

**MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA DO AMBIENTE 2019/2020**

**AVALIAÇÃO AMBIENTAL DE CICLO DE VIDA DE BIOATIVOS**

**BRUNA CARINA DUARTE MOURA**

Dissertação submetida para obtenção do grau de

**MESTRE EM ENGENHARIA DO AMBIENTE**



**Presidente do Júri:** Cidália Maria de Sousa Botelho  
(Professor Auxiliar do Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Engenharia da  
Universidade do Porto)

---

**Orientador académico:** Doutor António Augusto Areosa Martins  
(Investigador no LEPABE)  
Doutora Teresa Margarida Correia de Poço Mata  
(Investigadora no LEPABE)

**Orientador na empresa (ou co-orientador):** Doutora Helena Isabel Pereira Monteiro  
(Investigadora da Unidade de Baixo Carbono e Eficiência de Recursos da Direção de  
Investigação, Desenvolvimento e Inovação do ISQ)

*Junho, 2020*

---



---

*“Deus quer, o homem sonha, a obra nasce.”*

*Mensagem - Fernando Pessoa*

---



---

## Agradecimentos

Durante a realização desta dissertação, contei com a ajuda de várias pessoas e entidades que tornaram este trabalho possível e gratificante. Gostaria de deixar uma palavra de especial agradecimento a algumas em particular.

Em primeiro lugar, à Doutora Helena Monteiro, que foi a orientadora desta dissertação e do estágio curricular no ISQ (Instituto de Soldadura e Qualidade), que sempre me recebeu de braços abertos, que me acompanhou de perto e com quem aprendi imenso ao longo de todo o trabalho. É investigadora da Unidade de Baixo Carbono e Eficiência de Recursos da Direção de Investigação, Desenvolvimento e Inovação do ISQ e gestora do projeto Valor Natural (CP 24479). A orientação desta tese está inserida no projeto TRUST (Twinning foR industrial SustainabiliTy, ID:810764).

Aos meus orientadores da FEUP (Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto), Doutor António Augusto Areosa Martins e a Doutora Teresa Margarida Correia de Poço Mata, pelo entusiasmo e disponibilidade que sempre tiveram e demonstraram. Eles são membros integrados do LEPABE - Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente Biotecnologia e Energia, financiado pela Unidade de Investigação UID/EQU/00511/2019 - Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia - LEPABE - financiado por fundos nacionais através da FCT/MCTES (PIDDAC).

Não podia deixar de agradecer também à minha família, em particular aos meus pais, não só pelo suporte emocional que sempre representaram ao longo do meu percurso académico, mas também pelos valores e ideais que sempre me incutiram e que me levaram a ser a pessoa que sou hoje.

Por último, e não menos importante, a todos os meus amigos (quer os que conheci na faculdade, quer os que continuam comigo desde a minha infância) por todos os momentos que também, de alguma forma, me fizeram crescer e experienciar a vida de maneira diferente. São, sem dúvida, uma segunda família.

A todos vocês, o meu muito obrigada.



## Resumo

A indústria alimentar é, economicamente, um dos setores de atividades mais importantes a nível mundial, sendo responsável pelo consumo de inúmeros recursos e pela geração de uma quantidade significativa de resíduos. De modo a garantir as necessidades das gerações presentes sem comprometer as das futuras, é necessário tornar a indústria alimentar mais sustentável, adotando um conjunto de medidas que permitam reduzir o consumo de recursos e mitigar a quantidade de resíduos formada. Apesar de no topo da hierarquia de gestão dos resíduos estarem posicionadas a prevenção e a redução dos mesmos, é importante considerar outras opções, como, por exemplo, outras formas de valorização, que permitem maximizar a utilização dos recursos e obter produtos que aumentam a competitividade do setor. Um dos exemplos é a valorização de resíduos para obtenção de compostos de elevado valor comercial.

O projeto Valor Natural, em que se enquadra este trabalho, procura valorizar recursos naturais (biorresíduos) através da obtenção de extratos de alto valor acrescentado para posterior utilização na indústria alimentar. Desta forma, esta dissertação tem como objetivo analisar, ao nível do seu desempenho ambiental, dois processos de valorização de resíduos resultantes do cultivo e produção de cogumelos para a obtenção de dois extratos em desenvolvimento no âmbito do projeto Valor Natural: extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol, e extrato enriquecido em vitamina D2. Assim, aplicou-se a metodologia de análise de ciclo de vida (fronteira *gate-to-gate*) aos processos de obtenção dos extratos de modo a avaliar os seus impactos ambientais mais significativos e apresentar sugestões de melhoria que permitam a sua diminuição. A unidade funcional (UF) considerada, para ambos, foi de 1 g de extrato de bioativo produzido. Sempre que possível, foram utilizados dados primários do processo e, estes, foram complementados com informação encontrada na literatura e de bases de dados de inventário Ecolnvent (versão 3.3). Os cálculos dos impactos ambientais para cada categoria foram efetuados utilizando a metodologia ReCiPe no *software* de ciclo de vida SimaPro (versão 8.5.2.0).

Os resultados obtidos revelam a contribuição dominante do consumo de eletricidade por parte dos equipamentos utilizados, em praticamente todo o processo de obtenção, nos impactos ambientais globais (ciclo de vida completo) dos dois extratos. Constatou-se que os impactos globais para a produção do extrato enriquecido em vitamina D2 são maiores do que para o extrato enriquecido em micosteróis. Isto deve-se ao consumo de mais eletricidade por parte do processo de produção do extrato enriquecido em vitamina D2, que envolve mais etapas. Os cenários de melhoria focaram-se, então, na análise da variação das fontes de energia usadas no processo e no estudo da inclusão de um pré-tratamento (desidratação osmótica) antes do processo de liofilização. Os melhores resultados foram obtidos para os cenários em que a

eletricidade usada é gerada por painéis fotovoltaicos e onde se aplica o pré-tratamento antes da liofilização.

Como trabalho futuro, é necessário proceder a um *scale-up* da escala laboratorial para uma escala piloto e/ou escala industrial dos processos analisados. Adicionalmente, deve-se analisar processos alternativos para alguns dos processos utilizados numa escala laboratorial ou piloto, como é o exemplo do processo de extração por fluido supercrítico que suprime os processos de liofilização e extração assistida por ultrassons empregues no processo analisado neste trabalho.

**Palavras Chave:**

Análise de Ciclo de Vida; Valorização de resíduos; Sustentabilidade; Indústria Alimentar; Extratos

## Abstract

The food industry is one of the most important sectors of activity globally, not only from an economic perspective but also a fundamental part of any strategy aiming for a more sustainable development. Globally, food production is responsible for consuming countless resources and generating a significant amount of waste. In order to guarantee the needs of the present generations without compromising those of the future ones, it is necessary to adopt a set of measures to mitigate the amount of waste formed, as well as the consumption of resources, to make the food industry more sustainable. Although the prevention and reduction of waste are at the top of the waste management hierarchy, many other options are often more adequate, such as waste valorization with the recovery of high value compounds, which allow the maximizing the utilization of resources and to obtain products that increase the sector's competitiveness.

The “Valor Natural” project, in which this dissertation is included, looks for the valorization of natural resources (bio waste) by obtaining extracts with high added value for later use in the food industry. In this sense, this dissertation aims to analyze the environmental performance of two processes of valorization of the waste from cultivation and production of mushrooms to obtain two extracts under development within the scope of the “Valor Natural” project: extract enriched in mycosteroids, namely ergosterol, and enriched extract in vitamin D2. Thus, the methodology of life cycle analysis (for gate-to-gate quantification) was applied to the processes of obtaining the extracts in order to assess their most significant environmental impacts and to propose suggestions for improvement that would allow their reduction. The functional unit considered for both was 1 g of bioactive extract produced, using primary data from the process whenever possible, complemented with information from the literature and from the EcoInvent V3.3 inventory databases. The calculations were made using the SimaPro V 8.5.2.0 life cycle software, using the ReCiPe methodology to quantify the environmental impacts.

The results obtained reveal the dominant contribution of electricity consumption by the equipment used in the global environmental impacts (complete life cycle) of both processes. On the other hand, the global impacts for the production of the extract enriched in vitamin D2 are greater than for the extract enriched in mycosteroids. This is due to the consumption of more electricity by the production process of the extract enriched in Vitamin D2, which involves more steps. The improvement scenarios propose focused then on analyzing the variation of energy sources used in the process. In addition, since the processes with the greatest environmental impact are lyophilization and evaporation, an additional scenario for the impacts associated with lyophilization based on a pretreatment using an osmotic dehydration process was considered. The best results were obtained for the scenarios in which the electricity used

in the process is generated by photovoltaic panels locally and the pre-treatment is applied before lyophilization.

As future work, it is necessary to scale up from laboratory scale to a pilot scale and/or industrial scale, and assess the changes in the environmental impacts. Additionally, it is necessary to analyze alternative processes for some of the processes used at laboratory of pilot scale, such as the supercritical fluid extraction process that suppresses the freeze-drying and ultrasound-assisted extraction processes used in the process analyzed in this work.

**Keywords:** Life Cycle Assessment; Waste Valorization; Sustainability; Food Industry, Extracts

## Declaração

Declara, sob compromisso de honra, que este trabalho é original e que todas as contribuições não originais foram devidamente referenciadas com identificação da fonte.

*Assinar e datar*



# Índice

|                                                                         |           |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Índice .....                                                            | ix        |
| Índice de Figuras .....                                                 | xiii      |
| Índice de Tabelas .....                                                 | xv        |
| Notação e Glossário .....                                               | xvii      |
| <b>1 Introdução .....</b>                                               | <b>1</b>  |
| 1.1 Enquadramento e Apresentação do Projeto .....                       | 1         |
| 1.2 Apresentação da Empresa .....                                       | 2         |
| 1.3 Contributos do Trabalho .....                                       | 2         |
| 1.4 Organização da Tese .....                                           | 3         |
| <b>2 Contexto e Estado da Arte .....</b>                                | <b>4</b>  |
| 2.1 A indústria alimentar e o meio ambiente .....                       | 4         |
| 2.2 A importância dos bioativos .....                                   | 6         |
| 2.3 Processos de recuperação de compostos .....                         | 10        |
| 2.4 Processo de recuperação do caso de estudo .....                     | 15        |
| 2.4.1 Liofilização e trituração .....                                   | 15        |
| 2.4.2 Extração Assistida por Ultrassons .....                           | 16        |
| 2.4.3 Centrifugação e Filtração .....                                   | 17        |
| 2.4.4 Evaporação .....                                                  | 18        |
| 2.4.5 Irradiação Ultravioleta .....                                     | 18        |
| 2.5 Avaliação do impacto ambiental na extração de compostos .....       | 19        |
| <b>3 Materiais e Métodos .....</b>                                      | <b>24</b> |
| 3.1 Objetivo e âmbito do estudo .....                                   | 26        |
| 3.2 Definição dos sistemas .....                                        | 27        |
| 3.2.1 Extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol ..... | 27        |
| 3.2.2 Extrato enriquecido em Vitamina D2 .....                          | 29        |
| 3.3 Inventário do Ciclo de Vida .....                                   | 30        |
| 3.4 Avaliação do Impacte Ambiental .....                                | 31        |

|          |                                                                                                                                  |            |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>4</b> | <b>Resultados e Discussão .....</b>                                                                                              | <b>35</b>  |
| 4.1      | Extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol .....                                                                | 35         |
| 4.2      | Extrato enriquecido em Vitamina D2.....                                                                                          | 36         |
| 4.3      | Cenários de melhoria .....                                                                                                       | 39         |
|          | Cenário B .....                                                                                                                  | 39         |
|          | Cenário C .....                                                                                                                  | 39         |
|          | Cenários D e E .....                                                                                                             | 40         |
| 4.3.1    | Análise dos resultados dos cenários de melhoria - Extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol .....              | 41         |
| 4.3.2    | Análise dos resultados dos cenários de melhoria - Extrato enriquecido em Vitamina D2 ..                                          | 44         |
| <b>5</b> | <b>Conclusões .....</b>                                                                                                          | <b>47</b>  |
| <b>6</b> | <b>Referências Bibliográficas .....</b>                                                                                          | <b>48</b>  |
|          | <b>Apêndice A - Tabelas auxiliares .....</b>                                                                                     | <b>I</b>   |
| A.1      | Equipamentos utilizados nos processos de extração dos bioativos .....                                                            | I          |
| A.2      | Condições operatórias dos processos na extração do extrato enriquecido em micosteróis (Ergosterol).....                          | I          |
| A.3      | Condições operatórias dos processos na extração do extrato enriquecido em Vitamina D2.....                                       | II         |
| A.4      | Inventário do processo extrativo do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol .....                            | II         |
| A.5      | Inventário do processo extrativo do extrato enriquecido em Vitamina D2.....                                                      | III        |
| A.6      | Inventário energético utilizado para o cenário B .....                                                                           | IV         |
| A.7      | Inventário do processo extrativo do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol com pré-tratamento osmótico..... | V          |
| A.8      | Inventário do processo extrativo do extrato enriquecido em Vitamina D2 com pré-tratamento osmótico .....                         | VI         |
|          | <b>Apêndice B - Resultados obtidos .....</b>                                                                                     | <b>VII</b> |
| B.1      | Impactes ambientais obtidos para o processo de extração do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol .....     | VII        |
| B.2      | Impactes ambientais obtidos para o processo de extração do extrato enriquecido em vitamina D2 .....                              | VII        |

|            |                                                                                                                                                                                              |             |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>B.3</b> | <b>Comparação dos impactes ambientais obtidos para as categorias de impacte analisadas e para os diferentes cenários - extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol .....</b> | <b>VIII</b> |
| <b>B.4</b> | <b>Comparação dos impactes ambientais obtidos para as categorias de impacte analisadas e para os diferentes cenários - extrato enriquecido em vitamina D2 .....</b>                          | <b>XII</b>  |



# Índice de Figuras

|                                                                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Hierarquia dos resíduos (Ferrão et al., 2011) .....                                                                                                                        | 5  |
| Figura 2 - Agaricus bisporus (freepikcompany, 2020) .....                                                                                                                             | 7  |
| Figura 3 - Estrutura Química do Ergosterol (NCBI, 2004) .....                                                                                                                         | 8  |
| Figura 4 - Estrutura Química do Ergocalciferol (NCBI, 2005) .....                                                                                                                     | 9  |
| Figura 5 - Estratégia de Recuperação Universal (Galanakis, 2020) .....                                                                                                                | 10 |
| Figura 6 - Processos de extração dos dois bioativos.....                                                                                                                              | 15 |
| Figura 7 - Fases da ACV. Adaptado da NP EN ISO 14040:2006 (CEN, 2006) .....                                                                                                           | 25 |
| Figura 8 - Fluxo de processos unitários para obtenção do extrato enriquecido em micosteróis .....                                                                                     | 28 |
| Figura 9 - Fluxo de processos unitários para obtenção do extrato enriquecido em Vitamina D2 .....                                                                                     | 29 |
| Figura 10 - Resultados normalizados para o processo de extração do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol.....                                                   | 33 |
| Figura 11 - Resultados normalizados para o processo de extração do extrato enriquecido em Vitamina D2 .....                                                                           | 34 |
| Figura 12 - Representação gráfica da contribuição de cada etapa para cada categoria de impacte a analisar (extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol).....          | 36 |
| Figura 13 - Representação gráfica da contribuição de cada etapa para cada categoria de impacte a analisar (extrato enriquecido em Vitamina D2).....                                   | 37 |
| Figura 14 - Valores dos impactes para cada categoria e para os vários cenários normalizados pelo Cenário A - Base (extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol) ..... | 42 |
| Figura 15 - Valores dos impactes para cada categoria e para os vários cenários normalizados pelo Cenário A - Base (extrato enriquecido em vitamina D2).....                           | 44 |



# Índice de Tabelas

|                                                                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Dados referentes à metodologia de ACV utilizados nos artigos mencionados.....                                                                                                           | 21 |
| Tabela 2 - Categorias de impacto ambiental do método utilizado (ReCiPe) e as suas respetivas unidades de medida.....                                                                               | 33 |
| Tabela 3 - Quantificação dos impactes ambientais globais para o processo de extração do extrato enriquecido em miscosteróis, nomeadamente Ergosterol (UF: 1 g de extrato de bioativo produzido) .. | 35 |
| Tabela 4 - Quantificação dos impactes ambientais globais para o processo de extração do extrato enriquecido em Vitamina D2 (UF: 1 g de extrato de bioativo produzido) .....                        | 37 |
| Tabela 5 - Condições consideradas no processo de tratamento osmótico .....                                                                                                                         | 40 |
| Tabela 6 - Tabela resumo dos cenários analisados .....                                                                                                                                             | 41 |



# Notação e Glossário

## Lista de Siglas

|                 |                                                  |
|-----------------|--------------------------------------------------|
| ACV             | Análise/Avaliação de Ciclo de Vida               |
| AICV            | Avaliação dos Impactes do Ciclo de Vida          |
| ALO             | Utilização do solo pela Agricultura              |
| CC              | Alterações Climáticas                            |
| CEP             | Campo Elétrico Pulsado                           |
| CIMO            | Centro de Investigação de Montanha               |
| CO <sub>2</sub> | Dióxido de Carbono                               |
| DMF             | Dimetilformamida                                 |
| DMSO            | Dimetilsufóxido                                  |
| EAU             | Extração Assistida por Ultrassons                |
| EF              | Ecotoxicidade em Água Doce                       |
| EFS             | Extração por Fluido Supercrítico                 |
| EM              | Ecotoxicidade Marinha                            |
| FD              | Depleção de recursos fósseis                     |
| FE              | Eutrofização em Água Doce                        |
| FEUP            | Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto |
| HT              | Toxicidade Humana                                |
| ICV             | Análise de Inventário do Ciclo de Vida           |
| IPB             | Instituto Politécnico de Bragança                |
| IR              | Radiação de Ionização                            |
| ISQ             | Instituto de Soldadura e Qualidade               |
| KOH             | Hidróxido de Potássio                            |
| LCT             | <i>Life Cycle Thinking</i>                       |
| MD              | Depleção de Metais                               |
| ME              | Eutrofização Marinha                             |
| NLT             | Transformação natural do solo                    |

|                 |                                    |
|-----------------|------------------------------------|
| NO <sub>x</sub> | Óxidos de Azoto                    |
| OD              | Depleção da Camada de Ozono        |
| OT              | Pré-tratamento Osmótico            |
| PMF             | Formação de Material Particulado   |
| POF             | Formação de Oxidantes Fotoquímicos |
| REN             | Redes Energéticas Nacionais        |
| S/L             | Rácio Sólido/Líquido               |
| SO <sub>x</sub> | Óxidos de Enxofre                  |
| TA              | Acidificação Terrestre             |
| TE              | Ecotoxicidade Terrestre            |
| UE              | União Europeia                     |
| UF              | Unidade Funcional                  |
| ULO             | Utilização do Solo Urbano          |
| UV              | Ultravioleta                       |
| WD              | Depleção da Água                   |

# 1 Introdução

## 1.1 Enquadramento e Apresentação do Projeto

O presente trabalho foi desenvolvido durante o estágio curricular no ISQ, na Unidade de Baixo Carbono e Eficiência de Recursos da Direção de I&D+i e enquadra-se no âmbito do projeto “Valor Natural - Valorização de Recursos Naturais através da Extração de Ingredientes de Elevado Valor Acrescentado para Aplicações na Indústria Alimentar”. Este projeto visa valorizar recursos de origem natural através da extração de aditivos de elevado valor acrescentado para a indústria alimentar (TECPAN et al., 2020). O principal objetivo do projeto é o de extrair novos aditivos como aromas, corantes e bioativos para a utilização na indústria alimentar e que estes se afirmem no mercado como alternativas a outros ingredientes (como, por exemplo, aditivos sintéticos). Adicionalmente, o projeto também objetiva desenvolver novas tecnologias de extração, refinação e conservação (a uma escala piloto) dos novos aditivos naturais.

Assim, este projeto procura apoiar o desenvolvimento de aditivos naturais, suprimindo as fragilidades da sua cadeia produtiva: na escala laboratorial desenvolvem-se e identificam-se os extratos com maior potencial de integração na indústria alimentar e na escala piloto desenvolvem-se e testam-se novas tecnologias de extração, refinação e conservação, para que os novos aditivos naturais tenham concentrações, durabilidade e processos produtivos competitivos.

O projeto conta com diversas entidades parceiras, nomeadamente a Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (FEUP), o Instituto Politécnico de Bragança (IPB) e o Instituto de Soldadura e Qualidade (ISQ). Teve início no ano de 2018 e findará no ano previsto de 2021.

No âmbito do estágio no ISQ, realizou-se um estudo de análise de ciclo de vida (ACV) para alguns dos ingredientes que estão a ser analisados no projeto “Valor Natural”. Procedeu-se então à seleção dos ingredientes que se encontravam numa fase mais avançada de investigação e de desenvolvimento (cujos processos se apresentavam melhor documentados) e que evidenciavam uma maior probabilidade de entrada no mercado. Deste modo, optou-se por estudar o extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol, e o extrato enriquecido em vitamina D2, ambos de origem natural e com aplicações na indústria alimentar.

Os objetivos da presente dissertação são a avaliação do impacto ambiental do processo de produção dos extratos referidos, tendo em conta o seu ciclo de vida e a

uma escala laboratorial, e, posteriormente, a apresentação de sugestões de melhoria do procedimento adotado.

## **1.2 Apresentação da Empresa**

O Instituto de Soldadura e Qualidade (ISQ) é uma entidade, com mais de 50 anos de história, que presta o seu contributo no desenvolvimento de soluções integradas de serviços em vários setores (engenharia, inspeção, ensaios, testes e formação).

É uma empresa privada e independente sediada em Portugal que apoia os clientes na redução do risco, na melhoria do desempenho operacional e no aumento da competitividade. Possui 16 laboratórios certificados, mais de 250 serviços especializados e mais de 1500 colaboradores no mundo (ISQ, 2020).

Dentro dos vários setores da empresa, encontra-se o setor da Inovação e Digitalização, de onde faz parte a Unidade de Baixo Carbono e Eficiência de Recursos. Existem vários projetos que contam com o contributo desta unidade, nomeadamente na análise de ciclo de vida, como é o caso do “Valor Natural”.

