



Estudo do Pré-Tratamento Ácido e Hidrólise Enzimática da Borra de Café Visando a Produção de Bioetanol

DIOCLECIANA SOFIA DE JESUS GOMES

Novembro de 2016

INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DO PORTO

.....

MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

RAMO TECNOLOGIAS DE PROTECÇÃO AMBIENTAL



Orientação:



AGRADECIMENTOS

Esta é a última página a ser escrita, mas a primeira a ser lida.

Agradeço a todos os que contribuíram de forma direta ou indireta para a concretização deste trabalho que culmina com a obtenção de título de mestre em Engenharia Química.

Em primeiro lugar quero agradecer à minha orientadora, Professora Doutora Nídia Sá Caetano que sempre me recebeu com um sorriso e boa disposição, não deixando de valorizar a sua persistência, amabilidade, empenho e o desafio que sempre me lançou, que vão muito além das obrigações profissionais.

Um agradecimento aos técnicos do Laboratório de Tecnologia Química, Tomás Albergaria e Magda Marques pela disponibilidade e pelo auxílio prestado. Um especial obrigado à Eng^a Aurora Silva, ao Eng. Bruno Pereira, colega de licenciatura, à Eng^a Paula e por fim à D. Lurdes.

Um obrigada muito especial à Eng^a Paulinha que me lembrou alguns conceitos que já estavam esquecidos mostrando sempre uma disponibilidade e uma amabilidade que lhe é tão característica.

Um agradecimento à minha avó Valentina pelos momentos da minha infância, que tornaram a minha vida melhor.

Aos meus amados pais, Adélio e Alice, pela educação que me deram, pelos valores transmitidos e por estarem sempre ao meu lado. Aos meus irmãos, Cristina e André por depositarem em mim uma grande confiança.

Um agradecimento ao meu amigo de longa data Júlio Oliveira pelas palavras de incentivo.

Um eterno agradecimento à minha querida amiga Liliana Rustomgy, que foi a pessoa que mais me incentivou a retomar os estudos após longa ausência da vida académica, sempre me lembrando que só tentando é que sabemos se conseguimos.

Por estes motivos e por tantos outros é a ti que dedico todo este trabalho. Muito obrigada.

A ti, Liliana Rustomgy, dedico.

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a possibilidade de produzir um biocombustível, o bioetanol, valorizando resíduos de baixo valor, nomeadamente as borras de café.

Temos cada vez mais assistido a uma evolução tecnológica em larga escala e a um aumento populacional, que se traduz numa vertente positiva no primeiro caso, mas devido ao crescente consumo de energia pela sociedade atual e alteração de padrões de consumo, origina uma grande dependência de utilização de combustíveis fósseis, o que levará a um previsível esgotamento das suas reservas naturais. No que respeita ao aumento populacional, este provoca um aumento da produção de resíduos. Assim, cada vez mais se torna necessário procurar recursos energéticos alternativos, de natureza renovável, designadamente através da produção de biocombustíveis a partir de resíduos de baixo valor comercial. Esta utilização de resíduos como matéria-prima para a produção de biocombustíveis traduz-se em duas vantagens: i) por um lado diminui-se a acumulação dos resíduos gerados, e ii) por outro, podem estes ser aproveitados de uma forma eficiente.

O trabalho foi realizado em duas etapas fundamentais: a caracterização físico-química da borra de café e a quantificação dos açúcares formados, após aplicação do pré-tratamento ácido e hidrólise enzimática, por três métodos: DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), refratometria e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Para a caracterização físico-química da borra de café analisaram-se vários parâmetros, dos quais se salientam, o poder calorífico (5082,82 kcal/kg), o teor de cinzas (1,83%), o teor de proteínas (13,74 g / 100g_{café}), o teor de celulose (16,17%) e o teor de lenhina (29,04%).

No pré-tratamento ácido utilizou-se concentrações (v/v) de 1% a 5% dos ácidos H₂SO₄, HCl, HNO₃, CH₃COOH e de 7% para o CH₃COOH, a uma temperatura de 85 °C, com tempo de reação de 270 min e agitação de 50 rpm. A hidrólise enzimática foi concretizada num banho a 50 °C, durante 120 minutos, mantendo a mesma velocidade de agitação do pré-tratamento e recorrendo à enzima *Viscozyme L*, na proporção de 100 µL enzima/g amostra.

A eficiência do pré-tratamento e hidrólise enzimática foi avaliada através da quantificação dos açúcares formados. Na quantificação pelo método DNS, o ácido sulfúrico e nítrico a 3% foram os que apresentaram rendimentos superiores de açúcares redutores totais, com 43,1% e 43,2%, respetivamente, seguido do ácido nítrico a 5%, cujo rendimento igualou os 41,4%. Na determinação dos açúcares totais, realizada por refratometria, confirmou-se que o ácido sulfúrico a 5% foi aquele que apresentou um rendimento mais alto - 78,9% - seguido da concentração de 3% com 65,3%. Finalmente, no método de HPLC, o ácido sulfúrico a 5% proporcionou rendimentos mais elevados de xilose, arabinose e glucose, que tomaram os valores de 6,1%, 9,3% e 11,0%, respetivamente.

Palavras chave: Bioetanol, borra de café, pré-tratamento, hidrólise enzimática.

ABSTRACT

The present work aims to evaluate the possibility of producing a biofuel, bioethanol, by valuing low value residues, namely coffee grounds.

We have been increasingly witnessing a large-scale technological evolution and a population increase, which translates into a positive aspect in the first case, but, due to the increasing consumption of energy by the current society and changes in consumption patterns, causes a great dependence on the use of fossil fuels, which will lead to a predictable depletion of their natural reserves. As regards population growth, this causes an increase in waste production. Thus, it is increasingly necessary to look for alternative energy resources of a renewable nature, namely through the production of biofuels from low commercial value waste. This use of waste as a raw material for the production of biofuels has two advantages: (i) on the one hand, the accumulation of generated waste is reduced, and (ii) on the other, it can be used efficiently.

This work was carried out in two fundamental stages: the physical-chemical characterization of coffee grounds and the quantification of the sugars formed, after application of acid pretreatment and enzymatic hydrolysis, by three methods: DNS (3,5-Dinitrosalicylic acid), refractometry and high performance liquid chromatography (HPLC).

In the chemical characterization of coffee grounds, several parameters were used, such as calorific value (5082,82 cal/g), ash content (1,83%), protein (13,74 g/100g_{coffee}), cellulose (16,17%) and lignin (29,04%).

In acid pre-treatment, 1% to 5% concentrations of H₂SO₄, HCl, HNO₃, CH₃COOH acids and 7% of CH₃COOH were used (v/v) at a temperature of 85°C with a reaction time of 270 min and stirring at 50 rpm. The enzymatic hydrolysis was carried out in a bath at 50°C for 120 minutes, maintaining the same stirring speed of the pretreatment and using the enzyme *Viscozyme L* in the proportion of 100 µl enzyme/g sample.

The efficiency of pretreatment and enzymatic hydrolysis was evaluated by quantifying the sugars formed. In the DNS method, 3% sulfuric and nitric acid were those that presented higher yields of total reducing sugars, with 43,1% and 43,2%, respectively, followed by 5% nitric acid, whose yield was equal to 41,4%. In the determination of total sugars, performed by refractometry, 5% sulfuric acid was the one that presented a higher yield – 78,9% - followed by the concentration of 3% with 65,3%. Finally, in the HPLC method, 5% sulfuric acid provided higher yields of xylose, arabinose and glucose, which took the values of 6,1%, 9,3% and 11%, respectively.

Keywords: Bioethanol, coffee grounds, pretreatment, enzymatic hydrolysis.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Biocombustíveis	3
1.2. Biomassa	3
1.2.1. O Café	4
1.2.2. Borra de café	7
1.3. Objetivos	9
1.4. Estrutura da Dissertação	9
2. ESTADO DE ARTE	11
2.1. Bioetanol	11
2.2. Biomassa lenhocelulósica	12
2.2.1. Celulose	12
2.2.2. Hemicelulose	13
2.2.3. Lenhina	13
2.3. Processo para obtenção de bioetanol.....	14
2.3.1. Pré-tratamentos	14
2.3.1.1. Pré-tratamento ácido.....	16
2.3.2. Hidrólise.....	16
2.3.2.1. Hidrólise enzimática	17
2.3.2.1.1. Hidrólise da celulose	17
2.3.2.1.2. Hidrólise da hemicelulose	18
2.3.3. Fermentação.....	19
2.3.3.1. Fermentação das pentoses.....	20
3. DESCRIÇÃO TÉCNICA	23
3.1. Caracterização da borra de café.....	23
3.1.1. Análise granulométrica da borra de café	23
3.1.2. Teor de Humidade	24
3.1.3. Teor de Cinzas.....	24
3.1.4. Poder Calorífico Superior	24
3.1.5. Teor de Carbono.....	24
3.1.6. Teor de Azoto	25
3.1.7. Teor de Proteínas	26
3.1.8. Teor de Matéria Gorda.....	26
3.1.9. Teor de Celulose Bruta	27
3.1.10. Teor de Lenhina.....	27
3.2. Pré-tratamento	28

3.3. Hidrólise enzimática	29
3.4. Métodos utilizados para a quantificação dos açúcares	30
3.4.1. Método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS).....	31
3.4.2. Método refratométrico na escala Brix.....	31
3.4.3. Método da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1. Caracterização da borra de café	35
4.2. Quantificação dos açúcares	42
4.2.1. Método DNS	42
4.2.2. Método refratométrico	47
4.2.3. Método DNS vs refratométrico	51
4.2.4. Método da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	52
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES	55
BIBLIOGRAFIA	59
ANEXOS	65
Anexo A - Procedimento Experimental	65
A.1. Caracterização da borra de café	65
A.1.1. Análise granulométrica	65
A.1.2. Determinação do teor de humidade	66
A.1.3. Determinação do teor de cinzas	67
A.1.4. Determinação do poder calorífico superior	68
A.1.5. Determinação do teor de carbono	70
A.1.6. Determinação do teor de azoto.....	71
A.1.7. Determinação do teor de proteínas.....	73
A.1.8. Determinação do teor de matéria gorda	73
A.1.9. Determinação do teor de celulose bruta	75
A.1.10. Teor de lenhina.....	78
A.2. Quantificação dos açúcares	80
A.2.1. Método do DNS	80
A.2.2. Método de refratometria	81
A.2.3. Método da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	82
Anexo B - Resultados Experimentais	85
B.1. Caracterização da borra de café	85
B.2. Quantificação dos açúcares	90
B.2.1- Método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)	90
B.2.1. Método refratométrico.....	96
B.2.2. Método cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	103

Anexo C – Exemplos de cálculo	107
C.1. Caracterização da borra de café	107
C.2. Quantificação dos açúcares	111
C.2.1. Método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)	111
C.2.2. Método refratométrico	112
C.3.3. Método da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	114
Anexo D - Fichas de Segurança	116
D.1. Ficha de Segurança do Ácido Sulfúrico	116
D.2. Ficha de Segurança do Ácido Clorídrico	120
D.3. Ficha de Segurança do Ácido Nítrico	124
D.4. Ficha de Segurança do Ácido Acético	128
D.5. Ficha de Segurança do Hidróxido de Sódio	132
D.6. Ficha de Segurança do n-Hexano	138
D.7. Ficha de Segurança do Acetonitrilo	143

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - Emissões de CO ₂ intercontinentais entre 1968 e 2015 (BP, 2016)	2
Figura 1.2 - Previsão da evolução do tipo de energia até 2035 (BP, 2016)	2
Figura 1.3 - Utilização de energias renováveis e não renováveis a nível mundial e nos Estados Unidos (Miller, 2009).....	4
Figura 1.4 - A planta do café (Murthy e Naidu, 2012)	5
Figura 1.5 - Diferentes estados de maturação do fruto (Ribolhos, 2012)	5
Figura 1.6 - Estrutura do grão de café (adaptado https://commons.wikimedia.org/wiki/Coffee)	6
Figura 1.7 - Relação entre produção e consumo mundial de café (http://br.investing.com) ...	7
Figura 2.1 - Evolução da produção de bioetanol (RFA, 2016)	11
Figura 2.2 - Esquema da estrutura de uma biomassa lenhocelulósica (Santos <i>et al</i> , 2012) .	12
Figura 2.3 - Estrutura da celulose (Silva, 2016).....	13
Figura 2.4 - Alterações estruturais da biomassa lenhocelulósica mediante aplicação de pré-tratamento (Siqueira, 2015).....	14
Figura 2.5 - Representação esquemática da ação das celulasas na estrutura da celulose ..	18
Figura 3.1 - Distribuição granulométrica da amostra de café por classes	23
Figura 3.2 - Calorímetro <i>Parr 6772</i> utilizado na determinação do poder calorífico superior ..	24
Figura 3.3 - Analisador de COT e módulo de análise de sólidos	25
Figura 3.4 - Digestor <i>Raypa</i> utilizado na determinação do teor de azoto	25
Figura 3.5 - Extrator <i>Soxhlet</i>	26
Figura 3.6 - Sistema de filtração em vácuo.....	27
Figura 3.7 - Aspeto das amostras antes e após o pré-tratamento	29
Figura 3.8 - Acerto de pH após pré-tratamento	29
Figura 3.9 - Banho termostático utilizado na hidrólise enzimática.....	30
Figura 3.10 - Filtração em vácuo das amostras após pré-tratamento e hidrólise e respetivo armazenamento	30
Figura 3.11 - Espectrofotómetro UV-Vis utilizado no método DNS.....	31
Figura 3.12 - Aparelho utilizado no método refratométrico	32
Figura 3.13 - HPLC utilizado na determinação dos açúcares	33
Figura 4.1 - Distribuição granulométrica da borra de café	35
Figura 4.2 - Comparação do teor de humidade obtido neste estudo com os valores da bibliografia.....	36
Figura 4.3 - Comparação do teor de cinzas obtido neste estudo com os valores da bibliografia.....	37
Figura 4.4 - Comparação do PCS obtido neste estudo com os valores da bibliografia	38
Figura 4.5 - Comparação do teor de carbono obtido neste estudo com os valores da bibliografia.....	39
Figura 4.6 - Comparação do teor de azoto obtido neste estudo com os valores da bibliografia	39
Figura 4.7 - Comparação do teor de proteínas obtido neste estudo com os valores da bibliografia.....	40
Figura 4.8 - Comparação do teor de celulose obtido neste estudo com os valores da bibliografia.....	40
Figura 4.9 - Comparação do teor de lenhina Klason obtido neste estudo com os valores da bibliografia.....	41
Figura 4.10 - Comparação do teor de lenhina solúvel obtido neste estudo com os valores da bibliografia.....	41
Figura 4.11 - Comparação do teor de lenhina total determinado neste estudo com os valores da bibliografia.....	41

Figura 4.12 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método DNS para a hidrólise com H ₂ SO ₄	43
Figura 4.13 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método DNS para a hidrólise com HCl.....	43
Figura 4.14 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método DNS para a hidrólise com HNO ₃	44
Figura 4.15 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método DNS para a hidrólise com CH ₃ COOH.....	45
Figura 4.16 – Efeito do tipo de concentração de ácido na concentração da glucose (g/L) determinada pelo método DNS	46
Figura 4.17 - Comparação do rendimento nos diversos ensaios, obtido através do método DNS	47
Figura 4.18 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método refratométrico para o pré-tratamento com H ₂ SO ₄	48
Figura 4.19 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método refratométrico para o pré-tratamento com HCl	48
Figura 4.20 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método refratométrico para o pré-tratamento com HNO ₃	49
Figura 4.21 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método refratométrico para o pré-tratamento com CH ₃ COOH	49
Figura 4.22 - Comparação da concentração da glucose (g/L) obtida pelo método refratométrico, para cada um dos ensaios de pré-tratamento.....	50
Figura 4.23 - Comparação do rendimento obtido nos diversos ensaios, através do método refratométrico	51
Figura 4.24 - Concentração (g/L) de xilose, arabinose e glucose obtidas pelo método HPLC	52
Figura 4.25 - Rendimento obtido no método HPLC para a xilose, arabinose e glucose utilizando H ₂ SO ₄ e HNO ₃ a 3 e 5%, e para a borra sem pré-tratamento	53

Anexo A

Figura A.1 - Bomba calorimétrica	69
Figura A.2 - Rotavapor	75
Figura A.3 - Condensador de refluxo.....	76
Figura A.4 - Aspeto da amostra após calcinação.....	77
Figura A.5 - Resíduo obtido após filtração.....	79
Figura A.6 - Evolução da cor ao longo da ebulição devido à redução do DNS	81

Anexo B

Figura B.1 - Curva de calibração da glucose aplicada no método DNS.....	91
Figura B.2 - Curva de calibração da glucose aplicada no método refratométrico com leituras de °Brix corrigidas para 20 °C.....	96
Figura B.3 - Curva de calibração da glucose aplicada no método HPLC	103
Figura B.4 - Curva de calibração da xilose aplicada no método HPLC	103
Figura B.5 - Curva de calibração da arabinose aplicada no método HPLC.....	104

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1 - Composição da semente de café verde, semente de café torrada e resíduo de café (%) (Magalhães, 2014)	8
Tabela 1.2 - Teor de açúcares redutores na borra de café (Silva, 2011)	8
Tabela 2.1 - Efeito dos diferentes pré-tratamentos na biomassa lenhocelulósica (Santos <i>et al</i> , 2012)	15
Tabela 3.1 - Condições operatórias do pré-tratamento.....	28
Tabela 3.2 - Principais características da enzima <i>Viscozyme L</i> , de acordo com fornecedor Novozymes	30
Tabela 4.1 - Resultados experimentais obtidos na caracterização química da borra de café	36

Anexo B

Tabela B.1 - Determinação da análise granulométrica	85
Tabela B.2 - Determinação do teor de humidade	85
Tabela B.3 - Determinação do teor de cinzas.....	86
Tabela B.4 - Determinação do poder calorífico superior	86
Tabela B.5 - Determinação do teor de carbono total	86
Tabela B.6 - Determinação do teor de carbono inorgânico.....	87
Tabela B.7 - Determinação do carbono orgânico total.....	87
Tabela B.8 - Determinação do teor de azoto	87
Tabela B.9 - Determinação do teor de proteínas	88
Tabela B.10 - Determinação do teor de matéria gorda	88
Tabela B.11 - Determinação do teor de celulose bruta.....	88
Tabela B.12 - Determinação de Lenhina de Klason.....	89
Tabela B.13 - Determinação da Lenhina Solúvel.....	89
Tabela B.14 - Resultados experimentais obtidos no método DNS referentes à massa de glucose e respetivo rendimento utilizando a borra de café sem pré-tratamento ácido, com fator de diluição de 10	92
Tabela B.15 - Resultados experimentais obtidos no método DNS referentes à massa de glucose e respetivo rendimento utilizando o H ₂ SO ₄ no pré-tratamento, com fator de diluição de 100	92
Tabela B.16 - Resultados experimentais obtidos no método DNS referentes à massa de glucose e respetivo rendimento utilizando o HCl no pré-tratamento, com fator de diluição de 50.....	93
Tabela B.17 - Resultados experimentais obtidos no método DNS referentes à massa de glucose e respetivo rendimento utilizando o HNO ₃ no pré-tratamento, com fator de diluição de 50	94
Tabela B.18 - Resultados experimentais obtidos no método DNS referentes à massa de glucose e respetivo rendimento utilizando o CH ₃ COOH no pré-tratamento, com fator de diluição de 10	95
Tabela B.19 - Correção de leituras °Brix em função de temperaturas de banho superiores a 20 °C	96
Tabela B.20 - Interpolação linear realizada para correção de leituras °Brix em função de temperaturas de banho superiores a 20 °C	97
Tabela B.21 - Valores do °Brix lido para as concentrações de ácidos, à temperatura de banho de 22,1 °C	98
Tabela B.22 - Resultados obtidos no método refratométrico para a massa de glucose e respetivo rendimento utilizando a borra de café sem pré-tratamento ácido	98
Tabela B.23 - Resultados obtidos no método refratométrico para a massa de glucose e respetivo rendimento utilizando o H ₂ SO ₄ no pré-tratamento	99

Tabela B.24 - Resultados obtidos no método refratométrico para a massa de glucose e respectivo rendimento utilizando o HCl no pré-tratamento	100
Tabela B.25 - Resultados obtidos no método refratométrico para a massa de glucose e respectivo rendimento utilizando o HNO ₃ no pré-tratamento	101
Tabela B.26 - Resultados obtidos no método refratométrico para a massa de glucose e respectivo rendimento utilizando o CH ₃ COOH no pré-tratamento	102
Tabela B.27 – Resultados obtidos para a concentração de açúcares, no método HPLC, após pré-tratamento com H ₂ SO ₄ (3 e 5%), HNO ₃ (3 e 5%) e para a borra sem pré-tratamento...	105
Tabela B.28 – Rendimento obtido para os açúcares, no método HPLC, após pré-tratamento com H ₂ SO ₄ (3 e 5%), HNO ₃ (3 e 5%) e para a borra, sem pré-tratamento.....	106

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

LISTA DE ABREVIATURAS

% m/m – Percentagem massa por massa

% v/v – Percentagem volume por volume

$A_{205\text{nm}}$ – Absorvância lida no espectrofotômetro UV-VIS para um comprimento de onda de 205 nm

C_{glucose} – Concentração de glucose (g/L)

F – Fator de correção

f – Fator de diluição

G – Teor de matéria gorda (%)

GEE – Gases de efeitos de estufa

H – Teor de Humidade (%)

m_1 – Massa de borra café seca (g)

m_2 – Massa de borra café calcinada (g)

$m_{\text{ácido}}$ – Massa de ácido benzóico (g)

m_{amostra} – Massa de amostra de borra de café (g)

$m_{\text{amostra seca}}$ – Massa de amostra de borra de café seca a 105 °C (g)

$m_{\text{café retido}}$ – Massa de amostra de borra de café retida em cada peneiro (g)

$m_{\text{café total final}}$ – Massa total de borra de café retida nos peneiros (g)

m_{cinzas} – Massa de cinzas (g)

m_{final} – Massa final (g)

m_{glucose} – Massa de glucose (g)

m_{lenhina} – Massa de lenhina (g)

MM_N – Massa molar do azoto (g/mol)

$m_{\text{óleo}}$ – Massa de óleo (g)

N_{Kjeldahl} – Teor de Azoto ($\text{g}_N/100\text{g}_{\text{amostra}}$)

$PCS_{\text{ácido}}$ – Poder calorífico superior do ácido benzóico (cal/g)

PCS_{amostra} – Poder calorífico superior da amostra de borra de café (cal/g)

PCS_{final} – Poder calorífico superior final (cal/g)

V_A – Volume de HCl gasto na titulação da amostra (mL)

V_B – Volume de HCl gasto na titulação do branco (mL)

V_{filtrado} – Volume de filtrado (mL)

LISTA DE SIGLAS

CH_3COOH – Ácido Acético

CI – Carbono Inorgânico

CO₂ – Dióxido de Carbono

COT – Carbono Orgânico Total

CT – Carbono Total

DNS – Solução de ácido 3,5-dinitrosalicílico e sal de Rochelle

g – grama

H₂SO₄ – Ácido Sulfúrico

HCl – Ácido Clorídrico

HNO₃ – Ácido Nítrico

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

L – Litro

min – minuto

mL – mililitro

N – Normalidade

NaOH – Hidróxido de Sódio

NH₃ – Amoníaco

nm – nanómetro

PCS – Poder Calorífico Superior

PMMA – Polimetilmetacrilato (acrílico)

rpm – Rotações por minuto

UV – Ultra Violeta

Vis – Visível

µm – micrómetro

LISTA DE LETRAS GREGAS

ε – Fator de conversão igual a 110 dm³/g·cm

λ – Comprimento de onda (nm)

η – Rendimento da reação (%)

1. INTRODUÇÃO

A qualidade de vida das sociedades industrializadas melhorou consideravelmente após a primeira revolução industrial devido a uma maior acessibilidade à energia e a bens primários, originando uma aceleração do crescimento da população e da economia, que se intensificou a partir da Segunda Guerra Mundial (Santos, 2009a).

Esta dependência energética redobrou a utilização de combustíveis, em especial os de origem fóssil: petróleo, carvão mineral e gás natural. De acordo com dados da Agência Internacional de Energia (IEA), aproximadamente 87% de todo o combustível consumido no mundo é de origem fóssil, ou seja, não renovável. Estes combustíveis, formados de compostos de carbono, são o resultado de um longo processo de decomposição da matéria orgânica (depósitos fósseis, florestas soterradas, etc.), que ficam submetidos a condições com pouco oxigênio, pressão da terra e elevadas temperaturas. Após serem processadas adequadamente para determinada utilização, essas fontes energéticas podem ser utilizadas na produção de combustíveis (gasolina e diesel), lubrificantes, energia elétrica, aquecimento de caldeiras e fornos, entre outros.

A dependência destes combustíveis levará a um previsível esgotamento das fontes de energia fóssil causando globalmente alterações climáticas principalmente devido à emissão de gases poluentes como CO_x, NO_x, SO_x, C_xH_x, cinzas, entre outros compostos orgânicos, que são emitidos para a atmosfera como resultado da sua combustão (Das e Veziroğlu, 2001).

A principal causa do aquecimento global são as emissões de gases de efeito de estufa (GEE) e é nesse sentido que surge o Protocolo de Quioto, em 1997, que incentiva os países signatários a cooperarem entre si, por forma a cumprir a meta da redução global da quantidade de GEE libertados para a atmosfera. Ficou acordado, para o período compreendido entre 2013 e 2020, a redução em, pelo menos, 20% das emissões de GEE, face aos níveis de 1990, sendo esta percentagem variável entre os países signatários (EEA, 2016). A Figura 1.1 1.1 representa as emissões de CO₂ por parte dos principais continentes emissores entre 1968 e 2015. Os Estados Unidos e a Rússia foram os países que apresentaram um maior declínio (2,6 e 4,2%) nas emissões de CO₂, seguidos da Ucrânia e Japão, que desde 2014 têm vindo a diminuir estes níveis. A China, pela primeira vez desde 1998, diminuiu as suas emissões em 0,1%. Contrariamente a estes declínios por parte de alguns países, verifica-se um aumento das emissões por parte da Índia, com aumentos de 5,3%. Por outro lado, na União Europeia, as emissões aumentaram pela primeira vez desde 2010 sendo a Espanha e a Itália os principais contribuidores com 6,8 e 5,1%, respectivamente (BP, 2016).

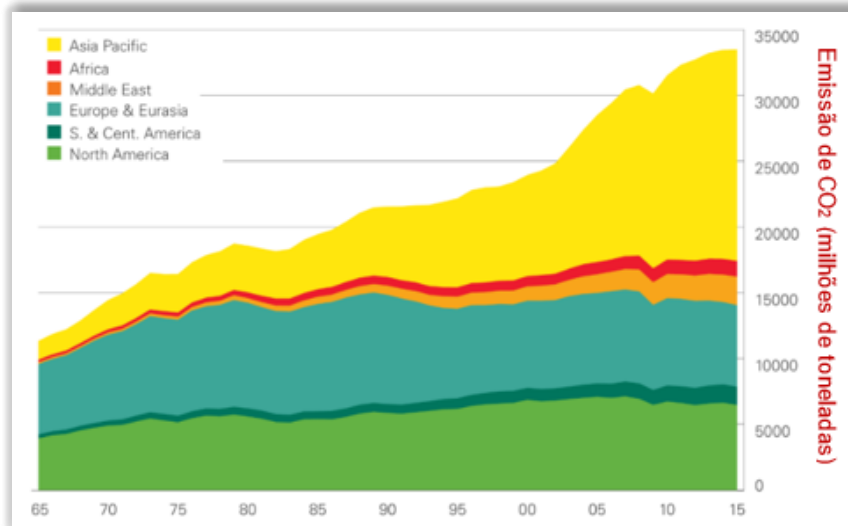


Figura 1.1 - Emissões de CO₂ intercontinentais entre 1968 e 2015 (BP, 2016)

Assim, começa a haver uma forte tendência, a nível mundial, para os países diminuírem a sua dependência do petróleo, tendência essa motivada pela necessidade de controlar as emissões de CO₂ para a atmosfera (Santos, 2009a) sendo que, a utilização de biocombustíveis, passa a ser uma opção nesse sentido. A Figura 1.2 ilustra a evolução e previsão do consumo das várias fontes de energia de acordo com a BP Global.

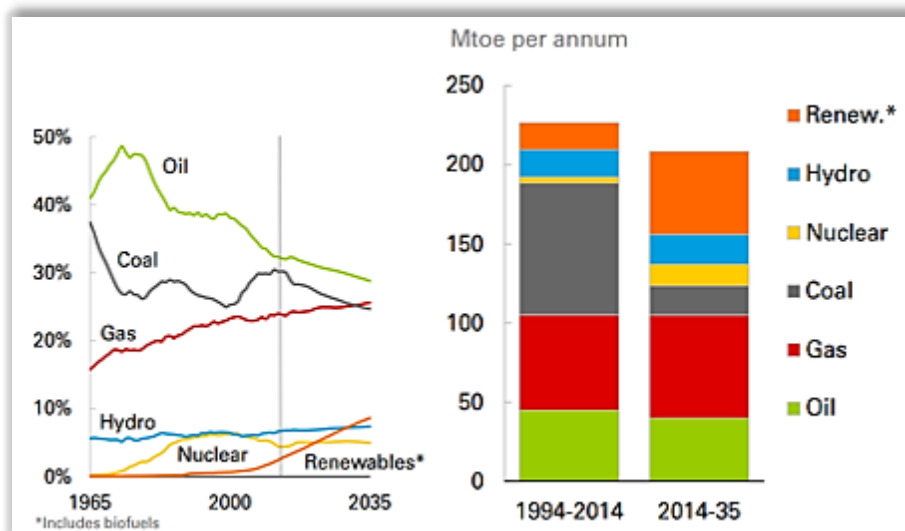


Figura 1.2 - Previsão da evolução do tipo de energia até 2035 (BP, 2016)

De acordo com esta fonte é expectável um decréscimo contínuo do consumo do petróleo face a um aumento das energias renováveis, que incluem os biocombustíveis.

1.1. Biocombustíveis

Conforme a definição da Diretiva Europeia 2009/28/CE, “*biocombustível é o combustível líquido ou gasoso para transportes produzido a partir de biomassa, que se entende como sendo a fração biodegradável de produtos e resíduos provenientes da agricultura (incluindo substâncias vegetais e animais), da silvicultura e das indústrias conexas, bem como a fração biodegradável dos resíduos industriais e urbanos*”.

Os biocombustíveis podem ser divididos em três grandes grupos, dependendo das matérias-primas da qual são obtidos. Os de primeira geração produzem-se a partir da fermentação de hidratos de carbono sólidos nomeadamente, amido de milho, açúcar de beterraba ou de cana, óleos vegetais e sementes. Os de segunda geração são produzidos a partir de biomassa rica em matéria lenhocelulósica (como por exemplo resíduos de madeira, fração orgânica dos resíduos urbanos), não só pela sua queima direta, mas também por fermentação, enquanto os de terceira geração se obtêm através de novas tecnologias que utilizam algas (Demirbas, 2009).

Existem vários tipos de biocombustíveis como é o caso do biodiesel, biogás e bioetanol, sendo que este trabalho irá centrar-se unicamente neste último biocombustível.

1.2. Biomassa

Os biocombustíveis produzidos através da biomassa têm recebido considerável interesse nos últimos anos, como substitutos dos combustíveis fósseis (Demirbas, 2011). A energia proveniente da biomassa é uma energia renovável, ou seja, pode ser adquirida em curto espaço de tempo em comparação com o tempo de formação do petróleo. A sua decomposição liberta CO_2 para a atmosfera, que, durante o seu ciclo, é transformado em hidratos de carbono, através da fotossíntese realizada pelas plantas. Desta forma os biocombustíveis produzidos a partir da biomassa poderão abrandar o aquecimento global, pois a emissão de CO_2 produzido durante a queima consome-se no processo de fotossíntese, evitando desta forma a sua acumulação na atmosfera (Naik *et al*, 2010). No gráfico da Figura 1.3 confirma-se que a utilização de energias de fontes não renováveis ainda predomina substancialmente sobre as renováveis e que a percentagem de utilização de biomassa ainda é muito reduzida.

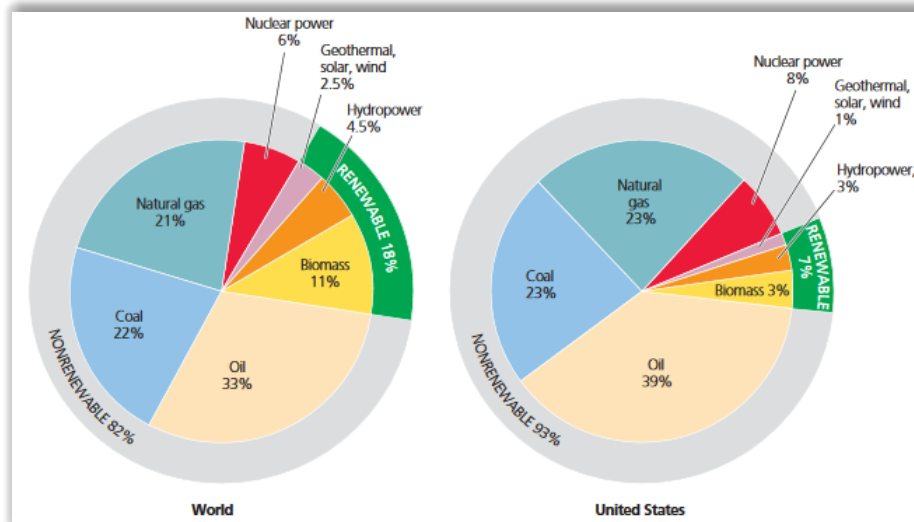


Figura 1.3 - Utilização de energias renováveis e não renováveis a nível mundial e nos Estados Unidos (Miller, 2009)

1.2.1. O Café

O café é uma bebida produzida a partir dos grãos do fruto do Cafeeiro, planta pertencente à família botânica Rubiaceae, com cerca de 500 géneros e mais de 6000 espécies (Conti *et al*, 2013), sendo as espécies mais comercializadas a arábica e a robusta.

Existem várias lendas sobre o aparecimento do café, embora a mais difundida esteja relacionada com um pastor de cabras, de nome Kaldi, que se apercebeu da excitação dos animais quando comiam as folhas e frutos do cafeeiro. Um monge da região, informado sobre o facto, começou a beber infusão deste fruto, o qual, graças a ele, ficava mais desperto durante os ofícios religiosos realizados à noite (Ribolhos, 2012).

O café arábica, descendente da Etiópia, caracteriza-se por um sabor suave e aromático, e constitui cerca de 70% da produção mundial, sendo os grãos considerados nobres devido à excelente qualidade da bebida (Conti *et al*, 2013). Em contrapartida a espécie robusta possui um sabor mais amargo com cerca de 50% mais de cafeína do que a espécie arábica, representando 30% da produção mundial. Esta espécie desenvolve-se sobretudo no sudeste asiático e no Brasil (AICC, 2015).

Existem vários fatores que condicionam o sabor dos grãos, nomeadamente, a terra, o clima, a altitude e as plantas vizinhas. O cafeeiro (Figura 1.4), apesar de crescer em todo o mundo, apresenta um maior desenvolvimento em locais frios e húmidos, situados em altitudes mais elevadas dos trópicos e subtropicais e geralmente começa a dar frutos cerca de 3 a 4 anos após a sua plantação (AICC, 2015).



Figura 1.4 - A planta do café (Murthy e Naidu, 2012)

Inicialmente o fruto apresenta uma cor verde e atinge o tamanho máximo nos 4-6 meses subsequentes à fecundação. Durante os dois ou mais meses seguintes, atinge a maturação e, embora esta possa ser diversificada, o fruto estará pronto a ser colhido quando atinge uma cor vermelha (Figura 1.5), cerca de 6-9 ou 10-11 meses depois (Ribolhos, 2012).



Figura 1.5 - Diferentes estados de maturação do fruto (Ribolhos, 2012)

O fruto do cafeeiro, também conhecido como café baga ou café cereja, é constituído por uma casca lisa (pericarpo) que cobre uma polpa (mesocarpo), tenra, amarela, fibrosa e doce. Esta reveste uma camada de pectina, transparente, incolor, fina, viscosa e bastante hidratada (mucilagem) que cobre um endocarpo fino e amarelado (pergaminho). Por fim, uma membrana (tegumento) cobre cada hemisfério do endosperma, conhecido como grão de café (Cardoso, 2013). A qualidade dos grãos é avaliada com base no seu odor, tamanho, forma, cor e a presença de defeitos (Mussatto *et al*, 2011b). A Figura 1.6 ilustra a constituição do grão de café.

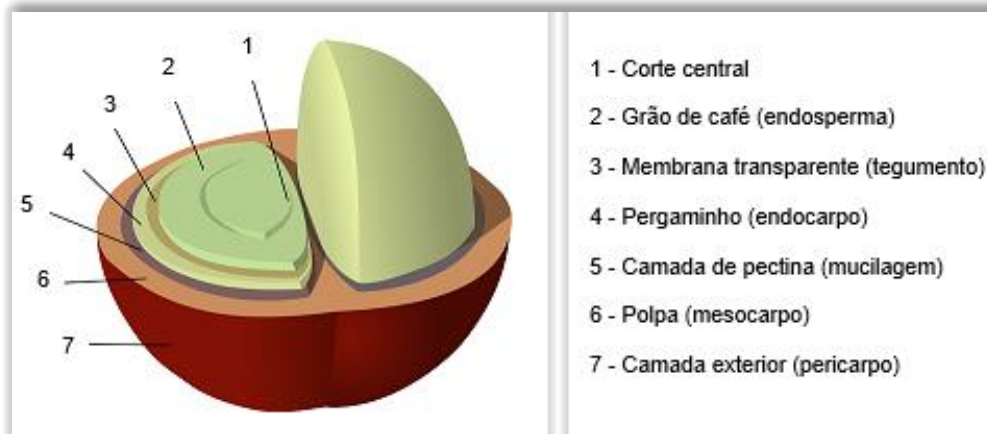


Figura 1.6 - Estrutura do grão de café (adaptado <https://commons.wikimedia.org/wiki/Coffee>)

No cafeeiro arábica, a polpa e o pergaminho separam-se muito facilmente enquanto que no robusta possuem mais aderência. Outra diferença que é tomada em consideração durante a colheita e tecnologia pós colheita, está relacionada com os seus frutos. Na espécie arábica os frutos do cafeeiro desprendem-se dos ramos após a maturação, contrariamente à robusta, cujos frutos podem permanecer nos ramos até secarem (Ribolhos, 2012).

Os frutos do cafeeiro, devido aos diferentes graus de maturação no mesmo arbusto, são normalmente colhidos à mão e a separação do grão é realizada por dois processos distintos: por via seca ou por via húmida. O primeiro método, aplicado usualmente à espécie Robusta, é tecnologicamente mais simples e menos dispendioso pois o fruto é seco com casca. Por outro lado, o processamento por a via húmida exige um maior investimento, dado que o fruto é primeiramente lavado e despulpado de seguida e, para eliminar a mucilagem restante, é sujeito a uma fermentação. Este método é aplicado geralmente à espécie Arábica. Antes de serem consumidos, os grãos de café são sujeitos a um processo de torra que afeta as suas propriedades organolépticas, nomeadamente o sabor, o aroma e a cor, dependendo do tempo e temperatura de torra aplicado (Mussatto *et al*, 2011b). Este processo origina alterações químicas e físicas nos grãos tendo como consequência uma diminuição dos teores de cafeína, ácidos clorogênicos, proteínas, aminoácidos e hidratos de carbono (Cardoso, 2013) e a formação de compostos orgânicos resultantes da pirólise. Além das reações químicas ocorrem variações de cor, volume, massa, forma, pH e geração de CO₂. Após a torra, os grãos devem ser arrefecidos (Mussatto *et al*, 2011b) e por fim embalados.

Os constituintes químicos dos grãos assim como o grau de torra influenciam a qualidade do café. O sabor e o aroma característico da bebida dependem dos compostos nitrogenados (proteínas, cafeína, trigonelina), carboidratos, lípidos e compostos fenólicos que se encontram presentes no endosperma da semente (Conti *et al*, 2013).

O café, bebida escura, aromática e não alcoólica tornou-se o segundo produto mais comercializado no mundo, logo atrás do petróleo (Mussatto *et al*, 2011b). A Figura 1.7

representa a relação entre a produção e consumo mundial de café, onde é notória a sua gradual utilização.

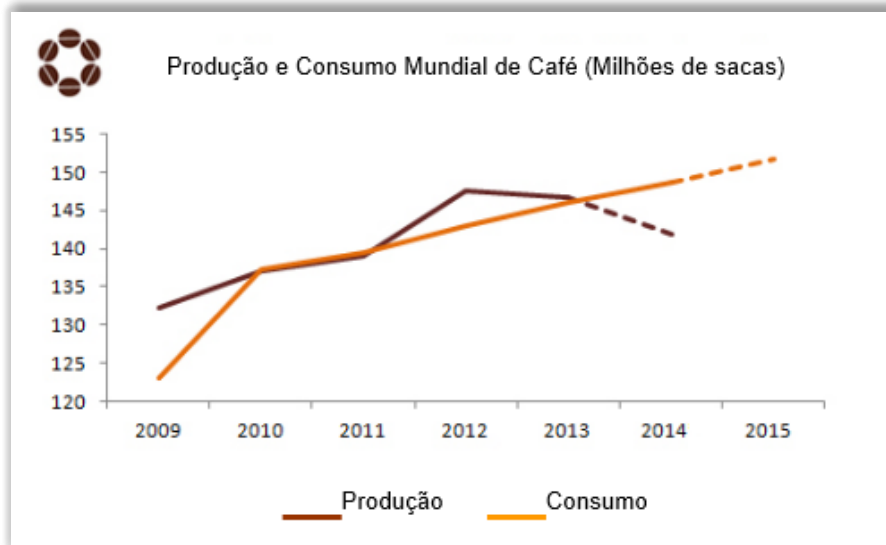


Figura 1.7 - Relação entre produção e consumo mundial de café (<http://br.investing.com>)

Cerca de um terço da população mundial consome café, gerando um resíduo conhecido como “borra de café”, equivalente ao termo “*spent coffee ground*” (SCG) no idioma inglês (Cardoso, 2013).

