ou em corpos de água doce e conseqüentemente há um aumento dos níveis de nutrientes, como o fósforo e o nitrogénio. Este acréscimo de nutrientes leva à proliferação de algumas espécies, como por exemplo algas, e ao declínio de outras espécies.
Eutrofização Marinha	MEP	kg N (Azoto) na água marinha	Ocorre devido ao escoamento e lixiviação de nutrientes, que são descarregados nos rios, mares e leitos marinhos. O enriquecimento das águas com nutrientes leva à depleção de oxigénio e provoca o aparecimento de zonas hipóxicas, águas anóxicas e “zonas mortas” que causam graves perturbações nos ecossistemas marinhos.
Toxicidade Humana, cancerígena	HTPc	kg 1,4 – DCB no ar urbano	Esta categoria está associada às substâncias químicas libertadas para o ambiente, tendo em conta a sua toxicidade e a sua potencial dose. Esta categoria divide-se nas duas subcategorias apresentadas.
Toxicidade Humana, não cancerígena	HTPnc	kg 1,4 – DCB no ar urbano	
Ecotoxicidade Terrestre	TETP	kg 1,4 – DCB	Categoria relacionada com a utilização e eliminação de químicos que podem contaminar a terra, água e ar. Por esta razão, existem as três subcategorias apresentadas. Os ambientes contaminados afetam os organismos que lá vivem. Isto pode levar grandes perdas ou até mesmo extinção de algumas espécies.
Ecotoxicidade de Água Doce	FETP	kg 1,4 – DCB	
Ecotoxicidade Marinha	METP	kg 1,4 – DCB	
Ocupação do Solo	LOP	m <sup>2</sup> x yr annual crop land	Esta categoria centra-se na perda de espécies e danos nos ecossistemas provocados pela ocupação de solo para atividades humanas.
Consumo de Água	WCP	m <sup>3</sup>	Consumo de água é a utilização da água de tal forma que esta é evaporada, incorporada em produtos, transferida para outras bacias hidrográficas ou descartada no mar. O consumo de água representa a água que já foi consumida e que por isso já não está disponível.

Tabela 12 – Categorias de impacto ambiental (cont.)

<b>Categoria</b>	<b>Sigla</b>	<b>Unidade Midpoint</b>	<b>Descrição</b>
Depleção de Recursos Minerais	SOP	kg Cu	Nestas categorias os impactes estão associados à exploração e consumo de recursos não biológicos e não renováveis. Em ambos os casos, os consumos estão relacionados com os seus nomes. SOP categoriza os impactes relacionados com exploração e produção de minerais e a FFP categoriza os impactes relacionados com a exploração de recursos fósseis.
Depleção de Recursos Fósseis	FFP	kg oil	

# RESULTADOS E DISCUSSÃO

- 4.1 Resultados produção ácido láctico
  - 4.1.1 Análise Sensibilidade
  - 4.1.2 Sugestões de melhoria do processo



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados dos estudos de ACV feitos. Os resultados aqui apresentados foram obtidos a partir do software *SimaPro*<sup>TM</sup>, sendo que estes foram quantificados utilizando o método “*ReCiPe 2016 Midpoint (H) V1.06 / World (2010) H*”. Para cada escala foram analisadas 18 categorias de impacto, contudo, as imagens apresentam apenas 17 uma vez que as categorias de toxicidade humana foram somadas. A secção 4.1 aborda os resultados obtidos para a produção de ácido láctico seguindo-se uma análise de sensibilidade na secção 4.1.1. Este capítulo termina com sugestões para melhorias dos processos.

### 4.1 Resultados da produção de ácido láctico

Nesta secção são analisados os resultados gerais da produção de ácido láctico e identificados os principais pontos críticos do processo. Posteriormente à identificação dos pontos críticos será feita uma análise detalhada aos mesmos, mais especificamente, aos materiais ou processos responsáveis pelos resultados.

A Figura 13 é referente à produção à escala laboratorial.

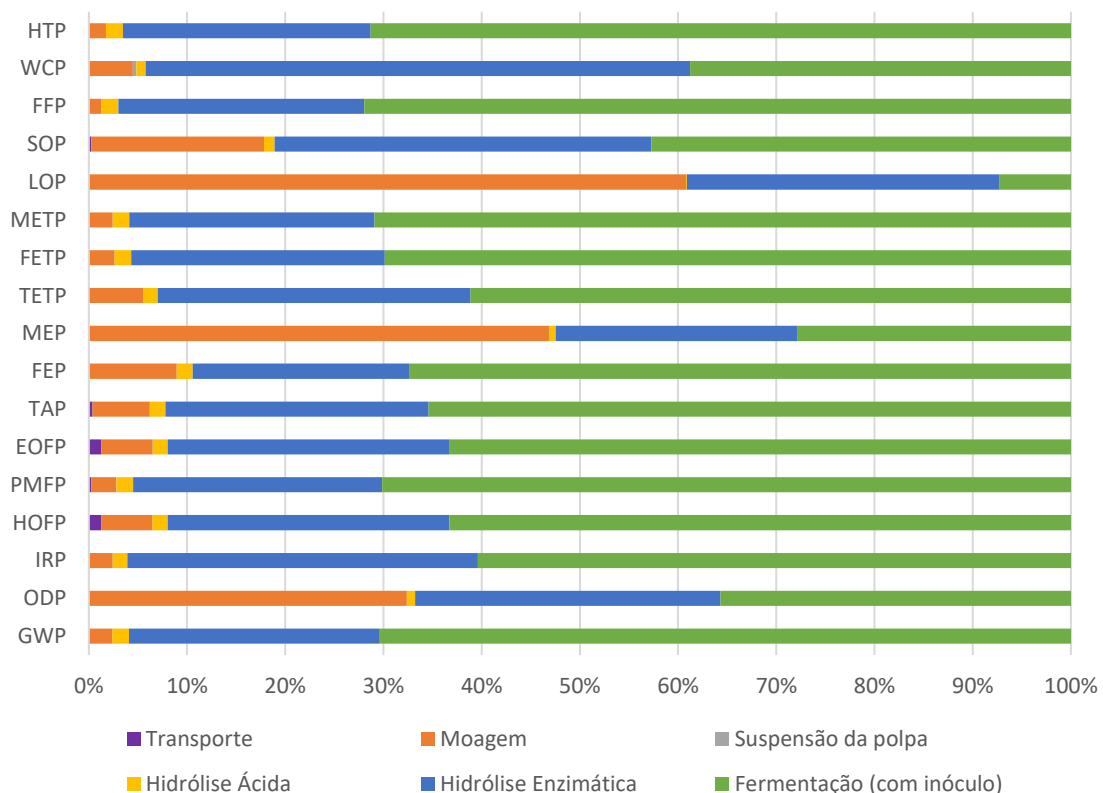


Figura 13 – Impactes associados à produção de ácido láctico à escala laboratorial

Como é possível verificar a partir da análise da Figura 13, os principais pontos críticos associados a este processo são a fase de hidrólise enzimática e a fase de fermentação (com inóculo), representando 30% e 56% dos impactes totais, respetivamente. A moagem, com 12% impactes totais de, também pode ser considerada um ponto crítico visto que representa impactes elevados para as categorias de eutrofização marinha (47%) e ocupação de solo (61%). As restantes fases do processo apresentam impactes praticamente insignificantes, com valores totais que variam entre 0 e 1,4%.

No que se refere à fase de moagem, o facto de possuir impactes elevados para as categorias MEP e LOP indica que estes impactes poderão não estar relacionados com o processo de moagem em si, mas sim com a produção da polpa de café. A Figura 14 apresenta um gráfico onde a polpa do café foi removida do processo de moagem e foi tratada como um processo isolado. A figura comprova efetivamente que a maioria dos impactes anteriormente associados à fase de moagem provém na verdade da polpa de café. Estes impactes resultam sobretudo da fase de cultivo do café, associado ao uso de fertilizantes e pesticidas, e ao espaço ocupado para a plantação desta matéria-prima. A fase de pós-colheita também contribui para os impactes, sendo que essas contribuições surgem maioritariamente da energia que é consumida.

A análise de pontos críticos para a escala laboratorial será feita de acordo com a Figura 14.

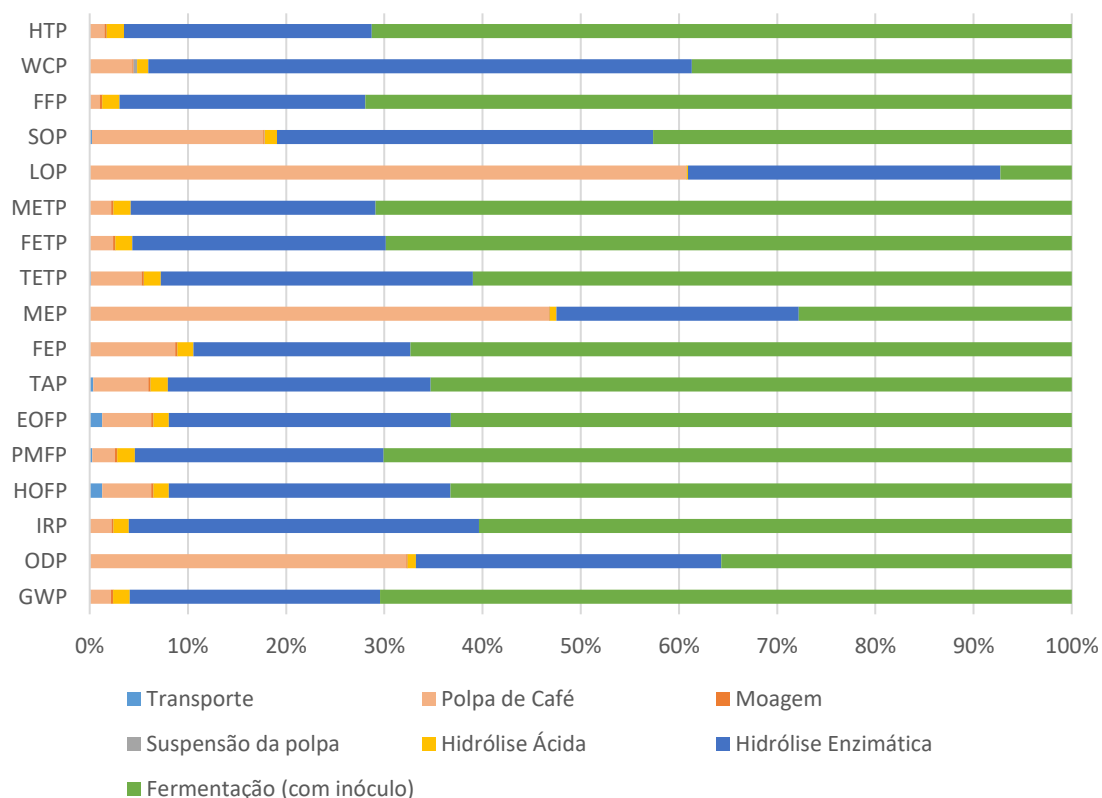


Figura 14 - Impactes associados à produção de ácido láctico à escala laboratorial, separação do café no processo de moagem

Relativamente ao ponto crítico da hidrólise enzimática, os impactes encontram-se maioritariamente entre os 20 e 30%, sendo que a grande exceção é a categoria WCP, com um impacte superior a 50%. As enzimas estão geralmente associadas a elevados impactes, contudo, à escala laboratorial, o principal impacte desta fase está relacionado com o consumo energético do biorreator, como demonstra a Figura 15.

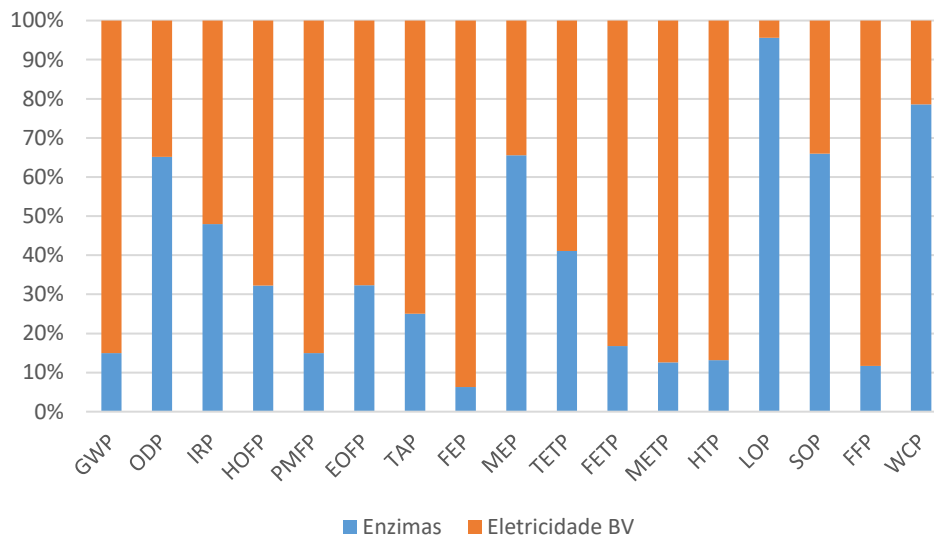


Figura 15 - Impactes associados à hidrólise enzimática, escala laboratorial

No que se refere à fase de fermentação (com inóculo), esta representa o grande ponto crítico do processo visto que contribui mais de 50% para a maioria das categorias de impacte, com exceção para as categorias LOP, SOP e WCP. Estes impactes provêm sobretudo do consumo energético associado aos biorreatores usados na fermentação e na produção do inóculo, como é possível verificar na Figura 16.

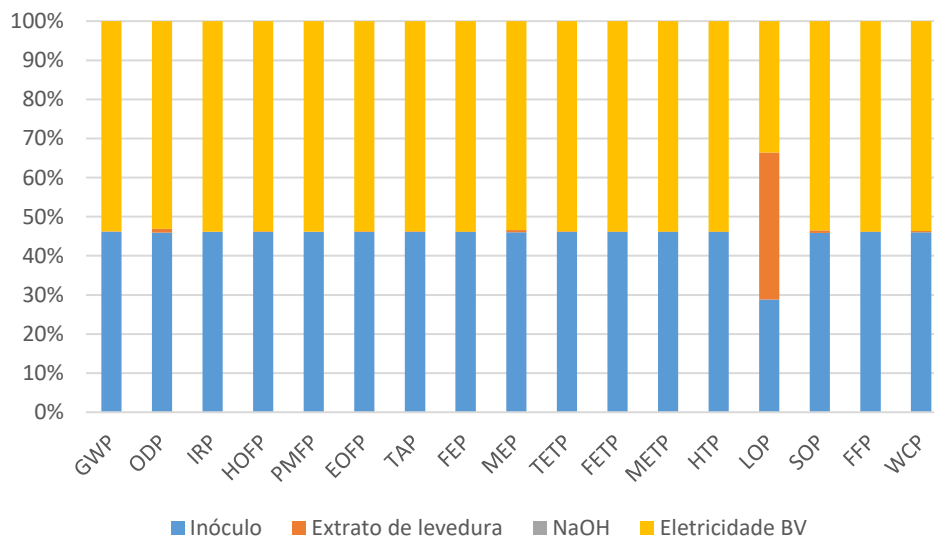


Figura 16 - Impactes associados à fase de fermentação (com inóculo), escala laboratorial

Uma análise mais detalhada à produção do inóculo demonstra que praticamente 100% dos impactes desta fase provêm do consumo energético do biorreator, como é possível constatar no Anexo A (Tabela A.4). No estudo de Arias et al. [158] o caldo MRS

representa um dos pontos críticos do processo, no entanto, para as quantidades utilizadas neste caso os impactes não são significativos.

