

**INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DO PORTO**



MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

RAMO TECNOLOGIAS DE PROTECÇÃO AMBIENTAL



Orientação:





## Agradecimentos

Dedico aqui, os meus mais sinceros agradecimentos, por todo o apoio e informação prestados, sem os quais não seria possível finalizar esta etapa da minha vida.

Em primeiro lugar, o meu especial obrigado à minha orientadora, a Doutora Nídia Caetano, pela paciência, receptividade, força de incentivo e por toda a orientação e informação disponibilizada, que tanto ajudou para a conclusão deste trabalho.

Agradeço também à Doutora Aurora Silva, por toda a paciência, apoio, sorrisos e pela partilha dos seus conhecimentos, que tanto me ajudaram a continuar e a quem eu serei sempre grata.

Por toda a disponibilidade, conhecimentos, palavras de incentivo e por todo o tempo dispensado no laboratório, o meu muito obrigado ao Doutor Tomás Albergaria.

Às engenheiras do Laboratório de Tecnologia, Marília Batista e Magda Marques, agradeço todo o apoio prestado.

Sem esquecer o apoio, à Doutora Teresa Pimenta agradeço por toda a dedicação do seu tempo, permitindo que eu pudesse continuar o meu trabalho laboratorial.

Ao Doutor Eduardo Soares, por toda a paciência e informação disponibilizada.

Ao Doutor Alfredo Crispim, pela amabilidade, pelo incentivo e por ser o engenheiro que é, o meu especial obrigado.

Pela disponibilização da enzima *Viscozyme L*, o meu muito obrigado à empresa Novozymes.

Pela análise do alumínio na cápsula de café, o meu obrigado ao Centro de Águas no ISEP.

Ao Instituto Superior de Engenharia do Porto e seus engenheiros, o meu muito obrigado, por todo o conhecimento e condições de trabalho prestadas.

Aos meus amigos, por todo o apoio demonstrado, por todas as vezes que me fizeram companhia, que me ajudaram, por todos os sorrisos, gargalhadas e bom humor, que tanto me incentivaram a continuar e não desistir, por toda a preocupação demonstrada para comigo e com a minha saúde, por tudo, o meu muito obrigado, nunca vos esquecerei!

E, sim, esta dedicatória é para ti: Cátia Fonseca, Alexandra Balaia, Diana Rede, Bárbara Borlido, Joana Teixeira, Cátia, Marta e os meninos João Gonçalves e Tiago Pinho, obrigado amigos!

A todos os outros colegas e amigos, que sempre me incentivaram a continuar e que passavam pelo laboratório nem que fosse para dizer um “olá” e “força nisso”, o meu muito obrigado.

A todos aqueles, que me disseram que não ia terminar e não ia conseguir concretizar os meus objectivos, o meu especial agradecimento. Sem vocês, a força e empenho não teria sido a mesma.

Aos meus pais (Graça e José Silva) e minha avó (Lurdes), que sem o amor, carinho e todo o apoio que sempre me deram, não seria possível estar aqui. A todo o seu esforço e sacrifício, proporcionando a minha continuidade nos estudos até à chegada desta fase, o meu eterno agradecimento. Pela enorme paciência que tiveram comigo, aquando do meu mau humor, Obrigada!

Por último, mas não menos importante, à pessoa que mais tem sido prejudicada com a realização deste trabalho, o meu namorado Hélio. Devido ao meu empenho neste trabalho, o tempo que gostaria de lhe ter dado e ele merecia, foi curto. Mas mesmo assim, não faltou todo o seu apoio, paciência, preocupação, sorrisos, carinho e compreensão, nas alturas mais complicadas. Obrigada!

Vânia Silva

## Resumo

Ao longo de décadas, as questões afectas à saúde e ambiente não fizeram parte da nossa consciência. E, com um estilo de vida cada vez mais consumista, tem-se observado um aumento significativo da produção de diversos bens e, conseqüentemente dos seus resíduos. O café é um deles. E os resíduos de café são gerados em grandes quantidades, quer no seu estado puro, quer em invólucros metálicos, de papel ou combinações plástico/metal, quando resultantes de doses individuais.

Deste modo, no âmbito da promoção de valores ecológicos e do cumprimento da legislação ambiental, cada vez mais exigente, medidas de intervenção para a gestão de resíduos de café têm sido estudadas, enquadrando-as com a realidade e com a viabilidade da sua aplicação.

É com base no estudo da viabilidade de produção de biocombustíveis, a partir da matéria orgânica residual proveniente de diferentes cápsulas de café, que este trabalho visa contribuir para a resolução deste problema.

Assim, após recuperação dos constituintes das cápsulas de café (invólucros metálicos e a borra de café), foi efectuada a extracção do óleo da borra, com recurso a diversos solventes. Foi ainda efectuada a caracterização do óleo extraído e da borra de café (antes e após extracção). Numa fase seguinte, avaliou-se a potencialidade da utilização do óleo na produção do biodiesel, e da borra de café, na produção de bioetanol. Por fim, foi avaliada a composição metálica dos invólucros, tendo em vista a sua valorização.

Para efectuar a caracterização da borra de café, foram avaliados diversos parâmetros de entre os quais se pode destacar, a razão carbono: azoto ( $C/N = 5$ ) e o seu poder calorífico (PCS, entre 4619,2 e 4941 kcal/kg), o teor de celulose (13,5 – 14,8%) e o teor de lenhina total (33,6 e 32,5%).

Relativamente ao óleo da borra de café, a sua extracção foi testada usando diversos solventes (hexano, etanol, isopropanol, octano, heptano, mistura de hexano e isopropanol nas proporções 5:5; 6:4; 7:3 e 8:2 (v/v), respectivamente). Dos 31 ensaios efectuados, a mistura de hexano e isopropanol, nas proporções de 5:5, foi aquela que permitiu obter os melhores resultados (21,54% de óleo em 3h de tempo de contacto). No que diz respeito à caracterização do óleo extraído, distingue-se o poder calorífico de 8710,4 kcal/kg, o índice de iodo igual a 54,3 g  $I_2$ / 100 g óleo, o teor de água igual a 2004 ppm e o índice de acidez igual a 118,4 mg KOH/g óleo.

Com vista à produção de biodiesel, foram efectuadas 3 esterificações consecutivas do óleo extraído (usando 1% de  $H_2SO_4$  e 40% de metanol, durante 2 h a 60 °C e 500 rpm) e uma transesterificação (1% de NaOH e 40% de metanol durante 2 h a 60 °C e 500 rpm). Para

realizar a caracterização do biodiesel foram avaliados alguns parâmetros significativos, como o índice de acidez, a densidade, a viscosidade a 40 °C, o índice de iodo e o teor de ésteres metílicos (65,7 a 72,9%), dos quais apenas o índice de iodo com 26 e 58,4 g I<sub>2</sub>/ 100 g amostra, se encontra dentro dos limites impostos pela norma que regulamenta a qualidade do biodiesel, EN 14214. O rendimento do processo variou entre os 58,8 e os 62,2%.

Para a produção do bioetanol, foi avaliado qual o melhor pré-tratamento a utilizar, a hidrólise ácida, com ácido sulfúrico a 1% ou 3% (v/v), ou a aplicação de uma hidrólise ácida, seguida da hidrólise básica com NaOH (em que é possível recuperar directamente a celulose pelo que se prossegue o estudo com a utilização directa da celulose). O melhor pré-tratamento resultou da aplicação de uma hidrólise com ácido sulfúrico a 3% (v/v), à temperatura de 85 °C, um tempo de reacção de 6 h (360 min) e uma agitação de 50 rpm., obtendo-se um rendimento em glucose de 24,2% (12,6 g/L). Seguiu-se a hidrólise enzimática, com a adição da enzima *Viscozyme L*, nas proporções de 100 µL enzima/g amostra, a uma temperatura de 50 °C, durante 2h e a 50 rpm, resultando numa eficiência desta etapa de 45,9%. A eficiência da fermentação foi de 83,4%, no que diz respeito ao consumo de açúcares e a eficiência da produção do etanol, foi de 30,3% (obtiveram-se 1,49 g dos 4,90 g de etanol esperado). Sendo a razão bioetanol/borra de café igual, a nível estequiométrico (teórico, tendo em conta os açúcares libertos), a 0,10 g bioetanol/g borra de café, enquanto a nível experimental apenas foi possível obter 0,03 g bioetanol/g borra de café.

Por fim, tendo sido analisada a composição metálica dos invólucros, concluiu-se que esta inclui 77,5% de alumínio, combinado com outros materiais (21,6%), incluindo porções mais pequenas de crómio (0,02%), de ferro (0,70%), e níquel (0,12%), pelo que se concluiu que se trata de uma cápsula essencialmente de alumínio e dadas as características deste elemento, a sua reciclagem possibilitará enormes progressos numa perspectiva socioeconómica e ambiental.

**Palavras-chave:** Biodiesel, bioetanol, borra de café, extracção, fermentação, hidrólise, óleo.

## Abstract

Throughout the last decades, health and environment subjects were far from the world's concerns. And with an increase of the consumer's life style, product's production has increased dramatically and so has waste production. Coffee is one of those products, and its waste is produced in large quantities regardless if it is in a pure state or in the form of metallic, paper or metal/paper combination packages.

Aiming to promote ecological values and to ensure that the ever demanding environmental legislation is fulfilled, several measures for coffee waste management have been studied framing them under the real situation and the viability of using them.

This thesis aims to help solving the problem of the biofuels production viability using coffee grounds in the form of organic waste as raw material.

After the recovery of the spent coffee components (metallic packages and coffee grounds), oil was extracted from the coffee grounds using several solvents. Then oil and coffee grounds were characterized (before and after the extraction). In a further stage, the oil's potential was assessed, taking into consideration its use for biodiesel production and the coffee grounds potential for bioethanol production. Last but not least, the metallic package's composition was analyzed with the prospect of their valorization.

Several parameters were evaluated to define the coffee grounds characteristics, namely: carbon/nitrogen ratio (C/N = 5), higher heating value (HHV, of 4619.2 to 4941 kcal/kg), cellulose content (13.5 – 14.8%) and total lignin content (33.6% to 32.5%).

In order to achieve the higher oil extraction, the coffee grounds were extracted using several solvents (hexane, ethanol, isopropanol, heptane and a mixture of hexane/isopropanol in the proportions 5:5; 6:4; 7:3 and 8:2 (v/v)). From the 31 tests performed, the essay with the mixture of hexane/isopropanol (at 5:5 ratio) showed the best results (21.54% oil production in 3 hours contact time). Regarding oil characterization a few parameters can be distinguished, namely a higher heating value of 8710.4 kcal/kg, an iodine value of 54.4 g I<sub>2</sub>/100 g oil, a water content of 2004 ppm and an acid value of 118.4 mg KOH/g oil.

Three consecutive steps of esterification (using 1% of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and 40% of methanol for 2h reaction time at 60 °C and 500 rpm) and one step of transesterification (1% of NaOH and 40% of methanol for 2h reaction time at 60 °C and 500 rpm) were then used to produce biodiesel from the recovered coffee oil. As before, several parameters were assessed to characterize this biofuel such as: acid value, density, viscosity at 40 °C, iodine value and esters content (65.7 to 72.9%), of which only the iodine value of 26 and 58.4 g I<sub>2</sub>/ 100 g biodiesel was within the limits imposed by the EN14214 standard. The process yield varied between 58.8 and 62.2%.

Regarding bioethanol production, the best pre-treatment was assessed from different procedures, consisting of an acid hydrolysis with sulfuric acid at 1% or 3% (v/v) or the same acid hydrolysis followed by a basic hydrolysis with NaOH (the procedure that was used to recover cellulose from the coffee grounds). This analysis allowed for the identification of the best pre-treatment, which was an acid hydrolysis using 3% (v/v) sulfuric acid, under a temperature of 85 °C, for a reaction time of 6 h and 50 rpm of stirring speed, resulting in a yield of glucose of 24.2% (12.6 g/L). This was followed by an enzymatic hydrolysis step, using the enzyme *Viscozyme L*, under the proportions of 100 µL enzyme/g sample, at a temperature of 50 °C for 2 hours and using 50 rpm stirring, resulting in a yield of 45.9%. The fermentation's yield reached the value of 83.4% relative to sugar's consumption and ethanol's yield production had the value of 30.3% (1.49 g produced of the 4.90 g expected). The bioethanol/coffee grounds ratio was, at a stoichiometric level (theoretical value, considering free sugars) 0.10 g bioethanol/g coffee, while experimentally it had the value of 0.03 g bioethanol/g coffee.

Last but not least, the metallic packages composition was evaluated and it was concluded that it includes 77.52% of aluminium, followed by 21.62% of other materials, including much smaller amounts of chromium (0.02%), iron (0.70%) and nickel (0.12%). Therefore this metallic package is mainly made of aluminium and considering this metal's characteristics, its recycling will allow enormous advances in a socioeconomic and environmental perspective.

**Keywords:** Bioethanol, biodiesel, coffee grounds, extraction, fermentation, hydrolysis, oil.



## Índice

|   |    |
|---|----|
| 1. Introdução   | 1  |
| 1.1. Biomassa – O Café  | 1  |
| 1.1.1. O Processo produtivo do café                                       | 2  |
| 1.1.2. A composição química do café                                       | 3  |
| 1.1.2.1. Teor de humidade   | 4  |
| 1.1.2.2. Teor de proteína   | 4  |
| 1.1.2.3. Teor de cinzas   | 4  |
| 1.1.2.4. Hidratos de carbono  | 4  |
| 1.1.2.5. Óleos e gorduras   | 6  |
| 1.2. Borra de café  | 7  |
| 1.2.1. Teor de cinzas   | 8  |
| 1.2.2. Teor de proteína   | 8  |
| 1.2.3. Hidratos de carbono  | 8  |
| 1.2.4. Óleos e gorduras   | 9  |
| 1.3. Objectivos   | 9  |
| 1.4. Estrutura da tese  | 9  |
| 2. Estado da arte   | 11 |
| 2.1. Perspectiva socioeconómica da utilização de biocombustíveis          | 11 |
| 2.2. Perspectiva ambiental da utilização de biocombustíveis               | 12 |
| 2.3. Biodiesel  | 13 |
| 2.3.1. Produção de biodiesel  | 14 |
| 2.3.2. Propriedades e especificações                                      | 15 |
| 2.3.3. Processo de produção de biodiesel                                  | 17 |
| 2.3.3.1. Transesterificação   | 17 |
| 2.3.3.2. Esterificação  | 22 |
| 2.3.3.3. Separação de fases e purificação                                 | 23 |
| 2.3.4. Produção de biodiesel a partir de óleo de café ou de borra de café | 23 |
| 2.4. O óleo de café   | 28 |
| 2.4.1. Determinação do teor de óleo                                       | 29 |
| 2.4.2. Extracção mecânica   | 29 |
| 2.4.3. Extracção com adição de um solvente - <i>Soxhlet</i>               | 30 |
| 2.4.4. Extracção por fluido em condições supercríticas                    | 33 |
| 2.4.5. Destilação   | 33 |

|   |     |
|---|-----|
| 2.5. Bioetanol  | 33  |
| 2.5.1. Processo produtivo   | 35  |
| 2.5.1.1. Pré-tratamento   | 35  |
| 2.5.1.2. Hidrólise enzimática   | 37  |
| 2.5.1.3. Fermentação  | 38  |
| 2.5.1.4. Trabalhos efectuados na conversão de material lenho-celulósico | 42  |
| 3. Descrição experimental   | 45  |
| 3.1. Caracterização da biomassa   | 45  |
| 3.2. Produção de biodiesel  | 47  |
| 3.2.1. Reagentes/soluções utilizadas na produção de biodiesel           | 47  |
| 3.2.2. Processo de obtenção do óleo da borra de café                    | 48  |
| 3.2.3. Caracterização do óleo e biodiesel                               | 49  |
| 3.2.4. Métodos para a produção de biodiesel                             | 51  |
| 3.3. Produção de bioetanol  | 52  |
| 3.3.1. Reagentes/soluções utilizadas na produção de bioetanol           | 52  |
| 3.3.2. Caracterização do material lenho-celulósico                      | 52  |
| 3.3.3. Métodos para a produção de bioetanol                             | 53  |
| 3.3.4. Métodos para a determinação do teor de açúcares                  | 55  |
| 3.3.5. Determinação do teor de etanol por cromatografia gasosa          | 57  |
| 3.4. Caracterização das cápsulas metálicas                              | 58  |
| 4. Resultados e discussão   | 59  |
| 4.1. Caracterização da matéria-prima                                    | 59  |
| 4.2. Produção de biodiesel  | 63  |
| 4.2.1. Processo de extracção do óleo da borra de café                   | 63  |
| 4.2.2. Caracterização do óleo de café                                   | 69  |
| 4.2.3. Produção de biodiesel  | 71  |
| 4.2.4. Caracterização do biodiesel                                      | 73  |
| 4.3. Produção de bioetanol  | 76  |
| 4.3.1.1. Fermentação  | 81  |
| 4.3.1.2. Produção de etanol e sua quantificação                         | 84  |
| 4.3.1.3. Eficiência do processo   | 84  |
| 4.4. Caracterização das cápsulas metálicas                              | 88  |
| 5. Conclusões e sugestões para trabalhos futuros                        | 91  |
| Bibliografia  | 95  |
| ANEXOS  | 107 |

---

|        |  |     |
|--------|--|-----|
| A.     | Normas e procedimentos                                 | 107 |
| A.1.   | Caracterização da matéria-prima                        | 107 |
| A.2.   | Produção de biodiesel                                  | 112 |
| A.2.1. | Caracterização do óleo e biodiesel                     | 112 |
| A.3.   | Produção de bioetanol                                  | 119 |
| A.3.1. | Determinação dos açúcares (DNS)                        | 119 |
| A.4.   | Caracterização das cápsulas                            | 120 |
| B.     | Resultados experimentais obtidos e exemplos de cálculo | 123 |
| B.1.   | Caracterização da matéria-prima                        | 123 |
| B.2.   | Produção de biodiesel                                  | 140 |
| B.2.1. | Extracção do óleo da borra de café                     | 140 |
| B.2.2. | Caracterização do óleo e do biodiesel                  | 162 |
| B.2.3. | Métodos utilizados na produção do biodiesel            | 170 |
| B.3.   | Produção de bioetanol                                  | 173 |
| B.3.1. | Pré-tratamento da biomassa                             | 173 |
| B.3.2. | Fermentação  | 189 |
| B.3.3. | Determinação do etanol                                 | 196 |
| B.4.   | Caracterização das cápsulas metálicas                  | 202 |
| B.5.   | Custos inerentes ao Pré-tratamento                     | 204 |
| C.     | Tabelas de referência                                  | 207 |
| C.1.   | Propriedades do Biodiesel normalizadas                 | 207 |
| C.1.1. | Óleos e Gorduras                                       | 209 |



## Índice Tabelas

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1.1 – Ácidos Gordos (%) presentes no óleo de café verde e torrado, extraído por prensagem (Adaptado: Turatti, 2001).....                               | 7  |
| Tabela 1.2 – Teor de açúcares presentes na borra de café, segundo dados bibliográficos. ....  | 8  |
| Tabela 2.1 – Consequências resultantes do incumprimento dos valores limite impostos pela norma EN 14214 (adaptado de Felizardo, 2003 e Rei, 2007). ....       | 16 |
| Tabela 2.2 – Características do Biodiesel de Soja e Girassol e condições reaccionais para a sua produção. ....  | 24 |
| Tabela 2.3 – Composição média dos esteres etílicos de ácidos gordos do biodiesel de soja (Adaptado de Ferrari <i>et al.</i> , 2005) .....                     | 24 |
| Tabela 2.4 – Algumas características físico-químicas do biodiesel produzido a partir de diversas matrizes. ....   | 25 |
| Tabela 2.5 – Propriedades do biodiesel produzido a partir de café sadio e PVA, com metanol, 1h de reacção (adaptado de Camargos, 2005). ....                  | 26 |
| Tabela 2.6 – Caracterização do Biodiesel proveniente do óleo da borra de café (adaptado: Kondamudi <i>et al.</i> , 2008) .....                                | 27 |
| Tabela 2.7 – Resumo de algumas condições operatórias utilizadas na produção de biodiesel, para diferentes matérias-primas. ....                               | 28 |
| Tabela 2.8 – Matérias-primas e o seu conteúdo lipídico (Camargos, 2005). ....   | 29 |
| Tabela 2.9 – Extracção mecânica do óleo de café (Turatti, 2001). ....   | 29 |
| Tabela 2.10 – Características operacionais aplicadas na extracção de óleo de café. ....   | 32 |
| Tabela 2.11 – Microrganismos produtores de etanol (adaptado: Caranton, 2010). ....  | 40 |
| Tabela 2.12 – Condições operacionais optimizadas, utilizadas nos pré-tratamentos de diferentes biomassas lenho-celulósicas. ....                              | 42 |
| Tabela 2.13 – Condições operacionais utilizadas na hidrólise da biomassa com recurso a enzimas. ....  | 43 |
| Tabela 2.14 – Condições operacionais utilizadas na fermentação da biomassa lenho-celulósica e respectivos resultados obtidos para os diferentes autores. .... | 44 |
| Tabela 3.1 – Condições experimentais dos ensaios efectuados, no pré-tratamento. ....  | 54 |
| Tabela 4.1 – Resultados experimentais obtidos para a caracterização da matéria-prima (borra de café), antes e após extracção do óleo. ....                    | 60 |
| Tabela 4.2 – Resultados da caracterização do óleo obtido por extracção da borra do café com hexano. ....  | 70 |
| Tabela 4.3 – Resultados dos parâmetros obtidos na análise do biodiesel. ....  | 74 |

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 4.4 – Ésteres parciais presentes no biodiesel produzido com o ensaio 1.....   | 76  |
| Tabela 4.5 – Volume de enzima ( $\mu\text{L}$ ) aplicado a cada amostra, e respectivo pH e<br>volume de filtrado após a hidrólise ácida.....   | 77  |
| Tabela 4.6 – Constituição metálica de uma cápsula de café. ....  | 89  |
| Tabela B.1 - Determinação do teor de humidade, na borra de café, antes da extracção do<br>óleo.....  | 123 |
| Tabela B.2 - Pesagens e respectivo tempo de secagem para cada uma das réplicas<br>correspondentes à borra de café antes da extracção do óleo .....   | 124 |
| Tabela B.3 - Determinação do teor de humidade, na borra de café, após da extracção do<br>óleo.....   | 124 |
| Tabela B.4 - Pesagens e respectivo tempo de secagem para cada uma das réplicas<br>correspondentes à borra de café após da extracção do óleo .....  | 125 |
| Tabela B.5 - Determinação do poder calorífico superior, para amostras de borra de café,<br>antes e após extracção .....  | 126 |
| Tabela B.6 - Resultados obtidos para o teor de carbono total em cada uma das amostras  | 127 |
| Tabela B.7 - Resultados obtidos para o teor de carbono inorgânico para cada uma das<br>amostras.....   | 128 |
| Tabela B.8 - Dados experimentais referentes ao cálculo do teor de azoto Kjeldahl na amostra<br>de borra de café, antes e após extracção.....   | 129 |
| Tabela B.9 - Resultados obtidos na determinação do teor de proteínas Kjeldahl, na borra de<br>café.....  | 130 |
| Tabela B.10 – Determinação do teor de cinzas.....  | 130 |
| Tabela B.11 - Resultados experimentais, até obtenção de massa constante (após secagem) e<br>da massa obtida após calcinação da amostra, para a determinação do teor de celulose<br>bruta. (1ª réplica – ensaio: Borra inicial) .....   | 131 |
| Tabela B.12 - Resultados experimentais, até obtenção de massa constante (após secagem)<br>e da massa obtida após calcinação da amostra, para a determinação do teor de<br>celulose bruta (2ª réplica – ensaio: Borra inicial). ....    | 132 |
| Tabela B.13 - Resultados experimentais, até obtenção de massa constante (após secagem)<br>e da massa obtida após calcinação da amostra, para a determinação do teor de<br>celulose bruta (1ª réplica – ensaio: Borra final).....       | 133 |
| Tabela B.14 – Resultados experimentais, até a obtenção de uma massa constante (após<br>secagem) e da massa obtida após calcinação da amostra, para a determinação do teor<br>de celulose bruta (2ª réplica – ensaio: Borra final)..... | 134 |
| Tabela B.15 - Resultados experimentais, até obtenção de massa constante (após secagem),<br>para a determinação do teor de lenhina insolúvel (1ª réplica – ensaio: Borra inicial)...  | 135 |

|   |     |
|---|-----|
| Tabela B.16 - Leituras de absorvância, efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis, para a determinação do teor de lenhina solúvel (1ª réplica – ensaio: Borra inicial).....                          | 136 |
| Tabela B.17 - Resultados experimentais obtidos, para a determinação do teor de lenhina insolúvel (2ª réplica – ensaio: Borra inicial). ....   | 137 |
| Tabela B.18 - Leituras de absorvância, efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis, para a determinação do teor de lenhina solúvel (2ª réplica – ensaio: Borra inicial).....                          | 137 |
| Tabela B.19 - Resultados experimentais obtidos, para a determinação do teor de lenhina insolúvel (1ª réplica – ensaio: Borra final).....  | 138 |
| Tabela B.20 - Leituras de absorvância, efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis, para a determinação do teor de lenhina solúvel (1ª réplica – ensaio: Borra final).....                            | 138 |
| Tabela B.21 - Ensaios experimentais efectuados, para a determinação do teor de lenhina insolúvel (2ª réplica – ensaio: Borra final).....  | 139 |
| Tabela B.22 - Leituras de absorvância, efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis, para a determinação do teor de lenhina solúvel (2ª réplica – ensaio: Borra final).....                            | 139 |
| Tabela B.23 - Resultados obtidos para os diversos ensaios de extracção do óleo da borra de café. ....   | 141 |
| Tabela B.24 - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado (hexano:isopropanol = 5:5 v/v). .... | 142 |
| Tabela B.25 - Resultados obtidos na extracção com hexano:isopropanol, nas proporções 5:5.....   | 144 |
| Tabela B.26 - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado.....                                 | 145 |
| Tabela B.27 - Resultados obtidos na extracção com hexano:isopropanol, nas proporções 6:4.....   | 147 |
| Tabela B.28 - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado.....                                 | 148 |
| Tabela B.29 - Resultados obtidos na extracção com hexano:isopropanol, nas proporções 7:3.....   | 149 |
| Tabela B.30 - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado.....                                 | 150 |
| Tabela B.31 - Resultados obtidos na extracção com hexano:isopropanol, nas proporções 8:2.....   | 151 |
| Tabela B.32 - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado.....                                 | 152 |
| Tabela B.33 - Resultados obtidos na extracção com hexano. ....  | 153 |

|   |     |
|---|-----|
| Tabela B.34 - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado..... | 154 |
| Tabela B.35 – Resultados obtidos na extracção com isopropanol.....  | 155 |
| Tabela B.36 - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado..... | 156 |
| Tabela B.37 - Resultados obtidos na extracção com etanol.....   | 157 |
| Tabela B.38 - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado..... | 158 |
| Tabela B.39 - Resultados obtidos na extracção com n-Octano.....   | 159 |
| Tabela B.40 - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado..... | 160 |
| Tabela B.41 - Resultados obtidos na extracção com n-Heptano.....  | 161 |
| Tabela B.42 - Valores de massa do óleo de borra de café utilizada, o volume de solução de KOH e o índice de acidez.....   | 162 |
| Tabela B.43 - Valores de massa do biodiesel, o volume de solução de KOH e o índice de acidez, obtido para o ensaio 1.....   | 162 |
| Tabela B.44 - Valores de massa do biodiesel, o volume de solução de KOH e o índice de acidez, obtido para o ensaio 2.....   | 162 |
| Tabela B.45 - Resultados obtidos e calculados na determinação do índice de iodo, para a amostra de óleo extraído da borra de café.....                              | 163 |
| Tabela B.46 - Factores dos ésteres metílicos (fonte: Norma EN14214).....  | 164 |
| Tabela B.47 - Resultados obtidos para o teor de ésteres e cálculo do respectivo índice de iodo, para o ensaio 1.....  | 164 |
| Tabela B.48 - Resultados obtidos para o teor de ésteres e cálculo do respectivo índice de iodo, para o ensaio 2.....  | 164 |
| Tabela B.49 - Resultados obtidos e calculados, para a determinação do teor de viscosidade, no óleo da borra de café.....  | 165 |
| Tabela B.50 - Resultados obtidos e calculados para a determinação do teor de viscosidade, no biodiesel (ensaio 1).....  | 165 |
| Tabela B.51 - Resultados obtidos e calculados para a determinação do teor de viscosidade, no biodiesel (ensaio 2).....  | 165 |
| Tabela B.52 - Resultados obtidos e calculados para a determinação da densidade, no óleo da borra de café.....   | 166 |
| Tabela B.53 - Resultados obtidos e calculados para a determinação da densidade, no biodiesel produzido (ensaio 1).....  | 166 |



|   |     |
|---|-----|
| Tabela B.54 - Resultados obtidos e calculados para a determinação da densidade, no biodiesel produzido (ensaio 2).....  | 166 |
| Tabela B.55 - Valores de tempos de retenção, áreas dos picos e respectiva percentagem de ésteres parciais e percentagem de éster total, obtidos para a 1ª injeção do ensaio 1. ....   | 168 |
| Tabela B.56 - Valores de tempos de retenção, áreas dos picos e respectiva percentagem de ésteres parciais e percentagem de éster total, obtidos para a 1ª injeção do ensaio 2. ....   | 169 |
| Tabela B.57 - Resultados obtidos na determinação do teor de água no óleo da borra de café. ....   | 170 |
| Tabela B.58 - Condições reaccionais e quantias de óleo, catalisador e álcool utilizados, para o ensaio 1, na produção de biodiesel. ....  | 171 |
| Tabela B.59 - Condições reaccionais e quantias de óleo, catalisador e álcool utilizados, para o ensaio 2, na produção de biodiesel. ....  | 171 |
| Tabela B.60 - Quantidades utilizadas e resultados obtidos na determinação do índice de acidez ao longo do processo de esterificação, para o ensaio 1.....   | 172 |
| Tabela B.61 - Quantidades utilizadas e resultados obtidos na determinação do índice de acidez ao longo do processo de esterificação, para o ensaio 2.....   | 172 |
| Tabela B.62 - Resultados da massa de glucose obtida e respectivo rendimento, após a aplicação de cada uma das opções de pré-tratamento. ....  | 175 |
| Tabela B.63 - Tabela de correcção do °Brix, para valores de temperatura iguais a 20°C...  | 177 |
| Tabela B.64 - Tabela de correcção do Brix refractométrico a 20°C. ....  | 178 |
| Tabela B.65 - Resultados obtidos para a massa de glucose obtida e respectivo rendimento, após a aplicação de cada uma das opções de pré-tratamento.....   | 180 |
| Tabela B.66 - Valores da concentração e massa de glucose obtidos a partir da média das absorvâncias, para os diversos ensaios de pré-tratamento e a após hidrólise enzimática, determinada por espectrofotometria UV-Vis.....   | 182 |
| Tabela B.67 - Valores da concentração e massa de xilose obtidos a partir da média das absorvâncias, para os diversos ensaios de pré-tratamento e a após hidrólise enzimática, determinada por espectrofotometria UV-Vis.....    | 183 |
| Tabela B.68 - Valores da concentração e massa de arabinose obtidos a partir da média das absorvâncias, para os diversos ensaios de pré-tratamento e a após hidrólise enzimática, determinada por espectrofotometria UV-Vis..... | 185 |
| Tabela B.69 - Concentrações de açúcares da solução padrão (curva de calibração) e os valores obtidos para o tempo de retenção e a área do pico obtido durante na análise por HPLC. ....   | 186 |

|   |     |
|---|-----|
| Tabela B.70 - Valores de concentração de açúcares obtidos a partir da análise dos tempos de retenção e das áreas dos picos obtidos na análise por HPLC, para a avaliação da eficiência dos pré-tratamentos..... | 188 |
| Tabela B.71 - Valores de concentração da glucose obtidos ao longo do processo da hidrólise enzimática.....  | 190 |
| Tabela B.72 - Resultados obtidos na quantificação dos açúcares, pelo método do DNS, após o processo fermentativo. ....  | 192 |
| Tabela B.73 - Valores de concentração da glucose obtidos ao longo da etapa da hidrólise enzimática.....   | 193 |
| Tabela B.74 - Resultados obtidos na determinação dos açúcares, pelo método refractométrico, após o processo fermentativo. ....  | 195 |
| Tabela B.75 - Resultados obtidos na determinação do etanol, resultante do processo fermentativo. ....   | 199 |
| Tabela B.76 - Índice de refração obtido experimentalmente após destilação por arrastamento de vapor. ....   | 200 |
| Tabela B.77 - Valor comercial dos reagentes. ....   | 204 |
| Tabela C.1 - Parâmetros e Limites utilizados na avaliação da qualidade do Biodiesel, no Brasil, na América e na Europa. ....  | 208 |
| Tabela C.2 - Conjunto mais comum de ácidos gordos insaturados (Adaptado de Monteiro, 2009).....   | 209 |
| Tabela C.3 - Conjunto mais comum de ácidos gordos saturados (Adaptado de Monteiro, 2009).....   | 210 |
| Tabela C.4 - Composição em ácidos gordos (%), para alguns óleos e gorduras.....   | 211 |
| Tabela C.5 - Características físico-químicas de alguns óleos e gorduras e respectivo valor de referência utilizado em Portugal. ....  | 211 |