1.2.2. Borra de café

O café expresso é uma bebida preparada para consumo imediato e sendo uma das bebidas mais consumidas no mundo, origina um crescente aumento de resíduos de baixo valor. Estima-se que, para cada tonelada de café verde processado sejam gerados 650 kg de borra de café e por cada quilo de café solúvel produzido, sejam produzidos 2 kg desse mesmo resíduo (Murthy e Naidu, 2012). A borra de café, originada pelo contacto de água quente pressurizada para extração de materiais solúveis, constitui um dos resíduos de maior relevância na indústria cafeeira, podendo atingir uma proporção de 6 milhões de toneladas anuais. A crescente preocupação com vista à redução da poluição subjacente às atividades industriais torna-se cada vez mais emergente, por conseguinte a valorização dos resíduos de café tem despertado cada vez mais interesse, tanto a nível ambiental, como político e social. Apesar da realização de vários estudos para o seu reaproveitamento, nenhum se encontra implementado e a maior parte destes resíduos continua a ser descartada no meio ambiente, originando a sua contaminação e poluição devido à sua natureza tóxica (Mussatto *et al*, 2011a) e apenas uma pequena fração é destinada à fertilização ou a alimentação animal (Cardoso, 2013).

O potencial da aplicação da borra de café em diferentes produtos e processos tem sido estudado nas últimas décadas por vários autores, nomeadamente na alimentação animal, na

extração de açúcares, na compostagem, extração de líquidos, produção de compostos com atividade antioxidante, produção de biodiesel, bioetanol, entre outros (Cardoso, 2013).

O resíduo de café é constituído maioritariamente por polissacarídeos, conforme se constata na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 - Composição da semente de café verde, semente de café torrada e resíduo de café (%) (Magalhães, 2014)

Constituinte	Café verde	Grão de café torrado	Resíduo café
Polissacarídeos	50 - 55	24 - 39	65,9
Óleo de café	12 - 18	14,5 - 20	11 - 20
Ácidos clorogénicos	5,5 - 8,0	1,2 - 2,3	0,212 - 0,766
Proteínas	11 - 13	13 - 15	≈15
Cafeína	0,9 - 1,2	≈1	≈0,0225
Melanoidinas	n.d	16 - 17	

Os açúcares, também são designados por hidratos de carbono, são compostos orgânicos com fórmula geral $C_n(H_2O)_n$, onde n representa um número inteiro, e podem dividir-se em dois grupos, os redutores e não redutores.

Os açúcares redutores, pelo facto de possuírem na sua estrutura grupos aldeídos e cetonas livres, podem sofrer oxidação, ou seja, perder eletrões. Por outro lado, os não redutores, como por exemplo a sacarose, possuem esses grupos interligados por uma ligação glicosídica e, podem tornar-se redutores, se essa ligação for quebrada através uma hidrólise ácida. Os açúcares mais simples são designados por monossacarídeos, entre os quais fazem parte a glucose, a galactose, a xilose e a arabinose. A composição em alguns açúcares redutores que podem ser encontrados na borra de café está detalhada na Tabela 1.2.

Tabela 1.2 - Teor de açúcares redutores na borra de café (Silva, 2011)

Açúcares redutores	Teor na borra (%)
Glucose	11 - 19
Arabinose	3,8 - 6
Galactose	26 - 30,4
Manose	46,8 - 57

A riqueza da borra de café como fonte de açúcares e outros compostos poderá ser promissora na obtenção de produtos, como por exemplo o bioetanol, através da sua fermentação (Mussatto *et al*, 2011a).

1.3. Objetivos

O previsível esgotamento das reservas naturais de combustíveis fósseis constitui uma preocupação crescente a nível económico e social, tal como referido anteriormente. Por conseguinte, torna-se necessário encontrar alternativas sustentáveis para a produção de combustíveis a partir de outro tipo de matéria-prima, como por exemplo, a biomassa lenhocelulósica. A presente dissertação assenta neste propósito, em que se pretende avaliar a potencialidade de um resíduo de baixo valor, cujo destino muitas vezes é o aterro - a borra de café - para a produção de biocombustível, como é o caso do bioetanol.

Assim, para atingir o objetivo proposto seguiu-se a seguinte metodologia:

- Caracterização física/química da biomassa, a borra de café;
- Aplicação de um pré-tratamento ácido à borra de café, empregando diferentes ácidos com concentrações distintas;
- Realização de hidrólise enzimática utilizando apenas uma enzima;
- Quantificação dos açúcares formados, após hidrólise enzimática por três métodos distintos.

1.4. Estrutura da Dissertação

Este trabalho encontra-se organizado em 5 capítulos, que retratam o estudo realizado.

No primeiro capítulo aborda-se as consequências adjacentes à crescente utilização de combustíveis fósseis e realçam-se os benefícios resultantes da sua substituição pelos biocombustíveis, comparando-se a utilização de energias renováveis a nível mundial em relação às não renováveis. É também abordada a biomassa utilizada – a borra de café- no que concerne à sua origem, processo produtivo e constituição química.

No segundo capítulo apresenta-se uma revisão bibliográfica do estado da arte, focando a utilização da biomassa lenhocelulósica na produção de biocombustíveis - no caso concreto, do bioetanol - e as principais etapas para o seu fabrico.

No terceiro capítulo é exposto o trabalho experimental realizado, que inclui os procedimentos adotados na caracterização da borra de café, assim como uma descrição dos métodos utilizados para a quantificação de açúcares formados, após aplicação do pré-tratamento e hidrólise enzimática.

O quarto capítulo reflete os resultados experimentais obtidos e a sua discussão, respeitante à caracterização físico/química da borra de café e determinação dos açúcares formados, após aplicação do pré-tratamento seguido de hidrólise enzimática.

No último capítulo, o quinto, são apresentadas as principais conclusões retiradas no decorrer deste trabalho, assim como sugestões, atendendo às condicionantes e limitações encontradas, para trabalhos futuros.

Em anexo, expõe-se detalhadamente as normas e procedimentos adotados ao longo deste trabalho, os resultados experimentais obtidos, exemplos de cálculo e fichas de segurança dos principais reagentes utilizados para a concretização do mesmo.

2. ESTADO DE ARTE

2.1. Bioetanol

O aumento do preço do petróleo e o previsível esgotamento das suas reservas naturais tem motivado o interesse por parte de muitos países na criação de alternativas que permitam a substituição da gasolina por biocombustíveis. Além destes motivos, existe uma preocupação a nível ambiental, no que concerne a redução de emissão dos GEE de modo a cumprir os requisitos impostos pelo Protocolo de Quioto (Mussatto *et al*, 2010). A Figura 2.1 ilustra a evolução da produção de um biocombustível, o bioetanol, em alguns países e regiões, na qual é possível verificar que os Estados Unidos, no período de cerca de 8 anos, praticamente duplicaram a sua produção.

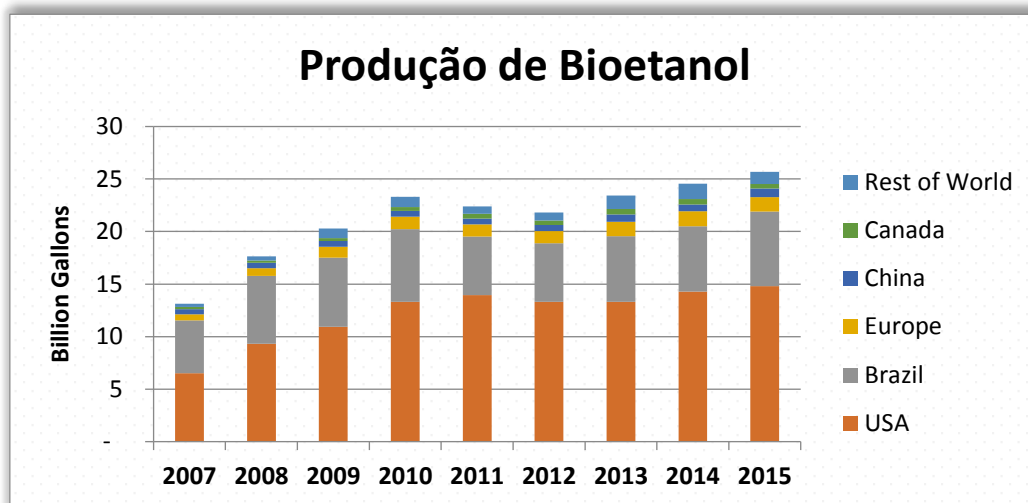


Figura 2.1 - Evolução da produção de bioetanol (RFA, 2016)

O etanol poderá ser utilizado diretamente como combustível, em motores especificamente concebidos para esse efeito, ou misturado com a gasolina (Demirbas, 2009).

Comparativamente à gasolina, o bioetanol, quando utilizado em motores de combustão interna, apresenta algumas vantagens. Dado que possui um índice de octanas superior e um maior calor de vaporização, a sua utilização é mais eficiente, pois a taxa de compressão é mais elevada e o tempo de queima é menor. Todavia, a baixa pressão de vapor origina dificuldade no arranque, além de que, possui uma densidade energética inferior à gasolina, o que se traduz numa desvantagem em relação a sua utilização (Balat *et al*, 2008).

Contrariamente à gasolina, o etanol é um combustível oxigenado e, por conseguinte, a sua combustão é mais eficiente, o que se traduz numa diminuição da emissão de partículas para a atmosfera e consequentemente uma redução do efeito de estufa (Demirbas, 2009).

O bioetanol poderá ser produzido a partir da fermentação de produtos compostos por açúcares simples (cana-de-açúcar, beterraba sacarina, sorgo, soro de leite e melaço), por

amido (milho, trigo, tubérculos como a mandioca) ou utilizando biomassa lenhocelulósica (madeira, palha, resíduos agrícolas) (Mussatto *et al*, 2010).

O bioetanol de primeira geração é obtido através de matéria-prima como açúcar, amido (Demirbas, 2009) ou seja, produtos pertencentes à cadeia alimentar, o que poderá levantar questões problemáticas quanto ao impacto na biodiversidade, aumento da desflorestação, competição com a alimentação humana e consequente aumento de preço dos produtos alimentares (IEA, 2008).

Tendo em conta a preocupação com a diminuição dos impactos negativos supracitados, surge a necessidade de encontrar uma alternativa sustentável para a produção do bioetanol, surgindo desta forma o bioetanol de 2ª geração, relativamente ao qual se tem dado grande relevância aos materiais lenhocelulósicos, que abordaremos adiante (IEA, 2008).

2.2. Biomassa lenhocelulósica

O bioetanol de segunda geração, tal como referenciado anteriormente, poderá ser produzido a partir de materiais lenhocelulósicos. A biomassa lenhocelulósica é constituída por 3 frações principais (Figura 2.2): a celulose (20 a 60%) a hemicelulose (20-40%) e a lenhina (10-25%) (Hamelinck *et al*, 2005).

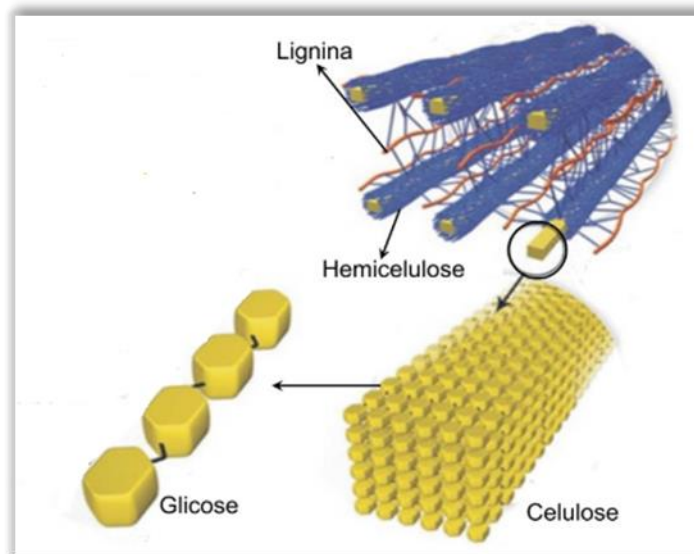


Figura 2.2 - Esquema da estrutura de uma biomassa lenhocelulósica (Santos *et al*, 2012)

2.2.1. Celulose

A celulose (Figura 2.3) é constituída por longas cadeias lineares de moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas β -1,4 com grande propensão para formar ligações de hidrogénio intra e intermoleculares, resultando desta forma uma estrutura extremamente organizada (cristalina), designada de microfibrilas, que alternam com zonas mais desordenadas e por conseguinte amorfas (Jørgensen *et al*, 2007).

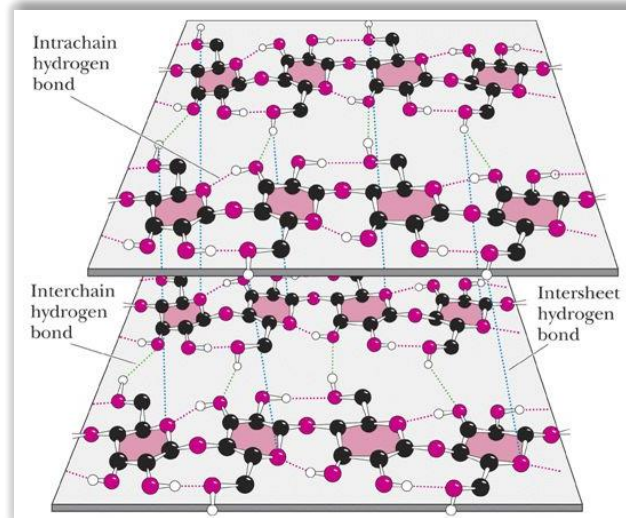


Figura 2.3 - Estrutura da celulose (Silva, 2016)

A celulose apresenta uma elevada resistência a tração devido à sua estrutura fibrosa e às fortes ligações de hidrogênio (Jørgensen *et al*, 2007), é insolúvel na maior parte dos solventes e pouco suscetível à hidrólise enzimática e ácida (Balat e Balat, 2009). Todavia, dado que pode conter uma pequena fração de celulose amorfa, esta é mais suscetível à hidrólise enzimática (Kumar *et al*, 2009).

2.2.2. Hemicelulose

A hemicelulose encontra-se intercalada com as microfibrilas de celulose conferindo-lhe elasticidade e impedindo que elas se toquem.

Contrariamente à celulose, as hemiceluloses são compostas por heteropolímeros ramificados, contendo resíduos de vários açúcares (Zaldivar *et al*, 2001) nomeadamente, pentoses (xilose, arabinose) hexoses (glucose, manose, galactose) e ácidos urónicos (Kumar *et al*, 2009) e, devido à sua estrutura ramificada e amorfa comparativamente à celulose, são mais fáceis de hidrolisar (Hamelinck *et al*, 2005).

2.2.3. Lenhina

A lenhina encontra-se presente na parede celular das plantas e tem como principal função conferir rigidez, impermeabilidade e resistência a ataques microbiológicos (Kumar *et al*, 2009). É o polímero aromático mais abundante da natureza, constituído por uma macromolécula de carácter fenólico (Zaldivar *et al*, 2001) e encontra-se presente em toda a biomassa lenhocelulósica, funcionando como material aglomerante que mantém unidas as fibras de celulose e, como tal, na produção de bioetanol poder-se-á encontrar resíduos da mesma, dada a sua difícil remoção (Hamelinck *et al*, 2005).

2.3. Processo para obtenção de bioetanol

O processo para a produção de bioetanol, a partir da biomassa lenhocelulósica, compreende:

- 1) Pré-tratamento, que proporciona um aumento da acessibilidade à celulose e hemiceluloses nos tratamentos subsequentes;
- 2) Hidrólise ácida ou enzimática, que tem como objetivo transformar os polissacarídeos em açúcares simples;
- 3) Fermentação dos açúcares (hexoses e pentoses), utilizando para o efeito microrganismos, originando o bioetanol;
- 4) Separação e concentração do etanol produzido (Mussatto *et al*, 2010).

2.3.1. Pré-tratamentos

A conversão da biomassa lenhocelulósica a bioetanol é complexa, devido à sua morfologia e características químicas, tal como descrito anteriormente. Por conseguinte, torna-se necessário realizar um pré-tratamento deste tipo de biomassa (Sun e Cheng, 2002).

Para que o pré-tratamento tenha êxito, deverá promover a formação dos açúcares ou auxiliar a sua formação na hidrólise subsequente, evitar a perda ou degradação dos açúcares formados, impedir a formação de subprodutos inibidores à hidrólise e à fermentação e minimizar o custo operacional e energético (Gupta e Verma, 2015). Dado que os materiais lenhocelulósicos são constituídos por fibras de celulose envolvidas numa matriz de hemicelulose e lenhina que age como uma barreira natural, tornando-os estruturalmente rígidos e pouco reativos. O objetivo do pré-tratamento consiste em quebrar a estrutura da lenhina e reduzir a cristalinidade da celulose, aumentando a área superficial e acessibilidade das enzimas na hidrólise posterior, conforme representado na Figura 2.4 (Alvira *et al*, 2010).

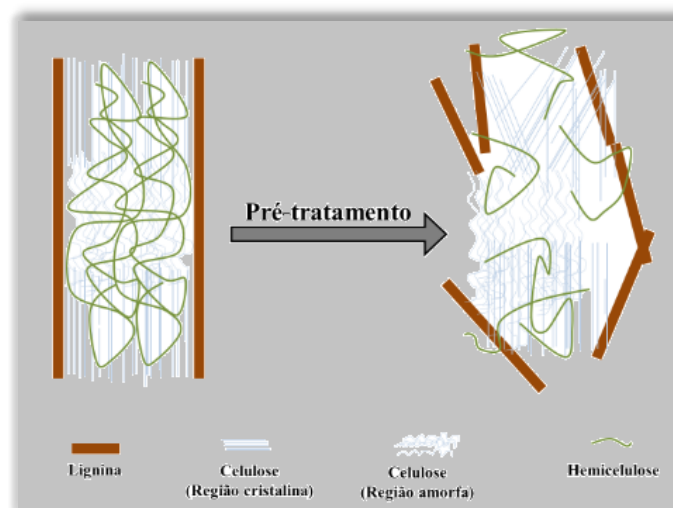


Figura 2.4 - Alterações estruturais da biomassa lenhocelulósica mediante aplicação de pré-tratamento (Siqueira, 2015)

Os pré-tratamentos podem ser classificados como físicos, químicos, biológicos e físico-químicos (Sun e Cheng, 2002). Na Tabela 2.1 apresentam-se os pré-tratamentos existentes e seus efeitos na composição da biomassa lenhocelulósica assim como as vantagens e desvantagens de cada um.

Tabela 1.1 - Efeito dos diferentes pré-tratamentos na biomassa lenhocelulósica (Santos *et al*, 2012)

Pré-tratamento		Características composicionais			Vantagens	Desvantagens
		Celulose	Hemicelulose	Lenhina		
Físico	Moinho de bolas	Intensiva diminuição do grau de cristalinidade	Não remove	Não remove	Redução de cristalinidade	Alto consumo de energia
Químico	Ácido diluído	Pouca despolimerização	80-100% de remoção	Pouca remoção, mas ocorre mudança da estrutura	Condições médias, alta produção de xilose	Difícil recuperação do ácido, corrosivo e relativamente custoso
	Hidróxido de sódio	Inchação significativa	Considerável solubilidade	Considerável solubilização, >50%	Remoção efetiva de ésteres	Reagente caro, recuperação alcalina
	ARP	Menor que 5% de despolimerização	- 50% de solubilidade	- 70% de solubilização	Efetiva deslignificação	Recuperação alcalina, relativamente caro
	Hidróxido de cálcio	Pouca despolimerização	Significativa solubilização	Solubilização parcial (-40%)	Efetiva remoção de lenhina e acetil, baixo custo	Menor efetividade devido a pouca solubilidade de cal
	Ozonólise	Não foi observada despolimerização	Pequena solubilização	Solubilização acima de 70%	Efetiva deslignificação em condições suaves	Caro, necessidade de mais ozônio
	Organosolv	Considerável inchação	Significativo, quase completa	Significativo, pode ser quase completa	Alta produção de xilose, efetiva deslignificação.	Recuperação de solvente cara
Biológico		20-30% de despolimerização	Acima de 80% de solubilização	-40% de deslignificação	Baixo requerimento de energia, efetiva deslignificação	Perda de celulose, baixa taxa de hidrólise
Combinado	Explosão a vapor	Pouca despolimerização	80-100%	Pouca remoção, mas ocorre mudança de estrutura	Energia eficiente, nenhum custo de reciclagem	Degradação da xilana como produto inibitório
	AFEX	Diminuição do grau de cristalinidade	Acima de 60% de solubilidade	10-20% de solubilização	Menor perda de xilanas, não formação de inibidores	Recuperação de amônia, não é efetivo para alta concentração de lenhina

Esta etapa torna-se bastante relevante no que concerne ao custo direto operacional na produção do bioetanol, além de que poderá influenciar os custos das etapas subsequentes. No intuito de obter um elevado rendimento e menores custos de operação na produção de bioetanol várias metodologias de pré-tratamento têm sido extensivamente estudadas, contudo não é possível definir uma como universal, dada a diversidade da biomassa lenhocelulósica (Santos *et al*, 2012).

Entre os vários pré-tratamentos existentes, o mais frequentemente utilizado para posterior hidrólise enzimática da biomassa das borras de café, é o pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído (Gupta e Verma, 2015), razão pela qual apenas se descreverá de seguida o pré-tratamento químico utilizando ácido.

2.3.1.1. Pré-tratamento ácido

Os pré-tratamentos ácidos poderão ser realizados através de ácidos concentrados ou diluídos e têm como finalidade facilitar o acesso das enzimas à celulose e solubilizar a fração da hemicelulose na biomassa (Alvira *et al*, 2010). A utilização de ácidos concentrados no processo de hidrólise apresenta como principais desvantagens a sua elevada toxicidade e corrosividade, o que origina um aumento de custos de processo dado que, além da necessidade de utilização de reatores resistentes a corrosão, é essencial a sua recuperação (Sun e Cheng, 2002). Por conseguinte, tem-se optado pela utilização de ácidos diluídos.

De acordo com Tabela 1.1, a utilização de ácidos diluídos poderá remover entre 80% a 100% da hemicelulose. Esta percentagem é influenciada pelas condições operatórias do processo, nomeadamente a temperatura, concentração de ácido utilizado, tempo de residência e, embora se verifique pouca remoção da lenhina, ocorrem alterações na sua estrutura (Taherzadeh e Karimi, 2008).

O pré-tratamento através de hidrólise com ácido diluído, origina a solubilização dos açúcares da hemicelulose, separando a biomassa numa fração líquida, contendo as pentoses, da fração sólida composta por lenhina e celulose (Mussatto *et al*, 2010).

A aplicação de ácidos diluídos (1-4%) a temperaturas moderadas (120 a 160 °C) tem sido uma das técnicas mais utilizadas e adequadas para a hidrólise da hemicelulose, promovendo a decomposição de polissacarídeos. Para esse efeito é usual a utilização de H₂SO₄, embora também possam ser utilizados HCl, HNO₃ e H₃PO₄ (Mussatto e Teixeira, 2010).

Um dos inconvenientes de alguns pré-tratamentos reside no facto de se formarem compostos que inibem os passos subsequentes e, tal como referido anteriormente, é algo que se pretende evitar. Dependendo da temperatura do processo, a utilização de ácidos na degradação de açúcares poderá originar a formação de inibidores que afetam o metabolismo dos microrganismos no passo da fermentação, tais como furfural e hidroxometilfurfural, assim como compostos aromáticos derivados da degradação da lenhina (Alvira *et al*, 2010) e para pH baixos, verifica-se também a formação de subprodutos inibidores (Taherzadeh e Karimi, 2008).

2.3.2. Hidrólise

A hidrólise da biomassa lenhocelulósica é usualmente realizada através da via química ou enzimática e tem como principal objetivo converter as cadeias da celulose e hemicelulose em açúcares mais simples, de modo a serem fermentados posteriormente.

Quando é realizada sem pré-tratamento anterior, atinge rendimentos inferiores a 20%, contudo, com a sua aplicação, o rendimento é maximizado para 90 % (Hamelinck *et al*, 2005).

A hidrólise enzimática apresenta-se como a alternativa mais promissora, no que concerne à redução de custos na produção de bioetanol, em relação a hidrólise química que, apesar de

constituir a tecnologia mais avançada, utiliza ácidos concentrados (Mussatto *et al*, 2010) acarretando elevados custos de investimento e manutenção, pelas razões já referidas anteriormente.

Seguidamente será apenas abordada a hidrólise enzimática.

2.3.2.1. Hidrólise enzimática

A hidrólise enzimática recorre ao uso de enzimas que aceleraram certas reações químicas, que dificilmente aconteceriam sem a sua presença, através da diminuição da energia de ativação (Da-Silva *et al*, 1997). Este processo é compatível com a maior parte dos pré-tratamentos, todavia não é adequado quando se utilizam pré-tratamentos físicos (Hamelinck *et al*, 2005).

A hidrólise depende de vários fatores tais como o tipo de substrato, a atividade das celulasas e as condições da reação, nomeadamente da temperatura, do pH entre outros (Sun e Cheng, 2002). O aumento de concentração de açúcares e de etanol no meio reacional, a partir de determinadas concentrações, promovem a inibição da atividade das enzimas e, conseqüentemente, originam uma diminuição do rendimento da hidrólise. O etanol, comparativamente à glucose, exerce menor influência na inibição (Codato, 2013).

Segundo Carvalho (2011), um aumento de temperatura, até um certo ponto, promove a atividade enzimática, contudo, caso a temperatura limite da ação das enzimas seja ultrapassada, a enzima sofre desnaturação e conseqüentemente a eficiência da hidrólise decai. Esta desnaturação também se verifica para gamas de pH muito ácidos.

A temperatura e pH ótimos para o funcionamento das celulasas ocorrem entre os 40 e 50 °C e pH na gama dos 4 a 5 (Taherzadeh e Karimi, 2007).

Por forma a assegurar o contacto entre a enzima e o substrato, é necessária uma velocidade de agitação adequada, dado que esta promove a transferência de massa e calor durante a reação. Furlan (2009) afirma que, de acordo com os estudos realizados, a velocidade de agitação adequada é de 150 rpm, contrariamente a Carvalho (2011) que indica que essa velocidade depende do substrato utilizado, dado que a resistência à transferência de massa é distinta para cada caso, acrescentando que uma velocidade muito elevada poderá provocar a desativação de enzimas.

2.3.2.1.1. Hidrólise da celulose

A hidrólise da celulose é realizada por enzimas muito específicas denominadas celulasas e é executada em 3 etapas: adsorção das celulasas sobre a superfície da celulose, a biodegradação da celulose em açúcares mais simples e a desorção da celulase (Sun e Cheng, 2002).

Este processo é moroso, dado que a hidrólise da celulose é afetada pelos parâmetros estruturais do substrato, nomeadamente pelo conteúdo em lenhina e em hemiceluloses, área de superfície e cristalinidade da celulose (Balat *et al*, 2008).

O acesso das enzimas à celulose é dificultado pela lenhina que funciona como uma barreira. A sua remoção aumenta drasticamente a taxa de rendimento da hidrólise (Sun e Cheng, 2002).

Para uma hidrólise eficiente é essencial a utilização de determinadas enzimas, que trabalham sinergeticamente entre si, criando novas localizações umas para as outras, removendo obstáculos inibidores à formação de produtos (Jørgensen *et al*, 2007).

As celulasas são normalmente constituídas por uma mistura de várias enzimas e podem dividir-se em 3 grandes grupos, β -1-4-endoglucanases (EC 3.2.1.4.) que atacam regiões de baixa cristalinidade na fibra de celulose, libertando fragmentos menores, β -1-4-exoglucanases ou celobiohidrolases (E.C 3.2.1.91) que hidrolisam as cadeias celulósicas nas suas extremidades, formando unidades de celobiose, e as β -glucosidase (EC 3.2.1.21.) que hidrolisam a celobiose em glucose (Mussatto e Teixeira, 2010). A Figura 2.5 representa a ação das celulasas na cadeia da celulose.

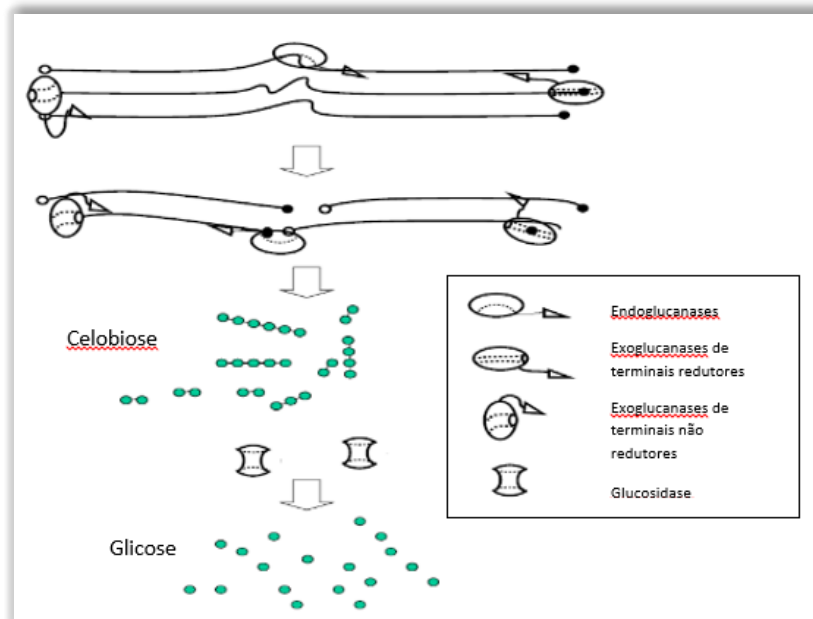


Figura 2.5 - Representação esquemática da ação das celulasas na estrutura da celulose (adaptado de Carvalho, 2011)

2.3.2.1.2. Hidrólise da hemicelulose

A hemicelulose é estruturalmente mais complexa do que a celulose, por conseguinte existe a necessidade de utilizar múltiplas enzimas designadas de hemicelulasas, sendo as mais comuns a xilanase, β -xilosidase, arabinofuranosidase, α -galactosidase e a mananase (Da-

Silva *et al*, 1997). Estas podem ser produzidas por várias espécies de bactérias e fungos (Mussatto e Teixeira, 2010).

2.3.3. Fermentação

A fermentação é um processo bioquímico no qual são utilizados microrganismos que utilizam como substrato os açúcares, metabolizando-os a etanol e CO₂. Os açúcares são convertidos em piruvato, que sofre uma descarboxilação reduzindo o acetaldeído a etanol. Este processo origina produtos secundários em menor quantidade, tais como glicerol, ácido succínico, álcoois amílicos e isoamílico (Masson, 2013).

Segundo Marques (2012), a fermentação poderá ser realizada através de 4 modos de operação: descontínua (*batch*), contínua, *fed-batch* ou semi-contínua.

Na fermentação *batch*, o substrato, o microrganismo e os nutrientes são colocados em conjunto no reator, contrariamente ao processo contínuo em que, tal como o próprio nome indica, o meio de cultura e os nutrientes são adicionados continuamente. Na fermentação em *batch* os microrganismos já se encontram no reator e, posteriormente, pelo topo, são retirados o etanol, as células e o açúcar residual. Neste caso, é imprescindível manter o volume de cultura constante. Este modo de operação apresenta um baixo custo de investimento e um menor controlo sobre o processo, sendo por esta razão o método preferencial para a produção do bioetanol por parte da indústria.

O processo *fed-batch* combina os sistemas *batch* e contínuo, através da adição, em períodos constantes, do substrato, do microrganismo e dos minerais ao reator, sendo o efluente retirado descontinuamente, o que poderá originar variação de volume de cultura. Dado que a alimentação do substrato é periódica, é possível controlar a sua concentração, o que constitui uma vantagem, principalmente se o substrato possui um efeito inibitório, resultando uma fermentação mais eficiente.

No processo semi-contínuo uma parte da cultura existente é removida periodicamente e adicionada uma nova o que, à semelhança do processo descrito anteriormente, poderá resultar numa variação de volume de cultura. Apresenta como principal desvantagem o risco de contaminações devido ao manuseamento da cultura. Em contrapartida não há a necessidade de separar o inóculo após o início do processo, minimizando o tempo de limpeza e esterilização além de que o controlo do processo não é muito exigente.

A biomassa lenhocelulósica é frequentemente hidrolisada através de ácidos, originando não só a glucose, mas também outros monossacarídeos tais como xilose, manose, galactose, arabinose, entre outros, por conseguinte, é necessários microrganismos que fermentem estes açúcares de forma eficiente (Balat *et al*, 2008).

A seleção de um microrganismo para a realização da fermentação deverá obedecer a determinadas características, tais como: elevada capacidade de fermentação por unidade de

substrato assimilado, tolerância a elevadas concentrações de etanol e de substrato, termo tolerância, estabilidade a baixos valores de pH (Sá, 2012).

A *Saccharomyces cerevisiae* é o microrganismo mais frequentemente utilizado para a produção do etanol devido à sua capacidade de crescimento em meios com altas concentrações de açúcar, originando elevados rendimentos de etanol. Todavia apresenta como desvantagem a incapacidade de fermentar as pentoses produzidas no processo de hidrólise, tais como a xilose, atuando apenas sobre as hexoses (Mussatto *et al*, 2012).

2.3.3.1. Fermentação das pentoses

A fermentação das pentoses poderá ser realizada através de Fungos, Bactérias ou Leveduras.

Fungos

A utilização de fungos filamentosos na fermentação das pentoses tem como principal vantagem a capacidade que estes têm de crescer naturalmente na biomassa vegetal, contrariamente às leveduras. Todavia apresenta como principais inconvenientes, o longo período de fermentação, baixa produtividade de etanol, a formação de subprodutos em elevadas quantidades e a maior parte não fermenta em condições anaeróbicas.

De entre os vários géneros de fungos filamentosos utilizados para a fermentação das pentoses, destacam-se a *Chalara*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Neurospora*, entre outros (Kuhad *et al*, 2011).

Bactérias

Contrariamente aos fungos, a maior parte das bactérias é capaz de fermentar as pentoses sob condições anaeróbicas, sendo as mais comumente utilizadas, entre outras, *Bacillus macerans*, *Bacillus polymyxa*, *Aerobacter sp.*, *Escherichia sp.* e *Zymomonas mobilis*. Industrialmente, as bactérias termofílicas têm recebido especial interesse, dada a sua capacidade de fermentar uma elevada variedade de biomassa lenhocelulósica, em condições anaeróbicas sendo que, para esse efeito, necessitam de baixas concentrações. Contudo, além de darem origem à formação de subprodutos, apresentam baixa tolerância ao etanol o que, comercialmente, dificulta a sua utilização, situação esta que poderá ser ultrapassada através de modificações genéticas da estirpe (Kuhad *et al*, 2011).

Leveduras

Os microrganismos *Candida shehatae*, *Pichia stipitis* e a *Pachysolen tannophilus* apresentam-se como os mais promissores para a fermentação das pentoses. Contudo, em comparação com a *Saccharomyces cerevisiae*, possuem baixa tolerância ao etanol e ao pH, por

consequente têm sido estudadas alternativas genéticas que permitam fermentar as pentoses de forma eficiente e com elevado rendimento de produção de bioetanol (Kuhad *et al*, 2011). A temperatura ótima para a produção de bioetanol, através de leveduras, encontra-se na faixa dos 26 a 35 °C. Para temperaturas superiores, além de se promover a evaporação do álcool, aumenta-se a suscetibilidade de toxicidade da levedura ao etanol, favorecendo o risco de contaminações. Em contrapartida, para temperaturas mais baixas do que o limite supracitado, a fermentação é mais lenta. Fermentações realizadas em meios mais ácidos proporcionam melhores rendimentos em etanol, dado que se retarda o crescimento da levedura e se restringem contaminações, decorrendo numa gama de pH compreendida entre a 4 e 5 (Furlan, 2009).

De acordo com Balat (2008), as leveduras e fungos toleram gamas de pH compreendidos entre 3,5 e 5, contrariamente às bactérias que possuem melhores taxas de crescimento para gamas de pH compreendido entre 6,5 e 7,5.

Uma elevada concentração de açúcares favorece não só a velocidade de fermentação assim como a produtividade em bioetanol e, dentro de certos limites, promove um menor crescimento da levedura e formação de glicerol. Em contrapartida elevadas concentrações poderão causar *stress* osmótico à levedura. A maioria dos materiais celulósicos é carente de fontes de nitrogénio e fósforo, nutrientes estes indispensáveis à fermentação, pelo que poderá ser necessário a adição de sais contendo estes elementos (Furlan, 2009).

3. DESCRIÇÃO TÉCNICA

No presente capítulo são descritas as metodologias utilizadas para a concretização deste trabalho, nomeadamente a análise granulométrica do café, a sua caracterização química e pré-tratamento utilizado, seguido de hidrólise enzimática. Seguidamente, quantificou-se os açúcares formados utilizando três métodos: o do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), o refratométrico e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

3.1. Caracterização da borra de café

A composição química do café, e conseqüentemente da borra, depende de vários fatores, por conseguinte é necessário, numa fase inicial, avaliar determinados parâmetros, nomeadamente a granulometria, o teor de humidade e de cinzas, o poder calorífico, teor de carbono, azoto e proteínas, utilizando para esse efeito borras de café de origem desconhecida, previamente seca ao ar. Na fase seguinte avaliou-se o teor de lenhina e celulose dado que a sua quantificação indica-nos a maior ou menor percentagem de açúcares presentes na amostra estudada e, conseqüentemente, da variação de rendimento aquando a obtenção de bioetanol.

3.1.1. Análise granulométrica da borra de café

A classificação granulométrica (Anexo A.1.1.). foi realizada através do método de crivagem de uma certa quantidade de amostra, utilizando um conjunto de peneiros com diferentes aberturas de malhas e respetivo sistema de agitação (*Retsch AS 200*). Posteriormente, as partículas retidas em cada um dos peneiros foi pesada e distribuída por classes, consoante a sua dimensão (Figura 3.1). Esta análise é relevante na hidrólise enzimática, dado que o aumento da área de contacto contribuí para o incremento da sua eficiência.



Figura 3.1 - Distribuição granulométrica da amostra de café por classes

3.1.2. Teor de Humidade

Este ensaio foi realizado através do método direto colocando uma quantidade de amostra de café na estufa a 105 °C (*WTB Binder*), sujeitando-a a ciclos repetitivos de secagem, arrefecimento e pesagem até manutenção do peso (Anexo A.1.2.). O teor de humidade é calculado através do quociente entre a diferença da massa inicial de borra de café e massa seca e a massa de amostra inicialmente utilizada (Equação A.2).

3.1.3. Teor de Cinzas

O teor de cinzas foi determinado através do procedimento descrito no *Standard Methods* (método 2540 E) que consiste em calcinar uma certa quantidade de amostra numa mufla (*Nabertherm*) a 550 °C durante uma hora seguido de arrefecimento e pesagem (Anexo A.1.3.). Este ciclo é repetido até o peso da amostra estabilizar. O teor de cinzas é calculado pelo quociente entre a massa após calcinação e massa de amostra inicialmente pesada (Equação A.3).

3.1.4. Poder Calorífico Superior

O poder calorífico superior corresponde à soma da energia libertada sob a forma de calor e a energia gasta na vaporização da água formada numa reação de combustão, ou seja, permite aferir o conteúdo energético da biomassa. Para a sua determinação recorreu-se a um calorímetro (Figura 3.2, *Parr 6772*) seguindo o procedimento descrito na norma *ASTM D5865-10* (Anexo A.1.4.).



Figura 3.2 - Calorímetro *Parr 6772* utilizado na determinação do poder calorífico superior

3.1.5. Teor de Carbono

O teor de carbono total (CT) corresponde ao somatório do carbono orgânico total (COT) e inorgânico (CI) e foi realizado segundo o procedimento do aparelho analisador de COT (*Shimadzu, TOC-V_{CSN} Analyzer*) utilizando o módulo de análise de amostras sólidas (*Shimadzu, Solide Sample Module, SSM-5000A*), conforme ilustra a Figura 3.3.

Basicamente, o CT é determinado através da oxidação catalítica dos carbonatos presentes na amostra a dióxido de carbono, mediante a sua injeção numa câmara a alta temperatura. O dióxido de carbono formado é conduzido pelo gás de arraste até ao espectrofotómetro de infravermelho e quantificado. Por sua vez, o CI é determinado através da acidificação da amostra com ácido fosfórico na câmara de reação, que converte todo o CI em dióxido de carbono, sendo este conduzido para o detetor e quantificado (Anexo A.1.5.).



Figura 3.3 - Analisador de COT e módulo de análise de sólidos

A concentração do COT obtém-se através da diferença entre o CT e o CI (Equação A.5).

3.1.6. Teor de Azoto

A determinação do teor de azoto realizou-se através do método *Kjeldahl* recorrendo a um digestor (Figura 3.4, *Raypa*) e destilador (*Kjeltec System 1002*), .

Este método baseia-se na digestão, a altas temperaturas, de toda a matéria orgânica de uma dada amostra utilizando ácido sulfúrico concentrado, na presença de um catalisador.



Figura 3.4 - Digestor *Raypa* utilizado na determinação do teor de azoto

Durante a digestão o azoto presente na amostra é convertido em sulfato de amónio. Posteriormente, através da alcalinização do meio com hidróxido de sódio, o sulfato de amónio é destilado, libertando-se amoníaco que é recolhido numa solução de ácido bórico. O borato

de amónio formado é seguidamente titulado com ácido clorídrico com título conhecido, na presença de um indicador, que permitirá determinar a quantidade de azoto presente na amostra inicial (Anexo A.1.6.).