Em relação à produção de ácido láctico à escala piloto, a Figura 17 demonstra que os pontos críticos são os mesmos que na escala laboratorial, ou seja, a polpa de café, a fase de hidrólise enzimática e a fase de fermentação (com inóculo). Contudo, apesar de os pontos críticos serem os mesmos, as percentagens dos mesmos são diferentes das anteriores, representando neste caso 29%, 51% e 17% dos impactes totais, respetivamente. Nesta escala podemos observar que a hidrólise enzimática passa a representar o principal ponto crítico do processo e que a contribuição da polpa de café torna-se mais significativa. Os restantes processos não apresentam impactes superiores a 1,1%.

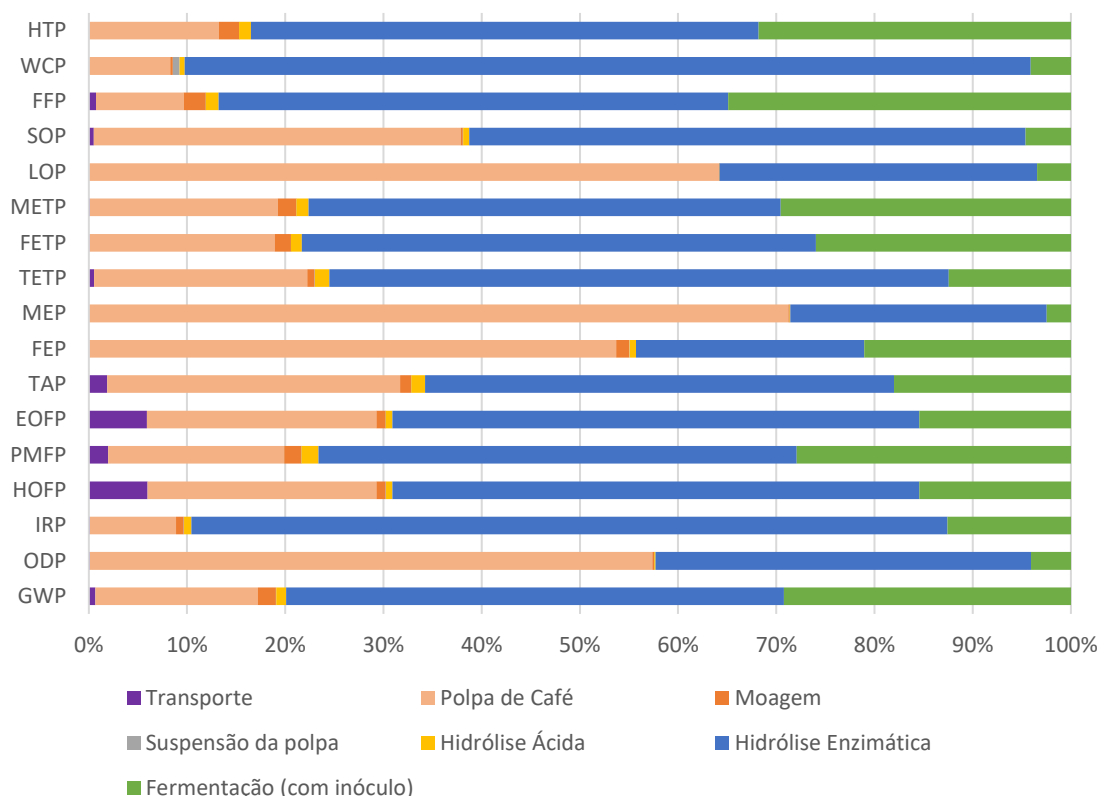


Figura 17 - Impactes associados à produção de ácido láctico à escala piloto, separação do café no processo de moagem

Nesta escala, como referido anteriormente, a hidrólise enzimática é o principal ponto crítico do processo, apresentando valores que na maioria das categorias são próximos ou superiores a 50%. Exceção à regra são as categorias ODP, FEP, MEP e LOP.

De acordo com a Figura 18, os impactes desta fase estão sobretudo alocados às enzimas, mais especificamente à produção das mesmas. Isto explica-se, e de acordo com a literatura, pelo facto de o processo de produção de enzimas ser altamente intensivo em energia e vapor, levando assim a elevados impactes ambientais [57]. Para além disso, o processo de produção de enzimas utiliza como matéria-prima inicial o amido de batata, sendo que, muitos dos impactes alocados à produção de enzimas provém da respetiva

produção do amido. A produção do amido de batata, juntamente com a produção da polpa de café, justifica os valores elevados para as categorias TETP e HTP.

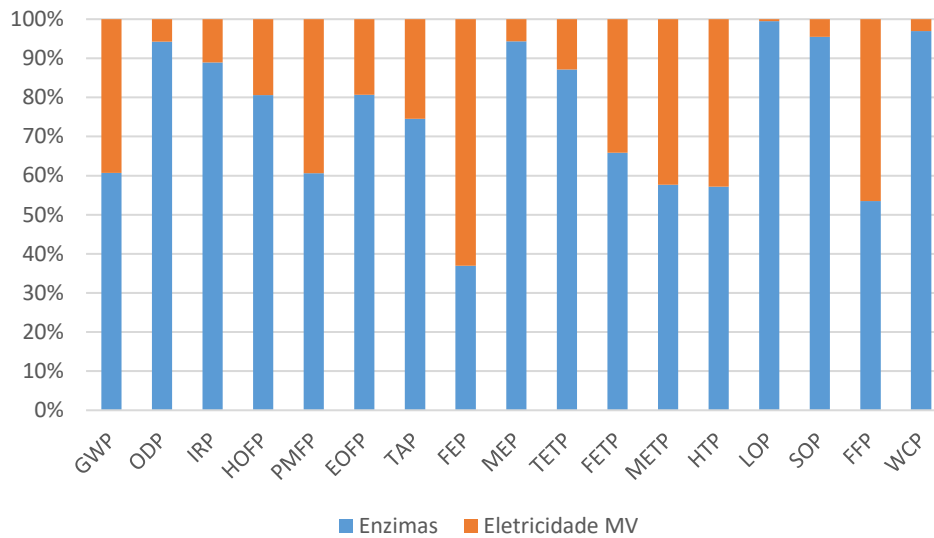


Figura 18 - Impactes associados à hidrólise enzimática, escala piloto

A fase de fermentação (com inóculo) na produção em escala piloto comparativamente à escala laboratorial apresenta impactes menores. No entanto, continua a ser um ponto crítico do processo uma vez que diversas categorias de impacte apresentam valores entre os 20 e os 35%. O Anexo B (Tabela B.2) revela que as categorias com maiores valores de impacte são GWP, METP, HTP e FFP. Os valores mais elevados para estas categorias devem-se essencialmente aos elevados consumos energéticos associados a esta fase, mais especificamente ao consumo energético dos biorreatores, como é possível verificar na Figura 19.

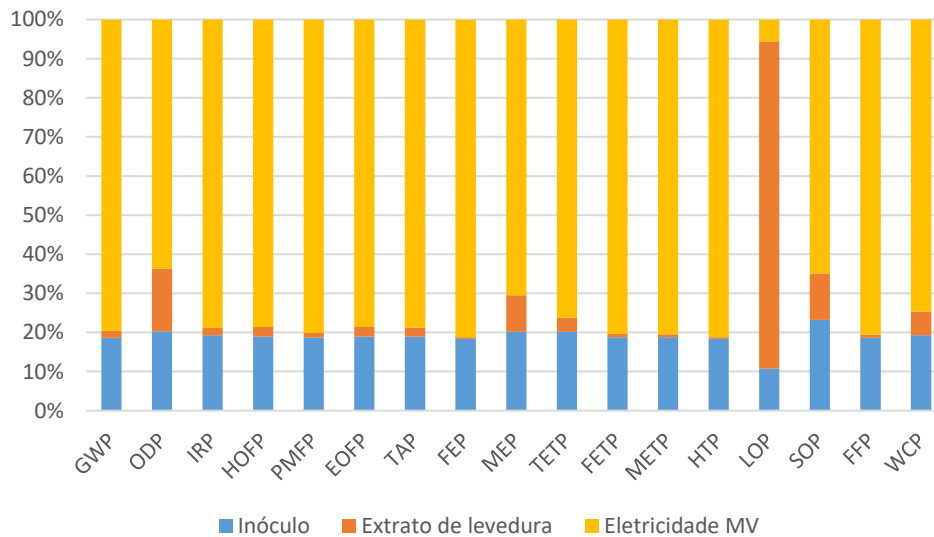
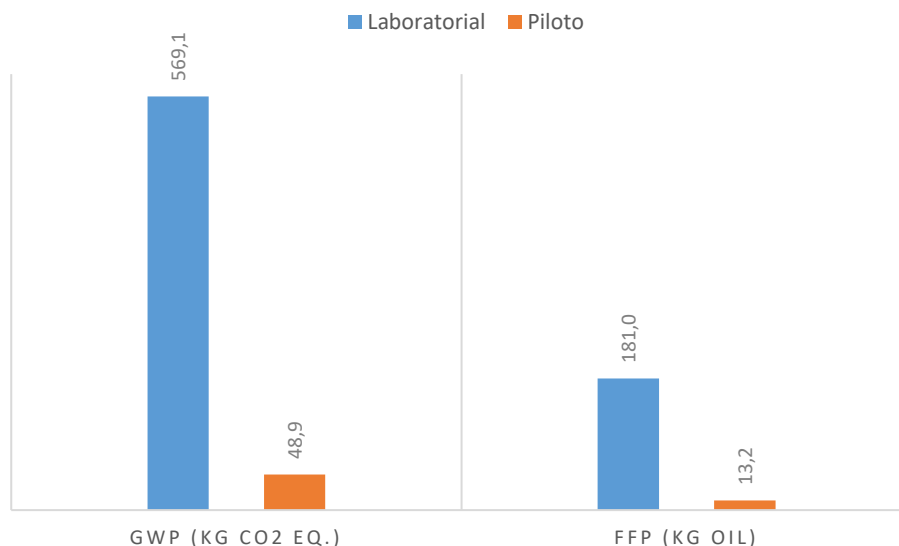


Figura 19 - Impactes associados à fase de fermentação (com inóculo), escala piloto

A análise e comparação das diferentes escalas demonstra, como seria de esperar, que a produção à escala piloto é ambientalmente melhor que à escala laboratorial. Numa perspetiva geral, podemos verificar que entre as duas escalas, a grande diferença encontra-se sobretudo no consumo energético. A escala piloto consome muito menos energia uma vez que, geralmente, o consumo energético diminui com o aumento da

escala de produção e, portanto, maiores volumes de produção. Na escala laboratorial os equipamentos não estão otimizados para produzir pequenas quantidades e por isso os consumos serão sempre maiores [164]. Tendo em consideração o referido, é expectável que os impactes associados ao consumo energético sejam maiores para a escala laboratorial. Isto é facilmente observado a partir da Figura 20, onde se constata que os valores totais de GWP e FFP são muito superiores na escala laboratorial quando em comparação com a escala piloto.



#### 4.1.1 Análise de Sensibilidade

Os resultados acima apresentados permitem constatar que a produção do ácido láctico é um processo com elevados consumos energéticos, sobretudo na produção a nível laboratorial. De modo a entender melhor o comportamento ambiental da produção do ácido láctico, foi elaborado um processo alternativo onde se substitui o *mix* energético grego (cerca de 23% de energia de fontes renováveis) pelo *mix* energético norueguês, caracterizado por ter maiores percentagens de energia renovável (mais de 95%).

Como é possível verificar a partir das informações presentes no Anexo C, a substituição pelo *mix* norueguês reduz, de um modo geral, os impactes do processo. A redução mais acentuada verifica-se na fase de fermentação (com inóculo). A categoria WCP é a única exceção registando um aumento dos seus impactes em 72% para a escala laboratorial e 27% para a escala piloto.

Na escala laboratorial, a redução dos impactes está entre os 70 e os 95% para a maioria das categorias. A fase de fermentação (com inóculo), anteriormente o principal ponto crítico do processo, apresenta uma redução bastante significativa dos impactes sendo que nesta análise representa 25% dos impactes totais do processo, em contraste com os 56% do processo original. A polpa de café e hidrólise enzimática, apesar de verem os seus impactes reduzidos, comparativamente aos resultados anteriores, ganham maior relevância no processo, como se verifica na Figura 21.

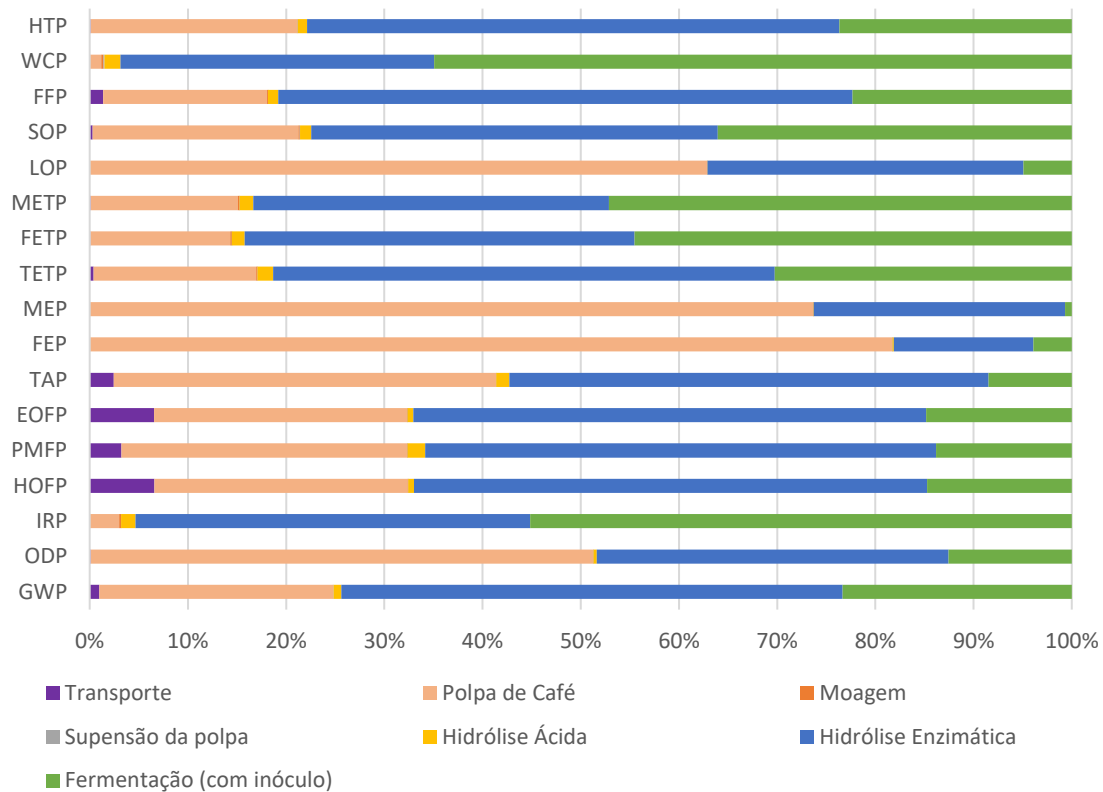


Figura 21 - Análise de sensibilidade, impactes associados à produção de ácido láctico à escala laboratorial

Na escala piloto, a redução dos impactes já não é tão acentuada uma vez que esta escala apresenta menores consumos energéticos e por isso uma alteração do *mix* não irá ter uma influência tão forte. Registam-se assim diminuições de 25 a 60% na maioria das categorias de impacte. A fase de fermentação (com inóculo) deixa de ser considerada um ponto crítico relevante do processo visto que representa apenas 4% dos impactes totais do processo. A Figura 22 permite observar que a polpa do café e a hidrólise enzimática passam assim a ser os principais pontos críticos do processo, com 39% e 55% dos impactes totais, respetivamente. A maioria dos impactes destas fases está associada à produção da polpa de café e enzimas.