## Índice Figuras

|  |    |
|--|----|
| Figura 1.1 – a) Baga de Café (fonte: Braun, 2011; b) Baga de café Robusta no estado amadurecido. (fonte: Embrapa Agrobiologia, 2006).....                        | 2  |
| Figura 1.2 – Estrutura da Celulose (Carvalho, 2009).....   | 5  |
| Figura 1.3 – Regiões da estrutura da celulose susceptíveis de sofrerem reacções químicas (Diniz, 2008).....  | 5  |
| Figura 1.4 – (1) Álcool coniferílico; (2) álcool sinapílico; (3) álcool <i>p</i> -cumarílico (Coelho, 2006).....   | 6  |
| Figura 2.1 – Redução da emissão dos Gases de efeito de Estufa pelos combustíveis e tipo de energia utilizada no seu processamento (adaptado de EERE, 2010b)..... | 12 |
| Figura 2.2 – Produção de Biodiesel nos Estados-membros da União Europeia, ao longo dos anos (1998-2009) (EBB, 2009) .....  | 14 |
| Figura 2.3 – Estados-membros da European Biodiesel Board (EBB, 2009) .....   | 14 |
| Figura 2.4 – Principais países produtores em 2009 (EBB, 2009).....   | 15 |
| Figura 2.5 – Produção mensal de Biodiesel no Brasil desde 2005 a 2011 (ANP, 2011). .....   | 15 |
| Figura 2.6 – (a) Molécula de álcool; (b) Molécula de Éster Metílico (Biodiesel) (Rei, 2007).....   | 17 |
| Figura 2.7 – Processo de Transesterificação. (a) Equação geral; (b) Três reacções consecutivas e reversíveis da transesterificação (Camargos, 2005) .....        | 18 |
| Figura 2.8 – Processo de transesterificação por catálise ácida (adaptado: Meher <i>et al.</i> , 2006).....   | 19 |
| Figura 2.9 – Reacção de formação do Metóxido de Sódio (Rei, 2007).....   | 21 |
| Figura 2.10 – Análise em GC dos esteres presentes no Biodiesel proveniente do óleo da borra de café (adaptado: Kondamudi <i>et al.</i> , 2008).....              | 27 |
| Figura 2.11 – Produção de Bioetanol em 2009 (adaptado: Biofuels Plataforma, 2011b) .....   | 34 |
| Figura 2.12 – Produção de Bioetanol desde 1992 – 2009 (adaptado de Biofuels Plataforma, 2011b).....  | 35 |
| Figura 2.13 – Destino final do Etanol produzido, ao longo dos anos (ePure, 2010).....  | 35 |
| Figura 2.14 – Efeito do Pré-tratamento na degradação do material (adaptado de Carvalho, 2009).....   | 36 |
| Figura 2.15 – Representação esquemática da actividade das celulasas sobre a celulose (Mussatto e Teixeira, 2010).....  | 37 |
| Figura 2.16 – Reacção de formação do piruvato (Diniz, 2008). .....   | 39 |
| Figura 2.17 – Reacção de formação do acetaldeído e CO <sub>2</sub> (Diniz, 2008). .....  | 39 |
| Figura 2.18 – Reacção de formação do etanol (Diniz, 2008). .....   | 39 |

|   |    |
|---|----|
| Figura 3.1 - Esquema representativo da sequência de etapas para a obtenção do biodiesel e bioetanol a partir da borra de café. ....   | 45 |
| Figura 3. 2 - Extracção com solvente (Soxhlet). ....  | 48 |
| Figura 3. 3 - Evaporador Rotativo (Rotavapor). ....   | 49 |
| Figura 3.4 – Imagens representativas do processo de fermentação.....  | 55 |
| Figura 3. 5 – Equipamento utilizado na determinação dos açúcares, HPLC.....   | 57 |
| Figura 4. 1 – Análise granulométrica da borra de café. ....   | 62 |
| Figura 4.2 – Resultado obtido após caracterização da biomassa lenhocelulósica. A) celulose; b) lenhina insolúvel após tratamento e antes da incineração.....  | 62 |
| Figura 4.3 – Tempo médio de contacto na extracção do óleo de café, com os diversos solventes.....   | 63 |
| Figura 4.4- Teor de óleo obtido no processo de extracção do óleo de café, utilizando diferentes solventes. ....   | 64 |
| Figura 4.5 – Duração dos ensaios de extracção.....  | 65 |
| Figura 4.6 – Percentagem de recuperação do solvente utilizado, nos diversos ensaios realizados para a extracção do óleo da borra de café. ....  | 66 |
| Figura 4.7 – Custo dos solventes por cada litro de solução utilizada. ....  | 66 |
| Figura 4.8 – Solução após extracção do óleo de borra de café, com a mistura de solventes hexano : isopropanol, na proporção de 5:5 (v/v) e adição de uma mistura de hexano e água, na proporção de 1:1 (v/v)..... | 68 |
| Figura 4.9 – Resultados obtidos na determinação do índice de acidez, ao longo das etapas de produção do biodiesel. (a) ensaio 1; (b) ensaio 2. ....   | 72 |
| Figura 4.10 – Formação de 3 fases distintas após lavagem com água acidificada. ....   | 73 |
| Figura 4.11 – Sequência de lavagens efectuadas. a) Primeira lavagem; b) terceira lavagem; c) quinta lavagem (última). ....  | 73 |
| Figura 4.12 - Rendimento de açúcares (Glucose) obtido para os diferentes pré-tratamentos, determinados pelo método do DNS.....  | 78 |
| Figura 4.13 - Rendimento de açúcares (Glucose) obtido para os diversos tipos de pré-tratamento, com determinação pelo método refractométrico. ....  | 79 |
| Figura 4.14 - Concentração dos açúcares (glucose, xilose e arabinose), obtidos na determinação por cromatografia gasosa de alta eficiência, para os diversos ensaios. ...   | 80 |
| Figura 4.15 – Massa de glucose determinada, ao longo do tempo da fermentação, pelo método refractométrico.....  | 82 |
| Figura 4.16 – Massa de glucose determinada, ao longo do tempo de fermentação, pelo método do DNS.....   | 83 |
| Figura 4.17 – Evolução da produção de etanol, ao longo da fermentação.....  | 84 |

|   |     |
|---|-----|
| Figura 4.18 – Concentração de glucose final obtida nas etapas de hidrólise ácida ( $H_2SO_4$ a 3% (v/v), 85 °C, 50 rpm, e tempo de reacção de 6h) e hidrólise enzimática (100 $\mu$ L enzima/g borra, 50 °C e 2h de reacção). .....   | 85  |
| Figura 4.19 – Eficiência das etapas da hidrólise e fermentação dos açúcares, após a escolha do pré-tratamento com $H_2SO_4$ a 3% (v/v), nas condições de 85 °C, 50 rpm, e tempo de reacção de 6h e a etapa da hidrólise enzimática (100 $\mu$ L enzima/g borra, 50 °C e 2h de reacção). ..... | 86  |
| Figura 4.20 – Massa de etanol teórico, real e destilado, obtido através da fermentação. ....  | 87  |
| Figura A.1 – Calorímetro Parr, modelo 6722. ....  | 108 |
| Figura A.2 - Analisador do Carbono Orgânico Total, da marca SHIMADZU .....  | 108 |
| Figura A.3 – a) Viscosímetro Capilar; b) Instalação utilizada na determinação da viscosidade cinemática. ....   | 115 |
| Figura A.4 – Cromatógrafo (Marca: DANI GC – DPC Digital Pressure Control), com injeção automática.....  | 117 |
| Figura A.5 – Equipamento utilizado na determinação do ponto inflamação do óleo, Petrotest, modelo Rapid Tester S.3.....   | 118 |
| Figura A.6 - Coulómetro utilizado na determinação do teor de água. ....   | 119 |
| Figura A.7 – Espectrofotómetro UV-Vis .....   | 120 |
| Figura A.8 – Espectrofotómetro de Absorção Atómica. ....  | 121 |
| Figura B.1 - Curva de calibração do carbono total.....  | 127 |
| Figura B.2 - Curva de calibração do carbono inorgânico. ....  | 128 |
| Figura B.3 - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, observado durante aproximadamente 4horas de ensaio.....  | 142 |
| Figura B.4 - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, observado durante aproximadamente 3horas de ensaio.....  | 145 |
| Figura B.5 - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, observado durante aproximadamente 3horas de ensaio.....  | 148 |
| Figura B.6 - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante aproximadamente 2,2horas de ensaio.....  | 150 |
| Figura B.7 - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante aproximadamente 2,4horas de ensaio.....  | 152 |
| Figura B.8 - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante aproximadamente 6,7horas de ensaio.....  | 154 |
| Figura B.9 - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante aproximadamente 8,6horas de ensaio.....  | 156 |

|   |     |
|---|-----|
| Figura B.10 - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extração, decorrido durante aproximadamente 14 horas de ensaio.....  | 158 |
| Figura B.11 - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extração, decorrido durante aproximadamente 11,6 horas de ensaio.....  | 160 |
| Figura B.12 – Curva de calibração da glucose utilizada no método do DNS. ....   | 173 |
| Figura B.13 - Concentrações de glucose e respectivas leituras em °Brix, à temperatura de 20°C.....  | 176 |
| Figura B.14 - Espectro de absorção dos padrões de glucose (linha preto), xilose (linha verde) e arabinose (linha azul), na concentração de 1g/L, traçado entre 200 e os 400nm ..... | 181 |
| Figura B.15 - Curva de calibração da glucose, pelo método da espectrofotometria UV-Vis. ....  | 181 |
| Figura B.16 - Curva de calibração da xilose, pelo método da espectrofotometria UV-Vis...  | 183 |
| Figura B.17 - Curva de calibração da arabinose, pelo método da espectrofotometria UV-Vis. ....  | 184 |
| Figura B.18 - Cromatograma correspondente a uma solução contendo a xilose (a), arabinose (b) e glucose (c).....   | 186 |
| Figura B.19 - Curva de calibração da glucose, pelo método do HPLC. ....   | 187 |
| Figura B.20 - Curva de calibração da arabinose, pelo método do HPLC. ....   | 187 |
| Figura B.21 - Curva de calibração da xilose, pelo método do HPLC.....   | 187 |
| Figura B.22 - Variação da concentração de glucose, ao longo da etapa da hidrólise enzimática.....   | 191 |
| Figura B.23 - Variação da concentração de glucose, ao longo da etapa da hidrólise enzimática, avaliada pelo método refractométrico. ....  | 194 |
| Figura B.24 - Curva de calibração para o etanol, obtida pela leitura das áreas, por cromatografia gasosa.....   | 197 |
| Figura B.25 - Cromatograma obtido com a solução padrão de etanol. ....  | 197 |
| Figura B.26 - Cromatograma obtido na determinação do etanol, no ensaio 1. ....  | 198 |
| Figura B.27 - Curva de calibração da %etanol dissolvido em água em função do índice de refração da mistura Etanol/água (Nunes, 2011). ....  | 200 |
| Figura B.28 - Curva de calibração para o Chumbo (Pb). ....  | 202 |
| Figura B.29 - Curva de calibração para o Crómio (Cr).....   | 202 |
| Figura B.30 - Curva de calibração para o Ferro (Fe). ....   | 203 |
| Figura B.31 - Curva de calibração para o Níquel (Ni). ....  | 203 |
| Figura B.32 - Curva de calibração para o Zinco (Zn).....  | 203 |

## Lista de Abreviaturas

|  | <i>Unidades</i>           |
|--|---------------------------|
| $A_{205nm}$ – Absorvância medida no espectrofotómetro a um comprimento de onda de 205 nm |                           |
| $A_{padrão}$ – Área do padrão .....  | $m^2$                     |
| a - massa do picnómetro .....  | g                         |
| b - massa do picnómetro com água destilada.....  | g                         |
| c - massa do picnómetro com o biodiesel .....  | g                         |
| C – concentração exacta da solução de tiosulfato de sódio .....                          | mol/L                     |
| $C_{KOH}$ – concentração exacta do KOH .....   | mol/L                     |
| $C_{padrão}$ – Concentração do padrão .....  | mol/L                     |
| $d'$ – densidade .....   | $g/cm^3$                  |
| d – densidade corrigida .....  | $g/cm^3$                  |
| G – Matéria Gorda .....  | %                         |
| H – Perda de massa após secagem na estufa a $103 \pm 2^\circ C$ .....                    | %                         |
| IA – Índice de Acidez .....  | $mg_{KOH}/g_{amostra}$    |
| II – Índice de Iodo .....  | $g_{iodo}/100g_{amostra}$ |
| k – constante do viscosímetro  |                           |
| $m_{amostra}$ – massa da amostra .....   | g                         |
| $m_1$ – massa do resíduo seco com cadinho antes da calcinação .....                      | g                         |
| $m_2$ – massa do resíduo com cadinho após calcinação .....                               | g                         |
| $m_{lenhina}$ – massa obtida após secagem a $103 \pm 2^\circ C$ .....                    | g                         |
| $m_{amostra\ café}$ – massa inicial da amostra de café .....                             | g                         |
| $m_{amostra\ café\ seca}$ – massa de amostra de café utilizada .....                     | g                         |
| $m/v(\%)$ – percentagem massa/ volume  |                           |
| N - Normalidade do HCl .....   | N                         |
| t – tempo experimental de passagem do fluído .....                                       | s                         |
| T – temperatura .....  | $^\circ C$                |
| $V_A$ – Volume de HCl gasto na titulação da amostra .....                                | mL                        |
| $V_B$ – Volume de HCl gasto na titulação do Branco .....                                 | mL                        |
| $V_{KOH}$ - volume de KOH utilizado na titulação .....                                   | mL                        |
| $V_{padrão}$ – Volume do padrão .....  | mL                        |
| $V_{filtrado}$ – Volume filtrado .....   | mL                        |
| $V_1$ – volume da solução de tiosulfato gasto no ensaio em branco .....                  | mL                        |
| $V_2$ – volume da solução de tiosulfato gasto na titulação da amostra .....              | mL                        |





## Lista de Siglas

ADP – Adenosina-di-fosfato

AGL – Ácidos gordos livres

Al – Alumínio

ASTM – American Society for Testing and Materials;

ATP – Adenosina-tri-fosfato

Ca – Cálcio

CEN – Comité Europeu de Normalização;

CO<sub>2</sub> – Dióxido de Carbono

COT – Carbono Orgânico Total

Cu – Cobre

EN 14214 – Norma europeia para o controlo de qualidade do biodiesel

F – Flúor

FAAE – Monoalquilésteres etílicos de ácidos gordos

FAME – Monoalquilésteres metílicos de ácidos gordos

Fe – Ferro

GC – Cromatografia gasosa

GEE – Gases de Efeito de Estufa

HC – Hidratos de carbono

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência

ISO – International Organization for Standardization

LER – Lista Europeia de Resíduos

Mg – Magnésio

ML – Milhões de litros

Mn – Manganês

Na – Sódio

NAD<sup>+</sup> – Nicotinamida-adenina-dinucleotido sob a forma oxidada

NADH – Nicotinamida-adenina-dinucleotido

NO<sub>2</sub> – Dióxido de azoto

P – Defeito no café, presença de grãos pretos

PCS – Poder calorífico superior

PVA – Defeito no café, presença de grãos pretos, verdes e ardidos

Rpm – rotações por minuto

UV – Ultravioleta

V – Defeito de café, presença de grãos verdes ou crus

Vis – Visível

Zn – Zinco

### **Lista de letras gregas**

$\varepsilon$  – Factor de conversão igual a 110 dm<sup>3</sup>/g.cm;

$\vartheta$  – Factor de correcção obtido da tabela de factores de correcção de Hagenbach

$\nu$  – Viscosidade cinemática a 40 °C;

$\eta$  – Rendimento (%)

## 1. Introdução

A energia assume-se como um bem essencial no desenvolvimento da sociedade. Os países desenvolvidos necessitam de quantidades cada vez maiores e os países em desenvolvimento reclamam agora a sua parte de energia (Interessante 2004). Os problemas ambientais, nomeadamente as emissões de gases com efeito de estufa (GEE), que resultam da utilização do petróleo, carvão e gás natural trouxeram para a ordem do dia a produção de biocombustíveis.

Segundo o Decreto-Lei nº 117/2010, são considerados biocombustíveis, no âmbito da legislação aplicável, os combustíveis líquidos ou gasosos produzidos a partir de biomassa e utilizados nos transportes”, dos quais são exemplo o biodiesel, o bioetanol, o biogás, o biohidrogénio, entre muitos outros.

Mas nem só as emissões de GEE fazem parte das actuais preocupações da consciência humana; os resíduos gerados, depositados no meio ambiente sem qualquer controlo ou cuidado, também têm vindo a ganhar importância.

Ao longo de décadas, as questões afectas à saúde e ambiente não fizeram parte da nossa consciência. E, com um estilo de vida cada vez mais consumista, tem-se observado um aumento significativo da produção de diversos produtos e, conseqüentemente dos seus resíduos. O café é um deles. E os resíduos de café são gerados em grandes quantidades, quer no seu estado puro, quer em invólucros metálicos, de papel ou combinações plástico/metal, quando resultantes de doses individuais.

Deste modo, no âmbito da promoção de valores ecológicos e do cumprimento da legislação ambiental, cada vez mais exigente, medidas de intervenção para a gestão de resíduos de café têm sido estudadas, enquadrando-as com a realidade e com a viabilidade da sua aplicação.

A borra de café é considerada um resíduo urbano, pelo que deve ser gerida de acordo com o estipulado no Decreto-lei nº178/2006, de 5 de Setembro.

Resultante da preparação e processamento do café pode ser classificado com os códigos 02 03 e 20 01 08, da Lista Europeia de Resíduos (LER), segundo a Portaria nº 209/2004, de 3 de Março.

### 1.1. Biomassa – O Café

O café, fruto originário da família das *Rubiaceae*, género *Coffea*, na Etiópia, no século IX, apresenta diversas espécies, sendo as mais comercializadas a *Coffea arabica* e a *Coffea canephora*, mais conhecida por Conilon ou Robusta (Café aranas 2009).

Segundo Halal (2008) e, tendo em conta a legislação brasileira, o café pode ser caracterizado mediante o tipo de bebida, o grau de torra e o número de defeitos existentes.

### 1.1.1. O Processo produtivo do café

A produção do café inicia-se pela plantação da semente, que só ao final de cinco anos proporciona as bagas (Mediazine, 2011). Atingido o seu amadurecimento, ou estado “cereja”, reconhecido pela mudança de tonalidade de verde para vermelho ou amarelo (Figura 1. 1), a colheita deverá ser efectuada no prazo máximo de 2 a 3 meses.



**Figura 1. 1** – a) Baga de Café (fonte: Braun, 2011; b) Baga de café Robusta no estado amadurecido. (fonte: Embrapa Agrobiologia, 2006).

Após a colheita, o processamento do fruto do café deve ser efectuado com alguma celeridade, uma vez que a presença de humidade facilitará a fermentação dos açúcares presentes na baga (Mediazine, 2011). De seguida é efectuada a preparação do café, que pode ser realizada por dois métodos, preparação por via seca e por via húmida.

Na preparação por via seca, frequentemente utilizada pelos produtores Brasileiros, a baga de café sofre uma secagem natural ou mecanizada, através de secadores verticais, estáticos ou rotativos, de forma a obter uma percentagem de humidade igual a 11-12%, permitindo que os grãos sejam armazenados em condições estáveis (Soccol, 2000; Nestlé, 2011). Tratando-se de um processo mais económico é habitualmente praticado em regiões cujo clima é quente e seco (Ormond *et al.*, 1999; Moraes, 2006; Ampensan, 2009).

Na preparação por via húmida, processo utilizado em alguns países da América Central e na Colômbia, as bagas são colocadas num tanque com água, onde são lavadas e as cascas amolecidas para que uma descascadora as possa retirar. Além do descascamento, a fruta sofre uma despulpagem, que consiste na separação da polpa por uma despulpadora. Esta etapa deve ser efectuada o mais rápido possível, a fim de preservar a sua qualidade. Seguidamente, ocorre a etapa da fermentação em que, por acção das enzimas, é removida a polpa remanescente, ficando apenas com o pergaminho (Ormond *et al.*, 1999; Soccol, 2000; Oliveira, 2006; Embrapa Agrobiologia, 2006; Moraes, 2006; Ampensan, 2009; Nestlé, 2011), o que previne fermentações indesejadas.

Segundo a Nestlé (2011) a etapa da fermentação decorre entre 12 a 36 horas, enquanto Soccol (2000) afirma que o período decorre entre as 24 e as 36 h. Após a fermentação segue-se a etapa da lavagem e secagem. Deste processo resulta um café mais ácido e um

consumo de água em abundância. Tal como na preparação por via seca, os grãos podem sofrer uma secagem natural ou mecanizada.

A secagem ao natural resulta da exposição do produto à radiação solar, o que implica uma poupança nos gastos energéticos, mas uma dificuldade, pois encontra-se dependente das condições ambientais, tais como o vento, a temperatura e o grau de nebulosidade (Oliveira, 2006). Por sua vez, a secagem mecanizada, normalmente a altas temperaturas, apesar de se tornar menos demorada, pode comprometer o poder germinativo da semente ou levar a um cozimento do produto, alterando as suas propriedades físico-químicas (Vidal, 2001).

Após a secagem, os grãos são separados e calibrados consoante o seu tamanho.

A torrefacção, processo que dita a qualidade e o sucesso do café e na qual se desenvolve o sabor e o aroma, difere de grão para grão. É na torrefacção que o grão adquire a tão conhecida cor acastanhada (Braun, 2011; Mediazine, 2011; Nestlé, 2011). Durante este processo, por acção do calor, ocorre a transformação dos amidos em açúcares e a desagregação das proteínas em peptídeos. Estes, por sua vez “emergem através da superfície do grão sob a forma de óleos” (Nestlé, 2011). Depois de torrados, os grãos são imediatamente arrefecidos, terminando esta etapa (Mediazine, 2011; Nestlé, 2011).

Por fim, ocorre a etapa do armazenamento, da qual vai depender a qualidade final do café. Para um armazenamento em presença de ar, o café é conservado em embalagens fechadas que protegem da humidade mas no entanto não evita o processo de oxidação, promovendo a alteração do aroma e a redução da vida útil do café (Moraes, 2006). Por outro lado, o armazenamento pode ser efectuado sob vácuo, reduzindo significativamente a presença de oxigénio, prolongando a vida útil do produto (Moraes, 2006; Mediazine, 2011). Para isso é necessário que a embalagem possua uma elevada capacidade de retenção dos aromas, uma elevada barreira ao oxigénio e ao vapor de água, de forma a minimizar o processo de oxidação, uma elevada resistência à perfuração e propriedades herméticas.

### **1.1.2. A composição química do café**

De acordo com os padrões impostos pela sociedade, todas as características de um produto, sejam elas características físicas, químicas ou relativas à saúde e bem-estar humano, são essenciais, encontrando-se dependentes de diversos factores, sejam eles ambientais, processuais (tipo de colheita, pós-colheita) ou genéticos, como espécies e variedades (Oliveira, 2006). O café é um produto que apresenta alguma variabilidade na composição química e propriedades, devido ao facto de ser produzido a partir de diferentes espécies e produzido de modos diversos.

### 1.1.2.1. Teor de humidade

O teor de humidade é um dos parâmetros mais importantes no café. Na verdade ele é de cerca de 11 a 12% (Soccol, 2000; Nestlé, 2011) porque demasiada humidade pode contribuir para a deterioração do café por microrganismos e ocorrência de fermentações indesejáveis (Vilela e Pereira, 1998). Pelo contrário, um teor de humidade demasiado baixo pode originar perdas, devido à quebra dos grãos (Pereira, 1997; Ferreira, 2010).

### 1.1.2.2. Teor de proteína

No que diz respeito ao teor de proteína, este é mais variável. Para Hoffmann (2001), citado por Halal (2008), o teor de proteína varia entre os 6 e os 12%. Nas espécies de café arábica, conilon e misturas destas, Pereira *et al.* (2000a) puderam observar que o teor de proteínas não é influenciado de forma significativa, tendo obtido valores entre os 16,53% e os 16,80%. Alves *et al.* (2007) na análise de oito amostras de café arábica, de duas regiões diferentes, e classificados como moles, duro, rido e rio e submetidas a uma torração clara, puderam concluir que o teor de proteínas aumenta com a passagem dos cafés moles para duros, tendo obtido teores de proteína que variaram entre os 12,75% e os 18,81%. Foi aplicado o método de Kjeldahl (teor de azoto x 6,25), sem desconto de outros compostos azotados presentes no café (cafeína, pirazina e trigonelina).

### 1.1.2.3. Teor de cinzas

O teor de cinzas, ou resíduo mineral fixo, representa o resíduo inorgânico que permanece na amostra após a queima da matéria orgânica, a uma temperatura na ordem dos 550 °C, resultando na formação de água, dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e dióxido de azoto (NO<sub>2</sub>) (Telmo, 2010). A cinza é constituída na sua maioria por macronutrientes, como o potássio (K), o sódio (Na), o cálcio (Ca) e o magnésio (Mg), por pequenas quantidades de micronutrientes como o alumínio (Al), o ferro (Fe), o cobre (Cu), o manganês (Mn) e o zinco (Zn) e elementos vestigiais como o iodo (I) e o flúor (F) (Silva *et al.*, 2007). Segundo Lago *et al.* (2001), o teor de cinzas do café varia entre os 3,58 e os 4,96%.

### 1.1.2.4. Hidratos de carbono

Os hidratos de carbono (HC) são os compostos mais abundantes nos alimentos, constituindo uma classe essencial para a formação de compostos aromáticos, principalmente pela caramelização dos açúcares, no café, sendo constituídos por uma mistura complexa de matéria solúvel e insolúvel, de baixa e elevada massa molar (Flament, 2002; Camargos, 2005; Coffee Intelligence, Inc., 2011). No café verde, torrado e solúvel, representam uma grande fatia da sua constituição (cerca de 50% da sua massa, em base seca) (Camargos, 2005; Coffee Intelligence, Inc., 2011).

Os polissacarídeos, a classe mais abundante dos HC e de alta versatilidade na sua aplicação, consistem em polímeros de elevada massa molecular, com numerosos monossacarídeos por cadeia, que podem ser de natureza ácida, básica ou neutra (Gil e Ferreira, 2006). Presentes nos cafés solúveis, a sua extracção e estabilidade afectam os processos e as características finais do produto, tal como a viscosidade (Bradbury, 2001; Thomazini *et al.*, 2011). Os principais polissacarídeos existentes no café são essencialmente três polímeros: os arabinogalactanos, os mananos e a celulose (Camargos, 2005).

Do material lenhocelulósico, a celulose é aquele que se apresenta em maior quantidade nas plantas (Coelho, 2006). Composta por homopolissacarídeos de  $\beta$ -D-glucopiranosose unidos por ligações glicosídicas  $\beta(1,4)$ , a celulose apresenta uma estrutura linear (Figura 1. 2) insolúvel na maioria dos solventes (Balat e Balat, 2009). As ligações de hidrogénio são responsáveis pelas características da estrutura celulósica. A rigidez é conferida pelas ligações intramoleculares com os grupos hidroxilo (Coelho, 2006), enquanto a formação de cadeias de celulose (fibrilas) é resultante das ligações intermoleculares (Coelho, 2006; Diniz, 2008; Rodrigues, 2009).

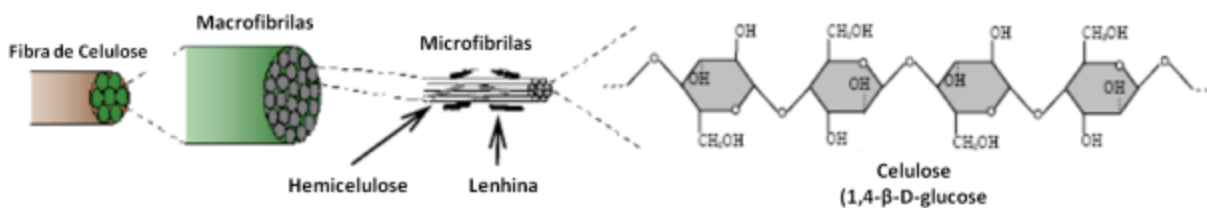


Figura 1. 2 – Estrutura da Celulose (Carvalho, 2009)

A cristalinidade, resultante das ligações intermoleculares, confere à molécula uma resistência a substâncias químicas, enquanto as regiões amorfas, devidas ao menor número de ligações intermoleculares, permitem uma maior acessibilidade por parte dos reagentes (Coelho, 2006; Diniz, 2008). Apenas as zonas amorfas (Figura 1.3) permitem a absorção de água, tornando a celulose flexível Ferreira *et al.* (2009).

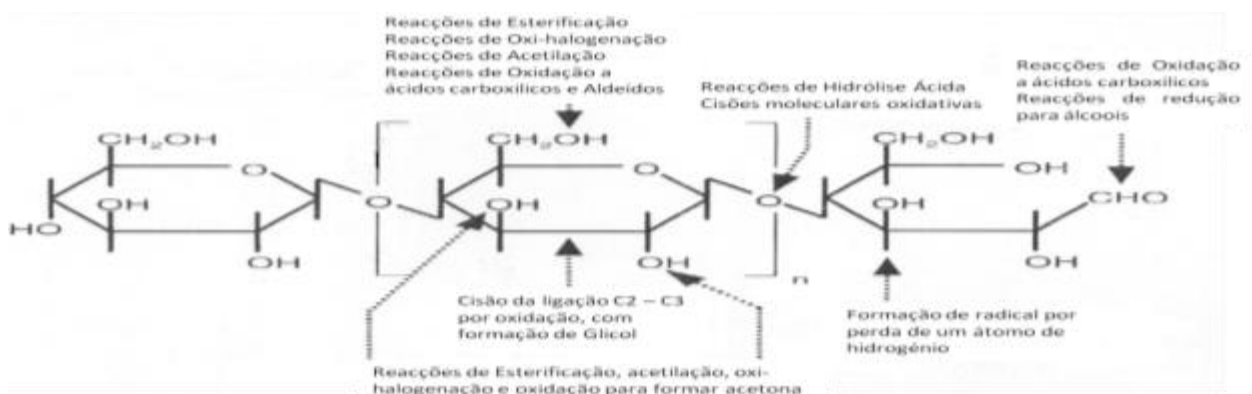
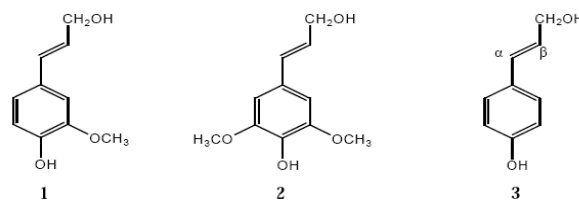


Figura 1.3 – Regiões da estrutura da celulose susceptíveis de sofrerem reacções químicas (Diniz, 2008)

As hemiceluloses são polímeros que apresentam na sua estrutura diferentes tipos de açúcares, como a D-glucose, D-arabinose, D-manose, D-galactose, D-xilose e o ácido D-glucorónico (Coelho, 2006; Diniz, 2008; Rodrigues, 2009). Associada à celulose, tem como função a regulação do crescimento das plantas e o suporte da estrutura celular (Coelho, 2006; Ferreira *et al.*, 2009). No entanto, a sua estrutura não apresenta zonas cristalinas, como a celulose, e o seu grau de polarização é baixo, tornando este polímero susceptível de sofrer ataques químicos, resultando na libertação dos monossacarídeos constituintes (Coelho, 2006; Diniz, 2008).

A lenhina, dentre o material lenhocelulósico é o segundo composto mais abundante na estrutura das plantas (Coelho, 2006 e Silva, 2009) e é um polímero altamente ramificado e amorfo constituído por unidades fenolpropanólicas dos álcoois (trans)-sinapílico, (trans)-coniferílico e (para)-cumarílico (Coelho, 2006; Rodrigues, 2009; Silva, 2009; Carmona, 2010) (Figura 1. 4). A lenhina tem como funções o transporte de nutrientes e água, necessários ao desenvolvimento da planta, conferir rigidez à parede celular, resultante da sua ligação com outros polissacarídeos e protecção contra a humidade (Coelho, 2006).



**Figura 1. 4** – (1) Álcool coniferílico; (2) álcool sinapílico; (3) álcool *p*-cumarílico (Coelho, 2006)

Segundo Pereira (1997), no café verde o teor de celulose é de 36%, o de holocelulose é de 18% e o de hemicelulose de 15% sendo o teor de lenhina de apenas 2%.

Durante a torrefacção, os açúcares desempenham um papel importante na reacção de Maillard, onde participam muitos dos açúcares redutores. Enquanto alguns dos açúcares como a sacarose (açúcar presente em maior quantidade), hexoses e pentoses são consumidos na produção de água, dióxido de carbono, cor e aromas, outros açúcares participam na produção de ácidos alifáticos (acético e fórmico) (Flament, 2002; Silva *et al.*, 2004).

### 1.1.2.5. Óleos e gorduras

Apresentando como algumas das propriedades, a sua insolubilidade em água (hidrofobia) e a solubilidade em solventes orgânicos (éter de petróleo, clorofórmio, acetona, entre outros), o óleo pode ser classificado em diversos grupos (Câmara, 2006; Maurício, 2008).

Formados na sua maioria por triglicerídeos (90 a 98%), resultantes da condensação entre os ácidos gordos e o glicerol e cerca de 1 a 5% de ácidos gordos livres, os óleos e gorduras,



apresentam-se como matérias-primas de grande interesse económico (Guo, 2005; Correia, 2009). A sua designação é resultante do seu estado físico à temperatura ambiente e do estado de saturação dos seus constituintes (Câmara, 2006). Ou seja, a substância cuja maioria de ácidos gordos é insaturada e à temperatura ambiente apresenta um estado líquido é designada por óleo, enquanto a gordura, é referente à substância sólida ou pastosa, composta por uma maioria de ácidos gordos saturados (Guo, 2005; Rezende, 2009; Santos, 2010).

Segundo Poisson (1979) citado por Wagemaker (2009), a matéria lipídica do café é composta por ácidos gordos, matéria insusceptível de sofrer reacções de saponificação como os esteróis e outros e, constituintes da cera que recobre o grão.