3.1.7. Teor de Proteínas

O procedimento mais comum para aferição do teor de proteínas consiste na determinação de um elemento ou grupo pertencente à proteína, como é o caso do azoto. Assim, estimou-se o seu teor, através da correlação com o teor de azoto multiplicando o mesmo por 6,25 (Alves *et al.*, 2007).

3.1.8. Teor de Matéria Gorda

A obtenção do teor de matéria gorda é importante dado que é um parâmetro utilizado no cálculo do teor da celulose bruta. A sua extração foi realizada através do procedimento descrito na norma portuguesa *NP-1005: 1974*, utilizando para esse efeito o método de extração *Soxhlet* (Anexo A.1.8.).

Assim, colocou-se cerca de 10 g de amostra de café num cartucho de celulose e inseriu-se no *Soxhlet* (Figura 3.5). Posteriormente ligou-se a um balão, previamente pesado, contendo solvente n-hexano e levou-se à ebulição. À medida que se vão realizando os contactos do solvente com o cartucho, que contém a amostra de café, retira-se 1 mL de amostra e, com auxílio do refratómetro de Abbe (*Atago*), lê-se o índice de refração. O processo extrativo cessa quando este se mantém constante.



Figura 3.5 - Extrator *Soxhlet*

Posteriormente, a mistura da gordura com o solvente é sujeita a uma evaporação no rotavapor (*Buchi*), permitindo separar a gordura extraída e recuperar o solvente para posterior reutilização. Pesa-se o balão que contém a gordura e o seu teor é dado pelo quociente entre a massa de óleo obtida e a massa de amostra inicialmente pesada (Equação A.8).

3.1.9. Teor de Celulose Bruta

O teor de celulose bruta foi determinado de acordo com o procedimento descrito na norma portuguesa *NP-1005: 1974*, que consiste em levar à ebulição, durante 30 minutos, uma mistura de cerca de 2 g de borra de café e 200 mL de H_2SO_4 a 0,1N, com o auxílio de uma manta de aquecimento (*Raypa*) e de um condensador de refluxo.

Decorrido este período, procede-se à filtração sob vácuo (Figura 3.6, *Neuberger*) utilizando uma membrana de filtro de vidro e, por forma a obter um pH neutro, lava-se o bolo com água desionizada.



Figura 3.6 - Sistema de filtração em vácuo

O filtrado retoma posteriormente ao balão onde se juntam 200 mL de NaOH. Após 30 minutos em ebulição procede-se novamente à filtração e lavagem com água desionizada neutralizando de seguida com 50 mL de álcool etílico.

Finalmente, o resíduo é colocado numa estufa a 103 °C (*WTB Binder*) até obtenção de peso constante seguida de calcinação numa mufla (*Nabertherm*) durante 30 minutos a 600 °C e pesagem (balança *Kern ALJ 220-4*), após arrefecimento (Anexo A.1.9.).

3.1.10. Teor de Lenhina

O teor de lenhina total corresponde ao somatório da lenhina solúvel e insolúvel, habitualmente designada por lenhina Klason. Para a sua determinação seguiu-se o procedimento descrito na norma *TAPPI T222om-06* (Anexo A.1.10.), que consiste na reação de 1 g de borra de café com 15,00 mL de H_2SO_4 a 72% (% m/m), num banho termostático (*Selecta Unitronic OR-C*) a 20 °C por 2 horas, sob agitação constante. Finda a reação, adicionam-se 575 mL de água desionizada sujeitando a mistura à ebulição durante 4 horas. Seguidamente, a solução é filtrada em vácuo e o resíduo é lavado com água desionizada até pH neutro. Posteriormente é colocado na estufa até obtenção de peso constante.

A lenhina solúvel é quantificada através da leitura da absorvância, a 205 nm, do filtrado obtido no procedimento anterior, utilizando para esse efeito o espectrofotómetro UV-Vis (Shimadzu, UV-160 A).

3.2. Pré-tratamento

O pré-tratamento tem como principal objetivo quebrar os polímeros de celulose e hemicelulose presentes na lenhina e, conseqüentemente, aumentar a acessibilidade das enzimas na hidrólise enzimática.

Neste trabalho realizou-se um pré-tratamento ácido da borra de café. Para tal pesou-se cerca de 10 g de borra de café para vários matrizes e adicionou-se, em cada um deles, 200 mL de H₂SO₄ (*Analar Normapur*), HCl (comercial), HNO₃ (*Sigma-Aldrich*), CH₃COOH (*Analar Normapur*) com várias concentrações.

Dado que o ácido acético é um tipo de ácido fraco, comparativamente aos restantes, realizou-se um ensaio adicional com concentração mais elevada (7% v/v).

A reação ocorreu num banho termostático (*Selecta, Unitronic OR-C*) e as condições experimentais utilizadas encontram-se descritas sucintamente na Tabela 2.1, apresentada de seguida.

Tabela 2.1 - Condições operatórias do pré-tratamento

Concentração ácido (% v/v)	Ácido	Volume ácido (mL)	Temperatura banho (°C)	Tempo reação (min)	Velocidade agitação (rpm)
1%	H ₂ SO ₄ HCl HNO ₃ CH ₃ COOH	200	85	270	50
3%					
5%					
7%					

Uma vez que se pretende analisar o rendimento na produção de açúcares, através da aplicação do pré-tratamento, efetuou-se também um ensaio à borra de café, nas mesmas condições operatórias, substituindo o volume de ácido por água desionizada. Na Figura 3.7 é possível verificar o aspecto das amostras antes e após o pré-tratamento.

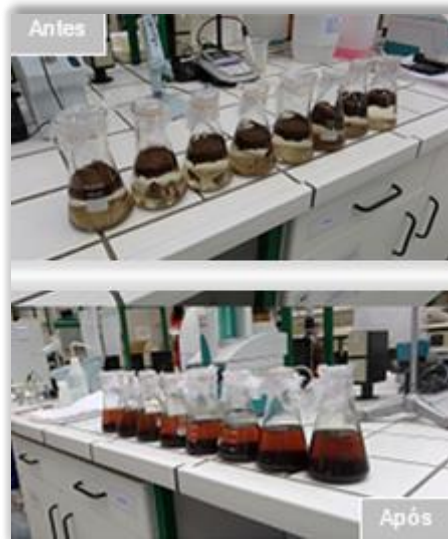


Figura 3.7 - Aspeto das amostras antes e após o pré-tratamento

Foram realizadas duas réplicas de cada um dos ensaios.

3.3. Hidrólise enzimática

Para uma eficiente ação da enzima utilizada, o pH, dos diversos ensaios resultantes do pré-tratamento, foi ajustado para próximo de 5 (Figura 3.8).



Figura 3.8 - Acerto de pH após pré-tratamento

Seguidamente, adicionou-se a enzima *Viscozyme L* (*Novozymes*), cujas características indicadas pelo fornecedor encontram-se na Tabela 3.2, na proporção de 100 $\mu\text{L/g}$ de amostra e colocou-se num banho termostático (*Selecta, Unitronic OR- C*), durante 120 minutos, a uma temperatura de 50 $^{\circ}\text{C}$ e a 50 rpm (Figura 3.9), correspondente às mesmas condições utilizadas por Silva (2011).



Figura 3.9 - Banho termostático utilizado na hidrólise enzimática

Tabela 3.2 - Principais características da enzima *Viscozyme L*, de acordo com fornecedor *Novozymes*

Estado físico	Composição	Atividade	T (°C)	pH	Grupo
Líquido	β - glucanase xylanase cellulase hemicelulase	100 FBG/g	40 - 55	4,0 - 6,0	β -1-3 e 1-4 endoglucanases

FBG – Fungal β - glucanase

Após a hidrólise, procedeu-se à filtração sob vácuo (*Neuberg*) do mosto e congelou-se as amostras (Figura 3.10).



Figura 3.10 - Filtração em vácuo das amostras após pré-tratamento e hidrólise e respetivo armazenamento

3.4. Métodos utilizados para a quantificação dos açúcares

Para a determinação do teor de açúcares foram utilizados procedimentos distintos que se descrevem de seguida.

3.4.1. Método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)

Para a obtenção do teor dos açúcares redutores, foi empregue a metodologia descrita por Miller (1959) utilizando o ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Este método baseia-se na redução do DNS (cor amarela) a ácido 3-amino,5-nitrosalicílico (cor alaranjada) e, simultaneamente, na oxidação do grupo carbonilo livre (C=O) que se encontra presente nos açúcares redutores. A concentração dos açúcares redutores foi determinada através da leitura da absorvância ($\lambda = 540 \text{ nm}$) num espectrofotómetro UV-Vis (Figura 3.11, *Shimadzu, UV-160 A*), recorrendo à curva de calibração, previamente traçada, utilizando padrões com concentrações de glucose compreendidas entre 0,10 e 0,60 g/L (Anexo A.2.1).



Figura 3.11 - Espectrofotómetro UV-Vis utilizado no método DNS

3.4.2. Método refratométrico na escala Brix

A refração é gerada através da alteração da direção de um feixe de luz, quando esta troca de um meio para o outro e poderá ser medida em escala °Brix.

O grau Brix corresponde à escala numérica do índice de refração e permite determinar a quantidade de sólidos solúveis numa dada amostra, sendo muitas vezes utilizado para estimar a quantidade de açúcares totais presentes na mesma.

Os ensaios foram realizados através do método direto (*NP EN 12143: 1999*), lendo o grau °Brix no refratómetro de Abbe (Figura 3.12, *Atago*) e, recorrendo a uma curva de calibração traçada com soluções padrão de glucose com concentrações compreendidas entre 3,2 e 130 g/L, determinou-se a concentração da glucose.



Figura 3.12 - Aparelho utilizado no método refratométrico

Uma vez que a temperatura do banho do refratômetro variava entre leituras, as mesmas foram corrigidas para os 20 °C, correspondente à temperatura de referência (MAPA_Br, s/d).

3.4.3. Método da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A cromatografia líquida de alta eficiência tem como princípio básico a separação de distintas espécies químicas através de interação seletiva entre as moléculas da amostra (soluto) e duas fases- a móvel e a estacionária - e tem sido utilizada como método para separar, identificar e quantificar compostos.

Basicamente o equipamento é constituído por:

- coluna - que contém a fase estacionária, constituída por pequenas partículas de material de enchimento;
- bomba - que permite a movimentação da fase móvel e da amostra através da coluna;
- detetor - que indica os tempos de retenção das moléculas devido às interações da amostra com a fase estacionária e a fase móvel.

A separação cromatográfica é concretizada devido aos distintos graus de afinidade das substâncias, presentes na amostra, com as fases móvel e estacionária. O composto com mais afinidade com a fase estacionária é último a eluir, contrariamente àquele que possui menos afinidade, que é o primeiro a eluir, permitindo-nos, por conseguinte, identificar diferentes tempos de retenção para cada composto (Chust, 1990).

Neste método recorreu-se a um HPLC (Figura 3.13, *Gilson*) composto por um injetor de amostras (*Gilson*, 231XL) com loop de amostragem de 20µL e uma bomba (*Gilson* 307). A coluna utilizada foi uma Knauer Eurospher II 100, NH₂, 5 µm, 250×4,6 mm, com pré coluna à temperatura ambiente e o detetor foi do tipo *Evaporative Light Scattering* (ELSD) (*Modelo PLEMD 960 da Polymer Laboratories*) que operou com caudal de ar de 7,2 L/min, a 70 °C,

com atenuação de 1 e uma constante de tempo de 1 s. O cromatograma das amostras foi traçado por um registrador (*Shimadzu, C-R3A Chromatopac*) com slope de 7500 e atenuação de 6.

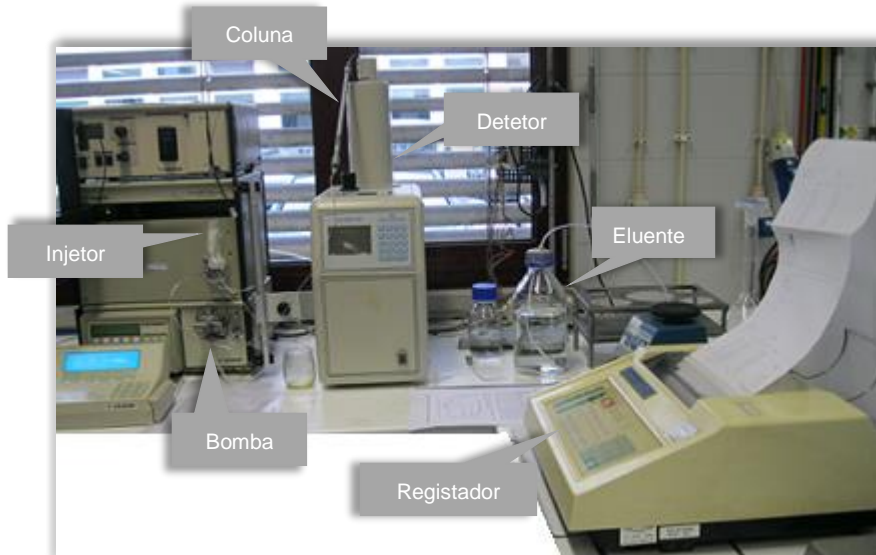


Figura 3.13 - HPLC utilizado na determinação dos açúcares

O caudal da fase móvel (eluente), constituída por acetonitrilo e água ultrapura na proporção (v/v) de 80:20, foi de 0,60 mL/min, com pressão de coluna de 28 bar, que ao longo da realização dos ensaios aumentou para 31, chegando mesmo aos 32 bar. Utilizou-se ar comprimido por forma a vaporizar o eluente no detetor.

Cada amostra, antes de ser injetada manualmente, foi filtrada com um filtro de nylon e o tempo de cada análise rondou os 40 a 45 minutos.

Inicialmente traçou-se curvas de calibração a partir de soluções padrão de glucose, arabinose, xilose. A partir do tempo de retenção de cada um dos padrões, conseguiu-se identificar, no cromatograma da nossa amostra, o composto e seguidamente quantificá-lo a partir da curva previamente traçada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo encontra-se organizado em duas partes, uma referente aos resultados obtidos na caracterização da borra de café e outra respeitante à quantificação dos açúcares formados após pré-tratamento e hidrólise enzimática.

4.1. Caracterização da borra de café

Na caracterização física da matéria prima efetuou-se uma análise granulométrica, distribuindo as partículas por classes de tamanho, conforme ilustrado na Figura 4.1.

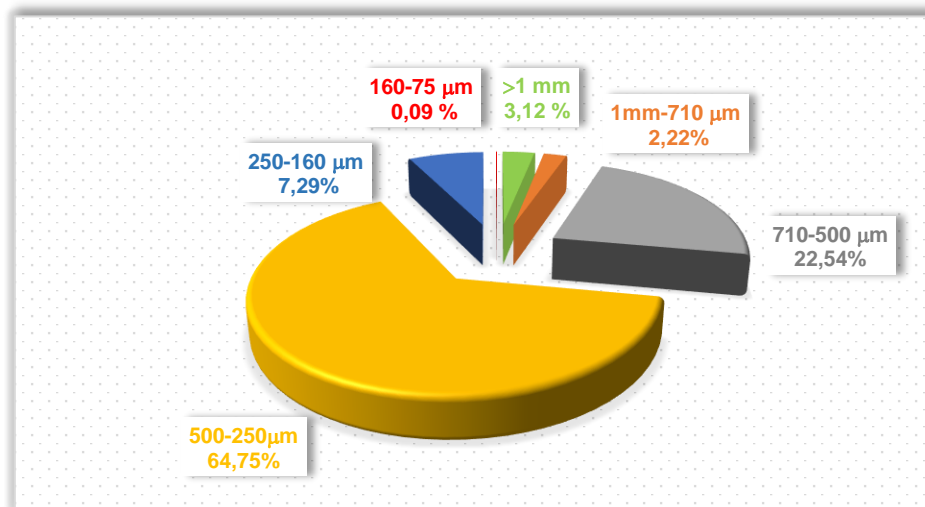


Figura 4.1 - Distribuição granulométrica da borra de café

Pela análise da Figura 4.1 confirma-se que a borra de café possui uma granulometria fina e que, a maior parte das partículas – fração mássica de 64,75% – ficaram retidas no peneiro com abertura entre 500 e 250 µm. Este facto também foi confirmado por Silva (2011), que obteve uma maior percentagem de 30,76% para esta mesma abertura de malha, assim como por Soares *et al.* (2015), que constataram uma maior retenção compreendida entre peneiros com estas dimensões.

A humidade presente na amostra influencia a sua capacidade em atravessar as aberturas das malhas. De acordo com Santos (2009b), um aumento de humidade na borra, origina a agregação da mesma em partículas de maiores dimensões, o que poderá dificultar a sua passagem nas malhas, com dada abertura. Este ensaio foi realizado após prolongada exposição da borra de café ao ar, o que originou uma diminuição da humidade da matéria-prima. Esta circunstância poderá explicar a diferença de valores obtidos em relação a Silva (2011), para a mesma abertura de malha (entre 500 e 250 µm), para praticamente o dobro assim como para uma abertura de malha superior a 1 mm, na qual se obteve uma fração mássica de 3,12%, contrariamente aos 28,75% obtidos por este mesmo autor.

A granulometria da matéria prima é um fator relevante na hidrólise enzimática pois partículas mais finas aumentam a área de contacto com a enzima, o que poderá originar um incremento na eficiência do processo.

Na caracterização química, foram avaliados oito parâmetros, nomeadamente a humidade, o PCS, os teores de cinzas, carbono, azoto, proteínas, celulose e finalmente de lenhina, da qual se determinou a solúvel e insolúvel. Os resultados experimentais obtidos encontram-se na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Resultados experimentais obtidos na caracterização química da borra de café

Parâmetro*	Humidade (%)	Cinzas (%)	PCS (cal/g)	Carbono (%)	Azoto (g _N /100 g _{café})	Proteína (g _p /100 g _{café})	Celulose Bruta (%)	Lenhina Klason (%)	Lenhina Solúvel (%)	Lenhina Total (%)
Este estudo	49,28	1,83	5082,82	42,60	2,20	13,74	16,17	26,77	2,27	29,04

*Em base seca, com exceção da humidade.

As Figuras 4.2 a 4.11, ilustram a comparação dos dados experimentais obtidos neste trabalho com os encontrados na bibliografia. Constata-se que na determinação de alguns parâmetros tais como teor de cinzas, de azoto, de proteínas e de carbono não existe uma variação significativa de valores, todavia noutros, denota-se uma apreciável diferença, como é o caso do PCS, da celulose e da lenhina. É importante salientar que tais desigualdades poderão estar relacionadas, não só, com a variabilidade de matéria-prima utilizada, a borra de café, dado que existem várias espécies de café e, por conseguinte, diferente constituição química dos grãos (Murthy e Naidu, 2012) assim como a aplicação de procedimentos distintos na quantificação de determinados parâmetros.

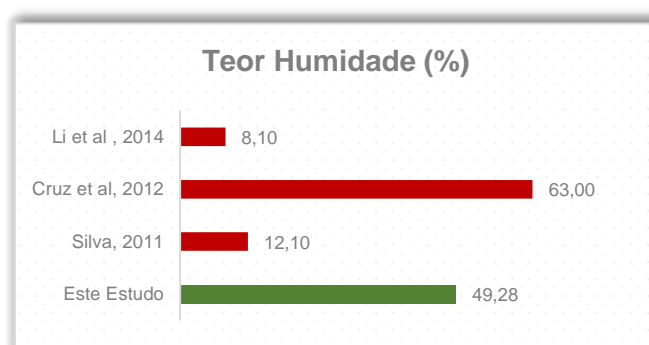


Figura 4.2 - Comparação do teor de humidade obtido neste estudo com os valores da bibliografia

Verifica-se, através da análise da Figura 4.2, que o valor obtido para o teor de humidade (49,28%), difere consideravelmente da bibliografia, não existindo, mesmo nesta, uma uniformidade de valores. Estas diferenças poderão ser explicadas pela desigualdade de tempos de secagem da borra de café após a recolha e antes da realização deste ensaio. O

teor de humidade é um dos parâmetros mais avaliados da borra de café, sendo expectável um elevado valor, na ordem dos 80 a 85% (Mussato *et al.*, 2011b), assimilado aquando da preparação da bebida, contrariamente a outros materiais, que apresentam teores de humidade mais baixo, tais como o resíduo de soja (12,23%), casca de arroz (11,31%), bagaço de cana (46,16%) e sabugo de milho (16,93%) (Vieira, 2012).

Na Figura 4.3 são apresentados valores obtidos para o teor de cinzas obtidos neste trabalho, em comparação com a bibliografia.



Figura 4.3 - Comparação do teor de cinzas obtido neste estudo com os valores da bibliografia

Através da análise da Figura 4.3 constata-se que, em relação ao teor de cinzas, contrariamente ao teor de humidade, existe uma similaridade de valores obtidos comparando com a restante bibliografia, tendo sido determinado um teor de 1,83% de cinzas. Para os diversos autores confirma-se que o valor de teor de cinzas é similar, ou seja, efetivamente a borra de café é constituída, maioritariamente, por matéria orgânica, contrariamente a outros resíduos agrícolas, referenciados por Vieira (2012), como por exemplo a casca de arroz (22,6 a 17,1%), bagaço de cana (11,3 a 4,20%) mas já muito similar a sabugo de milho (1,1%), resíduos de soja (2,1%) e a resíduos de casca de grão de café (3,7%) (Soares *et al.*, 2015). De acordo com Soares *et al.* (2015), quanto maior o teor de cinzas, menor o poder calorífico de um dado produto uma vez que, a presença de maior quantidade de material inerte, origina a produção de menos calor. Poderemos verificar este facto, através da análise da Figura 4.4. Para um teor de cinzas de 1,83%, obtido neste trabalho, corresponde um poder calorífico de 5082,82 cal/g, enquanto que Li *et al.* (2014) constatou que para um teor de cinzas um pouco inferior (1,70%), obteve um poder calorífico superior (5541,32 cal/g). Contudo esta relação já não se verifica comparando os resultados obtidos por Silva (2011), que para um teor de cinzas de 1,43% obteve um poder calorífico de 4619,2 cal/g.

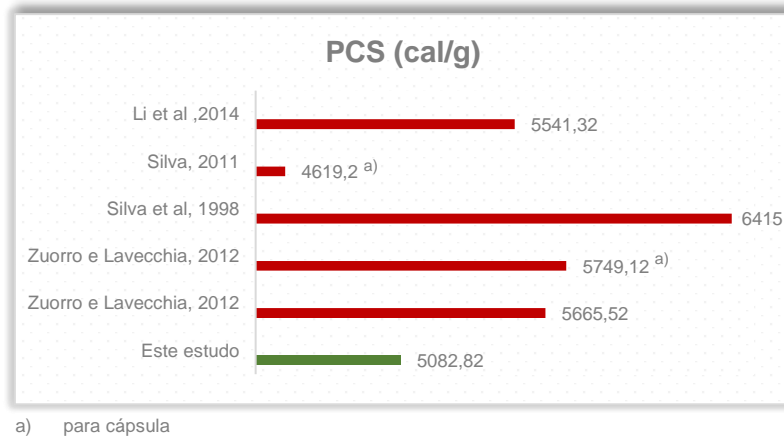


Figura 4.4 - Comparação do PCS obtido neste estudo com os valores da bibliografia

A Figura 4.4 ilustra a comparação do PCS obtido neste estudo com alguns resultados da bibliografia, em que se utilizaram também a borra contida em cápsulas de café. Observando a Figura 4.4, poder-se-á concluir que o poder calorífico para a borra de café proveniente das máquinas expresso, difere ligeiramente do obtida para a borra proveniente de cápsulas. Zuorro e Lavecchia (2012) obtiveram um poder calorífico de 5665,52 cal/g para borra resultante das máquinas expresso e 5749,12 cal/g para borra de café de cápsula. Esta diferença de valores poderá estar relacionada com os distintos teores de humidade das amostras. O poder calorífico decresce com o aumento do teor de humidade dado que, parte da energia é gasta na vaporização da água (Soares, 2015). Silva *et al.* (1998) realizaram estudos neste sentido, em que verificaram uma diminuição do poder calorífico (inferior) de 6031 cal/g para 4324 cal/g correspondente a um teor de humidade de 0% para 75%, respetivamente.

À semelhança do ocorrido na análise do parâmetro anterior, confirma-se que, comparando os resultados deste trabalho com os de Li *et al.* (2014), o poder calorífico superior aumenta (de 5082,82 cal/g para 5541,32 cal/g) com a diminuição do teor de humidade (de 49,28% para 8,10%), embora não ocorra esta correlação com Silva (2011), que obteve um PCS mais baixo (4612,2 cal/g) para um teor de humidade de 12,10%. De novo, esta diferença pode estar relacionada com a natureza distinta do lote de borra de café analisado.

A borra de café é utilizada no processo de queima da indústria cafeeira como fonte de energia (Mussato *et al.*, 2011b) pois possui um poder calorífico similar ao do carvão mas mais elevado do que a madeira (5450,00 cal/g), casca de arroz (3805,30 cal/g), palha de trigo (4185,02 cal/g), rama de algodão (3750,00 cal/g), sabugo de milho (3804,35 cal/g) e bagaço de cana (4470,59 - 4600,00 cal/g) (Silva *et al.*, 1998).

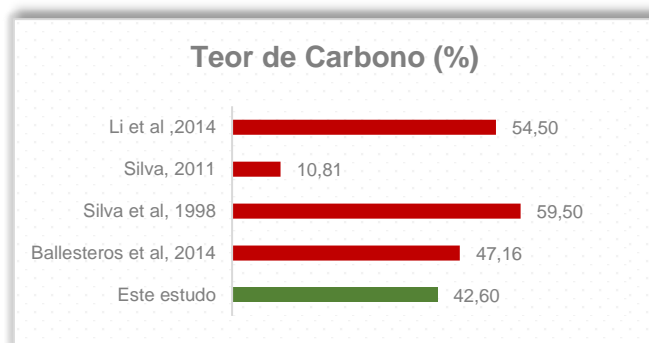


Figura 4.5 - Comparação do teor de carbono obtido neste estudo com os valores da bibliografia

Confirma-se que o teor de carbono obtido neste trabalho (42,60%) encontra-se genericamente em consonância, com a bibliografia tal como ilustrado na Figura 4.5, com exceção do resultado obtido por Silva (2011). De facto, a biomassa, é constituída por uma elevada percentagem de carbono e a determinação do seu teor permite avaliar o grau de humificação dos resíduos e, conseqüentemente, a possibilidade da sua utilização no processo de compostagem através do conhecimento da relação carbono: azoto - um dos fatores que influenciam a compostagem, sendo muito usual encontrar esta relação na bibliografia. O teor de carbono total dos resíduos orgânicos varia entre 8,5 a 51,4% (Carmo e Silva, 2012). Apesar da elevada presença de material orgânico, a borra de café é um resíduo muito poluente dado que necessita de grandes quantidades de oxigénio para se degradar. A borra de café também tem sido utilizada na produção de xilanase por *Penicillium sp.*, dado que o seu elevado teor de carbono favorece o crescimento deste fungo (Mussatto *et al.*, 2011b).



Figura 4.6 - Comparação do teor de azoto obtido neste estudo com os valores da bibliografia

O teor de azoto obtido foi de 2,2% (Figura 4.6) e o de proteínas de 13,74% (Figura 4.7). Estes resultados são similares aos reportados por Li *et al.* (2014), com valores de 2,4% para azoto e 15,0% para proteínas, e por Silva (2011) que obteve 2,1% e 13,3%, respetivamente. Verifica-se, todavia, que são ligeiramente inferiores aos valores obtidos por Ballesteros *et al.* (2014) de 2,8% e 17,44%, respetivamente.

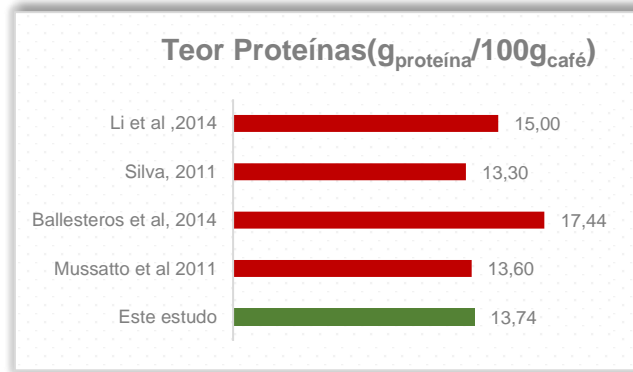


Figura 4.7 - Comparação do teor de proteínas obtido neste estudo com os valores da bibliografia

O elevado teor de proteínas e de humidade da borra, poderá favorecer o crescimento de determinadas estirpes de fungos (Mussatto *et al*, 2011b).

O teor de celulose obtido foi de 16,17%, valor superior ao encontrado na bibliografia, nomeadamente por Silva (2011) cujo teor foi de 13,84% e claramente superior ao reportado por Mussatto *et al* (2011a) de 8,60%, tal como pode ser observado na Figura 4.8.

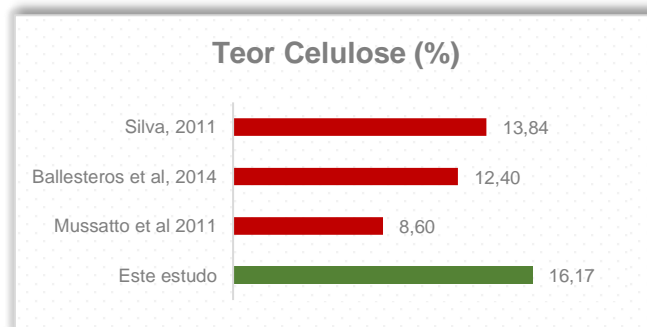


Figura 4.8 - Comparação do teor de celulose obtido neste estudo com os valores da bibliografia

Nas Figuras 4.9 a 4.11 apresentam-se os valores obtidos para o teor de lenhina insolúvel (vulgarmente designada por *Klason*), lenhina solúvel, sendo que o valor total corresponde à soma das anteriores, 26,77%, 2,27% e 29,04%, respetivamente. Estes resultados são semelhantes aos reportados por Silva (2011) que obteve 31,93%, 1,72% e 33,65%, respetivamente.



Figura 4.9 - Comparação do teor de lenhina *Klason* obtido neste estudo com os valores da bibliografia

Confirma-se que, embora Ballesteros *et al.* (2014) tenham obtido um valor superior para a lenhina solúvel (6,31%), a percentagem de lenhina total foi inferior (23,90%) à obtida neste trabalho e também ao obtido por Silva (2011).

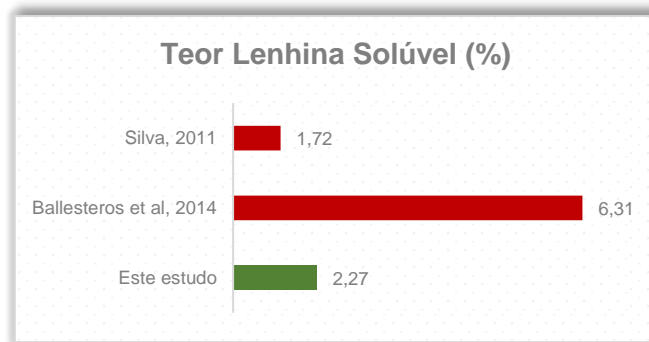


Figura 4.10 - Comparação do teor de lenhina solúvel obtido neste estudo com os valores da bibliografia

A diferença de valores em relação a lenhina solúvel obtida, em relação aos outros autores, poderá ser explicada pelo desigual fator de diluição utilizado na determinação do teor deste composto (Equação A.11). Conforme se constata no Anexo B.1 (Tabela B.13), obtém-se valores de teor de lenhina solúvel distintos, dependendo do fator de diluição utilizado.

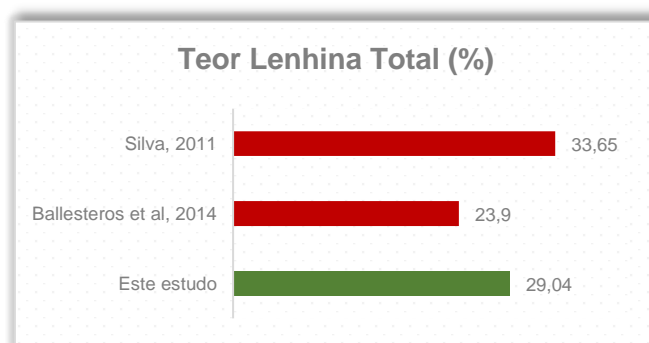


Figura 4.11 - Comparação do teor de lenhina total determinado neste estudo com os valores da bibliografia

O elevado teor de lenhina na borra de café limita a sua utilização na indústria alimentícia animal (Mussatto *et al.*, 2011b).

Hamelinck *et al.* (2005), tal como referenciado no subcapítulo 2.2, referiu que biomassa lenhocelulósica é constituída por 20 a 60% de celulose e 10 a 25% de lenhina (o restante é correspondente a hemicelulose). Evidentemente que estes valores variam consoante a biomassa em estudo, porém, neste trabalho obteve-se um teor de celulose ligeiramente inferior (16,17%) ao intervalo referido por este autor, contrariamente ao teor de lenhina total que foi superior (29,04%), embora a diferença entre os valores – de 3,83% na celulose e 4,04% na lenhina – não possa ser considerada significativa.

4.2. Quantificação dos açúcares

A estrutura da biomassa lenhocelulósica é complexa e, tal como referenciado anteriormente (Capítulo 2), torna-se necessário realizar um pré-tratamento, para fomentar a produção de açúcares simples. Neste trabalho optou-se por realizar um pré-tratamento ácido, utilizando vários ácidos com concentrações distintas e, também se comparou os valores obtidos para ácidos considerados fortes (H_2SO_4 , HCl, HNO_3) com os obtidos com um ácido mais fraco (CH_3COOH). Seguidamente, por forma a avaliar qual o mais eficiente na formação de açúcares, realizou-se a hidrólise enzimática utilizando a enzima *Viscozyme L*. Os açúcares formados, foram quantificados por três métodos, cujos resultados se discutem de seguida.

4.2.1. Método DNS

Os açúcares redutores possuem grupos aldeídos e cetonas livres na cadeia e, são assim designados, pois atuam como agentes redutores, ou seja, sofrem oxidação. Anteriormente determinou-se um valor de celulose consideravelmente alto em comparação com a restante bibliografia (Figura 4.8). Uma vez que a celulose, tal como referenciado no Capítulo 2, é constituída por glucose, então, no presente trabalho, os açúcares redutores totais foram quantificados como glucose e a sua concentração foi determinada recorrendo à equação da curva de calibração, previamente traçada (Figura B.1).

Através da análise da Figura 4.12 verifica-se que o pré-tratamento realizado com H_2SO_4 a 3% (v/v) origina uma maior concentração de glucose, cerca de 24,49 g/L, em comparação com as concentrações de 1% e 5%, com 16,98 e 20,14 g de glucose/L, respetivamente. Confirma-se também que, atendendo ao diferencial de concentrações, quando se aumenta a concentração do ácido em cerca de 2%, ou seja, de 1% para 3% verifica-se um incremento de concentração de glucose de cerca de 7,51 g/L, porém, quando se aumenta a concentração do ácido de 3% para 5%, a concentração da glucose diminui em cerca de 4,35 g/L.

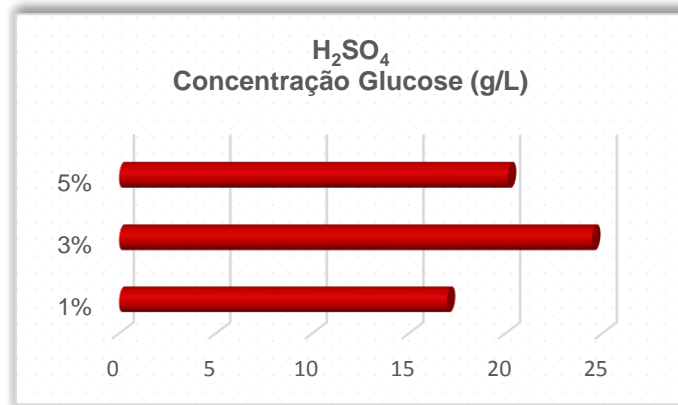


Figura 4.12 - Concentração de glicose (g/L) obtida pelo método DNS para a hidrólise com H₂SO₄

Assim, mediante estes resultados, poderemos concluir que, um aumento de concentração do ácido não origina, necessariamente, um aumento de concentração dos açúcares redutores totais.

Através da análise dos resultados obtidos com outros ácidos e presentes nos gráficos das Figuras 4.13 a 4.15, confirmaremos se este comportamento também se verifica para outro tipo de ácidos.

A utilização de HCl a 3% origina uma maior concentração de glicose, na ordem dos 23,62 g/L, em comparação com concentrações de 1% (19,65 g/L) e 5% (22,10 g/L), conforme ilustrado na Figura 4.13. À semelhança do ocorrido com a utilização do H₂SO₄, verifica-se que o aumento de concentrações de 1% para 3% intensifica a ação na deslenhificação da borra de café, pois obtém-se um aumento de concentração de glicose para ambos os ácidos. No entanto, quando se aumenta a concentração para 5%, a concentração do açúcar baixa, concluindo-se que, nestas condições operatórias, uma concentração de ácido acima dos 3% prejudica a hidrólise, muito provavelmente, devido à destruição das moléculas.

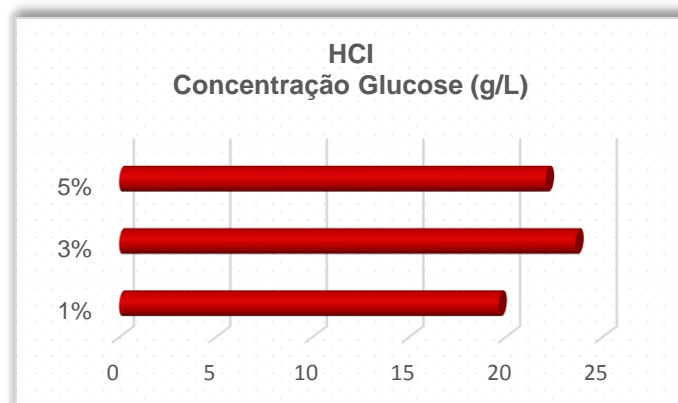


Figura 4.13 - Concentração de glicose (g/L) obtida pelo método DNS para a hidrólise com HCl

Comparando as Figuras 4.12 e 4.13 constata-se que, a diferença de concentração de glicose, utilizando diferentes concentrações de H₂SO₄, é mais significativa do que no caso do HCl.

Como exemplo, quando se passa de concentrações de H_2SO_4 1% para 3% verifica-se um aumento de concentração de glucose na ordem dos 7,1 g/L mas, no caso do HCl, essa variação é menor, obtendo-se um incremento de apenas 3,97 g/L. Aumentando as concentrações de 3% para 5% ocorre, no caso do H_2SO_4 , uma diminuição de concentração na ordem dos 4,35 g/L e no HCl uma diminuição menos pronunciada de 1,52 g/L. Assim, perante uma análise dos resultados experimentais para as condições operatórias utilizadas, confirma-se que a concentração de glucose obtida varia mais quando se utiliza diferentes concentrações de H_2SO_4 do que de HCl, o que poderá traduzir uma maior afinidade do primeiro ácido para o pré-tratamento desta biomassa.

Pela observação da Figura 4.14 percebe-se que, utilizando HNO_3 a 3% obtém-se uma maior concentração de glucose, na ordem de 25,03 g/L, todavia esta não é muito significativa em comparação com a utilização de HNO_3 a 5% no qual se obteve 24,76 g/L (diferença de 0,27 g/L). Porém, utilizando HNO_3 a 1% obtém-se uma concentração de glucose mais baixa, de 20,14 g/L, diferença esta bem mais significativa.

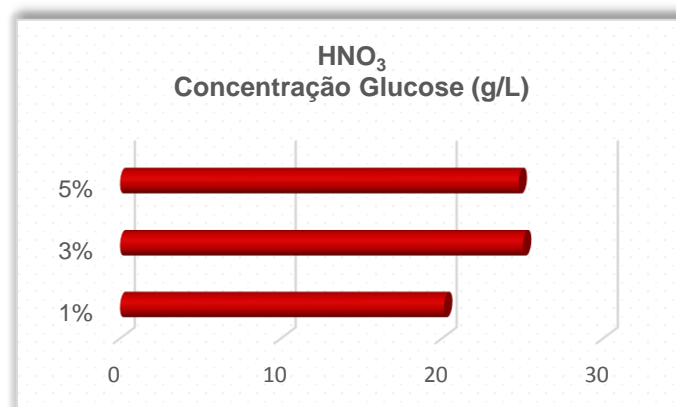


Figura 4.14 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método DNS para a hidrólise com HNO_3

Até ao momento confirma-se que, a utilização dos ácidos H_2SO_4 , HCl, HNO_3 no pré-tratamento (com estas condições operatórias) a 3% (v/v) têm mais tendência para debilitar a estrutura da lenhina uma vez que se obteve uma maior concentração de açúcares redutores totais, embora se verifique que a utilização de HNO_3 a 5%, origina uma concentração de glucose muito próxima dos ácidos a 3%. No entanto, o custo associado à utilização de uma maior concentração de ácido não é justificado pelo aumento da produção de glucose.

À semelhança do ocorrido com o HCl, verifica-se que o HNO_3 possui um comportamento análogo no que respeita às variações na concentração de glucose com a alteração da concentração do ácido. De facto, estas são menos pronunciadas em comparação com o ácido sulfúrico, porém mais, relativamente ao ácido clorídrico. A título de exemplo, quando se varia a concentração de 1% para 3% no HNO_3 , obtém-se uma variação positiva de concentração de glucose de cerca 4,90 g/L, contrariamente ao H_2SO_4 que origina um incremento de 7,50

g/L, mas uma alteração de 3% para 5%, origina uma diminuição de 0,27 g/L de glucose, todavia de 4,35 g de glucose/L, no caso do ácido sulfúrico. Consequentemente, poderemos deduzir, que a borra de café parece ser mais suscetível à hidrólise ácida utilizando o H_2SO_4 , dado que se obtém uma maior discrepância na concentração de açúcares redutores totais com a variação da concentração deste ácido.