## **1.3 Contributos do Trabalho**

Esta dissertação tem como objetivo a análise ambiental de ciclo de vida da extração de dois bioativos a partir de biorresíduos de cogumelos para a sua aplicação na indústria alimentar - extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol, e extrato enriquecido em vitamina D2. Em tempos onde o crescimento populacional é inevitável e onde há uma procura crescente em alternativas alimentares mais sustentáveis, é importante que o estudo de valorização de resíduos seja incrementado. Adicionalmente, estes ingredientes apresentam uma elevada importância para a saúde humana. Para além disto, não existem estudos de avaliação de ciclo de vida desenvolvidos para estes dois aditivos alimentares até à data, pelo que este trabalho apresenta um contributo relevante por dois motivos: por um lado, quantifica à escala laboratorial os potenciais impactos ambientais associados aos dois ingredientes em estudo, por outro, identifica medidas de melhoria do desempenho ambiental do processo escolhido para a extração dos mesmos.

## 1.4 Organização da Tese

A presente dissertação encontra-se organizada em cinco capítulos, sendo eles:

1. Introdução - Onde foi feita a apresentação da empresa e do projeto onde se insere o estudo realizado. Também aqui são apresentados os objetivos deste trabalho.
2. Contexto e Estado da Arte - Neste capítulo, é feita a descrição da problemática da indústria alimentar, a nível ambiental, e o estado de arte desta para o extrato enriquecido em miscosteróis e o extrato enriquecido em vitamina D2.
3. Materiais e Métodos - Ao longo deste capítulo é apresentada a metodologia para a avaliação do ciclo de vida para os extratos mencionados, assim como as considerações adotadas.
4. Resultados e Discussão - No quarto capítulo, são apontados os resultados referentes ao estudo realizado, assim como sugestões de melhorias do processo.
5. Conclusões - Por fim, no último capítulo são expostos os principais resultados e observações da dissertação.

## 2 Contexto e Estado da Arte

### 2.1 A indústria alimentar e o meio ambiente

A produção global de alimentos, o processamento, o transporte e os sistemas de consumo são responsáveis por 25 % do total das emissões de gases de efeito de estufa, 60 % das perdas de biodiversidade terrestre, 33 % de degradação do solo e pela sobre-exploração de 20 % dos aquíferos e de 90 % de espécies marinhas comercializadas. Para além disto, só a etapa de produção de alimentos consome uma percentagem de 70 % da água doce e todos os anos são desperdiçados 32 % de alimentos em todo o mundo (Ramos et al., 2021). Havendo perda de alimentos, existe um desperdício de recursos envolvidos no ciclo de vida dos alimentos (associado sobretudo à produção), como por exemplo o solo, a água, a energia e fertilizantes utilizados para a plantação dos mesmos. Para além disso, produzir mais alimentos do que o necessário conduz à emissão de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) em quantidades superiores às indispensáveis e à diminuição do valor económico destes (Gustavsson et al., 2011).

Tendo em conta a perspetiva da gestão dos resíduos sólidos, a União Europeia (UE) tem como base os princípios da hierarquia dos resíduos. A nível nacional, o Decreto-Lei nº 73/2011 estabelece a ordem de prioridades relativas às opções de prevenção e gestão dos resíduos sendo elas a prevenção e redução, preparação para a reutilização, reciclagem, outros tipos de valorização e eliminação. De uma maneira geral, o mais desejável é evitar e reduzir a quantidade de resíduos gerados, enquanto que a eliminação (como por exemplo, a deposição em aterro) se trata da ação menos desejável. Segundo a diretiva 2008/98/CE, o objetivo consiste em aproximar a UE a uma “sociedade de reciclagem” onde se procura evitar a produção de resíduos e incentivar a valorização dos mesmos, assim como a utilização de materiais resultantes da valorização, de maneira a preservar os recursos naturais. Na Figura 1, encontra-se esquematizado a hierarquia dos resíduos para uma melhor compreensão.

A indústria agroalimentar representa uma taxa de 14,6 % do volume total de negócios da indústria de manufatura no espaço europeu, tornando-a numa das principais atividades realizadas na Europa (Ramos et al., 2021). A indústria alimentar apresenta, então, uma elevada importância na União Europeia (UE) em termos de emprego e produção económica. Atualmente, esta indústria tem como objetivo tornar-se mais sustentável com o grande propósito de satisfazer as necessidades do presente

sem comprometer a satisfação das necessidades das gerações futuras. A crescente evidência das alterações climáticas e a correspondente pressão social têm vindo a impulsionar o estudo e o desenvolvimento de tecnologias e sistemas de produção mais sustentáveis de forma a evitar a deterioração ambiental e permitir mitigar as alterações climáticas. Deste modo, as mudanças tecnológicas e económicas relativamente à produção e processamento dos alimentos, assim como os aspetos sociais, levaram à emancipação da inovação neste setor (Bigliardi e Galanakis, 2020).

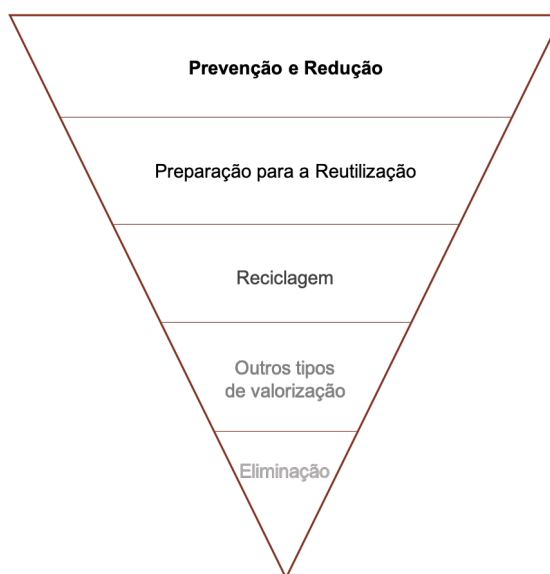


*Figura 1 - Hierarquia dos resíduos (Ferrão et al., 2011)*

A inovação é um conceito multidimensional que pode ser caracterizado como uma ferramenta de destaque das empresas em relação aos concorrentes, de modo a atender às expectativas dos consumidores. A maioria das inovações introduzidas são então impulsionadas pelo mercado onde, consequentemente, o papel do consumidor é fundamental. Um dos maiores desafios encarados pela indústria alimentar é a redução dos teores de gordura e de colesterol nos alimentos (Bigliardi e Galanakis, 2020).

Entre os vários exemplos de inovação dos modelos apresentados por Bigliardi e Galanakis (2020) destaca-se, no decorrer deste trabalho, inovações ao nível dos alimentos funcionais. Estes permitem a obtenção de compostos específicos com benefícios para a saúde, para além dos constituintes da nutrição básica. Este argumento representa uma ferramenta de *marketing* que melhora significativamente a posição competitiva da empresa alimentar.

Impulsionado por uma necessidade urgente de sustentabilidade na indústria alimentar e pela bioeconomia moderna, surge um novo tipo de inovação onde se inclui a recuperação de resíduos alimentícios. Neste caso, a inovação incide, maioritariamente, na utilização dos resíduos enquanto matéria-prima, contrariamente à aplicação de novas tecnologias ou até mesmo ao desenvolvimento de novos produtos. Embora o seu desenvolvimento industrial ainda não tenha sido totalmente implementado, existe uma grande propaganda em torno deste campo da ciência alimentar. A recuperação de resíduos alimentares utiliza os desperdícios, como por exemplo subprodutos ou materiais removidos durante o processamento dos alimentos, como fonte de extração de micro e macromoléculas de elevado valor acrescentado para depois se proceder à sua incorporação em novos produtos, normalmente aditivos alimentares e cosméticos. Contudo, a recuperação dos resíduos de alimentos não é, geralmente, impulsionada pelas necessidades do mercado. Um exemplo desta situação é o facto de os consumidores efetivamente preferirem alimentos de origem natural, mas não estão dispostos a pagar mais pelos mesmos (Bigliardi e Galanakis, 2020).

O presente caso de estudo revela ser uma medida de atenuação das perdas de alimentos referentes ao processamento de cogumelos, uma vez que é utilizado um subproduto (resíduo de cogumelos) que à partida não teria valor económico algum para obter novos produtos, isto é, dois bioativos: extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol, e extrato enriquecido em vitamina D2.

## 2.2 A importância dos bioativos

Os cogumelos são conhecidos por demonstrarem ser uma fonte de vários compostos como polifenóis, aminoácidos, polissacarídeos, terpenóides, vitaminas e esteróis. Estes últimos estão relacionados com várias funções, nomeadamente de antioxidante, anticancerígeno, antidiabético, anti-inflamatório, antialérgico, antimicrobiano e antivírico. Consequentemente, o interesse nos cogumelos tem sido crescente, especialmente enquanto alimento funcional ou como fonte de compostos que podem ser extraídos e incorporados em produtos alimentares (Papoutsis et al., 2020).

Nativo da Europa e da América do Norte (Tavares, 2018) e comercializado em inúmeros países, a espécie de cogumelos *Agaricus bisporus* (Figura 2) pertence à família *Agaricaceae*. Esta espécie de cogumelos apresenta uma quantidade considerável de ergosterol que, quando exposto à irradiação ultravioleta, consegue ser convertido em vitamina D2 (Koyyalamudi et al., 2009). Os alimentos ricos em fitoesteróis são de grande interesse, uma vez que promovem a redução da

concentração da lipoproteína do colesterol de baixa-densidade, que é o fator de maior risco para as doenças cardiovasculares - principal causa de morte na União Europeia (Corrêa et al., 2017).



Figura 2 - *Agaricus bisporus* (freepikcompany, 2020)

Os resíduos dos cogumelos são maioritariamente provenientes de cogumelos que possuem anomalias no caule ou no chapéu (podendo ocorrer as duas em simultâneo) que os afasta das especificações definidas pelos retalhistas, representando uma percentagem de até 20 % da produção total dos mesmos. Para além de que a sua eliminação implica custos de manutenção e um elevado impacte ambiental, estes subprodutos possuem um grande valor nutricional, portanto é necessária a exploração de novas alternativas e soluções vantajosas nesta temática (Papoutsis et al., 2020).

O ergosterol (Figura 3), também conhecido por lumisterol ou provitamina D2, é um fitoesterol que consiste no ergostano com ligação dupla nos carbonos de posição 5,6-, 7,8 e 22,23- e um grupo 3beta-hidroxila. Apresenta uma fórmula química  $C_{28}H_{44}O$ , uma massa molecular de 396,6 g/mol e uma densidade relativa de 1,04. Possui um ponto de ebulição de 250 °C à pressão de 0,01 mm de Hg e um ponto de fusão aos 170 °C. Apresenta baixa solubilidade em etanol, éter etílico e éter de petróleo. É também solúvel em benzeno e clorofórmio, apresentando uma solubilidade em água de  $4,31 \times 10^{-5}$  mg/L, a 25 °C (NCBI, 2004). À temperatura de 50 °C, apresenta uma solubilidade máxima, no etanol, de 2 mg/mL (Fernandes e Heleno, 2019).

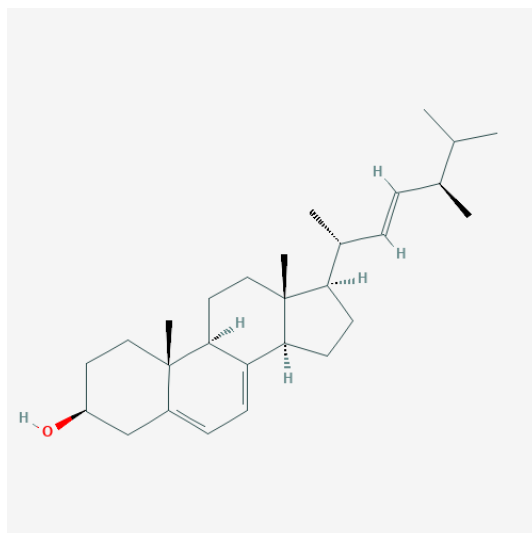


*Figura 3 - Estrutura Química do Ergosterol (NCBI, 2004)*

O ergosterol é o precursor da vitamina D2 e é o esteroide presente em maior quantidade na membrana das células dos fungos que apresenta um papel similar ao colesterol nos animais e ao sitosterol nas plantas. O uso dos seus extratos nos iogurtes apresenta propriedades antioxidantes que não alteram os perfis nutricionais (Papoutsis et al., 2020).

Também conhecida como ergocalciferol ou calciferol, a vitamina D2 (Figura 4) é um composto com massa molecular de 396,6 g/mol e com fórmula química  $C_{28}H_{44}O$ . Apresenta um ponto de fusão de aproximadamente 116,5 °C, sendo solúvel em álcool, clorofórmio, éter e óleos gordos. Em água, apresenta uma solubilidade de 50 mg/L, a 25 °C. À temperatura ambiente, apresenta uma solubilidade em hexano de 1g/L (NCBI, 2005).

A vitamina D é um elemento extremamente importante para o desenvolvimento de um esqueleto saudável. Apresenta como principais funções a conservação e a regulação dos níveis de cálcio e fósforo no organismo. Por outro lado, a sua insuficiência eleva o risco de várias doenças, como é o caso de hipertensão, doenças autoimunes, diabetes e cancro, refletindo-se num aumento da consciência, por parte da população, sobre o assunto. Esta vitamina divide-se em cinco classes diferentes numeradas de dois a seis, sendo as principais o colecalciferol, ou vitamina D3, e a vitamina D2 (Jäpelt e Jakobsen, 2013).

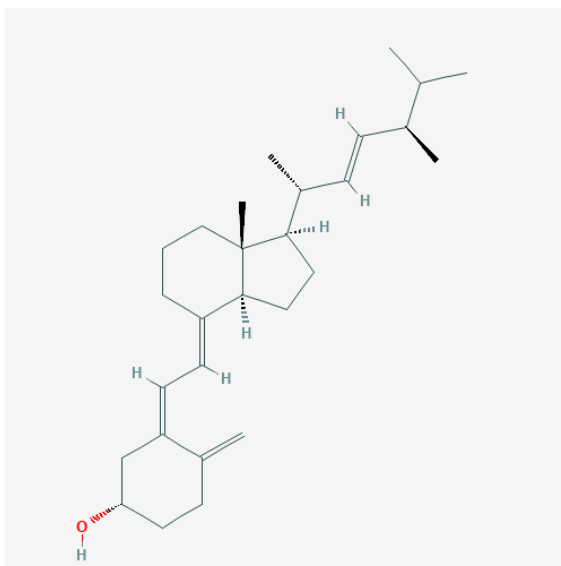


*Figura 4 - Estrutura Química do Ergocalciferol (NCBI, 2005)*

A vitamina D3 apenas se pode encontrar em fontes de origem animal, como é o caso do óleo de fígado de peixe, ovos e produtos derivados de leite. Por sua vez, a vitamina D2 encontra-se em fontes de origem vegetal. Porém as quantidades disponíveis são menores, o que apresenta um risco para os vegetarianos e *vegans* que podem apresentar deficiência desta vitamina nas suas dietas (Papoutsis et al., 2020).

O aumento da consciencialização e do consumo de alimentos enriquecidos em fitoesteróis, impulsionou uma elevada investigação nesta área, o que é comprovado pelo incremento de publicações sobre este assunto desde 1995 (Corrêa et al., 2017). Alguns artigos (de revisão) abordam assuntos como as propriedades dos compostos (anti-inflamatórias e anti-cancerígenas) e as respetivas consequências positivas na saúde cardiovascular. Para além disto, referem o seu uso como uma estratégia na redução dos níveis de colesterol e como auxiliar no tratamento da síndrome metabólica. Foram realizados também trabalhos de revisão das técnicas de recuperação dos fitoesteróis, assim como da sua distribuição, funções fisiológicas e as suas interações com outros componentes dos alimentos. Por outro lado, estudos mais recentes abordam assuntos mais controversos que envolvem a ingestão de fitoesteróis e alimentos enriquecidos com os mesmos. São exemplo o seu papel controverso no risco inflamatório e cardiovascular, a formação de produtos resultantes da oxidação dos fitoesteróis e os seus riscos para a saúde (Corrêa et al., 2017).

## 2.3 Processos de recuperação de compostos

Os subprodutos provenientes dos resíduos contêm, regra geral, uma baixa concentração de compostos de elevado valor quando comparados com as fontes iniciais, sejam elas frutos ou vegetais. Uma vez que se trata de materiais outrora processados, estes estão suscetíveis ao crescimento microbiano, sendo necessário recorrer à sua preservação e rápido tratamento. Na Figura 5 encontra-se representada toda a estratégia utilizada para o desenvolvimento da recuperação, economicamente plausível, sustentável e segura de um composto com elevado valor acrescentado proveniente de um subproduto. O objetivo final desta estratégia é a seleção das técnicas de separação e extração mais adequadas de modo a obter um maior número possível de fluxos e de componentes (Galanakis, 2020).

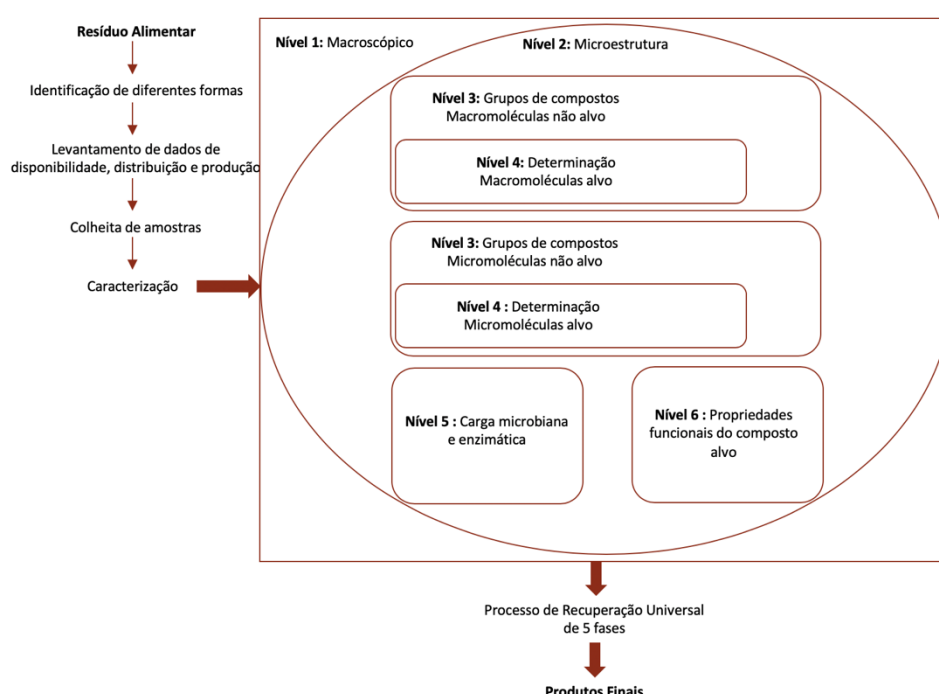


Figura 5 - Estratégia de Recuperação Universal (Galanakis, 2020)

O processo de Recuperação Universal de 5 fases é constituído pelas fases de pré-tratamento macroscópico, separação de macro e micromoléculas, extração, isolamento, purificação e formação do produto. Dentro de cada fase, os processos podem variar de acordo com a aplicação pretendida. A liofilização, centrifugação e microfiltração, extração por fluido supercrítico e extração assistida por ultrassons são alguns exemplos de processos que podem ser utilizados (Galanakis, 2020).

A industrialização e a implementação desta estratégia apresentam uma elevada complexidade para as indústrias, uma vez que é necessária investigação a nível

laboratorial, transferência para uma escala piloto e produção em grande escala, protegendo as suas propriedades, desenvolvendo as aplicações definidas e considerando os problemas de comercialização. Para além disso, poderão aparecer outros problemas, nomeadamente na transição do processo *batch* para contínuo. Isto implica que parâmetros como o tempo de mistura e de aquecimento aumentem, assim como a incorporação de ar, sendo necessário um maior cuidado no manuseio dos materiais e um maior grau de análise. Tudo isto resulta num aumento de custos, pois os compostos recuperados industrialmente são usados com maiores concentrações nos alimentos, quando comparados com a técnica laboratorial. De modo a garantir a sustentabilidade do processo, o benefício económico e a colocação do produto no mercado, é necessário resolver todas as questões mencionadas (Galanakis, 2020).

No presente caso de estudo, efetuou-se uma pesquisa de modo a perspetivar o estado de evolução da temática de extração de compostos (aromas, corantes e bioativos). Inúmeros resultados foram obtidos, embora a maioria diga respeito a corantes ou a aromas provenientes de frutos, vegetais ou algas. Após a análise dos resultados da literatura, decidiu-se selecionar os artigos mais relevantes para documentar diversas técnicas de extração (ainda que afetas a compostos diferentes) e o modo de preparação das amostras. Adicionalmente, selecionaram-se artigos de revisão que dão uma perspetiva mais completa da temática em estudo.

Macías-Sánchez et al. (2009) apresenta um estudo comparativo entre duas técnicas de extração - Extração por Fluido Supercrítico (EFS) e Extração Assistida por Ultrassons (EAU) - de carotenoides e de clorofila na espécie de microalga marinha, *Dunaliella salina*. A amostra foi liofilizada e armazenada num frigorífico com ausência de luz até ocorrer o processo de extração. Relativamente aos ensaios documentados, estes apresentavam diferentes temperaturas (para o caso da EFS) e diferentes solventes, na EAU. De modo a extrair os dois compostos, carotenoides e clorofila, o processo com maior rendimento foi a extração assistida por ultrassons utilizando o DMF (dimetilformamida) como solvente. Contudo, o estudo refere que, atendendo ao rácio carotenoide/clorofila, o rendimento na extração é maior na separação por fluido supercrítico do que nos restantes métodos. Tal resultado sugere que a extração por fluido supercrítico é mais seletiva do que a EAU quando existem pigmentos polares na biomassa a ser extraída. Segundo este estudo, é importante referir que os resultados da EFS demonstram que as condições de temperatura e pressão apresentam uma grande influência no processo de extração.