Segundo Azevedo *et al.* (2008), o óleo do grão de café é composto por uma mistura de diversas classes de compostos, sendo cerca de 75% da massa representada por triglicéridos (TAGs). As outras classes que compõem os lípidos são os esteres terpenos (13 a 15%), acilgliceróis parciais (2,7 a 5,5%), ácidos gordos livres (1 a 2,3%), esteróis livres (1,5 a 2,2%), esteres esteróis (1% a 3,2%) e lípidos polares (0,4 a 0,8%) (Camargos, 2005; Azevedo *et al.*, 2008). A composição dos lípidos no café depende de diversos factores, como as características do grão, condições e tipos de extracções, solventes utilizados, entre outros.

Na Tabela 1.1 encontram-se os diversos tipos de ácidos gordos presentes no café cru e torrado (Turatti, 2001).

**Tabela 1.1** – Ácidos Gordos (%) presentes no óleo de café verde e torrado, extraído por prensagem (Adaptado: Turatti, 2001)

| Ácido Gordo | Óleo de Café |       |
|-------------|--------------|-------|
|             | Torrado      | Verde |
| Palmítico   | 34,5         | 33,7  |
| Esteárico   | 8,9          | 9,1   |
| Oleico      | 10,2         | 10,4  |
| Linoleico   | 40,3         | 41,0  |
| Araquídico  | 4,0          | 3,9   |
| Eicosenóico | 0,3          | 0,3   |
| Linolênico  | 1,1          | 1,0   |
| Behênico    | 0,7          | 0,6   |

## 1.2. Borra de café

A borra de café é um resíduo orgânico, constituído por café moído e submetido a extracção por água quente sob pressão atmosférica ou superior à atmosférica. Por este motivo, a sua composição difere da do café puro.

Habitualmente depositada no meio ambiente, sem qualquer controlo, ou utilizada como combustível para queima, este resíduo apresenta algumas desvantagens. No caso da aplicação como combustível, a presença de matéria mineral tem uma influência negativa na qualidade atmosférica, devido à libertação de partículas. Na deposição sem controlo, a desvantagem reside no desaproveitamento do elevado teor em matéria orgânica, passível de ser utilizado noutros processos ambientalmente e economicamente sustentáveis, como por exemplo a compostagem (Lourenço ,2010).

### 1.2.1. Teor de cinzas

A variação do teor de cinza presente na borra de café (0,43 – 0,91%), pode ser justificada pela ocorrência do processo de obtenção de café solúvel (Lago *et al.*, 2001). Também a presença de minerais (predominantemente o potássio, uma vez que o potássio, mineral mais abundante no café, e que constitui cerca de 40% das cinzas, seguido do fósforo e do magnésio) não é extraído na preparação do café solúvel, com adição de água, ao contrário da maioria dos minerais, que são facilmente extraídos) afecta o teor de cinzas na borra de café (cerca de 1,60%) (Mussato *et al.*, 2007b).

### 1.2.2. Teor de proteína

Nos únicos estudos encontrados na literatura sobre o teor de proteínas da borra de café, os valores variam entre os 6,7% e os 13,60% (Lago *et al.*, 2001; Mussato *et al.*, 2011a). Este resultado é explicado pela preparação do café com água, que extrai muitos dos componentes dos grãos, aumentando a proporção dos não-extraídos na amostra residual, entre estes, a proteína (Mussatto *et al.*, 2011a).

### 1.2.3. Hidratos de carbono

Na borra de café o teor de celulose é de 8,6% e o de hemicelulose é de 36,7% (Mussatto *et al.*, 2011b), variando o teor total de fibra de 39,47 a 56,06% (Lago *et al.*, 2001).

Relativamente à composição em açúcares redutores do resíduo resultante do café, a borra, esta foi avaliada por Simões *et al.* (2009) e por Mussatto *et al.* (2011a), encontrando-se os resultados na Tabela 1.2.

**Tabela 1.2** – Teor de açúcares presentes na borra de café, segundo dados bibliográficos.

| Açúcares Redutores | Teor de Açúcares (Borra café) | Referência            |
|--------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Manose             | 46,8 - 57%                    | Mussatto et al (2011) |
| Galactose          | 26 - 30,4%                    |                       |
| Glucose            | 11 - 19%                      | Simões et al. (2009)  |
| Arabinose          | 3,8 - 6%                      |                       |

Segundo Mussatto *et al.* (2011a), estas diferenças podem ser explicadas por uma variedade nos grãos, pelo processo de torrefacção e pelo processo extractivo.

#### 1.2.4. Óleos e gorduras

Estudos efectuados revelaram que o óleo proveniente da borra de café é rico em ácidos gordos insaturados, especialmente no ácido gordo linoléico (40,10 - 46,15%) e palmítico (32,10 - 36,69%), seguindo-se o oleico (9,27 - 10,74%) e o linolénico (0,36 - 2,18%). Dos ácidos gordos saturados presentes no óleo, o esteárico é aquele que apresenta maior percentagem (7,00 - 7,73%) seguido do ácido gordo araquídico (0,81 - 2,65%) e vestígios do ácido gordo behénico (0,62 - 0,75%) e valérico (0,48%) (Pereira *et al.*, 2009; Matos *et al.*, 2010). De acordo com a bibliografia, o óleo de café apresenta um índice de acidez entre os 4,3 e os 16,59 mg KOH/g amostra e um índice de iodo entre 85,5 e 98,5 g I<sub>2</sub>/ 100 g amostra, valores que variam mediante o processo extractivo tal como o solvente utilizado ((Matos *et al.*, 2010); (Lago 2001)).

### 1.3. Objectivos

A ideia da realização deste trabalho prende-se com a necessidade emergente de dar um destino adequado a um resíduo orgânico, a borra de café, que apresenta uma composição rica em hidratos de carbono e triglicerídeos e, por conseguinte, tem um potencial de valorização.

É com base no estudo da viabilidade de produção de biocombustíveis, a partir da matéria orgânica residual proveniente de diferentes cápsulas de café, que este trabalho visa contribuir para a resolução deste problema.

Numa primeira fase, pretende-se recuperar os dois constituintes das cápsulas de café usadas, os invólucros metálicos e a borra de café.

Numa segunda fase pretende-se avaliar a potencialidade da utilização do óleo extraído da borra, com recurso a diversos solventes, para a produção de biodiesel.

Finalmente, pretende-se estudar a potencialidade da utilização da borra extraída como matéria-prima para a produção de bioetanol.

A avaliação da composição em metais constituintes dos invólucros também constitui um dos objectivos deste trabalho, tendo em vista o seu futuro encaminhamento para reciclagem.

### 1.4. Estrutura da tese

Este trabalho encontra-se dividido em 5 capítulos onde são abordados os conteúdos necessários à compreensão do trabalho realizado.

O **Capítulo 1** apresenta uma pequena Introdução ao tema da Dissertação, bem como os seus objectivos.

No **Capítulo 2** é apresentado o Estado da arte, realçando a produção do biodiesel e do bioetanol e todos os elementos envolvidos nos mesmos (óleo, características, metodologias, entre outros).

No **Capítulo 3** é feita a Descrição experimental, na qual são referidos todos os procedimentos utilizados na caracterização da biomassa, extracção do óleo e sua caracterização, produção do biodiesel e produção do bioetanol.

O **Capítulo 4** é dedicado aos resultados experimentais obtidos e sua discussão no que diz respeito à caracterização da matéria-prima, à produção do biodiesel (extracção e caracterização do óleo, métodos produtivos, e caracterização do biodiesel), à produção do bioetanol (que inclui a caracterização do material lenho-celulósico, e as etapas para a sua produção e determinação dos açúcares) e, a caracterização dos invólucros metálicos.

No **Capítulo 5** são apresentadas as conclusões extraídas do estudo realizado, limitações encontradas e propostas para trabalhos futuros.

Em **Anexo** são apresentadas em detalhe as normas e procedimentos utilizados, bem como os resultados experimentais e exemplos de cálculo. São ainda apresentadas em anexo as fichas de segurança referentes aos reagentes utilizados para a realização do trabalho.

## 2. Estado da arte

A substituição dos combustíveis fósseis pelos combustíveis produzidos a partir da biomassa (os biocombustíveis), apresenta diversos tipos de implicações podendo ser descritos sob uma perspectiva socioeconómica e ambiental.

### 2.1. Perspectiva socioeconómica da utilização de biocombustíveis

Sem colocar em segundo plano o impacto ambiental, será no plano socioeconómico que este tipo de tecnologia terá efeitos imediatos.

Qualquer país, que opte pela utilização de biocombustíveis, poderá ver reduzida a sua dependência face aos combustíveis fósseis. A diminuição da procura do petróleo levará a uma diminuição dos preços, possibilitando o acesso a este tipo de energia por parte de países com menores recursos económicos (Santos, 2008).

A redução do défice, também é uma possibilidade resultante da implementação da energia verde e conseqüente independência fóssil. Isto porque, com o aumento do preço do petróleo, ocorre, por arrastamento, o aumento dos custos de outras actividades, que se encontram directa ou indirectamente ligadas, agravando o custo de vida da população (Marinho, 2007). Por outro lado, ocorrerá uma poupança nos cofres do Estado, face à diminuição das penalidades, resultantes do incumprimento das metas definidas pelo Protocolo de Quioto. O Protocolo de Quioto estabeleceu um acordo através do qual os países desenvolvidos têm a obrigação de reduzir, em pelo menos 5%, a quantidade de gases poluentes emitidos, até 2012, sendo esta percentagem variável entre os países signatários.

Em termos da matéria-prima, a sua grande variabilidade é uma mais-valia para a produção dos biocombustíveis. As plantas oleaginosas, são um exemplo de matéria-prima que pode ser cultivada sem grandes investimentos, permitindo que países menos desenvolvidos a possam produzir nos seus terrenos, melhorando a sua actividade económica Santos (2008). No entanto, o aumento da procura e produção da biomassa levará a uma competição com as culturas alimentares, pela utilização de solos, água e fertilizantes, levando a uma diminuição no stock alimentar e florestal. Conseqüentemente, o preço das colheitas sofrerá um aumento, dificultando a sua aquisição por parte de países com menor poder económico. (BCSD Portugal, 2008)

Em relação aos subprodutos e resíduos resultantes da fabricação de biocombustíveis, estes podem ser aplicados nos mais diversos campos (indústria alimentar, químico-farmacêutico, entre outras) rentabilizando os gastos aplicados (Santos, 2008).

Como qualquer actividade industrial, a produção de biomassa e dos biocombustíveis, trará um factor de desenvolvimento para a região. Este desenvolvimento resulta na criação de

novos postos de trabalho e, conseqüentemente, no crescimento e competitividade de novas empresas, criando riqueza (BCSD Portugal, 2008).

## 2.2. Perspectiva ambiental da utilização de biocombustíveis

Do ponto de vista ambiental, a utilização de biocombustíveis também pode trazer alguns benefícios.

Sendo as emissões dos Gases de Efeito de Estufa (GEE) prejudiciais e alvo de penalizações, uma das alternativas capaz de minimizar as emissões e tentar garantir o cumprimento de metas impostas pelo Protocolo de Quioto, é a utilização de biocombustíveis. A substituição dos combustíveis fósseis pelos combustíveis produzidos a partir da biomassa apresenta diversas vantagens, nomeadamente a diminuição do aquecimento global, dado que a queima dos combustíveis liberta dióxido de carbono e este é absorvido pelas plantas utilizadas como fonte de biomassa, matéria-prima na produção de biocombustíveis (EERE, 2011). As emissões dos GEE dependem do tipo de energia utilizada no cultivo e colheita da matéria-prima e na produção do combustível (EERE, 2011). Na Figura 2. 1, pode-se observar que o etanol produzido a partir de fontes celulósicas apresenta um potencial de redução de GEE em 86%, quando comparado com a gasolina.



**Figura 2. 1** – Redução da emissão dos Gases de efeito de Estufa pelos combustíveis e tipo de energia utilizada no seu processamento (adaptado de EERE, 2010b)

No entanto, os biocombustíveis não podem substituir na totalidade os combustíveis fósseis, uma vez que “a área necessária para a sua produção, implicaria uma redução da área agrícola, fundamental para a produção da matéria-prima utilizada para a produção de alimentos (...). A produção intensiva da matéria-prima para a produção de biocombustíveis leva, assim, a um esgotamento das capacidades do solo, o que pode ocasionar a destruição da fauna e flora natural (...)” (Santos, 2008).

Desde que se comece a comercializar combustíveis provenientes de matéria lenhoclulósica num futuro próximo e a biomassa provenha de solos regenerados e marginais e de resíduos agrícolas e industriais, é possível diminuir o negativismo descrito por Santos (BCSD Portugal, 2008).

### 2.3. Biodiesel

A produção de biodiesel resulta de uma reacção entre as gorduras (triglicérideos) e um álcool de baixo peso molecular (etanol ou metanol), na presença de um catalisador (Évora, 2010).

São diversas as matérias-primas que lhe podem dar origem, sendo a sua escolha derivada de factores como o clima, a geografia e a economia do país produtor (Ferrari *et al.*, 2005). O biodiesel pode ser produzido aproveitando óleos de origem animal (sebo bovino, gordura de aves, entre outros) ou vegetal (óleo de soja, palma, girassol, óleo residual, entre outros), sendo derivado de diversos monoalquilésteres de ácidos gordos, esteres metílicos (FAME) ou etílicos (FAEE) (EERE, 2010d). No caso da Europa, as matérias-primas mais utilizadas no fabrico deste biocombustível são a colza e os óleos residuais (Maurício, 2008), enquanto nos Estados Unidos da América a escolha recai no óleo de soja (EPA, 2009). Nos países tropicais, é o óleo de palma, a matéria-prima usual (Ferrari *et al.*, 2005).

Produzido em Portugal em grande escala desde 2006, o biodiesel tem como principal objectivo a substituição do combustível fóssil, o gasóleo (Prio Energy, 2011).

Essa substituição pode ser efectuada nas mais diversas proporções, seja na sua totalidade ou na forma combinada, com o diesel, sendo mundialmente representada pela sigla Bxx. A letra B representa a mistura entre o biodiesel e o diesel mineral, seguida de uma numeração (xx) representativa da percentagem em volume de Biodiesel utilizado, no caso de Portugal, a mistura máxima permitida é de 7%, segundo o Decreto-Lei nº142/2010, de 31 de Dezembro. Segundo a Prio Energy, uma empresa de produção e abastecimento de combustível em Portugal, a percentagem entre 10 (B10) a 30% (B30) de biodiesel é a mais favorável para o consumidor, não sendo necessário efectuar qualquer alteração nos equipamentos automobilísticos (Prio Energy, 2011).

De acordo com o EBB – European Biodiesel Board (2009a), “testes realizados por fabricantes de motores na União Europeia, em misturas com óleo diesel até 5-10%, ou a 25-30% e 100% puro, resultaram em garantias para cada tipo de uso”. Apenas para o B100, no caso de não haver garantia por parte do fabricante, o veículo necessitará que sejam efectuadas pequenas modificações nas tubagens.

### 2.3.1. Produção de biodiesel

Ao longo dos anos, com o aumento dos problemas ambientais e económicos relacionados com os combustíveis fósseis, muitos têm sido os países interessados em produzir e consumir o biodiesel. Na União Europeia, essa produção, iniciou-se, em grande escala, em 1992 (EBB, 2009a), sendo a Alemanha o país líder a nível europeu (Figura 2. 2).

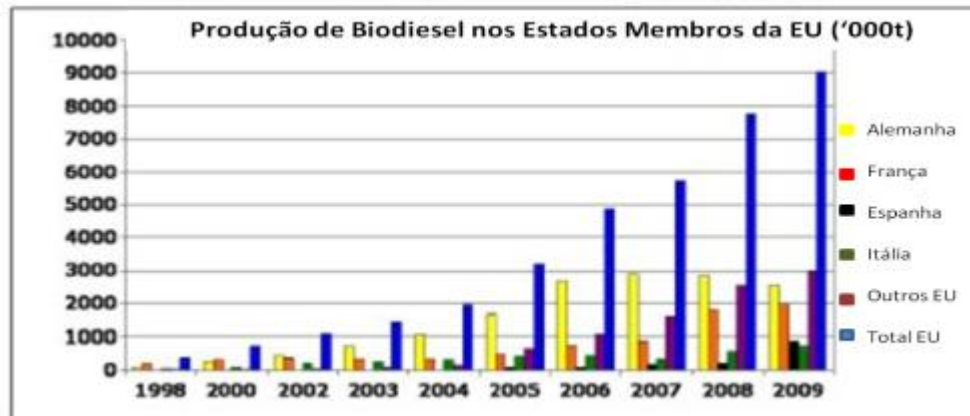


Figura 2. 2 – Produção de Biodiesel nos Estados-membros da União Europeia, ao longo dos anos (1998-2009) (EBB, 2009)

Actualmente são mais de 20, os estados-membros (Figura 2. 3) da European Biodiesel Board (EBB), que por sua vez integram mais de 120 empresas, tendo como objectivo a produção anual de 6,1 milhões de toneladas de biodiesel (EBB, 2009b).



Figura 2. 3 – Estados-membros da European Biodiesel Board (EBB, 2009)

A Alemanha e a França são os estados-membros que apresentaram uma maior produção a nível Europeu. No ano de 2009, produziram, respectivamente, cerca de 28,1 e 21,7% de biodiesel (Figura 2. 4). Ocorrendo um aumento de 16,6%, na totalidade de biodiesel produzido, quando comparado com o ano anterior (EBB, 2009a).



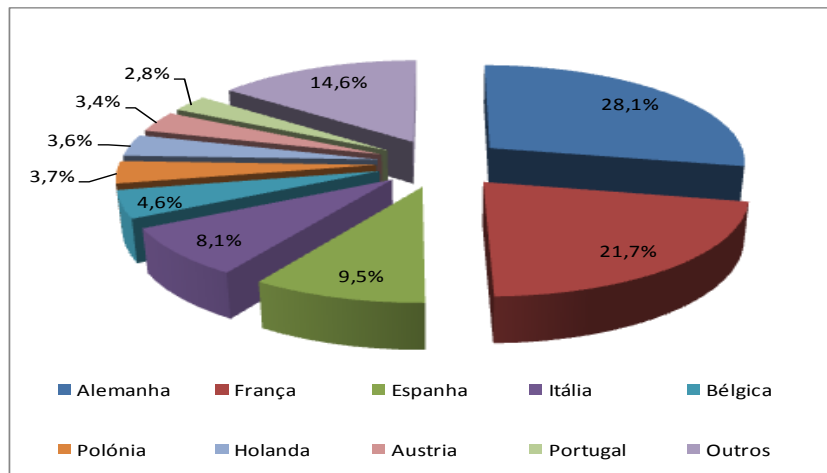


Figura 2. 4 – Principais países produtores em 2009 (EBB, 2009)

Em relação ao Brasil, um dos maiores produtores e consumidores de todo o mundo, foi no ano de 2005 que se deu o lançamento do programa Nacional de Biodiesel (PNPB), programa interministerial do Governo Federal, que tem como objectivo “a implementação sustentável, tanto técnica, como economicamente, a produção e uso do Biodiesel, com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento rural, via geração de emprego e renda.” (Portal do Biodiesel, 2011). No Brasil tem sido observado um aumento significativo da produção de biodiesel ao longo dos anos (Figura 2. 5).

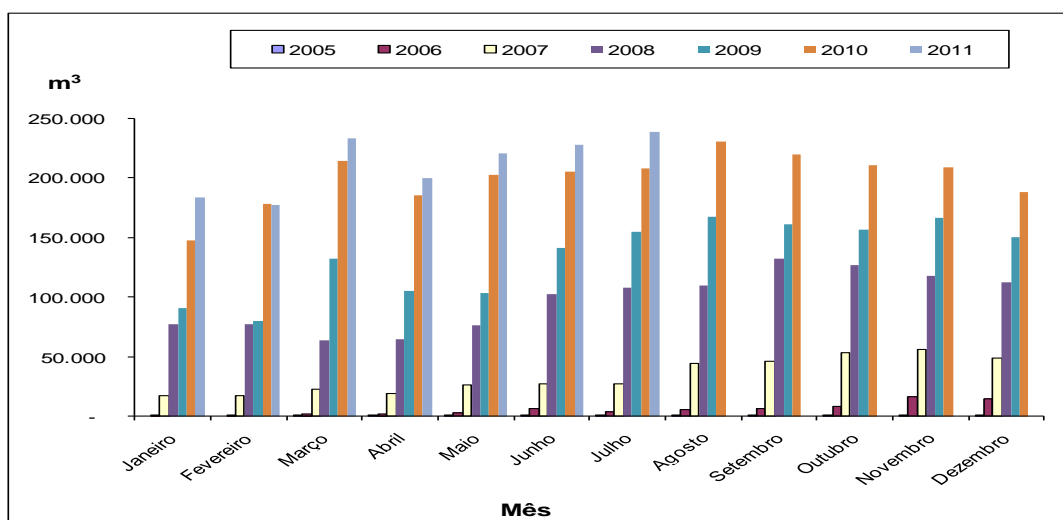


Figura 2. 5 – Produção mensal de Biodiesel no Brasil desde 2005 a 2011 (ANP, 2011).

### 2.3.2. Propriedades e especificações

Hoje em dia, a implementação do controlo de qualidade de um produto é uma ferramenta essencial, de forma a garantir a continuidade do mesmo no mercado existente. Para isso,

torna-se necessário cumprir todas as especificações técnicas desse mesmo produto (Rei, 2007).

No caso do Biodiesel, são diversos os parâmetros a avaliar, para que o combustível seja adequado para utilização nos motores, entre eles, o controlo dos parâmetros das matérias-primas (principalmente o óleo) e do processo de produção (Rei, 2007).

As determinações das propriedades físicas e químicas são efectuadas tendo em conta as normas da American Society for Testing and Materials (ASTM), do Comité Europeu de Normalização (CEN) e da International Organization for Standardization (ISO) (Maurício, 2008).

Mais especificamente, a norma EN 14214:2009, é a norma pela qual a Europa se rege, e que define os valores limite e quais as normas a serem utilizadas na avaliação dos parâmetros. Nos Estados Unidos da América, a norma em vigor é a ASTM D-6751 (IBEROL, 2007; Maurício, 2008)

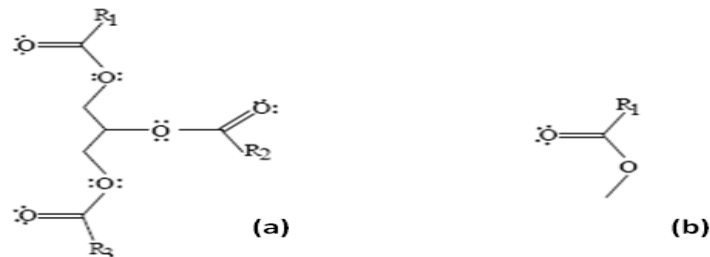
O incumprimento dos limites impostos pelas Normas em vigor resulta na falta de qualidade do biocombustível e, conseqüentemente na deterioração dos motores e componentes automobilísticos. A Tabela 2.1 apresenta alguns exemplos das conseqüências do incumprimento das especificações do biodiesel.

**Tabela 2.1** – Conseqüências resultantes do incumprimento dos valores limite impostos pela norma EN 14214 (adaptado de Felizardo, 2003 e Rei, 2007).

| Características do Combustível | Superior ao Valor Limite - Efeito   | Inferior ao Valor Limite - Efeito   |
|--------------------------------|---|---|
| Densidade                      | Mistura rica em ar/combustível - aumento da emissão de poluentes  | Perda de potência; Aumento do consumo de combustível                                    |
| Viscosidade                    | Pobre atomização do combustível; falhas nas bombas injectoras   | -----   |
| "Flash Point" e Metanol        | -----   | Combustão prematura; aumento das emissões e desgaste dos componentes do motor; Corrosão |
| Índice de Acidez               | Corrosão; Formação de depósitos e conseqüente entupimento dos filtros   | -----   |
| Numero de lodo                 | Formação de polímeros e conseqüente camada de resina no motor   | -----   |
| Índice de Cetanos              | Deficiente aproveitamento do potencial energético do combustível  | Perda de eficiência e mau funcionamento do motor  |
| Corrosividade ao Cobre         | Desgaste dos componentes e conseqüente durabilidade dos mesmos  | -----   |
| Glicerina total e livre        | Formação de depósitos de glicerina; entupimento de filtros, bombas e injectores.  |   |
| Teor de Sólidos                | A sua existência leva ao entupimento dos equipamentos.  |   |
| Água                           | Corrosão e formação de depósitos, com conseqüente aparecimento de bactérias; redução do desempenho e aumento do consumo |   |
| Teor de Cinzas                 | Formação de depósitos em diversos componentes; Diminuição do rendimento e durabilidade do motor                         |   |

### 2.3.3. Processo de produção de biodiesel

São diversos os processos que têm sido desenvolvidos e através dos quais se pode obter o biodiesel, entre eles o craqueamento térmico ou pirólise, as microemulsões, a esterificação e a transesterificação, tendo como objectivo a transformação das moléculas do óleo (triglicerídeos) em moléculas de esteres metílicos ou etílicos (Figura 2. 6) (Rei, 2007).



**Figura 2. 6** – (a) Molécula de álcool; (b) Molécula de Éster Metílico (Biodiesel) (Rei, 2007)

Sendo os métodos de transesterificação e esterificação os mais usuais a nível industrial (Oliveira *et al.*, 2008 e Évora, 2010) e tendo sido efectuadas, neste trabalho, experiências com os mesmos, apenas estes processos serão abordados.

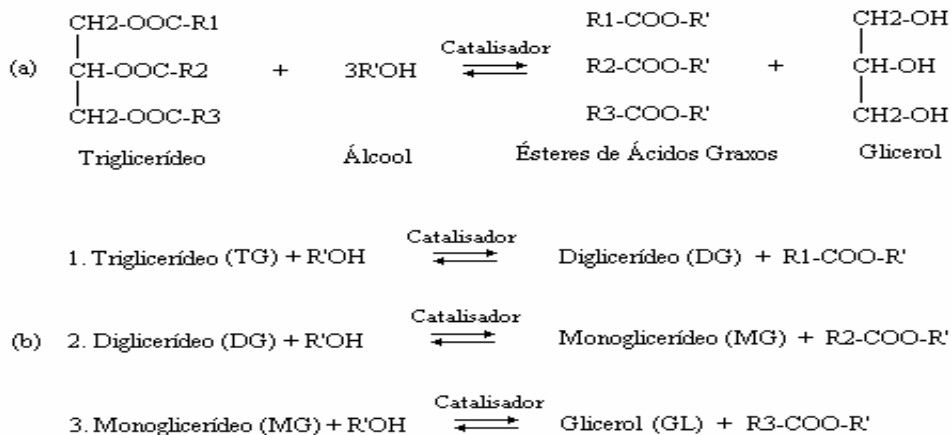
#### 2.3.3.1. Transesterificação

A Transesterificação ou Alcoólise é o processo que se apresenta como a melhor alternativa na produção de biodiesel, dado que os esteres resultantes exibem características muito próximas das características do diesel, combustível a ser substituído (Maurício, 2008). Consiste, de uma forma geral, na reacção que ocorre entre as gorduras e um álcool, na presença de um catalisador, dando origem aos ésteres e ao glicerol (Felizardo, 2003; Van Gerpen, 2005; Maurício, 2008; Évora, 2010). Para este processo, os óleos e gorduras mais utilizados são aqueles que apresentam uma acidez igual ou menor do que 1% e isenção de água (Gomes, 2009).

O processo compreende três reacções sequenciais e reversíveis (Figura 2. 7), em que os intermediários formados correspondem aos mono e diglicerídeos (Felizardo, 2003; Oliveira *et al.*, 2008; Maurício, 2008). Inicia-se com a conversão dos triglicerídeos em diglicerídeos, seguida da sua conversão em monoglicerídeos, que por sua vez convergem no glicerol, resultando uma molécula de éster metílico ou etílico (dependendo do álcool utilizado) em cada passo (Camargos, 2005). Dada a distinção entre os grupos R, os esteres resultantes também serão distintos entre si (Maurício, 2008).

Para que a reacção ocorra, são necessárias, para cada mole de triglicerídeos, três moles de álcool. Apesar desta estequiometria, dada a reversibilidade das equações, torna-se necessário aplicar um excesso de álcool, de modo a garantir a formação de esteres

(aumento do rendimento) e a separação do glicerol (Felizardo, 2003; Maurício, 2008; Oliveira *et al.*, 2008).



**Figura 2. 7** – Processo de Transesterificação. (a) Equação geral; (b) Três reacções consecutivas e reversíveis da transesterificação (Camargos, 2005)

- **Variáveis que afectam a reacção**

O processo de transesterificação, tal como muitos outros processos, é afectado por diversos parâmetros, entre os quais, o tipo de álcool e a razão molar entre ele e o óleo, o tipo de catalisador, o tempo e a temperatura de reacção, a velocidade de agitação aplicada e as características do óleo.

— **Tipo de álcool e razão álcool: óleo**

Dentre os vários tipos de álcoois existentes no mercado para o processo de transesterificação, a escolha recai nos que apresentam estruturas mais simples, como o metanol, o etanol, o propanol e o álcool amílico (Felizardo, 2003; Maurício, 2008). Dado o rendimento do processo de produção variar inversamente ao tamanho da estrutura alcoólica, os álcoois normalmente mais utilizados são o metanol e o etanol (Felizardo, 2003; Carvalho, 2007; Maurício, 2008).

A *Transesterificação Metílica* é realizada, como o próprio nome indica, com o uso do metanol. Esta metodologia é a mais usual em todo o mundo devido às características deste álcool, tais como: a cadeia simples e a sua alta polaridade; ser isento de água, logo não forma emulsões que dificultam a separação de fases; trata-se de um álcool de baixo custo, o que torna o processo menos dispendioso; não necessita de um tempo de reacção e uma temperatura elevados (65 °C); a razão molar álcool:óleo necessária é de 6 para 1 e a taxa de conversão em esteres é de 95-98% (Carvalho, 2007; Maurício, 2008; Sengo, 2008). No entanto, o metanol apresenta algumas desvantagens, entre elas: a sua alta toxicidade e volatilidade e a sua natureza não-renovável (Carvalho, 2007; Maurício, 2008).

A *Transesterificação Etilica*, comparada com a metílica, apresenta mais dificuldades na



Segundo Felizardo (2003) e Guo (2005), este tipo de catálise apresenta rendimentos elevados apesar de ser bastante lenta e necessitar de temperaturas de operação elevadas; o rendimento ronda os 99%, com mais de 3 horas de reacção e a uma temperatura superior a 100 °C (Felizardo, 2003). No entanto, Rei (2007) afirma que a transesterificação por catálise ácida deve ocorrer à pressão atmosférica e à temperatura de 60 °C. Carvalho (2007) também é um dos autores que contraria Felizardo (2003) e Guo (2005), afirmando que a conversão dos triglicerídeos em esteres é inferior comparativamente à obtida com catalisador básico, além de exigir quantidades de catalisador e razões molares de álcool e óleo mais elevadas (cerca de 30 para 1, segundo Camargos (2005) e 20 para 1 ou superior, para Van Gerpen *et al.* (2004)).

Além disso, pequenos resíduos de ácidos que possam permanecer em solução, poderão causar corrosão nos motores (Gomes, 2009).

Mas este processo não apresenta só limitações, algumas das vantagens existentes prendem-se com a dificuldade de se formarem sabões durante a reacção, além de não ser necessário seguir um determinado procedimento na aplicação do catalisador e do álcool, podendo ser aplicados em simultâneo, uma vez que o álcool (metanol) não reage com o ácido (Rei, 2007). A aplicação deste tipo de catalisador também permite elevar os rendimentos na produção de biodiesel, dado que os ácidos são capazes de converter os ácidos gordos livres em triglicerídeos, tal como já foi referido (Rei, 2007).

*A Transesterificação por Catálise Básica*, é o processo mais utilizado em todo o mundo, e a razão de tal escolha prende-se com a alta taxa de conversão dos triglicerídeos em esteres (cerca de 98%), ao custo dos catalisadores, à rapidez da reacção e à probabilidade diminuta de ocorrer corrosão nos equipamentos (Felizardo, 2003; Maurício, 2008).

Das diversas bases existentes, normalmente as mais aplicadas como catalisadores neste tipo de reacção, são o hidróxido de sódio (NaOH), o hidróxido de potássio (KOH) e o metóxido de sódio (NaOCH<sub>3</sub>) (Felizardo, 2003; Oliveira *et al.*, 2008; Maurício, 2008).

Segundo alguns autores citados por Freedman *et al.* (1984), a utilização de alcóxidos (metóxido de sódio é um dos exemplos) proporciona uma maior conversão em esteres (99%) do que o hidróxido de sódio (98%). Estudos efectuados pelo autor indicam que, para uma concentração de 0,5 % (m/m) de metóxido de sódio e uma razão molar de álcool e óleo de 6 para 1, os resultados são idênticos, quando comparada com a reacção catalisada por 1% (m/m) de NaOH. No entanto, no caso de a razão molar ser de 3 para 1, o metóxido de sódio torna-se mais eficiente. Felizardo (2003) também partilha da mesma opinião que Freedman, afirmando que este catalisador é capaz de proporcionar elevados rendimentos num curto espaço de tempo reaccional. No entanto, segundo o autor, este apresenta uma

desvantagem, a humidade. Quer o álcool, quer o óleo devem conter o menor teor de água possível, dada a sua capacidade de desactivar este catalisador.

Em relação aos outros catalisadores, NaOH e KOH, apesar de estes serem menos activos que o NaOCH<sub>3</sub>, são capazes de atingir a mesma taxa de conversão, quando aplicados em quantidades mais elevadas. O único inconveniente é a ocorrência de reacções de saponificação, que dificultam a separação e retirada do glicerol, quando adicionados ao álcool (Felizardo, 2003). Uma forma de se evitar essa reacção consiste na mistura prévia do catalisador com o metanol, seguindo-se a adição desta mistura ao álcool.