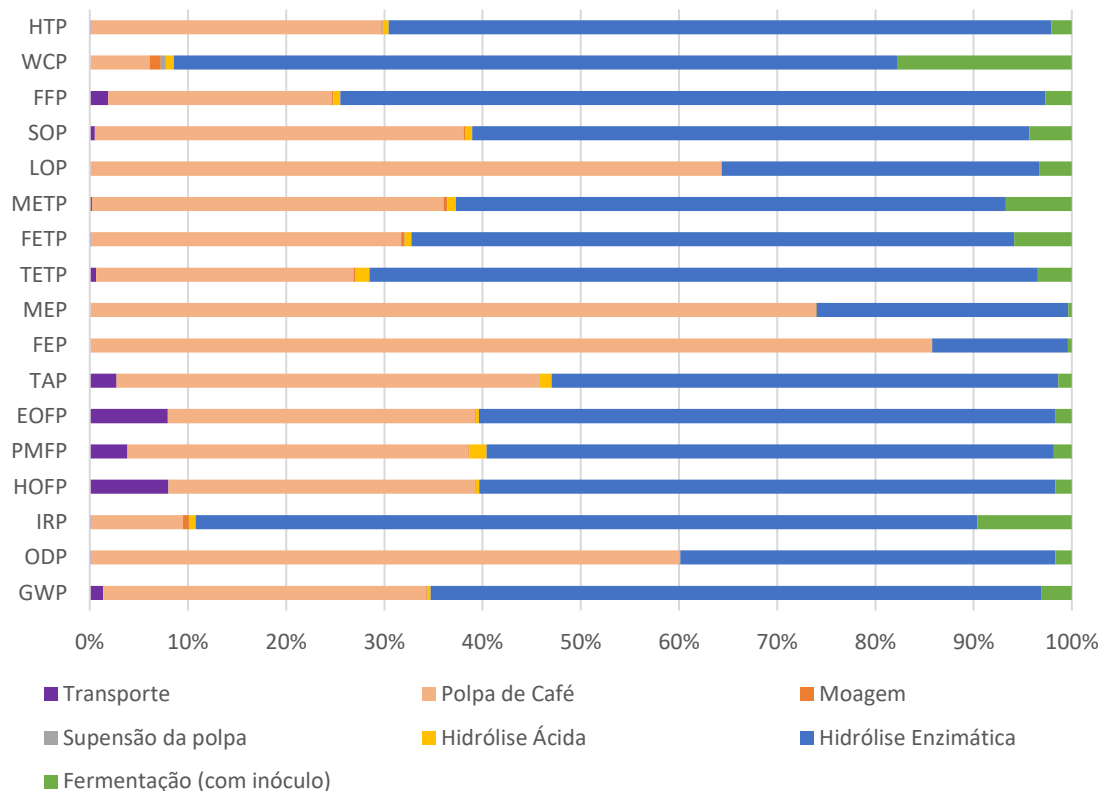


Figura 22 - Análise de sensibilidade, impactes associados à produção de ácido láctico à escala piloto

Previamente, quando comparada a escala laboratorial com a escala piloto, verificava-se que a grande diferença entre as duas provinha do consumo energético. A alteração do *mix* para além de diminuir os impactes associados ao consumo energético, permitiu que a diferença entre as escalas não fosse tão significativa, como demonstra a Figura 23.

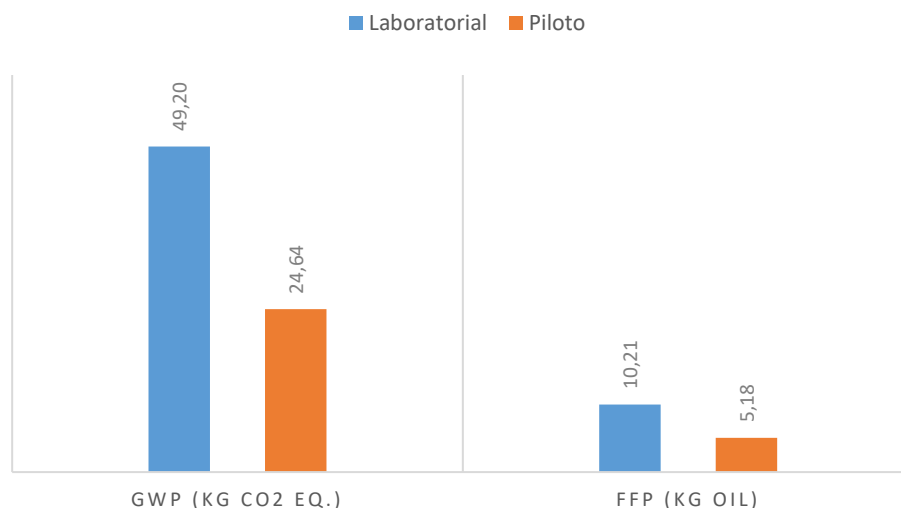


Figura 23 - Análise sensibilidade, comparação entre escala laboratorial e piloto para as categorias GWP e FFP

#### 4.1.2 Sugestões de melhoria do processo

Não obstante todos os pontos críticos apresentados, o processo de produção do ácido láctico é passível de ser melhorado e otimizado de modo a se obter melhores resultados ambientais.

Relativamente aos impactes associados à produção do café, o relatório “*Environmental Footprint of Coffee in Colombia*” [159] sugere:

- Otimizar a produção e uso de fertilizantes;
- Renovar as máquinas agrícolas com intuito de melhorar a sua eficiência;
- Utilizar sistemas de irrigação alimentados a partir de painéis solares;
- Plantação para árvores para sombra, de modo a regular a humidade, diminuindo assim a evapotranspiração e consequentemente reduzindo a necessidade de irrigação.

No que se refere às enzimas, a literatura já tinha demonstrado que a produção destas é um processo altamente intensivo em energia e vapor e por isso em muitas situações é considerado um ponto crítico. Neste caso, a sugestão passa pela otimização do processo de produção das enzimas com o propósito de diminuir os seus requisitos. Outra solução seria utilizar matéria-prima rica em açúcares permitindo assim não utilizar enzimas ou reduzir as quantidades necessárias, como demonstrado no estudo de González-García et al. [57].

A respeito do consumo energético, sabemos que o *mix* energético utilizado possui uma parte substancial de energia fóssil. Uma das opções para a redução dos impactes associados ao consumo energético será, como demonstrado na análise de sensibilidade, o contínuo aumento das energias renováveis nos *mixs* energéticos, reduzindo assim a percentagem de combustíveis fósseis. A otimização dos processos e dos equipamentos em termos das suas necessidades energéticas será também uma forma de reduzir os impactes.



# CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- 5.1 Conclusões
- 5.2 Sugestões de trabalhos futuros



## 5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

### 5.1 Conclusões

Este capítulo apresenta as principais conclusões sobre a presente dissertação. O caso de estudo desenvolvido pretende avaliar o desempenho ambiental da produção de ácido láctico, com base na metodologia de Avaliação de ciclo de vida (ACV). Para uma unidade funcional de 1 kg de LA, foram analisados dois cenários: produção de ácido láctico à escala laboratorial e produção de ácido láctico à escala piloto. Os ciclos de vida deste produto foram modelados de acordo com a informação presente na literatura, em específico no estudo de Pleissner et al. e em bases de dados consultadas.

Uma análise aos principais estudos de ACV encontrados na literatura, permitiu verificar que a produção de ácido láctico a partir de biomassa e fermentação microbiana não é um processo isento de impactes. Os estudos demonstraram que os impactes podem variar conforme o tipo de biomassa e processos que são utilizados. Numa fase inicial, esta revisão foi útil para compreender os principais métodos e os pontos críticos da produção de ácido láctico, servindo como base para o caso de estudo desenvolvido nesta dissertação.

No caso da produção à escala laboratorial verificou-se que o principal ponto crítico do processo é a fase de fermentação (com inóculo), com 56% dos impactes totais. Outras fases, como a hidrólise enzimática e a produção da polpa de café, também apresentam impactes significativos. Neste cenário a maioria dos impactes identificados está relacionada com os elevados consumos energéticos, associados especialmente aos biorreatores usados. Como referido acima, estes consumos energéticos são normais tendo em conta a escala da produção.

Em relação a produção à escala piloto, o principal ponto crítico é a fase de hidrólise enzimática uma vez que representa 51% dos impactes totais. A produção de polpa de café e a fase de fermentação (com inóculo) também são pontos críticos do processo, com 29% e 17% dos impactes totais, respetivamente. Para este cenário o facto de a hidrólise enzimática passar a ser o principal ponto crítico justifica-se por dois motivos. Primeiramente, na escala piloto os volumes de produção são maiores e sabe-se que quanto maior for o volume de produção menores serão os consumos energéticos por unidade funcional. O segundo motivo é que esta redução energética faz sobressair a magnitude relativa dos restantes processos ou entradas. Neste caso sobressaiu a produção de enzimas pois esta está associada a elevados impactes, pelos motivos já referidos.

Adicionalmente, foi feita uma análise de sensibilidade para avaliar e compreender melhor o perfil ambiental do ácido láctico. Esta análise de sensibilidade consistia na substituição do *mix* energético grego pelo *mix* energético norueguês. Os resultados obtidos indicam uma redução significativa nos impactes nos dois cenários. A escala laboratorial é onde a redução é mais expressiva, com uma redução entre 70 e 95% para a maioria das categorias de impacte. Apesar de os pontos críticos serem os mesmos, as fases de produção de polpa de café e hidrólise enzimática ganham maior relevância. No que toca à escala piloto, a redução dos impactes não é tão acentuada continuando, no entanto, a ser significativa. Nesta escala, a redução dos impactes totais encontra-se entre os 25 e os 60% para a maioria das categorias. As fases de produção de polpa de café e hidrólise enzimática passam a ser os principais pontos críticos do processo.

Tendo em conta os resultados e a análise feita, podemos afirmar que um aumento da escala e volume de produção, do ponto de vista ambiental, permite obter melhores resultados, ressalvando que houve fases, como a purificação, que não foram consideradas e que podiam eventualmente apresentar impactes significativos. Não obstante, ambas as escalas estão associadas a impactes e o pretendido é obter um produto que seja verde e que apresente poucos impactes ou não apresente impactes de todo. Estas conclusões só atribuem maior importância e relevância aos estudos de ACV, que no fundo, funcionam como pontos de partida para outros estudos que permitam otimizar produtos e processos. Existem alternativas e soluções que nos permitem obter melhores resultados ambientais, cabe a nós estudá-los, analisá-los e implementá-los dando como garantia que de facto os monómeros biológicos são uma alternativa viável.

## 5.2 Sugestões de trabalhos futuros

Este trabalho e as conclusões do mesmo permitiram identificar processos e produtos que requerem um estudo mais detalhado. Tendo isto em conta, sugerem-se alguns trabalhos futuros:

- Realização de estudos de ACV sobre a produção de enzimas. Uma melhor compreensão dos processos permitiria uma otimização dos mesmos e consequente redução dos impactes ambientais;
- As fermentações requerem meios de cultura complexos que na maioria das vezes apresentam altos custos e que dificultam os processos de recuperação e purificação dos produtos finais. A realização de estudos de ACV permitiria identificar quais os melhores meios de cultura e como otimizá-los;
- Realização de estudos para melhor compreensão da influência das energias renováveis nos consumos energéticos dos processos;
- Realização de estudos para identificar quais as melhores fontes de biomassa. Neste momento é importante saber quais os impactes associados à produção e obtenção de biomassa. Para além disso, seria interessante identificar fontes de

biomassa ricas em açúcares uma vez que um maior conteúdo inicial de açúcares poderá permitir a redução ou eliminação de alguns processos;

- Realização de estudos comparativos entre a produção biológica de ácido láctico e a produção de origem fóssil;
- Como trabalho futuro, seria interessante fazer uma análise completa da produção do PLA. Uma análise *cradle-to-grave* para avaliar o impacto da introdução do bio-polímero no mercado e compreender os impactos associados à sua fase de uso e fim-de-vida.



# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## 6.1 NORMAS



## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] F. H. Isikgor and C. R. Becer, "Lignocellulosic biomass: A sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers," *Polym Chem*, vol. 6, no. 25, pp. 4497–4559, Jun. 2015, doi: 10.1039/C5PY00263J.
- [2] S. S. Ali *et al.*, "Degradation of conventional plastic wastes in the environment: A review on current status of knowledge and future perspectives of disposal," *Sci Total Environ*, vol. 771, Jun. 2021, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2020.144719.
- [3] A. Yousuf, D. Pirozzi, and F. Sannino, "Fundamentals of lignocellulosic biomass," *Lignocellulosic Biomass to Liquid Biofuels*, pp. 1–15, Jan. 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-815936-1.00001-0.
- [4] R. Reshmy *et al.*, "Lignocellulose in future biorefineries: Strategies for cost-effective production of biomaterials and bioenergy," *Bioresour Technol*, vol. 344, p. 126241, Jan. 2022, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2021.126241.
- [5] Y. Habibi, "Key advances in the chemical modification of nanocelluloses," *Chem Soc Rev*, vol. 43, no. 5, pp. 1519–1542, Feb. 2014, doi: 10.1039/C3CS60204D.
- [6] H. v. Lee, S. B. A. Hamid, and S. K. Zain, "Conversion of Lignocellulosic Biomass to Nanocellulose: Structure and Chemical Process," *Scientific World Journal*, vol. 2014, p. 631013, 2014, doi: 10.1155/2014/631013.
- [7] M. T. Carmen, Z. C. Lorena, V. A. Alexander, V. Amandio, and S. Raúl, "Coffee pulp: An industrial by-product with uses in agriculture, nutrition and biotechnology," *Rev Agric Sci*, vol. 8, pp. 323–342, 2020, doi: 10.7831/RAS.8.0\_323.
- [8] M. el Achaby *et al.*, "Bio-sourced porous cellulose microfibrils from coffee pulp for wastewater treatment," *Cellulose*, vol. 26, no. 6, pp. 3873–3889, Apr. 2019, doi: 10.1007/S10570-019-02344-W.
- [9] P. Thomas *et al.*, "Comprehensive review on nanocellulose: Recent developments, challenges and future prospects," *J Mech Behav Biomed Mater*, vol. 110, p. 103884, Oct. 2020, doi: 10.1016/J.JMBBM.2020.103884.
- [10] J. Turk, P. Oven, I. Poljanšek, A. Lešek, F. Knez, and K. Malovrh Rebec, "Evaluation of an environmental profile comparison for nanocellulose production and supply chain by applying different life cycle assessment methods," *J Clean Prod*, vol. 247, p. 119107, Feb. 2020, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2019.119107.
- [11] S. Mondal, "Preparation, properties and applications of nanocellulosic materials," *Carbohydr Polym*, vol. 163, pp. 301–316, May 2017, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2016.12.050.