López et al. (2018) tem como objetivo otimizar e comparar duas técnicas de extração - extração assistida por ultrassons e por calor - de modo a obter antocianina do medronheiro. O estudo demonstrou que, para este caso, a técnica mais eficiente era a extração assistida por calor com as seguintes condições operatórias: 5 minutos, a 90 °C, com 80 % do etanol acidificado e com um rácio de sólido/líquido (S/L) compreendido entre os 5 e os 40 g/L. Estas condições permitiram obter um extrato com 60 % do total do fruto, em base seca. Neste estudo, a amostra foi preparada através de um processo semelhante ao caso de estudo anterior, ou seja, foi liofilizada, triturada, misturada, mantida ao abrigo da luz e armazenada a uma temperatura de - 20 °C. Para a extração do mesmo composto, antocianina, a partir da casca dos figos comuns, Backes et al. (2018) fez um estudo comparando as técnicas de extração assistida por ultrassons, micro-ondas e por calor. A amostra foi submetida ao mesmo processo do que em López et al. (2018) e as condições do solvente em todos os ensaios foram iguais (sempre com o solvente acidificado com pH=3). Como resultado, ao contrário do anterior, o processo mais eficiente foi a extração assistida por ultrassons enquanto que os outros processos de extração apresentavam um desempenho semelhante. É de notar que o estudo conclui que a pureza do extrato aumenta com o aumento do rácio S/L.

Corrêa et al. (2018) e Taofiq et al. (2019) realizaram estudos com cogumelos. No primeiro, compararam-se diferentes tipos de extração do ergosterol e a sua incorporação em iogurtes. No segundo, realizou-se a comparação de técnicas de extração convencionais e não-convencionais do mesmo bioativo. Ambos estudos apontam para que a espécie de cogumelos *Agaricus bisporus* apresenta maior teor de ergosterol quando comparado com as outras espécies. Relativamente à preparação das amostras, os estudos apresentados referem o mesmo processo. Sumariamente, foram secas, trituradas e armazenadas em vácuo à temperatura ambiente até serem submetidas ao processo de extração.

Por um lado, Corrêa et al. (2018) descreve o processo de extração do ergosterol utilizando o método de *Soxhlet*, processo de extração convencional, utilizando como solvente o etanol. Foram também avaliados outros parâmetros no estudo como as propriedades de antioxidante, antimicrobiana e hepatotoxicidade do bioativo. Adicionalmente, foi também estudado a sua incorporação em iogurtes, concluindo-se que os biorresíduos de cogumelos utilizados podem ser utilizados para obter aditivos alimentares promissores e de elevado valor acrescentado, seguindo o conceito de bioeconomia circular. Mais ainda, determinou-se o maior rendimento de extração no quinto ciclo de extração (12,79 %) obtendo-se uma concentração de extrato

enriquecido em ergosterol de 1,72 µg/100 g de biorresíduo (base seca). Em suma, os resultados obtidos confirmam a viabilidade da aplicação dos extratos de *Agaricus blazei* como fortificador de alimentos naturais.

Por outro lado, Taofiq et al. (2019) estudou vários processos de extração, nomeadamente utilizando o método de *Soxhlet*, extração assistida por calor, micro-ondas e ultrassons. Todos eles apresentavam como solvente o etanol. A técnica de extração que se revelou menos eficiente foi a extração assistida por calor, ao contrário da extração assistida por ultrassons que mostrou ser a melhor técnica de extração, tendo apresentado uma maior quantidade de extrato rico em ergosterol. Tal como no estudo de Corrêa et al. (2018), a técnica de *Soxhlet* apresentou um rendimento máximo de 12 % no seu quinto ciclo. Isto reflete-se num tempo de extração de 4 h, onde a amostra contacta continuamente com o solvente quente. Por fim, também Taofiq et al. (2019) defende que o extrato obtido pode ser aplicado como ingrediente bioativo para fins alimentares, farmacêuticos, cosméticos e nutracêuticos.

Relativamente à formação da vitamina D2, o estudo de Taofiq et al. (2019) aborda a formação da vitamina D e as suas principais funções. Estuda o efeito da irradiação UV nos cogumelos para a produção da vitamina D, ou seja, a conversão do ergosterol em vitamina D2. Apresenta vários ensaios provenientes de vários autores, de diferentes partes do mundo, que utilizaram várias espécies de cogumelos e condições experimentais distintas. Adicionalmente, o estudo de Taofiq et al. (2019) refere a concentração de vitamina D2 antes e após a irradiação dos diferentes tipos de radiação ultravioleta (UVB, UVC, UVA). Os métodos pelos quais os cogumelos têm vindo a ser tratados, na sua maioria por luz UV, divergem de uma forma significativa de estudo para estudo. Este conclui que a identificação das condições de irradiação para a conversão do ergosterol em vitamina D2 precisam, ainda, de ser otimizadas, uma vez que existem relatórios contraditórios. Contudo, estudos mais recentes apontam para um elevado potencial dos cogumelos irradiados serem uma fonte de vitamina D2. Os dados revelados por Taofiq et al. (2019) apontam para a existência de uma taxa de conversão do ergosterol em vitamina D2 num período de tratamento relativamente curto, tornando-se interessante do ponto de vista da sua aplicação em processos industriais. Adicionalmente, o estudo refere que os cogumelos podem ser utilizados como fonte de ingredientes de base biológica multifuncionais para reduzir o défice de vitamina D, assim como tendo outros benefícios para a saúde. Este estudo demonstra que os cogumelos irradiados são uma fonte alternativa de vitamina D2 onde a produção em grande escala é comercialmente viável a baixo custo. Contudo, sugere que mais estudos devem ser realizados de modo a permitir a extração, separação,

recuperação e purificação da vitamina D2 com os mínimos custos possíveis e máxima percentagem de purificação. Apontam também outra hipótese de isolar o ergosterol dos cogumelos e, posteriormente, irradiar o ergosterol para conversão em Vitamina D2, uma vez que a vitamina D pode-se degradar no decorrer dos processos de extração e purificação.

Recentemente, Papoutsis et al. (2020) num trabalho de revisão, aborda a extração e a determinação do ergosterol e da vitamina D2 provenientes dos cogumelos. Na preparação da amostra, o processo de secagem da mesma deve ser escolhido com cuidado de acordo com a espécie de cogumelo selecionado. Neste estudo, são abordados os processos não-convencionais de extração assistida por ultrassons, por fluido supercrítico, por líquido pressurizado e micro-ondas. Por outro lado, o trabalho refere a extração por *Soxhlet* como método convencional. O estudo faz referência às potenciais aplicações quer na indústria alimentar, quer na indústria farmacêutica.

Em suma, Papoutsis et al. (2020) aborda alguns assuntos e propõe trabalhos futuros de modo a colmatar as lacunas existentes. No processo de secagem, defende que estudos futuros devem ser conduzidos de modo a investigar o efeito do aquecimento ohmico (ou aquecimento de *Joule*) que é um processo de aquecimento dos alimentos através da passagem de uma corrente elétrica, tendo como resultado a desidratação destes num período de tempo mais reduzido. Este método evita a deterioração da cor e a degradação do valor nutricional. Relativamente aos processos de extração, afirma que estudos futuros devem focar-se no desenvolvimento de protocolos de extração sustentáveis de modo a proceder-se à extração quer de ergosterol quer de vitamina D2 numa escala industrial. Isto pode ser conseguido conjugando dois ou mais métodos diferentes dos não-convencionais, sugerindo o Campo Elétrico Pulsado (CEP) que pode resultar num aumento de transferência de massa por eletroporação. Este fenómeno induz a permeabilização da membrana celular.

## 2.4 Processo de recuperação do caso de estudo

Os principais processos que intervêm na extração dos dois bioativos (extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol e extrato enriquecido em Vitamina D2) analisados no caso de estudo deste trabalho encontram-se representados nos esquemas da Figura 6. De seguida, descreve-se de modo sumário cada uma das etapas apresentadas.

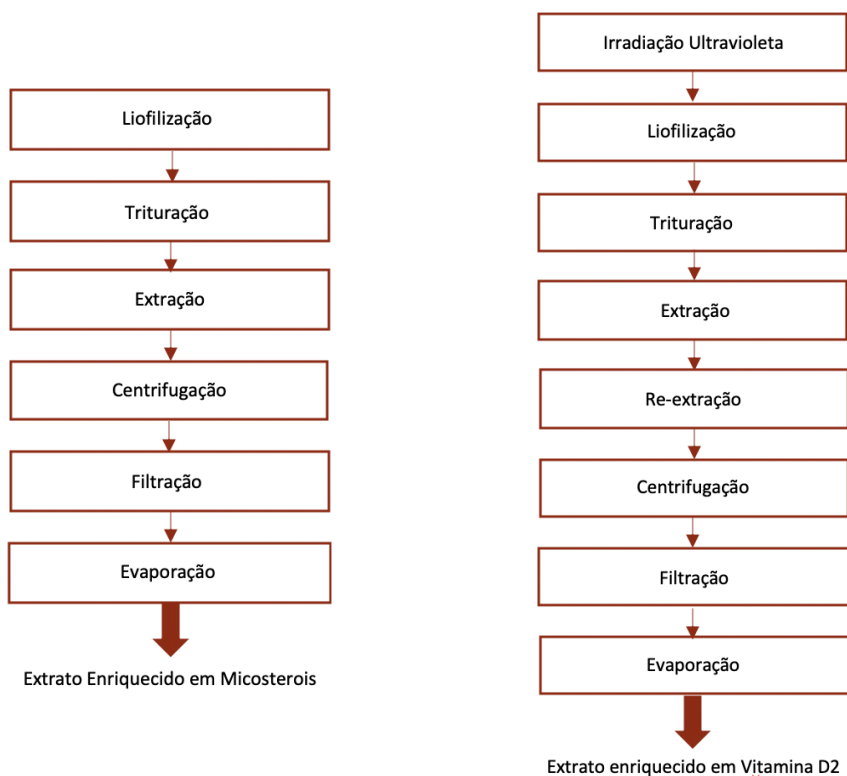


*Figura 6 - Processos de extração dos dois bioativos*

### 2.4.1 Liofilização e trituração

A liofilização é o processo mais eficaz, entre as tecnologias utilizadas, para a desidratação pois, para além de permitir a remoção de uma elevada quantidade de água, preserva a maioria das características presentes nos alimentos frescos (Prosapio et al., 2017). É um processo utilizado para remover a fração líquida de um produto em fase sólida através do fenómeno de sublimação. O vapor de água migra da frente de sublimação até à superfície do produto, sendo este, posteriormente, retirado por vácuo. Visto que a liofilização acontece em estados de matéria específicos, é necessário atribuir determinadas características ao processo. Deste modo, a sublimação ocorre quando as condições de pressão parcial do vapor de água e temperatura são inferiores às condições do ponto triplo da água, ou seja, valores menores que 610 Pa e 0,01 °C. O processo referido pode ser efetuado em sistemas a operar em contínuo ou em descontínuo, sendo o último usado para ensaios em pequena-média escala. Sumariamente,

a liofilização em sistema descontínuo é composta pelas etapas de congelação, secagem primária e secagem secundária. Contudo, é necessário proceder à preparação da matéria-prima antes do seu início. O equipamento utilizado para a liofilização denomina-se liofilizador, que geralmente é constituído por um sistema de refrigeração, de produção de vácuo e de controlo, uma câmara ou distribuidor de produto e um condensador (Barley, 2020).

O processo de trituração corresponde à redução do calibre do material, de modo a facilitar todo o processo a jusante deste.

#### **2.4.2 Extração Assistida por Ultrassons**

Nas últimas décadas, surgiram diversas tecnologias referentes ao processo de extração, nomeadamente a extração por micro-ondas, ultrassom, campo elétrico pulsado e extração por fluidos pressurizados, que são geralmente considerados como processos de extração com melhor desempenho ambiental, uma vez que permitem a redução do consumo de tempo, energia, água e solvente orgânico. Também favorecem a utilização de solventes geralmente reconhecidos como seguros do ponto de vista de toxicidade humana. Contudo, é importante proceder-se ao estudo destas novas técnicas tendo em consideração um conjunto de categorias de impacte ambiental (Vauchel et al., 2018).

A extração assistida por ultrassons (EAU) tem vindo a ser aplicada em diversos processos de valorização de compostos bioativos provenientes de matéria-prima agroalimentar, subprodutos ou resíduos (Vauchel et al., 2018). Este processo utiliza a energia sonora e um solvente de modo a extrair os compostos pretendidos de diferentes proveniências. Os ultrassons são emitidos em ondas de pressão médias que provocam a vibração das moléculas fazendo com que estas se contraíam e estendam alternadamente (Mandal et al., 2015).

Quando aplicadas num meio líquido, as ondas sonoras geram ciclos de alta pressão (compressão) e ciclos de baixa pressão (extensão) que obrigam à aproximação e ao afastamento das moléculas, respetivamente. Se a intensidade do ultrassom for suficientemente alta, o ciclo de baixa pressão pode permitir o aparecimento de bolhas ou cavidades no líquido (baixas frequências permitem a formação de bolhas de maiores dimensões que produzem uma grande quantidade de energia quando colapsam) e, consequentemente, a ocorrência do fenómeno de cavitação - formação das referidas bolhas e o seu arrebentamento. Aquando da implosão, são atingidas, localmente, pressões e temperaturas elevadas. As forças de cisalhamento geradas por este fenómeno provocam a quebra do revestimento das células presentes na amostra, aumentando a transferência de matéria. Contrariamente, quando exposta a altas frequências, a formação de bolhas é mais difícil e a cavitação tende a não ocorrer. Da mesma forma, na presença de temperaturas e pressões de vapor elevadas, a intensidade de cavitação diminui. Portanto, de modo a maximizar o rendimento do processo, este deve ser realizado às mais

baixas temperaturas possíveis ou usar um solvente com baixas pressões de vapor (Mandal et al., 2015).

Um extrator ultrassónico é constituído por um gerador e por um transdutor que converte a energia mecânica ou elétrica em energia sonora de modo a serem emitidas frequências ultrassónicas. Existem dois tipos diferentes de extração assistida por ultrassons sendo eles o banho de limpeza ultrassónica, usado normalmente para situações de sólidos dispersos em solventes e soluções de desgaseificação, e a sonda ultrassónica - método mais usado para sonorizar amostras de pequenas dimensões (Mandal et al., 2015).

A EAU é uma técnica de extração económica e pode ser facilmente usada como substituta de técnicas de extração tradicionais envolvendo a utilização de ultrassons com uma frequência compreendida entre os 20 kHz e os 2000 kHz. A técnica referida proporciona um aumento do rendimento da reação, assim como a taxa de extração, reduz o tempo do processo e possui um maior desempenho quando executada em condições de temperatura e de quantidade de solvente reduzidas, tornando-se um procedimento bastante útil para a extração de compostos instáveis na presença de calor (Kyriakopoulou et al., 2015).

#### **2.4.3 Centrifugação e Filtração**

A centrifugação é um processo mecânico utilizado na separação de componentes de uma mistura de acordo com a sua densidade ou tamanho. Este procedimento deve-se à aplicação de um campo de forças centrífugas. Atualmente, as centrifugadoras são instrumentos empregues diariamente e numa grande quantidade de matérias, desde a escala laboratorial à comercial (Taulbee e Mercedes Maroto-Valer, 2000).

A separação por filtração consiste na exclusão de um determinado composto através do seu tamanho, carga, afinidade ou até mesmo a combinação de vários destes critérios. Esta técnica pode ser realizada através do uso de uma membrana ou então de um meio filtrante (Sahai, 2000).

Na filtração por membrana (ou microfiltração), o processo pode ocorrer através de um meio filtrante muito fino, onde as partículas sólidas tendem a possuir um diâmetro maior comparativamente com os poros irregulares, ou então através de filtros de tela. Neste caso, os poros apresentam tamanho uniforme, mas a sua distribuição ao longo da membrana é irregular. A membrana atua como um crivo onde a solução percorre os canais irregulares e as partículas são rejeitadas nesta. Este processo é usado para separar partículas em suspensão ou coloidais de uma solução e com um diâmetro compreendido entre 0,1  $\mu\text{m}$  e 10  $\mu\text{m}$ . Para partículas de menores dimensões, os processos mais indicados são a ultrafiltração e a osmose reversa (Sahai, 2000).

Relativamente às técnicas de filtração por membrana, estas podem consistir em forçar toda a solução a atravessar a membrana ou então em empregar um caudal líquido numa orientação tangencial à superfície da membrana de modo a evitar a acumulação de partículas e, consequentemente, a formação de um bolo (Sahai, 2000).

O processo de filtração pode apresentar características muito variadas em cada aplicação, uma vez que existem diversos polímeros usados na produção dos filtros e meios filtrantes, assim como nos equipamentos utilizados para o mesmo dependendo da escala onde é introduzida (laboratorial ou industrial). É usado por diversas áreas e para realização de atividades como, por exemplo, filtração seletiva, purificação de água, preparação de soluções para cromatografia, esterilização e dessalinização (Sahai, 2000).

#### **2.4.4 Evaporação**

A evaporação pode ser descrita como um processo onde ocorre a vaporização de um solvente sensível à ação da temperatura, ou seja, um solvente volátil, de modo a aumentar a concentração dos restantes solventes. É um processo muito utilizado na indústria alimentar, apresentando vários propósitos desde a redução de massa e volumes, preservação, preparação para processos seguintes ou até mesmo conferir ao produto uma consistência específica. Aqui, o solvente volátil mais comum é a água (Berk, 2018).

A nível industrial (indústria alimentar, neste caso), existe uma grande variedade de evaporadores, nomeadamente de panela (sistema *batch* aberto e de vácuo), com permutadores de calor tubulares (internos e externos) e *boiling film evaporators* (Berk, 2018).

No laboratório, o evaporador rotativo é alvo de protagonismo. A sua estrutura consiste num frasco, onde é inserida a solução com o solvente a extrair, que é aquecido por um banho de água e se encontra em rotação provocada por um motor. Ao aquecer, o solvente evapora e segue o percurso até ao evaporador (constituído por um condensador). Aqui, o solvente passa do seu estado gasoso a líquido - condensação - e desce até ao balão que está colocado na parte inferior do evaporador. No final, obtém-se então o solvente separado do produto que se pretende extrair. Durante este processo, é recorrente a ocorrência de colisões quando o aquecimento do solvente. É conveniente inserir-se, entre o frasco onde este se encontra e o evaporador, um vidro de lâmpada de modo a, em caso de ocorrência, garantir a evaporação do solvente. Para além disto, o equipamento é provido de um sistema de vácuo que, juntamente com a rotação do motor, previne a ocorrência do fenómeno indicado (Pirrung, 2017).

#### **2.4.5 Irradiação Ultravioleta**

O processo de irradiação ultravioleta (UV) é realizado através de uma lâmpada que emite uma energia de onda (fótons) numa zona específica do espectro. Neste caso, o

comprimento de onda da radiação emitida está compreendido entre os 10 e os 400 nm, ou seja, na zona de emissão do ultravioleta (UV) (Lagunas-Solar, 2014).

De modo a produzir um extrato rico em Vitamina D<sub>2</sub>, as moléculas de ergosterol são excitadas através da radiação UV, normalmente uma lâmpada de mercúrio com comprimento de onda compreendido entre os 250 e os 350 nm. Desta reação resulta a Pré Vitamina D que, quando submetida a um equilíbrio térmico dá origem à Cis Vitamina D que depende do comprimento de onda empregado. Ambas são formas ativas da Vitamina D. Neste processo de formação, fatores como o tempo de irradiação, a frequência da fonte luminosa, temperatura, solvente e a concentração de substrato afetam o rácio da extração dos isómeros (Hirsch, 2011).

Existe uma grande quantidade de estudos que apontam para o potencial do uso da radiação UV no tratamento dos cogumelos como uma fonte alternativa de vitamina D, que substitui a vitamina D derivada de animais, sendo atrativa para *vegans* e pessoas intolerantes à lactose (Taofiq et al., 2017).

A câmara de irradiação ultravioleta permite expor o produto desejado à radiação UV pretendida sem pôr em perigo a saúde de quem realiza a atividade, uma vez que funciona como um isolante.

## 2.5 Avaliação do impacte ambiental na extração de compostos

O principal objetivo da investigação na área da sustentabilidade ambiental é a proteção do planeta, de modo a garantir a existência de uma vida saudável das gerações futuras. Um dos maiores desafios para a comunidade científica e para o setor agrícola é o facto de ter de alimentar uma população mundial em crescimento sem sobre-exploração do planeta e, consequentemente, dos seus recursos (Del Borghi et al., 2020). Este tópico foi assunto em vários eventos ao longo dos tempos.

A *European Common Agriculture Policy* aponta três campos de elevada prioridade, sendo eles o aperfeiçoamento da sustentabilidade no ramo da agricultura, o reforço da conservação da biodiversidade, assim como dos sistemas ecológicos da agricultura e da silvicultura, e, por último, a gestão da água e o seu uso de acordo com a existência de possíveis cenários de alterações climáticas que podem ocorrer num futuro próximo. A reorganização desta política da União Europeia, em 2013, levou a um plano a longo prazo que apresenta os objetivos de fazer face à urgência de criar um elevado nível de segurança e de qualidade dos alimentos. Simultaneamente, este procura proteger o uso dos recursos naturais que é necessário explorar no setor agrícola para manter a produtividade usual deste. O consumo destes recursos deve-se, em grande parte, à produção de alimentos, apresentando impactes ambientais notáveis que podem ser avaliados numa abordagem de ciclo de vida (Del Borghi et al., 2020).

A análise do ciclo de Vida (ACV) de um produto ou de um processo foi concebida, inicialmente, para servir de suporte a decisões ambientais. Nos dias de hoje, é uma ferramenta que permite quantificar o potencial impacto ambiental ao longo de todas as etapas do ciclo de vida destes. Assim, pode-se determinar a contribuição dos produtos, ou processos, para as várias categorias de impacto ambiental e avaliar os recursos utilizados. Por sua vez, os estudos relativos à ACV são considerados instrumentos necessários à realização do planeamento das melhores estratégias de gestão do ciclo de vida do produto/processo e à melhoria da sua prestação a nível ambiental, levando, assim, a padrões de consumo de alimentos mais sustentáveis (Del Borghi et al., 2020).