De uma forma geral, na utilização comum do NaOH e metanol, o processo decorre em dois passos: a formação de metóxido de sódio e a transesterificação (Rei, 2007). Inicialmente a adição da base ao álcool leva à formação do metóxido de sódio (Figura 2.9). Seguidamente, o metóxido reage com os triglicerídeos, resultando em duas fases distintas, o biodiesel e o glicerol.

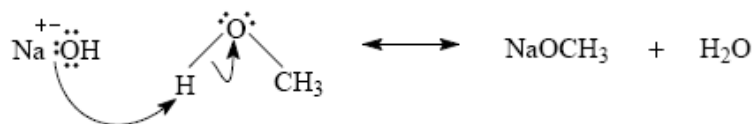


Figura 2.9 – Reacção de formação do Metóxido de Sódio (Rei, 2007).

### — Tempo de reacção, temperatura de reacção e velocidade de agitação

Outras variáveis importantes no processo de produção de Biodiesel são o tempo de reacção, a temperatura e a agitação aplicada.

Freedman *et al.* (1984), após ter efectuado alguns estudos, pode aferir que a taxa de conversão aumenta com o *tempo de reacção*, apresentando-se mais lenta no início do processo e tornando-se mais rápida ao longo do tempo, obtendo o rendimento máximo com tempos de reacção inferiores a 90 minutos. Alguns autores citados por Leung *et al.* (2010) afirmam que se o tempo de reacção for excessivo, existe a possibilidade de ocorrerem reacções de saponificação, com os ácidos gordos existentes, resultando numa diminuição do rendimento. Ma e Hanna (1999), num estudo efectuado com sebo de bovino e metanol, vieram comprovar, tal como Freedman, que o tempo de reacção afecta o processo produtivo. No caso destes autores, 15 minutos de reacção seria o tempo suficiente para a obtenção do rendimento máximo. Math *et al.* (2010) são outros autores, que recentemente confirmaram a influência do tempo de reacção na produção de biodiesel. Num estudo efectuado com uma mistura de 75% de óleos usados e 25% de gordura de porco, verificaram que o rendimento do processo aumenta com o aumento do tempo de reacção, até um valor máximo de 80% para um tempo reaccional de 90 min.

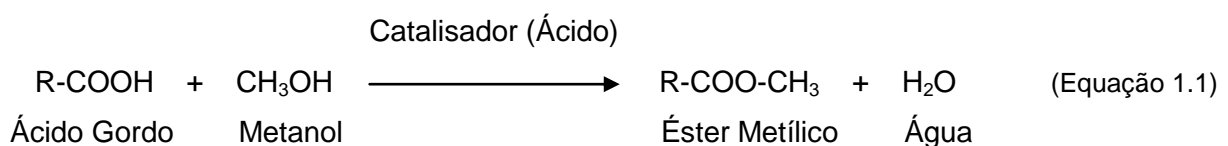
Em relação à *temperatura* utilizada, diversos trabalhos efectuados vieram demonstrar a influência deste parâmetro no rendimento da reacção. No estudo efectuado por Math *et al.* (2010) com a mistura de óleos usados e gordura de porco, os resultados obtidos indicaram um maior rendimento (80%) para a temperatura de 65 °C, quando comparada com as temperaturas de 55 e 60 °C, todas elas próximas da temperatura de ebulição do metanol (64,5 °C (Merck, 2009)). Freedman *et al.*, em 1984, com o seu estudo sobre o óleo de soja, puderam aferir que ao final de 0,1 h o maior rendimento (94%) era obtido com a temperatura de 60 °C, temperatura próxima do ponto de ebulição do álcool utilizado, o metanol. No entanto, ao final de uma hora, um ensaio que decorria a uma temperatura de 40 °C, igualou o seu rendimento com o de 60 °C. E, ao final de 4h, o rendimento de um ensaio efectuado a 32 °C ultrapassou o rendimento obtido nos outros dois casos. Estes resultados indicam que é possível obter altos rendimentos a baixas temperaturas, necessitando de um tempo reaccional mais elevado. Para um tempo reaccional diminuto o aconselhável seria, segundo os resultados, uma temperatura próxima do ponto de ebulição do álcool. Segundo autores referidos por Leung *et al.* (2010), temperaturas superiores à temperatura ideal, não são as mais aconselháveis, dado que o rendimento diminuiria e as reacções de saponificação seriam privilegiadas.

Por fim, a *agitação*, parâmetro de grande importância para a ocorrência da reacção. Segundo Rezende (2009), sem a agitação, seria mais difícil misturar os diversos reagentes, óleos e álcoois (metanol), uma vez que são imiscíveis. Para D'Orey (2009), “o tempo necessário para que a reacção atinja o equilíbrio é tanto maior quanto menor a agitação do meio reaccional.”

### 2.3.3.2. Esterificação

Tal como já havia sido referido, o processo de transterificação é o processo mais comum em todo mundo. Nos ultimos tempos e com a necessidade de aproveitar residuos com alto teor em ácidos gordos, diversos estudos têm sido efectuados, entre os quais a conjugação do processo de esterificação com a transesterificação.

A reacção de Esterificação consiste na reacção de ácidos gordos com um álcool de baixo peso molecular e aplicando um ácido no meio reaccional. Desta reacção resultam esteres metílicos ou etílicos e uma molécula de água (Felizardo, 2003; Évora, 2010).





Este processo apresenta uma vantagem em relação à transesterificação propriamente dita. Enquanto na transesterificação, as gorduras e óleos devem apresentar uma acidez menor ou igual a 1, a esterificação permite a utilização de todos os tipos de gorduras, inclusive as residuais, que apresentam um alto teor em ácidos gordos e, conseqüentemente, um elevado índice de acidez (Mauricio, 2008; Évora, 2010).

A utilização da esterificação permitirá diminuir o índice de acidez para valores compatíveis aos recomendáveis para a produção de biodiesel. No entanto, apresenta dois inconvenientes, o tempo reaccional é longo e a formação de moléculas de água, que podem induzir a inversão na reacção de produção de biodiesel (ésteres) (Rei, 2007; Évora, 2010).

### **2.3.3.3. Separação de fases e purificação**

Tal como Felizardo (2003) afirma, “Difícilmente qualquer reacção química reversível (...), consegue ser completa e por isso os produtos da reacção pretendidos (ésteres) encontram-se contaminados com outros compostos”. Entre eles, além do glicerol e do biodiesel, pode-se encontrar resíduos de catalisador, de álcool, de glicerídeos que não tenham reagido por completo, resíduos de reacções de saponificação (Felizardo, 2003; Rei, 2007; Leung *et al.*, 2010). O glicerol é aquele que apresenta uma maior densidade, permitindo a separação entre este e o biodiesel. Ao fim de 10 minutos é possível visualizar o início da separação, podendo ser efectuada por decantação ou centrifugação (Leung *et al.*, 2010). A facilidade de separação do glicerol encontra-se dependente do álcool utilizado na reacção Santos (2010). Para o glicerol resultante de uma reacção na presença de metanol, a separação ocorre de forma mais simples, podendo-se utilizar uma simples decantação. No entanto, para o glicerol etílico, é necessário efectuar algumas etapas, para que seja possível efectuar a separação (Santos, 2010). Neste ultimo caso, devido à necessidade de isenção de água por parte do álcool e óleo e à facilidade com que ocorrem reacções de saponificação, aumenta a dificuldade de separação.

Após a separação de fases e com o objectivo de cumprir os valores limite impostos pela norma EN 14214:2009, o teor de ésteres deve ser maior ou igual a 96,5% da totalidade do biodiesel, o que implica a sua purificação (Felizardo, 2003). Para efectuar a purificação dos ésteres, procede-se a processos de lavagem com água acidificada, seguindo-se um processo de secagem e uma filtração.

### **2.3.4. Produção de biodiesel a partir de óleo de café ou de borra de café**

Apesar de já terem sido efectuados alguns estudos sobre a produção de biodiesel, envolvendo o óleo de café ou do seu resíduo, a borra, serão apresentados neste subcapítulo

alguns resultados obtidos para diferentes tipos de óleos, de forma a ser possível efectuar algumas comparações. Iniciando a revisão bibliográfica pela produção de biodiesel a partir de diversas matrizes, como o óleo de soja, girassol, entre outros, será efectuado no final um pequeno resumo das características e resultados para uma melhor compreensão.

A tabela 2.2 e 2.3 apresenta as condições reaccionais e algumas das características obtidas para o biodiesel e os esteres, segundo alguns autores.

**Tabela 2. 2** – Características do Biodiesel de Soja e Girassol e condições reaccionais para a sua produção.

| Condições Operacionais                       | Biodiesel de Soja          |                         | Biodiesel de Girassol |
|--|----------------------------|-------------------------|-----------------------|
|  | Ferrari et al. (2005)      | Bernardes et al. (2007) | Souza et al. (2005)   |
| Óleo / Processo                              | Óleo (3L)                  | Transesterificação      | Transesterificação    |
| Álcool                                       | Etanol Anidro (1,5L)       | Metanol (6:1)           | Etanol Anidro         |
| Catalisador                                  | NaOH (15g)                 | KOH (6%)                | NaOH                  |
| Tempo Reaccional                             | 5 min                      | ----                    | ----                  |
| Temperatura                                  | 45°C                       | 50°C                    | 45°C                  |
| Rendimento                                   | 57,26%                     | 92%                     | -----                 |
| Características                              |                            | Resultados              |                       |
| Aspecto Visual                               | Límpido e isento impurezas |                         |                       |
| Cor ASTM. Máx.                               | 2,0                        |                         | ----                  |
| Enxofre Total (%)                            | <0,075                     |                         | não detectado         |
| Massa específica a 20°C (kg/m <sup>3</sup> ) | 877,5                      |                         | 952,6                 |
| Índice de Cetanos, min                       | 57,8                       |                         | ----                  |
| Resíduo de Carbono (%)                       | 0,14                       |                         | 0,35                  |
| Índice de acidez (mg KOH/g)                  | 0,5                        | ----                    | ----                  |
| Índice de Iodo (g I/100g)                    | 104,45                     |                         | ----                  |
| Cinzas (%)                                   | 0,006                      |                         | 0,01                  |
| % Glicerina Livre                            | 0,0109                     |                         | 0,0046                |
| Ponto de entupimento a frio (°C)             | ----                       |                         | -6                    |
| Água e Sedimentos (%)                        | ----                       |                         | 0                     |

**Tabela 2. 3** – Composição média dos esteres etílicos de ácidos gordos do biodiesel de soja (Adaptado de Ferrari *et al.*, 2005)

| Nº de Carbonos | Ácido Gordo | Concentração (%) |
|----------------|-------------|------------------|
| C16:0          | Palmítico   | 11,29            |
| C18:0          | Estearico   | 3,5              |
| C18:1          | Oleico      | 22,45            |
| C18:2          | Linoleico   | 54,62            |
| C18:3          | Linolénico  | 8,11             |

Na avaliação da viabilidade de produção de biodiesel a partir de óleos com alto teor de ácidos gordos, nos quais se podem incluir os óleos alimentares usados, alguns trabalhos têm vindo a ser efectuados. Rei, em 2007, no âmbito do seu estágio, teve como objectivo a elaboração de um controlo de qualidade do biodiesel. Para isso, pode avaliar as

características de diferentes amostras de Biodiesel, produzidas a partir de óleos de fritura usados, fazendo variar a razão molar metanol:óleo entre 3,6 e 5,4 e a quantidade de catalisador (NaOH) entre os 0,2 e 1,0% (m/m), com um tempo de reacção de 1h e uma temperatura entre os 65-68 °C. De todas as produções efectuadas foram obtidos rendimentos entre os 62 e os 92%. Os melhores resultados foram obtidos com a utilização de 0,6% de catalisador e de uma razão molar metanol/óleo entre os 4,2 e 4,8.

Em 2010, Math *et al.* utilizaram uma mistura de óleos usados (75%) e gordura de porco (25%). Inicialmente a mistura de óleos sofreu uma esterificação durante 1h a 50 °C, com 1,5% (v/v) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, seguida de uma transesterificação utilizando uma temperatura de 65 °C, um tempo de reacção de 90 min, 0,3% (m/m) de NaOH e 40% (v/v) de metanol. Como resultado final, foi possível produzir biodiesel com um rendimento de 80%.

Fukuda *et al.* (2001) fizeram um resumo dos resultados obtidos por diversos autores sobre as características do biodiesel produzido por diversas matérias-primas (Tabela 2.4).

**Tabela 2. 4** – Algumas características físico-químicas do biodiesel produzido a partir de diversas matrizes.

| Ester Metílico de óleo vegetal | Viscosidade Cinemática (mm <sup>2</sup> /s) | Nº Cetanos | PCI (MJ/l)  | Ponto nuvem (°C) | Ponto Inflamação (°C) | Densidade (g/l)      |
|--------------------------------|---|------------|-------------|------------------|-----------------------|----------------------|
| Amendoim                       | 4,9 (37,8°C)                                | 54         | 33,6        | 5                | 176                   | 0,883                |
| Soja                           | 4,0 - 4,5 (37,8 - 40°C)                     | 45 - 56    | 32,7 - 33,5 | 1                | 178                   | 0,880 - 0,885        |
| Babaçu                         | 3,6 (37,8°C)                                | 63         | 31,8        | 4                | 127                   | 0,879                |
| Palma                          | 4,3-4,5 (40°C) ;<br>5,7 (37,8°C)            | 62 - 70    | 32,4 - 33,5 | 13               | 164                   | 0,872 - 0,880        |
| Girassol                       | 4,6 (37,8°C)                                | 49         | 33,5        | 1                | 183                   | 0,860                |
| Sebo                           | ----  | ----       | ----        | 12               | 96                    | ----                 |
| Colza                          | 4,2 (40°C)                                  | 51-59,7    | 32,8        | ----             | ----                  | 0,882 (15°C)         |
| Colza usada                    | 9,48 (30°C)                                 | 53         | 36,7        | ----             | 192                   | 0,895                |
| Oleo Milho usado               | 6,23 (30°C)                                 | 63,9       | 42,3        | ----             | 166                   | 0,884                |
| Diesel                         | 1,2 - 3,5 (40°C)                            | 51         | 35,5        | ----             | ----                  | 0,830 - 0,840 (15°C) |

Tendo como base a produção de biodiesel a partir do óleo de café, ao longo dos últimos anos, têm sido efectuados diversos estudos. Camargos (2005) estudou a viabilidade da conversão do óleo de café sadio e com defeitos (PVA) em biodiesel. Para isso foram testadas reacções de transesterificação usando como álcool, o metanol e o etanol, e como catalisador o metóxido de sódio e o ácido sulfúrico, a diferentes temperaturas (25 e 50 °C) e diferentes tempos de reacção (0,5 h; 1 h; 2 h).

De todos os resultados, os que apresentaram a maior taxa de conversão, café sadio (71%) e PVA (74,37%), corresponderam à transesterificação realizada com uma razão molar metanol:óleo de 6 para 1, na presença de metóxido de sódio (1%), durante 1h, a 25 °C. Após purificação do biodiesel obtido foram efectuadas diversas análises das suas características (Tabela 2.5)

**Tabela 2. 5** – Propriedades do biodiesel produzido a partir de café sadio e PVA, com metanol, 1h de reacção (adaptado de Camargos, 2005).

| Características                             | Biodiesel deCafé Sadio | Biodiesel de Café PVA |
|---|------------------------|-----------------------|
| Viscosidade Cinemática (mm <sup>2</sup> /s) | 3                      | 8                     |
| Massa específica (kg/m <sup>3</sup> )       | 892,5                  | 894,1                 |
| PCS (kJ/kg)                                 | 38498                  | 38414                 |

Borre *et al.* (2007), num estudo efectuado com a borra de café, puderam verificar que a transesterificação directa deste resíduo apresentava resultados bastante satisfatórios para a investigação sobre o Biodiesel e suas matérias-primas. Com recurso à ressonancia magnética nuclear de hidrogénio puderam avaliar todos os resultados obtidos na caracterização.

A transesterificação decorreu na presença de um catalisador ácido, não especificado pelos autores, e de um álcool, o metanol e o etanol. Tendo definido como tempo de reacção 180 min (3 horas) e uma temperatura dependente do álcool utilizado, 66 °C para o metanol e 72 °C para o etanol, além de diversas razões molares óleo:álcool (1:30; 1:60; 1:500; 1:720; 1:1000; 1:1440) e quantidades de catalisador (4 g e 1% (v/v)). Como resultados foram obtidos rendimentos bastante elevados, obtendo a taxa de conversão mais elevada, na utilização do óleo de borra, com a utilização de 4 g de catalisador ácido e uma razão molar de óleo: metanol de 1 para 720, valor bastante elevado para o álcool.

Kondamudi *et al.*, em 2008, optaram por efectuar um estudo sobre a transesterificação da borra de café e a sua optimização, variando as quantidades de metanol, KOH e o tempo de reacção de forma a obterem a taxa de conversão máxima. Do estudo efectuado puderam concluir que a utilização de 40% (v/v) de metanol e 1,5% (m/m) de KOH, a uma temperatura de aproximadamente 70 °C originava um rendimento de 100%. Após o processo efectuaram a caracterização do biodiesel produzido em relação aos esteres (Figura 2. 10) e às suas propriedades físicas e químicas (Tabela 2.6).

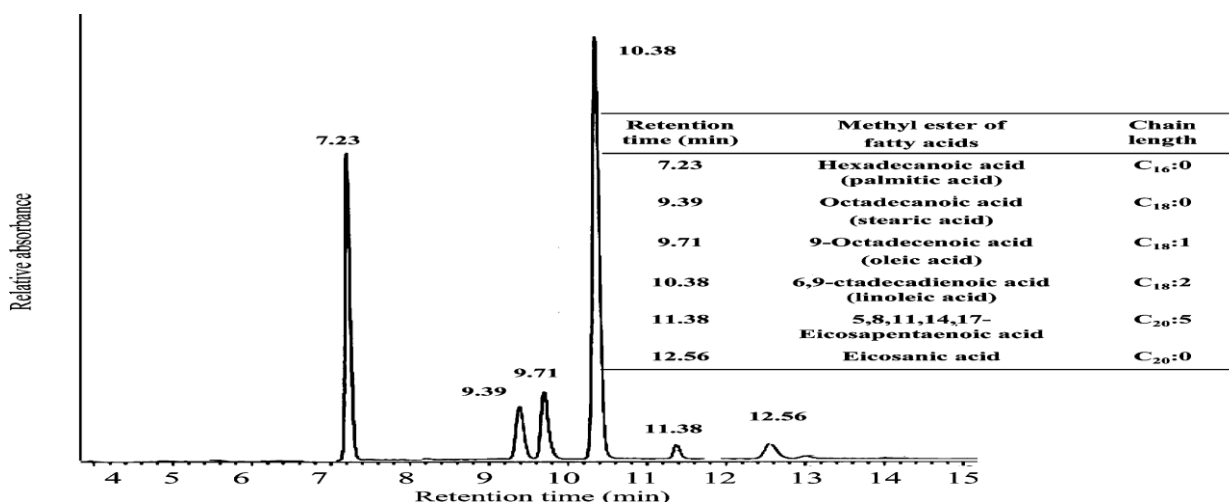


Figura 2. 10 – Análise em GC dos esteres presentes no Biodiesel proveniente do óleo da borra de café (adaptado: Kondamudi *et al.*, 2008).

Tabela 2. 6 – Caracterização do Biodiesel proveniente do óleo da borra de café (adaptado: Kondamudi *et al.*, 2008)

| Características             | Método      | Limite     | Resultados |
|-----------------------------|-------------|------------|------------|
| Glicerina Livre (% m/m)     | ASTM D 6584 | max. 0,020 | 0,006      |
| Monoglicerídeos (% m/m)     | ASTM D 6584 | ----       | 0,076      |
| Diglicerídeos (% m/m)       | ASTM D 6584 | ----       | 0,027      |
| Triglicerídeos (% m/m)      | ASTM D 6584 | ----       | 0,000      |
| Glicerina Total (% m/m)     | ASTM D 93   | máx. 0,240 | 0,109      |
| Fósforo (ppm)               | ASTM D 4591 | máx. 10    | 2,0        |
| Ca + Mg (ppm)               | EN 14538    | máx. 5     | 2,0        |
| Na + K (ppm)                | EN 15438    | máx. 5     | 2,0        |
| Viscosidade (40°C)          | ASTM D 445  | 1,9 - 6,0  | 5,84       |
| Índice de Acidez (mg KOH/g) | ASTM D 664  | máx. 0,50  | 0,35       |
| Estabilidade Oxidativa (h)  | EN 14112    | min. 3,00  | 3,05       |
| Ponto nuvem (°C)            | ASTM D 2500 | ----       | 11,0       |
| Ponto Fluidez (°C)          | ASTM D 97   | ----       | 2,0        |
| Enxofre (ppm) - UV          | ASTM D 5453 | 15         | 8,0        |

Na Tabela 2.7 encontra-se representado um resumo das condições operatórias utilizadas para a produção de biodiesel a partir de algumas matérias-primas.

**Tabela 2. 7** – Resumo de algumas condições operatórias utilizadas na produção de biodiesel, para diferentes matérias-primas.

| Óleo                                      | Álcool        | Razão Álcool:Óleo        | Catalisador                                    | Quantidade Catalisador | Tempo de Reacção | Temperatura (°C) | Rendimento (%) | Referências            |
|---|---------------|--------------------------|--|------------------------|------------------|------------------|----------------|------------------------|
| Soja                                      | Etanol anidro | 0,5 : 1                  | NaOH   | 5g/L óleo              | 5                | 45               | 57,26          | Ferrari et al., 2004   |
| Soja                                      | Metanol       | 6 : 1                    | KOH  | 6%                     | -----            | 50               | 92             | Bernardes et al., 2007 |
| Girassol                                  | Etanol Anidro | -----                    | NaOH   | -----                  | -----            | 45               | -----          | Souza et al., 2005     |
| óleo fritural usado                       | Metanol       | 4,2 a 4,8 (metanol/óleo) | NaOH   | 0,60%                  | 60               | 65-68            | 92             | Rei, 2007              |
| óleo usado (75%) e<br>gordura Porco (25%) | Metanol       | 40% (v/v)                | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (esterificação) | 1,5% (v/v)             | 60               | 50               | 80             | Math et al., 2010      |
|   |               |                          | NaOH (transesterificação)                      | 0,3% (m/m)             | 90               | 65               |                |                        |
| óleo vegetal residual                     | Metanol       | 9:1                      | KOH  | 1% (m/m)               | 60               | 65               | 98,16          | Refaat et al., 2008    |
| Café Sadio                                | Metanol       | 6 : 1                    | NaOCH <sub>3</sub>                             | 1%                     | 60               | 25               | 71             | Camargos, 2005         |
| Café PVA                                  |               |                          |  |                        |                  |                  | 74,37          | Camargos, 2005         |
| Borra de Café                             | Metanol       | 720:1                    | ácido  | 4g                     | 180              | 65               | >99            | Borre et al., 2007     |
| Borra de Café                             | Metanol       | 40% (v/v)                | KOH  | 1,5% (m/m)             | -----            | ≈70              | 100            | Kondamudi et al., 2008 |

## 2.4. O óleo de café

Em relação ao teor de óleo, ele varia conforme a matéria-prima usada. Na Tabela 2. 8 apresentam-se alguns resultados obtidos para diversas matérias-primas, incluindo o café.

**Tabela 2. 8** – Matérias-primas e o seu conteúdo lipídico (Camargos, 2005).

| Matéria-prima          | Teor Óleo (%) | Matéria-prima    | Teor Óleo (%) |
|------------------------|---------------|------------------|---------------|
| Copra                  | 66 - 68       | Girassol         | 35 - 45       |
| Babaçu                 | 60 - 65       | Açafrão          | 30 - 35       |
| Gergelim               | 50 - 55       | Oliva            | 25 - 30       |
| Polpa de Palma (dendê) | 45 - 50       | Algodão          | 18 - 20       |
| Caroço de Palma        | 45 - 50       | Soja             | 18 - 20       |
| Amendoim               | 45 - 50       | café cru arabica | 15            |
| Colza                  | 40 - 45       | Café cru Robusta | 10            |

#### 2.4.1. Determinação do teor de óleo

A recuperação de um ou mais componentes, existentes numa matriz complexa, visando a valorização da matéria-prima, é um dos grandes objectivos que leva a aplicação da tecnologia de separação em larga escala nas indústrias (Grandison e Lewis, 1996).

Diversas matérias-primas (algumas plantas) apresentam grande valor económico devido aos seus componentes líquidos, os óleos, passíveis de serem separados pela utilização de prensas ou outros processos de extracção (Grandison e Lewis, 1996).

Em qualquer matriz a extracção do óleo pode ser efectuada de várias formas, com adição de um solvente, por um fluido supercrítico ou por prensagem. Abordar-se-ão de seguida as principais tecnologias de extracção de óleo do café.

#### 2.4.2. Extracção mecânica

A extracção mecânica, um dos processos mais antigos de extracção, proporciona a separação de compostos através da aplicação de forças de compressão. No entanto, apresenta como inconveniente a elevada temperatura gerada pela prensagem, podendo danificar a qualidade do óleo (Guedes, 2006). Este processo pode ser aplicado nas mais diversas situações, tais como a extracção de sumos de frutas, vinho, ou extracção de óleos (Guedes, 2006).

No caso do café, foram efectuados alguns estudos, encontrando-se descritas na Tabela 2. 9 as condições utilizadas e o respectivo autor.

**Tabela 2. 9** – Extracção mecânica do óleo de café (Turatti, 2001).

| Matéria-Prima | Técnica   | Características                       | Teor óleo (%) | Referências    |
|---------------|-----------|---------------------------------------|---------------|----------------|
| Café Verde    | Prensagem | Prensa Contínua de 40kg/L capacidade  | 3,90%         | Turatti (2001) |
|               |           | Prensa Contínua de 100kg/h capacidade | 3,29%         |                |
| Café Torrado  |           | Prensa Contínua de 100kg/h capacidade | 10,5%         |                |

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 2.9, é possível observar uma elevação do rendimento quando se trata do café torrado. Segundo Turatti (2001) e Camargos (2005), esse aumento é resultado do enfraquecimento da estrutura do grão pelo calor da torrefacção, facilitando a extracção do óleo.

### **2.4.3. Extracção com adição de um solvente - Soxhlet**

A extracção sólido-líquido, também designada por lixiviação (Pombeiro, 2003) tem como objectivo a recuperação de um ou mais componentes presentes numa matriz sólida, com auxílio de uma fase líquida (solvente) (Guedes, 2006; Lopes *et al.*, 2007). Segundo Grandison e Lewis (1996), este método baseia-se numa solubilidade selectiva.

Para Maul (1999), o processo apresenta alguns inconvenientes, tal como a impossibilidade de remover na totalidade o solvente, sem elevados gastos energéticos e, conseqüentemente, elevados gastos monetários. Outro inconveniente, segundo o autor, consiste na possível alteração química do material, originada pelos solventes utilizados, impossibilitando a sua aplicação para fins sensoriais ou farmacêuticos.

A matéria-prima, antes de ser submetida à extracção e, dependendo das suas características, pode ser submetida a uma etapa de pré-tratamento (trituração, moagem e secagem). Esta etapa é dependente do tamanho das partículas existentes na matriz, da distribuição e da proporção dos constituintes solúveis (Lopes *et al.*, 2007).

Após a trituração, os constituintes encontram-se uniformemente distribuídos pelo exterior e interior das células, permitindo a sua remoção em duas etapas, a dissolução (etapa mais rápida e que decorre na camada externa) e a difusão, etapa de velocidade mais lenta que decorre na camada interna (Guedes, 2006).

Segundo Lopes *et al.* (2007), a velocidade de extracção é influenciada por diversos factores, entre eles a temperatura utilizada na extracção, a concentração de solvente, dimensões de partículas, agitação do fluido e a porosidade e distribuição dos poros.

Em relação à temperatura, esta varia linearmente com a velocidade de extracção e a difusividade. No entanto, com a viscosidade a relação é contrária, dado que, quanto maior for o valor da temperatura, menor será a viscosidade do solvente (Lopes *et al.*, 2007).

Para este parâmetro, o valor máximo é atingido quando o sistema atinge o ponto de ebulição do solvente e a estabilidade dos produtos (Lopes *et al.*, 2007).

Relativamente às dimensões das partículas, estas tornam-se importantes para a determinação da velocidade de extracção. Quanto menor a sua dimensão, maior é a área de superfície contactável, no entanto se a dimensão for demasiado diminuta, a circulação do solvente torna-se mais difícil (Lopes *et al.*, 2007).



Por fim, a agitação é um parâmetro processual que permitirá uma melhor difusão do constituinte pela fase líquida e impedirá a sedimentação das partículas, tornando mais acessível a área de contacto entre estas e o solvente (Lopes *et al.*, 2007).

Além de todos estes parâmetros, a escolha do solvente também é importante. Segundo Camargos (2005), um dos solventes possíveis a usar na extração do óleo de café (grãos torrados, crus e borras) é o éter de petróleo. No entanto, além de ser necessário um grande número de horas para o término do processo, o resultado pode variar devido ao grau de moagem utilizado.

Bates e Schaefer (1971) afirmam que a escolha de um solvente deve ter em conta as seguintes características: o solvente deve possuir uma baixa solubilidade em água; um baixo ponto de ebulição, de forma a tornar mais fácil a sua remoção; e uma elevada capacidade na solubilização dos componentes a remover.

O hexano é um dos solventes que apresenta essas características, tornando-o um dos mais utilizados em todo o mundo. Mas, segundo Freitas *et al.* (2000) e Anthonisen *et al.* (2006), a sua alta inflamabilidade e alta toxicidade para o meio ambiente e o homem, têm levado à procura de novas alternativas. E, são diversos os autores que têm investigado essas alternativas. A Tabela 2.10 apresenta alguns desses estudos, efectuados com diferentes tipos de café e diferentes solventes.

Sem ter em conta os processos utilizados e todos os seus intervenientes, o café verde (V) é aquele que apresenta menor teor de óleo (5,61-6,39%), sofrendo um aumento após o processo de torrefacção (VP) (6,93 a 15,40%). A presença de grãos defeituosos (V, VP, ou PVA), também implica uma alteração do teor de óleo, obtendo-se valores entre 9,50 e 11,17%. Para Speer e Kölling-Speer (2006), o rendimento obtido depende das mais diversas condições, tais como a composição do grão, as condições da extração (solvente, tempo, temperatura) e a dimensão das partículas.

Já Couto *et al.* (2009) afirma que a diferença do teor de óleo entre a borra e o café se deve ao tratamento que o café sofre, com a água/vapor, provocando a migração dos lípidos para a borra.

Mas, é na borra de café que as variações são mais significativas, variando o teor de óleo entre 7,53 e 65,91%.

**Tabela 2.10** – Características operacionais aplicadas na extracção de óleo de café.

| Matéria Prima  | Técnica  | Solvente   | Tempo Reacção | Temp. (°C)   | Destilação                           | Teor Óleo                                       | Referências            |
|--|--|--|---------------|--------------|--------------------------------------|---|------------------------|
| Café Verde ou Cru (V)<br>Café Preto e cru (VP)<br>Café Sadio | Extracção Soxhlet  | Hexano   | -             | -            | -                                    | 11,71%<br>11,04%<br>12,98%                      | Mazzafera (1999)       |
| Café "arabica"   | Extracção  | Éter Petróleo  | 16            | -            | -                                    | 8,09 - 10,18%                                   | Scholz et al. (2000)   |
| Café Sadio<br>Café PVA                                       | Extracção Soxhlet  | Hexano (2L/g óleo)   | 16            | 80           | Evaporador rotativo (vácuo a 70°C)   | 12,00%<br>9,50%                                 | Camargos (2005)        |
| Café "Robusta"   | Extracção Butt (AOCS)                                    | Etanol 20%(m/m)  | 16            | 70 - 75      | Evaporador rotativo (vácuo a 60°C)   | 10,5 ± 0,15%                                    | Freitas e Lago (2007)  |
| Café Torrado "arabica"<br>Café Torrado "canephora"           | Extracção Soxhlet  | n-pentano (10,8mL/g)   | 4             | -            | -                                    | 15,40%<br>8,50%                                 | Ferrari et al. (2010)  |
| Café Verde<br>Café Torrado<br>Borra café (base seca)         | Extracção Soxhlet  | Eter Petróleo  | 16            | -            | Evaporador rotativo e fluxo de Azoto | 5,61 - 6,39%<br>6,93 - 11,12%<br>19,9 - 27,16 % | Lago et al. (2001)     |
| Borra café (base seca)                                       | Extracção Soxhlet  | Hexano (3mL/g)<br>Eter (3mL/g)<br>Diclorometano (3mL/g)          | 1             | -            | Evaporador rotativo (vácuo)          | 13,40%<br>14,60%<br>15,20%                      | Kondamudi et al.(2008) |
| Borra café (base seca)                                       | Extracção a frio Ultrassom<br>Extracção a frio Ultrassom | Hexano (Solvente: Borra - 3:1)<br>Etanol (Solvente: Borra - 3:1) | -<br>-        | -<br>-       | Evaporador rotativo (vácuo)          | 11,21%<br>7,53%                                 | Matos et al.(2010)     |
| Borra café (base seca)                                       | Extracção Butt (AOCS)<br>Extracção a frio                | Éter Petróleo<br>Etanol (borra:solvente - 1:3 e 1:6)             | -<br>1 - 2    | -<br>60 - 70 | -<br>-                               | 25,6 ± 0,1%<br>30,34 - 65,91%                   | Freitas et al. (2000)  |

#### **2.4.4. Extracção por fluido em condições supercríticas**

A utilização de fluidos em condições supercríticas (EFSC ou SFE) tem vindo a ganhar terreno no mundo da extracção.

Segundo Maul (1999), características como a ausência de resíduos, utilização de solventes não tóxicos, conservação das propriedades da matéria-prima, tornam esta tecnologia limpa e requerida pela indústria.