- [12] B. Thomas *et al.*, “Nanocellulose, a Versatile Green Platform: From Biosources to Materials and Their Applications,” *Chem Rev*, vol. 118, no. 24, pp. 11575–11625, Dec. 26, 2018. doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00627.
- [13] A. F. B. Figueiredo, “Produção de celulose microcristalina a partir de pasta sulfito ácido,” 2008, Accessed: Jan. 04, 2022. [Online]. Available: <https://ria.ua.pt/handle/10773/4866>
- [14] R. J. Moon, A. Martini, J. Nairn, J. Simonsen, and J. Youngblood, “Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites,” *Chem Soc Rev*, vol. 40, no. 7, pp. 3941–3994, Jun. 2011, doi: 10.1039/C0CS00108B.
- [15] P. Phanthong, P. Reubroycharoen, X. Hao, G. Xu, A. Abudula, and G. Guan, “Nanocellulose: Extraction and application,” *Carbon Resour Convers*, vol. 1, no. 1, pp. 32–43, Apr. 2018, doi: 10.1016/J.CRCON.2018.05.004.
- [16] M. Tayyab *et al.*, “Bioethanol production from lignocellulosic biomass by environment-friendly pretreatment methods: A review,” *Appl Ecol Environ Res*, vol. 16, no. 1, pp. 225–249, 2018, doi: 10.15666/AEER/1601\_225249.
- [17] P. G. Marakana, A. Dey, and B. Saini, “Isolation of nanocellulose from lignocellulosic biomass: Synthesis, characterization, modification, and potential applications,” *J Environ Chem Eng*, vol. 9, no. 6, p. 106606, Dec. 2021, doi: 10.1016/J.JECE.2021.106606.
- [18] M. Balat, “Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review,” *Energy Convers Manag*, vol. 52, no. 2, pp. 858–875, Feb. 2011, doi: 10.1016/J.ENCONMAN.2010.08.013.
- [19] V. B. Agbor, N. Cicek, R. Sparling, A. Berlin, and D. B. Levin, “Biomass pretreatment: Fundamentals toward application,” *Biotechnol Adv*, vol. 29, no. 6, pp. 675–685, Nov. 2011, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2011.05.005.
- [20] N. S. Kapu and H. L. Trajano, “Review of hemicellulose hydrolysis in softwoods and bamboo,” *Biofuel Bioprod Bior*, vol. 8, no. 6, pp. 857–870, Nov. 2014, doi: 10.1002/BBB.1517.
- [21] M. G. Adsul, M. S. Singhvi, S. A. Gaikawai, and D. v. Gokhale, “Development of biocatalysts for production of commodity chemicals from lignocellulosic biomass,” *Bioresour Technol*, vol. 102, no. 6, pp. 4304–4312, Mar. 2011, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2011.01.002.
- [22] F. M. Gírio, C. Fonseca, F. Carvalheiro, L. C. Duarte, S. Marques, and R. Bogel-Łukasik, “Hemicelluloses for fuel ethanol: A review,” *Bioresour Technol*, vol. 101, no. 13, pp. 4775–4800, Jul. 2010, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2010.01.088.
- [23] G. F. Bass and T. H. Epps, “Recent developments towards performance-enhancing lignin-based polymers,” *Polym Chem*, vol. 12, no. 29, pp. 4130–4158, Jul. 2021, doi: 10.1039/D1PY00694K.

- [24] B. M. Upton and A. M. Kasko, "Strategies for the conversion of lignin to high-value polymeric materials: Review and perspective," *Chem Rev*, vol. 116, no. 4, pp. 2275–2306, Dec. 2016, doi: 10.1021/acs.chemrev.5b00345.
- [25] D. Stewart, "Lignin as a base material for materials applications: Chemistry, application and economics," *Ind Crops Prod*, vol. 27, no. 2, pp. 202–207, Mar. 2008, doi: 10.1016/J.INDCROP.2007.07.008.
- [26] M. Jawaid and H. P. S. Abdul Khalil, "Cellulosic/synthetic fibre reinforced polymer hybrid composites: A review," *Carbohydr Polym*, vol. 86, no. 1, pp. 1–18, Aug. 2011, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2011.04.043.
- [27] C. E. Wyman, B. E. Dale, R. T. Elander, M. Holtzapple, M. R. Ladisch, and Y. Y. Lee, "Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies," *Bioresour Technol*, vol. 96, no. 18, pp. 1959–1966, Dec. 2005, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2005.01.010.
- [28] E. Abraham *et al.*, "Extraction of nanocellulose fibrils from lignocellulosic fibres: A novel approach," *Carbohydr Polym*, vol. 86, no. 4, pp. 1468–1475, Oct. 2011, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2011.06.034.
- [29] H. Chen *et al.*, "A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals," *Fuel Process Technol*, vol. 160, pp. 196–206, Jun. 2017, doi: 10.1016/J.FUPROC.2016.12.007.
- [30] H. Kargarzadeh *et al.*, "Advances in cellulose nanomaterials," *Cellulose*, vol. 25, pp. 2151–2189, 2018, doi: 10.1007/s10570-018-1723-5.
- [31] P. F. H. Harmsen, W. Huijgen, L. Bermudez, and R. Bakker, *Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass*. Wageningen UR, Food & Biobased Research, 2010.
- [32] M. N. Aftab, I. Iqbal, F. Riaz, A. Karadag, and M. Tabatabaei, "Different Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass for Use in Biofuel Production," *Biomass for Bioenergy - Recent Trends and Future Challenges*, Nov. 2019, doi: 10.5772/INTECHOPEN.84995.
- [33] H. Ma, W. W. Liu, X. Chen, Y. J. Wu, and Z. L. Yu, "Enhanced enzymatic saccharification of rice straw by microwave pretreatment," *Bioresour Technol*, vol. 100, no. 3, pp. 1279–1284, Feb. 2009, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2008.08.045.
- [34] C. Karunanithy, K. Muthukumarappan, and J. L. Julson, "Influence of High Shear Bioreactor Parameters on Carbohydrate Release from Different Biomasses," In *American Society of Agricultural and Biological Engineers Annual International Meeting 2008, ASABE 2008*, vol. 6, pp. 1-, 2008, doi: 10.13031/2013.24960.
- [35] P. Alvira, E. Tomás-Pejó, M. Ballesteros, and M. J. Negro, "Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review," *Bioresour Technol*, vol. 101, no. 13, pp. 4851–4861, Jul. 2010, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2009.11.093.

- [36] J. S. Kim, Y. Y. Lee, and T. H. Kim, "A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass," *Bioresour Technol*, vol. 199, pp. 42–48, Jan. 2016, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2015.08.085.
- [37] T. Pielhop, J. Amgarten, P. R. von Rohr, and M. H. Studer, "Steam explosion pretreatment of softwood: The effect of the explosive decompression on enzymatic digestibility," *Biotechnol Biofuels*, vol. 9, no. 1, pp. 1–13, Jul. 2016, doi: 10.1186/S13068-016-0567-1/FIGURES/7.
- [38] D. J. Hayes, "An examination of biorefining processes, catalysts and challenges," *Catal Today*, vol. 145, no. 1–2, pp. 138–151, Jul. 2009, doi: 10.1016/J.CATTOD.2008.04.017.
- [39] Y. Sun and J. Cheng, "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review," *Bioresour Technol*, vol. 83, no. 1, pp. 1–11, May 2002, doi: 10.1016/S0960-8524(01)00212-7.
- [40] L. Laureano-Perez, F. Teymouri, H. Alizadeh, and B. E. Dale, "Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass," *Appl Biochem Biotech*, vol. 124, no. 1, pp. 1081–1099, Mar 2005, doi: 10.1385/ABAB:124:1-3:1081.
- [41] C. Sánchez, "Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi," *Biotechnol Adv*, vol. 27, no. 2, pp. 185–194, Mar. 2009, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2008.11.001.
- [42] J. Zhang, H. Zhou, D. Liu, and X. Zhao, "Pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient enzymatic saccharification of cellulose," *Lignocellulosic Biomass to Liquid Biofuels*, pp. 17–65, Jan. 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-815936-1.00002-2.
- [43] F. Liu, X. Dong, X. Zhao, and L. Wang, "Life cycle assessment of organosolv biorefinery designs with the complete use of biomass," *Energy Convers Manag*, vol. 246, p. 114653, Oct. 2021, doi: 10.1016/J.ENCONMAN.2021.114653.
- [44] R. K. Mishra, A. Sabu, and S. K. Tiwari, "Materials chemistry and the futurist eco-friendly applications of nanocellulose: Status and prospect," *J Saudi Chem Soc*, vol. 22, no. 8, pp. 949–978, Dec. 2018, doi: 10.1016/J.JSCS.2018.02.005.
- [45] L. Mesa, Y. Albornas, M. Morales, G. Corsano, and E. González, "Integration of Organosolv Process for Biomass Pretreatment in a Biorefinery," in *Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery*, Elsevier Inc., 2016, pp. 229–254. doi: 10.1016/B978-0-12-802323-5.00011-6.
- [46] X. Zhao, K. Cheng, and D. Liu, "Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 82, no. 5, pp. 815–827, Apr. 2009, doi: 10.1007/S00253-009-1883-1/FIGURES/4.
- [47] R. Chandra, H. Takeuchi, and T. Hasegawa, "Hydrothermal pretreatment of rice straw biomass: A potential and promising method for enhanced methane production," *Appl Energy*, vol. 94, pp. 129–140, Jun. 2012, doi: 10.1016/J.APENERGY.2012.01.027.

- [48] A. Duque, P. Manzanares, I. Ballesteros, and M. Ballesteros, "Steam Explosion as Lignocellulosic Biomass Pretreatment," in *Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery*, Elsevier Inc., 2016, pp. 349–368. doi: 10.1016/B978-0-12-802323-5.00015-3.
- [49] J. K. Ko, Y. Um, Y. C. Park, J. H. Seo, and K. H. Kim, "Compounds inhibiting the bioconversion of hydrothermally pretreated lignocellulose," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 99, no. 10, pp. 4201–4212, May 2015, doi: 10.1007/S00253-015-6595-0/TABLES/2.
- [50] A. B. Guerrero, I. Ballesteros, and M. Ballesteros, "Optimal conditions of acid-catalysed steam explosion pretreatment of banana lignocellulosic biomass for fermentable sugar production," *J Chem Technol Biot*, vol. 92, no. 9, pp. 2351–2359, Sep. 2017, doi: 10.1002/JCTB.5239.
- [51] Z. Liu, S. H. Ho, T. Hasunuma, J. S. Chang, N. Q. Ren, and A. Kondo, "Recent advances in yeast cell-surface display technologies for waste biorefineries," *Bioresour Technol*, vol. 215, pp. 324–333, Sep. 2016, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2016.03.132.
- [52] M. S. Pino *et al.*, "Bioreactor design for enzymatic hydrolysis of biomass under the biorefinery concept," *Chem Eng J*, vol. 347, pp. 119–136, Sep. 2018, doi: 10.1016/J.CEJ.2018.04.057.
- [53] M. T. Sonoda, A. S. Godoy, V. O. A. Pellegrini, M. A. S. Kadowaki, A. S. Nascimento, and I. Polikarpov, "Structure and dynamics of *Trichoderma harzianum* Cel7B suggest molecular architecture adaptations required for a wide spectrum of activities on plant cell wall polysaccharides," *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, vol. 1863, no. 6, pp. 1015–1026, Jun. 2019, doi: 10.1016/J.BBAGEN.2019.03.013.
- [54] H. Zabed, J. N. Sahu, A. Suely, A. N. Boyce, and G. Faruq, "Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress," *Renew Sust Energ Rev*, vol. 71, pp. 475–501, May 2017, doi: 10.1016/J.RSER.2016.12.076.
- [55] B. Alriksson, A. Cavka, and L. J. Jönsson, "Improving the fermentability of enzymatic hydrolysates of lignocellulose through chemical in-situ detoxification with reducing agents," *Bioresour Technol*, vol. 102, no. 2, pp. 1254–1263, Jan. 2011, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2010.08.037.
- [56] G. S. Gilpin and A. S. G. Andrae, "Comparative attributional life cycle assessment of European cellulase enzyme production for use in second-generation lignocellulosic bioethanol production," *Int J Life Cycle Assess*, vol. 22, no. 7, pp. 1034–1053, Jul. 2017, doi: 10.1007/S11367-016-1208-4/FIGURES/17.
- [57] S. González-García, L. Argiz, P. Míguez, and B. Gullón, "Exploring the production of bio-succinic acid from apple pomace using an environmental approach," *Chem Eng J*, vol. 350, pp. 982–991, Oct. 2018, doi: 10.1016/J.CEJ.2018.06.052.

- [58] K. Kubiak, M. Jedrzejczak-Krzepkowska, K. Ludwicka, and S. Bielecki, "Molecular Control Over BNC Biosynthesis," *Bacterial Nanocellulose: From Biotechnology to Bio-Economy*, pp. 47–58, Jan. 2016, doi: 10.1016/B978-0-444-63458-0.00003-2.
- [59] W. Y. Bang *et al.*, "Influence of cellulose nanocrystal addition on the production and characterization of bacterial nanocellulose," *Int J Biol Macromol*, vol. 193, pp. 269–275, Dec. 2021, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2021.10.092.
- [60] K. v. Ramana, A. Tomar, and L. Singh, "Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter xylinum*," *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 16, no. 3, pp. 245–248, 2000, doi: 10.1023/A:1008958014270.
- [61] Y. Yang, M. S.- Enfield, C. E. Inc, and undefined 2019, "A beginner's guide to bioprocess modes—batch, fed-batch, and continuous fermentation," *eppendorf.com*, Accessed: Jul. 29, 2022. [Online]. Available: [https://www.eppendorf.com/fileadmin/General/Applications/Bioprocess\\_Landing\\_Page/Application\\_408\\_Fermentation-A-Beginners-Guide.pdf](https://www.eppendorf.com/fileadmin/General/Applications/Bioprocess_Landing_Page/Application_408_Fermentation-A-Beginners-Guide.pdf)
- [62] M. G. Adsul, M. S. Singhvi, S. A. Gaikawari, and D. v. Gokhale, "Development of biocatalysts for production of commodity chemicals from lignocellulosic biomass," *Bioresour Technol*, vol. 102, no. 6, pp. 4304–4312, Mar. 2011, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2011.01.002.
- [63] B. Deepa *et al.*, "Utilization of various lignocellulosic biomass for the production of nanocellulose: a comparative study," *Cellulose 2015 22:2*, vol. 22, no. 2, pp. 1075–1090, Jan. 2015, doi: 10.1007/S10570-015-0554-X.
- [64] D. Trache *et al.*, "Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Applications," *Front Chem*, vol. 8, p. 392, May 2020, doi: 10.3389/FCHEM.2020.00392/BIBTEX.
- [65] Y. Imai, "Inorganic Nano-fillers for Polymers," *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*, pp. 1–7, 2014, doi: 10.1007/978-3-642-36199-9\_353-1.
- [66] R. A. Ilyas *et al.*, "Nanocellulose/Starch Biopolymer Nanocomposites: Processing, Manufacturing, and Applications," *Advanced Processing, Properties, and Applications of Starch and Other Bio-Based Polymers*, pp. 65–88, Jan. 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-819661-8.00006-8.
- [67] J. George and S. N. Sabapathi, "Cellulose nanocrystals: Synthesis, functional properties, and applications," *Nanotechnol Sci Appl*, vol. 8, pp. 45–54, Nov. 2015, doi: 10.2147/NSA.S64386.
- [68] Q. Li, S. McGinnis, C. Sydnor, A. Wong, and S. Renneckar, "Nanocellulose life cycle assessment," *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 1, no. 8, pp. 919–928, Aug. 2013, doi: 10.1021/sc4000225.
- [69] B. R. Rossi *et al.*, "Cellulose nanofibers production using a set of recombinant enzymes," *Carbohydr Polym*, vol. 256, p. 117510, Mar. 2021, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2020.117510.