O H_2SO_4 , HCl e HNO_3 são considerados ácidos fortes. Neste trabalho, pretendeu-se também analisar o efeito da utilização de um ácido fraco na concentração dos açúcares, comparativamente ao efeito dos anteriores e, para esse fim, escolheu-se o ácido acético.

Conforme se constata na Figura 4.15, a utilização de CH_3COOH no pré-tratamento produziu baixas concentrações de glucose, equiparando com os ácidos supracitados, com variações de 4,64 g/L (para 7%) a 5 g/L para (5%). A utilização deste ácido promove uma baixa formação de açúcares redutores totais, comparativamente aos anteriores e, por conseguinte, não é uma boa opção no pré-tratamento, para estas condições operatórias. Constata-se também que, a variação na concentração de CH_3COOH origina alterações na concentração de glucose pouco significativas.



Figura 4.15 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método DNS para a hidrólise com CH_3COOH

A Figura 4.16 ilustra a comparação dos resultados de concentração de glucose (g/L) obtidos para os pré-tratamentos realizados com as diferentes concentrações de ácido assim como para a borra de café sem qualquer pré-tratamento, mas utilizando as mesmas condições operatórias.

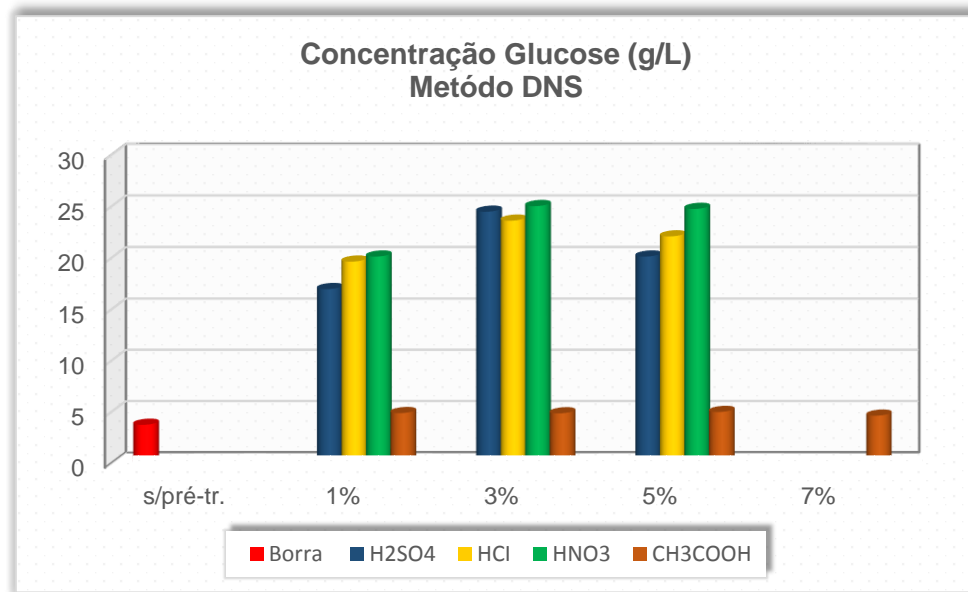


Figura 4.16 – Efeito do tipo de concentração de ácido na concentração da glicose (g/L) determinada pelo método DNS

Verifica-se, através da análise da Figura 4.16, que o pré-tratamento com ácido (independentemente do tipo de ácido e da concentração utilizada), incrementa a concentração da glicose dado que, esta é sempre superior, àquela obtida para a borra de café (3,74 g/L) sem qualquer pré-tratamento. Por conseguinte, poderemos concluir que a hidrólise ácida cumpriu com um dos objetivos - fragilizar a estrutura lenhocelulósica da borra de café - na medida em que se verificou um aumento dos açúcares redutores totais na amostra, embora não possamos afirmar que tenha sido completa. Dos ácidos utilizados no pré-tratamento, aquele que produziu valores mais baixos na concentração de glicose foi o ácido acético, conforme se constata na Figura 4.16, havendo uma variação pouco significativa de concentração de glicose vs concentração de CH₃COOH. O mesmo não ocorreu para o H₂SO₄, HCl e HNO₃ que originaram maiores concentrações de glicose (24,49, 23,62 e 25,03 g/L, respetivamente) para concentrações de ácido de 3% e no caso do HNO₃ a 5% também se obteve concentrações de glicose elevadas (24,76 g/L).

É fundamental, na discussão de resultados, abordar o rendimento de glicose obtido, dado que, a massa de amostra utilizada, embora seja semelhante para os diferentes ensaios, não foi sempre a mesma assim como também existem variações significativas no volume de filtrado obtido. A Figura 4.17 representa o rendimento de glicose obtido, tendo em conta a massa de amostra utilizada e o volume de filtrado obtido.

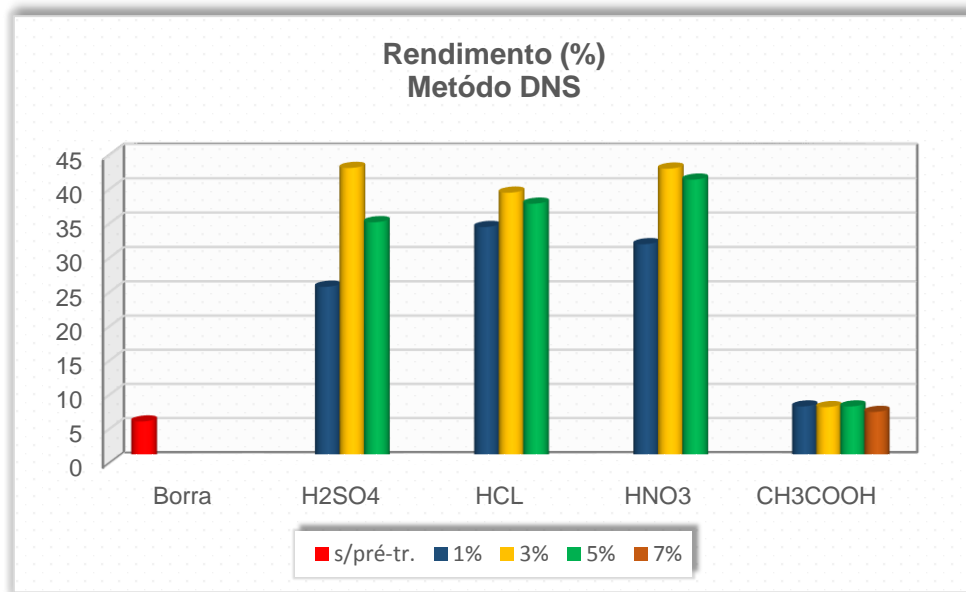


Figura 4.17 - Comparação do rendimento nos diversos ensaios, obtido através do método DNS

Analisando a Figura 4.17, confirma-se que se obtém um maior rendimento de glucose utilizando H_2SO_4 e HNO_3 a 3%, com rendimentos de 43,1% e 43,2%, respectivamente, seguido de HNO_3 a 5% com rendimento de 41,4%. Utilizando H_2SO_4 a 1% obteve-se rendimentos mais baixos (25,8%) em comparação com a mesma concentração de HCl (34,5%) e HNO_3 (32,0%). A utilização de CH_3COOH , ácido mais fraco em comparação com os demais, originou rendimentos mais baixos – entre 7,5 a 8,3%, mas ainda assim mais elevados, em comparação com a borra sem pré-tratamento, cujo rendimento igualou os 6,1%.

Comparando a Figura 4.16 com a Figura 4.17 nota-se que existe uma concordância de valores obtidos entre a concentração de glucose vs rendimento, ou seja, uma maior concentração de glucose originou também um aumento do rendimento para os diferentes ensaios realizados, apesar das diferenças entre as massas inicialmente pesadas de amostra e o volume de filtrado obtido, após o pré-tratamento e hidrólise enzimática.

4.2.2. Método refratométrico

Na refratometria é medido o índice de refração da solução de açúcar, determinando-o como sólido solúvel total. A temperatura influencia os valores do índice de refração e uma vez que a temperatura do banho do refratômetro por vezes variava entre leituras $^{\circ}\text{Brix}$, procedeu-se a uma correção das mesmas, para a temperatura de referência de 20 $^{\circ}\text{C}$. Os açúcares totais foram quantificados como glucose.

Pela Figura 4.18 confirma-se que o pré-tratamento com H_2SO_4 a 5% foi aquele que originou uma maior concentração de glucose (45,13 g/L) comparativamente a concentração de 3% e 1% no qual se obteve concentrações de glucose de 37,13 g/L e 30,73 g/L, respectivamente.

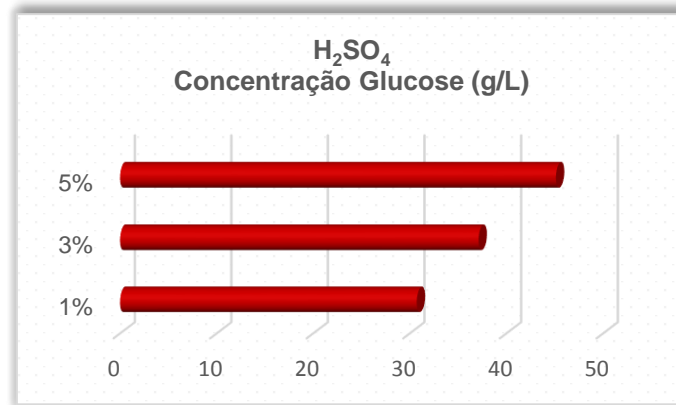


Figura 4.18 - Concentração de glicose (g/L) obtida pelo método refratométrico para o pré-tratamento com H₂SO₄

Contrariamente ao que se sucedeu com o H₂SO₄, confirma-se que a utilização de HCl com concentração mais baixa, de 3%, proporcionou uma maior concentração de glicose (22,73 g/L) em comparação com concentrações de ácido de 5% e de 1%, cuja concentração de glicose obtida rondou os 19,53 e 21,67 g/L, conforme se observa na Figura 4.19. Todavia, a diferença de concentrações de glicose obtidas para as várias concentrações de HCl não são muito significativas (variações entre 1,06 e 3,20 g de glicose/L) quando comparadas com as do ácido sulfúrico cuja variação entre a maior e menor concentração de glicose é de aproximadamente 14,40 g/L.

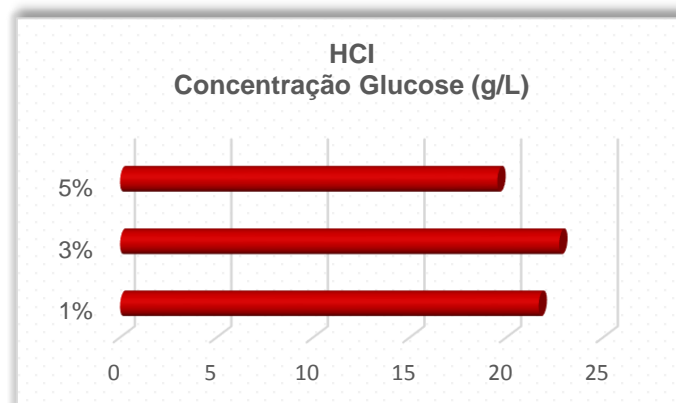


Figura 4.19 - Concentração de glicose (g/L) obtida pelo método refratométrico para o pré-tratamento com HCl

Esta consistência, no que diz respeito às concentrações de glicose utilizando o HCl no pré-tratamento, também se verificou no método anterior. Confirma-se que, uma variação na concentração de H₂SO₄ origina uma alteração mais acentuada na concentração de glicose, em comparação com o HCl. Ou seja, mediante os dados experimentais obtidos, o pré-tratamento da borra de café poderá ser mais eficiente quando usado o H₂SO₄ do que com

HCl, dado que se obtém alterações na concentração de glucose mais apreciáveis, quando se varia a concentração de ácido.

A ilustra a variação da concentração de glucose em função da concentração do HNO_3 e, verifica-se, que se obtém uma maior concentração de açúcares totais (cerca de 27,0 g/L) utilizando concentrações de ácido de 3%, embora esta não seja muito significativa quando equiparamos com a concentração de 5%, na qual se obteve 24,87 g/L de glucose. Contudo, ambas já são significativas, comparativamente à concentração de 1% de ácido, que originou 21,13 g/L de açúcares totais.

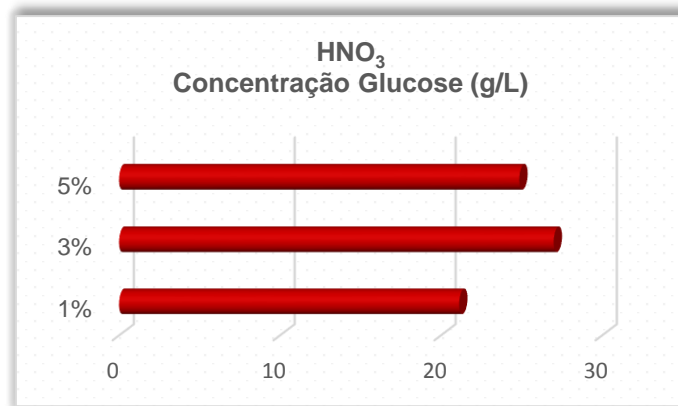


Figura 4.20 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método refratométrico para o pré-tratamento com HNO_3

Concentrações mais elevadas de CH_3COOH , originam uma crescente concentração de açúcares totais, tal como pode ser verificado na . Efetivamente, no caso deste ácido, à medida que se aumentou a sua concentração de 1% para 7%, a concentração de glucose elevou-se de 5,67 g/L para 28,06 g/L, ou seja, uma diferença de cerca de 22,39 g/L, constituindo a maior variação ocorrida ao longo dos ensaios, tanto para este método como para o anterior.

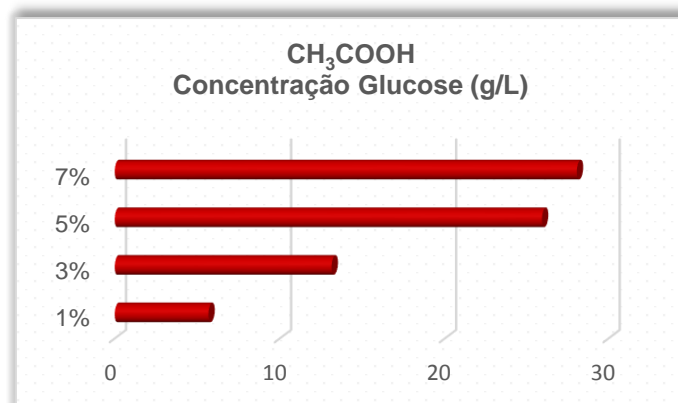


Figura 4.21 - Concentração de glucose (g/L) obtida pelo método refratométrico para o pré-tratamento com CH_3COOH

Os resultados obtidos para a concentração de glicose (g/L) em relação às diferentes concentrações de cada ácido, assim como para a borra de café, sem qualquer pré-tratamento, estão ilustrados na Figura 4.22.

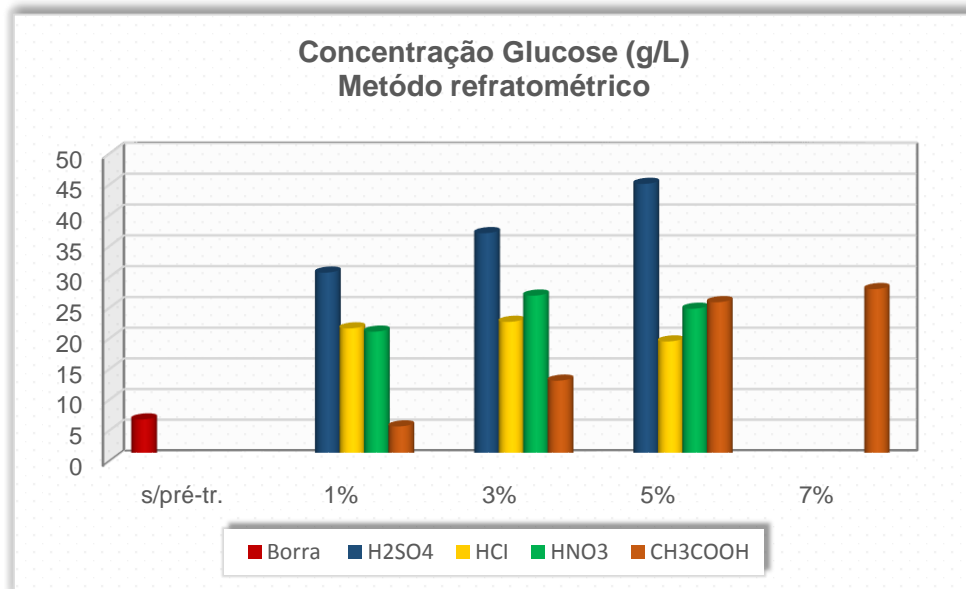


Figura 4.22 - Comparação da concentração da glicose (g/L) obtida pelo método refratométrico, para cada um dos ensaios de pré-tratamento

A concentração de açúcares totais obtidos utilizando no ensaio a borra sem pré-tratamento é superior (6,805 g/L) àquele em que se utilizou o CH₃COOH a 1% (5,672 g/L), conforme se constata na Figura 4.22. Verifica-se que o ensaio em que se utilizou H₂SO₄ a 5% originou uma maior concentração de açúcares totais e que mesmo com concentrações deste ácido mais baixas (1% e 3%) estas foram sempre superiores aos restantes ensaios, comprovando-se esta situação através da análise da Figura 4.23 em que se obteve melhores rendimentos para concentração de açúcares totais utilizando nos ensaios o H₂SO₄.

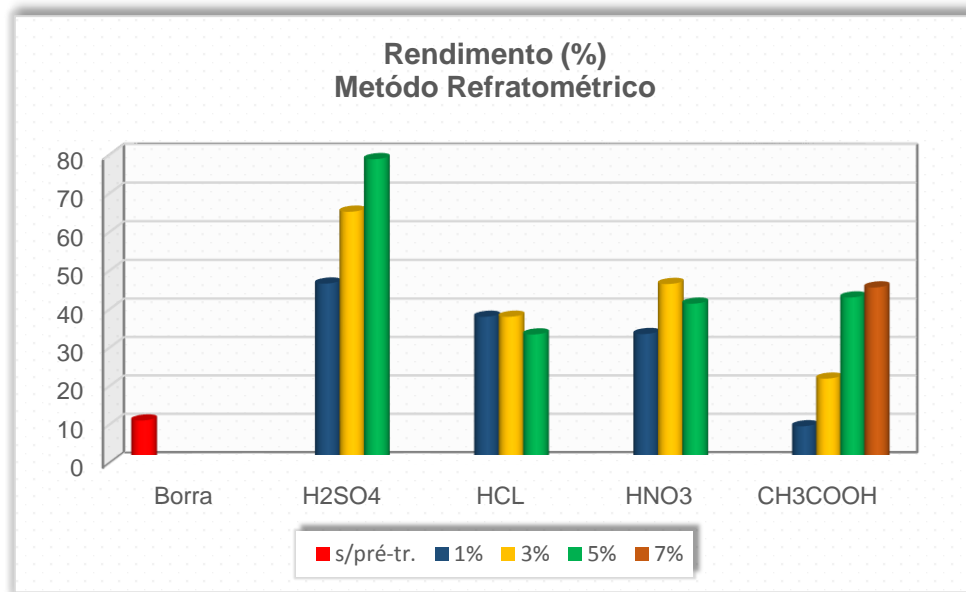


Figura 4.23 - Comparação do rendimento obtido nos diversos ensaios, através do método refratométrico

4.2.3. Método DNS vs refratométrico

Na generalidade dos ensaios realizados denota-se que o rendimento obtido pelo método refratométrico é superior ao obtido pelo método DNS. Este facto encontra-se em concordância com o esperado pois o método DNS avalia apenas os açúcares redutores totais, contrariamente ao método refratométrico que afere a totalidade de sólidos dissolvidos na solução, ou seja, açúcares, sais, proteínas e ácidos (Cavalcanti *et al*, 2006), por conseguinte, é um método menos seletivo em relação ao anterior e os resultados obtidos poderão induzir em erro na análise. Como exemplo, constatou-se que, utilizando H_2SO_4 a 5% obteve-se um rendimento em glucose de 78,9% mas na verdade este valor contabiliza outros compostos (tal como indicado acima) e não só a glucose, embora tenha sido referenciado que, ao longo deste trabalho, os açúcares totais seriam quantificados como glucose.

No que concerne à escolha de um ácido mais fraco para análise do rendimento dos açúcares, comparativamente ao H_2SO_4 , HCL, HNO_3 , constatei que a seleção do ácido acético não foi a mais apropriada pois este poderá ser tóxico para os microorganismos responsáveis pelo passo seguinte, a fermentação (Mussatto *et al*, 2012), dependendo da sua concentração. Mesmo que assim não fosse, este ácido seria excluído do pré-tratamento pois obteve-se um rendimento em açúcares redutores totais baixo, entre 8,2 e 7,5%, relativamente aos restantes ácidos, que na sua maior parte, apresentaram um rendimento acima dos 30%.

Nos dois métodos utilizados, DNS e refratométrico, o rendimento em glucose apresentou valores mais elevados na utilização de ácido H_2SO_4 a 3% - 43,1% e 65,3% - e de HNO_3 a 3% - 43,2% e 46,6% - assim como para concentração de ácido de 5% - 35,2% e 78,9% para o H_2SO_4 e 41,4% e 41,5% para HNO_3 - razão pela qual, no método seguinte apenas se

quantificou os açúcares para as concentrações destes ácidos, assim como para a borra de café sem qualquer pré-tratamento.

4.2.4. Método da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Este método, contrariamente aos anteriores, é mais seletivo dado que, é possível através do tempo de retenção e com o auxílio de uma curva de calibração, quantificar os açúcares de forma individual. Os ensaios foram realizados aos ácidos que apresentaram melhores resultados nos métodos anteriores, nomeadamente H_2SO_4 e HNO_3 com concentrações de 3 e 5% (v/v) assim como para a borra sem qualquer pré-tratamento.

Pela análise da constata-se que, o pré-tratamento utilizando o H_2SO_4 promoveu a formação de xilose, algo que não ocorreu com o HNO_3 e para a borra sem pré-tratamento. A xilose é uma pentose presente na hemicelulose e estes resultados evidenciam que o HNO_3 não é capaz de quebrar as ligações existentes nas hemiceluloses.

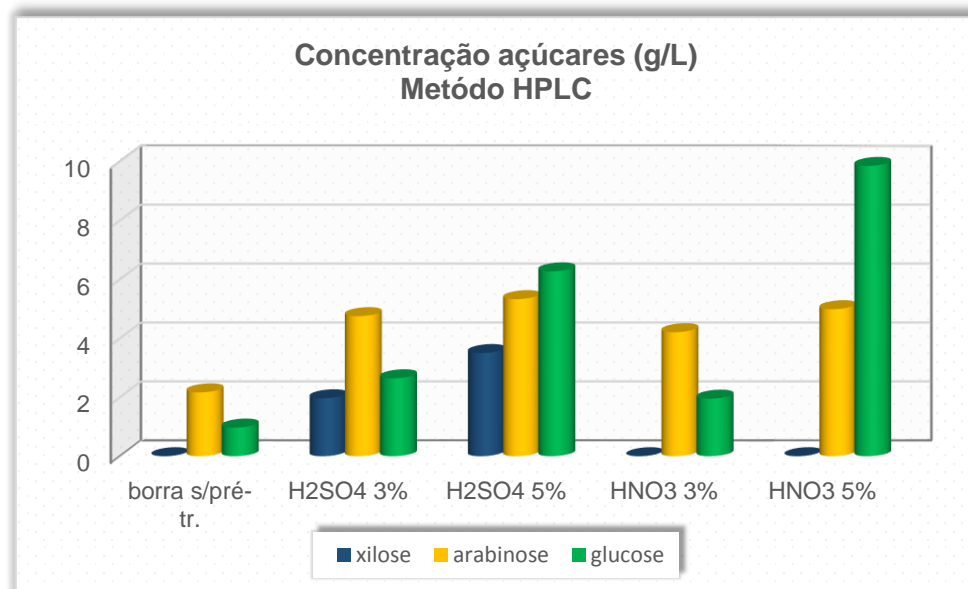


Figura 4.24 - Concentração (g/L) de xilose, arabinose e glucose obtidas pelo método HPLC

Pela informação bibliográfica contida na Tabela 1.1, seria de esperar, utilizando os ácidos diluídos, a formação de altas concentrações de xilose pois, a acção destes, promove a remoção entre 80 a 100% da hemicelulose. Através dos resultados obtidos poderemos concluir que a hidrólise, utilizando o HNO_3 , não foi completa pois, apesar da formação de arabinose, não se gerou xilose, o que contraria o esperado. O pré-tratamento ácido foi realizado durante 270 minutos a 85 °C, inferior ao tempo despendido na deslenhificação (caraterização da borra de café) de 360 minutos (e com temperaturas superiores) e, provavelmente neste ácido, não foi suficiente para a libertação de xilose. Uma outra explicação, poderá estar relacionada com a conversão da xilose em fural. Este composto

é produzido exclusivamente pela degradação das pentoses - sobretudo da xilose - que fazem parte da constituição da hemicelulose dos materiais lenhocelulósicos (Vázquez *et al*, 2007). Porém, a ocorrência deste facto é menos provável, pois estaríamos a falar de uma conversão de 100% de xilose em fural. De relembrar, tal como referido no Capítulo 2, que a formação deste composto constitui uma desvantagem do pré-tratamento ácido, pois trata-se de um inibidor que afeta o metabolismo dos microorganismos na fermentação (Mussatto *et al*, 2012). O pré-tratamento ácido incrementa a formação de açúcares, conforme se constata na . Como exemplo, a concentração de arabinose utilizando a borra sem pré-tratamento aumentou de 2,17 g/L para 4,75 g/L, quando se utiliza H₂SO₄ a 3%, o mesmo se verifica com a glucose que passou de 0,97 g/L para 2,65 g/L. Este facto já tinha sido verificado nos métodos anteriores. Globalmente poderemos afirmar que a utilização de H₂SO₄ com concentrações de 5% originam maiores rendimentos em xilose (6,1%), arabinose (9,3%) e glucose (11,0%), com exceção do HNO₃ a 5% que quantificou um rendimento de glucose bastante superior (16,3%), tal como se ilustra na Figura 4.25.

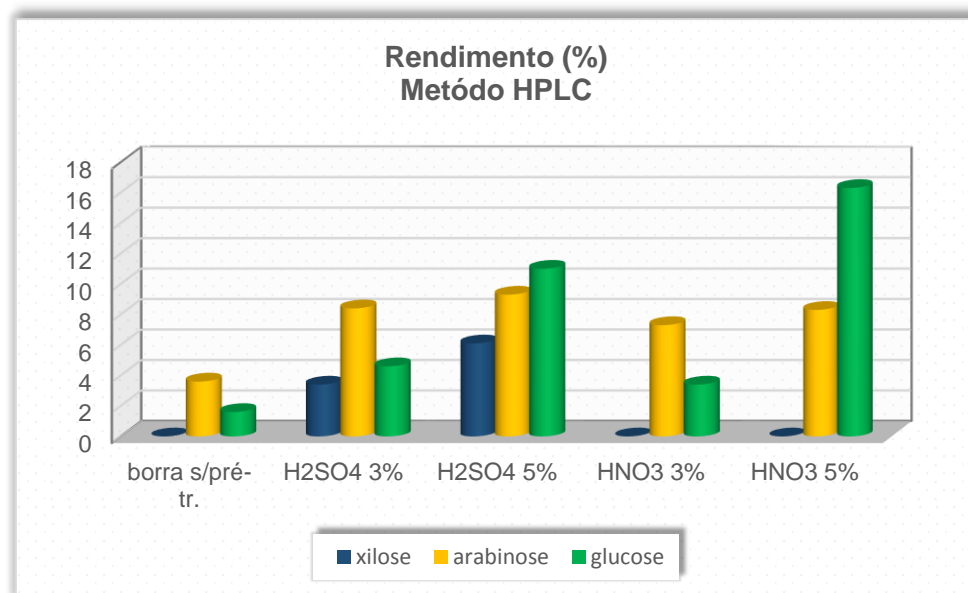


Figura 4.25 - Rendimento obtido no método HPLC para a xilose, arabinose e glucose utilizando H₂SO₄ e HNO₃ a 3 e 5%, e para a borra sem pré-tratamento

Porém, aquando a realização deste ensaio, houve uma falha técnica no ar comprimido que alimentava o detetor (razão pela qual se realizou apenas um ensaio) e, uma vez que a glucose é o composto que possui mais tempo de retenção, em comparação com a xilose e arabinose, a quantificação deste composto poderá ter sido comprometida.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Este trabalho teve como principal objetivo testar diferentes métodos de pré-tratamento ácido da borra de café, seguido de hidrólise enzimática, com vista à obtenção de açúcares simples, fermentáveis, visando a valorização da borra de café através da produção de bioetanol.

Para este efeito, inicialmente procedeu-se a uma caracterização físico-química da biomassa e, posteriormente, aplicou-se o pré-tratamento com diferentes concentrações de vários ácidos (H_2SO_4 , HCl, HNO_3 , CH_3COOH), seguido de hidrólise enzimática.

A borra de café foi caracterizada fisicamente, através da realização da análise granulométrica, em que se verificou que 64,75% (fração mássica) das partículas ficaram retidas nos peneiros com aberturas entre 500 e 250 μm , o que nos permite concluir que, globalmente, esta biomassa é constituída por finas partículas.

Na caracterização química, destaca-se o elevado poder calorífico desta biomassa, de 5082,82 cal/g, que possibilita a sua utilização como combustível sólido, por exemplo para caldeiras, assim como o seu baixo teor de cinzas - 1,83% - que nos indica que a constituição desta biomassa é fundamentalmente orgânica. O teor de humidade obtido foi de 49,28%, sendo expectável uma elevada percentagem pois este resíduo resulta da extração, com água quente pressurizada, de materiais solúveis. O teor de azoto tomou o valor de 2,20 g/100 g_{café} (base seca) e o de proteínas de 13,74 g/100 g_{café}. Uma análise química mais específica desta biomassa passou pela determinação do teor de celulose, cujo valor foi de 16,17% e do teor de lenhina total (29,04%). O elevado teor de lenhina obtido inviabiliza a utilização da borra de café como produto animal, pois a sua digestão é dificultada.

O pré-tratamento foi realizado através da utilização de concentrações (v/v) de 1% a 5% de ácido (H_2SO_4 , HCl, HNO_3 , CH_3COOH) e de 7% para o CH_3COOH , visto que este é um ácido mais fraco, a uma temperatura de 85 °C, com tempo de reação de 270 min e agitação de 50 rpm, na qual se utilizou um volume de solução de 200 mL. Posteriormente, acertou-se o pH do hidrolisado de cada um dos ensaios para próximo de 5 e adicionou-se enzima *Viscozyme L* na proporção de 100 μL enzima/g amostra, iniciando-se a hidrólise enzimática num banho a 50 °C, durante 120 minutos, mantendo a mesma velocidade de agitação do pré-tratamento. Finalmente, quantificou-se os açúcares formados por três métodos – DNS, refratométrico e por cromatografia líquida de alta eficiência.

O ácido sulfúrico e nítrico a 3% revelaram-se os melhores a utilizar para o pré-tratamento. Na obtenção de açúcares redutores totais (DNS) obteve-se um rendimento de 43,1% e 43,2%, respetivamente para o ácido sulfúrico e nítrico. Para o pré-tratamento com ácido nítrico a 5%, o rendimento foi de 41,4%. O ácido clorídrico, embora tenha originado rendimentos mais baixos (entre 34,5% e 39,5%) que os anteriores, foi o mais consistente quando se variou a sua concentração, pois as alterações no rendimento foram as menos significativas. Já no caso

do H_2SO_4 , confirma-se que existe uma maior sensibilidade da biomassa, no que respeita ao rendimentos em açúcares redutores totais, pois uma variação de concentração deste ácido, provocou uma maior oscilação do rendimento. De todos os ácidos testados aquele que produziu rendimentos mais baixos em açúcares redutores foi o CH_3COOH – rendimentos entre 7,5 e 8,3% - por conseguinte, não é uma boa opção no pré-tratamento ácido, além de que, poderá afetar o metabolismo dos microorganismos na etapa seguinte de obtenção de bioetanol, a fermentação, reduzindo a atividade destes.

Na determinação dos açúcares totais, realizada por refratometria, confirmou-se que o ácido sulfúrico a 5% foi aquele que promoveu um rendimento em açúcares totais mais alto - 78,9% - seguido da concentração de 3%, com rendimento de 65,3%.

Os produtos dos ensaios em que se obtiveram rendimentos mais altos pelos métodos anteriores foram sujeitos a análise pelo método de HPLC, este mais seletivo, em que se determinou o rendimento em xilose, arabinose e glucose. Confirmou-se que a utilização do HNO_3 tanto a 3% como a 5% não originou xilose concluindo-se que, ou a hidrólise ácida foi incompleta, ou toda a xilose formada foi convertida a furfural, sendo mais provável ter ocorrido a primeira situação.

O ácido sulfúrico a 5% foi aquele que originou maiores rendimentos em xilose, arabinose e glucose, que tomaram os valores de 6,1%, 9,3% e 11,0%, respetivamente. Não foi avaliado o ensaio realizado com o HNO_3 a 5%, dado que este ensaio provavelmente foi comprometido, devido a uma falha técnica do ar comprimido, que impossibilitou a realização de mais determinações analíticas.

A concentração de açúcares obtida no pré-tratamento ácido da borra de café, revela a potencialidade desta biomassa como matéria-prima para a obtenção de biocombustíveis - como por exemplo o bioetanol.

Este trabalho apresentou como maior limitação o tempo dispendido na realização do pré-tratamento e hidrólise enzimática. Toda a operação demorava cerca de 7 a 8 h e só era possível a sua concretização nos dias em que o laboratório se encontrava aberto no turno da noite. O tempo das análises no HPLC também foi moroso pois o hidrolisado da borra de café é bastante heterogéneo e, por vezes, o equipamento não apresentava resultados adequados, o que implicou a repetição de várias determinações por forma a obter uma coerência e reprodutibilidade dos mesmos.

Após a realização deste trabalho e mediante as limitações verificadas, sugere-se:

- Aumentar a temperatura de reação na etapa de pré-tratamento ácido, o que implica a diminuição do tempo de processamento;
- Realizar outro tipo de pré-tratamento mais direccionado para a alteração de estrutura da lenhina e da hemicelulose, como por exemplo organosolv ou explosão a vapor;

- Testar outro tipo de enzimas e modificar as condições operatórias da hidrólise enzimática, verificando a sua influência na concentração dos açúcares obtidos;
- Realizar o pré-tratamento em simultâneo com a hidrólise enzimática.

BIBLIOGRAFIA

- AICC (2015) - Associação Industrial e Comercial do Café. Disponível em <http://www.aicc.pt>, acessado em 28 de Fevereiro de 2016.
- Alves, B.H.P., Nascimento, E.A., Aquino, F.J.T., Chang, R. e Morais, S.A.L. (2007). Composição química de cafés torrados do Cerrado e do sul de Minas Gerais. *Ciência & Engenharia*, 16(1/2): 9 -15.
- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M. e Negro M., 2010. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, 101: 4851-4861.
- Balat, M. e Balat, H., 2009. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. *Applied Energy*, 86(11): 2273-2282.
- Balat M., Balat, H. e Öz, C., 2008. Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(5): 551-573.
- Ballesteros, L.F., Teixeira J.A., Mussatto, S.I., 2014. Chemical, functional, and structural properties of spent coffee grounds and coffee silverskin. *Food Bioprocess Technol*, 7: 3493-3503.
- BP Global, 2016. BP Energy Outlook, 2016 edition. Outlook to 2035. Disponível em <http://www.bp.com/>, acessado em 07 de Novembro de 2016.
- Cardoso, B., 2013. *Caracterização química e estudo da secagem da borra de café expresso*. Dissertação de Mestrado. Universidade Tiradentes. Aracaju, Se - Brasil.
- Carmo, D. e Silva, C., 2012. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36(4): 1211-1220.
- Cavalcanti, A., Oliveira, K., Paiva, P., Dias, M., Costa, S., Vieira, F, 2006. Determinação dos Sólidos Solúveis Totais (°Brix) e pH em Bebidas Lácteas e Sucos de Frutas Industrializados. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 6 (1): 57- 64.
- Carvalho, M., 2011. *Estudo cinético da hidrólise enzimática de celulose de bagaço de cana-de-açúcar*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos. Brasil.
- Chust, R.B, 1990. Introdução à Cromatografia de Líquidos (HPLC). *Boletim SPQ*, 39: 43-53.
- Codato, C., 2013. *Produção de etanol de 2ª geração por Dekkera bruxellensis a partir de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos. Brasil.

- Conti, M., Kitzberger, C., Scholz, M., Prudencio, S., 2013. Características Físicas e Químicas de cafés torrados e moídos exóticos e convencionais. *B. CEPPA, Curitiba*, 31(1):161-172.
- Cruz, R., Cardoso, M.M, Fernandes, L., Oliveira, M., Mendes, E., Baptista, P., Morais, S., Casal, S., 2012. Espresso Coffee Residues: A Valuable Source of Unextracted Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 7777-7784.
- Das, D. e Veziroğlu, T., 2001. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, 26: 13–28.
- Da-Silva, R., Franco, C. e Gomes, E., 1997. Pectinases, hemicelulases e celulases, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: Revisão. *Bol. SBCTA*, 31 (2): 249-260.
- Demirbas, A., 2011. Competitive liquid biofuels from biomass. *Applied Energy*, 88(1): 17-28.
- Demirbas, M., 2009. Biorefineries for biofuel upgrading: A critical review. *Applied Energy*, 86(1): S151-S161.
- EEA – European Environment Agency. *Trends and projections in Europe 2015 – Tracking progress towards Europe's climate and energy targets – report 4/2015*. <http://www.eea.europa.eu/>, acessado em 01 de Março de 2016.
- Furlan, V.J.M., 2009. *Produção de bioetanol a partir de resíduos celulósicos da agroindústria do arroz*. Dissertação de Mestrado. Escola de Química e Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande. Brasil.
- Gupta A. e Verma, J., 2015. Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41: 550-567.
- Hamelinck, C., Hooijdonk, G. e Faaij, A., 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term. *Biomass and Bioenergy*, 28(4): 384-410.
- IEA – International Energy Agency, 2008. From 1st- to 2nd- Generation biofuel technologies. *An overview of current industry and RD&D activities*. IEA Bioenergy, OECD/IEA.
- Jørgensen, H., Kristensen, J. e Felby, C., 2007. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. *Biofuels, Bioproducts & Biorefining*, 1: 119-134.
- Kuhad, R.C., Gupta, R., Khasa, Y.P., Singh, A. e Zhang Y.-H.P., 2011. Bioethanol production from pentose sugars: Current status and future prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(9): 4950-4962.

- Kumar P., Barrett, D., Delwiche M. e Stroeve, P., 2009. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48(8): 3713-3729.
- Li, X, Strezov, V.e Kan, T, 2014. Energy recovery potential analysis of spent coffee grounds pyrolysis products. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 110: 79-87.
- Magalhães, R., 2014. *Reaproveitamento do resíduo de café por extração de compostos de interesse*. Dissertação de Mestrado. Universidade de Aveiro. Portugal.
- MAPA Brasil, s/d. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres. Não alcoólicos, Sólidos Solúveis (°BRIX), Método 08, 1ª Ed.:1-7.
- Marques, L., 2012. *Produção de bioetanol a partir de resíduos agroindustriais*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve. Portugal.
- Masson, I., 2013. *Produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista-UNESP. Brasil.
- Miller, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31:426-428.
- Miller, G.T. e Spoolman, S., 2009. *Living in the Environment: Concepts, Connections, and Solutions*. Brooks/Cole, Cengage Learning, 16ª Ed., 373pp.
- Murthy, P., Naidu, M., 2012. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition-A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 66: 45-58.
- Mussatto, S.I. e Teixeira J.A., 2010. Lignocellulose as raw material in fermentation processes. In: Méndez-Vilas, A. (Ed.) *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. Formatex Research Center. Book Series number 2. Vol. 2. pp. 897-907.
- Mussatto, S., Carneiro, L., Silva, J., Roberto, I., Teixeira J., 2011(a). A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers*, 83: 368-374.
- Mussatto, S., Machado, E., Martins, S., Teixeira, J., 2011b. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food Bioprocess Technol*, 4: 661-672.
- Mussatto, S., Machado, E., Carneiro, L. e Teixeira, J., 2012. Sugars metabolism and ethanol production by different yeast strains from coffee industry wastes hydrolysates. *Applied Energy*, 92: 763-768.