No que diz respeito aos trabalhos desenvolvidos pela comunidade científica relativamente à ferramenta de avaliação de ciclo de vida, Del Borghi et al. (2020) aponta para que ao longo dos últimos anos, tenham surgido estudos neste campo que definem o impacto de diferentes produtos e bens de consumo, como é o caso de pão, cerveja, vinho e produtos derivados de tomate. Assim como o leite, manteiga, carne, indústria pesqueira, frutos (maçã, laranja, melão, pêssago e framboesa), açúcar, azeitona, alface, feijões, ervilhas, brócolos, cereais de pequeno almoço e snacks e alimento para animais. O trabalho de Del Borghi et al. (2020) aborda inúmeros aspetos da metodologia de ACV especificamente para a indústria alimentar.

Uma vez que, de acordo com o melhor conhecimento do autor desta dissertação não existem ainda publicados artigos científicos sobre o ciclo de vida dos compostos em estudo neste trabalho, procedeu-se à análise de artigos sobre outros componentes provenientes de outras fontes que não o cogumelo, mas que apresentassem um processo semelhante ao seguido no âmbito da extração dos extratos enriquecidos com micosteróis e vitamina D2. A Tabela 1 apresenta os aspetos relativos à metodologia seguida em cada artigo, de modo a permitir uma melhor análise dos mesmos. Todos os estudos utilizaram o *software* SimaPro.

Prosapio et al. (2017) teve como objetivo otimizar o processo de liofilização de morangos utilizando a avaliação do ciclo de vida. Para tal, foram considerados dois cenários: o cenário de liofilização e o cenário de pré-tratamento osmótico com liofilização. A unidade funcional (UF) escolhida foi de 450 g de morangos secos. A avaliação quantitativa mostra que a fase da agricultura, empacotamento e fim de vida não afetam significativamente as emissões produzidas. No processamento, o processo de liofilização foi dividido em duas partes, sendo elas o tempo de congelamento e o tempo de secagem por vácuo. A análise dos resultados demonstra que o processo é sensível ao tempo de secagem por vácuo contrariamente ao tempo de congelamento. A redução do tempo de congelamento de 18 h para 12 h, gera uma diminuição das emissões em 6,4 %. Por sua vez, uma diminuição do tempo de secagem por vácuo de 7 para 4 h diminui em 18,3 % as emissões geradas. Depois de concluir que o cenário com menor impacto ambiental é o de pré-tratamento osmótico seguido de liofilização, o estudo apresenta novas

experiências no sentido de minimizar as emissões, garantindo, ao mesmo tempo, a qualidade do produto. O cenário melhorado apresenta uma redução global das emissões em 4 % no pré-tratamento osmótico seguido de liofilização e uma redução de 25 % do processo comercial de liofilização. O estudo indica também que tudo isto pode ter um impacto considerável na sustentabilidade do processo de liofilização, quer a nível económico, quer a nível ambiental.

*Tabela 1 - Dados referentes à metodologia de ACV utilizados nos artigos mencionados*

| Autor/Ano                   | Nome                                                                                                                                | Limites do Sistema     | Método                    |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|---------------------------|
| Prosapio et al. (2017)      | <i>Optimization of freeze-drying using a Life Cycle Assessment approach: Strawberries' case study</i>                               | <i>cradle-to-grave</i> | ReCiPe                    |
| Kyriakopoulou et al. (2015) | <i>Life cycle analysis of B-carotene extraction techniques</i>                                                                      | <i>cradle-to-grave</i> | CML2 baseline 2000        |
| Vauchel et al. (2018)       | <i>Comparative LCA of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from chicory grounds under different operational conditions</i> | <i>gate-to-gate</i>    | ILCD2011 midpoint         |
| Amiri et al. (2017)         | <i>Environmental impact assessment of total alkaloid extracted from the Atropa belladonna L. using LCA</i>                          | <i>gate-to-gate</i>    | IMPACT 2002+;             |
| Papadaki et al., (2016)     | <i>Life Cycle Analysis of Microalgae Extraction Techniques</i>                                                                      | <i>cradle-to-gate;</i> | CML2 baseline 2000        |
| Pérez-López et al. (2014)   | <i>Life cycle assessment of the production of bioactive compounds from Tetraselmis suecica at pilot scale</i>                       | <i>gate-to-gate</i>    | CML 2 baseline 2001 V2.04 |

Para o estudo do impacto ambiental associado ao pigmento de betacaroteno a partir da cenoura e da microalga *Dunaliella salina*, Kyriakopoulou et al. (2015) avalia as fases do seu cultivo e colheita, pré-tratamento e extração. Relativamente a este último, considera os processos de extração convencional com solventes, extração por método de *Soxhlet*, extração assistida por ultrassons e por micro-ondas com uma UF de 1 kg de extrato de betacaroteno extraído das diferentes matrizes. Os resultados obtidos demonstram que a técnica de extração mais viável, ambientalmente, é a extração assistida por ultrassons, para a alga e a extração assistida por micro-ondas, para as cenouras. De notar que a cenoura apresenta uma quantidade de betacaroteno mais reduzida em comparação com as algas, o que implica um gasto acrescido de recursos, de modo a obter as mesmas quantidades. Conclui-se também que o processo de secagem dos materiais é um passo importante, antes do processo de extração, que apresenta um elevado consumo energético, refletindo-se num grande impacto ambiental.

Utilizando uma UF de 0,55 L de extrato de chicória, Vauchel et al. (2018) compara diferentes condições de extração assistida por ultrassons na recuperação de polifenóis provenientes de um subproduto da indústria de bebidas. Como resultado, concluiu-se que aquecer o solvente conduz ao aumento dos impactos ambientais em todas as categorias de impacto, uma vez que para tal existe um aumento de consumo de energia. O uso do etanol como solvente é um ponto de grande relevância que origina um impacto negativo significativo no campo dos materiais. Contudo, esta conclusão tem de ser pensada com cuidado pois este solvente permite enormes ganhos na eficiência de extração. Logo, é recomendado efetuar um balanço entre eficiência de extração e o impacto ambiental negativo associado. Por fim, o cenário com as condições ótimas, considerando a carga ambiental, foi de temperatura ambiente e utilizando água como solvente.

De modo a avaliar os principais pontos negativos de impacto ambiental no processo de extração de alcaloides provenientes da *Atropa belladonna* L., Amiri et al. (2017) utilizou uma amostra seca e triturada que foi, posteriormente, submetida ao processo de extração assistida por ultrassons utilizando como solvente o clorofórmio. Os autores apontam, em jeito de conclusão, que o principal responsável pelos efeitos negativos no ambiente é o clorofórmio, ou seja, apresenta a maior percentagem de contaminação. Logo a seguir, para as categorias de impacto de alterações climáticas e recursos, a energia é o segundo maior fator, apresentando uma percentagem aproximada de 30 % de poluição. Sugere-se, por último, a necessidade de proceder à escolha de outro solvente, que não o clorofórmio, de modo a melhorar o desempenho ambiental do processo.

O trabalho de Papadaki et al. (2016) teve como objetivo a avaliação e comparação do desempenho ambiental de várias técnicas de extração (extração por solvente convencional, método de *Soxhlet*, extração assistida por ultrassons e micro-onda) de astaxantina da microalga *Haematococcus pluvialis*. Este autor utiliza para o seu caso de estudo, uma UF de 1 kg equivalente de astaxantina na forma de um extrato de óleo-resina. Como o extrato rico em astaxantina é considerado para aplicações em alimentos e em nutraceuticos, foram considerados solventes alternativos para alimentos. O estudo defende que a secagem é um processo essencial para o processo de extração da astaxantina. Entre as técnicas de extração, a extração assistida por ultrassons apresenta ser a mais sustentável - tendo em conta o elevado rendimento, baixo custo e tempo de operação - embora apresente um impacto ambiental médio. A alternativa menos favorável é a extração através do método de *Soxhlet*, pois apresenta um tempo de consumo elevado, o uso de solventes potencialmente prejudiciais, dispendiosos e uma grande quantidade utilizada. Este processo ostenta, ainda, um baixo grau de rendimento e um elevado gasto de energia (Papadaki et al., 2016).

Pérez-López et al. (2014) aborda a extração de cinco bioativos diferentes provenientes de uma microalga marinha, *Tetraselmis suecica* cultivada no laboratório. Posto isto, no âmbito do estudo e através da metodologia de avaliação de ciclo de vida, considerou-se as fases de esterilização do foto-bioreator, inoculação e cultivo, colheita e extração, que utilizou como solvente o hexano. Posteriormente, para a recuperação de outros compostos, utilizou-se o metanol e o hidróxido de potássio (KOH). Como UF, os autores empregaram 1 kg de *T. suecica*. Neste caso de estudo, o processo de cultivo e de inoculação são os principais contributos para todas as categorias de impacte ambiental. O processo de extração é o segundo maior responsável pelo perfil do sistema ambiental, sendo a eletricidade o maior contributo (de 72 % a 94 %) e o uso dos solventes o menos significativo, uma vez que os solventes são recuperados. Porém, este processo, que ocorre no evaporador rotativo, consome 99 % da eletricidade do processo geral de extração.

### 3 Materiais e Métodos

A avaliação de Ciclo de Vida é uma metodologia que permite avaliar o impacto ambiental de um produto ou serviço tendo em consideração o seu ciclo de vida. O seu desenvolvimento resultou do reconhecimento pelas diferentes partes interessadas (como, por exemplo, consumidores, governos e empresas) dos impactos negativos que as atividades humanas têm no meio ambiente, em particular as ligadas à produção e consumo de bens e serviços. Além disso, é, atualmente, consensual que os impactos ambientais não se resumem apenas à produção e consumo dos serviços ou produtos, mas também estão associados a outras fases do seu período de vida. Posto isto, outros processos devem ser tomados em conta, nomeadamente a extração de recursos e/ou a disposição/reciclagem adequada dos resíduos. Muitas vezes, estes processos são dominantes comparativamente aos apresentados em primeiro lugar. Esta perspetiva sistémica é designada de *Life Cycle Thinking* (LCT) e esta é a base de muitas estratégias e/ou políticas para um desenvolvimento mais sustentável, em particular na UE.

A metodologia de ACV está, então, diretamente relacionada com o LCT, tendo como principal objetivo a avaliação dos impactos ambientais associados a todo o ciclo de vida de um dado produto ou processo. São consideradas, então, todas as etapas durante o período de vida deste (desde a extração e obtenção de matérias-primas à utilização, tratamento de fim de vida e destino final). Os resultados de um estudo de ACV podem ser utilizados de diferentes formas, nomeadamente na identificação de eventuais oportunidades que permitam melhorar o desempenho ambiental, quer de um produto, quer de um serviço nas diferentes etapas do seu ciclo de vida, na informação, na seleção de indicadores relevantes de desempenho ambiental e no *marketing* (IPQ, 2008).

Consensualmente, a metodologia de ACV deve ser realizada conforme as normas ISO 14040:2006 e ISO 14044:2006 - transpostas para a norma portuguesa NP EN ISO 14040:2008 (IPQ, 2008) e NP EN ISO 14044:2010 (IPQ, 2010), respetivamente. As normas referidas dividem o estudo de ACV em quatro fases: (i) definição do objetivo e do âmbito, (ii) análise do inventário, (iii) avaliação dos impactos e (iv) interpretação, que se relacionam entre si, como mostra na Figura 7. Apesar de que na prática o estudo é efetuado de forma sequencial, todas as fases da ACV estão interligadas entre si, tornando esta técnica numa abordagem iterativa que possibilita a consistência e a compreensão da análise e dos resultados obtidos no estudo.

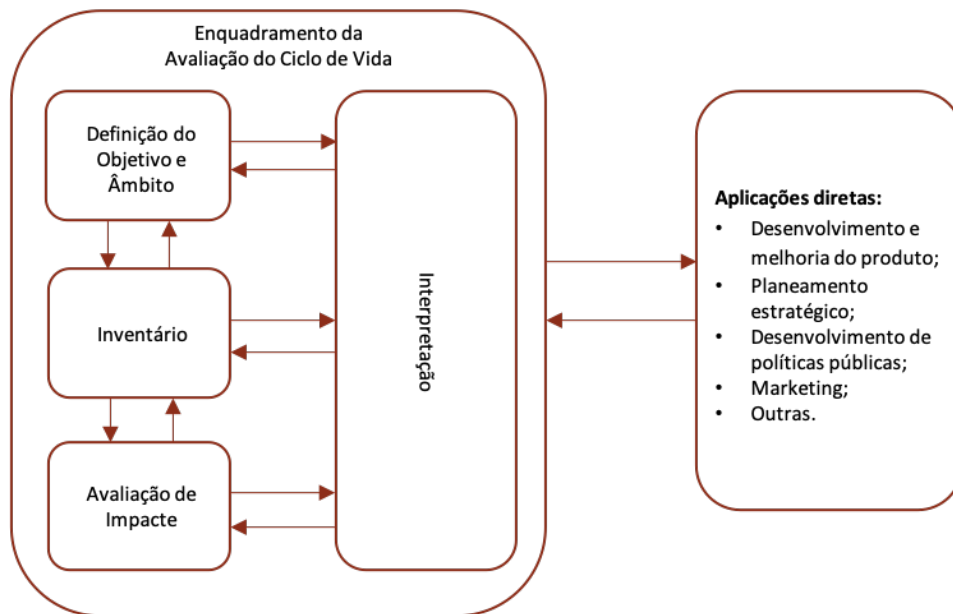


Figura 7 - Fases da ACV. Adaptado da NP EN ISO 14040:2006 (CEN, 2006)

Na primeira fase, âmbito do estudo, são definidos a fronteira do sistema e o nível de detalhe. Estes dependem do objetivo e da aplicação pretendida, podendo variar de caso para caso. É importante referir que todas as respostas fornecidas pelas etapas seguintes têm em conta o âmbito e os objetivos estabelecidos nesta fase. Aqui, é também definida a unidade funcional (de acordo com a função e objetivo do sistema). Em função desta, são calculados os impactos ambientais do produto ou serviço e é feita uma listagem de diferentes tópicos, como a cobertura temporal e tecnológica, região em que o estudo é desenvolvido, e tipo de estudo.

Na etapa de análise de inventário de ciclo de vida (ICV) é definido o sistema em estudo, que normalmente envolve a definição de um diagrama com a explicitação dos fluxos principais de materiais, energia e emissões entre blocos do sistema e entre a fronteira deste. De seguida são contabilizados esses mesmos fluxos, em particular os que atravessam a fronteira do sistema, correspondentes aos *inputs* e *outputs* (entradas e saídas), a partir dos quais serão calculados os valores dos impactos ambientais.

Na terceira fase da metodologia, avaliação dos impactos de ciclo de vida (AICV), são calculados os valores dos impactos ambientais. Esta fase envolve, inicialmente, a seleção das categorias de impacto ambiental que devem ser representativas dos impactos ambientais mais significativos do produto ou serviço em estudo, tendo em conta o inventário do ciclo de vida e a informação qualitativa sobre o mesmo. Os consumos de recursos e emissões (do ICV) são classificados de acordo com as características e impactos ambientais esperados, sendo de seguida quantificados em impactos ambientais através de fatores de caracterização, utilizando uma metodologia de avaliação de impacto ambiental. Os resultados são, assim, obtidos tendo em conta as categorias de impacto selecionadas e as hipóteses consideradas na primeira fase.

Por último, na fase de interpretação são apresentados e discutidos os resultados da avaliação de impacto ambiental para as etapas de ciclo de vida do sistema em análise, ou apenas para algumas etapas, identificando-se os pontos críticos do sistema. Esta fase funciona como base para as conclusões, recomendações e tomada de decisão. Na fase de interpretação pode-se decidir incluir, na análise, alternativas de melhoria dos pontos críticos do sistema, uma vez que para além do objetivo já referido, a avaliação de ciclo de vida pretende servir como ferramenta de apoio à decisão.

Nesta dissertação, a metodologia de ACV foi implementada de modo a avaliar o desempenho ambiental da extração de dois bioativos provenientes de resíduos de cogumelos para aplicação na indústria alimentar: extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol e extrato enriquecido em vitamina D2. O estudo está inserido no projeto “Valor Natural”, em que a ACV serve para caracterizar o desempenho ambiental dos produtos em desenvolvimento pelos membros do projeto e que servirá, futuramente, de objeto de comparação destes mesmos produtos com os convencionais, já existentes.

### **3.1 Objetivo e âmbito do estudo**

O objetivo principal do estudo é avaliar o impacto ambiental da produção de dois bioativos obtidos a partir de resíduos de cogumelos cultivados para consumo humano. Em particular, serão analisados os processos de obtenção de um extrato enriquecido em micosteróis - nomeadamente ergosterol - e de um extrato enriquecido em vitamina D2, para implementação na indústria alimentar. Como os extratos em estudo estão em desenvolvimento apenas a uma escala laboratorial é nessa escala que o estudo de ACV se aplica. Neste contexto, o estudo visa permitir uma primeira interpretação dos resultados para os dois extratos e, futuramente, servir para suportar o *scale-up* para uma escala piloto e subsequente escala comercial (unidades com maior capacidade em que se consiga também um melhor desempenho ambiental).

Deste modo, é necessário definir dois sistemas, um para cada extrato, que vão ser estudados separadamente, apesar dos mesmos apresentarem processos unitários e unidades processuais semelhantes. Apesar de parecer lógico a escolha de uma UF que tivesse em conta o processamento de uma unidade de massa de resíduos, como a função (objetivo) dos sistemas considerados é a produção de bioativos, a unidade funcional (UF) considerada foi de 1 g de extrato de bioativo produzido.

Considerou-se uma abordagem *gate-to-gate*, uma vez que se utiliza como matéria-prima um resíduo sem valor económico, ou seja, neste ponto de vista, os impactos associados aos biorresíduos de cogumelos devem ser omitidos desta análise. O mesmo já foi tido em conta por outros autores, nomeadamente Vauchel et al. (2018) no desenvolvimento de um estudo de ACV de valorização de subprodutos (sementes de chicória) resultantes da indústria de bebidas. Para

além disso, o cultivo de cogumelos não está incluído nos desenvolvimentos do projeto que este estudo visa apoiar. Os impactes da produção de solventes e da energia utilizados nos processos são tomados em conta. Por outro lado, como ainda é incerto o uso destes bioativos na indústria alimentar, não se considerou neste estudo o impacto das etapas de utilização e de fim de vida, quer do ergosterol quer da vitamina D2.

O estudo considerou as condições do contexto português em que se insere, em particular o *mix* elétrico nacional. O estudo é do tipo atributivo, visto que os impactes ambientais são referentes à obtenção de dois produtos à escala laboratorial (com base nos desenvolvimentos do projeto “Valor Natural”) e não assumem que estes induzam alterações nos sistemas afetos à obtenção dos mesmos. No que diz respeito à cobertura tecnológica, considerou-se que os processos de extração são os mais adequados, para obtenção dos dois extratos, e que correspondem às melhores práticas do setor. Deste modo, espera-se que os dados e resultados sejam válidos a curto e a médio prazo, pelo menos 10 anos, uma vez que as fontes de energia utilizadas para a produção de eletricidade tendem a ser cada vez mais renováveis (com o objetivo de alcançar a neutralidade carbónica) e, conseqüentemente, o *mix* energético apresentará um impacto ambiental menor.

## 3.2 Definição dos sistemas

De modo a possibilitar a realização de um inventário de ciclo de vida adequado, é necessário definir os sistemas de produção dos dois extratos. Apesar de serem similares e possuírem processos unitários iguais, nas duas subsecções seguintes são descritos separadamente, sendo também apresentados quais os produtos e resíduos obtidos em cada etapa do ciclo de vida. Estes correspondem ao cenário base (Cenário A) que servirá de apoio às propostas de melhoria de desempenho ambiental dos processos de extração dos bioativos.

Em ambos os ingredientes, a matéria-prima consiste no biorresíduo de cogumelos que foi adquirida à empresa “*Mogaricus*”, produtora deste alimento que está localizada em Mogadouro, Portugal, sem qualquer custo, uma vez que se trata de cogumelos com anomalias ao nível fisiológico que não são incluídos no processo de preparação dos mesmos. Os biorresíduos são então transportados por uma carrinha da empresa mencionada com refrigeração e a uma temperatura de 4 °C. A matéria-prima é armazenada antes de ser processada, visto que o processo opera de forma descontínua e a capacidade de processamento atual do sistema é insuficiente para a tratar rapidamente.

### 3.2.1 Extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol

Na Figura 8 é apresentado o diagrama de fluxo para o sistema de produção do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol. O processo é sequencial, ou seja, apenas passa para o processo seguinte quando o anterior está completo. De notar que o

processo não se encontra otimizado em termos de minimização de tempos de inatividade das várias unidades processuais.

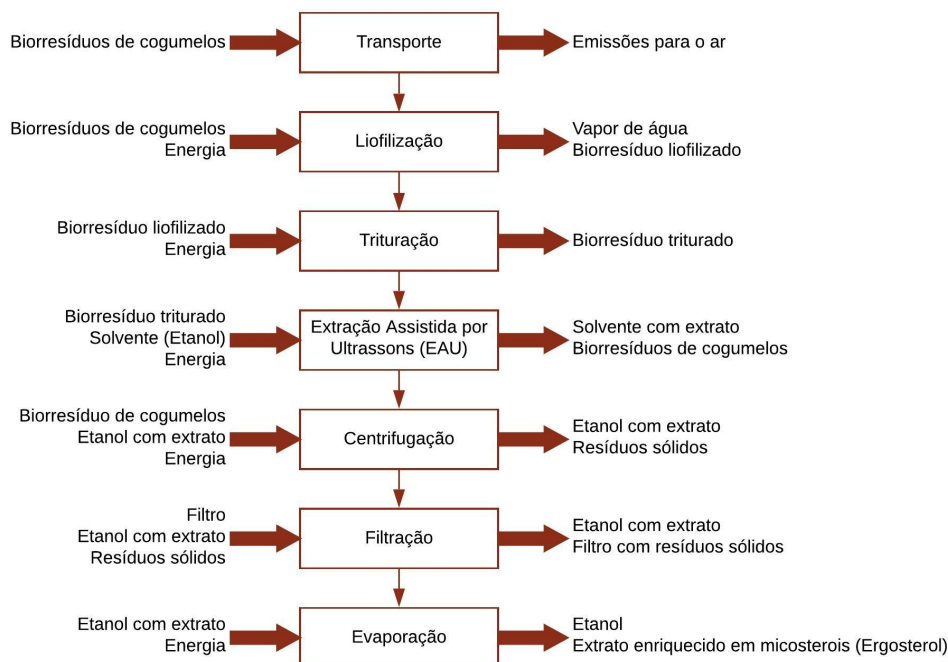


*Figura 8 - Fluxo de processos unitários para obtenção do extrato enriquecido em micosteróis*

Chegada ao local, a matéria-prima é submetida ao processo de liofilização, retirando-se, deste modo, a maioria da água presente nos cogumelos. Posto isto, a fração sólida é retirada e triturada até redução a pó, sendo este armazenado, para posterior processamento, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente num exsicador, de modo a impedir a absorção de água. Esta etapa de armazenamento é necessária uma vez que existem equipamentos de diferentes capacidades de processamento. Neste caso, o liofilizador apresenta uma capacidade maior e pode processar uma massa de 1000 g de uma vez só, necessitando que parte do material liofilizado seja armazenado antes de prosseguir para os processos seguintes.