- [70] P. Li, J. A. Sirviö, A. Haapala, and H. Liimatainen, "Cellulose nanofibrils from nonderivatizing urea-based deep eutectic solvent pretreatments," *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 9, no. 3, pp. 2846–2855, Jan. 2017, doi: 10.1021/ACSAMI.6B13625.
- [71] R. J. Moon, A. Martini, J. Nairn, J. Simonsen, and J. Youngblood, "Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites," *Chem Soc Rev*, vol. 40, no. 7, pp. 3941–3994, Jun. 2011, doi: 10.1039/C0CS00108B.
- [72] D. A. Gopakumar, S. Thomas, and Y. Grohens, "Nanocelluloses as Innovative Polymers for Membrane Applications," *Multifunctional Polymeric Nanocomposites Based on Cellulosic Reinforcements*, pp. 253–275, Jan. 2016, doi: 10.1016/B978-0-323-44248-0.00008-0.
- [73] J. Desmaisons, E. Boutonnet, M. Rueff, A. Dufresne, and J. Bras, "A new quality index for benchmarking of different cellulose nanofibrils," *Carbohydr Polym*, vol. 174, pp. 318–329, Oct. 2017, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2017.06.032.
- [74] I. Siró and D. Plackett, "Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review," *Cellulose 2010 17:3*, vol. 17, no. 3, pp. 459–494, Feb. 2010, doi: 10.1007/S10570-010-9405-Y.
- [75] T. Saito, Y. Nishiyama, J. L. Putaux, M. Vignon, and A. Isogai, "Homogeneous Suspensions of Individualized Microfibrils from TEMPO-Catalyzed Oxidation of Native Cellulose," *Biomacromolecules*, vol. 7, no. 6, pp. 1687–1691, Jun. 2006, doi: 10.1021/BM060154S.
- [76] R. Arvidsson, D. Nguyen, and M. Svanström, "Life cycle assessment of cellulose nanofibrils production by mechanical treatment and two different pretreatment processes," *Environ Sci Technol*, vol. 49, no. 11, pp. 6881–6890, Jun. 2015, doi: 10.1021/ACS.EST.5B00888.
- [77] H. Xie, H. Du, X. Yang, and C. Si, "Recent strategies in preparation of cellulose nanocrystals and cellulose nanofibrils derived from raw cellulose materials," *Int J Polym Sci*, vol. 2018, 2018, doi: 10.1155/2018/7923068.
- [78] A. Dufresne, "Nanocellulose: a new ageless bionanomaterial," *Mater Today*, vol. 16, no. 6, pp. 220–227, Jun. 2013, doi: 10.1016/J.MATTOD.2013.06.004.
- [79] C. Ye, S. T. Malak, K. Hu, W. Wu, and V. v. Tsukruk, "Cellulose Nanocrystal Microcapsules as Tunable Cages for Nano- and Microparticles," *ACS Nano*, vol. 9, no. 11, pp. 10887–10895, Nov. 2015, doi: 10.1021/ACS.NANO.5B03905.
- [80] L. Zhang *et al.*, "Greener production of cellulose nanocrystals: An optimised design and life cycle assessment," *J Clean Prod*, vol. 345, p. 131073, Apr. 2022, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2022.131073.
- [81] W. Y. Bang *et al.*, "Influence of cellulose nanocrystal addition on the production and characterization of bacterial nanocellulose," *Int J Biol Macromol*, vol. 193, pp. 269–275, Dec. 2021, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2021.10.092.

- [82] A. Forte, F. Dourado, A. Mota, B. Neto, M. Gama, and E. C. Ferreira, "Life cycle assessment of bacterial cellulose production," *Int J Life Cycle Assess*, vol. 26, no. 5, pp. 864–878, Apr. 2021, doi: 10.1007/S11367-021-01904-2.
- [83] H. Gao *et al.*, "Comparison of bacterial nanocellulose produced by different strains under static and agitated culture conditions," *Carbohydr Polym*, vol. 227, p. 115323, Jan. 2020, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2019.115323.
- [84] K. Qiu and A. N. Netravali, "A review of fabrication and applications of bacterial cellulose based nanocomposites," *Polym Rev*, vol. 54, no. 4, pp. 598–626, Oct. 2014, doi: 10.1080/15583724.2014.896018.
- [85] A. F. Jozala *et al.*, "Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 100, no. 5, pp. 2063–2072, Mar. 2016, doi: 10.1007/S00253-015-7243-4.
- [86] W. Czaja, D. Romanovicz, and R. Malcolm Brown, "Structural investigations of microbial cellulose produced in stationary and agitated culture," *Cellulose*, vol. 11, no. 3, pp. 403–411, Oct. 2004, doi: 10.1023/B:CELL.0000046412.11983.61.
- [87] R. Kumar, B. Rai, S. Gahlyan, and G. Kumar, "A comprehensive review on production, surface modification and characterization of nanocellulose derived from biomass and its commercial applications," *Express Polym Lett*, vol. 15, no. 2, pp. 104–120, 2021, doi: 10.3144/EXPRESSPOLYMLETT.2021.11.
- [88] Z. Shi, S. Li, M. Li, L. Gan, and J. Huang, "Surface modification of cellulose nanocrystals towards new materials development," *J Appl Polym Sci*, vol. 138, no. 48, Dec. 2021, doi: 10.1002/APP.51555.
- [89] L. Wei, U. P. Agarwal, K. C. Hirth, L. M. Matuana, R. C. Sabo, and N. M. Stark, "Chemical modification of nanocellulose with canola oil fatty acid methyl ester," *Carbohydr Polym*, vol. 169, pp. 108–116, Aug. 2017, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2017.04.008.
- [90] Z. Cheng, Q. Xu, and Y. Gao, "Research Progress in Nano-Cellulose Modification," *Adv Mat Res*, vol. 627, pp. 859–863, 2013, doi: 10.4028/WWW.SCIENTIFIC.NET/AMR.627.859.
- [91] J. Huang, X. Ma, G. Yang, and D. Alain, "Introduction to Nanocellulose," *Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Materials*, pp. 1–20, Mar. 2019, doi: 10.1002/9783527807437.CH1.
- [92] L. D. Mthembu, R. Gupta, and N. Deenadayalu, "Conversion of Cellulose into Value-Added Products," *Cellulose Science and Derivatives*, Dec. 2021, doi: 10.5772/INTECHOPEN.100022.
- [93] R. Reshmy *et al.*, "Updates on high value products from cellulosic biorefinery," *Fuel*, vol. 308, Jan. 2022, doi: 10.1016/J.FUEL.2021.122056.

- [94] J. Akhtar, A. Idris, and R. Abd. Aziz, "Recent advances in production of succinic acid from lignocellulosic biomass," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 98, no. 3, pp. 987–1000, Nov. 2013, doi: 10.1007/S00253-013-5319-6.
- [95] R. P. John, A. G.S., K. M. Nampoothiri, and A. Pandey, "Direct lactic acid fermentation: Focus on simultaneous saccharification and lactic acid production," *Biotechnol Adv*, vol. 27, no. 2, pp. 145–152, Mar. 2009, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2008.10.004.
- [96] J. G. Zeikus, M. K. Jain, and P. Elankovan, "Biotechnology of succinic acid production and markets for derived industrial products," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 51, no. 5, pp. 545–552, 1999, doi: 10.1007/S002530051431.
- [97] M. Rasheed, M. Jawaid, and B. Parveez, "Bamboo fiber based cellulose nanocrystals/poly(Lactic acid) /poly(butylene succinate) nanocomposites: Morphological, mechanical and thermal properties," *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 7, Apr. 2021, doi: 10.3390/POLYM13071076.
- [98] J. Alcantara, A. Mondala, L. Hughey, and S. Shields, "Direct Succinic Acid Production from Minimally Pretreated Biomass Using Sequential Solid-State and Slurry Fermentation with Mixed Fungal Cultures," *Fermentation*, vol. 3, no. 3, p. 30, Jun. 2017, doi: 10.3390/FERMENTATION3030030.
- [99] J. M. Pinazo, M. E. Domine, V. Parvulescu, and F. Petru, "Sustainability metrics for succinic acid production: A comparison between biomass-based and petrochemical routes," *Catal Today*, vol. 239, pp. 17–24, 2015, doi: 10.1016/j.cattod.2014.05.035.
- [100] S. A. Pasma, R. Daik, and M. Y. Maskat, "Production of succinic acid from oil palm empty fruit bunch cellulose using *Actinobacillus succinogenes*," *AIP Conf Proc*, vol. 1571, no. 1, p. 753, Dec. 2013, doi: 10.1063/1.4858745.
- [101] H. Song and S. Y. Lee, "Production of succinic acid by bacterial fermentation," *Enzyme Microb Technol*, vol. 39, no. 3, pp. 352–361, Jul. 2006, doi: 10.1016/J.ENZMICTEC.2005.11.043.
- [102] J. B. McKinlay, J. G. Zeikus, and C. Vieille, "Insights into *Actinobacillus succinogenes* fermentative metabolism in a chemically defined growth medium," *Appl Environ Microbiol*, vol. 71, no. 11, pp. 6651–6656, Nov. 2005, doi: 10.1128/AEM.71.11.6651-6656.2005.
- [103] J. J. Beauprez, M. de Mey, and W. K. Soetaert, "Microbial succinic acid production: Natural versus metabolic engineered producers," *Process Biochem*, vol. 45, no. 7, pp. 1103–1114, Jul. 2010, doi: 10.1016/J.PROCBIO.2010.03.035.
- [104] M. Ferone, F. Raganati, G. Olivieri, and A. Marzocchella, "Bioreactors for succinic acid production processes," *Crit Rev Biotechnol*, vol. 39, no. 4, pp. 571–586, May 2019, doi: 10.1080/07388551.2019.1592105.

- [105] M. da Silva Ferreira Morais de Carvalho, "Bioproduction of succinic acid from renewable feedstocks by *Actinobacillus succinogenes* 130Z," 2015, Accessed: Jul. 28, 2022. [Online]. Available: <https://run.unl.pt/handle/10362/16314>
- [106] B. S. Kim, Y. K. Hong, and W. H. Hong, "Effect of salts on the extraction characteristics of succinic acid by predispersed solvent extraction," *Biotechnol Bioprocess Eng*, vol. 9, no. 3, pp. 207–211, 2004, doi: 10.1007/BF02942294.
- [107] R. Luque *et al.*, "Chemical transformations of succinic acid recovered from fermentation broths by a novel direct vacuum distillation - crystallisation method," *Green Chemistry*, vol. 11, no. 2, pp. 193–200, Feb. 2009, doi: 10.1039/B813409J.
- [108] B. Cok, I. Tsiropoulos, A. L. Roes, and M. K. Patel, "Succinic acid production derived from carbohydrates: An energy and greenhouse gas assessment of a platform chemical toward a bio-based economy," *Biofuel Bioprod Biorefin*, vol. 8, no. 1, pp. 16–29, Jan. 2014, doi: 10.1002/BBB.1427.
- [109] Q. Li *et al.*, "One step recovery of succinic acid from fermentation broths by crystallization," *Sep Purif Technol*, vol. 72, no. 3, pp. 294–300, May 2010, doi: 10.1016/J.SEPPUR.2010.02.021.
- [110] H. Song and S. Y. Lee, "Production of succinic acid by bacterial fermentation," *Enzyme Microb Technol*, vol. 39, no. 3, pp. 352–361, Jul. 2006, doi: 10.1016/J.ENZMICTEC.2005.11.043.
- [111] M. A. Abdel-Rahman, Y. Tashiro, and K. Sonomoto, "Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: Overview and limits," *J Biotechnol*, vol. 156, no. 4, pp. 286–301, Dec. 2011, doi: 10.1016/J.JBIOTECH.2011.06.017.
- [112] M. A. Abdel-Rahman, Y. Tashiro, and K. Sonomoto, "Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes," *Biotechnol Adv*, vol. 31, no. 6, pp. 877–902, Nov. 2013, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2013.04.002.
- [113] M. Dusselier, P. van Wouwe, A. Dewaele, E. Makshina, and B. F. Sels, "Lactic acid as a platform chemical in the biobased economy: the role of chemocatalysis," *Energy Environ Sci*, vol. 6, no. 5, pp. 1415–1442, Apr. 2013, doi: 10.1039/C3EE00069A.
- [114] R. P. John, A. G.S., K. M. Nampoothiri, and A. Pandey, "Direct lactic acid fermentation: Focus on simultaneous saccharification and lactic acid production," *Biotechnol Adv*, vol. 27, no. 2, pp. 145–152, Mar. 2009, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2008.10.004.
- [115] K. Hofvendahl and B. Hahn-Hägerdal, "Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources," *Enzyme Microb Technol*, vol. 26, no. 2–4, pp. 87–107, 2000, doi: 10.1016/S0141-0229(99)00155-6.

- [116] Y.-J. Wee, J.-N. Kim, and H.-W. Ryu, "Biotechnological Production of Lactic Acid and Its Recent Applications," *Food Technol Biotechnol*, vol. 44, pp. 163–172, 2006.
- [117] M. Ilmén, K. Koivuranta, L. Ruohonen, P. Suominen, and M. Penttilä, "Efficient production of L-lactic acid from xylose by *Pichia stipitis*," *Appl Environ Microbiol*, vol. 73, no. 1, pp. 117–123, Jan. 2007, doi: 10.1128/AEM.01311-06.
- [118] A. Komesu, J. A. R. de Oliveira, L. H. da S. Martins, M. R. W. Maciel, and R. M. Filho, "Lactic Acid Production to Purification: A Review," *Bioresources*, vol. 12, no. 2, pp. 4364–4383, Feb. 2017, doi: 10.15376/biores.12.2.Komesu.
- [119] H. Lee *et al.*, "Development of lactic and succinic acid biorefinery configurations for integration into a thermomechanical pulp mill," 2015, Accessed: Jul. 28, 2022. [Online]. Available: <http://publications.polymtl.ca/1750/>
- [120] A. K. Neu, D. Pleissner, K. Mehlmann, R. Schneider, G. I. Puerta-Quintero, and J. Venus, "Fermentative utilization of coffee mucilage using *Bacillus coagulans* and investigation of down-stream processing of fermentation broth for optically pure l(+)-lactic acid production," *Bioresour Technol*, vol. 211, pp. 398–405, Jul. 2016, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2016.03.122.
- [121] R. Datta and M. Henry, "Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies — a review," *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 81, no. 7, pp. 1119–1129, Jul. 2006, doi: 10.1002/JCTB.1486.
- [122] D. Pleissner *et al.*, "Valorization of organic residues for the production of added value chemicals: A contribution to the bio-based economy," *Biochem Eng J*, vol. 116, pp. 3–16, Dec. 2016, doi: 10.1016/J.BEJ.2015.12.016.
- [123] J. Moncada, I. Vural Gursel, W. J. J. Huijgen, J. W. Dijkstra, and A. Ramírez, "Techno-economic and ex-ante environmental assessment of C6 sugars production from spruce and corn. Comparison of organosolv and wet milling technologies," *J Clean Prod*, vol. 170, pp. 610–624, Jan. 2018, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2017.09.195.
- [124] S. Bello, C. Ríos, G. Feijoo, and M. T. Moreira, "Comparative evaluation of lignocellulosic biorefinery scenarios under a life-cycle assessment approach," *Biofuel Bioprod Biorefin*, vol. 12, no. 6, pp. 1047–1064, Nov. 2018, doi: 10.1002/BBB.1921.
- [125] S. Haroni, H. Zaki Dizaji, H. Bahrami, and M. González Alriols, "Sustainable production of cellulose nanofiber from sugarcane trash: A quality and life cycle assessment," *Ind Crops Prod*, vol. 173, p. 114084, Dec. 2021, doi: 10.1016/J.INDCROP.2021.114084.
- [126] P. Gullón, B. Gullón, I. Dávila, J. Labidi, and S. Gonzalez-Garcia, "Comparative environmental Life Cycle Assessment of integral revalorization of vine shoots from a biorefinery perspective," *Sci Total Environ*, vol. 624, pp. 225–240, May 2018, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2017.12.036.