- Mussatto, S., Dragone, G., Guimarães, P., Silva, P., Carneiro, L., Roberto, I., Vicente, A., Domingues, L. e Teixeira J., 2010. Technological trends, global market, and challenges of bioethanol production. *Biotechnology Advances*, 28: 817-830.
- Naik, S., Goud, V., Rout, P. e Dalai, A., 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14: 578-597.
- Sá, C., 2012. *Caracterização de linhagens de Saccharomyces cerevisiae e Zymomonas mobilis para a aplicação na produção de bioetanol*. Dissertação de Pós-Graduação. Universidade Federal de Pernambuco. Brasil.
- Santos, F., 2009(a). Os desafios ambientais criados pela grande aceleração do pós-guerra. *Nação e Defesa*, 122 (4): 61-78.
- Santos, F., Queiróz, J., Colodette, J., Fernandes, S., Guimarães V. e Rezende, S., 2012. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. *Química Nova*, 35 (5): 1004-1010.
- Santos, J., 2009(b). *Secagem da borra de café em secador ciclônico*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras. Brasil.
- Silva, J.T. Estrutura e propriedades dos carboidratos. Instituto de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro. acessado a 4/3/2016 em <http://slideplayer.com.br/slide/365369/>.
- Silva, M.A, Nebra, S.A, Silva, M.J.M e Sanchez, C.G., 1998. The use of biomass residues in the Brazilian soluble coffee industry. *Biomass Bioenergy*, 14(5/6):457-67.
- Silva, V., 2011. *Valorização de Cápsulas de Café e Produção de Biocombustíveis*. Dissertação de Mestrado. Instituto Superior de Engenharia do Porto. Portugal.
- Siqueira, G., 2015. *Efeito da lignina de bagaços de cana-de-açúcar pré-tratados na hidrólise enzimática da celulose*. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de Lorena. Universidade de São Paulo. Acessado em 1.5.2016 em <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/97/97131/tde-05082015-152627/>.
- Soares, L., Moris, V., Yamaji, F., Paiva, J., 2015. Utilização de resíduos de borra de café e serragem na moldagem de briquetes e avaliação de propriedades. *Revista Matéria*, 20 (2):550-560.
- Sun, Y. e Cheng, J., 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, 83: 1-11.
- Taherzadeh, M. e Karimi, K., 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 9: 1621- 1651.

Vázquez, M., Oliva, M., Téllez-Luis, S., Ramírez, J., 2007. Hydrolysis of sorghum straw using phosphoric acid : Evaluation of furfural production. *Bioresource Technology*, 98 :3053 – 3060.

Vieira, A., 2012. *Caracterização da biomassa proveniente de resíduos agrícolas para a geração de energia*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Brasil.

Zaldivar, J., Nielsen, J. e Olsson, L., 2001. Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(1): 17-34.

Zuorro, A. e Lavecchia, R., 2012. Spent coffee grounds as a valuable source of phenolic compounds and bioenergy. *Journal of Cleaner Production*, 34:49-56.

Legislação

Directiva n.º 2009/28/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Abril de 2009, Relativa à promoção da utilização de energia proveniente de fontes renováveis. Jornal Oficial da União Europeia L140/16 – L140/62 de 5/6/2009.

Fonte de imagens

Figura 1.1 - Emissões de CO₂ intercontinentais entre 1968 e 2015

Fonte: BP . Disponível em : <http://www.bp.com/en/global/corporate/energy-economics/statistical-review-of-world-energy/co2-emissions.html>

Consultado em 27 de Outubro de 2016

Figura 1.4 - Estrutura do grão de café

Fonte: Wikimedia (adaptado). Disponível em: <https://commons.wikimedia.org/wiki/Coffee>.

Consultado em 03 de Outubro de 2016.

Figura 1.5 - Relação entre produção e consumo mundial de café

Fonte: Investing.com Brasil . Disponível em : <http://br.investing.com/>

Consultado em 09 de Novembro de 2016

Figura 2.1 - Evolução da produção de bioetanol

Fonte: Renewable Fuels Association . Disponível em

<http://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1454098996479-8715d404-e546>

Consultado em 09 de Novembro de 2016

ANEXOS

Anexo A - Procedimento Experimental

Neste capítulo é descrito todo o procedimento experimental realizado para a caracterização da matéria prima, a borra de café assim como os métodos utilizados para a quantificação dos açúcares.

A.1. Caracterização da borra de café

A borra de café foi caracterizada através da avaliação dos seguintes parâmetros:

- Análise granulométrica;
- Teor de humidade;
- Teor de cinzas;
- Poder calorífico superior;
- Teor de carbono;
- Teor de azoto;
- Teor de proteínas;
- Teor de matéria gorda;
- Teor de celulose bruta;
- Teor de lenhina.

De seguida descrevem-se os procedimentos adotados para a caracterização da biomassa.

A.1.1. Análise granulométrica

Para a classificação granulométrica recorreu-se ao método da crivagem. Após o término do ensaio, a borra de café retida em cada um dos peneiros foi pesada e, conforme a sua dimensão, distribuída por classes.

Material:

- Balança (*Pioneer Ohaus*);
- Agitador (*Retsch AS 200*);
- Peneiros (*Retsch*).

Reagentes:

- Borra de café.

Procedimento:

- Escolher um conjunto de peneiros com diferentes aberturas de malhas e pesá-los;

- Montar, sob o agitador, uma coluna de peneiros por ordem decrescente de abertura de malha;
- Pesquisar uma considerável quantidade de amostra e colocá-la no peneiro superior da coluna;
- Colocar a tampa e enroscar os parafusos, por forma a que não fiquem com folga;
- Programar o tempo e a amplitude de vibração e ligar o aparelho;
- Findo o tempo de vibração, desmontar a coluna de peneiros e pesar cada um deles.

A massa de café (%), é distribuída por classes conforme a dimensão da malha do peneiro, utilizando equação A.1:

$$(\%) = \frac{m_{\text{café retido}}}{m_{\text{café total final}}} \times 100$$

(Equação A.1)

Em que,

$m_{\text{café retido}}$ – Massa de amostra de borra de café retida em cada peneiro (g)

$m_{\text{café total final}}$ – Massa total de borra de café retida nos peneiros (g)

A.1.2. Determinação do teor de humidade

O teor de humidade foi determinado através do método direto em que mediante um processo de aquecimento da borra de café na estufa a uma dada temperatura, a água presente na amostra é volatilizada e o teor de humidade é calculado através da diferença de peso da amostra antes e depois da secagem. O material necessário e o procedimento utilizado são descritos de seguida.

Material:

- Balança analítica (*Kern ALJ 220-4*);
- Cadinho de porcelana;
- Estufa a 105 ± 5 °C (*WTB Binder*);
- Exsiccador.

Reagentes:

- Borra de café.

Procedimento:

- Pesar o cadinho de porcelana, previamente seco na estufa a 105 ± 5 °C;
- Após tarar, pesar rigorosamente $10 \pm 0,001$ g de amostra de café;

- Colocar na estufa a 105 ± 5 °C durante cerca de 2 horas;
- Arrefecer no exsiccador até estabilização da temperatura;
- Pesar a amostra;
- Repetir os ciclos de secagem na estufa e arrefecimento no exsiccador até manutenção do peso.

O teor de humidade (%) é determinado a partir da equação A.2:

$$H (\%) = \frac{m_{\text{amostra}} - m_{\text{amostra seca}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

(Equação A.2)

Em que,

m_{amostra} – Massa de amostra de borra de café (g)

$m_{\text{amostra seca}}$ – Massa de amostra de borra de café seca a 105 °C (g)

A.1.3. Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas que corresponde à percentagem de produto resultante da calcinação de uma amostra, foi determinado conforme o exposto no *Standard Methods* (método 2540 E) cujo procedimento se descreve de seguida.

Material:

- Cadinho de porcelana;
- Mufla (*Nabertherm*);
- Balança analítica (*Kern ALJ 220-4*);
- Exsiccador.

Reagentes:

- Borra de café.

Procedimento:

- Pesar o cadinho de porcelana, após a sua calcinação na mufla a 550 ± 5 °C e arrefecimento no exsiccador;
- Após tarar, pesar $5 \pm 0,0001$ g de amostra seca de café;
- Calcinar na mufla durante 1 hora a 550 ± 5 °C;
- Retirar o cadinho, cuidadosamente, para o exsiccador e deixar arrefecer durante cerca de 30 minutos;
- Pesar o cadinho que contém a amostra, rigorosamente;

- Repetir os ciclos de calcinação, arrefecimento e pesagem até estabilização do peso.

O teor de cinzas (%) é calculado através da equação A.3:

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{m_{\text{cinzas}}}{m_{\text{amostra seca}}} \times 100$$

(Equação A.3)

Onde,

m_{cinzas} – Massa de cinzas (g)

A.1.4. Determinação do poder calorífico superior

O poder calorífico de um combustível corresponde a quantidade de energia interna nele contida. O PCS é dado pela soma da energia libertada na forma de calor e a energia gasta na vaporização da água que se forma numa reação de combustão.

Para quantificar o poder calorífico superior seguiu-se o procedimento da norma *ASTM D5865-10* descrito de seguida.

Material:

- Calorímetro (*Parr 6772*);
- Termopar;
- Agitador;
- Fio de fusão;
- Vidro de relógio;
- Balança analítica (*Kern ALJ 220-4*).

Reagentes:

- Pastilha de ácido benzóico (*Parr*);
- Água desionizada;
- Borra de café.

Procedimento:

- Pesar 2000,0 g de água desionizada para o balde calorimétrico, previamente tarado;
- Colocá-lo no Calorímetro *Parr 6772*;
- Medir e cortar 10 cm de fio de fusão colocando-o no suporte, tendo em atenção que as pontas fiquem devidamente presas;
- Pesar $0,5 \pm 0,0001$ g de amostra seca de café e colocar na cápsula, previamente tarada;

- Colocar o fio de fusão sobre a amostra e, por cima deste, uma pastilha de ácido benzóico com $0,5 \pm 0,001$ g;
- Introduzir o suporte com a amostra no interior da bomba tendo em atenção para não tocar com fio na parede da cápsula e que este permaneça em contacto com a amostra;



Figura A.1 - Bomba calorimétrica

- No interior da bomba introduzir cerca de 1,0 mL de água desionizada que irá absorver os gases formados durante a combustão;
- Fechar a bomba, humedecendo a rosca e o ponto de contacto com a botija, mantendo a válvula de saída dos gases aberta;
- Fechar a válvula dos gases e colocar o ponto de contacto na bomba;
- Encher lentamente a bomba com oxigénio até à pressão de 30 atm utilizando para esse efeito a válvula;
- Colocar a bomba dentro do balde calorímetro no local destinado para esse efeito;
- Após colocação dos cabos e verificação da inexistência de saída de gases, colocar a tampa do corpo do calorímetro, que contém o agitador e o termopar;
- Colocar a correia no topo do calorímetro e iniciar a rotação;
- Iniciar o ensaio após programar o equipamento.

O Poder Calorífico Superior é calculado através da equação A.4:

$$PCS_{\text{final}} \times m_{\text{final}} = PCS_{\text{amostra}} \times m_{\text{amostra}} + PCS_{\text{ácido}} \times m_{\text{ácido}}$$

(Equação A.4)

Em que,

PCS_{final} – Poder calorífico superior final (cal/g)

m_{final} – Massa final (g)

$PCS_{amostra}$ – Poder calorífico superior da amostra de borra de café (cal/g)

$m_{amostra}$ – Massa de amostra de borra de café (g)

$PCS_{ácido}$ – Poder calorífico superior do ácido benzóico (cal/g)

$m_{ácido}$ – Massa de ácido benzóico (g)

A.1.5. Determinação do teor de carbono

O teor de carbono foi determinado segundo o procedimento do aparelho analisador de Carbono Orgânico Total (*Shimadzu, TOC-V_{CSN} Analyzer*), com o módulo análise de sólidos (*Shimadzu, Solide Sample Module, SSM-5000A*).

Material:

- Analisador de COT (*Shimadzu, TOC-V_{CSN} Analyzer*);
- Balança analítica (*Kern ALJ 220-4*).

Reagentes/Soluções:

- Ácido fosfórico puro.

Etapa 1. Determinação do teor de carbono total (CT)

Nesta etapa a amostra é cataliticamente oxidada a CO₂ sendo este, posteriormente, transportado por uma corrente de ar até ao espectrómetro de infravermelho que determina a sua concentração, sendo esta relacionada com o CT.

Procedimento:

- Ligar a botija de oxigénio estabelecendo uma pressão 300 kPa;
- Ligar o teor de carbono total e carbono inorgânico, respetivamente;
- Pesar $0,05 \pm 0,0001$ g de amostra para uma barquinha;
- Colocar a barquinha no equipamento e seguir as instruções do mesmo;
- Após o término da operação, mover o manípulo para “cooling” por forma a arrefecer o equipamento;
- Registar os valores da concentração que aparece no visor.

Etapa 2. Determinação do teor de carbono inorgânico (CI)

Para a determinação do CI adotar o mesmo procedimento que para o CT, todavia, após colocar a barquinha no equipamento, deve-se efetuar duas bombadas de ácido fosfórico puro que vai converter os carbonatos e bicarbonatos em CO₂, que posteriormente é quantificado por espetrometria de infravermelho.

O carbono orgânico total (COT) é o obtido através da diferença entre o CT e o CI, conforme equação A.5.

$$\text{COT} = \text{CT} - \text{CI}$$

(Equação A.5)

Nota : Caso o CT se encontre fora da curva de calibração é necessário uma diluição da amostra.

A.1.6. Determinação do teor de azoto

Para a determinação do teor de azoto seguiu-se o método *Kjeldahl* que se divide em três etapas fundamentais: a digestão , a destilação e titulação.

Inicialmente, a matéria orgânica da amostra é decomposta através da digestão, a altas temperaturas, com ácido sulfúrico concentrado, na presença de um catalisador que acelera a sua oxidação. O carbono presente na matéria orgânica é oxidado, libertando-se dióxido de carbono, enquanto que as formas azotadas reagem como H_2SO_4 originando sulfato de amónio . Durante esta etapa, a solução passa de coloração escura para um verde claro.

Posteriormente à digestão, através da alcalinização do meio com hidróxido de sódio a 40%, o sulfato de amónio é destilado, libertando-se amoníaco que é recolhido numa solução de ácido bórico, que contém o indicador .O processo cessa quando a solução de ácido bórico passa de coloração rósea para azulada devido à formação de borato de amónio.

Finalmente o borato de amónio é titulado com ácido clorídrico com título conhecido, até viragem do indicador. Desta forma determina-se a quantidade de amoníaco existente na amostra e conseqüentemente o azoto total.

Material:

- Digestor (*Raypa*);
- Tubos *Kjeldahl*;
- Destilador (*Kjeltec System 1002*);
- Balança analítica (*Kern ALJ 220-4*);
- Provetas 15 mL ,25 , 50, e 100 mL;
- Matrazes de 250 mL.

Reagentes/Soluções:

- Octanol (*Carlo Erba reagents*);
- Pastilhas de catalisador;
- H_2SO_4 concentrado (*Analar Normapur*);
- Ácido bórico a 4%;

- HCl a 0,01 N;
- NaOH a 40%;
- Indicador misto;
- Água desionizada;
- Borra de café.

Procedimento:

Etapa 1. Digestão

- Pesar rigorosamente $0,05 \pm 0,0001$ g de amostra seca para um tubo *Kjeldahl*;
- Juntar lentamente 12,0 mL de H₂SO₄ concentrado;
- Adicionar 6 a 8 gotas de octanol;
- Juntar duas pastilhas de catalisador;
- Proceder a réplicas de cada amostra e 2 ensaios em branco substituindo a amostra por água desionizada;
- Colocar algumas esferas de vidro e homogeneizar a mistura;
- Posicionar os tubos no digestor, adaptar o sistema de sucção de gases e ligar o equipamento;
- Programar o controlador por forma a efetuar um patamar de meia hora a 180 °C;
- Caso não haja formação excessiva de espuma, aumentar gradualmente a temperatura até 380 °C durante 2 horas. Caso contrário, é necessário arrefecer e recomeçar o ensaio com uma menor quantidade de amostra e adição de mais algumas gotas de octanol;
- Após término do ensaio, desligar o digestor e verificar se a solução final se encontra límpida-tom azul/verde ou incolor. Em caso afirmativo, os tubos passam para a fase seguinte. Caso se verifique resíduos ou se a solução se apresentar muito escura é necessário adicionar mais ácido -dependendo da quantidade de resíduo existente- e reaquecer até obtenção do resultado desejado;
- Retirar os tubos do digestor e após arrefecimento adicionar 75,0 mL de água desionizada.

Etapa 2. Destilação e titulação

- Colocar no destilador um tubo *Kjeldahl* com água desmineralizada e um matraz com água e iniciar uma lavagem de 4 minutos;
- Após lavagem, colocar um matraz com 25,00 mL de ácido bórico a 4% no destilador e, no tubo *Kjeldahl*, adicionar duas bombadas de hidróxido de sódio a 40%, correspondente a cerca de 50 mL;

- Abrir a válvula de vapor e de água e destilar durante 4 minutos;
- Posteriormente titular o amoníaco (NH₃) recolhido no matraz com HCL a 0,01 N utilizando o indicador misto. A titulação cessa quando se verificar a passagem de cor verde para rosa;
- Repetir o procedimento para as restantes réplicas, efetuando sempre uma nova lavagem entre as destilações.

O teor de azoto (%) é calculado através da equação A.6:

$$N_{\text{Kjeldahl}} = \frac{(V_A - V_B) \times N \times 14,007 \times 100}{m_{\text{amostra}} \times 1000}$$

(Equação A.6)

Em que:

V_A – Volume de HCl gasto na titulação da amostra (mL)

V_B – Volume de HCl gasto na titulação do branco (mL)

N – Normalidade de HCl (N)

m_{amostra} – Massa de amostra de borra de café (g)

A.1.7. Determinação do teor de proteínas

Para estimar o teor de proteínas multiplica-se o valor do azoto total, determinado no procedimento anterior, por um fator de 6,25 dado que a maioria das proteínas contém nas suas moléculas cerca de 16% de nitrogénio. O seu valor é dado pelo resultado da equação A.7.

$$\text{Teor de proteínas} = 6,25 \times \text{Teor de azoto}$$

(Equação A.7)

A.1.8. Determinação do teor de matéria gorda

O teor de matéria gorda foi determinado através do procedimento especificado na norma portuguesa *NP-1005: 1974*, utilizando para esse efeito o método de extração *Soxhlet* que envolveu duas etapas- a extração de óleo da borra de café e a sua recuperação, que se descreve seguidamente.

Material:

- Balança analítica (*Kern ALJ 220-4*);
- Cartucho de celulose;
- Algodão;

- Proveta de 250 mL;
- Balão de aquecimento de 250 mL;
- Balão de aquecimento de 500 mL;
- Manta de aquecimento (*Labmaster Isopad*);
- Pipeta 1 mL;
- Refratômetro de Abbe (*Atago*);
- Extrator *Soxhlet*;
- Suporte universal;
- Condensador de refluxo;
- Rotavapor (*Buchi*);
- Banho termostatizado (*Buchi*).

Reagentes/Soluções:

- Solução de hexano (*Labchem*);
- Borra de café.

Procedimento:

Etapa 1. Extração do óleo

- Pesar cerca de 9-10 g de amostra, previamente seca na estufa a 105 ± 5 °C;
- Colocar no cartucho de celulose, previamente seco, cobrindo-a com algodão por forma a evitar o arrastamento da mesma;
- Colocar o cartucho no interior do extrator *Soxhlet*;
- Pesar um balão de aquecimento de 250 mL, previamente seco;
- Medir 200 mL de hexano e colocar no balão de aquecimento;
- Colocar o balão na manta de aquecimento, unir o balão ao *Soxhlet* e este ao condensador, tendo em atenção a lubrificação das partes com vaselina ou silicone;
- Ligar a entrada e saída de água do condensador;
- Ligar a manta de aquecimento. Antes de descarga do solvente, retirar 1 mL de líquido que envolve o cartucho;
- Ler o índice de refração no refratômetro *Abbe*;
- Anotar o número de contactos e temperatura do banho termostatizado;
- A extração cessa quando o índice de refração, entre contactos, estabiliza.

Etapa 2. Recuperação do óleo (destilação sobre vácuo)

- Unir o balão, com a mistura de hexano e óleo, ao evaporador e mergulhar no banho de aquecimento;

- Acoplar o balão recetor ao condensador;
- Ligar o sistema de refrigeração do condensador e o sistema de vácuo;
- Definir a temperatura de banho de aquecimento (65 °C);
- Realizar o ensaio até total vaporização do solvente;
- Pesar o balão de aquecimento que contém o óleo.



Figura A.2 - Rotavapor

O teor de matéria gorda (%) é calculado através da Equação A.8

$$G (\%) = \frac{m_{\text{óleo}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

(Equação A.8)

Em que,

$m_{\text{óleo}}$ – Massa de óleo (g)

m_{amostra} – Massa de amostra de borra de café (g)

A1.9. Determinação do teor de celulose bruta

A quantificação do teor de celulose bruta foi determinada de acordo com a norma portuguesa *NP-1005: 1974*. Nesta determinação sujeita-se a amostra a um tratamento com ácido sulfúrico e hidróxido de sódio conforme se descreve de seguida.

Material:

- Balança analítica (*Kern ALJ 220-4*);
- Vidro de relógio;
- Balão de aquecimento de 500 mL;
- Esferas de vidro;
- Provetas;

- Manta de aquecimento (*Labmaster Isopad*);
- Placa de aquecimento (*Raypa*);
- Condensador de refluxo;
- Bomba de vácuo (*Neuberger*);
- Membrana de fibra de vidro;
- Estufa a 103 ± 2 °C (*WTB Binder*);
- Mufla a 600 ± 25 °C (*Nabertherm*);
- Cadinho de porcelana;
- Exsicador.

Reagentes/Soluções:

- Solução de H_2SO_4 a 0,1 N;
- Água desionizada;
- Solução de NaOH a 0,1 N;
- Álcool etílico a 96% (*Analar Normapur*);
- Borra de café.

Procedimento:

- Após extrair a matéria gorda pesar $2 \pm 0,0001$ g de amostra e colocar-la num balão de aquecimento;
- Juntar 200 mL de H_2SO_4 a 0,1 N aquecido à ebulição e adicionar esferas de vidro por forma a evitar ebulição excessiva;
- Colocar o balão numa manta de aquecimento e ligar ao condensador de refluxo, tendo em atenção a lubrificação das partes com vaselina ou silicone;



Figura A.3 - Condensador de refluxo

- Ligar o sistema de entrada e saída de água (refrigeração);
- Ligar a manta de aquecimento por forma a proporcionar a ebulição da mistura ao fim de um minuto e manter em ebulição durante 30 minutos;
- Proceder a filtração da mistura em vácuo utilizando uma membrana de fibra de vidro;
- Lavar resíduo de filtração com 50 mL de água desionizada, em ebulição, até pH neutro;
- O resíduo que possa ter sido transferido para o dispositivo de filtração deverá retomar ao balão com auxílio de 200 mL de NaOH a 0,1 N, em ebulição;
- Ligar novamente o balão ao condensador e levar à ebulição durante 30 minutos;
- Filtrar novamente a mistura em vácuo, lavando o resíduo de filtração com água desionizada em ebulição, até pH neutro;
- Após neutralização, lavar o resíduo com 50 mL de álcool etílico a 96%;
- Transferir o resíduo para um cadinho de porcelana, previamente calcinado na mufla e pesado;
- Levar o resíduo à estufa a 103 ± 2 °C, até estabilização de peso;
- Calcinar o resíduo na mufla a 600 ± 25 °C, arrefecer no exsiccador e pesar.



Figura A.4 - Aspeto da amostra após calcinação

O teor de celulose bruta (%) é calculado através da Equação A.9

$$\text{Teor de celulose bruta (\%)} = \frac{(m_1 - m_2) \times [100 - (H + G)]}{2}$$

(Equação A.9)

Em que,

m_1 – Massa de borra café seca (g)

m_2 – Massa de borra café calcinada (g)

H – Teor de Humidade (%)

G – Teor de Matéria Gorda (%)

A.1.10. Teor de lenhina

A determinação da lenhina total envolveu duas etapas, a determinação da lenhina insolúvel, também designada de Klason, e da lenhina solúvel. A soma de ambas indica-nos a quantidade de lenhina total existente na nossa amostra, a borra de café. A determinação deste parâmetro foi realizada de acordo com a norma *TAPPI T222om-06* seguidamente descrito.

Etapa 1. Determinação da Lenhina Klason

Material:

- Vidro de relógio;
- Balança analítica (*Kern ALJ 220-4*);
- Gobelés;
- Pipeta volumétrica de 15 mL;
- Banho termostaticado com agitação (*Selecta Unitronic OR-C*);
- Provetas;
- Placa de aquecimento (*Raypa*);
- Bomba de vácuo (*Neuberger*);
- Filtros de membrana de vidro;
- Estufa a 105 ± 5 °C (*WTB Binder*);
- Cadinho de porcelana;
- Exsicador.

Reagentes/Soluções:

- Solução de H₂SO₄ a 72%;
- Água desionizada;
- Borra de café.

Procedimento:

- Pesar $1 \pm 0,0001$ g de amostra seca para o vidro de relógio;
- Colocar num gobelé e adicionar lentamente 15,00 mL de H₂SO₄ a 72%, com agitação constante;
- Manter o gobelé num banho a 2 ± 1 °C durante a dispersão do material;
- Após a dispersão da amostra, tapar o gobelé com vidro de relógio e levar a um banho termostaticado a 20 ± 1 °C com agitação constante, durante 2 horas;
- Findo este período, adicionar 575 mL de água desionizada e levar à ebulição durante 4 horas. Ter em atenção em manter o volume da solução igual ao inicial, adicionando água desionizada em ebulição;

- Após esse tempo, aguardar a deposição de todas as partículas;
- Filtrar a solução num sistema de filtração a vácuo, utilizando membrana de fibra de vidro previamente seca e pesada;
- Efetuar a lavagem do resíduo com a água desionizada em ebulição;
- Colocar o resíduo num cadinho de porcelana, previamente seco na estufa, e levar à estufa a $105 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ (*WTB Binder*);



Figura A.5 - Resíduo obtido após filtração

- Após arrefecimento num exsiccador pesar e repetir o ciclo de secagem e arrefecimento até obtenção de peso constante.

O teor de lenhina Klason (%) é calculado através da Equação A.10

$$\text{Lenhina Klason (\%)} = \frac{m_{\text{lenhina}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

(Equação A.10)

Onde,

m_{lenhina} – Massa de lenhina (g)

m_{amostra} – Massa de amostra de borra de café (g)

Etapa 2. Lenhina Solúvel

A partir do filtrado resultante do procedimento anterior procede-se à leitura da absorvância no comprimento de onda (λ) a 205 nm que corresponderá a lenhina solúvel.

Material:

- Espectrofotômetro UV-Vis (*Shimadzu, UV-160 A*), $\lambda = 205 \text{ nm}$;
- Cuvetes de quartzo;
- Pipeta de Pasteur.

Reagentes/Soluções:

- Filtrado do procedimento anterior.

Procedimento:

- Medir o volume do filtrado obtido na determinação anterior;
- Colocar na cuvete de quartzo e ler a sua absorvância a 205 nm;
- Caso se verifique uma absorvância superior a 1, diluir o filtrado e ler novamente. Repetir este passo até obtenção de absorvância a 205 nm inferior a 1.

O teor de lenhina solúvel (%) é determinado de acordo com a Equação A.11

$$\text{Lenhina Solúvel (\%)} = \frac{A_{205\text{nm}} \times V_{\text{filtrado}} \times f}{\varepsilon \times m_{\text{amostra seca}}} \times 100$$

(Equação A.11)

Em que,

$A_{205\text{nm}}$ – Absorvância lida no espectrofotómetro UV-VIS para um comprimento de onda de 205 nm;

V_{filtrado} – Volume de filtrado (mL);

f – Fator de diluição;

ε - Fator de conversão igual a 110 dm³/g.cm;

Tal como referido anteriormente o Teor de lenhina total (%) é dado pela Equação A.12:

$$\text{Lenhina Total (\%)} = \text{Lenhina Klason (\%)} + \text{Lenhina Solúvel (\%)}$$

(Equação A.12)

A.2. Quantificação dos açúcares**A.2.1. Método do DNS**

Os açúcares redutores, tal como referenciado anteriormente, foram determinados recorrendo ao método DNS, que se descreve de seguida.

Material:

- Espectrofotómetro UV-Vis (*Shimadzu, UV-160 A*), $\lambda = 540$ nm;
- Vortex (2 *Genie, Scientific Industries*);
- Cuvetes PMMA;
- Placa de aquecimento (*Selecta*);

- Tubo de ensaio de rosca;
- Micropipeta;
- Gobelés;
- Pipeta graduada de 10 mL.

Reagentes/Soluções:

- Solução de ácido 3,5-dinitrosalicílico e sal de Rochelle (DNS);
- Água desionizada;
- Solução de borra de café após pré-tratamento e hidrólise enzimática.

Procedimento:

- Descongelar as amostras e homogeneizar no vortex;
- Caso necessário, diluir as mesmas com água desionizada;
- Colocar num tubo de ensaio alto de rosca 1 mL de amostra e adicionar 1 mL de solução de DNS;
- Agitar no vortex durante cerca de 10 segundos;
- Colocar a mistura num banho de água em ebulição durante 5 minutos;
- Adicionar 10 mL de água desionizada, após arrefecimento rápido dos tubos;



Figura A.6 - Evolução da cor ao longo da ebulição devido à redução do DNS

- Agitar novamente no vortex;
- Ler a absorvância a 540 nm e através da curva de calibração, previamente traçada, determinar a concentração dos açúcares redutores totais.

A.2.2. Método de refratometria

A concentração de açúcares totais foi determinada por refratometria, cujo procedimento é seguidamente descrito.

Material:

- Refratômetro Abbe (*Atago*);
- Pipeta de Pasteur;
- Algodão;

Reagentes/Soluções:

- Solução de borra de café após pré-tratamento e hidrólise enzimática;
- Álcool etílico (comercial).

Procedimento:

- Descongelar as amostras e homogeneizar no vortex;
- Ligar o banho termostático do equipamento. Anotar a temperatura entre as leituras realizadas;
- Ligar o refratômetro e verificar se a iluminação está a funcionar;
- Limpar cuidadosamente com algodão hidrófilo, embebido em álcool etílico, a superfície dos dois prismas e esperar que evapore;
- Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur colocar uma gota de amostra sobre a superfície do prisma primário, por forma a formar uma fina película. A quantidade colocada deverá ser suficiente para que seja possível distinguir através da ocular, dois hemisférios no campo de luz- um claro e um escuro;
- Manobrar os comandos por forma a ajustar a linha que separa os hemisférios, com a cruz do próprio ecrã e a nitidez da imagem reproduzida;
- Ler o índice de refração em °Brix. Corrigir as leituras referente à acidez e para a temperatura de 20 °C e determinar a concentração dos açúcares presentes na amostra com o auxílio de uma curva de calibração previamente traçada.

A.2.3. Método da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A concentração de xilose, arabinose e glucose foi determinada por HPLC, cujo procedimento é descrito de seguida.

Material:

- HPLC e respetivo registador;
- Seringa;
- Filtros de nylon.

Reagentes/Soluções:

- Solução de borra de café após pré-tratamento e hidrólise enzimática;

- Água ultrapura;
- Acetonitrilo.

Procedimento:

- Descongelar as amostras e homogeneizar no vortex;
- Caso necessário, diluir as mesmas com água desionizada;
- Ligar o equipamento e seguir as instruções de utilização programando-o para as condições operatórias desejadas;
- Com uma seringa extrair um determinado volume da amostra e passar a amostra através de filtro de nylon;
- Após filtragem, injetar a amostra manualmente no equipamento e aguardar o registo do cromatograma;
- A partir do cromatograma obtido e através do tempo de retenção, identificar os compostos e calcular a sua concentração, com o auxílio da equação das curvas de calibração, previamente traçada.

Anexo B - Resultados Experimentais

No presente subcapítulo encontram-se expostos os valores experimentais obtidos na caracterização da borra do café, assim como a quantificação, através de três métodos distintos, dos açúcares formados, após aplicação do pré-tratamento ácido e hidrólise enzimática assim como para a borra sem qualquer tratamento ácido.

B.1. Caracterização da borra de café

Para a caracterização da matéria prima foram analisados determinados parâmetros, cujo procedimento foi explanado no subcapítulo anterior.

Na Tabela B.1 encontram-se os valores obtidos para a determinação da percentagem de massa retida em cada peneiro.

Tabela B.1 - Determinação da análise granulométrica

Granulometria (μm)	m_{café retido} (g)	m_{café retido} (%)
> 1000	15	3,12
1000 - 710	10,66	2,22
710 - 500	108,48	22,54
500 - 250	311,63	64,75
250 - 160	35,06	7,29
> 75	0,42	0,09
m_{café total final} (g)	481,25	
m_{café total inicial} (g)	482,46	
m_{café perdida} (g)	1,21	

Na Tabela B.2 apresentam-se os resultados experimentais obtidos respeitantes ao teor de humidade da borra de café.

Tabela B.2 - Determinação do teor de humidade

Ensaio	m_{café} (g)	m_{cadinho} (g)	m_{café seco + cadinho} (g)	m_{café seco} (g)	H (%)
1	10,0050	53,1630	58,2098	5,0468	49,56
2	10,0016	87,8416	92,9296	5,0880	49,13
3	10,0015	91,2217	96,3068	5,0851	49,16
				Média	49,28

Os resultados obtidos para o teor de cinzas encontram-se na Tabela B.3.

Tabela B.3 - Determinação do teor de cinzas

Ensaio	m _{café} (g)	m _{cadinho} (g)	m _{cinzas + cadinho} (g)	m _{cinzas} (g)	Cinzas (%)
1	5,0021	94,7203	94,8109	0,0906	1,81
2	5,0028	94,6502	94,7426	0,0924	1,85
3	5,0030	94,9938	95,0852	0,0914	1,83
				Média	1,83

Na Tabela B.4 apresentam-se os resultados obtidos na determinação do Poder Calorífico Superior.

Tabela B.4 - Determinação do poder calorífico superior

Ensaio	m _{amostra} (g)	m _{ácido benzóico} (g)	m _{final} (g)	PCS _{final} (cal/g)	PCS _{amostra} (cal/g)
1	0,5014	0,4182	0,9196	5681,48	5156,24
2	0,5019	0,4754	0,9773	5693,25	5107,91
3	0,5010	0,3142	0,8152	5495,74	4984,31
				Média	5082,82

Na Tabela B.5 e B.6 apresentam-se os resultados experimentais obtidos para o carbono total e carbono inorgânico sendo que, através da diferença entre eles, obtêm-se o carbono orgânico total, representado na Tabela B.7. Aquando a realização deste ensaio, não foi necessário traçar curvas de calibração dado que o equipamento já as possuía na sua base de dados.

Tabela B.5 - Determinação do teor de carbono total

Ensaio	m _{café} (g)	m _{café} (mg)	m _{Carbono} (mg)	CT (%)
1	0,0241	24,1	10,27	42,60
2	0,0339	33,9	14,45	42,62
3	0,0224	22,4	9,54	42,58
4	0,0750	75,0	31,95	42,60
			Média	42,60

Tabela B.6 - Determinação do teor de carbono inorgânico

Ensaio	$m_{\text{café}}$ (g)	$m_{\text{café}}$ (mg)	m_{Carbono} (mg)	CI (%)
1	0,0232	23,20	0,00	0,00
2	0,0326	32,60	0,00	0,00
3	0,0211	21,10	0,00	0,00
4	0,0263	26,30	0,00	0,00
			Média	0,00

Tabela B.7 - Determinação do carbono orgânico total

Ensaio	CT (%)	CI (%)	COT (%)
1	42,60	0,00	42,60
2	42,62	0,00	42,62
3	42,58	0,00	42,58
4	42,60	0,00	42,60
		Média	42,60

Os dados obtidos para a determinação de teor de azoto e de proteínas encontram-se explanados nas Tabelas B.8 e B.9, respetivamente.

Tabela B.8 - Determinação do teor de azoto

Ensaio	$m_{\text{borra café}}$ (g)	$V_{\text{gasto HCL}}$ (mL)	C_{HCl} (N)	N_{Kjedahl} (g _N /100g _{amostra})	N (%)	
Branco 1	---	0,1	0,0998	---	---	
1	0,0506	0,9		2,21	43,68	
2	0,0505	0,8		1,94	38,37	
Branco 2	---	0,2		---	---	
3	0,0996	1,9		2,39	23,96	
4	0,0993	1,8		2,25	22,68	
				Média	2,20	32,17

Tabela B.9 - Determinação do teor de proteínas

Ensaio	N _{Kjedahl} (g _N /100g _{amostra})	Fator conversão	Teor proteínas (g _{proteína} /100g _{amostra})
1	2,21	6,25	13,81
2	1,94		12,13
3	2,39		14,94
4	2,25		14,06
		Média	13,74

Na Tabela B.10 apresentam-se os resultados obtidos para a determinação do teor de matéria gorda.

Tabela B.10 - Determinação do teor de matéria gorda

Ensaio	m _{café seco} (g)	m _{balão} (g)	m _{balão + óleo} (g)	m _{óleo} (g)	G (%)
1	9,5816	125,7885	127,0306	1,2421	12,96
2	9,5726	101,7080	103,0349	1,3269	13,86
3	9,5844	105,4143	106,5622	1,1479	11,98
				Média	12,93

Na Tabela B.11 encontram-se os dados experimentais obtidos para a determinação da celulose bruta.

Tabela B.11 - Determinação do teor de celulose bruta

Ensaio	m _{café} (g)	m _{p.filtro + cadinho} (g)	m _{p. filtro+ cadinho+café após secagem} (g)	m _{p. filtro+ cadinho+café após calcinação} (g)	m ₁ (g)	m ₂ (g)	H (%)	G (%)	Celulose (%)
1	2,0191	85,5346	86,6564	84,7836	1,1218	0,751	1,02	12,93	15,95
2	2,0118	95,0906	96,1805	94,3966	1,0899	0,694	0,95		17,05
3	2,0002	94,7501	95,8563	94,0041	1,1062	0,746	0,92		15,51
							Média		16,17

Nas Tabelas B.12 e B.13 apresentam-se os resultados experimentais para a determinação de lenhina Klason e para a lenhina solúvel.

Tabela B.12 - Determinação de Lenhina de Klason

Ensaio	$m_{\text{café}}$ (g)	$m_{\text{papel filtro +}}^{\text{cadinho}}$ (g)	$m_{\text{papel filtro +}}^{\text{cadinho + café antes}}^{\text{secagem}}$ (g)	$m_{\text{papel filtro +}}^{\text{cadinho + café após}}^{\text{secagem}}$ (g)	Lenhina Klason (%)
1	1,0026	55,3352	56,3378	55,5982	26,23
2	1,0201	52,4014	53,4215	52,6872	28,02
3	1,0286	40,7706	41,7992	41,0388	26,07
Média					26,77

Tabela B.13 - Determinação da Lenhina Solúvel

Ensaio	$m_{\text{café}}$ (g)	V_{filtrado} (mL)	Diluição	Abs (nm)	$Abs_{\text{média}}$ (nm)	Lenhina Solúvel (%)
1	1,0026	860	0	2,447	2,447	---
				2,447		
				2,447		
			10x	0,725	0,725	56,53
				0,727		
				0,723		
			50x	0,146	0,144	2,25
				0,144		
				0,143		
2	1,0201	890	0	2,447	2,447	---
				2,447		
				2,447		
			10x	0,652	0,652	51,71
				0,651		
				0,652		
			50x	0,141	0,140	2,23

				0,139		
				0,141		
3	1,0286	875	0	0,2447	0,2447	----
				0,2477		
				0,2477		
			10x	0,787	0,786	60,78
				0,786		
				0,784		
			50x	0,148	0,150	2,33
				0,152		
				0,151		

B.2. Quantificação dos açúcares

No pré-tratamento da biomassa utilizou-se várias concentrações (% v/v) de diferentes ácidos assim como se empregou diretamente a borra de café, nas mesmas condições operatórias, substituindo o volume de ácido por água desionizada. Seguidamente realizou-se a hidrólise enzimática adicionando a cada ensaio, 100µL de enzima *Viscozyme L.*/g de amostra de café pesada. Foram efetuadas duas réplicas para cada ensaio.

Posteriormente, quantificou-se os açúcares formados por três métodos: o DNS, refratometria e HPLC, cujos dados experimentais encontram-se explanados de seguida.

B.2.1- Método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)

Antes de se proceder a quantificação do teor de açúcares redutores totais traçou-se uma curva de calibração utilizando soluções padrão de glucose (*Panreac*), conforme ilustra a Figura B.1.

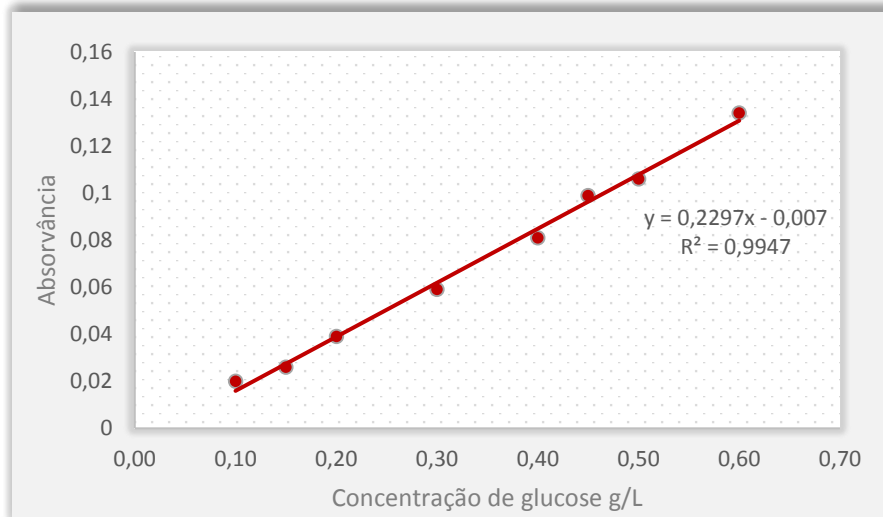


Figura B.1 - Curva de calibração da glucose aplicada no método DNS

Os resultados referentes à massa de glucose obtida e respectivo rendimento, decorrente do pré-tratamento ácido, apresentam-se nas Tabelas B.15, B.16, B.17, B.18 e na Tabela B.14 encontram-se os resultados referente à borra de café sem qualquer pré-tratamento.