De seguida, com recurso ao processo de EAU, e utilizando o etanol como solvente, é obtido um extrato enriquecido em micosteróis. No final da extração, é efetuada uma centrifugação, permitindo a separação da fase sólida da fase líquida. Daqui resulta um resíduo sólido (fase sólida) e um sobrenadante com o solvente e o extrato (fase líquida).

Depois da EAU, o solvente com extrato e alguns resíduos sólidos que restaram são filtrados por gravidade. Foi utilizado para esse efeito um filtro de *nylon*. Aqui são separados os restantes resíduos sólidos do solvente com extrato. Este, posteriormente, é sujeito a um processo de evaporação através de um evaporador rotativo.

Todas as condições afetas aos equipamentos utilizados e aos processos identificados para a obtenção do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente em ergosterol, são caracterizados nos Apêndices A.1 e A.2. No âmbito do projeto “Valor Natural” e do estágio no

ISQ, estes dados são de natureza confidencial e, por isso, optou-se por apresentá-los apenas como documento anexo à dissertação.

### 3.2.2 Extrato enriquecido em Vitamina D2

O processo de extração do extrato enriquecido em Vitamina D2 é idêntico ao descrito na subsecção anterior, como se pode constatar ao comparar a Figura 9, que apresenta o sistema de produção do extrato enriquecido em vitamina D2, com a Figura 8. No entanto, neste processo de extração, antes de se proceder à liofilização e trituração, a amostra é introduzida numa câmara de irradiação ultravioleta de modo a converter o ergosterol em vitamina D2, um processo similar ao que ocorre no organismo humano, indicado, a título de exemplo, no trabalho realizado por Navarro-Triviño et al. (2019).

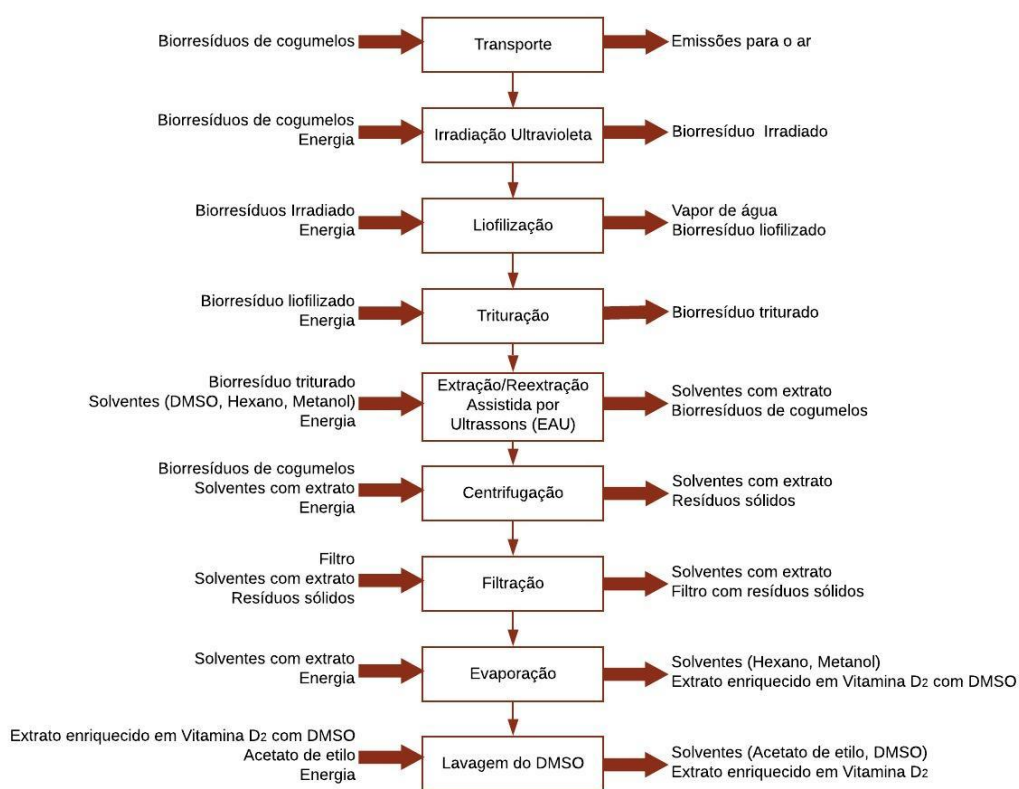


Figura 9 - Fluxo de processos unitários para obtenção do extrato enriquecido em Vitamina D2

Assim, após a irradiação UV, os biorresíduos são liofilizados nas mesmas condições utilizadas para obter o extrato enriquecido com miscosteróis. O produto sólido é de seguida triturado e guardado ao abrigo da luz e à temperatura ambiente. Posteriormente, é efetuada a EAU, sendo que para o extrato enriquecido com vitamina D2 é utilizada uma mistura de hexano, metanol e DMSO como solventes.

No fim do processo, procede-se à centrifugação para separar o sobrenadante do resíduo sólido. Este é submetido novamente ao processo de extração usando as mesmas condições, com

a exceção de que apenas foi adicionado o hexano como solvente. Findados os processos, é realizada, por gravidade, a filtração. Aqui são separados os resíduos sólidos em suspensão da solução do solvente contendo o extrato enriquecido em vitamina D2.

Após a extração, o solvente é removido usando um evaporador rotativo de modo a obter-se um extrato sólido enriquecido com vitamina D2. Por fim, é efetuada uma lavagem do DMSO no extrato utilizando o acetato de etilo. O processo ocorre no evaporador rotativo, já utilizado em processos anteriores. Findado o processo, o DMSO é, então, recuperado para ser, mais tarde, reutilizado no processo.

Todas as condições relativas aos processos identificados para a obtenção do extrato enriquecido em vitamina D2 estão apresentadas no Apêndice A.3.

### 3.3 Inventário do Ciclo de Vida

Neste estudo utilizou-se, sempre que possível, informação (ou dados primários - diretamente obtidos dos processos laboratoriais) disponibilizada pelos parceiros do projeto “Valor Natural”, mais especificamente os parceiros do projeto responsáveis pela produção dos compostos foram o Instituto Politécnico de Bragança (IPB) e o Centro de Investigação de Montanha (CIMO). Nesta informação estão englobados, a título de exemplo, dados de condições operatórias, quantidades de biorresíduo processadas, quantidades de solventes e as características dos equipamentos utilizados. No caso de outros dados, que não foram possíveis de quantificar, foram obtidos da literatura.

O *software* utilizado para proceder à avaliação dos impactes do ciclo de vida foi o SimaPro, versão 8.5.2.0. O método utilizado para o cálculo dos impactes ambientais foi o ReCiPe (versão 1.13), usando, sempre que possível, a base de dados da Ecoinvent, versão 3.3.

De seguida, descreve-se algumas considerações e/ou cálculos considerados no âmbito do estudo.

A água utilizada nos processos, por exemplo para lavagem de materiais e/ou equipamentos não foi considerada, uma vez que não apresentava necessidade de tratamento. Tendo ambos os processos uma escala laboratorial, a quantidade de água utilizada é pequena, não sendo significativa para o caso em estudo.

No processo de liofilização, considerou-se que os biorresíduos apresentam um teor de água de 90 % em massa e que 90% dessa água é removida.

Os solventes usados para a produção dos bioativos são recuperados para serem reutilizados no processo. Uma vez que não é possível quantificar as perdas de solvente ao longo deste, devido à sua evaporação no decorrer da atividade, assim como a incorporação de parte no extrato final, considerou-se uma recuperação de 80 % (ou perda de 20 %), com exceção do

Dimetilsulfóxido (DMSO) em que foi considerada uma recuperação total. A mesma percentagem de reutilização e reciclagem foi considerada anteriormente, para solventes orgânicos, no estudo realizado por Kyriakopoulou et al. (2015) relativamente à ACV de várias técnicas de extração de betacaroteno a partir da microalga *D. Salina* e da cenoura. As perdas dos solventes ao longo da extração foram igualmente divididas pelos processos onde poderia haver evaporação destes. O DMSO é recuperado no final através da lavagem com acetato de etilo. Este processo é considerado no estudo, embora seja um processo auxiliar ao processo de produção do extrato enriquecido em vitamina D2.

De maneira a associar o impacte ambiental do transporte do biorresíduo do cogumelo desde a indústria produtora de cogumelos até ao IPB, foram analisados os possíveis trajetos, tendo sido usada uma média aritmética dos quilómetros de três possíveis percursos.

No que diz respeito aos equipamentos utilizados nos processos, estes operam, na sua maioria, com uso de eletricidade. A exceção é o processo de filtração, que é um processo realizado através da ação da gravidade. Assumiu-se então, para o cenário base, que os impactes da geração da eletricidade eram do *mix* elétrico português que se encontra definido na base de dados da versão do SimaPro utilizada (EcolInvent 3.3). O consumo de energia é definido pelas características técnicas do equipamento e de acordo com os dados primários dos parceiros exceto para o armazenamento do material liofilizado, que se assume ter um consumo energético nulo. Os resíduos dos cogumelos gerados no processo de trituração foram desconsiderados do âmbito do estudo, uma vez que são residuais. De igual modo, considerou-se que a transferência de extratos entre as várias unidades intervenientes no processo tem um consumo energético e impacte ambiental nulo, visto ser realizado de forma manual e as quantidades envolvidas serem muito pequenas.

As tabelas do inventário de ciclo de vida referentes a cada um dos processos estão disponíveis em apêndice, quer para o extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol (Apêndice A.4), quer para o extrato enriquecido em vitamina D2 (Apêndice A.5).

### 3.4 Avaliação do Impacte Ambiental

A quantificação de indicadores de impacte ambiental envolve a seleção de um conjunto de categorias de impacte que permita quantificar os mais relevantes, de modo a caracterizar o desempenho ambiental do produto. É necessário considerar vários fatores, nomeadamente o facto das categorias de impacte ambiental serem consensuais e usadas normalmente, se existem metodologias rigorosas para a determinação dos valores dos indicadores ambientais associados e se é possível comparar os resultados com outros estudos existentes na literatura.

Através da análise do inventário, é possível indicar quais as categorias de impactes ambientais mais adequadas. No sistema em estudo, os equipamentos utilizados consomem

energia, pelo que é esperado que os impactos mais significativos estejam associados à geração de eletricidade. Em particular, o processo de geração de eletricidade está interligado com a combustão de combustíveis fósseis, entre os quais gás natural. Posto isto, vai haver consumo de recursos não renováveis, logo a categoria de impacto de depleção de recursos fósseis deve ser considerada. Para além disto, deve-se ter em consideração uma categoria de impacto ambiental relacionada com as alterações climáticas, uma vez que é diretamente associada às emissões de dióxido de carbono. A combustão de combustíveis fósseis é responsável pela geração de óxidos de azoto ( $\text{NO}_x$ ) que, para além de contribuírem para as alterações climáticas, contribuem para acidificação das águas da chuva e dos corpos. São também precursores do *smog* fotoquímico, dando o seu contributo para a eutrofização dos corpos e da água e para um impacto negativo na camada de ozono. Por este motivo, categorias de impacto ambiental relacionadas com a acidificação, eutrofização, *smog* fotoquímico e depleção da camada de ozono devem ser abordadas. Por outro lado, também as emissões dos óxidos de enxofre ( $\text{SO}_x$ ), pois o enxofre está presente nos combustíveis, contribuem para a acidificação e para a geração do *smog* fotoquímico. Adicionalmente, os processos de combustão são produtores de partículas finas, que combinadas com alguns compostos geram impactos negativos, quer na saúde humana, quer nos ecossistemas.

O conjunto de categorias de impacto ambiental referidas no parágrafo anterior corresponde ao utilizado, geralmente, na maioria dos estudos de ciclo de vida e são calculadas pela maior parte das metodologias de avaliação de impacto ambiental disponíveis. Como ainda não existem modelos consensuais para a avaliação de algumas categorias de impacto ambiental, deve ser escolhida a metodologia mais recente que tenha em consideração os desenvolvimentos mais atualizados na quantificação dos diversos impactos ambientais.

Neste estudo, os cálculos foram efetuados pelo *software* de avaliação de ciclo de vida SimaPro, versão 8.5.2.0. Foi escolhido o método ReCiPe, na perspetiva hierarquista (H) em que os valores dos indicadores são calculados de forma conservadora. Esta metodologia define um conjunto de 18 categorias de impacto ambiental, estando apresentadas na Tabela 2.

As categorias de impacto ambiental correspondem a *midpoints* que podem ser agregados em três *endpoints*. Estes últimos correspondem a áreas específicas de proteção final: danos para a saúde humana, danos para os ecossistemas e danos para a disponibilidade dos recursos. Por ser um processo subjetivo, uma vez que se baseia na definição de pesos relativos para cada *midpoint* (onde há perda de informação nesse processo), a apresentação e análise dos resultados foi apenas feita recorrendo ao uso dos *midpoints*.

De modo a complementar o processo de identificação das categorias de impacto ambiental com maior importância para o caso de estudo, começou-se por obter os resultados globais para todas as categorias de impacto ambiental do método utilizado, tendo em conta

todo o ciclo de vida dos dois produtos em estudo (cenário base - Cenário A). Posto isto, os resultados foram normalizados como definido na metodologia ReCiPe, usando a ponderação europeia. Estes resultados encontram-se apresentados na Figura 10 e Figura 11, para o extrato enriquecido em micosteróis e extrato enriquecido em vitamina D2, respetivamente.

*Tabela 2 - Categorias de impacto ambiental do método utilizado (ReCiPe) e as suas respetivas unidades de medida*

| <b>Categoria de Impacte</b>              | <b>Unidade</b>           | <b>Categoria de Impacte</b>               | <b>Unidade</b>          |
|------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------|-------------------------|
| Alterações Climáticas (CC)               | kg CO <sub>2</sub> eq    | Ecotoxicidade em Água Doce (EF)           | kg 1,4-DB eq            |
| Depleção da Camada de Ozono (OD)         | kg CFC <sup>-11</sup> eq | Ecotoxicidade Marinha (EM)                | kg 1,4-DB eq            |
| Acidificação Terrestre (TA)              | kg SO <sub>2</sub> eq    | Radiação de Ionização (IR)                | kBq U <sub>235</sub> eq |
| Eutrofização em Água Doce (FE)           | kg P eq                  | Utilização do Solo pela Agricultura (ALO) | m <sup>2</sup> a        |
| Eutrofização Marinha (ME)                | kg N eq                  | Utilização do Solo Urbano (ULO)           | m <sup>2</sup> a        |
| Toxicidade Humana (HT)                   | kg 1,4-DB eq             | Transformação Natural do Solo (NLT)       | m <sup>2</sup>          |
| Formação de Oxidantes Fotoquímicos (POF) | kg NMVOC                 | Depleção da Água (WD)                     | m <sup>3</sup>          |
| Formação de Material Particulado (PMF)   | kg PM <sub>10</sub> eq   | Depleção de Metais (MD)                   | kg Fe eq                |
| Ecotoxicidade Terrestre (TE)             | kg 1,4-DB eq             | Depleção de Recursos Fósseis (FD)         | kg oil eq               |

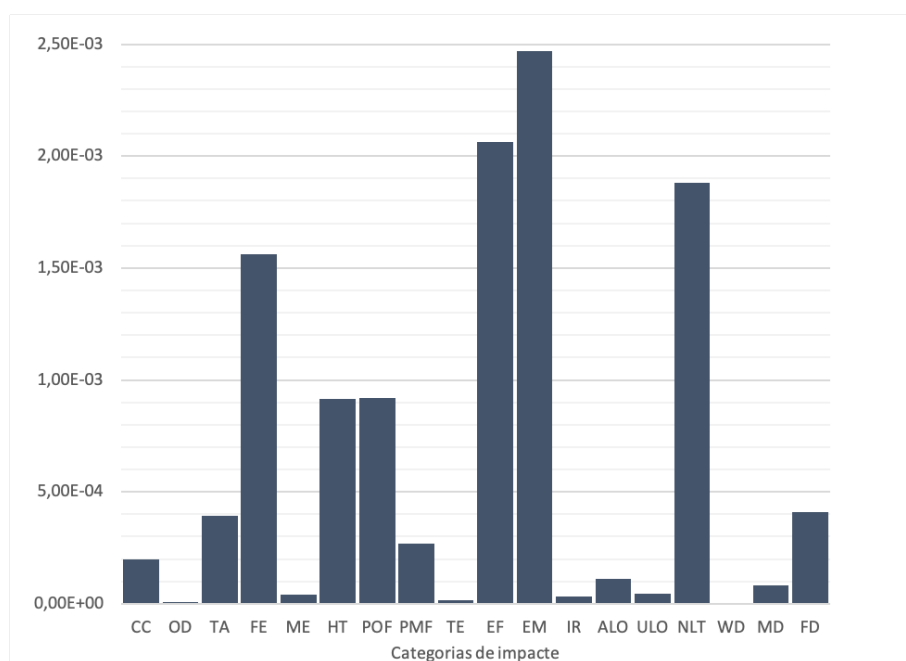


*Figura 10 - Resultados normalizados para o processo de extração do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol*

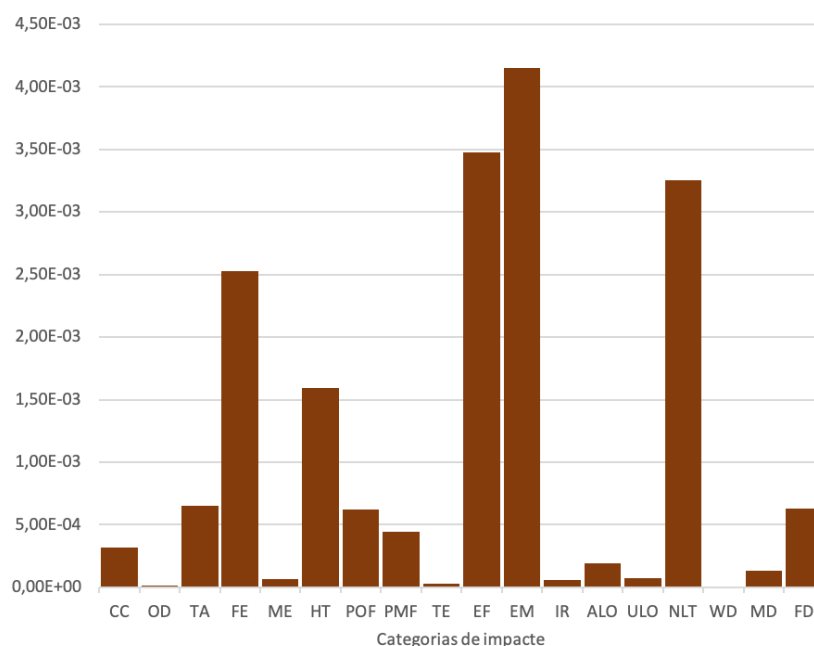


*Figura 11 - Resultados normalizados para o processo de extração do extrato enriquecido em Vitamina D2*

Em ambas as figuras, é possível observar que algumas das categorias de impacte ambiental apresentam pouca relevância para o desempenho ambiental do processo de extração dos produtos considerados. Em particular, 8 categorias foram excluídas do estudo, sendo elas: Depleção da Camada de Ozono (OD), Eutrofização Marinha (ME), Ecotoxicidade Terrestre (TE), Radiação de Ionização (IR), Utilização do solo pela Agricultura (ALO), Utilização do Solo Urbano (ULO), Depleção da Água (WD) e Depleção de Metais (MD).

Deste modo, foram analisadas 10 categorias de impacte ambiental no âmbito desta dissertação: Alterações Climáticas (CC), Acidificação Terrestre (TA), Eutrofização em Água Doce (FE), Toxicidade Humana (HT), Formação de Oxidantes Fotoquímicos (POF), Formação de Material Particulado (PMF), Ecotoxicidade (em água doce (EF) e marinha (EM)), Transformação natural do Solo (NLT) e Depleção de Recursos Fósseis (FD).

## 4 Resultados e Discussão

### 4.1 Extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol

Na Tabela 3 estão disponíveis os impactes ambientais globais obtidos para o processo de produção do extrato enriquecido em micosteróis relativos ao cenário base (Cenário A) e para a UF de 1 g de extrato de bioativo produzido. A contribuição de cada etapa para os impactes obtidos encontra-se apresentada na Figura 12.

Ao analisar os resultados obtidos para as várias etapas do processo de produção do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol, observa-se que os processos de liofilização e evaporação são processos com maior impacto ambiental em praticamente todas as categorias analisadas. A exceção é a categoria de formação de oxidantes fotoquímicos (POF).

Os impactes ambientais nessa categoria devem-se à utilização do etanol e à sua perda parcial, por exemplo por evaporação, durante os processos de extração, centrifugação e filtração, contribuindo também para que estes processos tenham um impacto significativo nesta categoria. A utilização de etanol (isto é, a sua produção) é também responsável pela maior contribuição de impacto ambiental na categoria de depleção de combustíveis fósseis (FD) no processo de EAU.