Além destas características, a extracção com este tipo de fluidos apresenta uma velocidade elevada, resultante da baixa viscosidade e alta difusibilidade do fluido (Freitas, 2007).

Existem diversos compostos passíveis de serem utilizados como fluidos supercríticos, sendo o mais aplicado no momento, o dióxido de carbono Guedes (2006). Por se tratar de um composto facilmente obtido em elevados graus de pureza, não inflamável, não tóxico, de baixo custo, reciclável e facilmente removível, este composto apresenta-se como um solvente de grande afinidade para com os compostos apolares ou de baixa polaridade (Guedes, 2006).

A manipulação de factores como o tipo de amostra, fluido, co-solventes e condições de extracção, pressão, tempo e temperatura, permitem a optimização do rendimento na extracção (Sandi, 2003; Guedes, 2006).

#### **2.4.5. Destilação**

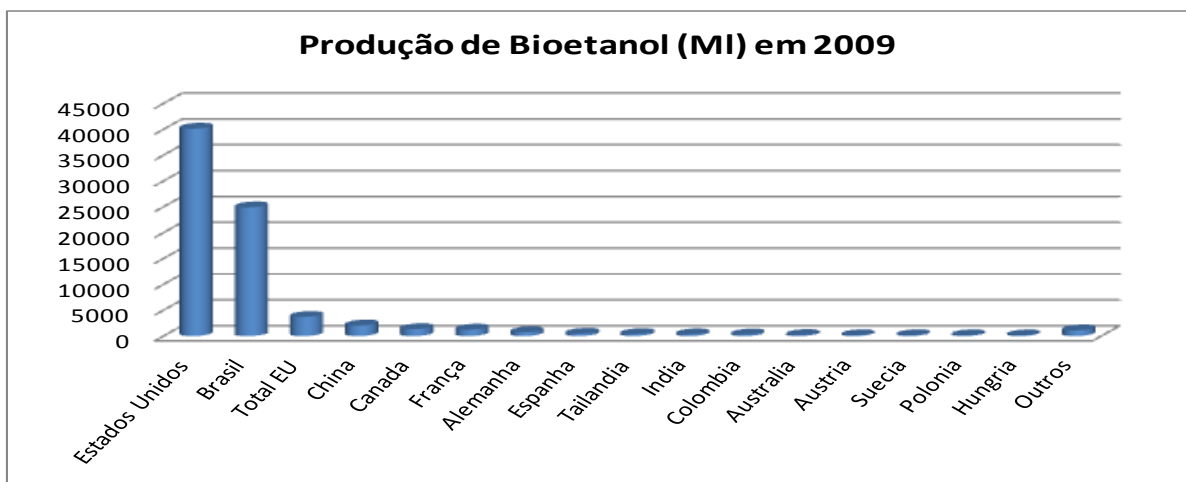
Após a extracção, o solvente é removido por um processo de destilação a pressão reduzida. O processo de destilação, resulta do contacto entre duas fases, uma líquida e uma vapor, ocorrendo transferência de massa entre as mesmas (Pombeiro, 2003).

A utilização de uma pressão reduzida permitirá reduzir o ponto de ebulição, evitando que se atinjam as temperaturas ideais para a decomposição dos componentes ou alteração das suas propriedades (Pombeiro, 2003).

### **2.5. Bioetanol**

O bioetanol, combustível renovável proveniente de compostos orgânicos, como o material lenhocelulósico ou como as matérias-primas açucaradas, o grão de milho (Estados Unidos) ou cana-de-açúcar (Brasil) (Veal e Chinn, 2007; EERE, 2010e), apresenta-se como uma alternativa cada vez mais popular, dada a possibilidade de o produzir a nível doméstico (Veal e Chinn, 2007). O seu elevado índice de octana, torna-o um bom contributo para os motores de alta compressão. No entanto apresenta algumas limitações como os baixos valores de pressão de vapor, luminosidade da chama, densidade (em relação à gasolina), entre outros (Vieira, 2009).

Habitualmente adicionado à gasolina numa percentagem de 10% (E10) ou 85% (E85), este combustível eleva o índice de octana na gasolina, permitindo uma combustão mais eficiente (produz apenas calor) e uma diminuição da poluição e do bater do motor (Veal e Chinn, 2007; Santos, 2008; EERE, 2010e). Segundo a Biofuels Plataforma (2011b), o bioetanol é o biocombustível mais produzido em todo o mundo, com uma produção mundial, em 2009, na ordem de 74 biliões de litros. Da qual, 54% (40130 ML) pertence aos Estados Unidos e 34% (24900ML) ao Brasil (Figura 2. 11).



**Figura 2. 11** – Produção de Bioetanol em 2009 (adaptado: Biofuels Plataforma, 2011b)

A União Europeia ocupa o terceiro lugar na produção de bioetanol, com uma produção de 3703 ML (cerca de 5% da produção mundial), da qual 1250 ML pertencem à França (Biofuels Plataforma, 2011c).

Seguida da Europa, encontra-se a China com uma produção de 2050 ML (3%) (Biofuels Plataforma, 2011b).

É possível observar um crescimento significativo na produção do bioetanol ao longo dos anos (Figura 2. 12). Sendo o ano de 2006, aquele que apresenta a maior taxa de crescimento (76%), quando comparado com o ano anterior. Já no ano de 2009, esse incremento foi menor, cerca de 31%.

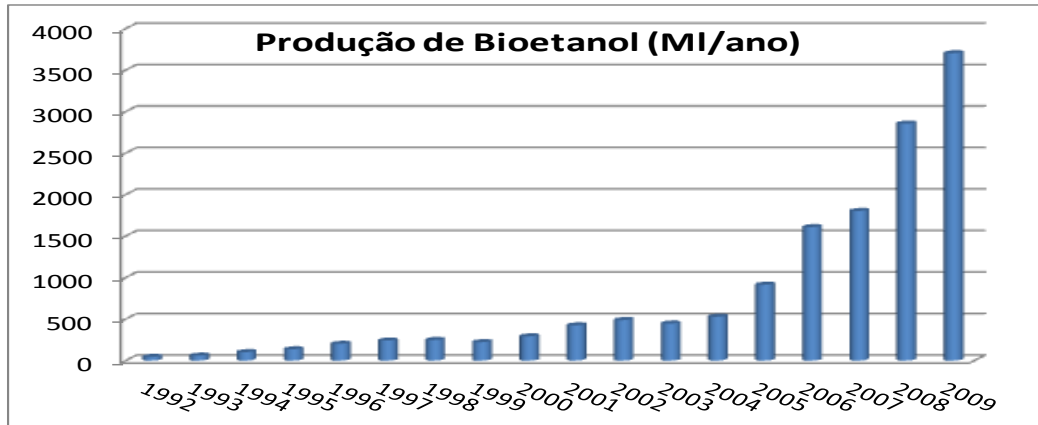


Figura 2. 12 – Produção de Bioetanol desde 1992 – 2009 (adaptado de Biofuels Plataform, 2011b).

Podendo ser encontrado nas mais diversas aplicações, tais como em produtos farmacêuticos, tintas, produtos alimentares (vinagre), ou compostos industriais, quando comparado com a sua utilização como combustível, apresentou um crescimento até ao ano de 2008, verificando-se uma diminuição na sua aplicação na indústria e nos alimentos, no ano de 2009 (Figura 2.13).

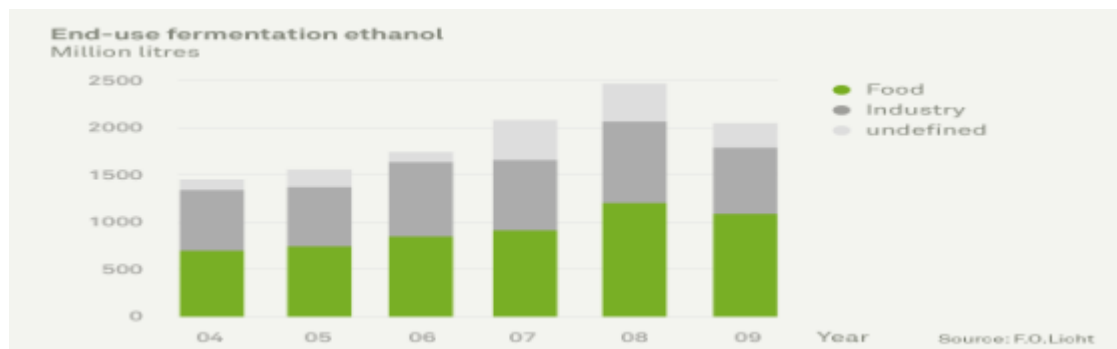


Figura 2.13 – Destino final do Etanol produzido, ao longo dos anos (ePure, 2010).

### 2.5.1. Processo produtivo

Apesar dos diversos estudos efectuados sobre a produção de etanol a partir do material lenho-celulósico, ainda hoje, se conduzem investigações visando a procura de novos elementos capazes de otimizar a sua produção.

#### 2.5.1.1. Pré-tratamento

A produção do etanol é similar para todas as matérias-primas, podendo ser necessários pré-tratamentos antes da fermentação, para que alguns polissacarídeos sejam hidrolisados aos açúcares mais simples (Veal e Chinn, 2007).

Dada a complexidade da estrutura do material lenho-celulósico, o pré-tratamento torna-se necessário para a remoção da hemicelulose e da lenhina, enfraquecendo a estrutura da biomassa, de forma a facilitar o acesso das enzimas, permitindo a redução da cristalinidade

da celulose e o aumento da porosidade (Figura 2. 14) e, conseqüentemente, da área de contacto do material celulósico com os agentes da hidrólise (Sun e Cheng, 2002; Diniz, 2008; Nunes, 2011).

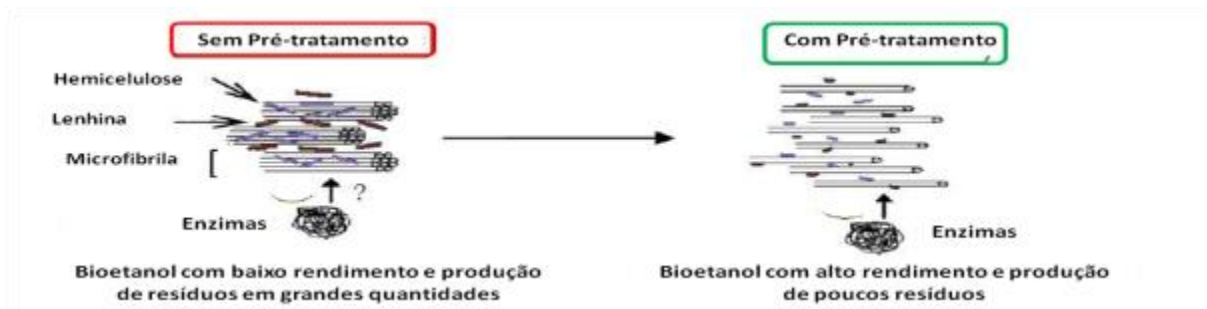


Figura 2. 14 – Efeito do Pré-tratamento na degradação do material (adaptado de Carvalho, 2009).

Dos diversos tipos de pré-tratamento existentes, que se classificam como físicos, químicos, físico-químicos e biológicos (Diniz, 2008), os mais utilizados são a pirólise, ozonólise, hidrólise ácida e alcalina, deslenhificação oxidativa e o processo organosolv (Sun e Cheng, 2002).

Devido à sua necessidade energética e à maior lentidão da reacção, os pré-tratamentos físicos e biológicos, são considerados mais dispendiosos (European Commission, 1996; Rodrigues, 2009). Os pré-tratamentos químicos (ácido-base) são menos dispendiosos e apresentam rendimentos mais elevados, no entanto, podem motivar a ocorrência de neutralizações além de afectar a composição do açúcar no hidrolisado (European Commission, 1996; Rodrigues, 2009).

Idealmente, após aplicação dos processos de pré-tratamento, o hidrolisado manteria a totalidade de hidratos de carbono, ocorreria a formação de açúcares e seria evitada a formação de compostos capazes de inibir futuras reacções (hidrólise enzimática e fermentação) (Rodrigues, 2009).

De todos os pré-tratamentos anteriormente mencionados, apenas será descrita a hidrólise ácida.

Na *hidrólise ácida*, habitualmente são utilizados o ácido sulfúrico, clorídrico, fluorídrico ou misturas de ácidos orgânicos e inorgânicos (Diniz, 2008), concentrados ou diluídos. Os prótons libertados pelos ácidos actuam nos polímeros (hemicelulose), destruindo as ligações entre os diversos monómeros, resultando nos diferentes monossacarídeos, xilose, glicose e arabinose (Rodrigues, 2009). No entanto, entre esses compostos, pode-se encontrar o furfural, proveniente da degradação de pentoses, o 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), derivado da desidratação de hexoses, o ácido levulínico e o ácido fórmico, resultantes,

respectivamente, da degradação do 5-HMF e do furfural, compostos capazes de inibir a reacção de fermentação (Diniz, 2008; Rodrigues, 2009).

A hidrólise ácida permite também a solubilização de uma percentagem da lenhina, que ao se redistribuir enfraquece a sua matriz, aumentando a área superficial passível de ser digerida (Carvalho, 2009).

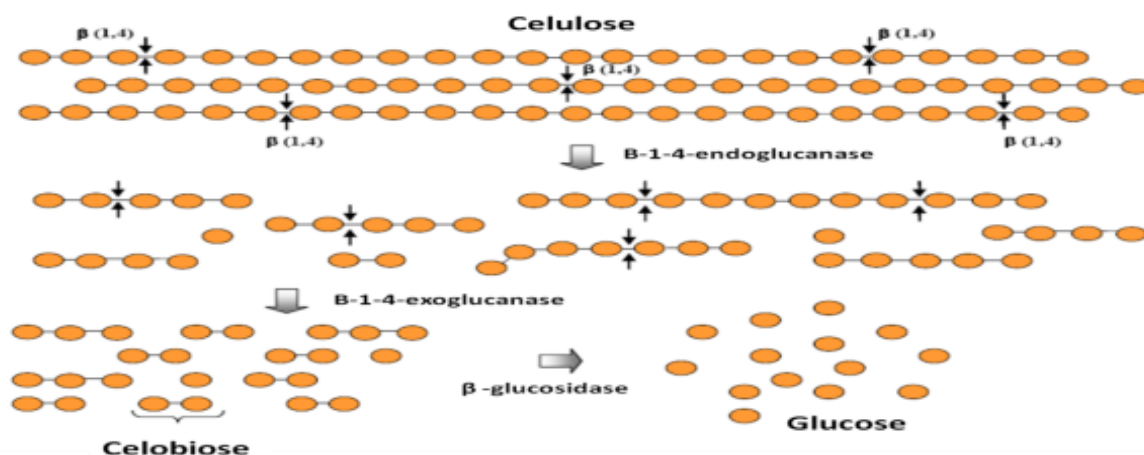
Segundo Roehr (2001), a utilização de ácidos concentrados leva a uma hidrólise mais rápida da celulose e a baixos rendimentos dos açúcares fermentáveis, devido à degradação da glicose. Mas, a nível industrial, são os ácidos diluídos aqueles que se apresentam como os mais vantajosos. Dada a formação de compostos inibidores ou a possibilidade de ocorrência de corrosão, os ácidos concentrados são menos aplicados (Nunes, 2011).

De acordo com Sun e Cheng (2002) a hidrólise com ácidos diluídos permite a obtenção de altos rendimentos, ao contrário do concluído por Diniz (2008) que afirma que a eficiência da hidrólise ácida é de aproximadamente 50%, valor independente das condições operacionais. Para Sun e Cheng (2002), este processo pode ser efectuado de duas formas: a altas temperaturas (superior a 160 °C) ou a baixas temperaturas (inferior a 160 °C).

### 2.5.1.2. Hidrólise enzimática

No processo enzimático, a celulose sofre uma hidrólise para produção dos açúcares simples, através da adição de enzimas específicas, denominadas celulases. As celulases são compostas por uma mistura de diversas enzimas, sendo a sua maioria endoglicanases, exoglicanases e  $\beta$ -glicosidase (Sun e Cheng, 2002).

As endoglicanases têm como função o ataque à celulose, nas regiões de menor cristalinidade, desenvolvendo cadeias terminais redutoras e não-redutoras (Figura 2. 15). Por sua vez, estas cadeias terminais são degradadas pela exoglicanase, formando unidades de celobiose que, seguidamente, são hidrolisadas em glicose, pela  $\beta$ -glicosidase (Sun e Cheng, 2002).



**Figura 2. 15** – Representação esquemática da actividade das celulases sobre a celulose (Mussatto e Teixeira, 2010).

Além deste grupo de enzimas, outras existem nas celulasas, tais como a glicouronidase, manase, galactomanase, acetilesterase, xilanase e  $\beta$ -xilosifase, que têm como função o auxílio no processo da hidrólise da hemicelulose (Sun e Cheng, 2002).

Decorrendo, habitualmente, a um pH entre 4 e 8 e uma temperatura entre os 45 e os 50 °C, condições menos severas que as usadas na hidrólise ácida, este processo emite uma menor quantidade de subprodutos, resultando em rendimentos mais elevados (Rodrigues, 2009; Silva, 2010; Aguiar, 2010). A temperatura a utilizar na hidrólise é inferior à do crescimento de diversos microrganismos, de forma a garantir que não haja perdas de substrato devido ao desenvolvimento de contaminações (Rodrigues, 2009).

Um aumento da temperatura implicaria um aumento das colisões entre os centros activos e o substrato, resultando no aumento da velocidade de reacção. No entanto, se esse aumento for demasiado elevado, a enzima poderá sofrer desnaturação (Carvalho, 2009).

Para Rodrigues (2009) e Carvalho (2009), a agitação também é importante neste processo. A utilização de uma agitação adequada permitirá o contacto entre o substrato e as enzimas, resultando num rendimento mais elevado. Ao contrário de uma agitação intensa, que provocará a perda de enzimas.

Segundo Rabelo (2007) e Aguiar (2010), a elevada conversão a açúcares fermentáveis, requer uma elevada concentração de enzimas e, conseqüentemente, um elevado gasto monetário a nível produtivo.

Mas nem só destes factores a optimização da hidrólise enzimática se encontra dependente. Estando perante um sistema heterogéneo entre um substrato insolúvel e as enzimas solúveis, a concentração destas também se torna importante para o processo (Carvalho, 2009; Aguiar, 2010).

Segundo Carvalho (2009) a concentração enzimática a utilizar é dependente das características estruturais do substrato, resultantes do pré-tratamento aplicado. Para o autor, as limitações enzimáticas serão tanto menores quanto melhores forem os pré-tratamentos.

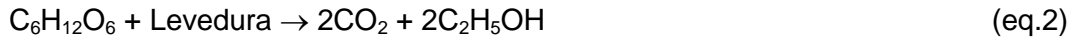
Dada a heterogeneidade dos substratos lenho-celulósicos, a aplicação de um pré-tratamento inadequado implicará uma má digestão da lenhina, que por sua vez, forma uma barreira e impede o ataque à celulose, diminuindo a eficiência da hidrólise enzimática (Aguiar, 2010).

### **2.5.1.3. Fermentação**

A fermentação é um processo no qual resulta um metabolito de alto valor energético a partir da reacção, entre compostos orgânicos e microrganismos (Diniz, 2008; Rodrigues, 2009).

No caso da fermentação alcoólica, as moléculas de glucose (equação 2) dão origem a duas moléculas de etanol e duas moléculas de dióxido de carbono (European Commission, 1996).





Segundo Diniz (2008), este processo envolve diversas fases. Na primeira fase ocorrem 5 reacções, nas quais a glucose é transformada em gliceraldeído-3- fosfato, com formação de duas moléculas de adenosina-di-fosfato (ADP) a partir de duas moléculas de fosfato libertadas pela adenosina-tri-fosfato (ATP) (Diniz, 2008).

Na fase seguinte, ocorre a formação do piruvato (Figura 2.16), com redução da co-enzima nicotinamida-adenina-dinucleotido sob a forma oxidada (NAD<sup>+</sup>) a NADH e a fosforilação de duas moléculas de ADP a ATP (Diniz, 2008).

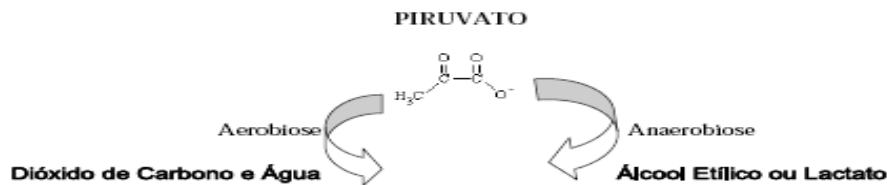


Figura 2.16 – Reacção de formação do piruvato (Diniz, 2008).

A última fase envolve a descarboxilação do piruvato em acetaldeído e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), pela acção da enzima descarboxilase do piruvato na presença da tiamina pirofosfato (TPP) (Figura 2.17).

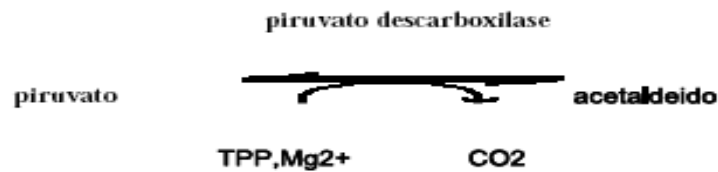


Figura 2.17 – Reacção de formação do acetaldeído e CO<sub>2</sub> (Diniz, 2008).

Por sua vez, o acetaldeído, pela acção da desidrogenase e na presença de NADH e de gliceraldeído-3-fosfato, é reduzido a etanol (Figura 2.18) (Diniz, 2008).

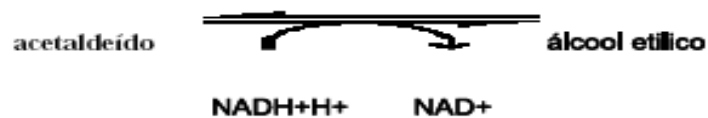


Figura 2.18 – Reacção de formação do etanol (Diniz, 2008).

O etanol não é o único produto deste processo, além deste, ocorre a libertação de pequenas quantidades de glicerol, resultantes da redução da di-hidroxiacetona fosfato a glicerol-3-fosfato. Segundo Diniz (2008), a formação deste composto apresenta alguns inconvenientes para o rendimento do processo, tornando necessária a vigilância do mesmo. De acordo com a European Commission (1996), durante este processo cerca de 50% do peso é perdido na

forma de dióxido de carbono e menos de 5% do conteúdo energético do substrato é perdida ou aplicada como energia metabólica.

Para a produção do etanol, diversos são os microrganismos que podem intervir, entre leveduras e bactérias, a Tabela 2.11 apresenta alguns desses microrganismos, substratos e respectivos rendimentos (Caranton, 2010).

**Tabela 2.11** – Microrganismos produtores de etanol (adaptado: Caranton, 2010).

| <b>Microrganismo</b>            | <b>Tipo de Microrganismo</b> | <b>Substratos assimiláveis</b>                          | <b>Rendimento Teórico (%)</b> |
|---------------------------------|------------------------------|---|-------------------------------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Levedura                     | Glucose, Galactose, Maltose, Sacarose                   | 43 – 87                       |
| <i>Pichia stipitis</i>          | Levedura                     | Glucose, Xilose, Arabinose, Manose                      | 83 - 92                       |
| <i>Candida shehatae</i>         | Levedura                     | Glucose, Xilose, Arabinose, Manose                      | 75 - 90                       |
| <i>Candida lusitanae</i>        | Levedura                     | Glucose, Xilose, Sacarose, Celobiose, Sorbitol, Maltose | 70 - 85                       |
| <i>Candida tropicalis</i>       | Levedura                     | Glucose, Xilose, Sacarose, Celobiose, Sorbitol, Maltose | 76 - 85                       |
| <i>Escherichia coli</i>         | Bactéria                     | Glucose, Glicerol                                       | 70 - 90                       |
| <i>Zymomonas mobilis</i>        | Bactéria                     | Glucose, Xilose, Frutose, Sacarose                      | 80 - 92                       |
| <i>Klebsiella oxytoca</i>       | Bactéria                     | Glucose, Frutose, Sacarose, Maltose                     | 80-90                         |
| <i>Pachysolen tannophilus</i>   | Levedura                     | Glucosa, Xilosa, Glicerol                               | 75-80                         |
| <i>Clostridium thermocellum</i> | Bacteria                     | Glucosa, Xilosa   | 60-80                         |
| <i>Kluyveromyces marxianus</i>  | Levedura                     | Glucose   | 70 - 80                       |

Na maioria das produções de etanol, o microrganismo envolvido é uma levedura, a *Saccharomyces cerevisiae*, mais conhecida por fermento de padeiro, devido à sua capacidade de assimilar a glucose, presente nos açúcares ou a celulose, presente na matéria lenho-celulósica (Rodrigues, 2009). No entanto, apesar de fermentar uma grande variedade de açúcares, as pentoses (xilose) não são um deles, dado o facto de a levedura não ser capaz de a metabolizar. A levedura e outros microrganismos apresentam certas exigências, para que o seu desempenho seja máximo no desenvolvimento do processo (Bidóia, 2009). Factores como o pH, a tolerância ao etanol, a temperatura, nutrição e arejamento do meio afectam o trabalho destes microrganismos.

Segundo Caranton (2010), altas concentrações de etanol no meio reaccional são impeditivas do crescimento microbiano. Concentrações de etanol superiores a 6% (m/v)

levam a uma inibição na totalidade dos microrganismos, sendo a concentração máxima de 5,5% (m/v), a tolerada pela maioria. A temperatura, como já havia sido referido, é também um factor importante no controlo da eficiência do processo, variando mediante o microrganismo em causa.

No caso da bactéria *Zymomonas mobilis*, o seu crescimento ocorre num intervalo de temperaturas entre os 25 e os 40 °C, sendo o seu valor óptimo igual a 30 °C. Para a *Saccharomyces cerevisiae*, a eficiência do processo aumenta com temperaturas de 30 °C, sendo este aumento mais discreto a 36 °C. A partir dos 37 °C, o rendimento sofre uma regressão (Caranton, 2010).

A presença de oxigénio é igualmente um factor inibitório no processo. Dado a maioria dos microrganismos se desenvolverem em anaerobiose, a presença deste composto conduz à produção de subprodutos inibidores do consumo do substrato e desenvolvimento dos fermentadores. No entanto, se a concentração do substrato for baixa, o factor oxigénio torna-se irrelevante (Caranton, 2010).

Em relação aos nutrientes, dependendo do substrato utilizado e da técnica aplicada, a adição destas substâncias torna-se necessária para o crescimento celular. Azoto e fosfatos, são algumas dessas substâncias (European Commission, 1996).

O pH é outro factor preponderante neste processo. Habitualmente é utilizado um pH baixo (entre 4,5 e 5,5), de forma a reduzir problemas de contaminação por outros organismos (European Commission, 1996).

Segundo Diniz (2008), o processo fermentativo pode ser efectuado de forma descontínua (*batch*), semi-descontínua ou contínua. No processo em *batch*, o volume, pH, e agitação são controlados. Inicialmente são introduzidos o substrato e o agente fermentador (inoculo) em pequena quantidade. O agente da fermentação sofre um crescimento, com o consumo de uma parte do açúcar, reduzindo o oxigénio, dando-se inicio à produção de etanol. Ao longo do tempo, os açúcares vão sendo consumidos, resultando numa diminuição ou término da produção alcoólica (European Commission, 1996). A agitação do meio deve ser reduzida, a temperatura deve-se encontrar entre os 30 e os 40 °C e o pH, entre os 4,5 e os 5,5, para uma menor probabilidade de contaminação (Diniz, 2008).

No processo semi-contínuo, são adicionados três agentes fermentadores, em diferentes quantidades e diferentes cargas. A temperatura é controlada, tal como o pH, sendo este ultimo controlado pelas lavagens ácidas entre as diversas cargas (Diniz, 2008).

Finalmente, no processo contínuo o inoculo e o substrato são adicionados de forma contínua (Diniz, 2008). O consumo dos açúcares ao longo do tempo resulta na produção de novas células e etanol, que por sua vez é retirado numa quantidade, que permita que o mosto mantenha uma concentração celular constante (European Commission, 1996).

### 2.5.1.4. Trabalhos efectuados na conversão de material lenho-celulósico

Ao longo do tempo, diversos estudos têm sido efectuados na procura dos melhores métodos e condições operacionais, que permitam obter a maior taxa de açúcares passíveis de sofrerem fermentação.

Dado este género de trabalhos ainda não serem muito comuns na área do café, serão abordados diferentes estudos relacionados com material lenho-celulósico.

A Tabela 2. 12 apresenta um resumo das características óptimas, utilizadas nos diversos pré-tratamentos para as diferentes biomassas lenho-celulósicas.

**Tabela 2. 12 –** Condições operacionais optimizadas, utilizadas nos pré-tratamentos de diferentes biomassas lenho-celulósicas.

| Matéria-prima                         | Reagente                                  | Condições operação                                     | Resultados  | Referência          |
|---------------------------------------|---|--|---|---------------------|
| Drêche do Processo Cervejeiro         | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>            | C = 1% (v/v)<br>T = 85°C<br>t=24h<br>50 rpm            | Xilose 17,63g/L<br>Arabinose 4,87g/L<br>Glucose 8,27g/L                                     | Nunes (2011)        |
| Forrageira                            |   | C = 0,5%(V/V); T = 121°C; t=90min                      | 0,225g açúcar redutor/ g biomassa   |                     |
| Bagaço de Cana                        | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>            | C = 0,5%(V/V); T = 121°C; t=30min                      | 82% Hemicelulose hidrolisada<br>0,474g açúcarredutor/g biomassa                             | Rodrigues (2009)    |
| Bambu                                 |   | C = 1%(V/V); T = 121°C; t=60min                        | 0,178g açúcar redutor/g biomassa  |                     |
| Resíduo Orgânico (LIPOR)              | NaOH                                      | C = 10% (v/v)<br>T = 124°C<br>t=6min                   | 89,2% Glucose   | Vieira (2009)       |
| Microalga <i>Scenedesmus obliquus</i> | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>            | C = 2N<br>T = 120°C<br>t=30min                         | Glucose 3,3 g/L<br>Galactose 5,3g/L<br>Manose 8,0g/L<br>Arabinose 2,1g/L<br>Xilose 3,0g/L   | Miranda (2011)      |
| Café                                  | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>            | C = 2% (v/v)<br>T = 135°C<br>t=4h                      | 33,41g/L Açúcares Redutores   | Caranton (2010)     |
| Extracto de café (10mg)               | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1ª Etapa) | C = 72% (v/v)<br>V = 0,5mL<br>Temp. ambiente<br>t = 3h | 43,4 mg açúcares totais/100mg sólidos<br>44,1% Galactose<br>33,2% Manose<br>10,5% Arabinose | Delgado (2008)      |
|                                       | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (2ª etapa) | C = 1M<br>T = 95°C<br>t = 2h                           | 3,2% Glucose<br>1,2% Fructose<br>0,4% Xilose  |                     |
| Borra de Café                         | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>            | C = 0,4 mol/L<br>T = 121°C<br>t=15min                  | Glucose 38,55 g/L<br>Xilose 4,63g/L   | Matos et al, (2010) |

Para os autores dos estudos sobre o café (Delgado, 2008; Caranton, 2010 e Matos *et al.*, 2010), o ácido sulfúrico é o método mais utilizado para o pré-tratamento da biomassa. Delgado (2008), concluiu através da sua pesquisa, que o extracto de café é composto na sua maioria por galactose, manose e arabinose, contendo apenas uma pequena percentagem de glucose e vestígios de xilose.

Após esta primeira abordagem sobre o pré-tratamento da biomassa, a hidrólise enzimática é o processo a seguir, para a libertação total dos açúcares fermentáveis e o cumprimento do objectivo final, a produção do etanol (Tabela 2. 13).

**Tabela 2. 13** – Condições operacionais utilizadas na hidrólise da biomassa com recurso a enzimas.

| Matéria-prima                    | Enzima                                | Condições operação  | Resultados   | Referência            |
|----------------------------------|---------------------------------------|---|--|-----------------------|
| Drêche do Processo<br>cervejeiro | <i>Viscozyme L.</i>                   | T = 50°C<br>t= 30min<br>pH ≈ 5<br>50 rpm<br>100µL enzima/ 1g biomassa | 15,72g/L Xilose<br>3,86g/L Arabinose<br>7,77g/L Glucose  | Nunes (2011)          |
|                                  |                                       | 5mL enzima/ 100g biomassa   |  |                       |
| Resíduo Orgânico<br>(LIPOR)      | <i>AccelleraseTM 1000</i>             | T = 65°C<br>t=70h<br>pH ≈ 4- 5<br>30 rpm                              | 81,7 - 87,3% Glucose   | Vieira (2009)         |
| Farelo de Centeio                | <i>Vilzim SKA (Liquefação)</i><br>+   | T = 65°C<br>t = 90min<br>pH ≈ 6 - 6,5                                 | Açúcares Fermentáveis 11,2g/100g   | Vidmantiene<br>(2006) |
| Farelo de Trigo                  | <i>Vilzim SKK<br/>(Sacarificação)</i> | T=55 - 60°C<br>t=120min<br>pH ≈ 5 - 6                                 |  |                       |
| Café                             | <i>Celluclast 1,5L</i>                | Razão enzima:substrato = 1,5:10<br>T = 60°C<br>t=120h<br>pH ≈ 4,79    | 17,4 g/L Açúcares Redutores  | Caranton (2010)       |
| Extracto de café                 | <i>Pectinase 444L</i>                 | 5mg proteína/g substrato<br>T = 45°C<br>t = 2h                        | Galactose 9,63mg/100mg <sub>substrato</sub><br>Manose 30,35mg/100mg <sub>substrato</sub><br>Glucose 1,32mg/100mg <sub>substrato</sub><br>Arabinose 2,17mg/100mg <sub>substrato</sub> | Delgado (2008)        |

Em relação a esta nova fase, é possível verificar a variedade de enzimas aplicáveis na hidrólise da biomassa lenho-celulósica.