Tabela B.14 - Resultados experimentais obtidos no método DNS referentes à massa de glucose e respectivo rendimento utilizando a borra de café sem pré-tratamento ácido, com fator de diluição de 10

Borra	Ensaio	m _{amostra} (g)	Abs.		C _{glucose} (g/L)	C _{glucose} média (g/L)	V _{filtrado} (mL)	m _{glucose} (g)	Rendimento (%)	Rendimento médio (%)
			Leitura 1	Abs. média						
			Leitura 2							
sem pré- tratamento	1	10,0125	0,083	0,083	3,896	3,744	164	0,639	6,4	6,1
			0,082							
	2	10,0093	0,076	0,075	3,592		164	0,589	5,9	
			0,075							

Tabela B.15 - Resultados experimentais obtidos no método DNS referentes à massa de glucose e respectivo rendimento utilizando o H₂SO₄ no pré-tratamento, com fator de diluição de 100

H ₂ SO ₄ (% v/v)	Ensaio	m _{amostra} (g)	Abs.		C _{glucose} (g/L)	C _{glucose} média (g/L)	V _{filtrado} (mL)	m _{glucose} (g)	Rendimento (%)	Rendimento médio (%)
			Leitura 1	Abs. média						
			Leitura 2							
1 %	1	10,0017	0,029	0,030	16,108	16,979	152	2,448	24,5	25,8
			0,031							
	2	10,0226	0,034	0,034	17,849		152	2,713	27,1	
			0,034							
3 %	1	10,0005	0,044	0,043	21,550	24,488	174	3,750	37,5	43,1
			0,041							
	2	10,0103	0,057	0,056	27,427		178	4,882	48,8	
			0,055							
5 %	1	10,0157	0,041	0,041	20,679	20,135	176	3,640	36,3	35,2
			0,040							
	2	10,0135	0,037	0,038	19,591		174	3,409	34,0	
			0,039							

Tabela B.16 - Resultados experimentais obtidos no método DNS referentes à massa de glucose e respectivo rendimento utilizando o HCl no pré-tratamento, com fator de diluição de 50

HCl (% v/v)	Ensaio	m _{amostra} (g)	Abs.		C _{glucose} (g/L)	C _{glucose} média (g/L)	V _{filtrado} (mL)	m _{glucose} (g)	Rendimento (%)	Rendimento médio (%)
			Leitura 1	Abs. média						
1 %	1	10,0126	0,086 0,085	0,086	20,135	19,645	180	3,624	36,2	34,5
	2	10,0167	0,081 0,081	0,081	19,155		172	3,295	32,9	
3 %	1	10,0908	0,102 0,101	0,102	23,618	23,618	170	4,015	39,8	39,5
	2	10,1011	0,102 0,101	0,102	23,618		168	3,968	39,3	
5%	1	10,0934	0,098 0,098	0,098	22,856	22,094	174	3,977	39,4	37,9
	2	10,0748	0,091 0,091	0,091	21,332		172	3,669	36,4	

Tabela B.17 - Resultados experimentais obtidos no método DNS referentes à massa de glucose e respectivo rendimento utilizando o HNO₃ no pré-tratamento, com fator de diluição de 50

HNO ₃ (% v/v)	Ensaio	m _{amostra} (g)	Abs.		C _{glucose} (g/L)	C _{glucose} média (g/L)	V _{filtrado} (mL)	m _{glucose} (g)	Rendimento (%)	Rendimento médio (%)
			Leitura 1	Abs. média						
1 %	1	10,0089	0,085 0,084	0,085	19,917	20,135	158	3,147	31,4	32,0
	2	10,0021	0,090 0,083	0,087	20,353		160	3,256	32,6	
3 %	1	10,0105	0,108 0,109	0,109	25,141	25,033	178	4,475	44,7	43,2
	2	10,0196	0,108 0,107	0,108	24,924		168	4,182	41,7	
5%	1	10,0055	0,099 0,102	0,101	23,400	24,761	168	3,941	39,4	41,4
	2	10,0035	0,113 0,113	0,113	26,121		166	4,336	43,3	

Tabela B.18 - Resultados experimentais obtidos no método DNS referentes à massa de glucose e respetivo rendimento utilizando o CH₃COOH no pré-tratamento, com fator de diluição de 10

CH ₃ COOH (% v/v)	Ensaio	m _{amostra} (g)	Abs.		C _{glucose} (g/L)	C _{glucose} média (g/L)	V _{filtrado} (mL)	m _{glucose} (g)	Rendimento (%)	Rendimento médio (%)
			Leitura 1	Abs. média						
1 %	1	10,0019	0,106 0,107	0,107	4,941	4,887	170	0,840	8,4	8,3
	2	10,0043	0,104 0,104							
3 %	1	10,0011	0,107 0,105	0,106	4,919	4,865	162	0,797	8,0	8,2
	2	10,0338	0,104 0,103							
5%	1	10,0015	0,098 0,105	0,102	4,724	4,996	166	0,784	7,8	8,3
	2	10,0183	0,114 0,114							
7%	1	10,0163	0,094 0,096	0,095	4,441	4,636	164	0,728	7,3	7,5
	2	10,0063	0,104 0,104							

B.2.1. Método refratométrico

À semelhança do método supracitado, traçou-se uma curva de calibração utilizando soluções padrão de glucose (*Panreac*), com gama de concentrações de 3,2 a 130 g/L por conseguinte, a concentração total dos açúcares foi quantificada como glucose. Dado que, por vezes, a temperatura do banho do refratómetro variava entre as leituras °Brix, procedeu-se a correção das mesmas para a temperatura de 20 °C, com o auxílio dos dados da Tabela B.19 e as interpolações calculadas, que constam na Tabela B.20.

As leituras °Brix das soluções padrão, que deram origem a curva de calibração da Figura B.2 foram realizadas a uma temperatura de banho de 24,5 °C, sendo corrigidas para 20° C.

Tabela B.19 - Correção de leituras °Brix em função de temperaturas de banho superiores a 20 °C

Percentagem de Sacarose (° Brix)															
Temperatura °C	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
°C	Adicionar ao Brix lido														
21	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
22	0,13	0,13	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
23	0,19	0,20	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
24	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,32	0,32	0,32	0,32
25	0,33	0,35	0,36	0,37	0,38	0,38	0,39	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40

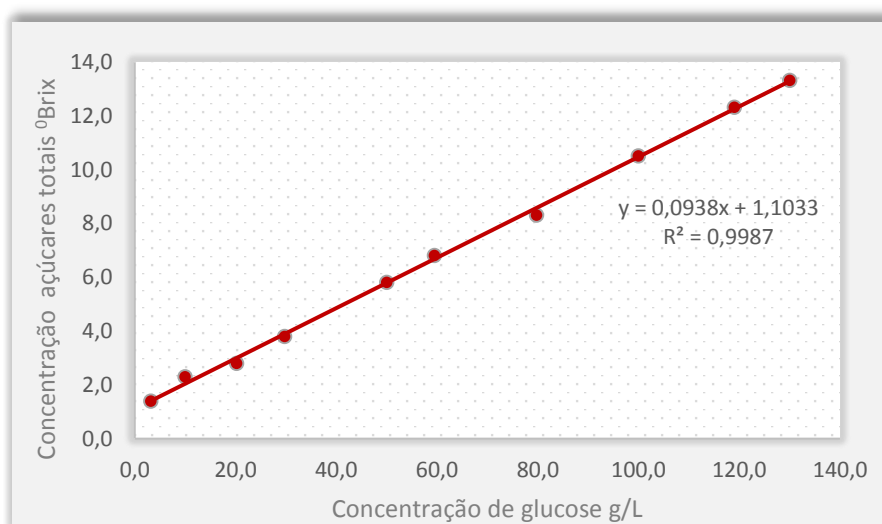


Figura B.2 - Curva de calibração da glucose aplicada no método refratométrico com leituras de °Brix corrigidas para 20 °C

Tabela B.20 - Interpolação linear realizada para correção de leituras °Brix em função de temperaturas de banho superiores a 20 °C

Temperatura (° C)	°Brix			
	0	5	10	15
22,0	0,130	0,130	0,140	0,140
22,1	0,135	0,136	0,146	0,147
22,2	0,141	0,143	0,153	0,155
22,3	0,146	0,149	0,159	0,162
22,4	0,152	0,155	0,165	0,169
22,3	0,157	0,162	0,172	0,176
22,5	0,163	0,168	0,178	0,184
22,6	0,168	0,175	0,185	0,191
22,7	0,174	0,181	0,191	0,198
22,8	0,179	0,187	0,197	0,205
22,9	0,185	0,194	0,204	0,213
23,0	0,190	0,200	0,210	0,220
24,0	0,260	0,270	0,280	0,290
24,1	0,267	0,278	0,288	0,298
24,2	0,274	0,286	0,296	0,306
24,3	0,281	0,294	0,304	0,314
24,4	0,288	0,302	0,312	0,322
24,5	0,295	0,310	0,320	0,330
24,6	0,302	0,318	0,328	0,338
24,7	0,309	0,326	0,336	0,346
24,8	0,316	0,334	0,344	0,354
24,9	0,323	0,342	0,352	0,362
25,0	0,330	0,350	0,360	0,370

Além da correção das leituras °Brix para os 20 °C, procedeu-se também à correção da acidez do meio, no caso de pré-tratamento com ácido. Para tal, subtraiu-se os dados da Tabela B.21, correspondentes às leituras °Brix dos ácidos, às leituras °Brix resultantes do pré-tratamento seguido de hidrólise enzimática.

Tabela B.21 - Valores do °Brix lido para as concentrações de ácidos, à temperatura de banho de 22,1 °C

Ácido (% v/v)	H ₂ SO ₄			HCl			HNO ₃			CH ₃ COOH			
	1%	3%	5%	1%	3%	5%	1%	3%	5%	1%	3%	5%	7%
°Brix lido a 22,1 °C	2,0	5,0	7,5	2,1	5,2	8,0	2,0	4,1	6,4	1,5	2,4	3,2	4,4

Nas Tabelas B.23, B.24, B.25 e Tabela B.26 encontram-se os valores referentes às massas de glucose e respectivos rendimentos obtidos após a hidrólise enzimática para os diversos pré-tratamentos com ácidos, assim como para a borra de café sem qualquer pré-tratamento, constando este último na Tabela B.22.

Tabela B.22 - Resultados obtidos no método refratométrico para a massa de glucose e respectivo rendimento utilizando a borra de café sem pré-tratamento ácido

Borra	Ensaio	m _{amostra} (g)	°Brix lido a 22,2 °C	F	°Brix lido corrigido para 20,0 °C	C _{glucose} (g/L)	C _{glucose} média (g/L)	V _{filtrado} (mL)	m _{glucose} (g)	Rendimento (%)	Rendimento médio (%)
sem pré- tratamento	1	10,0125	1,5	0,142	1,6	5,739	6,805	164	0,941	9,4	11,1
	2	10,0093	1,7		1,8	7,872		164	1,291	12,9	

Tabela B.23 - Resultados obtidos no método refratométrico para a massa de glucose e respetivo rendimento utilizando o H₂SO₄ no pré-tratamento

H ₂ SO ₄ (% v/v)	Ensaio	m _{amostra} (g)	°Brix lido a 22,1 °C acidez corrigida	F	°Brix lido corrigido para 20,0 °C	C _{glucose} (g/L)	C _{glucose} média (g/L)	V _{filtrado} (mL)	m _{glucose} (g)	Rendimento (%)	Rendimento médio (%)
1%	1	10,0017	3,8	0,136	3,9	30,197	30,730	152	4,590	45,9	46,7
	2	10,0226	3,9		4,0	31,263		152	4,752	47,4	
3%	1	10,0005	4,4		4,5	36,595	37,128	174	6,367	63,7	65,3
	2	10,0103	4,5		4,6	37,661		178	6,704	67,0	
5%	1	10,0157	5,2		5,3	45,129	45,129	176	7,943	79,3	78,9
	2	10,0135	5,2		5,3	45,129		174	7,852	78,4	

Tabela B.24 - Resultados obtidos no método refratométrico para a massa de glucose e respetivo rendimento utilizando o HCl no pré-tratamento

HCl (% v/v)	Ensaio	m _{amostra} (g)	°Brix lido a 22,1 °C acidez corrigida	F	°Brix lido corrigido para 20,0 °C	C _{glucose} (g/L)	C _{glucose} média (g/L)	V _{filtrado} (mL)	m _{glucose} (g)	Rendimento (%)	Rendimento médio (%)
1%	1	10,0126	3,0	0,136	3,1	21,666	21,666	180	3,900	39,0	38,1
	2	10,0167	3,0		3,1	21,666		172	3,727	37,2	
3%	1	10,0908	3,1		3,2	22,733	22,733	170	3,865	38,3	38,1
	2	10,1011	3,1		3,2	22,733		168	3,819	37,8	
5%	1	10,0934	2,8		2,9	19,534	19,534	174	3,399	33,7	33,5
	2	10,0748	2,8		2,9	19,534		172	3,360	33,3	

Tabela B.25 - Resultados obtidos no método refratométrico para a massa de glucose e respetivo rendimento utilizando o HNO₃ no pré-tratamento

HNO ₃ (% v/v)	Ensaio	m _{amostra} (g)	°Brix lido a 22,1 °C acidez corrigida	F	°Brix lido corrigido para 20,0 °C	C _{glucose} (g/L)	C _{glucose} média (g/L)	V _{filtrado} (mL)	m _{glucose} (g)	Rendimento (%)	Rendimento médio (%)
1%	1	10,0089	3,0	0,136	3,1	21,666	21,133	158	3,423	34,2	33,6
	2	10,0021	2,9		3,0	20,600		160	3,296	33,0	
3%	1	10,0105	3,4		3,5	25,932	26,998	178	4,616	46,1	46,6
	2	10,0196	3,6		3,7	28,064		168	4,715	47,1	
5%	1	10,0055	3,0		3,1	21,666	24,865	168	3,640	36,4	41,5
	2	10,0035	3,6		3,7	28,064		166	4,659	46,6	

Tabela B.26 - Resultados obtidos no método refratométrico para a massa de glucose e respectivo rendimento utilizando o CH₃COOH no pré-tratamento

CH ₃ COOH (% v/v)	Ensaio	m _{amostra} (g)	°Brix lido a 22,1 °C acidez corrigida	F	°Brix lido corrigido para 20,0 °C	C _{glucose} (g/L)	C _{glucose} média (g/L)	V _{filtrado} (mL)	m _{glucose} (g)	Rendimento (%)	Rendimento médio (%)
1%	1	10,0019	1,5	0,135	1,6	5,672	5,672	170	0,964	9,6	9,6
	2	10,0043	1,5		1,6	5,672		170	0,964	9,6	
3%	1	10,0011	2,2	0,136	2,3	13,136	13,136	162	2,128	21,3	22,0
	2	10,0338	2,2		2,3	13,136		174	2,286	22,8	
5%	1	10,0015	3,4	0,136	3,5	25,932	25,932	166	4,305	43,0	43,1
	2	10,0183	3,4		3,5	25,932		167	4,331	43,2	
7%	1	10,0163	3,6	0,136	3,7	28,064	28,064	164	4,603	46,0	45,7
	2	10,0063	3,6		3,7	28,064		162	4,546	45,4	

B.2.2. Método cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Antes de se proceder a quantificação do teor de açúcares traçou-se curvas de calibração utilizando soluções padrão de glucose (*Panreac*), xilose (*Sigma-Aldrich*), arabinose (*Merck*) e conforme ilustra na Figura B.3, B.4, B.5.

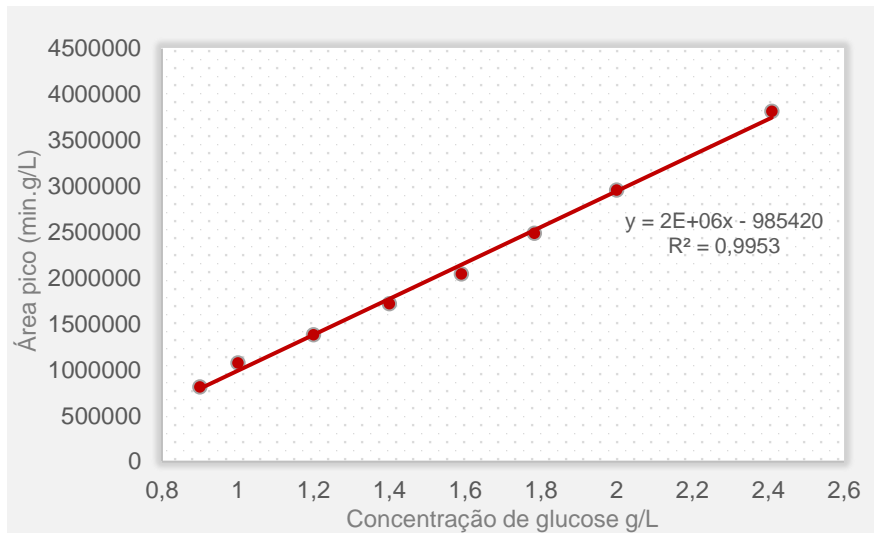


Figura B.3 - Curva de calibração da glucose aplicada no método HPLC

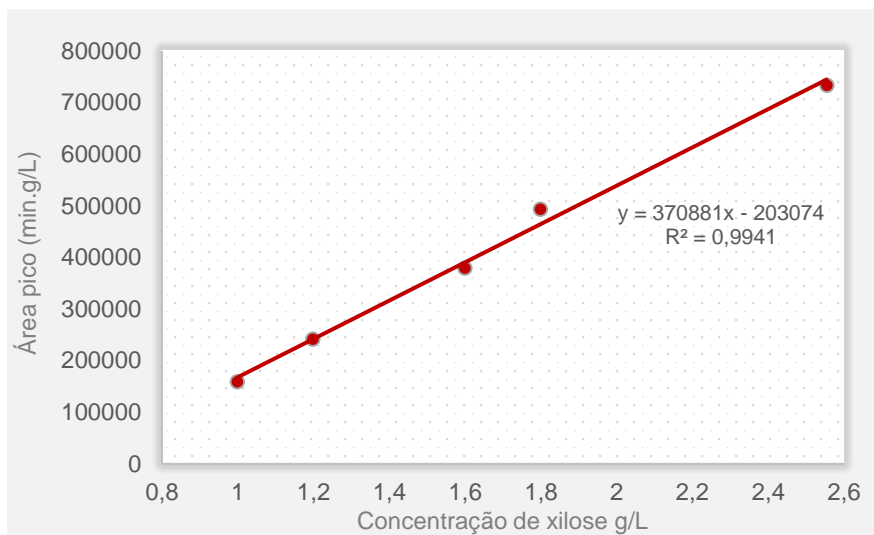


Figura B.4 - Curva de calibração da xilose aplicada no método HPLC

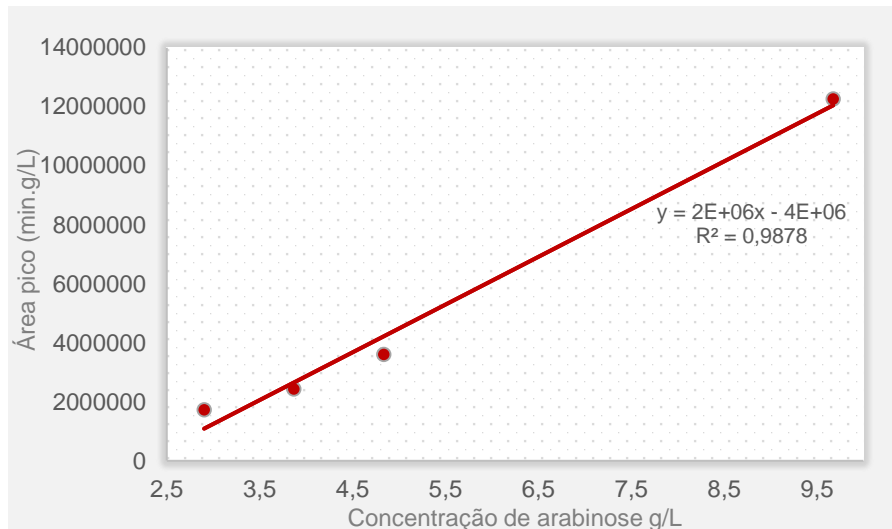


Figura B.5 - Curva de calibração da arabinose aplicada no método HPLC

As soluções padrão permite-nos não só traçar as curvas de calibração – através da concentração conhecida e da área do pico fornecida pelo cromatograma, mas também determinar o tempo de retenção do padrão (pico), que irá permitir a identificação do composto no cromatograma da nossa amostra, pois o tempo de retenção é característico para cada açúcar.

Neste método analisaram-se as amostras que originaram os melhores resultados nos métodos anteriores, nomeadamente para o H_2SO_4 e HNO_3 a 3 e 5% assim como para a borra de café sem qualquer pré-tratamento.

Ao longo da realização dos ensaios neste método, comecei a identificar que alguns dos picos deixaram de aparecer no tempo que seria esperado. Como exemplo, o tempo de retenção do padrão de glucose- uma das primeiras amostras a serem injetadas - foi de cerca 32 minutos, mas após alguns dias a injetar amostras do hidrolisado, constatei que deixou de aparecer este pico e apareciam picos a cerca de 30 e poucos minutos e 34. Este facto foi coincidente com o aumento da pressão da coluna de 28 para 31 (chegando mesmo aos 32) bar. Para identificar na amostra injetada, qual era pico correspondente à glucose, dada que não parecia nenhum pico aos 32 min, contaminei a amostra com padrão puro de glucose e desta forma constatei que o pico da glucose passou a aparecer aos 30 minutos e pouco. Esta situação ocorreu para alguns ensaios e, por conseguinte, houve necessidade de repetir os mesmos.

Na Tabela B.27 encontram-se refletidos os resultados obtidos para a concentração média de xilose, arabinose e glucose para os ácidos supracitados e para a borra. O rendimento médio de cada ensaio consta na Tabela B.28.

Tabela B.27 – Resultados obtidos para a concentração de açúcares, no método HPLC, após pré-tratamento com H₂SO₄ (3 e 5%), HNO₃ (3 e 5%) e para a borra sem pré-tratamento

Ensaio	Diluição	Réplica	Área _{pico} (min.g/L)			Concentração (g/L)			Concentração _{média} (g/L)		
			Xilose	Arabinose	Glucose	Xilose	Arabinose	Glucose	Xilose	Arabinose	Glucose
Borra sem pré- tratamento	S/ diluição	1	0,0000	336069	916277	0,0000	2,1680	0,9508	0,0000	2,1672	0,9719
		2	0,0000	332573	1000438	0,0000	2,1663	0,9929			
H ₂ SO ₄ 3%		1	252295	1085360	1835545	2,4556	5,0854	2,8210	1,9660	4,7533	2,6450
		2	70707	421163	1483526	1,4764	4,4212	2,4689			
H ₂ SO ₄ 5%	2	1	397037	878861	7410383	3,2361	4,8789	8,3958	3,5016	5,3301	6,2731
		2	495504	1781416	3165057	3,7671	5,7814	4,1505			
HNO ₃ 3%		1	0,000	229922	1051505	0,0000	4,2300	2,0370	0,0000	4,2081	1,9535
		2	0,000	186205	884600	0,0000	4,1860	1,8700			
HNO ₃ 5%		1	0,000	988973	8866044	0,0000	4,9890	9,8515	0,0000	4,9890	9,8515

Tabela B.28 – Rendimento obtido para os açúcares, no método HPLC, após pré-tratamento com H₂SO₄ (3 e 5%), HNO₃ (3 e 5%) e para a borra, sem pré-tratamento

Ensaio	Réplica	m _{amostra} (g)	V _{filtrado} (mL)	Massa (g)			Rendimento (%)			Rendimento médio (%)		
				Xilose	Arabinose	Glucose	Xilose	Arabinose	Glucose	Xilose	Arabinose	Glucose
Borra sem pré- tratamento	1	10,0125	164	0,0000	0,3556	0,1559	0,0	3,6	1,6	0,0	3,6	1,6
	2	10,0093	164	0,0000	0,3553	0,1628	0,0	3,5	1,6			
H ₂ SO ₄ 3%	1	10,0005	174	0,4273	0,8849	0,4908	4,3	8,8	4,9	3,4	8,4	4,6
	2	10,0103	178	0,2628	0,7870	0,4395	2,6	7,9	4,4			
H ₂ SO ₄ 5%	1	10,0157	176	0,5696	0,8587	1,4777	5,7	8,6	14,8	6,1	9,3	11,0
	2	10,0135	174	0,6555	1,0060	0,7222	6,5	10,0	7,2			
HNO ₃ 3%	1	10,0105	178	0,0000	0,7529	0,3626	0,0	7,5	3,6	0,0	7,3	3,4
	2	10,0196	168	0,0000	0,7033	0,3142	0,0	7,0	3,1			
HNO ₃ 5%	1	10,0035	166	0,0000	0,8282	1,6353	0,0	8,3	16,3	0,0	8,3	16,3

Anexo C – Exemplos de cálculo

Neste subcapítulo apresentam-se os exemplos de cálculo realizados para os diversos parâmetros analisados, no que concerne à caracterização da borra de café assim como para a quantificação dos açúcares.

C.1. Caracterização da borra de café

Todos os exemplos de cálculo que se seguem têm como base o ensaio 1. No caso da análise granulométrica considerou-se como exemplo de cálculo os dados obtidos para a granulometria > 1000 µm.

- Análise granulométrica

$$m_{\text{café retido}} (\%) = \frac{m_{\text{café retido}}}{m_{\text{café total final}}} \times 100$$

Em que,

$m_{\text{café retido}}$ – Massa de amostra de borra de café retida em cada peneiro (g)

$m_{\text{café total final}}$ – Massa total de borra de café retida nos peneiros (g)

$$m_{\text{café retido}} (\%) = \frac{15}{481,25} \times 100 = 3,12 \%$$

- Teor de Humidade

$$H (\%) = \frac{m_{\text{amostra}} - m_{\text{amostra seca}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

Em que,

m_{amostra} – Massa de amostra de borra de café (g)

$m_{\text{amostra seca}}$ – Massa de amostra de borra de café seca a 105 °C (g)

$$m_{\text{amostra seca}} = m_{\text{café seco}} = m_{\text{café seco + cadinho}} - m_{\text{cadinho}} = 58,2098 - 53,1630 = 5,0468 \text{ g}$$

$$H (\%) = \frac{10,0050 - 5,0468}{10,0050} \times 100 = 49,56 \%$$

- Teor de Cinzas

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{m_{\text{cinzas}}}{m_{\text{amostra seca}}} \times 100$$

Onde,

m_{cinzas} – Massa de cinzas (g)

$$m_{\text{cinzas}} = m_{\text{cinzas + cadinho}} - m_{\text{cadinho}} = 94,8109 - 94,7203 = 0,0906 \text{ g}$$

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{0,0906}{5,0021} \times 100 = 1,81 \%$$

- Poder Calorífico Superior

$$PCS_{\text{final}} \times m_{\text{final}} = PCS_{\text{amostra}} \times m_{\text{amostra}} + PCS_{\text{ácido}} \times m_{\text{ácido}}$$

Em que,

PCS_{final} – Poder calorífico superior final (cal/g)

m_{final} – Massa final (g)

PCS_{amostra} – Poder calorífico superior da amostra de borra de café (cal/g)

m_{final} – Massa de amostra de borra de café (g)

$PCS_{\text{ácido}}$ – Poder calorífico superior do ácido benzóico (cal/g)

$m_{\text{ácido}}$ – Massa de ácido benzoico (g)

$$PCS_{\text{ácido}} = 6311,22 \text{ cal/g}$$

$$PCS_{\text{amostra}} = \frac{PCS_{\text{final}} \times m_{\text{final}} - PCS_{\text{ácido}} \times m_{\text{ácido}}}{m_{\text{amostra}}}$$

$$PCS_{\text{amostra}} = \frac{5681,48 \times 0,9196 - 6311,22 \times 0,4182}{0,5014} = 5156,24 \text{ cal/g}$$

- Teor de orgânico total

$$\text{COT (\%)} = \text{CT} - \text{CI}$$

$$\text{CT (\%)} = \frac{m_{\text{carbono}}}{m_{\text{café}}} \times 100$$

Onde,

COT – Carbono Orgânico Total

CT – Carbono Total

CI – Carbono Inorgânico

m_{carbono} – Massa de carbono (mg)

$m_{\text{café}}$ – Massa de amostra de café (mg)

$$\text{CT (\%)} = \frac{m_{\text{carbono}}}{m_{\text{café}}} = \frac{10,27}{24,10} \times 100 = 42,60 \%$$

$$\text{COT (\%)} = 42,60 - 0 = 42,60 \%$$

- Teor de azoto

$$N_{\text{Kjeldahl}} = \frac{(V_A - V_B) \times N \times 14,007 \times 100}{m_{\text{amostra}} \times 1000}$$

Em que:

V_A – Volume de HCl gasto na titulação da amostra (mL)

V_B – Volume de HCl gasto na titulação do branco (mL)

N – Normalidade de HCl (N)

MM_N – Massa molar do azoto – 14,007 g/mol

m_{amostra} – Massa de amostra de borra de café (g)

$$N_{\text{Kjeldahl}} = \frac{(0,9 - 0,1) \times 0,0998 \times 14,007 \times 100}{0,0506 \times 1000} = 2,21 \text{ g}_N/100\text{g}_{\text{amostra}}$$

- Teor de proteínas

$$\text{Teor de proteínas} = 6,25 \times \text{Teor de azoto}$$

$$\text{Teor de proteínas} = 6,25 \times 2,21 = 13,81 \text{ g}_{\text{proteína}}/100\text{g}_{\text{amostra}}$$

- Teor de matéria gorda

$$G (\%) = \frac{m_{\text{óleo}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

Em que,

$m_{\text{óleo}}$ – Massa de óleo (g)

m_{amostra} – Massa de amostra de borra de café (g)

$$G (\%) = \frac{1,2421}{9,5816} \times 100 = 12,96 \%$$

- Teor de celulose bruta

$$\text{Celulose (\%)} = \frac{(m_1 - m_2) \times [100 - (H + G)]}{2}$$

Em que,

m_1 – Massa de borra café seca (g)

m_2 – Massa de borra café calcinada (g)

H – Teor de Humidade (%)

G – Teor de matéria gorda (%)

$$m_1 = m_{\text{café seco}} = m_{\text{p. filtro+cadinho + café após secagem}} - m_{\text{papel filtro+cadinho}} = 86,6564 - 85,5346 = 1,1218 \text{ g}$$

$$H (\%) = \frac{m_{\text{papel filtro+cadinho+café}} - m_{\text{papel filtro+cadinho+café após secagem}}}{m_{\text{papel filtro+cadinho+café}}} \times 100$$

$$H (\%) = \frac{87,5537 - 86,6564}{87,5537} \times 100 = 1,02 \%$$

$$\text{Celulose (\%)} = \frac{(1,1218 - 0,751) \times [100 - (1,02 + 12,93)]}{2} = 15,95 \%$$

- Teor de lenhina total

$$\text{Lenhina Klason (\%)} = \frac{m_{\text{lenhina}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

Onde,

m_{lenhina} – Massa de lenhina (g)

m_{amostra} – Massa de amostra de borra de café (g)

$$m_{\text{lenhina}} = m_{\text{papel filtro + cadinho + café após secagem}} - m_{\text{papel filtro + cadinho}}$$

$$\text{Lenhina Klason (\%)} = \frac{55,5982 - 55,3352}{1,0026} \times 100 = 26,23 \%$$

$$\text{Lenhina Solúvel (\%)} = \frac{A_{205\text{nm}} \times V_{\text{filtrado}} \times f}{\epsilon \times m_{\text{amostra seca}}} \times 100$$

Em que,

$A_{205\text{nm}}$ – Valor medido no espectrofotômetro UV-VIS para uma absorvância de 205 nm

V_{filtrado} – Volume de filtrado (mL)

f – fator de diluição

ε – Fator de conversão igual a $110 \text{ dm}^3/\text{g}\cdot\text{cm}$

Considerando uma diluição de 50x, temos

$$\text{Lenhina Solúvel (\%)} = \frac{0,144 \times 860 \times 1/50}{110 \times 1,0026} \times 100 = 2,25 \%$$

O teor de lenhina total (%) é dado pela expressão seguinte:

$$\text{Lenhina Total (\%)} = \text{Lenhina Klason (\%)} + \text{Lenhina Solúvel (\%)}$$

$$\text{Lenhina Total (\%)} = 26,23 + 2,25 = 28,48 \%$$

C.2. Quantificação dos açúcares

Todos os exemplos de cálculo que se seguem têm como base o ensaio realizado para o H_2SO_4 com concentração de 1% (v/v) e para a réplica 1, com exceção do método HPLC, que teve como base de cálculo o H_2SO_4 com concentração de 3% (v/v).

C.2.1. Método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)

A partir da Figura B.1, retiramos a equação da curva de calibração

$$\text{Absorvância} = 0,2297 \times C_{\text{glucose}} - 0,007$$

Para leituras de $\lambda=540 \text{ nm}$

Por conseguinte, a concentração de glucose, considerando a diluição da amostra, é dada pela expressão:

$$C_{\text{glucose}} = \left(\frac{\text{Absorvância} + 0,007}{0,2297} \right) \times f$$

Para obter a massa de glucose utiliza-se a seguinte expressão,

$$m_{\text{glucose}} = C_{\text{glucose}} \times V_{\text{filtrado}}$$

Onde,

C_{glucose} – Concentração de glucose (g/L)

f – fator de diluição

m_{glucose} – Massa de glucose (g)

V_{filtrado} – Volume de filtrado (mL)

Então,

$$C_{\text{glucose}} = \left(\frac{0,030 + 0,007}{0,2297} \right) \times 100 = 16,108 \text{ g/L}$$

Sabemos que:

$$V_{\text{filtrado}} = 152 \text{ mL}$$

$$m_{\text{amostra}} = 10,0017 \text{ g}$$

Então,

$$m_{\text{glucose}} = 16,108 \times 0,152 = 2,448 \text{ g}$$

O rendimento é dado por

$$\eta (\%) = \frac{m_{\text{glucose}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

$$\eta (\%) = \frac{2,448}{10,0017} \times 100 = 24,5 \%$$

C.2.2. Método refratométrico

As leituras °Brix foram corrigidas em relação à acidez e à temperatura do banho do refratômetro, neste caso para 20 °C (temperatura de referência).

Para a base de cálculo considerada, a réplica 1 do H₂SO₄ a 1 % a temperatura do banho do refratômetro tomou o valor de 22,1 °C.

- Correção quanto à acidez:

$$^{\circ}\text{Brix}_{\text{lido a } 22,1 \text{ }^{\circ}\text{C}} = 2,0$$

Este será o valor a subtrair à leitura feita da solução resultante após o pré-tratamento e hidrólise enzimática

$$^{\circ}\text{Brix}_{\text{lido a } 22,1 \text{ }^{\circ}\text{C} \text{ acidez corrigida}} = 5,8 - 2,0 = 3,8$$

- Correção quanto à temperatura

Para esta retificação, calculou-se o fator de correção (F) a partir da seguinte expressão,

$$F = \frac{(F_{\text{Brix final}(T)} - F_{\text{Brix inicial}(T)}) \times ({}^{\circ}\text{Brix}_{\text{experimental}} - {}^{\circ}\text{Brix}_{\text{inicial}})}{{}^{\circ}\text{Brix}_{\text{final}} - {}^{\circ}\text{Brix}_{\text{inicial}}} + F_{\text{Brix inicial}(T)}$$

O ${}^{\circ}\text{Brix}$ lido a 22,1 °C acidez corrigida corresponde ao ${}^{\circ}\text{Brix}_{\text{experimental}}$ e toma o valor de 3,8, tal como calculado anteriormente. Este valor encontra-se entre o ${}^{\circ}\text{Brix}0$ e ${}^{\circ}\text{Brix}5$ então:

$${}^{\circ}\text{Brix}_{\text{inicial}} = {}^{\circ}\text{Brix}0$$

$${}^{\circ}\text{Brix}_{\text{final}} = {}^{\circ}\text{Brix}5$$

Recorrendo à Tabela B.20, para a temperatura de 22,1 °C do banho do refratômetro, o valor de correção corresponde,

$$F_{{}^{\circ}\text{Brix inicial}} = 0,135$$

$$F_{{}^{\circ}\text{Brix final}} = 0,136$$

Então substituindo,

$$F = \frac{(0,136 - 0,135) \times (3,8 - 0)}{5 - 0} + 0,135 = 0,136$$

Dado que o valor de temperatura do banho é superior a 20 °C (temperatura de referência), então teremos que somar este valor ao ${}^{\circ}\text{Brix}$ lido a 22,1 °C acidez corrigida (conforme bibliografia de Tabela B.19, assim

$${}^{\circ}\text{Brix lido corrigido a 20 °C} = 3,8 + 0,136 = 3,936$$

A partir da Figura B.2 retiramos a equação da curva de calibração:

$${}^{\circ}\text{Brix} = 0,0938 \times C_{\text{glucose}} + 1,1033$$

Em que,

${}^{\circ}\text{Brix}$ – Unidade numérica do índice de refração que nos indica a teor de açúcares numa solução aquosa

$$C_{\text{glucose}} = \frac{{}^{\circ}\text{Brix} - 1,1033}{0,0938}$$

Então,

$$C_{\text{glucose}} = \frac{3,936 - 1,1033}{0,0938} = 30,197 \text{ g/L}$$

Sabemos que:

$$V_{\text{filtrado}} = 152 \text{ mL}$$

$$m_{\text{amostra}} = 10,0017 \text{ g}$$

Então,

$$m_{\text{glucose}} = 30,197 \times 0,152 = 4,590 \text{ g}$$

O rendimento é dado por

$$\eta (\%) = \frac{m_{\text{glucose}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

$$\eta (\%) = \frac{4,590}{10,0017} \times 100 = 45,9 \%$$

C.3.3. Método da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Tal como referenciado anteriormente, o exemplo de cálculo que se segue tem como base os valores obtidos para o H_2SO_4 com concentração de 3% (v/v) e réplica 1. Será também considerado o cálculo apenas para a glucose, sendo que, para o cálculo da concentração da xilose e arabinose, segue-se o mesmo raciocínio, considerando a equação da curva de calibração do composto correspondente.

A partir da Figura B.3, retiramos a equação da curva de calibração

$$\text{Área}_{\text{pico}} = 2 \times 10^6 \times C_{\text{glucose}} - 985420$$

Por conseguinte, a concentração de glucose real, considerando a diluição da amostra, é dada pela expressão:

$$C_{\text{glucose}} = \left(\frac{\text{Área}_{\text{pico}} + 985420}{2 \times 10^6} \right) \times f$$

Para obter a massa de glucose é dada pela seguinte expressão,

$$m_{\text{glucose}} = C_{\text{glucose}} \times V_{\text{filtrado}}$$

Onde,

C_{glucose} – Concentração de glucose (g/L)

f – fator de diluição

m_{glucose} – Massa de glucose (g)

V_{filtrado} – Volume de filtrado (mL)

Então,

$$C_{\text{glucose}} = \left(\frac{1835575 + 985420}{2 \times 10^6} \right) \times 2 = 2,8210 \text{ g/L}$$

Sabemos que:

$$V_{\text{filtrado}} = 174 \text{ mL}$$

$$m_{\text{amostra}} = 10,0005 \text{ g}$$

Então,

$$m_{\text{glucose}} = 2,8210 \times 0,174 = 0,4908 \text{ g}$$

O rendimento é dado por

$$\eta (\%) = \frac{m_{\text{glucose}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

$$\eta (\%) = \frac{0,4908}{10,0005} \times 100 = 4,9 \%$$

Anexo D - Fichas de Segurança

Neste capítulo apresentam-se as fichas de segurança dos reagentes mais utilizados ao longo deste trabalho.

D.1. Ficha de Segurança do Ácido Sulfúrico

1. IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA/MISTURA E DA SOCIEDADE/EMPRESA

Nome do produto	: Sulfuric acid
Referência do Produto	: 339741
Marca	: Aldrich
Companhia	: Sigma-Aldrich Brasil Ltda. Av. das Nações Unidas, 23.043 04795-100 SÃO PAULO - SP BRAZIL
Telefone	: +551137323100
Número de Fax	: +551155229895
Número de Telefone de Emergência	:

2. IDENTIFICAÇÃO DOS PERIGOS

Classificação da substância ou da mistura

Nos termos do Regulamento (CE) No1272/2008
Corrosão cutânea (Categoria 1A)

De acordo com a directiva Europeia 67/548/CEE, e emendas.
Provoca queimaduras graves.

Elementos da etiqueta

Pictograma



Palavra-sinal

Perigo

Declaração de perigo
H314

Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

declaração de precaução
P280

Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial.

P305 + P351 + P338

SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.

P310

Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

símbolo de perigosidade
C

Corrosivo

Frase(s) - R
R35

Provoca queimaduras graves.

Frase(s) - S
S26

Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista.

S30

Nunca adicionar água a este produto.

S45

Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente o

Outros Perigos - nenhum(a)

3. COMPOSIÇÃO/INFORMAÇÃO SOBRE OS COMPONENTES

Formula	: H ₂ O ₄ S
Peso molecular	: 98,08 g/mol

No. CAS	No. CE	No. de Index	Classificação	Concentração
Sulfuric acid				
7664-93-9	231-639-5	016-020-00-8	Skin Corr. 1A; H314 C, R35	-

4. PRIMEIROS SOCORROS

Recomendação geral

Consultar um médico. Mostrar esta ficha de segurança ao médico de serviço.

Se for inalado

Se for respirado, levar a pessoa para o ar fresco. Se não respirar, aplicar a respiração artificial. Consultar um médico.

No caso dum contacto com a pele

Despir imediatamente a roupa e os sapatos contaminados. Lavar com sabão e muita água. Consultar um médico.

No caso dum contacto com os olhos

Lavar cuidadosamente com muita água, durante pelo menos quinze minutos, e consultar o médico.

Se for engolido

NÃO provocar vômitos. Nunca dar nada pela boca a uma pessoa inconsciente. Enxaguar a boca com água. Consultar um médico.

5. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

Meios adequados de extinção

Utilizar água pulverizada, espuma resistente ao álcool, produto químico seco ou dióxido de carbono.