*Tabela 3 - Quantificação dos impactes ambientais globais para o processo de extração do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol (UF: 1 g de extrato de bioativo produzido)*

| Categoria de Impacte | Quantidade | Unidade      |
|----------------------|------------|--------------|
| CC                   | 2,211E+00  | kg CO2 eq    |
| TA                   | 1,350E-02  | kg SO2 eq    |
| FE                   | 6,488E-04  | kg P eq      |
| HT                   | 5,761E-01  | kg 1,4-DB eq |
| POF                  | 5,232E-02  | kg NMVOC     |
| PMF                  | 3,977E-03  | kg PM10 eq   |
| EF                   | 2,272E-02  | kg 1,4-DB eq |
| EM                   | 2,149E-02  | kg 1,4-DB eq |
| NLT                  | 3,040E-04  | m2           |
| FD                   | 6,393E-01  | kg oil eq    |

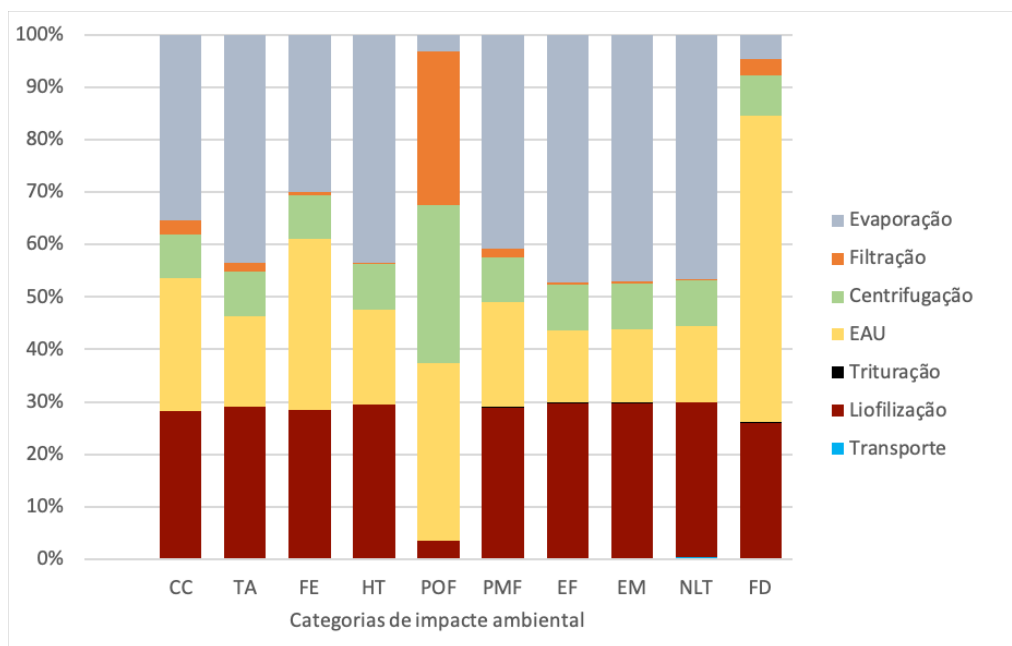


*Figura 12 - Representação gráfica da contribuição de cada etapa para cada categoria de impacte a analisar (extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol)*

O consumo de eletricidade é o fator preponderante em todas as outras categorias de impacte ambiental e está associada aos processos com maior consumo energético, em particular a liofilização e a evaporação. Estes processos contribuem, em média, para um impacte aproximado de 26,2 % e 34,2 %, respetivamente, nas categorias de impacte em análise. Deste modo, a utilização de um mix energético com menor impacte ambiental pode ser uma solução para melhorar o desempenho ambiental do processo de extração, aspeto esse analisado em detalhe mais à frente.

Por outro lado, as etapas de transporte e de trituração não possuem um peso significativo para esta análise, apresentando uma taxa de menos de 1,00 % para todas as categorias de impacte e ambos os processos.

## 4.2 Extrato enriquecido em Vitamina D2

À semelhança da subsecção anterior, a Tabela 4 representa os impactes globais obtidos para o processo de produção do extrato enriquecido em vitamina D2 e para a UF de 1 g de extrato de bioativo produzido, utilizando o Cenário A. Na Figura 13, apresentam-se os pesos relativos de cada processo unitário das categorias de impacte ambiental consideradas neste estudo. Os resultados obtidos para o processo de extração do extrato enriquecido em vitamina D2 possuem algumas diferenças quando comparados com os resultados obtidos no subcapítulo anterior.

Para a maioria das categorias de impacte (exceto a categoria de POF), o processo com maior contribuição para os impactes ambientais é a evaporação, com uma percentagem média

de 35,2 %. Existem outros processos com alguma relevância e percentagens idênticas, em particular a liofilização (16,7 %), a centrifugação (12,9 %) e a lavagem do DMSO (17,1 %). Para este processo, a centrifugação apresenta uma maior expressão, uma vez que não é realizada apenas uma vez como foi executado para o extrato enriquecido em micosteróis. Relativamente ao extrato enriquecido em vitamina D2, a centrifugação é efetuada após cada processo de extração.

*Tabela 4 - Quantificação dos impactes ambientais globais para o processo de extração do extrato enriquecido em Vitamina D2 (UF: 1 g de extrato de bioativo produzido)*

| Categoria de Impacte | Quantidade | Unidade      |
|----------------------|------------|--------------|
| CC                   | 3,607E+00  | kg CO2 eq    |
| TA                   | 2,251E-02  | kg SO2 eq    |
| FE                   | 1,049E-03  | kg P eq      |
| HT                   | 1,000E+00  | kg 1,4-DB eq |
| POF                  | 3,517E-02  | kg NMVOC     |
| PMF                  | 6,592E-03  | kg PM10 eq   |
| EF                   | 3,822E-02  | kg 1,4-DB eq |
| EM                   | 3,612E-02  | kg 1,4-DB eq |
| NLT                  | 5,252E-04  | m2           |
| FD                   | 9,819E-01  | kg oil eq    |

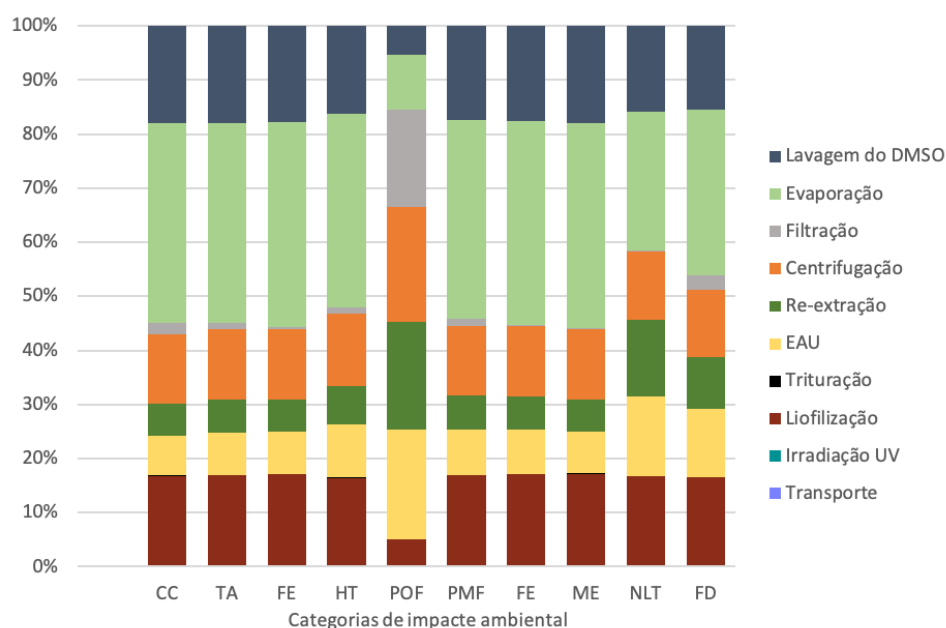


*Figura 13 - Representação gráfica da contribuição de cada etapa para cada categoria de impacto a analisar (extrato enriquecido em Vitamina D2)*

Como já referido, a categoria de formação de oxidantes fotoquímicos é a exceção. Os processos de extração assistida por ultrassons, re-extração, centrifugação e filtração apresentam um peso médio de 19,8 % para esta categoria de impacte. Tal como foi concluído na subsecção anterior, isto deve-se ao uso e às perdas dos solventes por evaporação nestes mesmos processos, neste caso o metanol e o hexano.

Como no processo de obtenção do extrato enriquecido em micosteróis, o consumo de eletricidade também é significativo. Os impactes menos significativos estão associados aos processos de transporte, irradiação UV e trituração (menor que 1,00 % para todas as categorias de impacte).

Por fim, comparando os impactes globais relativos aos dois extratos, conclui-se que os impactes ambientais associados ao extrato enriquecido em vitamina D2 são maiores do que os impactes calculados para o extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol. Isto deve-se ao facto de que no processo de produção do extrato enriquecido em vitamina D2 é necessário um maior consumo de eletricidade em relação ao extrato enriquecido em micosteróis, para a mesma UF. A exceção continua a ser a categoria de POF, onde aqui o maior impacte diz respeito ao extrato enriquecido em micosteróis. Isto pode ser justificado devido ao uso de uma maior quantidade de solvente durante o processo de extração. Isto é, para a mesma UF (1 g de extrato de bioativo produzido), a quantidade de solvente utilizado para extrair o extrato enriquecido em micosteróis é maior do que a quantidade de solventes utilizada no extrato enriquecido em vitamina D2.

### 4.3 Cenários de melhoria

Da análise de resultados anterior foi possível identificar alguns pontos críticos dos sistemas em estudo, com o objetivo de identificar possíveis alternativas de melhoria a estudar. Por um lado, o impacto associado à geração da energia elétrica usada nas unidades processuais influencia fortemente o impacto ambiental dos dois extratos. Por outro lado, os processos mais relevantes são a liofilização e a evaporação.

Assim, com o objetivo de melhorar o desempenho ambiental dos dois extratos, procedeu-se à definição e estudo de vários cenários. Em particular, foram identificados dois cenários, B e C, onde a eletricidade a consumir é proveniente de outras fontes, nomeadamente renovável ou com diferentes *mix* energéticos. Por outro lado, visto que a liofilização é um dos processos mais significativos, em termos de impacto ambiental, foram analisados dois cenários, D e E de acordo com a pesquisa efetuada na literatura. Para cada cenário, os dados adicionais de inventário foram obtidos através da análise da bibliografia disponível, ou seja, o seu desempenho real poderá não corresponder ao previsto. Cada um dos cenários é descrito com mais detalhe abaixo.

Para o processo de evaporação não se considerou um processo alternativo, uma vez que o utilizado atualmente permite a recuperação dos solventes empregues na extração, que também possuem um grande impacto ambiental (visível na categoria de formação de oxidantes fotoquímico), o que por si só é já uma melhoria do processo. De notar que os impactos relativos às etapas de transporte e filtração mantiveram-se constantes, uma vez que não dependem do *mix* energético a utilizar. Portanto, para a análise dos próximos cenários foram excluídos dos resultados.

#### Cenário B

Na construção deste cenário, atualizou-se o *mix* energético já existente no *software* utilizado para os valores médios de produção de energia para os anos de 2018 e 2019 em Portugal, mantendo-se as mesmas proporções dentro de cada tipo de fonte de energia. Os dados foram obtidos a partir do relatório de dados técnicos de 2019 da Redes Energéticas Nacionais (REN). A tabela de inventário para este cenário encontra-se no apêndice A.6.

#### Cenário C

No que diz respeito ao Cenário C, este foi construído de modo a que toda a eletricidade utilizada pelos vários equipamentos fosse proveniente da energia produzida por painéis fotovoltaicos. Desconsiderou-se, portanto, a utilização da eletricidade da rede de distribuição, assim como eventuais perdas de distribuição da rede elétrica (que caracterizam os Cenários A e B). Os dados de inventário foram obtidos da base de dados Ecolnvent (V.3.3).

## Cenários D e E

Segundo Prosapio et al. (2017), o consumo energético associado ao processo de liofilização pode ser reduzido submetendo o material a secar a um pré-processamento, de modo a reduzir o tempo de secagem. Um dos processos, que se tem tornado conhecido, é a desidratação osmótica que consiste na imersão da amostra numa solução aquecida e em meio hipertónico. Nestas condições, a água desloca-se do interior do material para o exterior, resultando numa amostra com menor quantidade de água para processar na etapa seguinte. Para além da sua simplicidade, este processo apresenta um custo reduzido.

O processo de desidratação osmótica é utilizado para remover parte da água presente em vegetais e frutos. É empregue como pré-tratamento da secagem por ar quente em cogumelos e apresenta a vantagem de melhorar vários aspetos, nomeadamente aspetos nutricionais, sensoriais e funcionais sem alterar a textura, cor ou sabor dos alimentos (Gupta e Chauhan, 2015).

Tendo em conta a percentagem de água perdida nos cogumelos, o estudo feito por Gupta e Chauhan (2015) permite definir como parâmetros ótimos de operação os valores apresentados na Tabela 5. Segundo a mesma fonte, estas condições permitiram uma perda de água de 61,90 %.

Relativamente ao consumo de eletricidade, foram usados dados baseados na análise do inventário do estudo de ACV de Prosapio et al. (2017), em que foi estudada a desidratação de morangos com recurso à liofilização com um pré-tratamento osmótico. Os dados deste estudo mostram que a eletricidade consumida pelo processo de tratamento osmótico representa 8,14 % do consumo elétrico do processo inicial de liofilização, enquanto que o processo de desidratação osmótica como pré-tratamento da liofilização permite uma diminuição do consumo energético da liofilização próximo dos 80,0 % e uma perda de água de aproximadamente 67,6 %. Como utilizando o mesmo processo Gupta e Chauhan (2015) e Prosapio et al. (2017) obtiveram percentagens de perda de água similares (apenas 5,1 %), adotou-se a mesma proporção de redução de energia apresentada por Prosapio et al. (2017) para dois cenários com pré-tratamento osmótico (Cenário D e E).

*Tabela 5 - Condições consideradas no processo de tratamento osmótico*

| Parâmetro                              | Quantidade |
|----------------------------------------|------------|
| Tempo [min]                            | 30         |
| Temperatura [°C]                       | 60         |
| Rácio amostra/solução                  | 1:25       |
| Concentração de sal (cloreto de sódio) | 30%        |

No Cenário D utilizou-se o pré-tratamento osmótico com o *mix* energético empregue no cenário base (Cenário A), que corresponde ao *mix* energético existente no SimaPro, enquanto que no Cenário E a energia elétrica é proveniente de painéis fotovoltaicos (Cenário C). As tabelas do inventário para os dois cenários, quer para o extrato enriquecido em micosteróis e para o extrato enriquecido em vitamina D2 estão disponíveis no apêndice A.7 e A.8, respetivamente.

Na Tabela 6 apresentam-se os supostos admitidos em cada cenário analisado, de maneira a auxiliar a interpretação dos mesmos.

*Tabela 6 - Tabela resumo dos cenários analisados*

| Cenário | Mix energético                                                          | Pré-tratamento osmótico |
|---------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| A       | Existente no SimaPro                                                    | Não                     |
| B       | Dados médios relativos à produção de energia nos anos de 2018 e de 2019 | Não                     |
| C       | Utilização de energia proveniente apenas de painéis fotovoltaicos       | Não                     |
| D       | Existente no SimaPro                                                    | Sim                     |
| E       | Utilização de energia proveniente apenas de painéis fotovoltaicos       | Sim                     |

#### **4.3.1 Análise dos resultados dos cenários de melhoria – Extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol**

Na Figura 14 são comparados os valores dos impactes ambientais por categoria considerando todo o ciclo de vida para todos os cenários para o processo de obtenção do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol. De modo a permitir visualizar todas as categorias de impacto, que numericamente são muito diferentes, e melhor evidenciar as variações em relação ao Cenário A, os resultados foram normalizados em relação aos resultados do cenário base. Deste modo, os resultados para o Cenário A correspondem sempre a 100%, e o impacto positivo e negativo de cada cenário pode ser aferido diretamente.

De uma forma geral, a mudança de *mix* energético ou fonte de energia tem um impacto significativo nas categorias de impacto ambiental CC, TA, PMFF, NLT, FE, NLT e FD, sendo a melhoria do desempenho ambiental similar independentemente da inclusão ou não do pré-tratamento osmótico antes da liofilização. Contudo, a implementação do pré-tratamento osmótico apresenta ser uma medida de mitigação dos impactes ambientais mais significativa quando empregue no Cenário D.

A redução de impacto ambiental é genericamente maior quando se usa uma percentagem de 100% de energia renovável de origem fotovoltaica, uma vez que o *mix* elétrico

Português ainda inclui uma percentagem significativa de eletricidade obtida a partir de fontes fósseis, em particular gás natural. Para as categorias EF e EM observa-se um aumento do impacto ambiental, em particular para os cenários C e E em que se usa eletricidade solar, resultado possivelmente da produção dos painéis fotovoltaicos. Em relação ao pré-tratamento osmótico (Cenário D), apresenta sempre uma diminuição de impacto ambiental, quando comparado com o cenário base, mas menor que a mudança da fonte de energia ou do *mix* energético (Cenário E), mostrando que neste processo de extração o consumo de energia é realmente o fator dominante. Adicionalmente, demonstra que quando os impactos associados ao consumo de energia são reduzidos, os impactos de outros processos tornam-se mais relevantes. Em particular, no Cenário D as melhorias do desempenho ambiental não são tão significativas, uma vez que se verifica uma emancipação dos impactos associados ao uso (e produção) do cloreto de sódio e do tratamento de águas residuais que resultam deste processo.

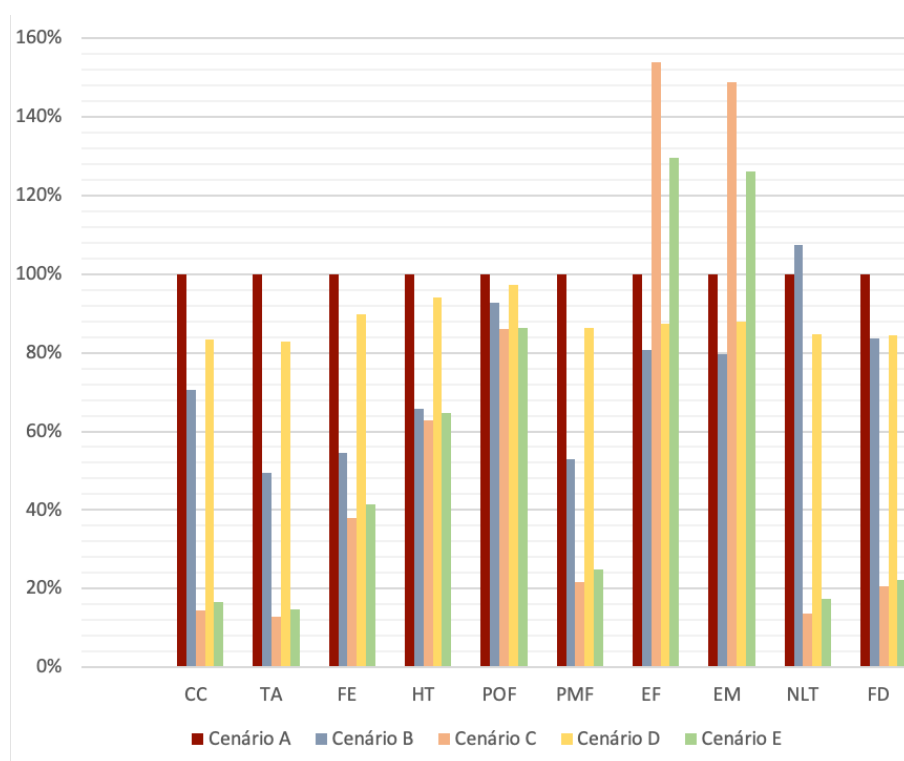


*Figura 14 - Valores dos impactos para cada categoria e para os vários cenários normalizados pelo Cenário A - Base (extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol)*

No Apêndice B.3 encontram-se os gráficos dos resultados obtidos para quatro cenários, em que evidenciam quais são os efeitos das mudanças propostas para cada etapa/processo do sistema. Essas figuras complementam os resultados apresentados na Figura 14 e permitem a análise mais detalhada dos resultados.

Observaram-se alguns impactos negativos em algumas categorias de impacto, nomeadamente no processo de evaporação, que se deve ao facto de que nesta etapa existir a

recuperação do solvente utilizado (etanol), o que corresponde a uma contribuição positiva para o meio ambiente.

Comparando o cenário base (Cenário A) com o Cenário B (onde se utilizou um *mix* da produção média de energia para os anos de 2018 e 2019), observa-se uma redução do impacto em todas as categorias, exceto para a categoria de transformação natural do solo que registou um aumento médio de 7,03 %. Isto pode ser explicado pelo aumento do uso de energias renováveis, como, por exemplo, a energia eólica onde é necessária uma maior área para a sua implementação. Nas restantes categorias de impacto ambiental, a redução está compreendida entre aproximadamente 30,0 % para os processos de liofilização, trituração e centrifugação; 67,9 % para o processo de evaporação e 10,3 % para a EAU.

Ao comparar o Cenário A com o Cenário C (onde é considerado o uso de energia fotovoltaica na totalidade), as categorias de impacto de ecotoxicidade em água doce e marinha aumentam em 50,5 % e 45,8 %, respetivamente. Por outro lado, todas as outras categorias de impacto apresentam uma enorme diminuição comparativamente ao Cenário A, como, por exemplo, a redução média de 78,0 % do impacto ambiental da liofilização e uma redução de mais de 100 % para o processo de evaporação explicado, anteriormente, pela recuperação de solventes.

Relativamente aos cenários que incluem o tratamento osmótico, o Cenário D, em que a etapa de pré-tratamento osmótico é seguida pela liofilização quando comparado com o cenário base (onde é considerado apenas o processo de liofilização), apresenta uma redução média para todas as categorias de impacto ambiental de 46,3 % para a etapa de pré-tratamento osmótico seguida de liofilização. Para a mesma fase do processo, ao analisarmos o Cenário E, este apresenta uma redução de impacto média de 60,6 %. Todas as outras etapas mantiveram a mesma tendência do Cenário C. A implementação do pré-tratamento osmótico permitiu uma redução do consumo de eletricidade de 24,8 % na totalidade do processo de produção do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol.