Finalmente, a fermentação é o último passo necessário para completar o ciclo produtivo de bioetanol a partir do material lenho-celulósico (Tabela 2.14).

**Tabela 2.14** – Condições operacionais utilizadas na fermentação da biomassa lenho-celulósica e respectivos resultados obtidos para os diferentes autores.

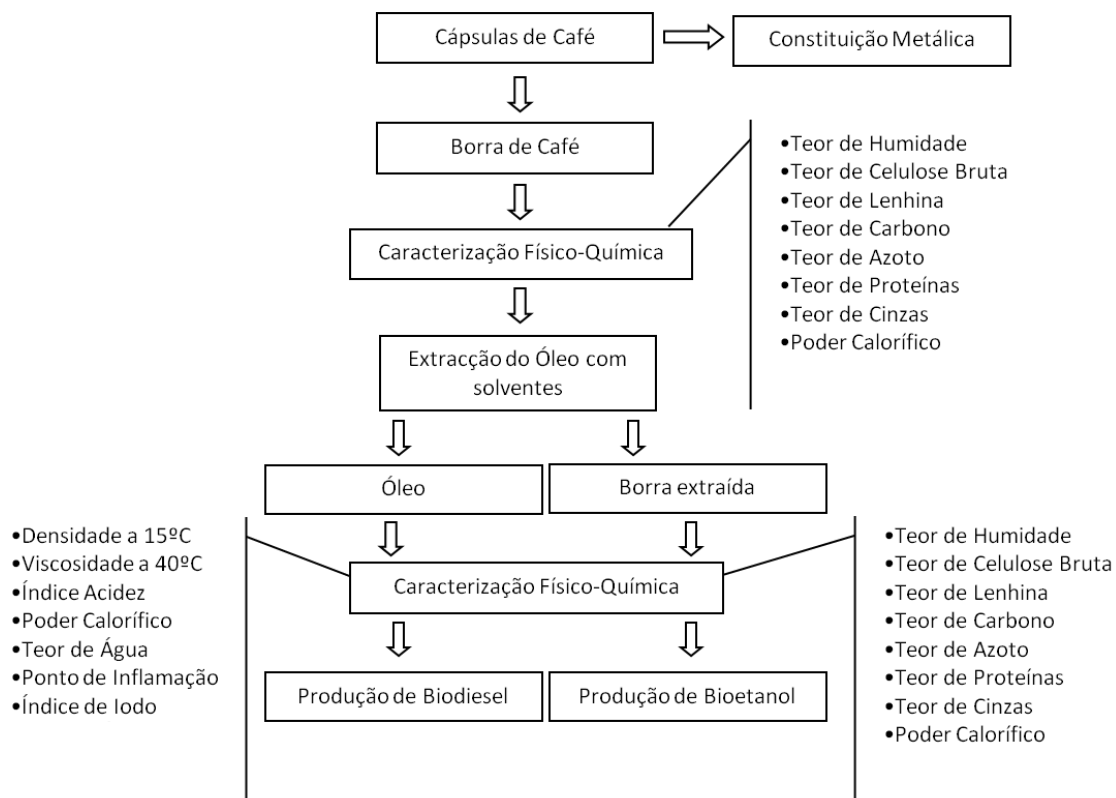
| Matéria-prima                            | Levedura                           | Condições operação  | Resultados  | Referência                   |
|--|------------------------------------|---|---|------------------------------|
| Drêche do Processo<br>cervejeiro         | <i>Saccharomyces<br/>cerevisae</i> | T = 30°C<br>80rpm<br>t = 48h<br>C = 4g/L                                    | 32,54% (Eficiência Fermentação)                               | Nunes (2011)                 |
| Resíduo Orgânico<br>(LIPOR)              | <i>Saccharomyces<br/>cerevisae</i> | T = 27,5°C<br>pH ≈ 5 - 6<br>t = 48h<br>C = 1g inóculo/L água<br>desionizada | 59,4% (Eficiência Fermentação)<br>0,18g Bioetanol/ g Biomassa | Vieira (2009)                |
| Microalga<br><i>Scenedesmus obliquus</i> | <i>K. marxianus</i>                | T = 30°C<br>150rpm<br>t = 24h<br>C = 300mg/L                                | Etanol 11,7g/L<br>0,485g Etanol/g Glucose                     | Miranda (2011)               |
| Farelo Centeio                           | <i>Saccharomyces<br/>cerevisae</i> | T = 30 - 33°C   | Etanol 77,6mg/100mL   | Vidmantieni et<br>al. (2006) |
| Farelo Trigo                             |                                    | t = 72h   | Etanol 77,2mg/100mL   |                              |
| Borra de Café                            | <i>Saccharomyces<br/>cerevisae</i> | T = 30°C<br>pH ≈ 5<br>t = 24h<br>150rpm                                     | Etanol 18,2g/L<br>Produtividade 2,26g/L.h                     | Matos et al.<br>(2009)       |

### 3. Descrição experimental

Neste capítulo são apresentadas todas as metodologias utilizadas para a realização deste trabalho, incluindo a descrição dos materiais e procedimentos efectuados.

Numa primeira fase foi efectuada a caracterização da matéria-prima, a borra de café, seguida da produção de biodiesel e por fim a produção de bioetanol.

A figura 3.1 representa um resumo de todas as etapas efectuadas para a concretização dos objectivos propostos, produção de bioetanol e biodiesel, a partir da borra de café.



**Figura 3.1** - Esquema representativo da sequência de etapas para a obtenção do biodiesel e bioetanol a partir da borra de café.

#### 3.1. Caracterização da biomassa

Para a realização deste trabalho, foram utilizadas amostras de uma mistura de resíduos de café (borra), de composição desconhecida. A referida borra foi recolhida de cápsulas de café e borras soltas, tendo sido seca ao ar.

O estudo da caracterização da borra de café foi efectuado de acordo com o objectivo de produção de biocombustíveis. Assim, numa primeira fase, a borra de café foi caracterizada

para avaliar os teores de humidade, carbono, azoto, proteínas e cinzas e ainda o poder calorífico, antes e após extracção do óleo de café.

Numa segunda fase, tendo em vista a produção de bioetanol, a borra foi caracterizada quanto ao teor de celulose bruta e ao teor de lenhina Klason e teor de lenhina solúvel em ácido.

- **Determinação do teor de humidade**

O teor de humidade foi determinado pelo método directo, com utilização de uma estufa a  $105 \pm 5$  °C (WTB Binder).

- **Determinação do poder calorífico superior**

O poder calorífico corresponde à energia existente num determinado combustível e que é libertada para a câmara de combustão, na forma de calor (Peres *et al.*, 2007).

Para a determinação do poder calorífico superior foi utilizado um calorímetro (Parr, 6722). O procedimento seguido foi descrito na norma *ASTM D5865-10* (Anexo A.1).

- **Determinação do teor de carbono**

A determinação do teor de carbono (orgânico total, COT, e inorgânico, CI) (Anexo A.1) foi realizada num equipamento de análise do COT (SHIMADZU, TOC-V<sub>CSN</sub> Analyser), de acordo com o protocolo do equipamento.

- **Determinação do teor de azoto**

A determinação do teor de azoto foi efectuada recorrendo ao método de Kjeldahl (Anexo A.1), com utilização de um digestor (Raypa) e destilador (DNP1500, Raypa).

- **Determinação do teor de proteínas**

O teor de proteínas foi determinado por correlação com o teor de azoto, através da multiplicação do mesmo por um factor igual a 6,25 (factor utilizado por Alves *et al.*, (2007), na caracterização de amostras de café).

- **Determinação do teor de cinzas**

A determinação do teor de cinzas (Anexo A.1) foi efectuada de acordo com os procedimentos especificados no *Standard Methods* (2540 E, APHA, 1999), usando uma Mufla (Vulcan A-550) à temperatura de  $550 \pm 5$ °C.



- **Análise granulométrica da borra de café**

“A análise granulométrica consiste na determinação das dimensões das partículas que constituem as amostras”, e o estudo da sua distribuição por classes (Dias, 2004).

Para esta determinação foi utilizado o método da crivagem (Anexo A.1), com recurso a uma coluna de peneiros e um sistema de agitação (Retsch, AS 200).

### **3.2. Produção de biodiesel**

Sendo a produção do biodiesel um dos principais objectivos deste trabalho, a sua realização teve início com o processo de extracção de óleo das borras de café, seguindo-se a sua caracterização e a aplicação de uma sequência de processos que permitem a conversão do óleo em biocombustível.

Deste modo, serão apresentados de seguida os diversos materiais e metodologias aplicados na concretização desta etapa.

#### **3.2.1. Reagentes/soluções utilizadas na produção de biodiesel**

No processo de extracção do óleo foram efectuados diversos ensaios com diferentes solventes, o n-Hexano (Valente e Ribeiro, Lda.), o n-Heptano (puro, Sigma – Aldrich), o n-Octano (95%, Carlo Erba), o Isopropanol ou 2-propanol (Puro, Sigma-Aldrich), o Etanol absoluto (99,8%, AGA) e misturas de Hexano:Isopropanol, nas proporções 5:5; 6:4; 7:3; e 8:2 (v/v).

Para a caracterização do biodiesel, em relação ao teor de ésteres (FAME) foram utilizados: solução de metil heptadecanoato (concentração de 10 mg/mL, preparada a partir do padrão > 99,5% da Fluka Analytical); n-heptano (Panreac).

Na determinação do índice de acidez, utilizou-se uma solução de hidróxido de potássio (KOH, Pronalab) em etanol,  $[\text{KOH}] = 0,1 \text{ mol/L}$ , e uma mistura solvente: éter dietílico (Panreac) e etanol (96%, AGA, Lda) (1:1, v/v).

Para a determinação do índice de iodo, utilizou-se o iodeto de potássio (KI), 100g/L de solução aquosa livre de iodato e iodo (Fisher Scientific), solução de amido, solução de tiosulfato de sódio, 0,1M (Riedel-de Haen), mistura solvente: ciclohexano (Panreac) e ácido acético glacial (José M. Vaz Pereira, SA) (1:1, v/v) e o reagente de Wijs (Panreac).

Relativamente à determinação do teor de água, as soluções utilizadas foram as Coulomat A AQUAMETRIC (liquido anódico) e Coulomat C AQUAMETRIC (liquido catódico), ambas da marca Panreac.

Por fim, na caracterização da viscosidade, foi utilizada Acetona (Valente e Ribeiro, LDA), para limpeza do viscosímetro.

A produção do biodiesel envolveu, na etapa da esterificação, a utilização de metanol (Analytical Reagent Grade Fisher Scientific) e de ácido sulfúrico (96%, Panreac), na etapa de transesterificação usou-se o hidróxido de sódio (NaOH) (José M. Vaz Pereira); óxido de magnésio (Fluka Analytical); ácido sulfúrico (solução a 30%) e novamente o metanol.

### 3.2.2. Processo de obtenção do óleo da borra de café

A obtenção do óleo foi realizada em etapas, a extracção do óleo com adição de solventes, mais conhecida por extracção Soxhlet e o processo de recuperação do óleo, com o objectivo de separar o óleo dos solventes utilizados na etapa anterior. Ambos os procedimentos são descritos de seguida.

- **Extracção do óleo com solventes – Soxhlet**

O processo de extracção tem início com a pesagem de cerca de 10g de amostra (seca na estufa a  $105 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ), a qual é colocada dentro de um cartucho de celulose, previamente seco, pesado e tarado, tendo sempre em atenção a colocação de algodão para evitar o arrastamento da amostra.

O cartucho é colocado na coluna de extracção (soxhlet). Seguindo-se a colocação do solvente num balão (cerca de 200 mL, o suficiente para evitar a vaporização total do mesmo).

Efectua-se a montagem dos equipamentos, colocando o balão na manta de aquecimento (Raypa), seguindo-se a união do soxhlet ao balão e do condensador ao soxhlet, tendo sempre em atenção a lubrificação de todas as juntas esmeriladas com vaselina ou silicone.

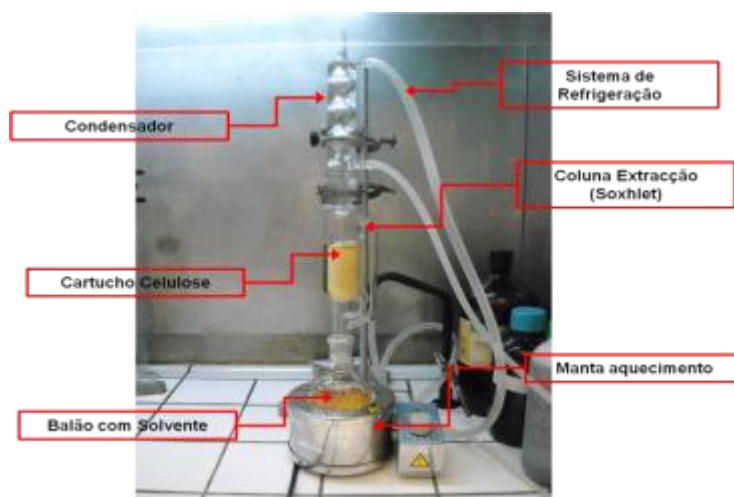


Figura 3. 2 - Extracção com solvente (Soxhlet).

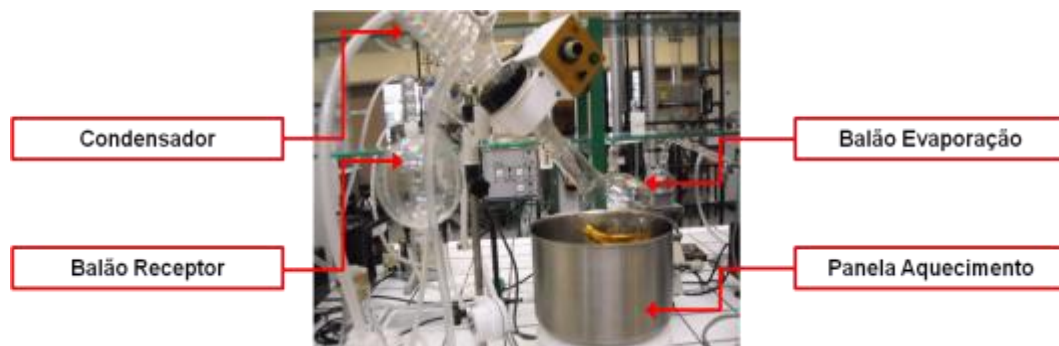
Após ligação do sistema de refrigeração que se encontra agregado ao condensador, procede-se à contabilização do tempo de extracção e antes da finalização de cada contacto é retirada uma amostra de cerca de 1 mL para determinação do índice de refração no refractómetro de Abbe, que se encontra conectado a um termómetro digital (ATAGO) e um banho termostático (LTD 6, GRANT).

Como critério de paragem do processo extractivo, foi utilizada a estabilização do índice de refração, após três determinações consecutivas.

- **Recuperação do óleo**

Para o processo de recuperação do óleo e do solvente, foi utilizado o método da destilação sob vácuo e temperatura constante, com utilização de um Evaporador Rotativo (Rotavapor, Heidolph) e uma bomba de vácuo (Neuberger).

Após colocação da mistura de óleo e solvente no balão de evaporação, procedeu-se à montagem do equipamento, efectuando-se a ligação do balão ao evaporador e a ligação do balão receptor ao condensador acoplado no equipamento. Após ligação do sistema de refrigeração do condensador e do sistema de vácuo, definiu-se a temperatura do banho de aquecimento, contendo silicone e procedeu-se ao ensaio.



**Figura 3. 3** - Evaporador Rotativo (Rotavapor).

O critério de paragem utilizado correspondeu à finalização da vaporização do solvente. Do balão receptor recolheu-se o solvente ou a mistura de solventes para posterior reutilização, enquanto, o óleo, fase mais densa e de ponto de ebulição mais elevado, permaneceu no balão de evaporação, para posterior contabilização do rendimento.

### **3.2.3. Caracterização do óleo e biodiesel**

Para caracterização do óleo e do biodiesel (Anexo A.2.1), procedeu-se ao estudo de algumas das suas propriedades: índice de acidez, índice de iodo, viscosidade cinemática,

densidade, teor de ésteres metílicos de ácidos gordos (FAME), ponto de inflamação e teor de água, parâmetros cuja determinação foi efectuada de acordo com as normas indicadas na *norma NP EN14214:2009*. Foi ainda avaliado o poder calorífico.

- **Índice de acidez**

De todos os parâmetros a avaliar, o índice de acidez apresenta-se como um grande decisor na produção de biodiesel. Representando o teor de ácidos gordos livres presentes nos óleos, elevados valores deste parâmetro, implicam uma baixa qualidade da matéria-prima influenciando a produção do biodiesel (Pereira, *et al.* 2010).

Para a determinação desta característica, os procedimentos seguidos basearam-se nos descritos na norma EN14104, com uma adaptação no volume da mistura solvente e na massa da amostra.

O volume de 100 mL foi reduzido para 50 mL e a massa da amostra de óleo foi reduzida para 0,5 g, de forma a ser possível visualizar a mudança de cor aquando da titulação.

- **Índice de iodo**

A determinação do índice de iodo (g iodo/100g amostra) teve como base a norma EN14111 (anexo A.2.1)

- **Viscosidade cinemática a 40°C**

A viscosidade cinemática de um fluido encontra-se relacionada com a sua capacidade de resistência ao fluxo, sob acção da gravidade.

Avaliada segundo a norma EN ISO 3104, utiliza-se um viscosímetro capilar de Cannon Fenske, imerso num banho com controlo de temperatura (Thermomix BM), na determinação deste parâmetro, no óleo de café e no biodiesel.

- **Densidade a 15°C**

Na determinação da densidade, foi tido em consideração a norma EN14214:2009, que impõe a gama limite entre 860 e 890 kg/cm<sup>3</sup> para o valor de densidade do biodiesel.

A sua determinação foi efectuada de acordo com o método dos picnómetros (anexo A.2.1), no qual é utilizado um frasco de vidro construído para que o seu volume seja invariável.

- **Teor de ésteres metílicos de ácidos gordos**

A determinação do teor de ésteres metílicos de ácidos gordos foi realizada segundo a *norma* EN 14103. Para a realização deste procedimento, foi utilizado um cromatógrafo de gás (DANI GC – DPC Digital Pressure Control) (anexo A.2.1).

- **Ponto de inflamação**

O ponto de inflamação foi determinado de acordo com a norma EN ISO 3679:2004, usando o equipamento da Petrotest, Rapid Tester S.3.

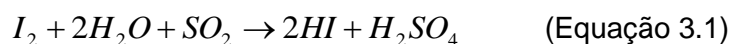
- **Poder calorífico**

Tal como na caracterização da borra de café, o poder calorífico foi determinado de acordo com o procedimento descrito na *norma ASTM D5865-10* (Anexo A.2.1), num calorímetro (Parr, 6722).

- **Teor de água pelo método Karl Fischer**

A determinação do teor de água (Anexo A.2.1), foi efectuada de acordo com a norma *EN12937:2003*, usando um Coulómetro (Methrom K 684), com um agitador (Metrohm 703 Ti Stand)

Esta determinação tem como base a reacção entre o iodo e a água, representada na equação (3.1).



### **3.2.4. Métodos para a produção de biodiesel**

Quando a acidez do óleo é demasiado elevada (superior a cerca de 3%, segundo Van Gerpen, 2005) é necessário reduzir primeiro a acidez, de modo a aumentar o rendimento da reacção (Van Gerpen *et al.*, 2004). O processo pode passar pela realização de uma neutralização com uma base ou pela esterificação ácida (Van Gerpen *et al.*, 2004). De acordo com o valor do índice de acidez obtido para o óleo de café, o processo de produção do biodiesel iniciou-se com a esterificação seguindo-se a transesterificação. Assim sendo, foram realizadas sucessivas esterificações a 60 °C e 500 rpm, controlando-se o processo de duas em duas horas com a determinação do índice de acidez. Em cada interrupção do processo e, sempre que as fases eram visíveis separou-se a fase referente ao metanol/H<sub>2</sub>O e acrescentou-se cerca de 1% (m/v) de ácido e 40% (m/m) de metanol, voltando a fazer reagir a mistura. Quando o índice de acidez atingiu um valor inferior a 3 mg KOH/g óleo, procedeu-se à reacção de transesterificação com cerca de 1% (m/m) de NaOH e 40% (m/m) de metanol durante 2h a 60°C e 500rpm. Seguidamente, a mistura foi colocada numa ampola de decantação para a separação de fases e o biodiesel (fase menos densa) foi lavado com água acidificada a quente, seguindo-se lavagens apenas com água até à sua neutralização (pH=7). Após as lavagens, efectuou-se a secagem do biodiesel com a adição

do óxido de magnésio e agitação da suspensão, seguindo-se uma filtração por vácuo (Neuberger), em filtros de celulose (Whatman, 4-7 $\mu$ m)

Ambos os processos foram realizados em frascos de vidro borossilicato com tampa de roscar, num banho com agitação orbital e aquecimento (Ivymen, 200D N/S).

### 3.3. Produção de bioetanol

O processo para a obtenção de bioetanol teve início com a caracterização da biomassa lenho-celulósica, seguida da aplicação dos processos de pré-tratamento, hidrólise enzimática e fermentação, tendo sempre em atenção a determinação do teor de açúcares.

#### 3.3.1. Reagentes/soluções utilizadas na produção de bioetanol

Para a concretização desta etapa foi utilizada como matéria-prima a borra, após extracção do óleo, isto é, a borra extraída.

Como reagentes para o processo de caracterização da celulose foram utilizadas soluções de ácido sulfúrico 0,1N e de hidróxido de sódio de 0,1N, o álcool etílico (96%, AGA, SA) e hexano (comercial, Valente e Ribeiro, Lda).

Para a caracterização da lenhina, foi utilizada uma solução de ácido sulfúrico a 72%.

A determinação do teor de açúcares foi efectuada de acordo com quatro métodos. Para isso foi necessário utilizar o ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS), água ultrapura e acetonitrilo nas proporções 80:20 (v/v) ácido sulfúrico a 3% e soluções padrão da D-Glucose (Riedel-de Haen), D(-)-Arabinose (Panreac) e D(+)-Xilose (Carlo Erba).

Na hidrólise enzimática foi aplicada a enzima *Viscozyme L.*(Novozymes). Por fim, a fermentação decorreu com o auxílio da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Na determinação da concentração do etanol, foram utilizadas amostra de etanol (absoluto, AGA) e xileno (puro, Panreac).

#### 3.3.2. Caracterização do material lenho-celulósico

Antes de dar início à produção de bioetanol foi determinado o conteúdo lenho-celulósico, mais especificamente, o teor em celulose bruta e o teor em lenhina (Anexo A.3.1).

- **Determinação do teor em celulosa bruta**

A determinação do teor em celulose bruta foi efectuada de acordo com a norma portuguesa NP-1005, de 1974, com auxílio de uma placa de aquecimento (SELECTA, Agimatic – E), um dispositivo de filtração a vácuo, com uma bomba de vácuo (Neuberger),

uma balança analítica (Kern ALJ 220-4), uma Mufla (Vulcan A-550) e uma Estufa (WTB Binder).

- **Determinação do teor de lenhina**

O teor de lenhina assume uma grande importância na produção deste biocombustível. A deslenhificação da borra de café permitirá o aumento da área fermentável e, consequentemente o aumento do rendimento na produção do bioetanol.

Para a sua determinação, foram usados dois processos, a determinação do teor de lenhina Klason ou lenhina insolúvel e a determinação do teor de lenhina solúvel em ácido. A soma destes dois valores resultará na totalidade da lenhina presente na biomassa em causa.

- **Determinação do teor de lenhina Klason**

A determinação do teor de lenhina insolúvel (Anexo A.3.1) teve como base o procedimento descrito na norma TAPPI T222om-02, com recurso a uma placa de aquecimento (SELECTA, Agimatic – E).

- **Determinação do teor de lenhina solúvel**

A quantificação da lenhina solúvel resulta da leitura da absorvância do filtrado, resultante do procedimento de determinação do teor de lenhina Klason, usando um espectrofotómetro de UV-Vis (Shimadzu, UV-1700 pharmaspec) a um comprimento de onda de 205 nm.

### **3.3.3. Métodos para a produção de bioetanol**

Na produção do bioetanol, são três as etapas aplicadas na conversão da matéria-prima em açúcar. Inicialmente a matéria-prima sofre um pré-tratamento, seguindo-se a hidrólise enzimática e, por fim, a fermentação dos açúcares. Além da borra de café extraída, foi utilizada como matéria-prima, a celulose resultante da caracterização da borra de café. Uma vez que esta segunda matéria-prima sofreu, aquando da caracterização, um pré-tratamento ácido e alcalino, apenas lhe foi aplicada a hidrólise enzimática. Após a determinação do teor de açúcares foi possível determinar, entre as hipóteses estudadas, a melhor metodologia na produção de açúcares, passíveis de sofrerem fermentação.

As características de cada uma das metodologias aplicadas são descritas nos pontos seguintes.

- **Pré-tratamento**

Sem ter em conta a celulose, obtida durante a caracterização da borra, neste trabalho apenas foi focado um tipo de pré-tratamento da borra, o pré-tratamento com ácido diluído ( $H_2SO_4$ ), em duas concentrações diferentes, 1 e 3% (v/v).

Ambas as reacções decorreram num banho termostaticado (Selecta, Unitronic – OP), a uma temperatura de 85 °C e durante 360 min (6h) (o mesmo tempo aplicado na deslenhificação – procedimento utilizado na determinação do teor de lenhina), a 50 rpm. Após o pré-tratamento, o pH do mosto resultante foi ajustado para um valor próximo do ideal para o funcionamento da enzima aplicada na hidrólise enzimática.

A Tabela 3. 1 apresenta as condições experimentais utilizadas no pré-tratamento.

**Tabela 3. 1** – Condições experimentais dos ensaios efectuados, no pré-tratamento.

| Tratamento/<br>Reagente                | Ensaio | V <sub>reagente</sub><br>(mL) | Conc <sub>Borra Café</sub><br>(m/v) | m <sub>café</sub> (g) | Temperatura<br>(°C) | Tempo<br>Reacção<br>(min) |
|--|--------|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------------|---------------------|---------------------------|
| Sem Pré-tratamento /<br>adição de água | 1      | 200                           | 5%                                  | 10,3143               | 85                  | 360                       |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1%      | 2      | 200                           | 5%                                  | 10,1970               | 85                  | 360                       |
|  | 3      | 200                           | 5%                                  | 10,6054               | 85                  | 360                       |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 3%      | 4      | 200                           | 5%                                  | 10,1490               | 85                  | 360                       |
|  | 5      | 200                           | 5%                                  | 10,0433               | 85                  | 360                       |

- **Hidrólise Enzimática**

Na hidrólise enzimática, foi adicionada aos diversos ensaios, a enzima *Viscozyme L* (Novozymes), nas proporções de 100 µL enzima/g amostra e 119 µL enzima/g celulose.

A reacção decorreu num banho termostaticado (Selecta, Unitronic – OP), a uma temperatura de 50 °C, durante 2h, de acordo com (Delgado 2008), a 50 rpm.

- **Fermentação**

Através do teor de açúcares obtidos e após a determinação do melhor pré-tratamento (identificação da concentração do ácido a aplicar na borra), a amostra hidrolisada enzimaticamente foi submetida ao processo de fermentação. Esta etapa decorreu num reactor com capacidade de 2L, com controlo de temperatura (30°C) e com agitação constante, durante 48 horas. O aquecimento foi assegurado por uma resistência (MGM Lauda MT) aplicada num banho termoestático. Por sua vez, a agitação foi executada por um agitador mecânico (Heidolph).



No processo, foi utilizado como agente fermentador a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, na proporção de  $1 \times 10^{10}$  células/1g levedura. Mais especificamente, 0,9652g levedura para 870 mL de solução a fermentar.

Ao longo das 48 horas retiraram-se amostras, para a avaliação do consumo de açúcares e formação de etanol, ao longo do tempo.

Para efectuar este processo nas melhores condições e evitar contaminações microbianas, antes de se iniciar a fermentação, todo o material de vidro, incluindo o reactor, sofreram uma esterilização na autoclave (Uniclave 88), durante 15 minutos, à temperatura de 121°C e pressão de 1,2 bar. A colocação do mosto e da levedura também foi efectuada em condições de esterilização, numa câmara de fluxo laminar (Telstar, Bio-II-A)



Figura 3.4 – Imagens representativas do processo de fermentação.

### 3.3.4. Métodos para a determinação do teor de açúcares

Para as análises do teor de açúcares (glucose, xilose e arabinose) foram utilizados quatro métodos: o método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS), a leitura do índice de refração, a leitura da absorvância no espectrofotómetro UV-Vis e a quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

- **Método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS)**

São considerados açúcares redutores, aqueles que apresentam um grupo aldeído ou cetona livre na sua molécula, permitindo-lhes a redução de diversos iões metálicos que entrem em contacto com eles (Edson 2002).

O método do DNS (Anexo A.3.2) baseia-se na oxidação do grupo aldeído dos açúcares e na redução do ácido DNS a ácido 3-amino-5-nitrossalicílico, obtendo-se uma alteração na cor (passagem do amarelo para o Laranja).

As variações são determinadas pela leitura da absorvância na região do visível ( $\lambda=540$  nm), num espectrofotómetro de UV-Vis (Shimadzu, UV-160A).

Com o valor da absorvância e a curva de calibração (anexo A.3.2), efectuada com soluções de glucose de concentrações entre os 0,05 e os 0,5 g/L, calcula-se a concentração dos açúcares redutores presentes na amostra.

- **Determinação por refractometria (°Brix)**

A determinação da concentração de açúcar em °Brix, realizada num refractómetro de Abbe (Atago), permite determinar os açúcares na sua totalidade e não uma quantificação individual.

Para a realização dos ensaios, foi efectuada apenas uma curva de calibração, a da glucose, para a qual, foram efectuadas leituras da concentração em °Brix, utilizando soluções de glucose com concentrações de 0,6 a 110 g/L.

A leitura do grau Brix à temperatura a que foi efectuada a medição foi corrigida para os 20 °C.

- **Determinação por espectrofotometria UV-Vis**

A determinação do teor de açúcares por espectrofotometria UV-Vis, decorreu num espectrofotómetro Shimadzu, UV-1700 pharmaspec.

O procedimento teve início com a preparação de soluções padrão de glucose, xilose ou arabinose, de concentrações na ordem dos 100 g/L, para as quais, foi traçado um espectro de absorção de forma a determinar o comprimento de onda para o qual a absorvância é máxima (glucose: 190 nm; xilose: 222 nm e arabinose: 271 nm).

Com a leitura do valor de absorvância e as curvas de calibração (anexo A.3.2), são determinadas as concentrações de cada um dos açúcares presentes nas amostras.

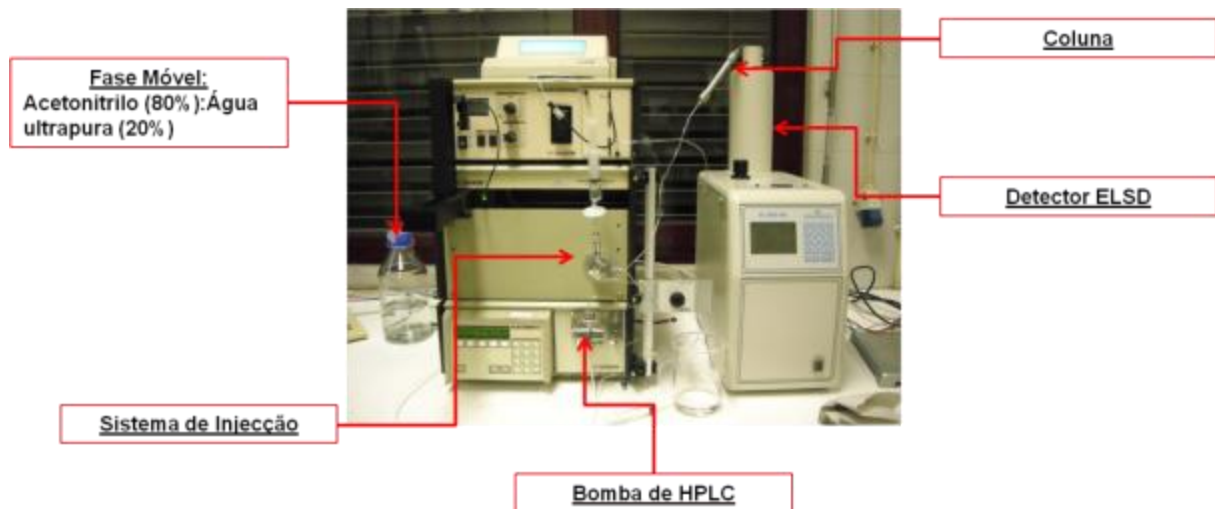
- **Determinação por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)**

O teor de açúcares redutores presentes na amostra foi obtido através da cromatografia líquida de alta eficiência, com recurso a um HPLC (Gilson), composto por uma bomba (Gilson 307) e um sistema de injeção (Gilson 231 XL) com loop de volume fixo (20µL). Além destes componentes foi utilizado um integrador (Shimadzu, C-R3A chromatopac), um detector de espalhamento de luz por evaporação - ELSD (Polymer Laboratories, PL-EMD 960) e uma coluna de aço (Chromsep SS 100, de diâmetro interno de 4,6mm) equipada com uma pré-coluna.

Para a realização dos diversos ensaios foi utilizada, como fase móvel, uma solução filtrada de acetonitrilo e água ultrapura nas proporções de 80:20 (v/v) a um caudal de 0,100mL/min, para o qual a pressão iguala os 12 bar, à temperatura ambiente. O caudal de ar alimentado

ao detector era de 5,2 L/min e uma temperatura do detector de 70 °C, com uma constante de tempo igual a 1s e uma atenuação de 1. No integrador fixou-se um slope na ordem dos 7500 e uma atenuação de 6.