- [127] S. Laure, M. Leschinsky, M. Fröhling, F. Schultmann, and G. Unkelbach, "Assessment of an Organosolv lignocellulose biorefinery concept based on a material flow analysis of a pilot plant," *Cellulose chemistry and technology*, vol. 48, pp. 793–798, 2014, Accessed: Jul. 11, 2022. [Online]. Available: <https://publica.fraunhofer.de/handle/publica/238512>
- [128] L. Sillero *et al.*, "Life Cycle Assessment of various biorefinery approaches for the valorisation of almond shells," *Sustain Prod Consum*, vol. 28, pp. 749–759, Oct. 2021, doi: 10.1016/J.SPC.2021.07.004.
- [129] A. Prasad, M. Sotenko, T. Blenkinsopp, and S. R. Coles, "Life cycle assessment of lignocellulosic biomass pretreatment methods in biofuel production," *Int J Life Cycle Assess*, vol. 21, no. 1, pp. 44–50, 2016, doi: 10.1007/s11367-015-0985-5.
- [130] T. F. Lopes, F. Carneiro, L. C. Duarte, F. Gírio, J. A. Quintero, and G. Aroca, "Techno-economic and life-cycle assessments of small-scale biorefineries for isobutene and xylo-oligosaccharides production: a comparative study in Portugal and Chile," *Biofuel Bioprod Biorefin*, vol. 13, no. 5, pp. 1321–1332, Sep. 2019, doi: 10.1002/BBB.2036.
- [131] G. Cavalaglio *et al.*, "Acid-catalyzed steam explosion for high enzymatic saccharification and low inhibitor release from lignocellulosic cardoon stalks," *Biochem Eng J*, vol. 174, p. 108121, Oct. 2021, doi: 10.1016/J.BEJ.2021.108121.
- [132] M. Boonterm *et al.*, "Characterization and comparison of cellulose fiber extraction from rice straw by chemical treatment and thermal steam explosion," *J Clean Prod*, vol. 134, no. Part B, pp. 592–599, Oct. 2016, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2015.09.084.
- [133] D. Araújo, M. C. R. Castro, A. Figueiredo, M. Vilarinho, and A. Machado, "Green synthesis of cellulose acetate from corncob: Physicochemical properties and assessment of environmental impacts," *J Clean Prod*, vol. 260, p. 120865, Jul. 2020, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2020.120865.
- [134] L. Berglund, L. Breedveld, and K. Oksman, "Toward eco-efficient production of natural nanofibers from industrial residue: Eco-design and quality assessment," *J Clean Prod*, vol. 255, p. 120274, May 2020, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2020.120274.
- [135] M. Hervy, S. Evangelisti, P. Lettieri, and K. Y. Lee, "Life cycle assessment of nanocellulose-reinforced advanced fibre composites," *Compos Sci Technol*, vol. 118, pp. 154–162, Oct. 2015, doi: 10.1016/J.COMPSCITECH.2015.08.024.
- [136] F. Piccinno, R. Hischer, S. Seeger, and C. Som, "Predicting the environmental impact of a future nanocellulose production at industrial scale: Application of the life cycle assessment scale-up framework," *J Clean Prod*, vol. 174, pp. 283–295, Feb. 2018, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2017.10.226.
- [137] P. Gallo Stampino, L. Riva, C. Punta, G. Elegir, D. Bussini, and G. Dotelli, "Comparative Life Cycle Assessment of Cellulose Nanofibres Production Routes

- from Virgin and Recycled Raw Materials,” *Molecules* 2021, vol. 26, no. 9, p. 2558, Apr. 2021, doi: 10.3390/MOLECULES26092558.
- [138] M. C. B. de Figueirêdo, M. de Freitas Rosa, C. M. Lie Ugaya, M. D. S. M. de Souza Filho, A. C. C. da Silva Braid, and L. F. L. de Melo, “Life cycle assessment of cellulose nanowhiskers,” *J Clean Prod*, vol. 35, pp. 130–139, Nov. 2012, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2012.05.033.
- [139] T. J. Bondancia *et al.*, “Cellulose Nanocrystals from Sugar Cane Bagasse Using Organic and/or Inorganic Acids: Techno-Economic Analysis and Life Cycle Assessment,” *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 10, no. 14, pp. 4660–4676, Apr. 2022, doi: 10.1021/ACSSUSCHEMENG.2C00061.
- [140] D. M. do Nascimento, A. F. Dias, C. P. de Araújo Junior, M. de F. Rosa, J. P. S. Morais, and M. C. B. de Figueirêdo, “A comprehensive approach for obtaining cellulose nanocrystal from coconut fiber. Part II: Environmental assessment of technological pathways,” *Ind Crops Prod*, vol. 93, pp. 58–65, Dec. 2016, doi: 10.1016/J.INDCROP.2016.02.063.
- [141] R. M. Leão, P. C. Miléo, J. M. L. L. Maia, and S. M. Luz, “Environmental and technical feasibility of cellulose nanocrystal manufacturing from sugarcane bagasse,” *Carbohydr Polym*, vol. 175, pp. 518–529, Nov. 2017, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2017.07.087.
- [142] H. Gu, R. Reiner, R. Bergman, and A. Rudie, “LCA study for pilot scale production of cellulose nano crystals (CNC) from wood pulp,” *Proceedings from the LCA XV Conference - A bright green future.*, pp. 33–42, Oct. 2015.
- [143] R. de Araújo e Silva *et al.*, “An approach for implementing early research stage: A case study of bacterial cellulose production,” *J Clean Prod*, vol. 269, p. 122245, Oct. 2020, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2020.122245.
- [144] A. Shaji, Y. Shastri, V. Kumar, V. v. Ranade, and N. Hindle, “Economic and environmental assessment of succinic acid production from sugarcane bagasse,” *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 9, no. 38, pp. 12738–12746, Sep. 2021, doi: 10.1021/ACSSUSCHEMENG.1C02483/SUPPL\_FILE/SC1C02483\_SI\_001.PDF.
- [145] S. M. Ioannidou *et al.*, “Techno-economic risk assessment, life cycle analysis and life cycle costing for poly(butylene succinate) and poly(lactic acid) production using renewable resources,” *Sci Total Environ*, vol. 806, p. 150594, Feb. 2022, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2021.150594.
- [146] M. Smidt *et al.*, “Life Cycle Assessment of Biobased and Fossil-Based Succinic Acid,” *Sustainability Assessment of Renewables-Based Products: Methods and Case Studies*, pp. 307–321, Jan. 2015, doi: 10.1002/9781118933916.CH20.
- [147] B. Brunklaus, E. Rex, E. Carlsson, and J. Berlin, “The future of Swedish food waste: An environmental assessment of existing and prospective valorization techniques,” *J Clean Prod*, vol. 202, pp. 1–10, Nov. 2018, doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2018.07.240.

- [148] C. Torres de Matos, J. Cristobal Garcia, J. P. Aurambout, B. Kavalov, and S. Manfredi, "Environmental Sustainability Assessment of Bioeconomy Products and Processes – Progress Report 1," *European Commission*, 2016, doi: 10.2791/252460.
- [149] Ó. Ögmundarson, S. Sukumara, A. Laurent, and P. Fantke, "Environmental hotspots of lactic acid production systems," *GCB Bioenergy*, vol. 12, pp. 19–38, 2020, doi: 10.1111/gcbb.12652.
- [150] R. J. K. Helmes *et al.*, "Environmental Impacts of Experimental Production of Lactic Acid for Bioplastics from *Ulva* spp.," *Sustainability 2018, Vol. 10, Page 2462*, vol. 10, no. 7, p. 2462, Jul. 2018, doi: 10.3390/SU10072462.
- [151] M. Munagala, Y. Shastri, K. Nalawade, K. Konde, and S. Patil, "Life cycle and economic assessment of sugarcane bagasse valorization to lactic acid," *Waste Manage*, vol. 126, pp. 52–64, May 2021, doi: 10.1016/J.WASMAN.2021.02.052.
- [152] A. Gezae Diful and J. F. Görgens, "Techno-economic analysis and environmental impact assessment of lignocellulosic lactic acid production," *Chem Eng Sci*, vol. 162, pp. 53–65, Apr. 2017, doi: 10.1016/J.CES.2016.12.054.
- [153] A. G. Diful, K. Haigh, P. Vaskan, and J. F. Görgens, "Environmental impact assessment of lignocellulosic lactic acid production: Integrated with existing sugar mills," *Food Bioprod Process*, vol. 99, pp. 58–70, Jul. 2016, doi: 10.1016/J.FBP.2016.04.005.
- [154] "A Avaliação do Ciclo de Vida (ISO 14040)." <https://ciclodevida.wordpress.com/> (accessed Aug. 23, 2022).
- [155] "Avaliação de Ciclo de Vida - Apo Partner." <https://www.apopartner.pt/avaliacao-de-ciclo-de-vida/> (accessed Aug. 23, 2022).
- [156] A. K. Cerutti *et al.*, "Life Cycle Assessment in the Fruit Sector," *Life Cycle Assessment in the Agri-food Sector*, pp. 333–388, 2015, doi: 10.1007/978-3-319-11940-3\_6.
- [157] D. Pleissner, A. K. Neu, K. Mehlmann, R. Schneider, G. I. Puerta-Quintero, and J. Venus, "Fermentative lactic acid production from coffee pulp hydrolysate using *Bacillus coagulans* at laboratory and pilot scales," *Bioresour Technol*, vol. 218, pp. 167–173, Oct. 2016, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2016.06.078.
- [158] A. Arias, D. Barreiro, G. Feijoo, and M. T. Moreira, "Waste biorefinery towards a sustainable biotechnological production of pediocin: Synergy between process simulation and environmental assessment," *Environ Technol Innov*, vol. 26, p. 102306, May 2022, doi: 10.1016/J.ETI.2022.102306.
- [159] S. Gmünder, C. Toro, J. M. Rojas Acosta, and N. Rodríguez-Valencia, "Huella Ambiental del Café en Colombia," *Huella Ambiental del Café en Colombia*, 2020, doi: 10.38141/CENBOOK-0007.

- [160] M. Barbanera, M. Castellini, G. Tasselli, B. Turchetti, F. Cotana, and P. Buzzini, "Prediction of the environmental impacts of yeast biodiesel production from cardoon stalks at industrial scale," *Fuel*, vol. 283, p. 118967, Jan. 2021, doi: 10.1016/J.FUEL.2020.118967.
- [161] G. Moiceanu *et al.*, "Energy Consumption at Size Reduction of Lignocellulose Biomass for Bioenergy," *Sustainability 2019*, vol. 11, no. 9, p. 2477, Apr. 2019, doi: 10.3390/SU11092477.
- [162] "Sea vs. Air: What's The Best Way To Ship Your Coffee?" <https://mtpak.coffee/sea-vs-air-method-of-transport-best-for-coffee/> (accessed Aug. 31, 2022).
- [163] M. A. J. Huijbregts *et al.*, "ReCiPe2016: A harmonised life cycle impact assessment method at midpoint and endpoint level," *Int J Life Cycle Assess*, vol. 22, no. 2, pp. 138–147, Feb. 2017, doi: 10.1007/S11367-016-1246-Y.
- [164] B. Moura, H. Monteiro, T. M. Mata, and A. A. Martins, "Life cycle energy and carbon emissions of essential oil extraction from Rosemary," *Energy Rep*, vol. 8, pp. 291–297, Jun. 2022, doi: 10.1016/J.EGYR.2022.01.063.

### 6.1.1 Normas

NP EN ISO 14044:2010 – Gestão Ambiental – Avaliação de Ciclo de Vida – Princípios e Estrutura.

NP EN ISO 14040:2008 - Gestão Ambiental – Avaliação de Ciclo de Vida – Requisitos e Linhas de Orientação.



# ANEXOS

- 7.1 Anexo A - Inventário da produção de ácido láctico à escala laboratorial
- 7.2 Anexo B - Inventário da produção de ácido láctico à escala piloto
- 7.3 Anexo C - Análise de Sensibilidade
- 7.4 Anexo D - Dados sobre o caldo MRS



## 7 ANEXOS

### 7.1 Anexo A – Inventário da produção de ácido láctico à escala laboratorial

Tabela A.1 – Quantificação dos impactes por fase e entradas no sistema, escala laboratorial

	Inputs	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	HTPc	HTPnc	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP total
		kg CO2 eq	kg CFC11 eq	Bq Co-60 eq	kg NOx eq	kg PM2.5 eq	kg NOx eq	kg SO2 eq	kg P eq	kg N eq	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	m2a crop eq	kg Cu eq	kg oil eq	m3	kg 1,4-DCB
Raw material transport	Ship Transport	0,47942165	3,33E-07	0,0049711	0,0099597	0,0031734	0,010032	0,0098723	6,86117E-05	1,605E-06	1,25971015	0,0040996	0,0061572	0,02124084	0,068280284	0,0066064	0,00095642	0,14099223	0,000362	0,089521129
Coffee	Coffee pulp	11,6939469	0,0001535	0,3447885	0,0388911	0,0286649	0,03954	0,1559672	0,114313687	0,090807	52,2729298	0,86487	1,0650024	0,59726343	19,58451283	30,130492	0,07009062	1,70461344	0,25708	20,18177626
Milling	Electricity LV	1,36324373	5,716E-07	0,0323551	0,0016777	0,0029685	0,0017	0,0061533	0,003008855	0,0001826	2,09685572	0,086722	0,1185654	0,1575528	3,141432322	0,0076408	0,0005806	0,443120653	0,007819	3,298985126
Coffe pulp suspension	Milled coffee pulp																			
	Water	0,00922297	9,01E-09	0,0008583	1,916E-05	2,447E-05	1,95E-05	6,205E-05	4,52044E-06	4,055E-07	0,05452732	0,0005593	0,0007481	0,00109368	0,012353392	0,0002399	6,5044E-05	0,00240785	0,021587	0,013447075
Chemical Hydrolysis	Coffee pulp suspension																			
	H2SO4	0,05896021	2,746E-08	0,008247	0,0001964	0,0013027	0,000202	0,0043925	3,63987E-05	2,095E-06	2,4985144	0,010985	0,0156243	0,00891736	0,286229358	0,0033331	0,00078128	0,036104617	0,011251	0,295146717
	NaOH	0,06002065	6,526E-08	0,0067341	0,0001574	0,0001326	0,000159	0,0002313	3,16515E-05	3,117E-06	0,25760652	0,003215	0,0042452	0,00403981	0,073433565	0,0016191	0,00020405	0,015040695	0,001613	0,077473376
	Electricity LV	9,62380269	4,035E-06	0,2284107	0,0118439	0,020956	0,012004	0,0434391	0,021240975	0,0012887	14,8027277	0,6122131	0,8370112	1,11224212	22,17690363	0,0539399	0,00409875	3,128204911	0,055199	23,28914575
Enzymatic Hydrolysis	Stream from chemical hydrolysis																			
	Enzymes	21,7413934	9,664E-05	2,696784	0,0721718	0,0472258	0,073286	0,1860545	0,018285304	0,0314095	132,261944	1,5828184	1,5433677	1,29192494	43,91865295	15,099278	0,10153025	5,295035721	2,589178	45,21057789
	Electricity LV	123,184674	5,165E-05	2,923657	0,1516024	0,2682366	0,153646	0,5560199	0,271884485	0,0164958	189,474915	7,8363282	10,713743	14,2366992	283,8643664	0,690431	0,05246398	40,04102287	0,706545	298,1010656
Inocula for Lab ferm	MRS broth	0,17023467	6,687E-07	0	0	0	0	0,0008044	3,41197E-05	0,0001036	0,3070627	0,0027936	0,0031078	0,01509464	0	0	0	0,031394181	0	0,015094637
	Everzit Dol dolomite	0,00258848	1,115E-09	0,0001622	1,009E-05	5,566E-06	1,02E-05	9,794E-06	9,96637E-07	6,768E-08	0,01195944	0,0001147	0,0001509	0,00015715	0,001978007	7,985E-05	4,9365E-06	0,00068986	1,4E-05	0,002135159
	Bacillus coagulans																			
	Electricity LV	184,777012	7,748E-05	4,3854855	0,2274036	0,4023549	0,230469	0,8340299	0,407826727	0,0247436	284,212372	11,754492	16,070614	21,3550487	425,7965496	1,0356465	0,07869596	60,0615343	1,059818	447,1515983
Lab fermentation	Hydrolysate																			
	Inoculum	184,949835	7,815E-05	4,3856477	0,2274137	0,4023605	0,23048	0,8348441	0,407861843	0,0248473	284,531394	11,757401	16,073873	21,3703005	425,7985276	1,0357264	0,0787009	60,09361834	1,059832	447,1688281
	Yeast extract	0,36252461	1,744E-06	0,0093312	0,0006286	0,0005189	0,000643	0,0021699	0,000180106	0,0002917	1,07780743	0,0097426	0,0125835	0,0125214	0,183318359	1,3514295	0,00102749	0,049213092	0,007607	0,195839756
	NaOH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Electricity LV	215,57318	9,039E-05	5,1163997	0,2653042	0,4694141	0,268881	0,9730349	0,475797848	0,0288676	331,5811	13,713574	18,74905	24,9142235	496,7626412	1,2082543	0,09181196	70,07179001	1,236454	521,6768647
	Lactic acid (output)																			