Por fim, é de notar que, tanto o Cenário C, como o Cenário E, apresentam resultados idênticos, correspondendo aos cenários com menor impacto ambiental. Para a maioria das categorias de impacto, o Cenário C apresenta impactos globais ligeiramente inferiores ao Cenário E. As exceções são as categorias de EF e EM, onde o Cenário E não apresenta um crescimento (em relação ao Cenário A) para o processo de pré-tratamento osmótico seguido de liofilização, que se faz notar num menor impacto nestas categorias. Posto isto, ambos os cenários devem ser considerados e estudados de modo a garantir uma seleção do que permite a obtenção do bioativo de melhor qualidade. Estes cenários implicam uma implementação de painéis fotovoltaicos no telhado do edifício que permita cobrir o consumo energético para o

processo analisado, ou seja, que possibilite uma produção de energia igual à necessária por todos os processos unitários adotados.

#### 4.3.2 Análise dos resultados dos cenários de melhoria – Extrato enriquecido em Vitamina D2

Na Figura 15 são comparados os valores dos impactos ambientais por categoria considerando todo o ciclo de vida para todos os cenários no processo de obtenção do extrato enriquecido em vitamina D2, tendo-se usado a mesma forma de apresentação usada na Figura 14. Observa-se um comportamento similar ao observado na subsecção anterior entre os vários cenários, sendo as maiores variações dos impactos resultantes da mudança do *mix* energético ou da fonte de eletricidade usada no processo. Visto que ambos os processos são similares, este resultado era esperado, apenas mudando as variações relativas dos valores dos impactos ambientais.

No Apêndice B.4. encontram-se os gráficos dos resultados obtidos para os quatro cenários. Aqui, são evidenciados quais os efeitos das mudanças propostas para cada etapa do sistema. Também neste caso, essas figuras complementam os resultados apresentados na Figura 15 e permitem uma análise com mais detalhe dos resultados.

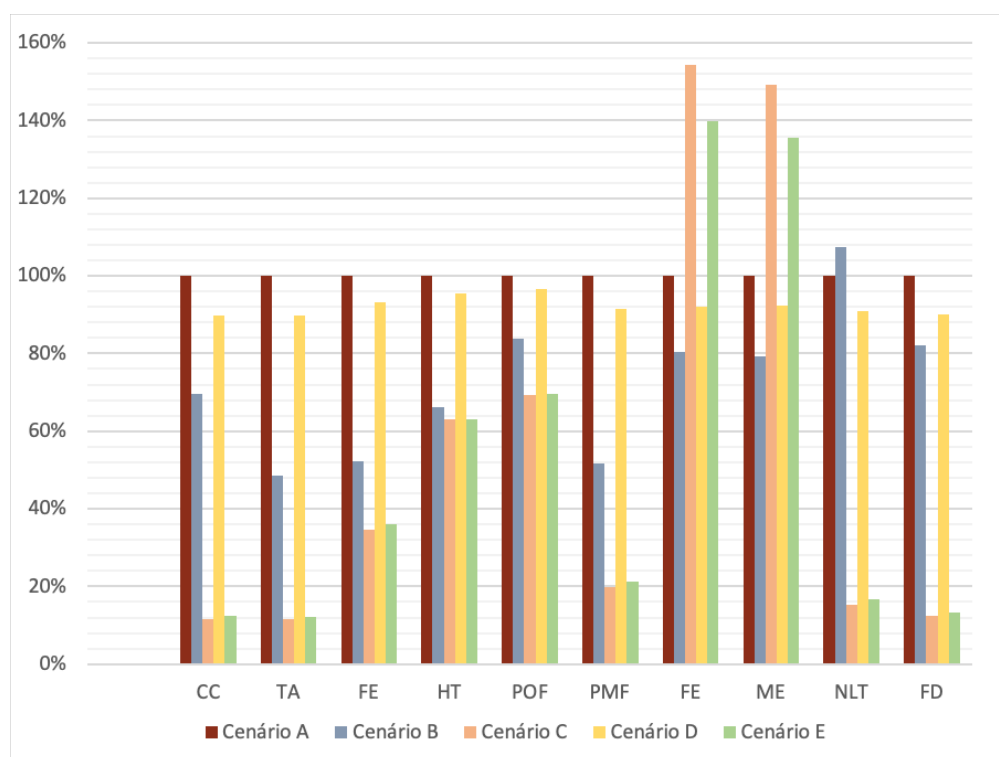


*Figura 15 - Valores dos impactos para cada categoria e para os vários cenários normalizados pelo Cenário A - Base (extrato enriquecido em vitamina D2)*

Como no processo de obtenção do extrato enriquecido em micosteróis, também neste caso, os impactos negativos apresentados nos processos de evaporação e lavagem do DMSO se devem à recuperação dos solventes (hexano, metanol e DMSO).

Ao comparar o Cenário A com o cenário B, constata-se uma diminuição em todas as categorias de impacto ambiental, com a exceção da categoria de transformação natural do solo. Esta apresenta um aumento médio de 7,04 % para todos os processos em análise. A razão pela qual isto acontece é igual à apresentada na subsecção anterior.

Comparando o Cenário C com o cenário base (Cenário A), observa-se a mesma tendência obtida para o extrato enriquecido em micosteróis: a diminuição da contribuição do impacto ambiental é acentuada para a maioria das categorias de impacto ambiental (representado um peso médio de cerca de 78,0 % para os processos de irradiação UV, liofilização e trituração e de 90,0 % para os processos de evaporação e lavagem do DMSO). As exceções são as categorias de impacto ambiental de ecotoxicidade em água doce e marinha (EF e EM), que apresentam um aumento médio em todas as etapas da extração de 52,3 % e 47,6 %, respetivamente.

Comparando os Cenários D e E, onde se inclui o processo de desidratação osmótica como pré-tratamento da liofilização, com o Cenário A, verifica-se que a adição deste processo representa uma redução média dos impactos ambientais de 49,9 % e 64,2 % para os Cenários D e E, respetivamente. É de referir que a implementação do pré-tratamento osmótico permite uma redução do consumo de eletricidade em cerca de 12,4 % em relação à totalidade da energia elétrica consumida na produção do extrato enriquecido em vitamina D2 no cenário base A.

Em jeito de conclusão, é de notar que os melhores cenários a adotar seriam os mesmos que no extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol. Também aqui, para escolha de um deles, é necessário averiguar sobre qual dos dois permite uma qualidade adequada do produto final, de modo a obter-se um ingrediente que possa ser usado e que seja competitivo no mercado.



## 5 Conclusões

A indústria alimentar contribui significativamente para a geração de resíduos e consome uma grande quantidade de recursos em todo o mundo. De modo a mitigar estes problemas, a valorização dos resíduos agrícolas para produção de produtos de elevado valor acrescentado é uma das formas mais interessantes, contribuindo para aumentar a sua circularidade.

Nesta dissertação, utilizando a metodologia de ACV, foram analisados os processos de produção de dois bioativos a partir de biorresíduos do cultivo e processamento de cogumelos. Deste modo, avaliou-se o impacto ambiental dos processos de produção do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol e de um extrato enriquecido em vitamina D2.

Em ambos os extratos verificou-se que a maioria dos impactos ambientais obtidos estão relacionados com o consumo energético dos equipamentos utilizados nas várias etapas do processo de produção. A exceção observada foi na categoria de POF, que expressa os impactos relativos ao uso e perda de parte dos solventes utilizados no processo de EAU. Para a mesma UF, o extrato enriquecido em vitamina D2 apresenta um impacto ambiental global maior comparativamente ao extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol, para a generalidade das categorias de impacto analisadas. Porém, na categoria de impacto de POF, o impacto global associado ao extrato enriquecido em micosteróis é maior, uma vez que utiliza uma maior quantidade solvente por UF.

Posto isto, foram apresentados cenários de melhoria do procedimento adotado. Entre estes, destacam-se dois cenários (Cenário C e Cenário E) com resultados similares e com os menores impactos ambientais globais observados. Apesar da desidratação osmótica diminuir o tempo de liofilização e, conseqüentemente, os seus impactos, este processo também contribui para o crescimento dos impactos ambientais noutras categorias de impacto, resultantes do consumo do cloreto de sódio e do tratamento da água residual obtida no final do processo. Ambos os cenários podem ser considerados, estando a escolha, de um em relação ao outro, dependente da qualidade do produto final que é possível obter com ou sem tratamento de desidratação osmótica, tendo em conta a sua utilização.

Em desenvolvimentos futuros, o melhoramento dos processos de extração deve ser continuamente estudado, visto serem processos significativos a nível industrial e que, cuja melhoria, pode contribuir para melhorar o desempenho ambiental e mesmo económico de processos industriais. Também devem ser analisados e testados (para uma escala industrial) processos de extração que permitam suportar as necessidades de produção de modo a fazer-se um *scale up* do processo estudado. Um exemplo é o processo de extração por fluido supercrítico que permite uma extração dos bioativos sem recurso à liofilização e à EAU, que pode resultar num processo com um desempenho ambiental melhor.

## 6 Referências Bibliográficas

- Amiri, M., Arabhosseini, A., Kianmehr, M., Mehrjerdi, M., e Mirsaeedghazi, H. 2017. 'Environmental impact assessment of total alkaloid extracted from the *Atropa belladonna* L. using LCA', *Geology, Ecology, and Landscapes*, 1: p. 1-7.
- Backes, E., Pereira, C., Barros, L., Prieto Lage, M., Genena, A., Barreiro, M., et al. 2018. 'Recovery of bioactive anthocyanin pigments from *Ficus carica* L. peel by heat, microwave, and ultrasound based extraction techniques', *Food Research International*, 113.
- Barley, J. 2020. 'Basic Principles of Freeze Drying', SP SCIENTIFIC, <https://www.spscientific.com/freeze-drying-lyophilization-basics/>. (Acedido em 11 de Fevereiro).
- Berk, Z. 2018. 'Chapter 21 - Evaporation.' in Zeki Berk (ed.), *Food Process Engineering and Technology (Third Edition)* (Academic Press). p. 481-511.
- Bigliardi, B., e Galanakis, C. 2020. '10 - Innovation management and sustainability in the food industry: concepts and models.' in Charis Galanakis (ed.), *The Interaction of Food Industry and Environment* (Academic Press). p. 315-340.
- CEN. 2006. "ISO 14040 Environmental management - Life cycle assessment - Requirements and guidelines."
- Corrêa, R. C. G., Barros, L., Fernandes, Â., Sokovic, M., Bracht, A., Peralta, R. M., et al. 2018. 'A natural food ingredient based on ergosterol: optimization of the extraction from *Agaricus blazei*, evaluation of bioactive properties and incorporation in yogurts', *Food & Function*, 9: p. 1465-1474.
- Corrêa, R. C. G., Peralta, R. M., Bracht, A., e Ferreira, I. C. F. R. 2017. 'The emerging use of mycosterols in food industry along with the current trend of extended use of bioactive phytosterols', *Trends in Food Science & Technology*, 67: p. 19-35.
- Del Borghi, A., Moreschi, L., e Gallo, M. 2020. '3 - Life cycle assessment in the food industry.' in Charis Galanakis (ed.), *The Interaction of Food Industry and Environment* (Academic Press). p. 63-118.
- Fernandes, Â., e Heleno, S. 2019. "Entregável nº 5.2.1: Folheto descritivo das condições que garantem a maior estabilidade dos ingredientes bioativos." In *ValorNatural - Valorização de Recursos Naturais através da Extração de Ingredientes de Elevado Valor Acrescentado para Aplicações na Indústria Alimentar*, pp. 7. IPB-CIMO.
- Ferrão, P. M. C., Pinheiro, L., Ribeiro, P. J. T., Niza, S. P. d. O., Santos, C. P. P. F. R., Vilão, R., et al. 2011. "Plano Nacional de Gestão de Resíduos 2011-2020 " In, pp. 128. Lisboa: APA.
- freepikcompany. 2020. 'Agaricus Bisporus Vectors, Photos & PSD', freepikcompany, <https://www.freepik.com/free-photos-vectors/agaricus-bisporus>. (Acedido em 1 de Junho).
- Galanakis, C. 2020. '11 - Food waste valorization opportunities for different food industries.' in Charis Galanakis (ed.), *The Interaction of Food Industry and Environment* (Academic Press). p. 341-422.
- Gupta, P., e Chauhan, H. 2015. 'Osmotic Dehydration of Button Mushrooms', *International Journal of Food Fermentation Technology*, 5: p. 177-182.

- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., Otterdijk, R. v., e Meybeck, A. 2011. "Global food losses and food waste - Extent, causes and prevention." In, pp. 29. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Hirsch, A. L. 2011. 'Chapter 6 - Industrial Aspects of Vitamin D.' in David Feldman, J. Wesley Pikee John S. Adams (eds.), *Vitamin D (Third Edition)* (Academic Press: San Diego). p. 73-93.
- IPQ. 2008. "NP EN ISO 14040:2008, Gestão ambiental Avaliação do Ciclo de Vida Princípios e Enquadramento."
- IPQ. 2010. "NP EN ISO 14044:2010, Gestão ambiental Avaliação do Ciclo de Vida Requisitos e linhas de orientação."
- ISQ. 2020. 'QUEM SOMOS', <https://www.isq.pt/quem-somos/>. (Acedido em 2 de Junho).
- Jäpelt, R., e Jakobsen, J. 2013. 'Vitamin D in plants: a review of occurrence, analysis, and biosynthesis', *Frontiers in Plant Science*, 4.
- Koyyalamudi, S., Jeong, S. C., Song, C.-H., Cho, K., e Pang, G. 2009. 'Koyyalamudi SR, Jeong SC, Song CH, Cho KY, Pang G. Vitamin D2 formation and bioavailability from *Agaricus bisporus* button mushrooms treated with ultraviolet irradiation. J Agric Food Chem 57, 3351-3355', *Journal of agricultural and food chemistry*, 57: p. 3351-3355.
- Kyriakopoulou, K., Papadaki, S., e Krokida, M. 2015. 'Life cycle analysis of B-carotene extraction techniques', *Journal of Food Engineering*, 167: p. 51-58.
- Lagunas-Solar, M. C. 2014. 'Food Technologies: Pulsed Ultraviolet Radiation Processing.' in Yasmine Motarjemi (ed.), *Encyclopedia of Food Safety* (Academic Press: Waltham). p. 225-238.
- López, C. J., Caleja, C., Prieto, M. A., Barreiro, M. F., Barros, L., e Ferreira, I. C. F. R. 2018. 'Optimization and comparison of heat and ultrasound assisted extraction techniques to obtain anthocyanin compounds from *Arbutus unedo* L. Fruits', *Food Chemistry*, 264: p. 81-91.
- Macías-Sánchez, M. D., Mantell, C., Rodríguez, M., Martínez de la Ossa, E., Lubián, L. M., e Montero, O. 2009. 'Comparison of supercritical fluid and ultrasound-assisted extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Dunaliella salina*', *Talanta*, 77: p. 948-952.
- Mandal, S. C., Mandal, V., e Das, A. K. 2015. 'Chapter 6 - Classification of Extraction Methods.' in Subhash C. Mandal, Vivekananda Mandale Anup Kumar Das (eds.), *Essentials of Botanical Extraction* (Academic Press: Boston). p. 83-136.
- MAOT. 2011. "Decreto-Lei nº 73/2011." In, pp. 3251 - 3300.
- Navarro-Triviño, F. J., Arias-Santiago, S., e Gilaberte-Calzada, Y. 2019. 'Vitamin D and the Skin: A Review for Dermatologists', *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)*, 110: p. 262-272.
- NCBI. 2020, 2004. 'Ergosterol, CID=444679', PubChem Database, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ergosterol>. (Acedido em 2 de março).
- NCBI. 2020, 2005. 'Ergocalciferol, CID= 5280793', PubChem Database, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280793>. (Acedido em 2 de março).
- Papadaki, S., Kyriakopoulou, K., e Krokida, M. 2016. 'Life Cycle Analysis of Microalgae Extraction Techniques', *Chemical Engineering Transactions*, 52: p. 1039.
- Papoutsis, K., Grasso, S., Menon, A., Brunton, N. P., Lyng, J. G., Jacquier, J.-C., et al. 2020. 'Recovery of ergosterol and vitamin D2 from mushroom waste - Potential valorization by food and pharmaceutical industries', *Trends in Food Science & Technology*, 99: p. 351-366.
- PEC. 2008. "Diretiva 2008/98/CE." In, pp. 3-30.

- Pérez-López, P., González-García, S., Ulloa, R. G., Sineiro, J., Feijoo, G., e Moreira, M. T. 2014. 'Life cycle assessment of the production of bioactive compounds from *Tetraselmis suecica* at pilot scale', *Journal of Cleaner Production*, 64: p. 323-331.
- Pirrung, M. C. 2017. '12 - Evaporation.' in Michael C. Pirrung (ed.), *Handbook of Synthetic Organic Chemistry (Second Edition)* (Academic Press). p. 139-142.
- Prosapio, V., Norton, I., e De Marco, I. 2017. 'Optimization of freeze-drying using a Life Cycle Assessment approach: Strawberries' case study', *Journal of Cleaner Production*, 168: p. 1171-1179.
- Ramos, S., Etxebarria, S., Ciudad, M., Gutierrez, M., San Martin, D., Iñarra, B., et al. 2021. '1 - Cleaner production strategies for the food industry.' in Charis Galanakis (ed.), *The Interaction of Food Industry and Environment* (Academic Press). p. 1-34.
- Sahai, R. 2000. 'MEMBRANE SEPARATIONS | Filtration.' in Ian D. Wilson (ed.), *Encyclopedia of Separation Science* (Academic Press: Oxford). p. 1717-1724.
- Taofiq, O., Corrêa, R. C. G., Barros, L., Prieto, M. A., Bracht, A., Peralta, R. M., et al. 2019. 'A comparative study between conventional and non-conventional extraction techniques for the recovery of ergosterol from *Agaricus blazei* Murrill', *Food Research International*, 125: p. 108541.
- Taofiq, O., Fernandes, Â., Barros, L., Barreiro, M. F., e Ferreira, I. C. F. R. 2017. 'UV-irradiated mushrooms as a source of vitamin D2: A review', *Trends in Food Science & Technology*, 70: p. 82-94.
- Taulbee, D. N., e Mercedes Maroto-Valer, M. 2000. 'CENTRIFUGATION.' in Ian D. Wilson (ed.), *Encyclopedia of Separation Science* (Academic Press: Oxford). p. 17-40.
- Tavares, L. 2018. 'Champignon-de-paris | Vida em Destaque', fciências, <https://www.fciencias.com/2018/01/26/champignon-paris-vida-destaque/>. (Acedido em 30 de Março).
- TECPAN, IPB, e CIMO. 2020. 'Valor Natural', <http://valornatural.pt/valornatural2/en>. (Acedido em 30 de Março).
- Vauchel, P., Colli, C., Pradal, D., Philippot, M., Decossin, S., Dhulster, P., et al. 2018. 'Comparative LCA of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from chicory grounds under different operational conditions', *Journal of Cleaner Production*, 196: p. 1116-1123.