Todas as amostras foram diluídas volumetricamente na solução de acetonitrilo e água ultrapura 80:20 (v/v) e a concentração de açúcares foi determinada a partir da curva de calibração efectuada com as soluções padrão (glucose, xilose e arabinose).



**Figura 3. 5** – Equipamento utilizado na determinação dos açúcares, HPLC.

### 3.3.5. Determinação do teor de etanol por cromatografia gasosa

A determinação do teor de etanol foi realizada por cromatografia gasosa, num cromatógrafo equipado com um detector FID (SRI 8610C), usando-se como gás de queima o hidrogénio (produzido no Hydrogen Generator, 7525) e como gás de arraste o azoto. As condições aplicadas no cromatógrafo consistiram num tempo de análise de 19 minutos, a 200 °C no detector, com uma taxa de amostragem de 5Hz, limites entre -64,462 e 414,399 mV.

Inicialmente o cromatógrafo leva dois minutos a atingir a temperatura de 55 °C, atingindo no final uma temperatura de 200 °C, através de uma rampa de 20 °C/min. Após atingir a estabilidade, a amostra é introduzida no cromatógrafo com uma seringa de 1 µL (Hamilton, Microliter™ Syringes).

Para a determinação do teor de etanol foram preparadas diversas soluções padrão com diferentes concentrações de etanol (Absoluto, AGA), utilizando como solvente o xileno (puro, Panreac). Todas as amostras retiradas ao longo do tempo do processo de fermentação, previamente congeladas, sofrem o processo de descongelamento, seguido da centrifugação na centrífuga de eppendorfs (5804), para separação da biomassa existente no sobrenadante. A cada amostra foi retirado um volume de 0,50 mL perfazendo até ao volume de 10,00 mL com xileno e foi efectuada uma agitação vigorosa de forma a permitir a total

dissolução do etanol existente na amostra.

### **3.4. Caracterização das cápsulas metálicas**

A caracterização dos metais constituintes das cápsulas teve início com a dissolução de 1 g de amostra numa mistura de ácidos (10 mL de HCl concentrado e 25 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado), seguida da determinação do teor dos metais no espectrofotómetro de absorção atómica (Varian, SpectrAA – 300).

Com padrões de concentrações até 10 ppm foram realizadas diversas curvas de calibração, para os metais: Chumbo (Pb), Crómio (Cr), Ferro (Fe), Níquel (Ni), Zinco (Zn), Alumínio (Al).

## **4. Resultados e discussão**

A apresentação dos resultados encontra-se dividida em três subcapítulos. O primeiro subcapítulo diz respeito à caracterização da borra de café, onde se incluem também os resultados obtidos na caracterização da borra de café extraída, obtida após extracção do óleo com solvente orgânico.

Os resultados obtidos na produção do biodiesel e tudo que se encontra de alguma forma envolvido nesse processo, encontram-se descritos no subcapítulo 4.2, onde se apresentam os estudos efectuados na extracção do óleo, a sua caracterização, a produção do biodiesel, a sua caracterização e rendimento obtido no processo.

Por fim, no último subcapítulo serão abordados os resultados obtidos na produção do bioetanol, e tal como no biodiesel, todas as etapas envolvidas até à conclusão desse objectivo, tais como a caracterização da biomassa lenho-celulósica, o processo produtivo e a determinação dos açúcares.

### **4.1. Caracterização da matéria-prima**

Dos diversos parâmetros físico-químicos, que permitem caracterizar a matéria-prima, foram avaliados sete, a granulometria, o teor de humidade, o teor de carbono, o teor de azoto e de proteínas, o teor de cinzas e o poder calorífico.

Em relação à determinação da composição, na Tabela 4. 1 apresentam-se os resultados obtidos para as avaliações efectuadas e os valores correspondentes encontrados na bibliografia.

**Tabela 4. 1** – Resultados experimentais obtidos para a caracterização da matéria-prima (borra de café), antes e após extração do óleo.

| Ensaio                                     | Borra de Café            |                       | Referências                      |
|--|--------------------------|-----------------------|----------------------------------|
|  | Antes Extração (Inicial) | Após Extração (final) |                                  |
| Teor Humidade (%)                          | 12,1                     | 6,2                   | 1,18 a 5,54% <sup>(a)</sup>      |
| Poder Calorífico (cal/g)                   | 4619,2                   | 4941,0                | 5206,84 - 6424,96 <sup>(b)</sup> |
| Teor Carbono (%)                           | 52,2%                    | 53,1                  | 47,8% - 57,9 <sup>(c,d)</sup>    |
| Teor Carbono (mg/L)                        | 10,81                    | 10,83                 | -----                            |
| Teor Azoto<br>(g N/100g amostra)           | 2,1                      | 2,8                   | 1,9 - 2,3 <sup>(c,e)</sup>       |
| Teor Proteína<br>(g Proteína/100g amostra) | 13,3                     | 16,4                  | 6,7 - 13,6 % <sup>(a,f)</sup>    |
| Teor Cinzas (%)                            | 1,43                     | 1,51                  | 0,43 - 1,6% <sup>(a,f)</sup>     |
| Teor Celulose Bruta (%)                    | 13,84                    | 15,80                 | 8,6% <sup>(g)</sup>              |
| Teor Lenhina Klason (%)                    | 31,93                    | 30,88                 | -----                            |
| Teor Lenhina Soluvel (%)                   | 1,72                     | 1,63                  | -----                            |
| Teor Lenhina Total (%)                     | 33,65                    | 32,51                 | -----                            |

(a) Lago et al. (2001); (b) Bizzo. (2003); (c) Melo et al. (2007); (d) UNICAMP (e) Nogueira e Costa (1999); (f) Mussatto et al. (2011a); (g)Mussatto et al, 2011b.

Avaliando os resultados obtidos é possível constatar que alguns dos parâmetros analisados não se encontram de acordo com os encontrados nas referências bibliográficas, variando de forma pouco significativa. De entre os parâmetros avaliados, o teor de cinzas (1,43 e 1,51%) e o teor de carbono orgânico (52,2 e 53,1%) apresentam-se dentro dos intervalos referenciados bibliograficamente. Os teores de carbono, de azoto e de proteína da borra bruta encontram-se dentro da gama de valores referidos na literatura. No caso da borra extraída esses parâmetros são ligeiramente superiores aos encontrados na borra bruta, o que pode ser explicado pela redução da massa de borra devida à remoção do óleo.

A diferença entre os teores de humidade, apresenta uma correlação com o poder calorífico (Ferreira, *et al.* 2007). Quanto maior o teor de humidade, menor será o valor do poder calorífico da matéria, resultado que se verifica na análise da borra de café. Para uma

humidade de 12,1%, o valor do poder calorífico é de 4619,1 cal/g, inferior aos 4941,0 cal/g obtidos para a borra extraída, contendo 6,2% de humidade.

Existe ainda uma relação positiva entre o poder calorífico superior (PCS) e os componentes elementares da biomassa, correlação que se verifica na análise efectuada à matéria-prima (Tabela 4. 1) (Protásio, *et al.* 2011). Para uma variação positiva do teor de carbono, ocorre um acréscimo do PCS, em cerca de 321 cal/g para um aumento de 0,99% de carbono. Mas, esta variação também pode dever-se à variação no teor de humidade, variação essa que é mais significativa.

Tendo ainda em conta o carbono (10,81 e 10,83 g/100 g amostra) e o azoto (2,1 e 2,8 g N/100 g borra café), o seu elevado teor permitirá a utilização da borra nos processos de compostagem, como já havia sido referido no capítulo 1.2, uma vez que o rácio carbono:azoto ( $\approx 5:1$ ), permite usá-la como fonte de azoto.

Pode-se avaliar o potencial de utilização da biomassa como fonte de energia por queima, consoante o seu poder calorífico, e dado que este parâmetro indica qual a energia que se encontra disponível para libertação. Os intervalos de valores obtidos (4619,1 – 4941,0 kcal/kg), apesar de serem inferiores aos encontrados na bibliografia para a borra de café, apresentam-se próximos dos poderes caloríficos de alguns materiais utilizados como combustíveis. É o caso dos resíduos agrícolas (a palha tem PCS = 4410 kcal/kg), e algumas espécies de madeira, como o eucalipto (cujo PCS varia de 4596 a 4646 kcal/kg) (Sousa 2009). Assim sendo, e caso não existam limitações por parte de outros parâmetros, o poder calorífico da borra de café, não deve ser desprezado.

Por fim, a presença de matéria mineral (cinzas), também como já havia sido referido, pode trazer algumas desvantagens, caso a borra de café seja utilizada como matéria-prima para queima directa, uma vez que leva à libertação de algumas partículas, contaminando assim o meio ambiente.

Na avaliação da granulometria da borra de café, a Figura 4. 1, mostra a distribuição de tamanhos das suas partículas.

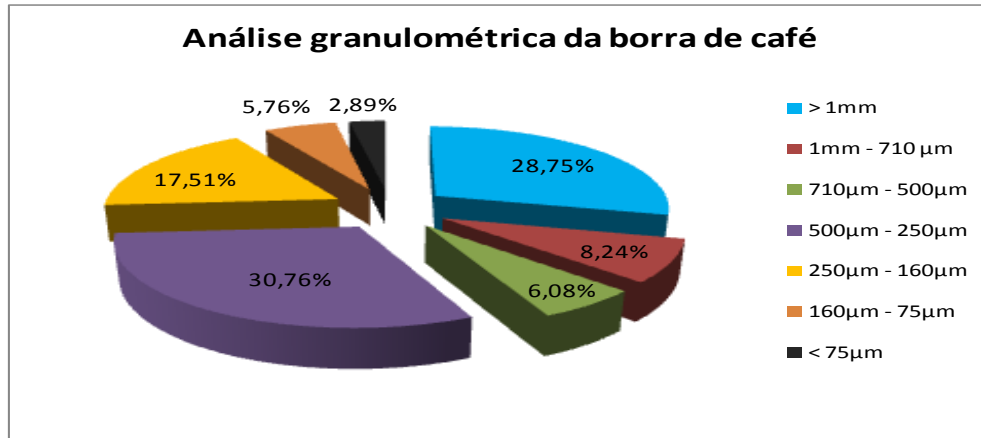


Figura 4. 1 – Análise granulométrica da borra de café.

Pela observação da figura é possível verificar que a maioria das partículas (30,76% m/m) ficou retida entre os peneiros com diâmetro de abertura entre os 250 µm e os 500 µm. Seguido de 28,75% (m/m) de partículas que ficaram retidas no peneiro com malha de diâmetro de 1 mm.

Apesar da diversidade de diâmetros entre os grãos, a borra de café apresenta uma granulometria fina, resultado que se encontra de acordo com o descrito por (Nogueira e Costa 1999).

Esta característica torna-se importante, quando se tem como objectivo utilizar a matéria-prima para extracção de óleos. Sendo que, quanto maior a dimensão da partícula menor será a velocidade do processo de extracção.

Quando comparado com valores bibliográficos, o teor de celulose apresenta-se próximo dos 8,6%.

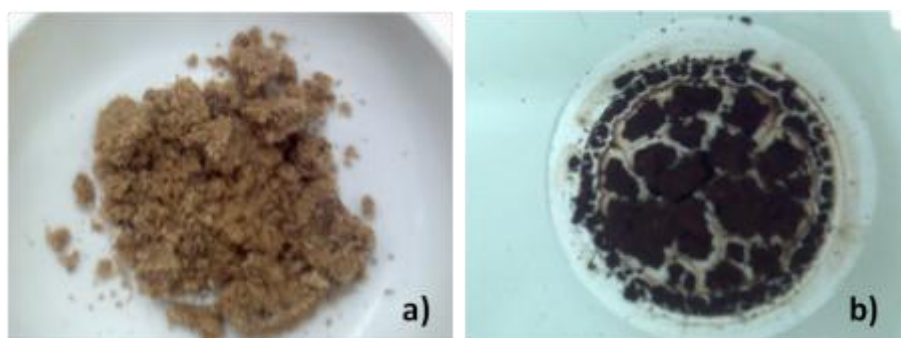


Figura 4.2 – Resultado obtido após caracterização da biomassa lenhocelulósica. A) celulose; b) lenhina insolúvel após tratamento e antes da incineração.



## 4.2. Produção de biodiesel

O sucesso da produção do biodiesel encontra-se dependente das mais diversas circunstâncias, como as características da matéria-prima e as condições operacionais.

Para a sua produção, foi necessário extrair o óleo da borra de café, seguindo-se a sua caracterização e respectivas etapas para a sua conversão em biodiesel.

### 4.2.1. Processo de extracção do óleo da borra de café

No processo de obtenção do óleo da borra de café, foi realizado um estudo sobre a extracção com recurso a diversos solventes e misturas destes, com uma razão borra: solvente de 5% (m/v), um tempo médio de contacto entre os 7 e os 38min (Figura 4.3), e à temperatura de ebulição do solvente em uso.

O tempo médio de contacto foi determinado de acordo com a média de tempos necessários à extracção. Como tal, foram efectuadas várias leituras do índice de refração do líquido extraído, colhido imediatamente antes de cada descarga do solvente, ou seja, antes de terminar um novo contacto. A estabilização do índice de refração ditou o final do processo de extracção.

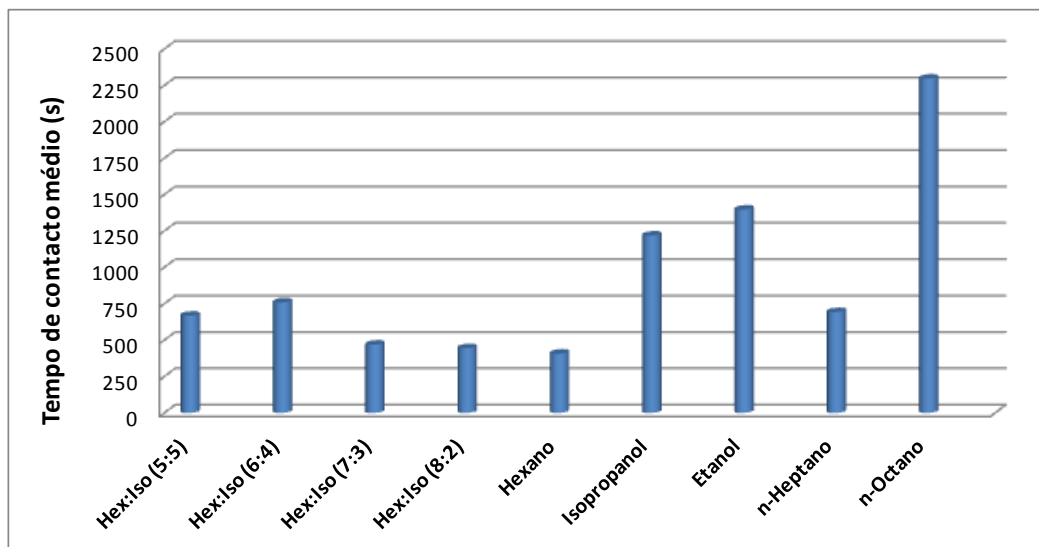
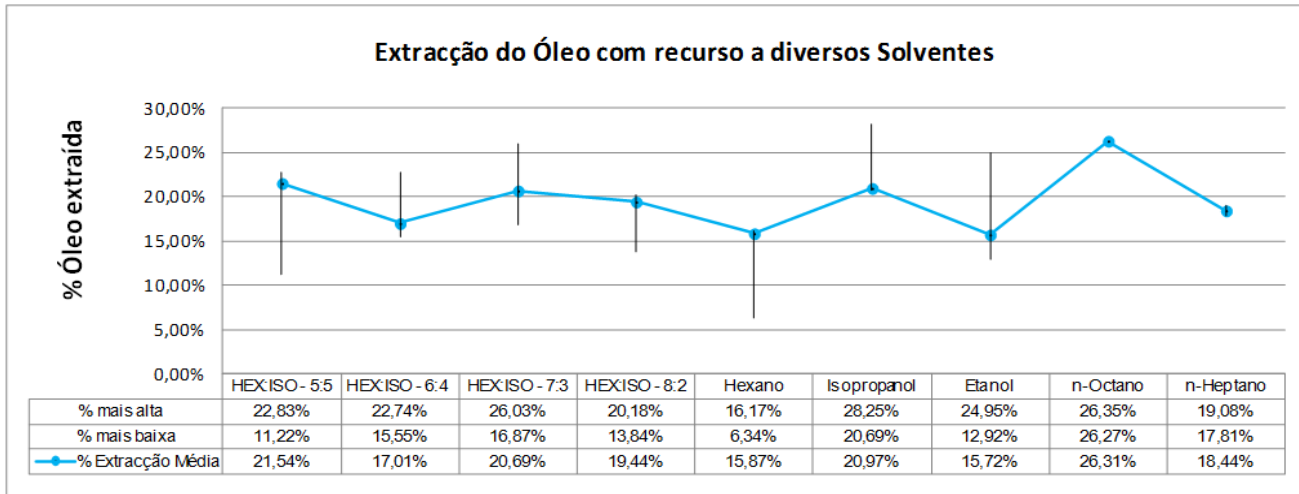


Figura 4.3 – Tempo médio de contacto na extracção do óleo de café, com os diversos solventes

Tendo em conta o rendimento na extracção, a recuperação do solvente, o número de horas necessárias para o ensaio, o custo dos solventes e a sua implicação ambiental, foi avaliado qual o melhor solvente a utilizar para a obtenção do óleo.

A Figura 4.4, apresenta o teor de óleo obtido na extracção com o Soxhlet usando os diferentes solventes.



**Figura 4.4-** Teor de óleo obtido no processo de extracção do óleo de café, utilizando diferentes solventes.

Avaliando os resultados obtidos, é possível aferir que o solvente n-octano é aquele que permite uma maior extracção do óleo (26,31%), e cujos resultados apresentam uma maior reprodutibilidade.

Segue-se a mistura entre hexano e isopropanol nas proporções 5:5 (21,54%), isopropanol a 100% (extracção de 20,97%) e a mistura de hexano e isopropanol, 7:3 (extracção de 20,69%). A extracção com todos os outros solventes apresenta rendimentos inferiores aos 20%, sendo, o etanol, aquele que apresenta uma menor capacidade de extracção, 15,72%, tal como uma menor reprodutibilidade nos resultados.

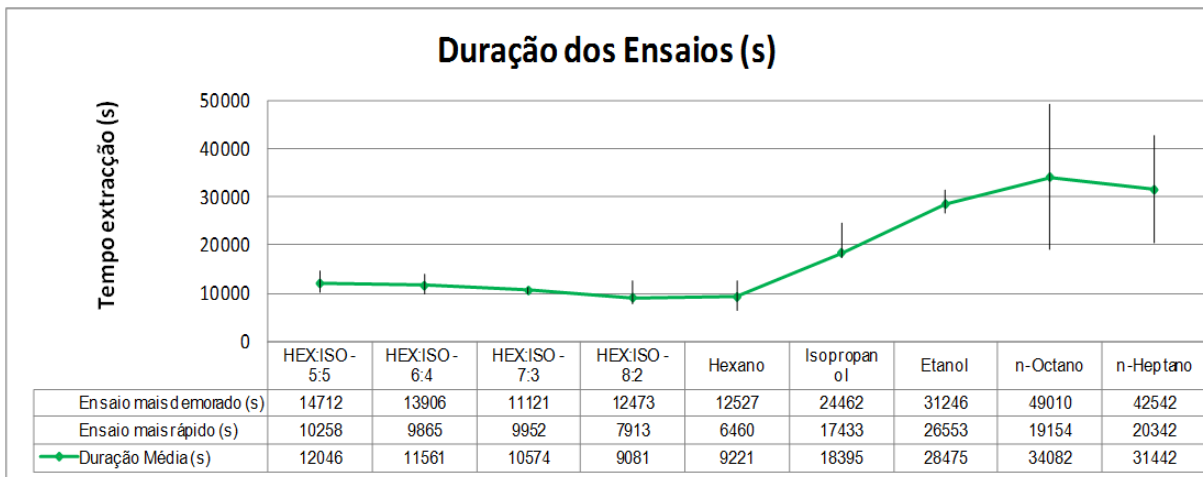
Comparando os resultados obtidos neste trabalho com os encontrados na bibliografia, apenas a extracção com Soxhlet, utilizando como solvente, o hexano, foi reportada. Foram também encontrados estudos com o etanol mas, no entanto, com métodos de extracção diferentes.

Assim sendo, os teores do óleo na borra de café, reportados bibliograficamente (Tabela 2.10), variam entre os 13,40% e os 18,30%, para a extracção usando o hexano, gama de valores nos quais se encontra a média de resultados obtidos neste trabalho, para aquele solvente (15,87%).

Relativamente ao etanol, a comparação não pode ser feita directamente, uma vez que, como já havia sido referido, apenas foram reportados valores obtidos para ensaios de extracção com metodologias diferentes. No entanto, se não tivermos isso em conta, o rendimento obtido (15,72%), apresenta-se bastante inferior ao publicado por Freitas *et al.* (2000), (Tabela 2.10) que indica um valor de 30,34 a 65,91%.

A diferença entre os rendimentos de extracção, pode ser explicada pela variação na composição, condições de extracção e dimensão das partículas envolvidas (Speer e Kölling-Speer, 2006).

Quando comparado com o teor de óleo do café, a borra apresenta um maior conteúdo lipídico, justificado, como já havia sido referido no capítulo 2.4, pelo tratamento sofrido com água/ vapor na obtenção da bebida.



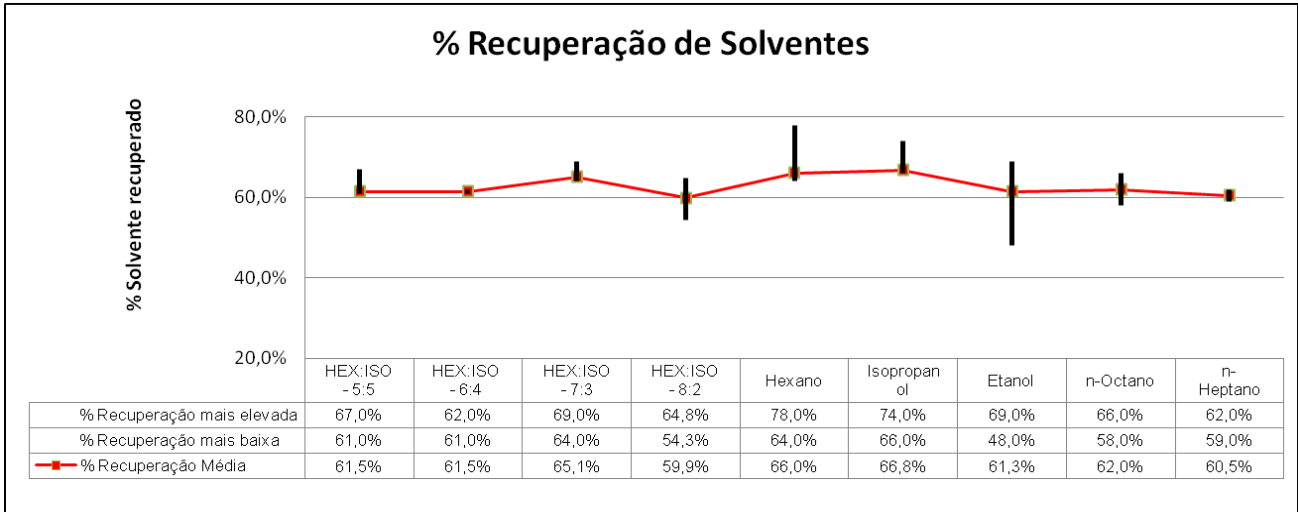
**Figura 4.5** – Duração dos ensaios de extracção.

Na avaliação da duração total dos ensaios (Figura 4.5), tendo como critério de paragem do processo extractivo, a estabilização do índice de refacção após três determinações consecutivas, o n-octano foi aquele que precisou de maior tempo de extracção, 34082s ( $\approx$  9,5 h), seguido do n-heptano, com um tempo de 31442s  $\approx$  8,7 h, e do etanol com duração média de 28475s  $\approx$  7,9 h.

Em relação ao solvente que precisou de um menor tempo de extracção, foi o hexano, com uma duração média de 9221 s, correspondentes a, aproximadamente, duas hora e meia de extracção.

Com o objectivo de minimizar a aquisição de novos reagentes e a libertação de resíduos, neste trabalho foi efectuada uma operação de reciclagem dos solventes utilizados.

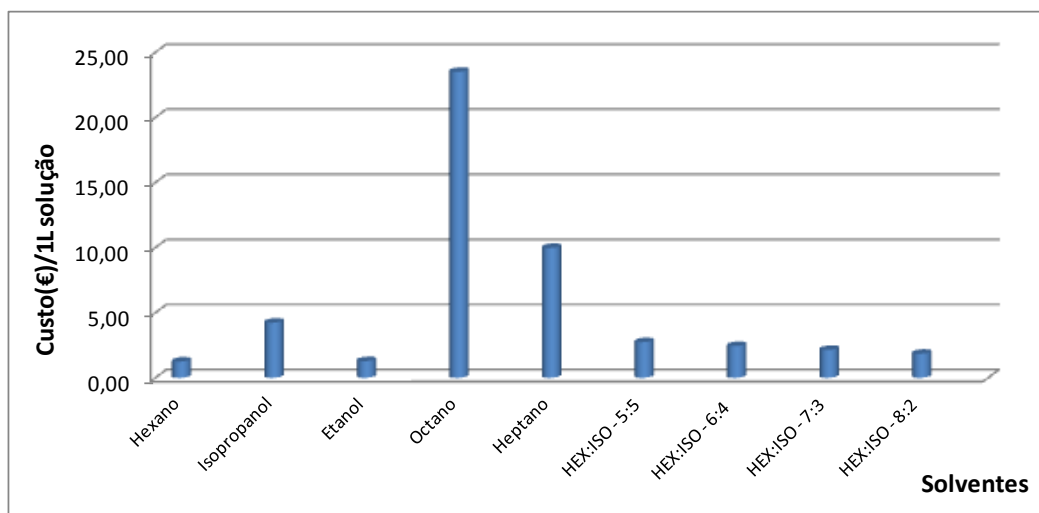
O rendimento obtido na recuperação dos solventes, serviu como um dos parâmetros relevantes na sua escolha, para a extracção do óleo.



**Figura 4.6** – Percentagem de recuperação do solvente utilizado, nos diversos ensaios realizados para a extracção do óleo da borra de café.

Analisando a Figura 4.6, é possível observar uma taxa de recuperação de 66,8% para o isopropanol, a taxa mais elevada entre a média dos ensaios efectuados, seguida do hexano, com 66%. Todos os outros solventes e misturas, de uma forma geral, apresentaram uma recuperação na ordem dos 60%.

Tendo em conta o custo envolvido na utilização de cada um dos solventes e misturas, por litro de solução, a Figura 4.7, apresenta o custo agregado à utilização de cada solvente.



**Figura 4.7** – Custo dos solventes por cada litro de solução utilizada.

Analisando a Figura 4.7 é possível aferir, que de todos os solventes o n-octano é aquele que apresenta um maior custo para o utilizador, com um preço de 23,50 €/L de solução, ao contrário do etanol e hexano que apresentam um custo de 1,28 €/L e 1,25 €/L,

respectivamente. Enquanto as misturas de hexano:isopropanol, apresentam valores um pouco mais elevados (1,84 €/L a 2,74 €/L solução) que o etanol e o hexano, os quais apresentam um custo inferior a 1,50 €/L.

Mediante os resultados obtidos na extracção do óleo, a escolha para o solvente seria evidente, o n-octano. No entanto, tendo em conta os impactos ambientais e para a saúde humana, este não se apresenta como o melhor candidato. Segundo a sua ficha de segurança, além de ser necessário utilizar todo o tipo de equipamento de protecção individual, este solvente orgânico apresenta uma toxicidade aguda por inalação, com concentrações letais para 50% da população animal avaliada (ratos), no valor de 37,5 mg/L/4h e por via oral, uma dose letal para 50% da população, com valores superiores a 2000 mg/kg. A sua utilização prolongada apresenta perigos quer para o meio ambiente quer para o ser humano, resultando numa alta toxicidade para os meios aquáticos e possíveis pneumonias químicas aquando da sua absorção pelo homem.

Além disso, quer a duração dos ensaios (9,5h), quer o preço por litro de solução (23,50 €/L), apresentam-se como uma desvantagem, sendo aquele que apresenta os maiores valores.

Tendo em conta todos estes resultados, apesar do teor de óleo obtido ser o melhor, os pontos negativos são muitos, levando à escolha de outro solvente.

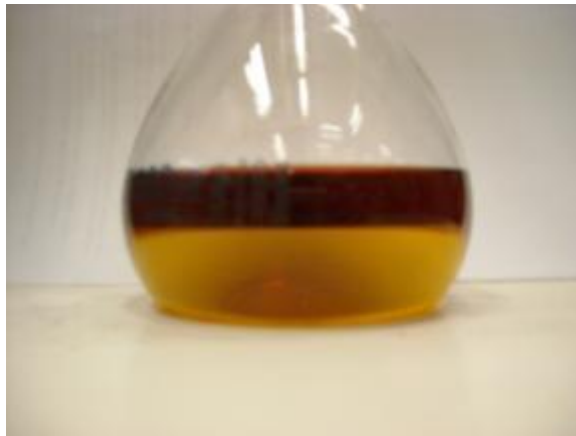
A escolha recaiu na mistura de hexano e isopropanol, na proporção de 5:5, dado ser o segundo solvente/mistura a permitir um maior rendimento na extracção do óleo (21,54%), com uma duração média de 3h e um custo relativamente baixo (2,74 €/L solução).

Segundo (Halim, *et al.* 2011), a utilização do isopropanol como co-extractor, na extracção com o hexano, permite um aumento do rendimento em óleo extraído. A explicação para o sucedido reside na destruição do complexo lípido-proteína, permitindo o acesso aos lípidos, por parte do hexano. Uma vez que, a existência de lípidos polares, como os fosfolípidos, glicolípidos e colesteróis, aliados a moléculas de proteínas (por ligações electrostáticas ou de hidrogénio), necessitam de solventes polares para a sua separação.

Os mesmos autores, referem ainda a adição de uma mistura de hexano e água de forma a proporcionar uma separação de fases para uma melhor extracção, uma fase superior contendo a maioria dos lípidos com o hexano e outra fase, a inferior, contendo a mistura água/álcool e os contaminantes presentes na matriz extraída.

Tendo em vista este estudo, neste trabalho foi efectuado um ensaio com o hexano e isopropanol, para determinar se ocorreu inflação do rendimento de extracção. Assim sendo, foram adicionados 80 mL de uma mistura de hexano:água (1:1, %(v/v)), aos 200 mL de solução contendo a mistura de solventes hexano:isopropanol (5:5) e a gordura extraída.

Após a adição, foi verificada uma separação de fases (Figura 4.8), tal como tinha sido referido por (Halim, *et al.* 2011).



**Figura 4.8** – Solução após extracção do óleo de borra de café, com a mistura de solventes hexano : isopropanol, na proporção de 5:5 (v/v) e adição de uma mistura de hexano e água, na proporção de 1:1 (v/v).

Posteriormente e após decantação das fases, procedeu-se à sua destilação por vácuo, obtendo-se um teor de óleo de 17,45% na fase menos densa (óleo e hexano) e na fase mais densa (álcool e água), 2,09%. Apesar do teor de óleo ter diminuído, a verdade é que este encontra-se dependente do tipo de matéria-prima utilizada e da sua homogeneidade e, uma vez que a matéria-prima resulta de uma mistura de uma variedade de cápsulas de café, de composição desconhecida, o resultado não apresenta garantias, necessitando de mais experiências. Por outro lado, e tendo em conta os 17,45% de teor de óleo extraído, o solvente que apresentaria melhor rendimento na extracção, sem qualquer interveniente alcoólico, seria o n-octano, que como já foi referido anteriormente, não se apresenta como o melhor candidato dado o preço. Seguir-se-ia, então, o n-heptano, com extracções na ordem do 18,44%, mas que no entanto necessita de um tempo reaccional de 31442s ( $\approx 8,7$ h) e um custo por litro de solução de 9,98 €/L, além de apresentar na sua ficha de segurança sérios riscos a nível da saúde humana e ambiental. Assim sendo, a retoma da extracção com adição de álcool torna-se novamente a mais aconselhável.

No entanto, devido à falta de condições laboratoriais, a mistura hexano:isopropanol (5:5) não pode ser utilizada no Soxhlet à escala piloto, procedendo-se ao ensaio de extracção, com utilização do hexano.

A escolha recaiu no hexano, porque em média, os resultados obtidos, apresentavam um teor de óleo na ordem dos 15,87%, com 66% de recuperação dos solventes e um tempo de reacção de 2,6 h e um custo de 1,25 €/L de solução. Enquanto, a segunda escolha para a substituição, o etanol, apesar de apresentar um baixo custo por litro de solução (1,28 €/L), a

sua utilização resulta num menor rendimento na recuperação do solvente ( $\approx 61,3\%$ ), e num maior número de horas reaccionais (7,9 h) para obter 15,72% de óleo.

#### **4.2.2. Caracterização do óleo de café**

A caracterização do óleo extraído da borra de café, foi um dos objectivos propostos antes de dar início à produção do biodiesel, a fim de identificar as características que podem interferir no rendimento da reacção ou inviabilizar a sua produção.

A importância da caracterização da matéria-prima (óleo) reside no facto de determinadas propriedades dos óleos, como o teor de água, o índice de iodo, o índice de acidez (IA), e consequentemente, o teor de ácidos gordos livres, poderem influenciar a conversão dos triglicéridos em ésteres. Enquanto outros parâmetros como a viscosidade e a densidade podem influenciar negativamente as características do combustível, tornando inviável a sua utilização.