Equipamento especial de protecção a utilizar pelo pessoal de combate a incêndio

Usar equipamento de respiração autónomo para combate a incêndios, se necessário.

6. MEDIDAS A TOMAR EM CASO DE FUGAS ACIDENTAIS

Precauções individuais

Usar equipamento de protecção individual. Evitar a respiração do vapor/névoa/gas. Assegurar ventilação adequada. Evacuar o pessoal para áreas de segurança.

Precauções ambientais

Não permitir a entrada do produto no sistema de esgotos.

Métodos e materiais para a contenção e a limpeza

Embeber em material inerte e absorvente e tratar como desperdício especial. Manter em recipientes fechados adequados, para eliminação.

7. MANUSEAMENTO E ARMAZENAGEM

Precauções para um manuseamento seguro

Evitar a inalação do vapor ou da névoa.
Medidas usuais de protecção preventiva contra incêndio.

Condições para uma armazenagem segura

Armazenar em local fresco. Guardar o recipiente herméticamente fechado em lugar seco e bem ventilado. Os contentores abertos devem ser cuidadosamente fechados de novo e têm que ficar direitos para evitar a dispersão.

8. CONTROLO DA EXPOSIÇÃO/PROTECÇÃO PESSOAL

Protecção individual**Protecção respiratória**

Nos casos em que a avaliação de risco mostrar que os respiradores purificadores do ar são apropriados, use um respirador de cobertura facial total com cartuchos de combinação multi-objectivos (E.U.A.) ou do tipo ABEK (EN 14387) como apoio a controlos de engenharia. Se o respirador for o único meio de protecção, usa um respirador de ar de cobertura facial total. Use respiradores e componentes testados e aprovados por normas governamentais apropriadas, tais como as NIOSH (E.U.A.) ou CEN (UE).

Protecção das mãos

As luvas de protecção seleccionadas devem satisfazer as especificações da Directiva da UE 89/689/CEE e a norma EN 374 derivada dela.

Manusear com luvas.

Protecção dos olhos

Óculos de segurança bem ajustados. Protecção da face (mínimo de 8 polegadas (20 cm)).

Protecção do corpo e da pele

Escolher uma protecção para o corpo conforme a quantidade e a concentração das substâncias perigosas no lugar de trabalho.

Medidas de higiene

Manusear de acordo com as boas práticas industriais de higiene e segurança. Lavar as mãos antes de interrupções, e no final do dia de trabalho.

9. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS

Aspecto

Estado físico líquido

Dados de segurança

pH 1,2 a 5 g/l
 Ponto de fusão 3 °C
 Ponto de ebulição 290 °C - lit.
 Ponto de inflamação não aplicável
 Temperatura de ignição dados não disponíveis
 Limites de explosão, inferior dados não disponíveis
 Limite de explosão, superior dados não disponíveis
 Pressão de vapor 1,33 hPa a 145,8 °C
 Densidade 1,84 g/cm³ a 25 °C
 Hidrossolubilidade solúvel
 Densidade relativa do vapor 3,39
 - (Ar = 1.0)

10. ESTABILIDADE E REACTIVIDADE

Estabilidade química

Estável sob as condições recomendadas de armazenamento.

Possibilidade de reacções perigosas

Reage violentamente em contacto com a água.

Condições a evitar

dados não disponíveis

Matérias a evitar

Bases, Haletos, Materiais orgânicos, Carbetos, fulmina, Nitratos, picratos, Cianetos, Cloratos, Halogenetos alcalinos, Sais de zinco, permanganatos, por exemplo, permanganato de potássio, Peróxido de hidrogênio, Azidas, Percloratos, Nitrometano, fosforoso, Reage violentamente com: ciclopentanoma, Oxima de ciclopentanoma, aminas nitrílicas, dissiliceto de hexalítio, óxido fosforoso (III), Metais em pó

Produtos de decomposição perigosos

Produtos perigosos de decomposição formados durante os incêndios. - Óxidos de enxofre

11. INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA

Toxicidade aguda

DL50 Oral - ratazana - 2.140 mg/kg

CL50 Inalação - ratazana - 2 h - 510 mg/m³

Corrosão/irritação cutânea

Pele - coelho - Extremamente corrosivo e destrutivo para os tecidos.

Lesões oculares graves/irritação ocular

Olhos - coelho - Grave irritação dos olhos

Sensibilização respiratória ou da pele

dados não disponíveis

Mutagenicidade em células germinativas**Carcinogenicidade**

A International Agency for Research on Cancer (IARC) determinou que a exposição ocupacional a névoas de ácidos inorgânicos fortes contendo ácido sulfúrico é carcinogênica para os seres humanos (grupo 1).

IARC: Nenhum componente deste produto presente a níveis maiores ou iguais a 0.1% é identificado como carcinogénio provável, possível ou confirmado pelo IARC.

Toxicidade reprodutiva**Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição única**

dados não disponíveis

Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição repetida

dados não disponíveis

Perigo de aspiração

dados não disponíveis

Efeitos potenciais para a saúde

Inalação	Pode ser perigoso se for inalado. O material é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e do trato respiratório superior.
Ingestão	Pode ser perigoso se for engolido. Provoca queimaduras graves.
Pele	Pode ser perigoso se for absorvido pela pele. Causa queimaduras severas na pele.
Olhos	Causa queimaduras severas nos olhos.

Sinais e sintomas de exposição

O material é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e para o trato respiratório superior, os olhos e a pele., espasmo, inflamação e edema da laringe, espasmo, inflamação e edema dos brônquios, pneumonite, edema pulmonar, sensação de queimadura, Tosse, respiração ruidosa, laringite, Respiração superficial, Dor de cabeça, Náusea, Vômitos, Edema pulmonar. Os efeitos podem ser tardios., Até onde sabemos, as propriedades químicas, físicas e toxicológicas não foram minuciosamente investigadas.

Informação adicional

RTECS: WS5600000

12. INFORMAÇÃO ECOLÓGICA**Toxicidade**

Toxicidade em peixes	CL50 - Gambusia affinis (peixe-mosquito) - 42 mg/l - 96 h
----------------------	---

Persistência e degradabilidade

dados não disponíveis

Potencial de bioacumulação

dados não disponíveis

Mobilidade no solo

dados não disponíveis

Avaliação PBT e mPmB

dados não disponíveis

Outros efeitos adversos

dados não disponíveis

13. CONSIDERAÇÕES RELATIVAS À ELIMINAÇÃO**Produto**

Observar todos os regulamentos ambientais federais, estaduais e locais. Entrar em contato com um serviço profissional credenciado de descarte de lixo para descartar esse material. Dissolver ou misturar o material com um solvente combustível e queimar em incinerador químico equipado com pós-combustor e purificador de gases.

Embalagens contaminadas

Eliminar como produto Não utilizado.

14. INFORMAÇÕES RELATIVAS AO TRANSPORTE**ADR/RID**

Número ONU: 1830	Classe: 8	Grupo de embalagem: II
------------------	-----------	------------------------

Denominação de expedição correcta: ÁCIDO SULFÚRICO

IMDG

Número ONU: 1830	Classe: 8	Grupo de embalagem: II	EMS-No:
------------------	-----------	------------------------	---------

F-A, S-B
Denominação de expedição correcta: SULPHURIC ACID
Poluente marinho: No

IATA

Número ONU: 1830	Classe: 8	Grupo de embalagem: II
------------------	-----------	------------------------

Denominação de expedição correcta: Sulphuric acid

15. INFORMAÇÃO SOBRE REGULAMENTAÇÃO

Esta folha de dados de segurança obedece aos requerimentos da Regulamento (CE) No. 1907/2006

16. OUTRAS INFORMAÇÕES**Texto dos código(s) H e frase(s) R mencionados na secção 3**

H314	Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
Skin Corr.	Corrosão cutânea
C	Corrosivo
R35	Provoca queimaduras graves.

D.2. Ficha de Segurança do Ácido Clorídrico**1. IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA/MISTURA E DA SOCIEDADE/EMPRESA**

Nome do produto	: Ácido clorídrico
Referência do Produto	: 320331
Marca	: Sigma-Aldrich
Companhia	: Sigma-Aldrich Brasil Ltda. Av. das Nações Unidas, 23.043 04795-100 SÃO PAULO - SP BRAZIL
Telefone	: +551137323100
Número de Fax	: +551155229895
Número de Telefone de Emergência	:

2. IDENTIFICAÇÃO DOS PERIGOS**Classificação da substância ou da mistura**

Nos termos do Regulamento (CE) No1272/2008

Corrosão cutânea (Categoria 1B)

Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição única (Categoria 3)

De acordo com a directiva Europeia 67/548/CEE, e emendas.

Provoca queimaduras. Irritante para as vias respiratórias.

Elementos da etiqueta

Pictograma



Palavra-sinal

Perigo

Declaração de perigo

H314

Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

H335

Pode provocar irritação das vias respiratórias.

declaração de precaução

P261

Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.

P280

Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial.

P305 + P351 + P338

SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.

P310

Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

símbolo de perigosidade

C

Corrosivo

Frase(s) - R

R34

Provoca queimaduras.

R37

Irritante para as vias respiratórias.

Frase(s) - S

S26

Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com

S45
 água e consultar um especialista.
 Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente o médico (se possível mostrar-lhe o rótulo).

Outros Perigos - nenhum(a)

3. COMPOSIÇÃO/INFORMAÇÃO SOBRE OS COMPONENTES

Formula : HCl

No. CAS	No. CE	No. de Index	Classificação	Concentração
Hydrochloric acid				
7647-01-0	231-595-7	017-002-01-X	Skin Corr. 1B; STOT SE 3; H314, H335 C, R34 - R37	37 %
Water				
7732-18-5	231-791-2	-	-	63 %

Para o pleno texto das DECLARAÇÕES H mencionadas nesta Secção, ver a Secção 16.

4. PRIMEIROS SOCORROS

Recomendação geral

Consultar um médico. Mostrar esta ficha de segurança ao médico de serviço.

Se for inalado

Se for respirado, levar a pessoa para o ar fresco. Se não respirar, aplicar a respiração artificial. Consultar um médico.

No caso dum contacto com a pele

Despir imediatamente a roupa e os sapatos contaminados. Lavar com sabão e muita água. Consultar um médico.

No caso dum contacto com os olhos

Lavar cuidadosamente com muita água, durante pelo menos quinze minutos, e consultar o médico.

Se for engolido

NÃO provocar vômitos. Nunca dar nada pela boca a uma pessoa inconsciente. Enxaguar a boca com água. Consultar um médico.

5. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

Meios adequados de extinção

Usar meios de extinção que sejam apropriados às circunstâncias locais e ao ambiente envolvente.

Equipamento especial de protecção a utilizar pelo pessoal de combate a incêndio

Usar equipamento de respiração autónomo para combate a incêndios, se necessário.

Outras informações

O produto não queima.

6. MEDIDAS A TOMAR EM CASO DE FUGAS ACIDENTAIS

Precauções individuais

Usar equipamento de protecção individual. Evitar a respiração do vapor/névoa/gas. Assegurar ventilação adequada. Evacuar o pessoal para áreas de segurança.

Precauções ambientais

Não permitir a entrada do produto no sistema de esgotos.

Métodos e materiais para a contenção e a limpeza

Embeber em material inerte e absorvente e tratar como desperdício especial. Manter em recipientes fechados adequados, para eliminação. Embeber em material inerte e absorvente e tratar como desperdício especial. Manter em recipientes fechados adequados, para eliminação.

7. MANUSEAMENTO E ARMAZENAGEM

Precauções para um manuseamento seguro

Evitar a inalação do vapor ou da névoa.

Condições para uma armazenagem segura

Armazenar em local fresco. Guardar o recipiente herméticamente fechado em lugar seco e bem ventilado. Os contentores abertos devem ser cuidadosamente fechados de novo e têm que ficar direitos para evitar a dispersão.

8. CONTROLO DA EXPOSIÇÃO/PROTECÇÃO PESSOAL

Protecção individual

Protecção respiratória

Nos casos em que a avaliação de risco mostrar que os respiradores purificadores do ar são apropriados, use um respirador de cobertura facial total com cartuchos de combinação multi-objectivos (E.U.A.) ou do tipo ABEK (EN 14387) como apoio a controlos de engenharia. Se o respirador for o único meio de protecção, use um respirador de ar de cobertura facial total. Use respiradores e componentes testados e aprovados por normas governamentais apropriadas, tais como as NIOSH (E.U.A.) ou CEN (UE).

Protecção das mãos

As luvas de protecção seleccionadas devem satisfazer as especificações da Directiva da UE 89/689/CEE e a norma EN 374 derivada dela.

Manusear com luvas.

Protecção dos olhos

Óculos de segurança bem ajustados. Protecção da face (mínimo de 8 polegadas (20 cm)).

Protecção do corpo e da pele

Escolher uma protecção para o corpo conforme a quantidade e a concentração das substâncias perigosas no lugar de trabalho.

Medidas de higiene

Manusear de acordo com as boas práticas industriais de higiene e segurança. Lavar as mãos antes de interrupções, e no final do dia de trabalho.

9. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS

Aspecto

Estado físico	líquido
Cor	amarelo claro
Odor	acre

Dados de segurança

pH	dados não disponíveis
Ponto de fusão	-30 °C
Ponto de ebulição	> 100 °C
Ponto de inflamação	não aplicável
Temperatura de ignição	dados não disponíveis
Limites de explosão, inferior	dados não disponíveis
Limite de explosão, superior	dados não disponíveis
Pressão de vapor	226,636 hPa a 21,1 °C 546,596 hPa a 37,7 °C
Hidrossolubilidade	solúvel
Viscosidade, dinâmico	2,3 mPa.s a 15 °C

10. ESTABILIDADE E REACTIVIDADE

Estabilidade química

Estável sob as condições recomendadas de armazenamento.

Condições a evitar

dados não disponíveis

Matérias a evitar

Bases, Aminas, Metais alcalinos, Metais, permanganatos, por exemplo, permanganato de potássio, Flúor, acetilídios metálicos, dissiliceto de hexalíto

Produtos de decomposição perigosos

Produtos perigosos de decomposição formados durante os incêndios. - Cloreto de hidrogénio gasoso
Produtos perigosos de decomposição formados durante os incêndios. - Cloreto de hidrogénio gasoso

11. INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA

Toxicidade aguda

DL50 Oral - coelho - 900 mg/kg (Hydrochloric acid)

CL50 Inalação - ratazana - 1 h - 3124 ppm (Hydrochloric acid)

Corrosão/irritação cutânea

dados não disponíveis (Hydrochloric acid)

Lesões oculares graves/irritação ocular

dados não disponíveis (Hydrochloric acid)

Sensibilização respiratória ou da pele

dados não disponíveis (Hydrochloric acid)

Mutagenicidade em células germinativas

(Hydrochloric acid)

dados não disponíveis (Hydrochloric acid)

Carcinogenicidade

Este produto é ou contém um componente que não é classificável quanto à sua carcinogenicidade segundo sua classificação pela IARC, ACGIH, NTP ou EPA. (Hydrochloric acid)

(Hydrochloric acid)

IARC: Nenhum componente deste produto presente a níveis maiores ou iguais a 0.1% é identificado como carcinogênio provável, possível ou confirmado pelo IARC.

Toxicidade reprodutiva

(Hydrochloric acid)

dados não disponíveis (Hydrochloric acid)

Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição única

Pode provocar irritação das vias respiratórias. (Hydrochloric acid)

Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição repetida

dados não disponíveis

Perigo de aspiração

dados não disponíveis (Hydrochloric acid)

Efeitos potenciais para a saúde**Inalação**

Pode ser perigoso se for inalado. O material é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e do trato respiratório superior.

Ingestão

Pode ser perigoso se for engolido. Provoca queimaduras.

Pele

Pode ser perigoso se for absorvido pela pele. Causa queimaduras na pele.

Olhos

Causa queimaduras nos olhos.

Sinais e sintomas de exposição

sensação de queimadura, Tosse, respiração ruidosa, laringite, Respiração superficial, espasmo, inflamação e edema da laringe, espasmo, inflamação e edema dos brônquios, pneumonite, edema pulmonar. O material é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e para o trato respiratório superior, os olhos e a pele. (Hydrochloric acid)

Informação adicional

RTECS: MW4025000

12. INFORMAÇÃO ECOLÓGICA

Toxicidade

Toxicidade em peixes

CL50 - *Gambusia affinis* (peixe-mosquito) - 282 mg/l - 96 h (Hydrochloric acid)**Persistência e degradabilidade**

dados não disponíveis

Potencial de bioacumulação

dados não disponíveis

Mobilidade no solo

dados não disponíveis (Hydrochloric acid)

Avaliação PBT e mPmB

dados não disponíveis

Outros efeitos adversos

dados não disponíveis

13. CONSIDERAÇÕES RELATIVAS À ELIMINAÇÃO**Produto**

Observar todos os regulamentos ambientais federais, estaduais e locais. Entrar em contato com um serviço profissional credenciado de descarte de lixo para descartar esse material.

Embalagens contaminadas

Eliminar como produto Não utilizado.

14. INFORMAÇÕES RELATIVAS AO TRANSPORTE**ADR/RID**

Número ONU: 1789 Classe: 8 Grupo de embalagem: II
Denominação de expedição correcta: ÁCIDO CLORÍDRICO

IMDG

Número ONU: 1789 Classe: 8 Grupo de embalagem: II EMS-No: F-A, S-B
Denominação de expedição correcta: HYDROCHLORIC ACID
Poluente marinho: No

IATA

Número ONU: 1789 Classe: 8 Grupo de embalagem: II
Denominação de expedição correcta: Hydrochloric acid

15. INFORMAÇÃO SOBRE REGULAMENTAÇÃO

Esta folha de dados de segurança obedece aos requerimentos da Regulamento (CE) No. 1907/2006

16. OUTRAS INFORMAÇÕES

Texto dos código(s) H e frase(s) R mencionados na secção 3

H314	Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
H335	Pode provocar irritação das vias respiratórias.
Skin Corr.	Corrosão cutânea
STOT SE	Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição única
C	Corrosivo
R34	Provoca queimaduras.
R37	Irritante para as vias respiratórias.

D.3. Ficha de Segurança do Ácido Nítrico**1. IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA/MISTURA E DA SOCIEDADE/EMPRESA**

Nome do produto	: Nitric acid
Referência do Produto	: 258121
Marca	: Sigma-Aldrich
Companhia	: Sigma-Aldrich Brasil Ltda. Av. das Nações Unidas, 23.043 04795-100 SÃO PAULO - SP BRAZIL
Telefone	: +551137323100
Número de Fax	: +551155229895
Número de Telefone de Emergência	:

2. IDENTIFICAÇÃO DOS PERIGOS**Classificação da substância ou da mistura**

De acordo com a directiva Europeia 67/548/CEE, e emendas.
Favorece a inflamação de matérias combustíveis. Provoca queimaduras graves.

Elementos da etiqueta

símbolo de perigosidade

O	Comburente
C	Corrosivo

Frase(s) - R

R 8	Favorece a inflamação de matérias combustíveis.
R35	Provoca queimaduras graves.

Frase(s) - S

S23	Não respirar os gases/vapores/fumos/aerossóis.
S26	Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista.
S36	Usar vestuário de protecção adequado.
S45	Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente o médico (se possível mostrar-lhe o rótulo).

Outros Perigos - nenhum(a)

3. COMPOSIÇÃO/INFORMAÇÃO SOBRE OS COMPONENTES

Formula : HNO₃

No. CAS	No. CE	No. de Index	Classificação	Concentração
Nitric acid				
7697-37-2	231-714-2	007-004-00-1	Ox. Liq. 3; Skin Corr. 1A; H314, H272 O, C, R 8 - R35	>= 90 - <= 100 %
Water				
7732-18-5	231-791-2	-	-	<= 10 %

Para o pleno texto das DECLARAÇÕES H mencionadas nesta Secção, ver a Secção 16.

4. PRIMEIROS SOCORROS**Recomendação geral**

Consultar um médico. Mostrar esta ficha de segurança ao médico de serviço.

Se for inalado

Se for respirado, levar a pessoa para o ar fresco. Se não respirar, aplicar a respiração artificial. Consultar um médico.

No caso dum contacto com a pele

Despir imediatamente a roupa e os sapatos contaminados. Lavar com sabão e muita água. Consultar um médico.

No caso dum contacto com os olhos

Lavar cuidadosamente com muita água, durante pelo menos quinze minutos, e consultar o médico.

Se for engolido

NÃO provocar vômitos. Nunca dar nada pela boca a uma pessoa inconsciente. Enxaguar a boca com água. Consultar um médico.

5. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO**Meios adequados de extinção**

Utilizar água pulverizada, espuma resistente ao álcool, produto químico seco ou dióxido de carbono.

Equipamento especial de protecção a utilizar pelo pessoal de combate a incêndio

Usar equipamento de respiração autónomo para combate a incêndios, se necessário.

Outras informações

Os jactos de água podem ser utilizados para arrefecer os contentores fechados.

6. MEDIDAS A TOMAR EM CASO DE FUGAS ACIDENTAIS**Precauções individuais**

Usar equipamento de protecção individual. Evitar a respiração do vapor/névoa/gas. Assegurar ventilação adequada. Evacuar o pessoal para áreas de segurança.

Precauções ambientais

Não permitir a entrada do produto no sistema de esgotos.

Métodos e materiais para a contenção e a limpeza

Controlar e recuperar o líquido derramado com um produto absorvente não combustível, (por exemplo areia, terra, terra diatomácea, vermiculite) e pôr o líquido dentro de contentores para eliminação de acordo com os regulamentos locais / nacionais (ver secção 13).

7. MANUSEAMENTO E ARMAZENAGEM**Precauções para um manuseamento seguro**

Evitar a inalação do vapor ou da névoa.

Manter afastado de qualquer chama ou fonte de ignição - Não fumar. Manter afastado de matérias combustíveis.

Condições para uma armazenagem segura

Armazenar em local fresco. Guardar o recipiente herméticamente fechado em lugar seco e bem ventilado. Os contentores abertos devem ser cuidadosamente fechados de novo e têm que ficar direitos para evitar a dispersão.

8. CONTROLO DA EXPOSIÇÃO/PROTECÇÃO PESSOAL

Protecção individual

Protecção respiratória

Nos casos em que a avaliação de risco mostrar que os respiradores purificadores do ar são apropriados, use um respirador de cobertura facial total com cartuchos de combinação multi-objectivos (E.U.A.) ou do tipo ABEK (EN 14387) como apoio a controlos de engenharia. Se o respirador for o único meio de protecção, usa um respirador de ar de cobertura facial total. Use respiradores e componentes testados e aprovados por normas governamentais apropriadas, tais como as NIOSH (E.U.A.) ou CEN (UE).

Protecção das mãos

As luvas de protecção seleccionadas devem satisfazer as especificações da Directiva da UE 89/689/CEE e a norma EN 374 derivada dela.

Manusear com luvas.

Protecção dos olhos

Óculos de segurança bem ajustados. Protecção da face (mínimo de 8 polegadas (20 cm)).

Protecção do corpo e da pele

Escolher uma protecção para o corpo conforme a quantidade e a concentração das substâncias perigosas no lugar de trabalho.

Medidas de higiene

Manusear de acordo com as boas práticas industriais de higiene e segurança. Lavar as mãos antes de interrupções, e no final do dia de trabalho.

9. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS

Aspecto

Estado físico líquido

Cor incolor

Dados de segurança

pH < 1 a 20 °C

Ponto de fusão dados não disponíveis

Ponto de ebulição 100 °C a 1.013 hPa

Ponto de inflamação dados não disponíveis

Temperatura de ignição dados não disponíveis

Limites de explosão, inferior dados não disponíveis

Limite de explosão, superior dados não disponíveis

Pressão de vapor 11 hPa a 20 °C

Densidade 1,48 g/cm³

Hidrossolubilidade completamente solúvel

10. ESTABILIDADE E REACTIVIDADE

Estabilidade química

Estável sob as condições recomendadas de armazenamento. Estável sob as condições recomendadas de armazenamento.

Condições a evitar

Pode descorar-se sob exposição ao ar ou à luz.

Matérias a evitar

Metais alcalinos, Materiais orgânicos, Anidrido acético, Acetonitrila, Alcoois, Acrilonitrila

Produtos de decomposição perigosos

Produtos perigosos de decomposição formados durante os incêndios. - A natureza dos produtos de decomposição não é conhecida.

11. INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA

Toxicidade aguda

dados não disponíveis (Nitric acid)

Corrosão/irritação cutânea

Pele - coelho - Extremamente corrosivo e destrutivo para os tecidos. - Teste de Draize (Nitric acid)

Lesões oculares graves/irritação ocular

dados não disponíveis (Nitric acid)

Sensibilização respiratória ou da pele

dados não disponíveis (Nitric acid)

Mutagenicidade em células germinativas

dados não disponíveis (Nitric acid)

Carcinogenicidade

IARC: Nenhum componente deste produto presente a níveis maiores ou iguais a 0.1% é identificado como carcinógeno provável, possível ou confirmado pelo IARC.

Toxicidade reprodutiva

Toxicidade reprodutiva - ratazana - Oral

Efeitos no recém nascido: bioquímicos e metabólicos (Nitric acid)

Efeitos tóxicos no desenvolvimento - ratazana - Oral

Efeitos no embrião ou no feto: Fetotoxicidade (excepto a morte, por exemplo, atrofia do feto). (Nitric acid)

Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição única

dados não disponíveis (Nitric acid)

Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição repetida

dados não disponíveis

Perigo de aspiração

dados não disponíveis (Nitric acid)

Efeitos potenciais para a saúde

Inalação	Pode ser perigoso se for inalado. O material é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e do trato respiratório superior.
Ingestão	Pode ser perigoso se for engolido. Provoca queimaduras graves.
Pele	Pode ser perigoso se for absorto pela pele. Causa queimaduras severas na pele.
Olhos	Causa queimaduras severas nos olhos.

Sinais e sintomas de exposição

O material é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e para o trato respiratório superior, os olhos e a pele., A inalação pode provocar os sintomas seguintes:, espasmo, inflamação e edema dos brônquios, espasmo, inflamação e edema da laringe, pneumonite, Os sintomas e sinais de envenenamento são:, sensação de queimadura, Tosse, respiração ruidosa, laringite, Respiração superficial, Dor de cabeça, Náusea, Vômitos, Edema pulmonar. Os efeitos podem ser tardios., Doses grandes podem provocar: conversão da hemoglobina em metemoglobina, produzindo cianose; acentuada queda da pressão sanguínea, levando ao colapso, coma e possivelmente morte.

Informação adicional

RTECS: dados não disponíveis

12. INFORMAÇÃO ECOLÓGICA

Toxicidade

Toxicidade em peixes CL50 - Asterias rubens - 100 - 330 mg/l - 48 h (Nitric acid)

Persistência e degradabilidade

dados não disponíveis

Potencial de bioacumulação

dados não disponíveis

Mobilidade no solo

dados não disponíveis (Nitric acid)

Avaliação PBT e mPmB

dados não disponíveis

Outros efeitos adversos

Pode ser nocivo para os organismos aquáticos devido à mudança do pH.

13. CONSIDERAÇÕES RELATIVAS À ELIMINAÇÃO**Produto**

Entrar em contato com um serviço profissional credenciado de descarte de lixo para descartar esse material. Dissolver ou misturar o material com um solvente combustível e queimar em incinerador químico equipado com pós-combustor e purificador de gases. Observar todos os regulamentos ambientais federais, estaduais e locais.

Embalagens contaminadas

Eliminar como produto Não utilizado.

14. INFORMAÇÕES RELATIVAS AO TRANSPORTE**ADR/RID**

Número ONU: 2031 Classe: 8 (5.1) Grupo de embalagem: I
Denominação de expedição correcta: ÁCIDO NÍTRICO

IMDG

Número ONU: 2031 Classe: 8 (5.1) Grupo de embalagem: I EMS-No
F-A, S-Q
Denominação de expedição correcta: NITRIC ACID
Poluente marinho: No

IATA

Número ONU: 2031 Classe: 8 (5.1) Grupo de embalagem: I
Denominação de expedição correcta: Nitric acid
IATA Passenger: Não permitido para o transporte

15. INFORMAÇÃO SOBRE REGULAMENTAÇÃO

Esta folha de dados de segurança obedece aos requerimentos da Regulamento (CE) No. 1907/2006

16. OUTRAS INFORMAÇÕES**Texto dos código(s) H e frase(s) R mencionados na secção 3**

H272	Pode agravar incêndios; comburente.
H314	Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
Ox. Liq.	Líquidos comburentes
Skin Corr.	Corrosão cutânea
C	Corrosivo
O	Comburente
R 8	Favorece a inflamação de matérias combustíveis.
R35	Provoca queimaduras graves.

D.4. Ficha de Segurança do Ácido Acético**1. IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA/PREPARAÇÃO E DA SOCIEDADE/EMPRESA**

Nome do produto	: ÁCIDO ACÉTICO 99.7+%, A.C.S.
Referência do Produto	: 242853
Marca	: Sigma-Aldrich
Companhia	: Sigma-Aldrich Brasil Ltda. Av. das Nações Unidas, 23.043 04795-100 SÃO PAULO - SP BRAZIL
Telefone	: +551137323100
Número de Fax	: +551155229895
Número de Telefone de Emergência	:

2. IDENTIFICAÇÃO DOS PERIGOS**Precauções para o homem e para o ambiente**

Inflamável. Provoca queimaduras graves.

3. COMPOSIÇÃO/INFORMAÇÃO SOBRE OS COMPONENTES

Sinónimos : Glacial acetic acid

Formula : $C_2H_4O_2$

Peso molecular : 60,05 g/mol

Nº CAS	No. CE	No. de Index	Classificação	Concentração
Acetic acid				
64-19-7	200-580-7	607-002-00-6	C, R10 - R35	-

4. PRIMEIROS SOCORROS

Recomendação geral

Consultar um médico. Mostrar esta ficha de segurança ao médico de serviço.

Se for inalado

Se for respirado, levar a pessoa para o ar fresco. Se não respirar, aplicar a respiração artificial. Consultar um médico.

No caso dum contacto com a pele

Despir imediatamente a roupa e os sapatos contaminados. Lavar com sabão e muita água. Consultar um médico.

No caso dum contacto com os olhos

Lavar cuidadosamente com muita água, durante pelo menos quinze minutos, e consultar o médico.

Se for engolido

NÃO provocar vômitos. Nunca dar nada pela boca a uma pessoa inconsciente. Enxaguar a boca com água. Consultar um médico.

5. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

Meios adequados de extinção

Para fogos incipientes ou pequenos usar meios como espuma de álcool, pó seco ou dióxido de carbono. Para grandes fogos aplicar água desde o mais longe possível, usar grandes quantidades de água (inundação) aplicadas como nevoeiro ou spray; córregos sólidos de água podem não ser efectivos. Esfrie todos os depósitos ou vasilhas com grandes e inundantes quantidades de água.

Equipamento especial de protecção a utilizar pelo pessoal de combate a incêndio

Usar equipamento de respiração autónomo para combate a incêndios, se necessário.

Outras informações

Os jactos de água podem ser utilizados para arrefecer os contentores fechados.

6. MEDIDAS A TOMAR EM CASO DE FUGAS ACIDENTAIS

Precauções individuais

Usar equipamento de protecção individual. Evitar a respiração do vapor/névoa/gas. Assegurar ventilação adequada. Retirar todas as fontes de ignição. Evacuar o pessoal para áreas de segurança. Atenção com a acumulação de vapores que pode formar concentrações explosivas. Os vapores podem-se acumular nas áreas baixas.

Precauções ambientais

Não permitir a entrada do produto no sistema de esgotos.

Métodos de limpeza

Controlar e recuperar o líquido derramado com um produto absorvente não combustível, (por exemplo areia, terra, terra diatomácea, vermiculite) e por o líquido dentro de contentores para eliminação de acordo com as regulações locais / nacionais (ver secção 13). Manter em recipientes fechados adequados, para eliminação.

7. MANUSEAMENTO E ARMAZENAGEM

Manuseamento

Evitar a inalação do vapor ou da névoa.

Manter afastado de qualquer chama ou fonte de ignição - Não fumar. Tome medidas para impedir a formação de electricidade estática.

Armazenagem

Armazenar em local fresco. Guardar o recipiente herméticamente fechado em lugar seco e bem ventilado. Os contentores abertos devem ser cuidadosamente fechados de novo e têm que ficar direitos para evitar a dispersão.

Sensível à humidade.

8. CONTROLO DA EXPOSIÇÃO/PROTECÇÃO PESSOAL

Protecção individual

Protecção respiratória

Nos casos em que a avaliação de risco mostrar que os respiradores purificadores do ar são apropriados, use um respirador de cobertura facial total com cartuchos de combinação multi-objectivos (E.U.A.) ou do tipo ABEK (EN 14387) como apoio a controlos de engenharia. Se o respirador for o único meio de protecção, use um respirador de ar de cobertura facial total. Use respiradores e componentes testados e aprovados por normas governamentais apropriadas, tais como as NIOSH (E.U.A.) ou CEN (UE).

Protecção das mãos

As luvas de protecção seleccionadas devem satisfazer as especificações da Directiva da UE 89/686/CEE e o estandarte EN 374 derivado dele. Manusear com luvas.

Protecção dos olhos

Óculos de segurança bem ajustados. Protecção da face (mínimo de 8 polegadas (20 cm)).

Protecção do corpo e da pele

Escolher uma protecção para o corpo conforme a quantidade e a concentração das substâncias perigosas

no lugar de trabalho.

Medidas de higiene

Manusear de acordo com as boas práticas industriais de higiene e segurança. Lavar as mãos antes de interrupções, e no final do dia de trabalho.

9. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS

Aspecto

Estado físico	líquido
Cor	incolor
Odor	acre

Dados de segurança

pH	2,4 a 60,05 g/l
Ponto de fusão	16,2 °C
Ponto de ebulição	117 - 118 °C
Ponto de inflamação	40,0 °C - câmara fechada
Temperatura de ignição	485 °C
Limites de explosão, inferior	4 %(V)
Limite de explosão, superior	19,9 %(V)
Pressão de vapor	73,3 hPa a 50,0 °C 15,2 hPa a 20,0 °C
Hidrossolubilidade	completamente miscível
Coefficiente de partição n-octanol/água	log Pow: -0,17

10. ESTABILIDADE E REACTIVIDADE

Estabilidade em armazenamento

Estável sob as condições recomendadas de armazenamento.

Condições a evitar

Calor, chamas e faíscas.

Matérias a evitar

Oxidantes, Carbonatos e fosfatos solúveis, Hidróxidos, Metais, Peróxidos, permanganatos, por exemplo, permanganato de potássio, Aminas, Alcoois

Produtos de decomposição perigosos

Produtos perigosos de decomposição formados durante os incêndios. - Óxidos de carbono

11. INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA

Toxicidade aguda

DL50 Oral - ratazana - 3.310 mg/kg

CL50 Inalação - rato - 1 h - 5620 ppm

Observações: Órgãos Sensoriais e Sentidos Especiais (Nariz, Olhos, Ouvidos e Gosto): Olho: irritação das membranas conjuntivas. Órgãos Sensoriais e Sentidos Especiais (Nariz, Olhos, Ouvidos e Gosto): Olho: outros Sangue: outras alterações

CL50 Inalação - ratazana - 4 h - 11,4 mg/l

DL50 Dérmico - coelho - 1.112 mg/kg

Irritação ou corrosão

Pele - coelho - Leve irritação da pele - 24 h

Olhos - coelho - Corrosivo para os olhos

Sensibilização

Pode causar sensibilização em contacto com a pele.

Exposição crónica

IARC: Nenhum componente deste produto presente a níveis maiores ou iguais a 0.1% é identificado como carcinógeno provável, possível ou confirmado pelo IARC.

Sinais e sintomas de exposição

O material é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e para o trato respiratório superior, os olhos e a pele., espasmo, inflamação e edema da laringe, espasmo, inflamação e edema dos brônquios, pneumonite, edema pulmonar, sensação de queimadura, Tosse, respiração ruidosa, laringite, Respiração superficial, Dor de cabeça, Náusea, Vômitos, A ingestão ou inalação de ácido acético concentrado provoca lesões nos tecidos dos tratos respiratório e digestivo. Os sintomas incluem: hematémese, diarreia sanguinolenta, edema e/ou perfuração do esôfago e do piloro, pancreatite, hematúria, anúria, uremia, albuminúria, hemólise, convulsões, bronquite, edema pulmonar, pneumonia, colapso cardiovascular, choque e morte. O contacto directo ou a exposição a concentrações elevadas do vapor com a pele ou com os olhos pode provocar: eritema, vesiculação, destruição tecidual com cicatrização lenta, escurecimento da pele, hiperqueratose, fissuras, erosão da córnea, opacificação, irite, conjuntivite e possível cegueira., Até onde sabemos, as propriedades químicas, físicas e toxicológicas não foram minuciosamente investigadas.

Efeitos potenciais sobre a saúde

Inalação	Pode ser perigoso se for inalado. O material é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e do trato respiratório superior.
Pele	Pode ser perigoso se for absorvido pela pele. Causa queimaduras severas na pele.
Olhos	Causa queimaduras severas nos olhos.
Ingestão	Pode ser perigoso se for engolido. Provoca queimaduras graves.
Órgãos alvo	Dentes, Rim,

Informação adicional

RTECS: AF1225000

12. INFORMAÇÃO ECOLÓGICA

Informação sobre eliminação (persistência e degradabilidade)

Biodegradabilidade Observações: Espera-se que seja bio-degradável

Efeitos de ecotoxicidade

Toxicidade em peixes	CL50 - Leuciscus idus (Carpa dourada) - 410,00 mg/l - 48 h
	CL50 - Cyprinus carpio (Carpa) - 49,00 mg/l - 48 h
	CL50 - Pimephales promelas (vairão gordo) - 79,00 - 88,00 mg/l - 96 h
	CL50 - Lepomis macrochirus - 75 mg/l - 96 h
Toxicidade em dáfnias e outros	CE50 - Daphnia magna - 65,00 mg/l - 48 h

invertebrados
aquáticos.

Toxicidade em algas CE50 - Não existe informação disponível. - 156,00 mg/l - 24 h

Informações suplementares sobre a ecologia

Carência biológica de oxigênio (CBO) 880 mg/g

Informações ecológicas adicionais dados não disponíveis

13. CONSIDERAÇÕES RELATIVAS À ELIMINAÇÃO

Produto

Esse material combustível deve ser queimado em um incinerador químico equipado com um pós-combustor e purificador de gases. Observar todos os regulamentos ambientais federais, estaduais e locais. Entrar em contato com um serviço profissional credenciado de descarte de lixo para descartar esse material.

Embalagens contaminadas

Eliminar como produto Não utilizado.

14. INFORMAÇÕES RELATIVAS AO TRANSPORTE

ADR/RID

Número ONU: 2789 Classe: 8 (3) Grupo de embalagem: II
Denominação de expedição correcta: ACETIC ACID, GLACIAL

IMDG

Número ONU: 2789 Classe: 8 (3) Grupo de embalagem: II EMS-No:
F-E, S-C
Denominação de expedição correcta: ACETIC ACID, GLACIAL
Poluente marinho: No

IATA

Número ONU: 2789 Classe: 8 (3) Grupo de embalagem: II
Denominação de expedição correcta: Acetic acid, glacial

15. INFORMAÇÃO SOBRE REGULAMENTAÇÃO

Rotulado de acordo com as directivas da CE

Rotulagem CE

Símbolos de perigo

C Corrosivo

Frase(s) - R

R10 Inflamável.
R35 Provoca queimaduras graves.

Frase(s) - S

S23 Não respirar os gases/vapores/fumos/aerossóis.
S26 Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista.
S45 Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente o médico (se possível mostrar-lhe o rótulo).

D.5. Ficha de Segurança do Hidróxido de Sódio

1. IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA/MISTURA E DA SOCIEDADE/EMPRESA

1.1 Identificadores do produto

Nome do produto : HIDRÓXIDO DE SÓDIO

Referência do Produto : S5881
Marca : Sigma-Aldrich
No. de Index : 011-002-00-6
No. CAS : 1310-73-2

1.2 Utilizações relevantes identificadas da substância ou mistura e utilizações desaconselhadas

Utilizações identificadas : Produtos químicos de laboratório, Fabricação de substâncias

2. IDENTIFICAÇÃO DOS PERIGOS

2.1 Classificação da substância ou mistura

Classification according to Regulation (EC) No 1272/2008 [EU-GHS/CLP]
Skin corrosion (Category 1A)

Classificação de acordo com as Directivas da EU 67/548/CEE ou 1999/45/CE
Provoca queimaduras graves.

2.2 Elementos da etiqueta

Labelling according Regulation (EC) No 1272/2008 [CLP]

Pictogram



Signal word

Danger

Hazard statement(s)

H314

Causes severe skin burns and eye damage.

Precautionary statement(s)

P280

Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.

P305 + P351 + P338

IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P310

Immediately call a POISON CENTER or doctor/ physician.

Supplemental Hazard Statements

none

According to European Directive 67/548/EEC as amended.

Hazard symbol(s)



R-phrase(s)

R35

Causes severe burns.

S-phrase(s)

S26

In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

S37/39

Wear suitable gloves and eye/face protection.

S45

In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately (show the label where possible).

2.3 Outros Perigos - nenhum(a)

3. COMPOSIÇÃO/INFORMAÇÃO SOBRE OS COMPONENTES

3.1 Substâncias

Sinónimos : 'Caustic soda'

Formula : NaOH

Peso molecular : 40,00 g/mol

Componente	Concentração
Sodium hydroxide	
No. CAS	1310-73-2
No. CE	215-185-5
No. de Index	011-002-00-6

4. PRIMEIROS SOCORROS

4.1 Descrição das medidas de primeiros socorros

Recomendação geral

Consultar um médico. Mostrar esta ficha de segurança ao médico de serviço.

Se for inalado

Se for respirado, levar a pessoa para o ar fresco. Se não respirar, dar respiração artificial. Consultar um médico.