Tabela A.2 – Quantificação dos impactos totais por fase, escala laboratorial

	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP
Raw material transport	0,479	0,000	0,005	0,010	0,003	0,010	0,010	0,000	0,000	1,260	0,004	0,006	0,007	0,001	0,141	0,000	0,090
Coffee	11,694	0,000	0,345	0,039	0,029	0,040	0,156	0,114	0,091	52,273	0,865	1,065	30,130	0,070	1,705	0,257	20,182
Milling	1,363	0,000	0,032	0,002	0,003	0,002	0,006	0,003	0,000	2,097	0,087	0,119	0,008	0,001	0,443	0,008	3,299
Coffe pulp suspension	0,009	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,055	0,001	0,001	0,000	0,000	0,002	0,022	0,013
Chemical Hydrolysis	9,743	0,000	0,243	0,012	0,022	0,012	0,048	0,021	0,001	17,559	0,626	0,857	0,059	0,005	3,179	0,068	23,662
Enzymatic Hydrolysis	144,926	0,000	5,620	0,224	0,315	0,227	0,742	0,290	0,048	321,737	9,419	12,257	15,790	0,154	45,336	3,296	343,312
Lab fermentation and Inocula	400,886	0,000	9,511	0,493	0,872	0,500	1,810	0,884	0,054	617,190	25,481	34,836	3,595	0,172	130,215	2,304	969,042

Tabela A.3 – Quantificação em percentagem dos impactos totais por fase, escala laboratorial

	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP	Média
Transporte	0,1%	0,1%	0,0%	1,3%	0,3%	1,3%	0,4%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,1%	0,0%	0,0%	0,2%
Polpa de Café	2,1%	32,2%	2,2%	5,0%	2,3%	5,0%	5,6%	8,7%	46,8%	5,2%	2,4%	2,2%	60,8%	17,4%	0,9%	4,3%	1,5%	12,0%
Moagem	0,2%	0,1%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,1%	0,2%	0,2%	0,2%	0,0%	0,1%	0,2%	0,1%	0,2%	0,2%
Suspensão da polpa	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,4%	0,0%	0,0%
Hidrólise Química	1,7%	0,9%	1,5%	1,6%	1,8%	1,6%	1,7%	1,6%	0,7%	1,7%	1,7%	1,7%	0,1%	1,3%	1,8%	1,1%	1,7%	1,4%
Hidrólise Enzimática	25,5%	31,1%	35,7%	28,7%	25,3%	28,7%	22,1%	24,7%	31,8%	25,8%	24,9%	31,8%	38,3%	25,0%	55,3%	25,3%	29,8%	
Fermentação e Inóculo	70,4%	35,7%	60,4%	63,3%	70,1%	63,2%	65,3%	67,3%	27,8%	61,0%	69,8%	70,9%	7,3%	42,6%	71,9%	38,7%	56,3%	

Tabela A.4 – Quantificação em percentagem dos impactos associados à fase de produção do inóculo, escala laboratorial

	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP
Inocula for Lab ferm	Caldo MRS	0,09%	0,86%	0,00%	0,00%	0,00%	0,10%	0,01%	0,42%	0,11%	0,02%	0,02%	0,00%	0,00%	0,05%	0,00%	0,00%
	Everzit Dol dolomite	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,01%	0,01%	0,00%	0,00%	0,00%
	Eletricidade LV	99,91%	99,14%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	99,90%	99,99%	99,58%	99,89%	99,98%	99,98%	99,99%	99,99%	99,95%	100,00%

## 7.2 Anexo B – Inventário da produção de ácido láctico à escala piloto

Tabela B.1 – Quantificação dos impactos por fase e entradas no sistema, escala piloto

	Inputs	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	HTPc	HTPnc	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP total
		kg CO2 eq	kg CFC11 eq	kBq Co-60 eq	kg NOx eq	kg PM2.5 eq	kg NOx eq	kg SO2 eq	kg P eq	kg N eq	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	m2a crop eq	kg Cu eq	kg oil eq	m3	kg 1,4-DCB
<b>Raw material transport</b>	Ship Transport	0,331907297	2,30569E-07	0,003441558	0,006895172	0,002196988	0,00694511	0,006834666	4,75004E-05	1,11106E-06	0,87210703	0,0028382	0,0042627	0,0147052	0,047270966	0,004573682	0,00066214	0,09761001	0,00025	0,0619762
<b>Coffee</b>	Coffee pulp	8,09580936	0,000106273	0,238699757	0,026924622	0,019844941	0,027373744	0,107977284	0,079140245	0,062866416	36,1889514	0,59875616	0,73730938	0,413490065	13,55850888	20,85957152	0,04852428	1,180117	0,177978	13,971999
<b>Milling</b>	Electricity MV	0,899544262	3,78326E-07	0,021362669	0,00110828	0,001961333	0,001123199	0,004059697	0,001992387	0,000120945	1,24743566	0,05239299	0,07238757	0,103395309	2,058689587	0,004949239	0,00030736	0,29355971	0,005169	2,1620849
<b>Coffe pulp suspension</b>	Milled coffee pulp																			
	Water	0,00638513	6,23804E-09	0,000594208	1,32613E-05	1,69434E-05	1,34829E-05	4,29596E-05	3,12953E-06	2,80727E-07	0,03774968	0,00038723	0,00051794	0,000575165	0,008552348	0,000166068	4,5031E-05	0,00166697	0,014945	0,0093095
<b>Chemical Hydrolysis</b>	Coffee pulp suspension																			
	H2SO4	0,040818605	1,90073E-08	0,005709476	0,000135943	0,000901875	0,000140097	0,00304094	2,51991E-05	1,45052E-06	1,72974074	0,00760502	0,01081683	0,006173556	0,198158786	0,002307533	0,00054089	0,0249955	0,007789	0,2043323
	NaOH	0,040629363	4,41764E-08	0,004558446	0,000106514	8,97899E-05	0,000107592	0,0001566	2,14256E-05	2,10991E-06	0,1743798	0,00217632	0,00287371	0,002734642	0,049708874	0,00109603	0,00013813	0,01018139	0,001092	0,0524435
	Electricity MV	0,423354792	1,78052E-07	0,010053967	0,000521592	0,000923067	0,000528614	0,001910625	0,000937682	5,69205E-05	0,5870838	0,02465785	0,03406795	0,048661196	0,968886289	0,002329273	0,00014465	0,13815875	0,002433	1,0175475
<b>Enzymatic Hydrolysis</b>	Stream from chemical hydrolysis																			
	Enzymes	15,05173387	6,69041E-05	1,867004338	0,049965078	0,032694805	0,050736637	0,128806982	0,012659057	0,021745054	91,5659612	1,09579732	1,0684853	0,894409574	30,40522127	10,45334647	0,07029017	3,66579396	1,792508	31,299631
	Electricity MV	9,754094405	4,10233E-06	0,231643402	0,012017489	0,021267464	0,012179269	0,044020811	0,021604195	0,001311449	13,5264107	0,56811677	0,78492547	1,121153948	22,3231401	0,053666445	0,00333283	3,18317763	0,056048	23,444294
<b>Inocula for Pilot ferm</b>	Dextrose monohydrate	0,083066773	3,4278E-07	0,0050195	0,000199888	0,000182094	0,000203625	0,00068976	3,54642E-05	7,7421E-05	0,56367505	0,00570139	0,00712707	0,005794367	0,023543509	0,043465068	0,00046983	0,02162454	0,001827	0,0293379
	Yeast extract	0,016731905	8,04938E-08	0,000430671	2,90123E-05	2,39501E-05	2,96996E-05	0,000100151	8,31256E-06	1,34645E-05	0,04974496	0,00044966	0,00058078	0,000577911	0,008460847	0,062373667	4,7423E-05	0,00227137	0,000351	0,0090388
	MRS broth	0,00523799	2,05765E-08	0	0	0	0	2,47515E-05	1,04984E-06	3,18626E-06	0,00944808	8,5957E-05	9,5626E-05	0,00046445	0	0	0,00096597	0	0,0004645	
	Bacillus coagulans																			
	Electricity MV	2,55894452	1,07623E-06	0,060770646	0,003152736	0,005579427	0,003195179	0,011548669	0,005667767	0,000344053	3,54859541	0,14904298	0,20592181	0,294129894	5,856379348	0,01407916	0,00087435	0,8350929	0,014704	6,1505092
<b>Pilot fermentation</b>	Hydrolysate																			
	Inoculum	2,663981188	1,52008E-06	0,066220816	0,003381636	0,005785471	0,003428503	0,012363332	0,005712594	0,000438125	4,1714635	0,15527999	0,21372528	0,300966621	5,888383704	0,119917896	0,00139161	0,85995479	0,016882	6,1893503
	Yeast extract	0,250978579	1,20741E-06	0,006460059	0,000435185	0,000359252	0,000445494	0,001502263	0,000124688	0,000201967	0,74617438	0,00674489	0,00871165	0,00866866	0,12691271	0,935605011	0,00071134	0,0340706	0,005267	0,1355814
	NaOH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Electricity MV	11,37977681	4,78605E-06	0,270250636	0,014020404	0,024812041	0,014209148	0,051357612	0,025204894	0,001530024	15,7808125	0,6628029	0,91574639	1,308012939	26,04366345	0,062610853	0,0038883	3,71370723	0,065389	27,351676
	Lactic acid (output)																			

Tabela B.2 – Quantificação dos impactos totais por fase, escala piloto

	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP
<b>Raw material transport</b>	0,332	0,000	0,003	0,007	0,002	0,007	0,007	0,000	0,000	0,872	0,003	0,004	0,005	0,001	0,098	0,000	0,062
<b>Coffee</b>	8,096	0,000	0,239	0,027	0,020	0,027	0,108	0,079	0,063	36,189	0,599	0,737	20,860	0,049	1,180	0,178	13,972
<b>Milling</b>	0,900	0,000	0,021	0,001	0,002	0,001	0,004	0,002	0,000	1,247	0,052	0,072	0,005	0,000	0,294	0,005	2,162
<b>Coffe pulp suspension</b>	0,006	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,038	0,000	0,001	0,000	0,000	0,002	0,015	0,009
<b>Chemical Hydrolysis</b>	0,505	0,000	0,020	0,001	0,002	0,001	0,005	0,001	0,000	2,491	0,034	0,048	0,006	0,001	0,173	0,011	1,274
<b>Enzymatic Hydrolysis</b>	24,806	0,000	2,099	0,062	0,054	0,063	0,173	0,034	0,023	105,092	1,664	1,853	10,507	0,074	6,849	1,849	54,744
<b>Pilot fermentation and Inoculum production</b>	14,295	0,000	0,343	0,018	0,031	0,018	0,065	0,031	0,002	20,698	0,825	1,138	1,118	0,006	4,608	0,088	33,677

Tabela B.3 – Quantificação em percentagem dos impactes totais por fase, escala piloto

	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP	Média
Transporte	0,7%	0,1%	0,1%	6,0%	2,0%	5,9%	1,9%	0,0%	0,0%	0,5%	0,1%	0,1%	0,0%	0,5%	0,7%	0,0%	0,1%	1,1%
Polpa de Café	16,5%	57,2%	8,8%	23,3%	17,9%	23,4%	29,8%	53,7%	71,2%	21,7%	18,8%	19,1%	64,2%	37,3%	8,9%	8,3%	13,2%	29,0%
Moagem	1,8%	0,2%	0,8%	1,0%	1,8%	1,0%	1,1%	1,4%	0,1%	0,7%	1,6%	1,9%	0,0%	0,2%	2,2%	0,2%	2,0%	1,1%
Supensão da polpa	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,7%	0,0%	0,1%
Hidrólise Química	1,0%	0,1%	0,7%	0,7%	1,7%	0,7%	1,4%	0,7%	0,1%	1,5%	1,1%	1,2%	0,0%	0,6%	1,3%	0,5%	1,2%	0,9%
Hidrólise Enzimática	50,7%	38,2%	77,0%	53,7%	48,7%	53,7%	47,7%	23,2%	26,1%	63,1%	52,4%	48,1%	32,3%	56,6%	51,9%	86,1%	51,7%	50,7%
Fermentação e Inóculo	29,2%	4,0%	12,6%	15,4%	27,9%	15,4%	18,0%	21,0%	2,5%	12,4%	26,0%	29,5%	3,4%	4,6%	34,9%	4,1%	31,8%	17,2%

### 7.3 Anexo C – Análise de sensibilidade

Tabela C.1 – Quantificação dos impactes por fase e entradas no sistema, escala laboratorial