## Apêndice A - Tabelas auxiliares

### A.1 Equipamentos utilizados nos processos de extração dos bioativos

*Informação Confidencial a disponibilizar após  
autorização do consórcio do projeto “Valor Natural”*

### A.2 Condições operatórias dos processos na extração do extrato enriquecido em micosteróis (Ergosterol)

*Informação Confidencial a disponibilizar após  
autorização do consórcio do projeto “Valor Natural”*

### **A.3 Condições operatórias dos processos na extração do extrato enriquecido em Vitamina D2**

*Informação Confidencial a disponibilizar após  
autorização do consórcio do projeto “Valor Natural”*

### **A.4 Inventário do processo extrativo do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol**

*Informação Confidencial a disponibilizar após  
autorização do consórcio do projeto “Valor Natural”*

## A.5 Inventário do processo extrativo do extrato enriquecido em Vitamina D2

*Informação Confidencial a disponibilizar após  
autorização do consórcio do projeto “Valor Natural”*

## A.6 Inventário energético utilizado para o cenário B

| Produção em alta-tensão                         |                                           |                  |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------|
| Fonte                                           |                                           | Quantidade [kWh] |
| Eólica                                          | 1-3 MW ( <i>onshore</i> )                 | 2,403E-01        |
|                                                 | 1-3 MW ( <i>offshore</i> )                | 1,047E-04        |
|                                                 | <1MW ( <i>onshore</i> )                   | 9,043E-03        |
|                                                 | Total                                     | 2,495E-01        |
| Hídrica                                         | <i>Pumped</i>                             | 3,108E-02        |
|                                                 | <i>Reservoir</i>                          | 5,715E-02        |
|                                                 | <i>Run-of-river</i>                       | 1,111E-01        |
|                                                 | Total                                     | 1,993E-01        |
| Biomassa<br>(Co-geração)                        | <i>Gas engine</i>                         | 3,983E-03        |
|                                                 | <i>Combine Cycle, 400MW</i>               | 9,22E-03         |
|                                                 | <i>Convencional, 100MW</i>                | 7,871E-02        |
|                                                 | <i>oil</i>                                | 1,897E-02        |
|                                                 | <i>wood chips</i>                         | 4,763E-02        |
|                                                 | Total                                     | 1,585E-01        |
| Gás Natural                                     | <i>Convencional</i>                       | 6,901E-05        |
|                                                 | <i>Combined</i>                           | 3,008E-01        |
|                                                 | Total                                     | 3,009E-01        |
| Carvão                                          |                                           | 5,609E-02        |
| Importada (Espanha)                             |                                           | 3,569E-02        |
| Produção em média-tensão                        |                                           |                  |
| Fonte                                           |                                           | Quantidade [kWh] |
| Transformação de alta-tensão para média-tensão  |                                           | 1,000            |
| Produção em baixa-tensão                        |                                           |                  |
| Fonte                                           |                                           | Quantidade [kWh] |
| Transformação de média-tensão para baixa-tensão |                                           | 0,9800           |
| Solar                                           | 3kWp <i>slanted-roof, multi-Si panel</i>  | 5,363E-03        |
|                                                 | 3kWp <i>slanted-roof, single-Si panel</i> | 4,370E-03        |
|                                                 | 570kWp <i>open ground</i>                 | 1,027E-02        |
|                                                 | Total                                     | 2,000E-02        |

## **A.7 Inventário do processo extrativo do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente Ergosterol com pré-tratamento osmótico**

*Informação Confidencial a disponibilizar após  
autorização do consórcio do projeto “Valor Natural”*

## A.8 Inventário do processo extrativo do extrato enriquecido em Vitamina D2 com pré-tratamento osmótico

*Informação Confidencial a disponibilizar após  
autorização do consórcio do projeto “Valor Natural”*

## Apêndice B - Resultados obtidos

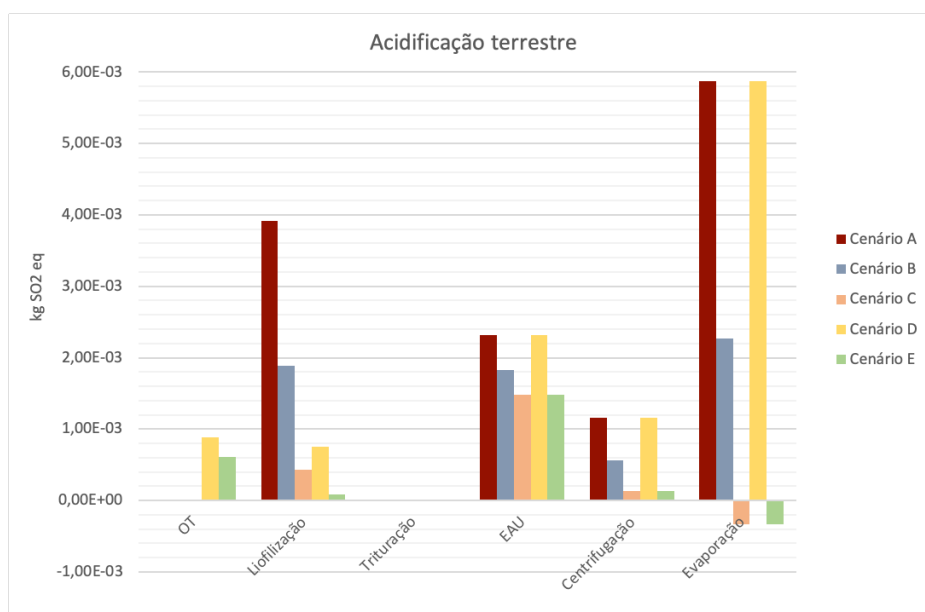
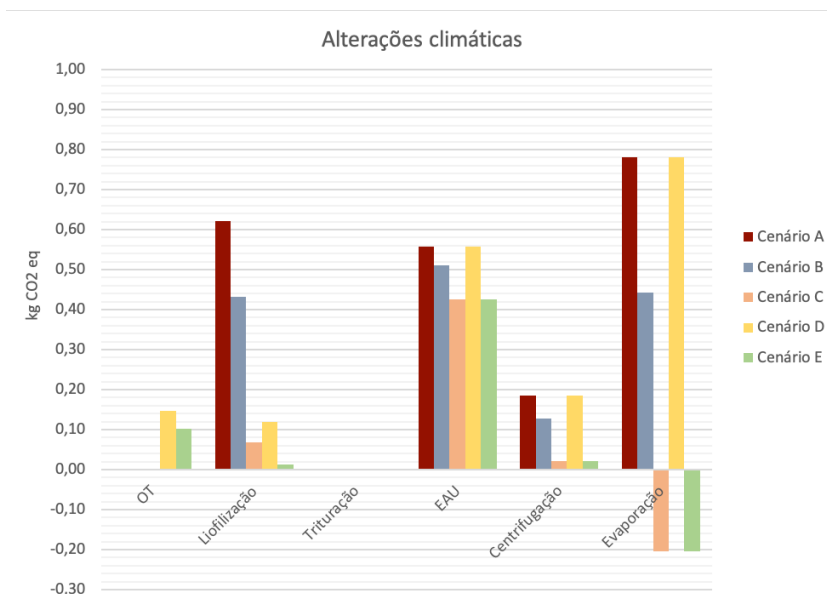
### B.1 Impactes ambientais obtidos para o processo de extração do extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol

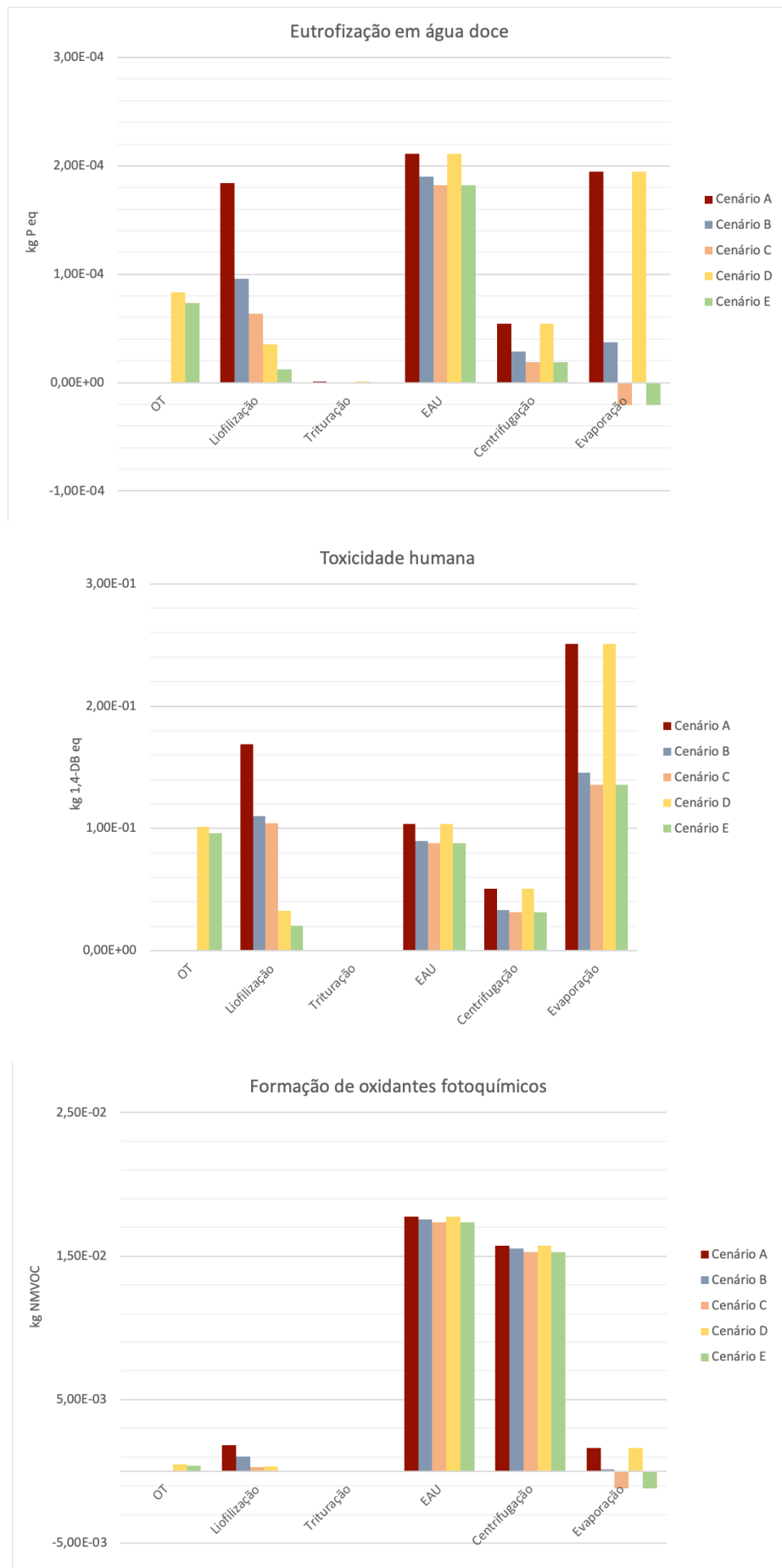
| Categoria | Unidade              | Transporte | Liofilização | Trituração | EAU       | Centrifugação | Filtração | Evaporação |
|-----------|----------------------|------------|--------------|------------|-----------|---------------|-----------|------------|
| CC        | kgCO <sub>2</sub> eq | 2,562E-03  | 6,210E-01    | 2,799E-03  | 5,570E-01 | 1,846E-01     | 6,216E-02 | 7,811E-01  |
| TA        | kgSO <sub>2</sub> eq | 9,092E-06  | 3,911E-03    | 1,763E-05  | 2,313E-03 | 1,163E-03     | 2,124E-04 | 5,874E-03  |
| FE        | kgP eq               | 2,667E-07  | 1,839E-04    | 8,291E-07  | 2,112E-04 | 5,469E-05     | 3,489E-06 | 1,944E-04  |
| HT        | kg1,4DB- eq          | 5,790E-04  | 1,688E-01    | 7,608E-04  | 1,036E-01 | 5,051E-02     | 1,103E-03 | 2,508E-01  |
| POF       | kgNMVOC              | 1,120E-05  | 1,845E-03    | 8,318E-06  | 1,774E-02 | 1,575E-02     | 1,536E-02 | 1,614E-03  |
| PMF       | kgPM10 eq            | 4,307E-06  | 1,144E-03    | 5,156E-06  | 7,948E-04 | 3,401E-04     | 6,514E-05 | 1,623E-03  |
| EF        | kg1,4-DB eq          | 4,819E-05  | 6,706E-03    | 3,023E-05  | 3,133E-03 | 1,994E-03     | 6,417E-05 | 1,074E-02  |
| EM        | kg1,4-DB eq          | 4,558E-05  | 6,341E-03    | 2,858E-05  | 3,015E-03 | 1,886E-03     | 5,573E-05 | 1,011E-02  |
| NLT       | m <sup>2</sup>       | 8,832E-07  | 8,973E-05    | 4,045E-07  | 4,423E-05 | 2,668E-05     | 2,165E-07 | 1,419E-04  |
| FD        | kgoil eq             | 8,340E-04  | 1,657E-01    | 7,469E-04  | 3,730E-01 | 4,926E-02     | 2,082E-02 | 2,894E-02  |

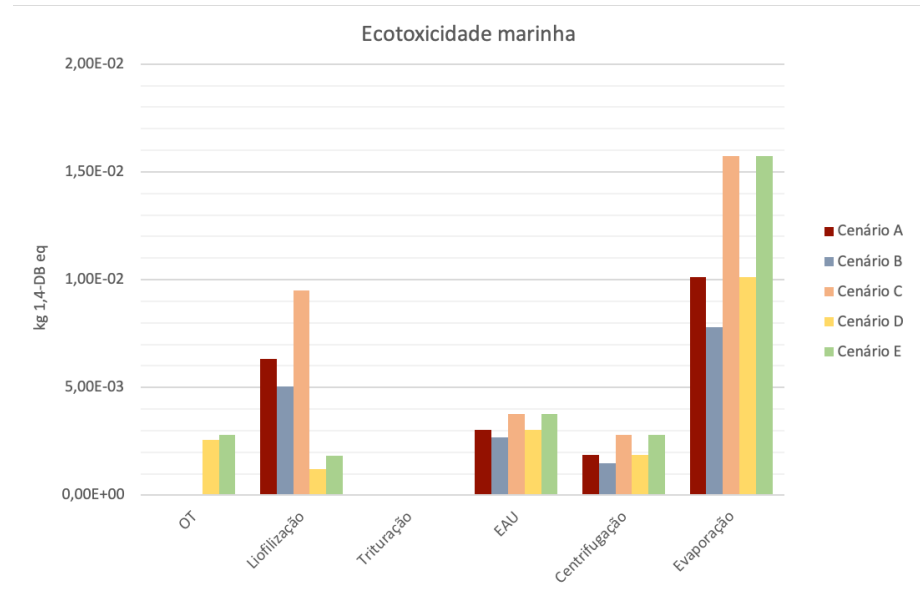
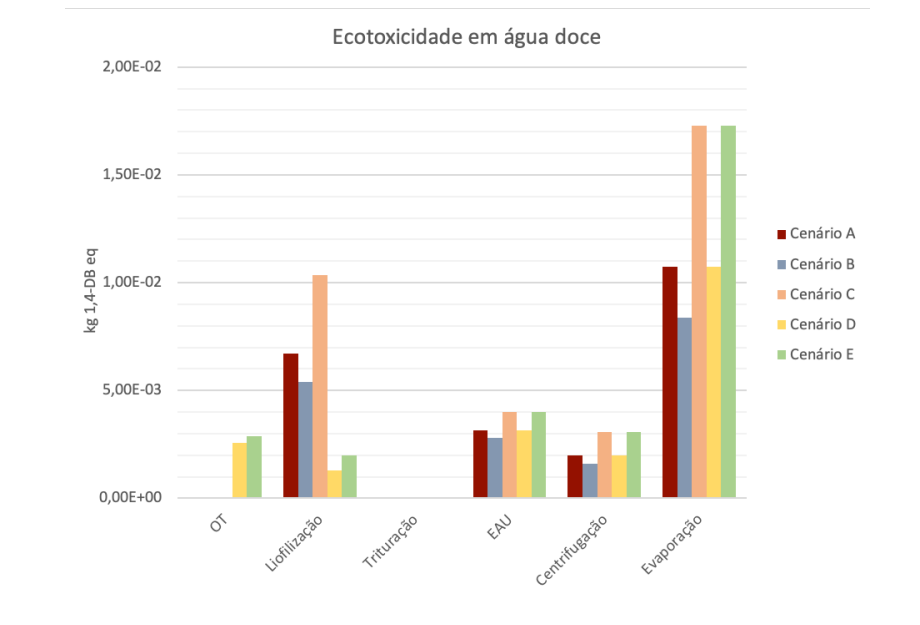
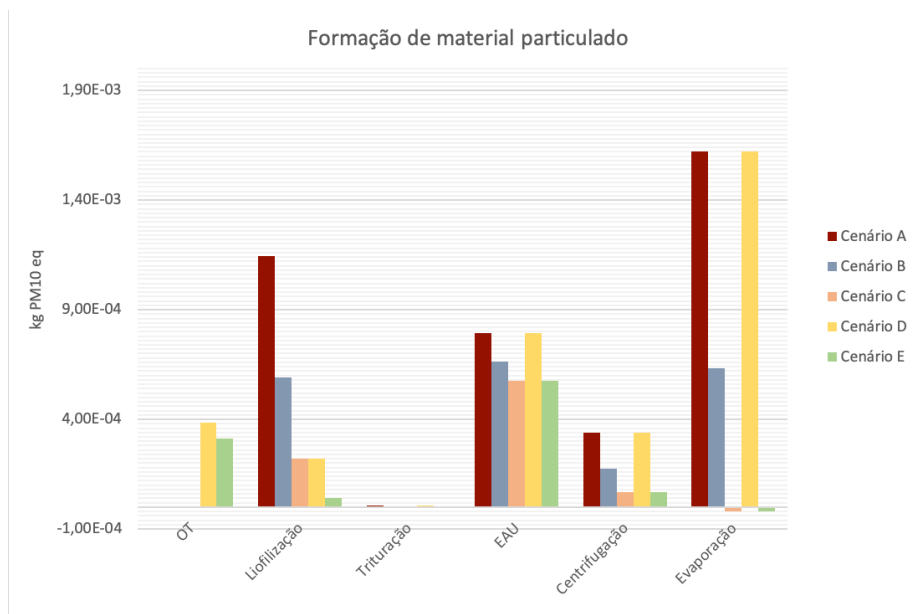
### B.2 Impactes ambientais obtidos para o processo de extração do extrato enriquecido em vitamina D2

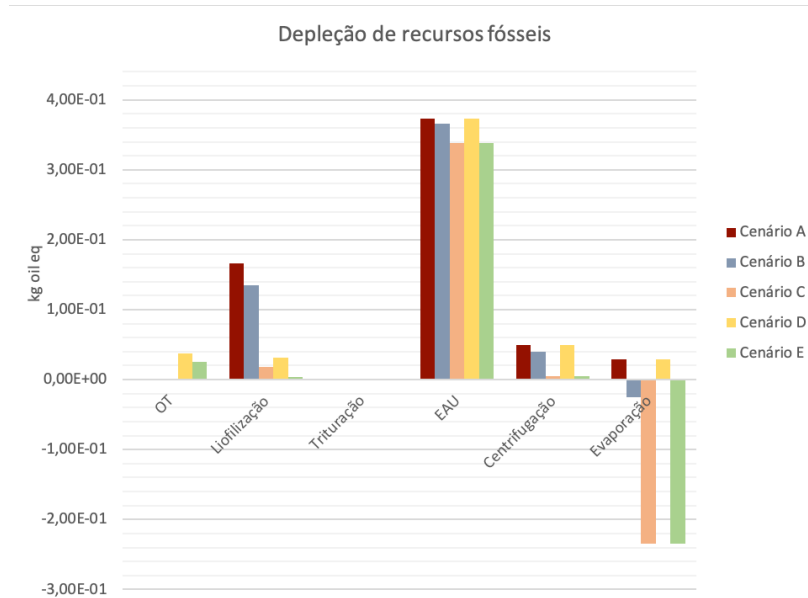
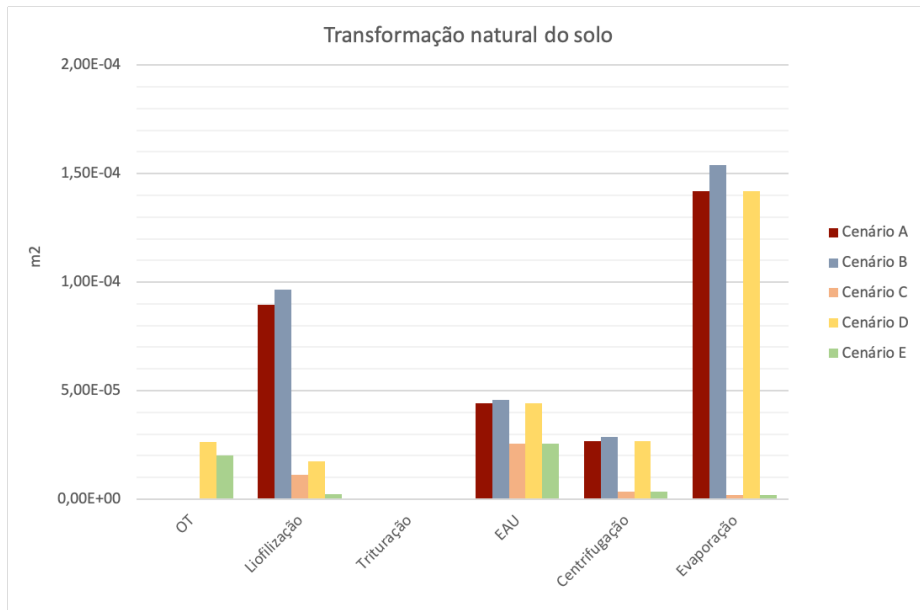
| Categoria | Unidade              | Transporte | Irradiação UV | Liofilização | Trituração | EAU       | Re-extração | Centrifugação | Filtração | Evaporação | Lavagem do DMSO |
|-----------|----------------------|------------|---------------|--------------|------------|-----------|-------------|---------------|-----------|------------|-----------------|
| CC        | kgCO <sub>2</sub> eq | 2,135E-03  | 2,770E-03     | 6,005E-01    | 2,333E-03  | 2,635E-01 | 2,149E-01   | 4,616E-01     | 7,770E-02 | 1,337E+00  | 6,453E-01       |
| TA        | kgSO <sub>2</sub> eq | 7,576E-06  | 1,744E-05     | 3,781E-03    | 1,469E-05  | 1,752E-03 | 1,396E-03   | 2,907E-03     | 2,654E-04 | 8,324E-03  | 4,044E-03       |
| FE        | kgP eq               | 2,223E-07  | 8,204E-07     | 1,779E-04    | 6,909E-07  | 8,213E-05 | 6,279E-05   | 1,367E-04     | 4,361E-06 | 3,976E-04  | 1,858E-04       |
| HT        | kg1,4DB- eq          | 4,824E-04  | 7,529E-04     | 1,632E-01    | 6,341E-04  | 9,761E-02 | 7,122E-02   | 1,352E-01     | 1,067E-02 | 3,578E-01  | 1,629E-01       |
| POF       | kgNMVOC              | 9,332E-06  | 8,230E-06     | 1,784E-03    | 6,932E-06  | 7,086E-03 | 7,047E-03   | 7,466E-03     | 6,297E-03 | 3,578E-03  | 1,888E-03       |
| PMF       | kgPM10 eq            | 3,589E-06  | 5,101E-06     | 1,106E-03    | 4,296E-06  | 5,475E-04 | 4,195E-04   | 8,502E-04     | 8,142E-05 | 2,422E-03  | 1,152E-03       |
| EF        | kg1,4-DB eq          | 4,016E-05  | 2,991E-05     | 6,485E-03    | 2,519E-05  | 3,142E-03 | 2,289E-03   | 4,985E-03     | 7,998E-05 | 1,441E-02  | 6,736E-03       |
| EM        | kg1,4-DB eq          | 3,798E-05  | 2,828E-05     | 6,132E-03    | 2,382E-05  | 2,774E-03 | 2,161E-03   | 4,714E-03     | 6,930E-05 | 1,370E-02  | 6,472E-03       |
| NLT       | m <sup>2</sup>       | 7,359E-07  | 4,002E-07     | 8,677E-05    | 3,371E-07  | 7,738E-05 | 7,421E-05   | 6,670E-05     | 2,706E-07 | 1,353E-04  | 8,313E-05       |
| FD        | kgoil eq             | 6,949E-04  | 7,390E-04     | 1,602E-01    | 6,224E-04  | 1,242E-01 | 9,340E-02   | 1,232E-01     | 2,602E-02 | 3,009E-01  | 1,519E-01       |

### B.3 Comparação dos impactes ambientais obtidos para as categorias de impacte analisadas e para os diferentes cenários - extrato enriquecido em micosteróis, nomeadamente ergosterol









## B.4 Comparação dos impactes ambientais obtidos para as categorias de impacto analisadas e para os diferentes cenários - extrato enriquecido em vitamina D2