No caso dum contacto com a pele

Despir imediatamente a roupa e os sapatos contaminados. Lavar com sabão e muita água. Consultar um médico.

No caso dum contacto com os olhos

Lavar cuidadosamente com muita água, durante pelo menos quinze minutos, e consultar o médico.

Se for engolido

NÃO provocar vômitos. Nunca dar nada pela boca a uma pessoa inconsciente. Enxaguar a boca com água. Consultar um médico.

- 4.2 Sintomas e efeitos mais importantes, tanto agudos como retardados**
espasmo, inflamação e edema da laringe, espasmo, inflamação e edema dos brônquios, pneumonite, edema pulmonar, sensação de queimadura, Tosse, respiração ruidosa, laringite, Respiração superficial, Dor de cabeça, Náusea, Vômitos, O material é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e para o trato respiratório superior, os olhos e a pele.
- 4.3 Indicação de atenção medical imediata e tratamento especial necessário**
dados não disponíveis

5. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO**5.1 Meios de extinção****Meios adequados de extinção**

Usar meios de extinção que sejam apropriados às circunstâncias locais e ao ambiente envolvente.

5.2 Perigos especiais decorrentes da substância ou mistura

Oxidos de sódio

5.3 Recomendações para o pessoal de combate a incêndios

Usar equipamento de respiração autónomo para combate a incêndios, se necessário.

5.4 Outras informações

O produto não queima.

6. MEDIDAS A TOMAR EM CASO DE FUGAS ACIDENTAIS**6.1 Precauções individuais, equipamento de protecção e procedimentos de emergência**

Usar equipamento de protecção individual. Evitar a formação de poeira. Evitar a respiração do vapor/névoa/gas. Assegurar ventilação adequada. Evacuar o pessoal para áreas de segurança. Evitar de respirar o pó.

6.2 Precauções a nível ambiental

Prevenir dispersão ou derramamento ulterior se for mais seguro assim. Não permitir a entrada do produto no sistema de esgotos. A descarga no meio ambiente deve ser evitada.

6.3 Métodos e materiais de confinamento e limpeza

Apanhar os resíduos sem levantar poeiras. Varrer e apanhar com uma pá. Manter em recipientes fechados adequados, para eliminação.

6.4 Remissão para outras secções

Para eliminação de resíduos ver secção 13.

7. MANUSEAMENTO E ARMAZENAGEM**7.1 Precauções para um manuseamento seguro**

Evitar a formação de pó e aerossóis.
Providenciar uma adequada ventilação em locais onde se formem poeiras.

7.2 Condições de armazenagem segura, incluindo eventuais incompatibilidades

Armazenar em local fresco. Guardar o recipiente herméticamente fechado em lugar seco e bem ventilado.

7.3 Utilizações finais específicas

dados não disponíveis

8. CONTROLO DA EXPOSIÇÃO/PROTECÇÃO PESSOAL**8.1 Parâmetros de controlo**

Componentes a controlar com relação ao local de trabalho

8.2 Controlo da exposição**Controlos técnicos adequados**

Manusear de acordo com as boas práticas industriais de higiene e segurança. Lavar as mãos antes de interrupções, e no final do dia de trabalho.

Protecção individual**Protecção para os olhos/cara**

Mascaras de protecção e óculos de segurança. Use equipamento de protecção ocular testado e aprovado de acordo com as normas governamentais adequadas, tais como NIOSH (US) ou EN 166 (EU).

Protecção da pele

Manusear com luvas. As luvas devem ser inspectadas antes da utilização. Use uma técnica adequada para a remoção das luvas (sem tocar a superfície exterior da luva) para evitar o contacto da pele com o produto. Descarte as luvas contaminadas após o uso, em conformidade com as leis boas práticas de laboratório. Lavar e secar as mãos.

As luvas de protecção seleccionadas devem satisfazer as especificações da Directiva da UE 89/689/CEE e a norma EN 374 derivada dela.

Protecção do corpo

Fato completo de protecção para produtos químicos, O genero de equipamento de protecção deve ser escolhido de acordo com a concentração e a quantidade da substância perigosa no lugar de trabalho.

Protecção respiratória

Nos casos em que a avaliação de risco mostrar que os respiradores purificadores do ar são apropriados, use um respirador de partículas do tipo N100 (E.U.A.) ou cartuchos de respiração do tipo P2 (EN 143) como apoio a controlos de engenharia. Se o respirador for o único meio de protecção, usa um respirador de ar de cobertura facial total. Use respiradores e componentes testados e aprovados por normas governamentais apropriadas, tais como as NIOSH (E.U.A.) ou CEN (UE).

9. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS**9.1 Informações sobre propriedades físicas e químicas de base**

a) Aspecto	Estado físico: granulado Cor: branco
b) Odor	dados não disponíveis
c) Limiar olfactivo	dados não disponíveis
d) pH	13,0 - 14
e) Ponto de fusão/ponto de congelação	Ponto/intervalo de fusão: 318 °C
f) Ponto de ebulição inicial e intervalo de ebulição;	1.390 °C
g) Ponto de inflamação	não aplicável
h) Taxa de evaporação	dados não disponíveis
i) Inflamabilidade (sólido, gás)	dados não disponíveis
j) limites de inflamabilidade superior / inferior ou explosivas	dados não disponíveis
k) Pressão de vapor	< 24,00 hPa a 20 °C 4,00 hPa a 37 °C
l) Densidade do vapor	1,38 - (Ar = 1.0)
m) Densidade relativa	2,1300 g/cm ³
n) Hidrossolubilidade	dados não disponíveis
o) Coeficiente de partição: n-octanol/água	dados não disponíveis
p) Temperatura de auto-ignição	dados não disponíveis
q) Temperatura de decomposição	dados não disponíveis
r) Viscosidade	dados não disponíveis

s) Propriedades explosivas dados não disponíveis

t) Propriedades oxidantes dados não disponíveis

9.2 Outra informação de segurança

Densidade da massa 2.130 kg/m³

10. ESTABILIDADE E REACTIVIDADE

10.1 Reactividade

dados não disponíveis

10.2 Estabilidade química

dados não disponíveis

10.3 Possibilidade de reacções perigosas

dados não disponíveis

10.4 Condições a evitar

dados não disponíveis

10.5 Materiais incompatíveis

Agentes oxidantes fortes, Ácidos fortes, Materiais orgânicos

10.6 Produtos de decomposição perigosos

Outros produtos de decomposição perigosos - dados não disponíveis

11. INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA

11.1 Informações sobre os efeitos toxicológicos

Toxicidade aguda

dados não disponíveis

Corrosão/irritação cutânea

Pele - coelho - Provoca queimaduras graves. - 24 h

Lesões oculares graves/irritação ocular

Olhos - coelho - Grave irritação dos olhos - 24 h

Sensibilização respiratória ou cutânea

dados não disponíveis

Mutagenicidade em células germinativas

dados não disponíveis

Carcinogenicidade

IARC: Nenhum componente deste produto presente a níveis maiores ou iguais a 0.1% é identificado como carcinogénio provável, possível ou confirmado pelo IARC.

Toxicidade reprodutiva

dados não disponíveis

Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição única

dados não disponíveis

Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição repetida

dados não disponíveis

Perigo de aspiração

dados não disponíveis

Efeitos potenciais para a saúde

Inalação

Pode ser perigoso se for inalado. O material é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e do trato respiratório superior.

Ingestão

Pode ser perigoso se for engolido. Provoca queimaduras.

Pele

Pode ser perigoso se for absorvido pela pele. Causa queimaduras na pele.

Olhos

Causa queimaduras nos olhos.

Sinais e sintomas de exposição

espasmo, inflamação e edema da laringe, espasmo, inflamação e edema dos brônquios, pneumonite, edema pulmonar, sensação de queimadura, Tosse, respiração ruidosa, laringite, Respiração superficial, Dor de cabeça, Náusea, Vômitos, O material é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e para o trato respiratório superior, os olhos e a pele.

Informação adicional

RTECS: WB4900000

12. INFORMAÇÃO ECOLÓGICA**12.1 Toxicidade**

Toxicidade em peixes CL50 - *Gambusia affinis* (peixe-mosquito) - 125 mg/l - 96 h

Toxicidade em dáfnias e outros invertebrados aquáticos. Imobilização CE50 - *Dáfnia* - 40,38 mg/l - 48 h

12.2 Persistência e degradabilidade

dados não disponíveis

12.3 Potencial de bioacumulação

dados não disponíveis

12.4 Mobilidade no solo

dados não disponíveis

12.5 Resultados da avaliação PBT e mpmb

dados não disponíveis

12.6 Outros efeitos adversos

Perigoso para os organismos aquáticos.

13. CONSIDERAÇÕES RELATIVAS À ELIMINAÇÃO**13.1 Métodos de tratamento de resíduos****Produto**

Propor a entrega de soluções excedentes e não recicláveis a uma empresa idônea de tratamento de resíduos. Entrar em contato com um serviço profissional credenciado de descarte de lixo para descartar esse material.

Embalagens contaminadas

Eliminar como produto Não utilizado.

14. INFORMAÇÕES RELATIVAS AO TRANSPORTE**14.1 Número ONU**

ADR/RID: 1823

IMDG: 1823

IATA: 1823

14.2 Nome apropriado para embarque da ONU

ADR/RID: SODIUM HYDROXIDE, SOLID

IMDG: SODIUM HYDROXIDE, SOLID

IATA: Sodium hydroxide, solid

14.3 Classificação (classificações) do perigo de transporte

ADR/RID: 8

IMDG: 8

IATA: 8

14.4 Grupo de embalagem

ADR/RID: II

IMDG: II

IATA: II

14.5 Perigos para o ambiente

ADR/RID: no

IMDG Poluente marinho: não

IATA: não

14.6 Precauções especiais para o utilizador

dados não disponíveis

15. INFORMAÇÃO SOBRE REGULAMENTAÇÃO

Esta folha de dados de segurança obedece aos requerimentos da Regulamento (CE) No. 1907/2006


15.1 Regulamentação/legislação específica para a substância ou mistura em matéria de saúde, segurança e ambiente

dados não disponíveis

15.2 Avaliação da segurança química

dados não disponíveis

D.6. Ficha de Segurança do n-Hexano

1. IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO E DA EMPRESA	
1.1 Identificadores do produto	
Nome do produto	: HEXANO-N MIN.97% UV/HPLC/ESPECTROSCOPICO
Referência do Produto	: V002042
Marca	: Vetec
1.2 Outros meios de identificação	Dados não disponíveis
1.3 Utilizações identificadas relevantes da substância ou mistura e utilizações desaconselhadas	Só para utilização R&D. Não para utilização farmacêutica, doméstica ou outras utilizações.
1.4 Identificação do fornecedor da ficha de dados de segurança	
Companhia	: Sigma-Aldrich Brasil Ltda. Av. das Nações Unidas, 23.043 04795-100 SÃO PAULO - SP BRAZIL
2. IDENTIFICAÇÃO DE PERIGOS	
2.1 Classificação GHS	
	Líquidos inflamáveis (Categoria 2) Irritação cutânea (Categoria 2) Toxicidade reprodutiva (Categoria 2) Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição única (Categoria 3), Sistema nervoso central Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição repetida, Oral (Categoria 2), Sistema nervoso Perigo de aspiração (Categoria 1) Toxicidade aguda para o ambiente aquático (Categoria 2) Toxicidade crónica para o ambiente aquático (Categoria 2)
2.2 Elementos da Etiqueta GHS, incluindo declarações de prevenção	
Pictograma	
Palavra de advertência	Perigo
Frases de Perigo	
H225	Líquido e vapor facilmente inflamáveis.
H304	Pode ser mortal por ingestão e penetração nas vias respiratórias.
H315	Provoca irritação cutânea.
H336	Pode provocar sonolência ou vertigens.
H361	Suspeito de afectar a fertilidade ou o nascituro.
H373	Pode afectar os órgãos (Sistema nervoso) após exposição prolongada ou repetida por ingestão.
H411	Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
Frases de Precaução	
Prevenção	
P201	Pedir instruções específicas antes da utilização.
P202	Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.
P210	Manter afastado do calor/faisca/chama aberta/ superfícies quente Não fumar.
P233	Manter o recipiente bem fechado.
P240	Ligação à terra/equipotencial do recipiente e do equipamento rec
P241	Utilizar equipamento eléctrico/ de ventilação/ de iluminação/ à prova de explosão.
P242	Utilizar apenas ferramentas antichispa.
P243	Evitar acumulação de cargas electrostáticas.
P260	Não respirar as poeiras/ fumos/ gases/ névoas/ vapores/ aerossóis
P264	Lavar a pele cuidadosamente após manuseamento.

P271	Utilizar apenas ao ar livre ou em locais bem ventilados.
P273	Evitar a libertação para o ambiente.
P280	Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/ protecção facial.
Resposta	
P301 + P310	EM CASO DE INGESTÃO: contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
P303 + P361 + P353	SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): despir/ retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/ tomar um duche.
P304 + P340	EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.
P308 + P313	EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.
P321	Tratamento específico (ver as instruções suplementares de primeiros socorros no presente rótulo).
P331	NÃO provocar o vômito.
P332 + P313	Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.
P362	Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
P370 + P378	Em caso de incêndio: para a extinção utilizar areia seca, um produto químico seco ou espuma resistente ao álcool.
P391	Recolher o produto derramado.
Armazenagem	
P403 + P233	Armazenar em local bem ventilado. Manter o recipiente bem fechado.
P403 + P235	Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco.
P405	Armazenar em local fechado à chave.
Destruição	
P501	Eliminar o conteúdo/ recipiente em instalação aprovada de destruição de resíduos.

2.3 Outros Perigos - nenhum(a)

3. COMPOSIÇÃO E INFORMAÇÕES SOBRE OS INGREDIENTES

3.1 Substâncias

Formula	: C ₆ H ₁₄
Peso molecular	: 86.18 g/mol

Componente	Concentração
n-Hexane	
No. CAS	110-54-3
No. CE	203-777-6
No. de Index	601-037-00-0
	<= 100 %

4. MEDIDAS DE PRIMEIROS-SOCORROS

4.1 Descrição das medidas de primeiros socorros

Recomendação geral

Consultar um médico. Mostrar esta ficha de segurança ao médico de serviço.

Em caso de inalação

Se for respirado, levar a pessoa para o ar fresco. Se não respirar, dar respiração artificial. Consultar um médico.

Em caso de contacto com a pele

Lavar com sabão e muita água. Consultar um médico.

Se entrar em contacto com os olhos

Lavar cuidadosamente com muita água, durante pelo menos quinze minutos, e consultar o médico.

Em caso de ingestão

NÃO provoca vômito. Nunca dar nada pela boca a uma pessoa inconsciente. Enxaguar a boca com água. Consultar um médico.

4.2 Sintomas e efeitos mais importantes, tanto agudos como retardados

O contacto prolongado ou repetido com a pele pode provocar:, redução de gordura, Dermatites, O contacto com os olhos pode provocar:, Vermelhidão, Visão desfocada, Provoca lágrimas., Os efeitos devidos a ingestão podem incluir:, Desconforto gastrointestinal, Depressão do sistema nervoso central, Irritação de pulmão, dor de peito, edema pulmonar, vertigens, tempo de reacção afrouxado, fala arrastada, Dor de cabeça, Vertigem, Sonolência, Inconsciência

4.3 Indicações sobre cuidados médicos urgentes e tratamentos especiais necessários

Dados não disponíveis

5. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

5.1 Meios de extinção

Meios adequados de extinção

Utilizar água pulverizada, espuma resistente ao álcool, produto químico seco ou dióxido de carbono.

5.2 Perigos especiais decorrentes da substância ou mistura

Óxidos de carbono

5.3 Recomendações para o pessoal de combate a incêndios

Usar equipamento de respiração autónomo para combate a incêndios, se necessário.

5.4 Outras informações

Os jatos de água podem ser utilizados para arrefecer os contentores fechados.

6. MEDIDAS DE CONTROLE PARA DERRAMAMENTO OU VAZAMENTO

6.1 Precauções individuais, equipamento de proteção e procedimentos de emergência

Usar equipamento de proteção individual. Evitar a respiração do vapor/névoa/gas. Assegurar ventilação adequada. Cortar todas as fontes de ignição. Evacuar o pessoal para áreas de segurança. Atenção com a acumulação de vapores que pode formar concentrações explosivas. Os vapores podem-se acumular nas áreas baixas.

6.2 Precauções a nível ambiental

Prevenir dispersão ou derramamento, se seguro. Não permitir a entrada do produto no sistema de esgotos. A descarga no meio ambiente deve ser evitada.

6.3 Métodos e materiais de confinamento e limpeza

Controlar e recuperar o líquido derramado com aspirador protegido electricamente ou varrer a seco e por o líquido dentro de contentores para a eliminação de acordo com as regulações locais (ver secção 13).

6.4 Remissão para outras secções

Para eliminação de resíduos ver secção 13.

7. MANUSEIO E ARMAZENAMENTO

7.1 Precauções para um manuseamento seguro

Evitar o contacto com a pele e os olhos. Evitar a inalação do vapor ou da névoa. Manter afastado de qualquer chama ou fonte de ignição - Não fumar. Tome medidas para impedir a formação de electricidade estática.

7.2 Condições de armazenagem segura, incluindo eventuais incompatibilidades

Armazenar em local fresco. Guardar o recipiente herméticamente fechado em lugar seco e bem ventilado. Os contentores abertos devem ser cuidadosamente fechados de novo e têm que ficar direitos para evitar a dispersão.

7.3 Utilizações finais específicas

Dados não disponíveis

8. CONTROLE DE EXPOSIÇÃO E PROTEÇÃO INDIVIDUAL

8.1 Parâmetros de controlo

Límites de exposição ocupacional

Límites profissionais biológicas de exposição

Componente	No. CAS	Parametros	Valor	Amostras biológicas	Bases
n-Hexane	110-54-3	2,5 Hexanodio na	5mg/g creatinina	Urina	NR 7 - Programa de controle medico de saúde ocupacional

8.2 Controlo da exposição

Controlos técnicos adequados

Manusear de acordo com as boas práticas industriais de higiene e segurança. Lavar as mãos antes dos intervalos e no final do dia de trabalho.

Proteção individual

Protecção ocular/ facial

Mascaras de protecção e óculos de segurança. Use equipamento de protecção ocular testado e aprovado de acordo com as normas governamentais adequadas, tais como NIOSH (US) ou EN 166 (EU).

Protecção da pele

Manusear com luvas. As luvas devem ser inspeccionadas antes da utilização. Use uma técnica adequada para a remoção das luvas (sem tocar a superfície exterior da luva) para evitar o contacto da pele com o produto. Descarte as luvas contaminadas após o uso, em conformidade com as leis e boas práticas de laboratório. Lavar e secar as mãos.

As luvas de protecção seleccionadas devem satisfazer as especificações da Directiva da UE 89/689/CEE e a norma EN 374 derivada dela.

Protecção do corpo

Fato completo de protecção para produtos químicos, Tecido protector anti-estático retardador de chama., O tipo de equipamento de protecção deve ser escolhido de acordo com a concentração e a quantidade da substância perigosa no local de trabalho.

Protecção respiratória

Nos casos em que a avaliação de risco mostrar que os respiradores purificadores do ar são apropriados, use um respirador de cobertura facial total com cartuchos de combinação multi-objectivos (E.U.A.) ou do tipo ABEK (EN 14387) como apoio a controlos de engenharia. Se o

respirador for o único meio de protecção, use um respirador de ar de cobertura facial total. Use respiradores e componentes testados e aprovados por normas governamentais apropriadas, tais como as NIOSH (E.U.A.) ou CEN (UE).

9. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS**9.1 Informações sobre propriedades físicas e químicas de base**

a) Aspeto	Forma: líquido Cor: incolor
b) Odor	Dados não disponíveis
c) Limite de Odor	Dados não disponíveis
d) pH	7.0
e) Ponto de fusão/ponto de congelamento	-95.0 °C
f) Ponto de ebulição inicial e intervalo de ebulição	68.0 - 70.0 °C
g) Ponto de fulgor	-26.0 °C - câmara fechada
h) Taxa de evaporação	15.8
i) Inflamabilidade (sólido, gás)	Dados não disponíveis
j) Limites de inflamabilidade superior / inferior ou explosividade	Limite superior de explosão: 7.7 %(V) Limite inferior de explosão: 1.2 %(V)
k) Pressão de vapor	341.3 hPa a 37.7 °C 176.0 hPa a 20.0 °C
l) Densidade de vapor	Dados não disponíveis
m) Densidade relativa	0.66 g/cm ³
n) Hidrossolubilidade	insolúvel
o) Coeficiente de partição n-octanol/água	log Pow: 3.90 - 4.11
p) Temperatura de auto-ignição	234.0 °C
q) Temperatura de decomposição	Dados não disponíveis
r) Viscosidade	Dados não disponíveis

10. ESTABILIDADE E REATIVIDADE**10.1 Reatividade**

Dados não disponíveis

10.2 Estabilidade química

Dados não disponíveis

10.3 Possibilidade de reações perigosas

Dados não disponíveis

10.4 Condições a evitar

Calor, chamas e faíscas. As temperaturas extremas e à luz do sol direta.

10.5 Materiais incompatíveis

Oxidantes

10.6 Produtos de decomposição perigosos**11. INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS****11.1 Informações sobre os efeitos toxicológicos****Toxicidade aguda**

DL50 Oral - Ratazana - 25,000 mg/kg

CL50 Inalação - Ratazana - 4 h - 48000 ppm

Corrosão/irritação cutânea

Irritante para a pele.

Lesões oculares graves/irritação ocular

Olhos - Coelho - Ligeira irritação dos olhos

Sensibilização respiratória ou cutânea

Dados não disponíveis

Mutagenicidade em células germinativas

Dados não disponíveis

Carcinogenicidade

Carcinogenicidade - Ratazana - Inalação

Oncogenia: Carcinogénico segundo os critérios de RTECS. Efeitos oncogénicos: tumores nos testículos

IARC: Nenhum componente deste produto presente a níveis maiores ou iguais a 0.1% é identificado como carcinogénio provável, possível ou confirmado pelo IARC.

Toxicidade à reprodução e lactação

Tendo em base experimentos com animais de laboratório, a exposição excessiva pode provocar desordem(ns) reprodutiva(s). Tóxico reprodutivo suspeito para os humanos Suspeito de afectar a fertilidade.

Toxicidade sistêmica para órgãos-alvo específicos - exposição única

Pode provocar sonolência ou vertigens.

Toxicidade sistêmica para órgãos-alvo específicos - exposição repetida

Ingestão - Pode afectar os órgãos após exposição prolongada ou repetida. - Sistema nervoso

Perigo de aspiração

Pode ser mortal por ingestão e penetração nas vias respiratórias.

Possíveis danos para a saúde

Inalação	Nocivo se for inalado. Causa uma irritação no aparelho respiratório. Pode provocar sonolência e vertigens, por inalação dos vapores.
Ingestão	Nocivo por ingestão. Perigo de aspiração se for engolido - pode entrar nos pulmões e causar danos.
Pele	Perigoso se for absorvido pela pele. Causa uma irritação da pele.
Olhos	Causa uma irritação nos olhos.

Sinais e sintomas de exposição

O contacto prolongado ou repetido com a pele pode provocar:, redução de gordura, Dermatites, O contacto com os olhos pode provocar:, Vermelhidão, Visão desfocada, Provoca lágrimas., Os efeitos devidos a ingestão podem incluir:, Desconforto gastrointestinal, Depressão do sistema nervoso central, Irritação de pulmão, dor de peito, edema pulmonar, vertigens, tempo de reacção afrouxado, fala arrastada, Dor de cabeça, Vertigem, Sonolência, Inconsciência

Informação adicional

RTECS: MN9275000

12. INFORMAÇÕES ECOLÓGICAS**12.1 Ecotoxicidade**

Toxicidade em peixes CL50 - Pimephales promelas (vairão gordo) - 2.5 mg/l - 96.0 h

Toxicidade em dáfnias e outros invertebrados aquáticos CE50 - Daphnia magna - 3,878.00 mg/l - 48 h

Toxicidade em algas CE50 - Chlorella vulgaris (alga em água-doce) - 12,840.00 mg/l - 3 h
CE50 - Skeletoma - 0.30 mg/l - 8 h

12.2 Persistência e degradabilidade

Dados não disponíveis

12.3 Potencial biocumulativo

Dados não disponíveis

12.4 Mobilidade no solo

Dados não disponíveis

12.5 Resultados da avaliação PBT e mPmB

Dados não disponíveis

12.6 Outros efeitos adversos

Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

13. CONSIDERAÇÕES SOBRE TRATAMENTO E DISPOSIÇÃO

13.1 Métodos de tratamento de resíduos

Produto

Queimar em um incinerador químico equipado com pós-combustor e purificador de gases, mas tomar precauções adicionais ao colocar esse material em ignição, visto que é altamente inflamável. Propor a entrega de soluções excedentes e não recicláveis a uma empresa idônea de tratamento de resíduos.

Embalagens contaminadas

Eliminar como produto Não utilizado.

14. INFORMAÇÕES SOBRE TRANSPORTE

14.1 Número ONU

ADR/RID: 1208 DOT (US): 1208 IMDG: 1208 IATA: 1208 ANTT: 1208

14.2 Designação oficial de transporte da ONU

ADR/RID: HEXANOS
DOT (US): Hexanes
IMDG: HEXANES
IATA: Hexanes
ANTT: HEXANOS

14.3 Classes de perigo para efeitos de transporte

ADR/RID: 3 DOT (US): 3 IMDG: 3 IATA: 3 ANTT: 3

14.4 Grupo de embalagem

ADR/RID: II DOT (US): II IMDG: II IATA: II ANTT: II

14.5 Perigos para o ambiente

ADR/RID: sim DOT (US): não IMDG Poluente marinho: sim IATA: não

14.6 Precauções especiais para o utilizador

Dados não disponíveis

14.7 Numero De Risco 33

D.7. Ficha de Segurança do Acetonitrilo

1. IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO E DA EMPRESA

1.1 Identificadores do produto

Nome do produto : Acetonitrilo

Referência do Produto : V000357

Marca : Vetec

1.2 Outros meios de identificação

Dados não disponíveis

1.3 Utilizações identificadas relevantes da substância ou mistura e utilizações desaconselhadas

Só para utilização R&D. Não para utilização farmacêutica, doméstica ou outras utilizações.

1.4 Identificação do fornecedor da ficha de dados de segurança

Companhia : Sigma-Aldrich Brasil Ltda.

2. IDENTIFICAÇÃO DE PERIGOS

2.1 Classificação GHS

Líquidos inflamáveis (Categoria 2)
 Toxicidade aguda, Oral (Categoria 4)
 Toxicidade aguda, Inalação (Categoria 4)
 Toxicidade aguda, Dérmico (Categoria 4)
 Irritação ocular (Categoria 2A)

2.2 Elementos da Etiqueta GHS, incluindo declarações de prevenção

Pictograma



Palavra de advertência

Perigo

Frases de Perigo

H225 Líquido e vapor facilmente inflamáveis.
 H302 Nocivo por ingestão.
 H312 Nocivo em contacto com a pele.
 H319 Provoca irritação ocular grave.
 H332 Nocivo por inalação.

Frases de Precaução

Prevenção

P210 Manter afastado do calor/faisca/chama aberta/ superfícies quentes. -

Não fumar.

P233

Manter o recipiente bem fechado.

P240

Ligação à terra/equipotencial do recipiente e do equipamento receptor.

P241

Utilizar equipamento eléctrico/ de ventilação/ de iluminação/ à prova de explosão.

P242

Utilizar apenas ferramentas antichispa.

P243

Evitar acumulação de cargas electrostáticas.

P261

Evitar respirar as poeiras/ fumos/ gases/ névoas/ vapores/ aerossóis.

P264

Lavar a pele cuidadosamente após manuseamento.

P270

Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto.

P271

Utilizar apenas ao ar livre ou em locais bem ventilados.

P280

Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/ protecção facial.

Resposta

P301 + P312

EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

P303 + P361 + P353

SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): despir/ retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/ tomar um duche.

P304 + P340

EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.

P305 + P351 + P338

SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.

P312

Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

P322

Medidas específicas (ver as instruções suplementares de primeiros socorros no presente rótulo).

P330

Enxaguar a boca.

P337 + P313

Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

P363

Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar.

P370 + P378

Em caso de incêndio: para a extinção utilizar areia seca, um produto químico seco ou espuma resistente ao álcool.

Armazenagem

P403 + P235

Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco.

Destruição

P501

Eliminar o conteúdo/ recipiente em instalação aprovada de destruição de resíduos.

2.3 Outros Perigos - nenhum(a)

3. COMPOSIÇÃO E INFORMAÇÕES SOBRE OS INGREDIENTES

3.1 Substâncias

Formula : C_2H_3N
 Peso molecular : 41.05 g/mol

Componente	Concentração
Acetonitrile	
No. CAS	75-05-8
No. CE	200-835-2
No. de Index	608-001-00-3
Número de registo	01-2119471307-38-XXXX
	<= 100 %

4. MEDIDAS DE PRIMEIROS-SOCORROS

4.1 Descrição das medidas de primeiros socorros

Recomendação geral

Consultar um médico. Mostrar esta ficha de segurança ao médico de serviço.

Em caso de inalação

Se for respirado, levar a pessoa para o ar fresco. Se não respirar, dar respiração artificial. Consultar um médico.

Em caso de contacto com a pele

Lavar com sabão e muita água. Consultar um médico.

Se entrar em contacto com os olhos

Lavar cuidadosamente com muita água, durante pelo menos quinze minutos, e consultar o médico.

Em caso de ingestão

NÃO provoca vômito. Nunca dar nada pela boca a uma pessoa inconsciente. Enxaguar a boca com água. Consultar um médico.

4.2 Sintomas e efeitos mais importantes, tanto agudos como retardados

Tratar como envenenamento por cianeto., Ter sempre à mão um estojo de primeiros socorros contra envenenamento por cianeto juntamente com as instruções adequadas., O estabelecimento dos sintomas é geralmente retardado dependendo da conversão a cianeto., Náusea, Vômitos, Diarreia, Dor de cabeça, Vertigem, Erupção cutânea, Cianose, excitação, depressão, Sonolência, juízo prejudicado, Descoordenação, estupor, morte

4.3 Indicações sobre cuidados médicos urgentes e tratamentos especiais necessários

Dados não disponíveis

5. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

5.1 Meios de extinção

Meios adequados de extinção

Utilizar água pulverizada, espuma resistente ao álcool, produto químico seco ou dióxido de carbono.

5.2 Perigos especiais decorrentes da substância ou mistura

Óxidos de carbono, Óxidos de azoto (NOx)

5.3 Recomendações para o pessoal de combate a incêndios

Usar equipamento de respiração autónomo para combate a incêndios, se necessário.

5.4 Outras informações

Os jatos de água podem ser utilizados para arrefecer os contentores fechados.

6. MEDIDAS DE CONTROLE PARA DERRAMAMENTO OU VAZAMENTO

6.1 Precauções individuais, equipamento de proteção e procedimentos de emergência

Usar equipamento de proteção individual. Evitar a respiração do vapor/névoa/gas. Assegurar ventilação adequada. Cortar todas as fontes de ignição. Evacuar o pessoal para áreas de segurança. Atenção com a acumulação de vapores que pode formar concentrações explosivas. Os vapores podem-se acumular nas áreas baixas.

6.2 Precauções a nível ambiental

Prevenir dispersão ou derramamento, se seguro. Não permitir a entrada do produto no sistema de esgotos.

6.3 Métodos e materiais de confinamento e limpeza

Controlar e recuperar o líquido derramado com aspirador protegido electricamente ou varrer a seco e por o líquido dentro de contentores para a eliminação de acordo com as regulações locais (ver secção 13).

6.4 Remissão para outras secções

Para eliminação de resíduos ver secção 13.

7. MANUSEIO E ARMAZENAMENTO

7.1 Precauções para um manuseamento seguro

Evitar o contacto com a pele e os olhos. Evitar a inalação do vapor ou da névoa. Manter afastado de qualquer chama ou fonte de ignição - Não fumar. Tome medidas para impedir a formação de electricidade estática.

7.2 Condições de armazenagem segura, incluindo eventuais incompatibilidades

Armazenar em local fresco. Guardar o recipiente herméticamente fechado em lugar seco e bem ventilado. Os contentores abertos devem ser cuidadosamente fechados de novo e têm que ficar direitos para evitar a dispersão.

Manipular e estocar sob gás inerte.

7.3 Utilizações finais específicas

Dados não disponíveis

8. CONTROLE DE EXPOSIÇÃO E PROTEÇÃO INDIVIDUAL

8.1 Parâmetros de controlo

Límites de exposição ocupacional

Componente	No. CAS	Valor	Parâmetros de controlo	Bases
Acetonitrile	75-05-8	LT	30 ppm 55 mg/m ³	AGENTES QUÍMICOS CUJA INSALUBRIDADE É CARACTERIZADA POR LIMITE DE TOLERÂNCIA E INSPEÇÃO NO LOCAL DE TRABALHO
	Observações	Grau de insalubridade: máximo		

8.2 Controlo da exposição

Controlos técnicos adequados

Manusear de acordo com as boas práticas industriais de higiene e segurança. Lavar as mãos antes dos intervalos e no final do dia de trabalho.

Protecção individual

Protecção ocular/ facial

Mascaras de protecção e óculos de segurança. Use equipamento de protecção ocular testado e aprovado de acordo com as normas governamentais adequadas, tais como NIOSH (US) ou EN 166 (EU).

Protecção da pele

Manusear com luvas. As luvas devem ser inspeccionadas antes da utilização. Use uma técnica adequada para a remoção das luvas (sem tocar a superfície exterior da luva) para evitar o contacto da pele com o produto. Descarte as luvas contaminadas após o uso, em conformidade com as leis e boas práticas de laboratório. Lavar e secar as mãos.

As luvas de protecção seleccionadas devem satisfazer as especificações da Directiva da UE 89/689/CEE e a norma EN 374 derivada dela.

Protecção do corpo

Fato completo de protecção para produtos químicos, Tecido protector anti-estático retardador de chama., O tipo de equipamento de protecção deve ser escolhido de acordo com a concentração e a quantidade da substância perigosa no local de trabalho.

Protecção respiratória

Nos casos em que a avaliação de risco mostrar que os respiradores purificadores do ar são apropriados, use um respirador de cobertura facial total com cartuchos de combinação multi-objectivos (E.U.A.) ou do tipo ABEK (EN 14387) como apoio a controlos de engenharia. Se o respirador for o único meio de protecção, usa um respirador de ar de cobertura facial total. Use

respiradores e componentes testados e aprovados por normas governamentais apropriadas, tais como as NIOSH (E.U.A.) ou CEN (UE).

9. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS

9.1 Informações sobre propriedades físicas e químicas de base

- | | |
|---|--|
| a) Aspeto | Forma: claro, líquido
Cor: incolor |
| b) Odor | similar a éter |
| c) Limite de Odor | Dados não disponíveis |
| d) pH | Dados não disponíveis |
| e) Ponto de fusão/ponto de congelamento | Ponto/intervalo de fusão: -45.7 °C a 1,013 hPa |

f) Ponto de ebulição inicial e intervalo de ebulição	81.0 - 82.0 °C a 1,013.3 hPa
g) Ponto de fulgor	2.0 °C - câmara fechada
h) Taxa de evaporação	5.8
i) Inflamabilidade (sólido, gás)	Dados não disponíveis
j) Limites de inflamabilidade superior / inferior ou explosividade	Limite superior de explosão: 16 %(V) Limite inferior de explosão: 3 %(V)
k) Pressão de vapor	73.18 hPa a 15 °C 121.44 hPa a 25 °C 413.23 hPa a 55 °C 98.64 hPa a 20 °C
l) Densidade de vapor	1.42 - (Ar = 1.0)
m) Densidade relativa	0.78 g/cm ³ a 20 °C
n) Hidrossolubilidade	completamente solúvel
o) Coeficiente de partição n-octanol/água	log Pow: -0.54 a 25 °C
p) Temperatura de auto-ignição	524.0 °C
q) Temperatura de decomposição	Dados não disponíveis
r) Viscosidade	Dados não disponíveis

10. ESTABILIDADE E REATIVIDADE

10.1 Reatividade

Dados não disponíveis

10.2 Estabilidade química

Dados não disponíveis

10.3 Possibilidade de reações perigosas

Dados não disponíveis

10.4 Condições a evitar

Calor, chamas e faíscas. As temperaturas extremas e à luz do sol direta.

10.5 Materiais incompatíveis

ácidos, Bases, Oxidantes, Agentes redutores, Metais alcalinos

10.6 Produtos de decomposição perigosos

11. INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS

11.1 Informações sobre os efeitos toxicológicos

Toxicidade aguda

DL50 Oral - Ratazana - macho - 1,320 - 6,690 mg/kg

CL50 Inalação - Rato - 4 h - 3587 ppm

CL50 Inalação - Ratazana - 4 h - 26.8 mg/l

DL50 Dérmico - Coelho - macho e fêmea - > 2,000 mg/kg

Corrosão/irritação cutânea

Pele - Coelho - Não provoca irritação da pele - Diretrizes do Teste OECD 404

Lesões oculares graves/irritação ocular

Olhos - Coelho - Irritante para os olhos. - Diretrizes do Teste OECD 405

Sensibilização respiratória ou cutânea

Buehler Test - Porquinho da Índia - Diretrizes do Teste OECD 406 - Não provoca sensibilização em animais de laboratório.

Mutagenicidade em células germinativas

Genotoxicidade in vitro - Hamster - ovários - negativo
Mutações de células somáticas de mamíferos.

Genotoxicidade in vitro - Teste de Ames - *S. typhimurium* - com ou sem activação metabólica - Não mutagénico no teste Ames.

Genotoxicidade in vitro - Hamster - ovários - Evidência ambígua
Troca de cromátídeos homólogos

Genotoxicidade in vivo - Rato - Inalação - Resultados positivos foram obtidos nalguns testes in vivo.

Carcinogenicidade

Nenhuma evidência de carcinogenicidade em estudos com animais.

IARC: Nenhum componente deste produto presente a níveis maiores ou iguais a 0.1% é identificado como carcinogénio provável, possível ou confirmado pelo IARC.

Toxicidade à reprodução e lactação

Os testes sobre os animais não mostraram efeitos sobre a fecundidade.

Toxicidade sistêmica para órgãos-alvo específicos - exposição única

A substância ou mistura não está classificada como tóxico específico de órgãos-alvo, exposição única.

Toxicidade sistêmica para órgãos-alvo específicos - exposição repetida

A substância ou mistura não está classificada como tóxico específico de órgãos-alvo, exposição repetida.

Perigo de aspiração

Nenhuma classificação de toxicidade de aspiração

Possíveis danos para a saúde

Inalação	Nocivo se for inalado. Pode causar uma irritação do aparelho respiratório.
Ingestão	Nocivo por ingestão.
Pele	Perigoso se for absorvido pela pele. Pode causar uma irritação da pele.
Olhos	Provoca irritação ocular grave.

Sinais e sintomas de exposição

Tratar como envenenamento por cianeto., Ter sempre à mão um estojo de primeiros socorros contra envenenamento por cianeto juntamente com as instruções adequadas., O estabelecimento dos sintomas é geralmente retardado dependendo da conversão a cianeto., Náusea, Vômitos, Diarreia, Dor de cabeça, Vertigem, Erupção cutânea, Cianose, excitação, depressão, Sonolência, juízo prejudicado, Descoordenação, estupor, morte

Informação adicional

RTECS: AL7700000

12. INFORMAÇÕES ECOLÓGICAS

12.1 Ecotoxicidade

Toxicidade em peixes	CL50 - <i>Pimephales promelas</i> (vairão gordo) - 1,640.00 mg/l - 96 h NOEC - <i>Oryzias latipes</i> - 102 mg/l - 21 d
Toxicidade em dáfnias e outros invertebrados aquáticos	CE50 - <i>Daphnia magna</i> - 3,600 mg/l - 48 h Método: OECD TG 202 NOEC - <i>Daphnia magna</i> - 160 mg/l - 21 d

12.2 Persistência e degradabilidade

Biodegradabilidade	Resultado: 84 % - Rápidamente biodegradável. Método: OECD TG 301 C
--------------------	---

12.3 Potencial biocumulativo

Nenhuma bioacumulação é esperada ($\log P \leq 4$). ($\log Pow$ = coeficiente de partição P)

12.4 Mobilidade no solo

Não se espera que se adsorva no solo.

12.5 Resultados da avaliação PBT e mPmB

Dados não disponíveis

12.6 Outros efeitos adversos

Evitar a libertação para o ambiente.

13. CONSIDERAÇÕES SOBRE TRATAMENTO E DISPOSIÇÃO

13.1 Métodos de tratamento de resíduos

Produto

Queimar em um incinerador químico equipado com pós-combustor e purificador de gases, mas tomar precauções adicionais ao colocar esse material em ignição, visto que é altamente inflamável. Propor a entrega de soluções excedentes e não recicláveis a uma empresa idónea de tratamento de resíduos.

Embalagens contaminadas

Eliminar como produto Não utilizado.

14. INFORMAÇÕES SOBRE TRANSPORTE					
14.1 Número ONU					
ADR/RID: 1648	DOT (US): 1648	IMDG: 1648	IATA: 1648	ANTT: 1648	
14.2 Designação oficial de transporte da ONU					
ADR/RID: ACETONITRILLO					
DOT (US): Acetonitrile					
IMDG: ACETONITRILE					
IATA: Acetonitrile					
ANTT: ACETONITRILA					
14.3 Classes de perigo para efeitos de transporte					
ADR/RID: 3	DOT (US): 3	IMDG: 3	IATA: 3	ANTT: 3	
14.4 Grupo de embalagem					
ADR/RID: II	DOT (US): II	IMDG: II	IATA: II	ANTT: II	
14.5 Perigos para o ambiente					
ADR/RID: não	DOT (US): não	IMDG Poluente marinho: não	IATA: não		
14.6 Precauções especiais para o utilizador					
Dados não disponíveis					
14.7 Numero De Risco	33				