	Inputs	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	HTPc	HTPnc	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP
		kg CO2 eq	kg CFC11 eq	kg Co-60 eq	kg NOx eq	kg PM2.5 eq	kg NOx eq	kg SO2 eq	kg P eq	kg N eq	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	m2a crop eq	kg Cu eq	kg oil eq	m3	kg 1,4-DCB
<b>Raw material transport</b>	Ship Transport	0,4794217	3,33E-07	0,0049711	0,0099597	0,0031734	0,0100318	0,0098723	6,861E-05	1,60487E-06	1,2597102	0,0040996	0,0061572	0,02124084	0,06828028	0,0066064	0,0009564	0,14099223	0,000362	0,08952113
Coffee	Coffee pulp	11,693947	0,0001535	0,3447885	0,0388911	0,0286649	0,0395399	0,1559672	0,1143137	0,090807045	52,27293	0,86487	1,0650024	0,59726343	19,5845128	30,130492	0,0700906	1,70461344	0,25708	20,1817763
<b>Milling</b>	Electricity LV	0,0372786	1,201E-07	0,02117623	7,354E-05	4,459E-05	7,529E-05	0,0001054	1,786E-05	1,50663E-06	0,3201164	0,0091558	0,0113391	0,00706076	0,06964246	0,0034546	0,0004068	0,00749232	0,047761	0,07670322
<b>Coffe pulp suspension</b>	Milled coffee pulp																			
	Water	0,009223	9,01E-09	0,0008583	1,916E-05	2,447E-05	1,948E-05	6,205E-05	4,52E-06	4,05494E-07	0,0545273	0,0005593	0,0007481	0,00109368	0,01235339	0,0002399	6,504E-05	0,00240785	0,021587	0,01344707
<b>Chemical Hydrolysis</b>	Coffee pulp suspension																			
	H2SO4	0,0589602	2,746E-08	0,008247	0,0001964	0,0013027	0,0002024	0,0043925	3,64E-05	2,0952E-06	2,4985144	0,010985	0,0156243	0,00891736	0,28622936	0,0033331	0,0007813	0,03610462	0,011251	0,29514672
	NaOH	0,0600207	6,526E-08	0,0067341	0,0001574	0,0001326	0,0001589	0,0002313	3,165E-05	3,11691E-06	0,2576065	0,003215	0,0042452	0,00403981	0,07343356	0,0016191	0,0002041	0,0150407	0,001613	0,07747338
	Electricity LV	0,2631678	8,48E-07	0,1536306	0,0005191	0,0003148	0,0005315	0,0007439	0,0001261	1,06361E-05	2,2598581	0,0646352	0,080048	0,04984538	0,49164007	0,0243879	0,0028719	0,05289192	0,337169	0,54148546
<b>Enzymatic Hydrolysis</b>	Stream from chemical hydrolysis																			
	Enzymes	21,741393	9,664E-05	2,696784	0,0721718	0,0472258	0,0732863	0,1860545	0,0182853	0,031409523	132,26194	1,5828184	1,5433677	1,29192494	43,9186529	15,099278	0,1015302	5,29503572	2,589178	45,2105779
	Electricity LV	3,3685472	1,085E-05	1,966472	0,0066449	0,0040294	0,0068037	0,0095224	0,0016137	0,000136142	28,926183	0,8273305	1,0246143	0,63802089	6,29299296	0,3121657	0,0367603	0,67701659	4,315766	6,93101385
<b>Inocula for Lab ferm</b>	MRS broth	0,1702347	6,687E-07	0	0	0	0	0,0008044	3,412E-05	0,000103553	0,3070627	0,0027936	0,0031078	0,01509464	0	0	0	0,03139418	0	0,01509464
	Everzit Dol dolomite	0,0025885	1,115E-09	0,0001622	1,009E-05	5,566E-06	1,021E-05	9,794E-06	9,966E-07	6,76797E-08	0,0119594	0,0001147	0,0001509	0,00015715	0,00197801	7,985E-05	4,937E-06	0,00068986	1,4E-05	0,00213516
	Bacillus coagulans																			
	Electricity LV	5,0528208	1,628E-05	2,949708	0,0099673	0,006044	0,0102056	0,0142836	0,0024205	0,000204213	43,389275	1,2409957	1,5369215	0,95703133	9,43948944	0,4682486	0,0551404	1,01552488	6,473649	10,3965208
<b>Lab fermentation</b>	Hydrolysate																			
	Inoculum	5,225644	1,695E-05	2,9498703	0,0099774	0,0060496	0,0102158	0,0150978	0,0024557	0,000307834	43,708297	1,243904	1,5401803	0,97228312	9,44146744	0,4683284	0,0551454	1,04760893	6,473663	10,4137506
	Yeast extract	0,3625246	1,744E-06	0,0093312	0,0006286	0,0005189	0,0006435	0,0021699	0,0001801	0,00029173	1,0778074	0,0097426	0,0125835	0,0125214	0,18331836	1,3514295	0,0010275	0,04921309	0,007607	0,19583976
	NaOH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Electricity LV	5,8949577	1,899E-05	3,4413261	0,0116285	0,0070514	0,0119065	0,0166642	0,002824	0,000238248	50,620821	1,4478283	1,7930751	1,11653655	11,0127377	0,54629	0,0643305	1,18477903	7,55259	12,1292742
	Lactic acid (output)																			

Tabela C.2 – Diferenças entre o caso de estudo inicial e a análise de sensibilidade, escala laboratorial

	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	HTPc	HTPnc	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP total
Diferença entre o caso de estudo inicial e a análise de sensibilidade	519,91	0,00	4,15	0,63	1,15	0,64	2,37	1,17	0,07	696,65	30,41	42,04	59,01	1204,44	1,64	0,07	170,81	15,66	1263,44
% redução ou aumento dos impactos	91%	37%	26%	81%	92%	81%	86%	89%	37%	69%	83%	86%	93%	93%	3%	17%	94%	72%	93%

Tabela C.3 – Quantificação em percentagem dos impactes totais por fase, escala laboratorial

	GWP	ODP	IRP	HOFPP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP	
Transporte	1,0%	0,1%	0,0%	6,6%	3,2%	6,5%	2,5%	0,0%	0,0%	0,4%	0,1%	0,1%	0,0%	0,3%	1,4%	0,0%	0,1%	1,3%
Polpa de Café	23,8%	51,2%	3,0%	25,8%	29,1%	25,8%	38,9%	81,7%	73,7%	16,6%	14,3%	15,0%	62,8%	21,0%	16,7%	1,2%	21,0%	30,7%
Moagem	0,1%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,2%	0,0%	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	0,1%
Suspensão da polpa	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%
Hidrólise Química	0,8%	0,3%	1,5%	0,6%	1,8%	0,6%	1,3%	0,1%	0,0%	1,6%	1,3%	1,4%	0,1%	1,2%	1,0%	1,6%	1,0%	0,9%
Hidrólise Enzimática	51,0%	35,8%	40,2%	52,2%	52,0%	52,2%	48,8%	14,2%	25,6%	51,1%	39,7%	36,2%	32,1%	41,4%	58,5%	31,9%	54,2%	42,2%
Fermentação e Inóculo	23,3%	12,6%	55,2%	14,7%	13,8%	14,8%	8,5%	3,9%	0,7%	30,2%	44,5%	47,1%	4,9%	36,1%	22,3%	64,9%	23,6%	24,8%

Tabela C.4 – Quantificação dos impactes por fase e entradas no sistema, escala piloto

	Inputs	GWP	ODP	IRP	HOFPP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	HTPc	HTPnc	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP total
		kg CO2 eq	kg CFC11 eq	Bq Co-60 eq	kg NOx eq	kg PM2.5 eq	kg NOx eq	kg SO2 eq	kg P eq	kg N eq	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	kg 1,4-DCB	m2a crop eq	kg Cu eq	kg oil eq	m3	kg 1,4-DCB
Raw material transport	Ship Transport	0,331907	2,30569E-07	0,0034416	0,0068952	0,002197	0,0069451	0,0068347	4,75E-05	1,111E-06	0,872107	0,0028382	0,0042627	0,0147052	0,047271	0,0045737	0,0006621	0,09761	0,0002503	0,0619762
Coffee	Coffee pulp	8,095809	0,000106273	0,2386998	0,0269246	0,0198449	0,0273737	0,1079773	0,0791402	0,0628664	36,188951	0,5987562	0,7373094	0,4134901	13,558509	20,859572	0,0485243	1,180117	0,1779785	13,971999
Milling	Electricity LV	0,025808	8,31595E-08	0,0150662	5,091E-05	3,087E-05	5,213E-05	7,296E-05	1,236E-05	1,043E-06	0,2216191	0,0063386	0,0078501	0,0048882	0,048214	0,0023917	0,0002816	0,005187	0,0330654	0,0531022
Coffe pulp suspension	Milled coffee pulp																			
	Water	0,006385	6,23804E-09	0,0005942	1,326E-05	1,694E-05	1,348E-05	4,296E-05	3,13E-06	2,807E-07	0,0377497	0,0003872	0,0005179	0,0007572	0,0085523	0,0001661	4,503E-05	0,001667	0,0149446	0,0093095
	Coffee pulp suspension																			0
Chemical Hydrolysis	H2SO4	0,040819	1,90073E-08	0,0057095	0,0001359	0,0009019	0,0001401	0,0030409	2,52E-05	1,451E-06	1,7297407	0,007605	0,0108168	0,0061736	0,1981588	0,0023075	0,0005409	0,0249955	0,0077889	0,2043323
	NaOH	0,040629	4,41764E-08	0,0045584	0,0001065	8,979E-05	0,0001076	0,0001566	2,143E-05	2,11E-06	0,1743798	0,0021763	0,0028737	0,0027346	0,0497089	0,001096	0,0001381	0,0101814	0,001092	0,0524435
	Electricity LV	0,012146	3,91376E-08	0,0070906	2,396E-05	1,453E-05	2,453E-05	3,434E-05	5,819E-06	4,909E-07	0,1043011	0,0029832	0,0036945	0,0023006	0,0226911	0,0011256	0,0001325	0,0024412	0,0155617	0,0249916
Enzymatic Hydrolysis	Stream from chemical hydrolysis																			
	Enzymes	15,05173	6,69041E-05	1,8670043	0,0499651	0,0326948	0,0507366	0,128807	0,0126591	0,0217451	91,565961	1,0957973	1,0684853	0,8944096	30,405221	10,453346	0,0702902	3,665794	1,7925076	31,299631
	Electricity LV	0,279849	9,01729E-07	0,1633684	0,000552	0,0003347	0,0005652	0,0007911	0,0001341	1,131E-05	2,4030983	0,0687321	0,0851218	0,0530048	0,5228025	0,0259338	0,0030539	0,0562445	0,3585406	0,5758073
Inocula for Lab ferm	MRS broth	0,005238	2,05765E-08	0	0	0	0	2,475E-05	1,05E-06	3,186E-06	0,0094481	8,596E-05	9,563E-05	0,0004645	0	0	0	0,000966	0	0,0004645
	Dextrose monohydrate	0,083067	3,4278E-07	0,0050195	0,0001999	0,0001821	0,0002036	0,0006898	3,546E-05	7,742E-05	0,5636751	0,0057014	0,0071271	0,0057944	0,0235435	0,0434651	0,0004698	0,0216245	0,0018269	0,0293379
	Yeast extract	0,016732	8,04938E-08	0,0004307	2,901E-05	2,395E-05	2,97E-05	0,0001002	8,313E-06	1,346E-05	0,049745	0,0004497	0,0005808	0,0005779	0,0084608	0,0623737	4,742E-05	0,0022714	0,0003511	0,0090388
	Bacillus coagulans																			0
	Electricity LV	0,073417	2,36565E-07	0,042859	0,0001448	8,782E-05	0,0001483	0,0002075	3,517E-05	2,967E-06	0,6304425	0,0180316	0,0223313	0,0139056	0,137155	0,0068036	0,0008012	0,0147555	0,0940616	0,1510606
Lab fermentation	Hydrolysate																			
	Inoculum	0,178454	6,80415E-07	0,0483092	0,0003737	0,0002939	0,0003816	0,0010222	8E-05	9,704E-05	1,2533106	0,0242686	0,0301348	0,0207423	0,1691593	0,1126423	0,0013184	0,0396174	0,0962395	0,1899016
	Yeast extract	0,250979	1,20741E-06	0,0064601	0,0004352	0,0003593	0,0004455	0,0015023	0,0001247	0,000202	0,7461744	0,0067449	0,0087116	0,0086687	0,1269127	0,935605	0,0007113	0,0340706	0,0052665	0,1355814
	NaOH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Electricity LV	0,32649	1,05202E-06	0,1905965	0,000644	0,0003905	0,0006594	0,0009229	0,0001564	1,32E-05	2,8036147	0,0801874	0,0993088	0,0618389	0,6099362	0,0302561	0,0035629	0,0656185	0,4182973	0,6717752
	Lactic acid (output)																			

Tabela C.5 –Diferenças entre o caso de estudo inicial e a análise de sensibilidade, escala piloto

	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	HTPc	HTPnc	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP total
Diferença entre o caso de estudo inicial e a análise de sensibilidade	24,298	0,00	0,18	0,03	0,05	0,03	0,11	0,06	0,00	28,53	1,28	1,79	2,74	55,91	0,07	0,00	8,02	0,78	58,65
% redução ou aumento dos impactos	50%	4%	6%	25%	48%	25%	31%	37%	4%	17%	40%	47%	65%	55%	0%	1%	61%	27%	55%

Tabela C.6 – Quantificação em percentagem dos impactes totais por fase, escala laboratorial

	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP	
Transporte	1,0%	0,1%	0,0%	6,6%	3,2%	6,5%	2,5%	0,0%	0,0%	0,4%	0,1%	0,1%	0,0%	0,3%	1,4%	0,0%	0,1%	1,3%
Polpa de Café	23,8%	51,2%	3,0%	25,8%	29,1%	25,8%	38,9%	81,7%	73,7%	16,6%	14,3%	15,0%	62,8%	21,0%	16,7%	1,2%	21,0%	30,7%
Moagem	0,1%	0,0%	0,2%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,2%	0,2%	0,0%	0,1%	0,1%	0,2%	0,1%	0,1%
Supensão da polpa	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%
Hidrólise Ácida	0,8%	0,3%	1,5%	0,6%	1,8%	0,6%	1,3%	0,1%	0,0%	1,6%	1,3%	1,4%	0,1%	1,2%	1,0%	1,6%	1,0%	0,9%
Hidrólise Enzimática	51,0%	35,8%	40,2%	52,2%	52,0%	52,2%	48,8%	14,2%	25,6%	51,1%	39,7%	36,2%	32,1%	41,4%	58,5%	31,9%	54,2%	42,2%
Fermentação (com inóculo)	23,3%	12,6%	55,2%	14,7%	13,8%	14,8%	8,5%	3,9%	0,7%	30,2%	44,5%	47,1%	4,9%	36,1%	22,3%	64,9%	23,6%	24,8%

Tabela C.7 – Quantificação em percentagem dos impactes totais por fase, escala piloto

	GWP	ODP	IRP	HOFP	PMFP	EOFP	TAP	FEP	MEP	TETP	FETP	METP	LOP	SOP	FFP	WCP	HTP	Média
Transporte	1,3%	0,1%	0,1%	8,0%	3,8%	7,9%	2,7%	0,1%	0,0%	0,6%	0,1%	0,2%	0,0%	0,5%	1,9%	0,0%	0,1%	1,6%
Polpa de Café	32,9%	59,9%	9,4%	31,3%	34,7%	31,3%	43,0%	85,6%	74,0%	26,2%	31,6%	35,8%	64,3%	37,5%	22,8%	6,1%	29,6%	38,6%
Moagem	0,1%	0,0%	0,6%	0,1%	0,1%	0,1%	0,0%	0,0%	0,0%	0,2%	0,3%	0,4%	0,0%	0,2%	0,1%	1,1%	0,1%	0,2%
Supensão da polpa	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	0,0%	0,0%
Hidrólise Ácida	0,4%	0,1%	0,7%	0,3%	1,8%	0,3%	1,3%	0,1%	0,0%	1,5%	0,7%	0,8%	0,0%	0,6%	0,7%	0,8%	0,6%	0,6%
Hidrólise Enzimática	62,2%	38,2%	79,6%	58,7%	57,8%	58,7%	51,6%	13,8%	25,6%	68,0%	61,4%	56,0%	32,3%	56,7%	71,8%	73,6%	67,5%	54,9%
Fermentação (com inóculo)	3,1%	1,7%	9,6%	1,7%	1,8%	1,7%	1,4%	0,4%	0,4%	3,5%	5,9%	6,7%	3,3%	4,3%	2,7%	17,8%	2,1%	4,0%
Total	9,6%	0,0%	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,1%	0,0%	0,0%	53,6%	0,7%	0,8%	12,6%	0,1%	2,0%	1,1%	18,3%	5,9%

Tabela C.8 – Composição dos *mixs* energéticos

	<b>Grécia</b>	<b>Noruega</b>
<b>Hídrica</b>	11%	92%
<b>Fóssil (sem gás natural)</b>	26%	0,02%
<b>Gás natural</b>	23%	0,1%
<b>Eólica</b>	12%	3%
<b>Cogeração</b>	12%	0,1%
<b>Importação</b>	16%	5%

#### 7.4 Anexo D – Dados sobre o caldo MRS

Os dados aqui apresentados estão de acordo com o estudo de Arias et al. [158]

<b>Impact</b>	<b>Unit</b>	<b>Scenario 1</b>	<b>% MRS broth</b>	<b>MRS broth impact</b>	<b>MRS broth impact for 1 kg</b>
GW	kg CO2 eq	24,02	17,24	4,14	1,67
ODP	kg CFC-11 eq	2,5E-05	65,20	0,00	0,00
TAP	kg SO2 eq	0,08471	23,10	0,02	0,01
FEP	kg P eq	0,0053	15,66	0,00	0,00
MEP	kg N eq	0,00392	64,26	0,00	0,00
TETP	kg 1.4-DCB	31,57	23,66	7,47	3,01
FETP	kg 1.4-DCB	0,21	32,36	0,07	0,03
METP	kg 1.4-DCB	0,28	27,00	0,08	0,03
HTP	kg 1.4-DCB	8,07	4,55	0,37	0,15
FFP	kg oil eq	6,88	11,10	0,76	0,31