Para que seja possível obter uma boa eficiência na conversão do óleo a biodiesel, é necessário que o índice de acidez (do óleo) seja baixo e que a matéria-prima se encontre isenta de água (anidra).

Assim sendo, o primeiro passo consistiu na avaliação destes parâmetros e de outros, como o poder calorífico superior e o ponto de inflamação.

A tabela 4.2 apresenta a média dos resultados obtidos para os diversos ensaios. Os cálculos realizados podem ser consultados no anexo B.2.2.

**Tabela 4.2** – Resultados da caracterização do óleo obtido por extracção da borra do café com hexano.

| Parâmetros                              | Valor Experimental                   |
|---|--------------------------------------|
| Coloração/Aspecto                       | Castanho escuro                      |
| Estado Físico/Textura                   | Espesso, com tendência a solidificar |
| Poder Calorífico Superior (cal/g)       | 8710,4                               |
| Densidade a 15°C (kg/m <sup>3</sup> )   | 917,0                                |
| Viscosidade a 40°C (mm <sup>2</sup> /s) | 22,23                                |
| Índice de Acidez (mg KOH/g amostra)     | 118,4                                |
| Teor de Água (%)                        | 0,2004                               |
| Teor de Água (ppm)                      | 2004                                 |
| Índice de lodo (g lodo/100g amostra)    | 54,3                                 |
| Ponto de Inflamação (°C)                | >200°C                               |

Neste momento as características dos óleos obtidos a partir da borra de café não estão regulamentadas e por isso não é possível obter um termo comparativo legislado. A única forma encontrada para o efeito é a comparação com a bibliografia existente e com os trabalhos anteriormente realizados. Por outro lado, os parâmetros escolhidos para a caracterização do óleo obtido por extracção da borra de café com hexano e apresentados na Tabela 4.2 são também os mais importantes na caracterização de matérias-primas para a produção de biodiesel, pois como foi referido anteriormente são estes que permitem avaliar a qualidade da mesma.

Assim sendo, a partir da Tabela 4.2 observa-se que o poder calorífico do óleo é elevado (8710,4 kcal/kg  $\approx$  7994x10<sup>3</sup> kcal/m<sup>3</sup>), quando comparado com outros combustíveis apresenta um poder calorífico suficiente para ser empregue como matéria-prima a ser usada na geração de energia (ex: caldeiras).



Outro dos valores elevados é o índice de acidez (118,4 mg KOH/g amostra), valor que se encontra bastante superior aos indicados bibliograficamente, por Matos *et al.* (2010) e Lago (2001) (4,3 a 16,59 mg KOH/g amostra), mas que pode ser explicado pelo tipo de amostra utilizada, cuja origem resulta de um conjunto de diferentes tipos de cápsulas, de composição desconhecida, pelo processo e solvente utilizado na extracção, ou ainda pela oxidação da borra em contacto com o ar, enquanto estava armazenada. Além do elevado teor de humidade presente na borra, resultante do processo extractivo do café, que contribui para a hidrólise dos glicérides a ácidos gordos livres, a temperatura elevada utilizada no mesmo processo e o tempo de armazenamento da borra até à extracção do óleo proporcionam o aumento do índice de acidez. Este resultado permite concluir que a amostra possui elevado teor de ácidos gordos livres em solução.

Com relação ao índice de iodo, este apresenta um valor igual a 54,3g I<sub>2</sub>/ 100 g amostra, resultado inferior aos valores referenciados na literatura para o óleo da borra de café, no capítulo 1.2.4 (entre 85,5 e 98,5 g I<sub>2</sub>/ 100 g amostra). Este parâmetro é indicativo do grau de insaturação dos ácidos gordos presentes no óleo, e por sua vez, quanto menor for o seu valor, maior é o grau de saturação das suas moléculas e por isso maior é a probabilidade de a matéria se apresentar no estado sólido à temperatura ambiente, característica física observada no óleo extraído nestes ensaios. Esta propriedade é também indicativa da estabilidade à oxidação do óleo e que quanto menor o valor do índice de iodo, maior é a estabilidade à oxidação, pois as moléculas saturadas são de modo geral mais estáveis do que as que têm ligações duplas e triplas.

O ponto de inflamação foi outro dos parâmetros avaliados. Relacionado com a capacidade do óleo em gerar vapores que inflamam quando aplicado aquecimento, permite prever as medidas de segurança necessárias para o tratamento e seu armazenamento. Dado o elevado resultado apresentado pelo óleo, ponto de inflamação entre os 200 e os 250 °C, ser superior à temperatura ambiente, permite aferir que o óleo não é inflamável nas condições normais, garantindo um factor de segurança para o utilizador.

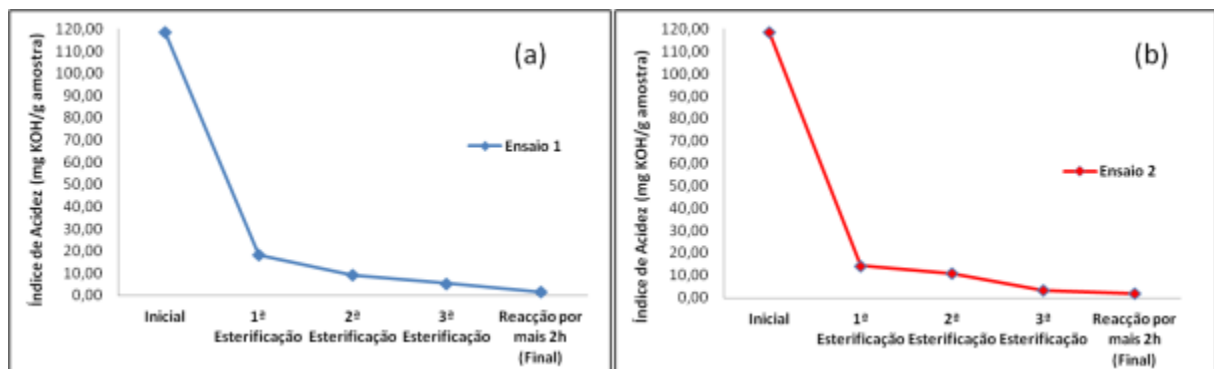
Por fim, é ainda importante referir o valor do teor de água, pois o facto de este ser elevado (2004 ppm > 500 ppm) leva à formação de sabões aquando as reacções de transesterificação.

#### **4.2.3. Produção de biodiesel**

Devido ao facto de a acidez do óleo ser superior a 1,5 mg KOH/g amostra, (valor máximo recomendado para proceder à transesterificação directa do óleo), a produção do biodiesel

teve início com o processo de esterificação, processo que permite a diminuição da acidez do óleo para valores compatíveis aos recomendáveis.

Assim sendo, foram efectuadas 3 esterificações consecutivas (Figura 4.9). Entre cada esterificação, a separação de fases não foi conseguida, tornando impossível a remoção da água formada nas etapas anteriores. A partir da primeira esterificação, a presença de água traduziu-se num abrandamento na diminuição do índice de acidez (Figura 4.9), apresentando uma redução na ordem dos 85% (ensaio 1) e 88% (ensaio 2), com a primeira esterificação, sendo essa redução menos abrupta após a segunda, 49% (ensaio 1) e 24% (ensaio 2) e terceira esterificação.



**Figura 4.9** – Resultados obtidos na determinação do índice de acidez, ao longo das etapas de produção do biodiesel. (a) ensaio 1; (b) ensaio 2.

Uma vez que o resultado final (5,40 mg KOH/g amostra para o ensaio 1 e 3,29 mg KOH/g amostra para o ensaio 2), ainda não se encontrava dentro dos valores esperados (IA <3 mg KOH/g amostra), procedeu-se novamente à reacção da amostra, por mais duas horas, mas neste caso sem qualquer adição de reagentes. Sendo possível constatar no final da reacção, um índice de acidez igual a 1,53 e 1,83 mg KOH/g amostra, para os ensaios 1 e 2, respectivamente.

Dado o índice de acidez final, procedeu-se à etapa da transesterificação. Após a sua conclusão e um repouso de 20h, não foi possível visualizar a separação de fases, tal como nas etapas anteriores. Então, de forma a facilitar a separação e a remoção do excesso de catalisador, álcool e glicerina existentes, procedeu-se a uma lavagem com água quente acidificada, a partir da qual, se iniciou a formação de três fases com densidades diferentes (Figura 4.10).

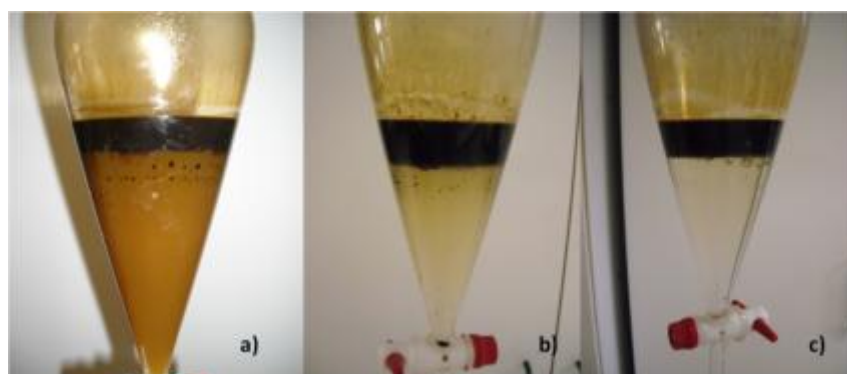
A primeira fase continha uma mistura de biodiesel, e outros reagentes envolvidos no processo, a segunda fase era composta maioritariamente por sabões e algum glicerol e por fim, a última fase (mais densa), composta por água de lavagem e metanol.



**Figura 4.10** – Formação de 3 fases distintas após lavagem com água acidificada.

A aplicação de aquecimento na solução com auxílio de um termoventilador permitiu uma melhor separação dessas mesmas fases.

A Figura 4.11, demonstra a sequência de lavagens efectuadas, até se conseguir obter o biodiesel, nas quais se verifica a diminuição da quantidade de sabões presentes na amostra.



**Figura 4.11** – Sequência de lavagens efectuadas. a) Primeira lavagem; b) terceira lavagem; c) quinta lavagem (última).

Após adição do óxido de magnésio e a passagem pelo processo de filtração, o biodiesel foi caracterizado.

#### **4.2.4. Caracterização do biodiesel**

A análise das especificações do biodiesel apresenta uma grande importância na avaliação da qualidade deste combustível, quer a nível ambiental, quer a nível da preservação dos equipamentos motorizados.

Assim sendo, a caracterização do biodiesel teve em conta alguns dos parâmetros, pelo qual o óleo da borra de café foi avaliado, entre eles, a caracterização visual (coloração e estado

físico) e a caracterização física e química, incluindo a densidade, a viscosidade, o índice de acidez, o índice de iodo (calculado a partir da percentagem mássica dos esteres metílicos) e o teor de esteres metílicos, cujos valores se encontram resumidos na Tabela 4.3.

De todos os parâmetros apenas o *Índice de Iodo* se apresenta com valores inferiores aos impostos pela norma, 40,2g I<sub>2</sub>/100g biodiesel, para o ensaio 1 e 52,8 g I<sub>2</sub>/100g biodiesel, para o ensaio 2. Ambos os valores se encontram abaixo do tabelado, 120 g I<sub>2</sub>/100 g amostra.

Este resultado é indicativo da presença de ésteres metílicos saturados na solução e normalmente encontra-se dependente da matéria-prima (54,3 g I<sub>2</sub>/100 g óleo). Sendo a matéria-prima a mesma, a diferença de resultados pode ser explicada por uma má homogeneização da amostra, aquando da retirada do óleo, para ser utilizado na produção do biodiesel.

Relativamente ao índice de acidez, é possível observar pela Tabela 4.3, que ambos os valores (1,9 e 2,4 mg KOH/g biodiesel) obtidos a nível experimental se encontram fora dos estabelecidos pela norma em causa. Estes resultados mostram que a quantidade de ácidos gordos livres presentes no biodiesel é significativa, podendo levar à corrosão e ao entupimento do filtro do combustível, caso seja utilizado.

**Tabela 4.3** – Resultados dos parâmetros obtidos na análise do biodiesel.

| Parâmetros                                   | Ensaio 1        | Ensaio 2        | EN 14214:2009 |               |
|--|-----------------|-----------------|---------------|---------------|
|  |                 |                 | Limite mínimo | Limite máximo |
| Coloração/Aspecto                            | Castanho escuro | Castanho escuro | -             | -             |
| Estado Físico/Textura                        | Espesso         | Espesso         | -             | -             |
| Densidade a 15°C (kg/m <sup>3</sup> )        | 912             | 909             | 860           | 900           |
| Viscosidade a 40°C (mm <sup>2</sup> /s)      | 13,34           | 12,43           | 3,50          | 5,00          |
| Índice de Acidez (mg KOH/g amostra)          | 1,9             | 2,4             | -             | 0,5           |
| Índice Iodo (g I <sub>2</sub> /100g amostra) | 40,2            | 52,8            | -             | 120           |
| Teor de ésteres (%)                          | 65,7            | 72,9            | 96,5          | -             |
| Rendimento (%)                               | 62,2%           | 58,8%           | -             | -             |

No que diz respeito à viscosidade, este parâmetro também se apresenta fora dos limites estabelecidos, igualando cerca de 13 mm<sup>2</sup>/s, para ambos os ensaios. Este valor deve-se, não só às características da matéria-prima parcialmente convertida a biodiesel (cerca de

60%), como ao baixo teor de ésteres (de 65 a 73%); a viscosidade é afectada e a densidade também ( $d_{\text{ensaio 1}} = 912 > 900 \text{ kg/m}^3$ ;  $d_{\text{ensaio 2}} = 909 > 900 \text{ kg/m}^3$ ). Os valores deste parâmetros indiciam a possibilidade de uma má atomização do combustível e o aumento da emissão de poluentes (Tabela 2.1).

Relacionados com o teor de ésteres, estes três últimos parâmetros nunca se encontrariam de acordo com a norma, caso a percentagem de esteres fosse bastante inferior à tabelada (no mínimo 96,5% de ésteres presentes no combustível). Uma vez que a presença de um elevado teor de ácidos gordos livres (elevada acidez) é indicativa de uma baixa formação de ésteres, resultado que se encontra de acordo com o obtido experimentalmente, cerca de 66% (ensaio 1) e 73% (ensaio 2), pode ser justificado por uma má escolha das condições reaccionais. Por sua vez, a diferença existente entre os dois ensaios pode-se dever a uma agitação deficiente ocorrida após adição dos reagentes.

Tendo em conta a Tabela 4.4 e os padrões de ésteres existentes no laboratório, é possível verificar, no ensaio 1, a presença, de forma significativa, do éster metílico do ácido gordo palmítico (33,2%), valor superior ao do linoléico (19,5%), apontando para uma substância saturada e, conseqüentemente pastosa à temperatura ambiente (capítulo 1.2.4 – Óleos e gorduras), resultado que se verifica ao avaliar a Tabela 4.3.

**Tabela 4.4** – Ésteres parciais presentes no biodiesel produzido com o ensaio 1.

| Éster Metílico do ácido Gordo                  | Estrutura | Tempo retenção (min) | % Éster Parcial |
|--|-----------|----------------------|-----------------|
| Palmítico                                      | C16:0     | 3,48                 | 33,2%           |
| Metil Heptadecanoato (Padrão)                  | C17:0     | 4,45                 | 20,6%           |
| Esteárico                                      | C18:0     | 5,78                 | 9,1%            |
| Oleico   | C18:1     | 6,10                 | 6,3%            |
| Linoleico                                      | C18:2     | 6,77                 | 19,5%           |
| -  | -         | 7,23                 | 1,4%            |
| -  | -         | 7,61                 | 0,2%            |
| Linolénico                                     | C18:3     | 8,26                 | 0,4%            |
| Eicosanóico                                    | C20:0     | 9,95                 | 3,9%            |
| -  | -         | 10,34                | 0,5%            |
| Docosonóico                                    | C22:0     | 14,37                | 1,4%            |
| -  | -         | 16,43                | 0,2%            |
| Metil Tetracosanoico                           | C24:0     | 18,04                | 0,5%            |
| Metil cis-15-Tetracosanoico ou éster nervónico | C24:1     | 18,37                | 0,5%            |
| -  | -         | 20,29                | 1,8%            |
| -  | -         | 20,46                | 0,2%            |
| -  | -         | 20,99                | 0,2%            |

No que respeito aos parâmetros organolépticos, a *coloração* presente no biodiesel é resultado da matriz que lhe deu origem, o óleo da borra de café. Com esta coloração torna-se difícil a visualização de alterações nas suas propriedades, tal como a separação de fases.

A *textura* do biodiesel, outro dos parâmetros avaliados e que já foi referido, apresenta-se ligeiramente espessa, factor indicativo de um resultado de densidade e viscosidade fora dos limites normativos e de uma presença em grande maioria de ésteres metílicos de ácidos gordos saturados.

Em suma e segundo os limites regulamentados pelo quadro 1, presente na norma europeia EN 14214, a aplicação deste biodiesel é pouco recomendada.

### 4.3. Produção de bioetanol

A utilização da borra de café como fonte para a produção de bioetanol requer um pré-tratamento, de forma a disponibilizar todos os açúcares à etapa da fermentação.

Antes de se proceder à hidrólise enzimática, foram avaliadas quatro situações relativas ao pré-tratamento. Foi avaliada a utilização da borra de café, sem qualquer pré-tratamento, a utilização de borra de café, com um *pré-tratamento*, recorrendo a duas hidrólises ácidas, de

concentrações diferentes, com ácido sulfúrico a 1% e a 3% e, por fim, a aplicação directa de celulose, resultante da conjugação de um pré-tratamento ácido e alcalino, aplicados durante a caracterização.

De forma a avaliar qual o mais eficiente foi necessário proceder-se a uma hidrólise enzimática, com auxílio da enzima *Viscozyme L*, gentilmente fornecida pela empresa Novozyme. A Tabela 4.5 apresenta o volume de enzima utilizado, tendo em conta as proporções 100 µL enzima/g amostra e 119 µL enzima/g celulose, o volume de solução utilizada e respectivo pH.

**Tabela 4.5** – Volume de enzima (µL) aplicado a cada amostra, e respectivo pH e volume de filtrado após a hidrólise ácida.

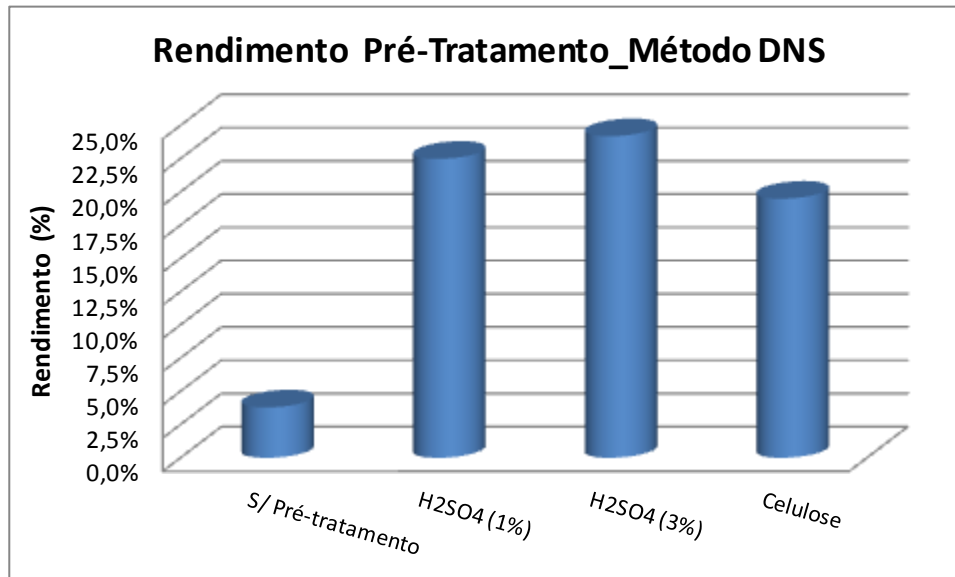
| Ensaio                                 | m <sub>amostra</sub> (g) | V <sub>enzima</sub> (µL) | pH    | V <sub>Filtrado</sub> (mL) |
|--|--------------------------|--------------------------|-------|----------------------------|
| Sem Pré-tratamento (Borra)             | 10,3143                  | 1031,4                   | 5,00  | 166                        |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%)_1R | 10,1970                  | 1019,7                   | 5,02  | 174                        |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%)_2R | 10,6054                  | 1060,54                  | 4,92  | 182                        |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (3%)_1R | 10,0433                  | 1004,33                  | 5,02  | 193                        |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (3%)_2R | 10,149                   | -----                    | ----- | -----                      |
| Celulose_1R                            | 0,2433                   | 28,95                    | 5,03  | 193                        |
| Celulose_2R                            | 0,2635                   | 31,36                    | 5,05  | 200                        |

Após o processo de hidrólise enzimática foram quantificados os açúcares que se formaram, por quatro métodos, o método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS), o método refractométrico, o método espectrofotométrico por UV-Vis e o método por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

- **Método do Ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS)**

Como já foi referido, o método do DNS (Anexo B.3.2) baseia-se na oxidação do grupo aldeído dos açúcares, permitindo a determinação dos açúcares redutores totais. Neste trabalho e com o auxílio da curva de calibração da glucose, são retiradas as concentrações deste açúcar, presentes em todas as amostras analisadas.

Através da análise da Figura 4.12, verifica-se que o pré-tratamento por hidrólise ácida com concentração 3% (v/v) é aquele que apresenta o melhor resultado, dado se ter obtido um rendimento na ordem dos 24,2%.



**Figura 4.12** - Rendimento de açúcares (Glucose) obtido para os diferentes pré-tratamentos, determinados pelo método do DNS.

Seguindo-se a hidrólise ácida a 1% (v/v), com um rendimento de 22,5% e o ataque directo das enzimas à celulose, resultante do tratamento ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1N) e alcalino (NaOH 0,1N), com um rendimento de 19,5%.

A diferença de resultados é indicativa, que o método utilizando um agente hidrolisante ácido, é aquele que apresenta os melhores resultados. Quando comparada a concentração, o valor mais elevado é aquele que se mostra mais capaz de enfraquecer a estrutura da biomassa, permitindo o acesso à celulose.

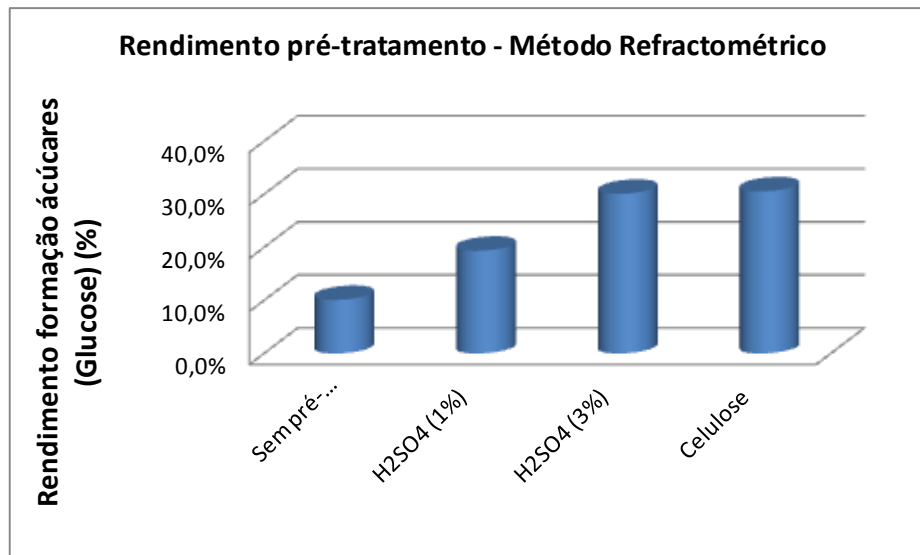
Além deste método, foram utilizados outros processos para a avaliação dos açúcares, entre eles o método refractométrico.

- **Método refractométrico (°Brix)**

O método refractométrico baseia-se na medida do °Brix, que indica a quantidade de substâncias solúveis, na sua maioria açúcares e de alguns ácidos (Silva, *et al.* 2008); (Macedo *et al.*, 2003)), encontrando-se dependente do comprimento de onda utilizado, da temperatura (Ferreira, 2008) e da acidez do meio. Assim sendo, neste trabalho tornou-se necessária a correcção da temperatura ao longo das medições efectuadas.



Analisando a Figura 4.13, os processos utilizando o ácido sulfúrico a 3% (v/v) e a celulose, são aqueles que apresentam melhores resultados, estando os rendimentos muito próximos, 30,1%, para o ácido a 3% e 30,6%, para a celulose.



**Figura 4.13** - Rendimento de açúcares (Glucose) obtido para os diversos tipos de pré-tratamento, com determinação pelo método refractométrico.

Apesar do rendimento da utilização da celulose ser ligeiramente mais elevado, os encargos associados à sua obtenção são bastante superiores devido às temperaturas envolvidas (necessário levar a mistura à ebulição), às perdas e possível contaminação que possa ocorrer durante a etapa da filtração e ainda os gastos energéticos dispendidos na etapa de secagem e os gastos com os reagentes. Ao avaliar ambos os métodos, a nível dos gastos energéticos e os gastos com os reagentes (Anexo B.5), para uma solução de 200 mL e 2 ensaios, o ensaio envolvendo a celulose ficou por 7,75 €, enquanto a hidrólise ácida, por 2,21 €, valor efectivamente inferior.

Sendo assim, o pré-tratamento envolvendo o ácido a 3% (v/v), torna-se o processo mais indicado, segundo este método, utilizado na avaliação dos açúcares.

- **Método espectrofotométrico UV-Vis**

A determinação dos açúcares presentes na amostra foi também efectuada pelo método espectrofotométrico, a partir do qual foram analisadas soluções padrão de glucose, xilose e arabinose, para determinar qual o comprimento de onda a que se dá uma maior absorvância.

Através do espectro de absorção traçado para cada uma das soluções, foi possível verificar, a absorvância da glucose num comprimento de onda de 190 nm e 208 nm, da xilose a 222

nm e da arabinose a 214 nm e 271 nm, tendo sido escolhido o comprimento de onda igual a 190 nm para a glucose, 222 nm para a xilose e 271 nm para a arabinose, para não ocorrer dificuldades na distinção entre os açúcares.

Ao analisar os resultados obtidos, torna-se evidente que estes não se apresentam como os mais correctos, uma vez que, os valores obtidos para cada uma das concentrações se encontram na escala dos milhares.

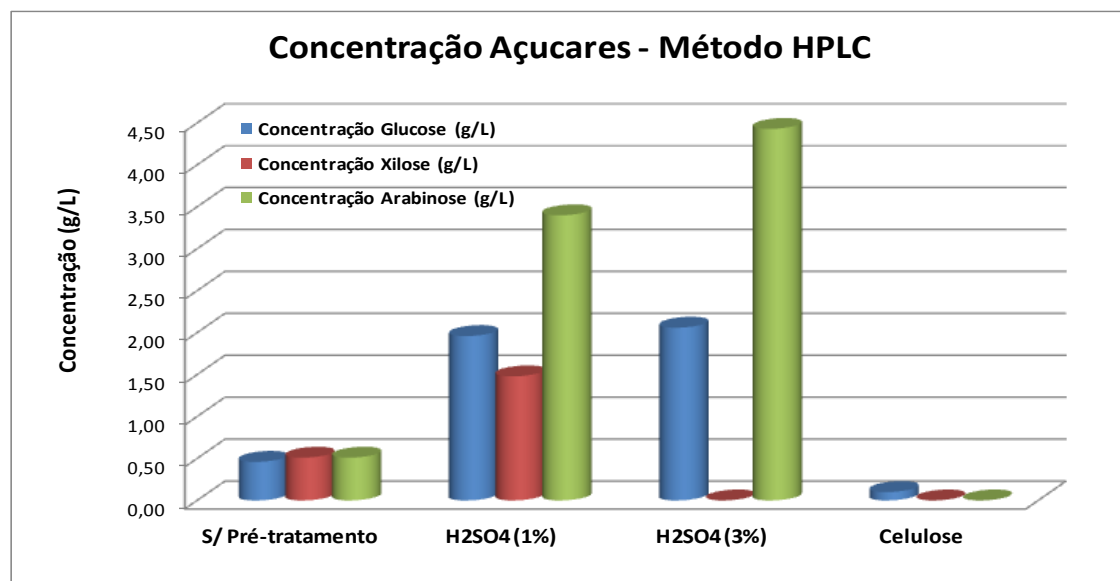
As possíveis razões para o sucedido podem incidir na absorção de outros componentes pertencentes à matriz e que, por sua vez, apresentam uma absorvância nos mesmos comprimentos de onda que os açúcares estudados. Por outro lado, pode ter ocorrido interferência dos açúcares estudados, uma vez que o ensaio da celulose, polímero constituído apenas por glucose, apresenta concentrações de arabinose (39,8 g/L) e xilose (520 g/L) não nulas.

Todos estes resultados inviabilizam a utilização deste método.

- **Método cromatográfico (HPLC)**

O método cromatográfico em causa é uma técnica que permite a determinação quantitativa de diversas espécies de reduzida estabilidade térmica e de espécies não-voláteis. Sendo uma técnica muito utilizada a nível industrial na determinação de hidratos de carbono, neste trabalho foi aplicada com o objectivo de identificar e quantificar os açúcares resultantes dos tratamentos efectuados à borra de café, com vista à produção de bioetanol.

A Figura 4.14 mostra a concentração dos açúcares analisados.



**Figura 4.14** - Concentração dos açúcares (glucose, xilose e arabinose), obtidos na determinação por cromatografia gasosa de alta eficiência, para os diversos ensaios.

A partir da análise do gráfico obtido é possível constatar, que tal como o método do DNS e o método refractométrico, o pré-tratamento com ácido a 3% proporciona uma maior concentração de açúcares, glucose (2,06 g/L), arabinose (4,43 g/L).

Apesar de o método ser o mais selectivo, não foi possível continuar a utilizá-lo, dado que o equipamento começou a acusar deficiência na separação dos açúcares, além de sujidade no sistema de injeção e um aumento descontrolado da pressão na bomba do HPLC. Apesar de não constituir risco de explosão, uma vez que os líquidos não são muito compressíveis, a ruptura de um componente do sistema, resulta na perda do solvente e num aumento do perigo de incêndio (Freire 2006). Assim sendo, por questões de segurança e falta de reprodutibilidade dos ensaios, optou-se por excluí-lo das restantes etapas.

Com base nos ensaios realizados, os resultados demonstraram que a utilização do ácido sulfúrico como agente hidrolisante, na concentração de 3% (v/v), implica uma maior efectividade no enfraquecimento da estrutura da lenhina e na hidrólise do material celulósico, na maioria dos ensaios realizados.

#### **4.3.1.1. Fermentação**

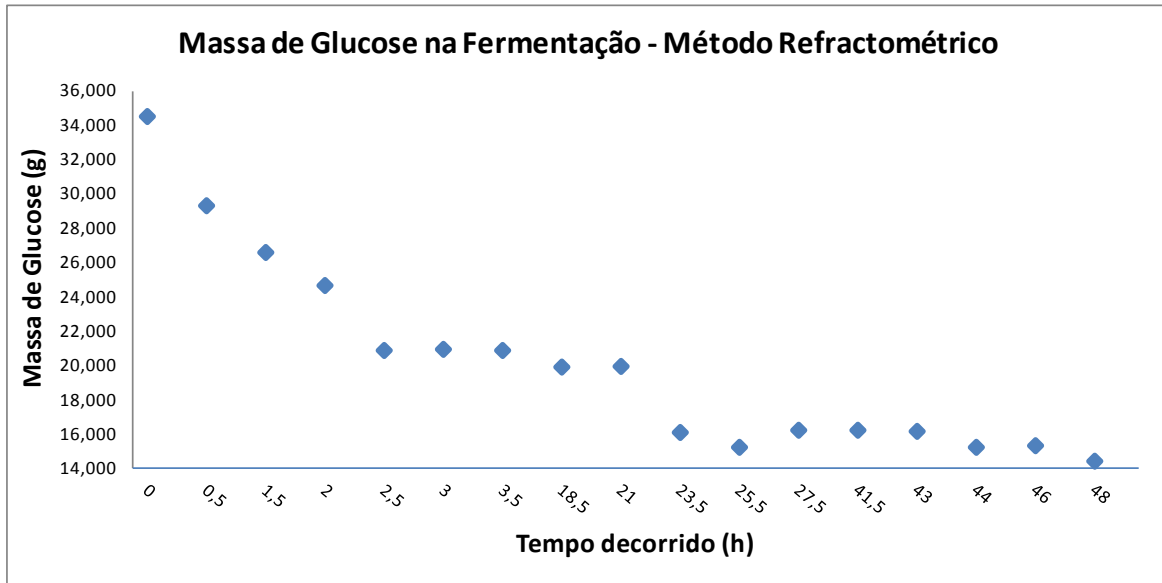
Após a determinação do pré-tratamento a utilizar, ácido sulfúrico a 3% (v/v), à temperatura de 85 °C e com um tempo de reacção de 6h (360min), na razão massa borra/volume ácido de 10 g/200 mL, foram efectuados novos ensaios de pré-tratamento, seguidos da hidrólise enzimática e por fim, da etapa de fermentação.

A fermentação foi realizada com o auxílio da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, na razão de 1,10 g/L, durante 48 horas, a 30 °C e 50 rpm.

Ao longo da fermentação foram retiradas diversas amostras, as quais foram avaliadas para determinar a concentração de açúcares, pelos métodos do DNS e da refractometria.

Apesar de terem sido efectuados dois ensaios de fermentação, apenas um será abordado neste capítulo. Todos os resultados poderão ser consultados no anexo B.3.3.

A Figura 4.15 demonstra a evolução da massa de glucose ao longo do tempo da fermentação, determinada pelo método refractométrico.



**Figura 4.15** – Massa de glucose determinada, ao longo do tempo da fermentação, pelo método refractométrico.

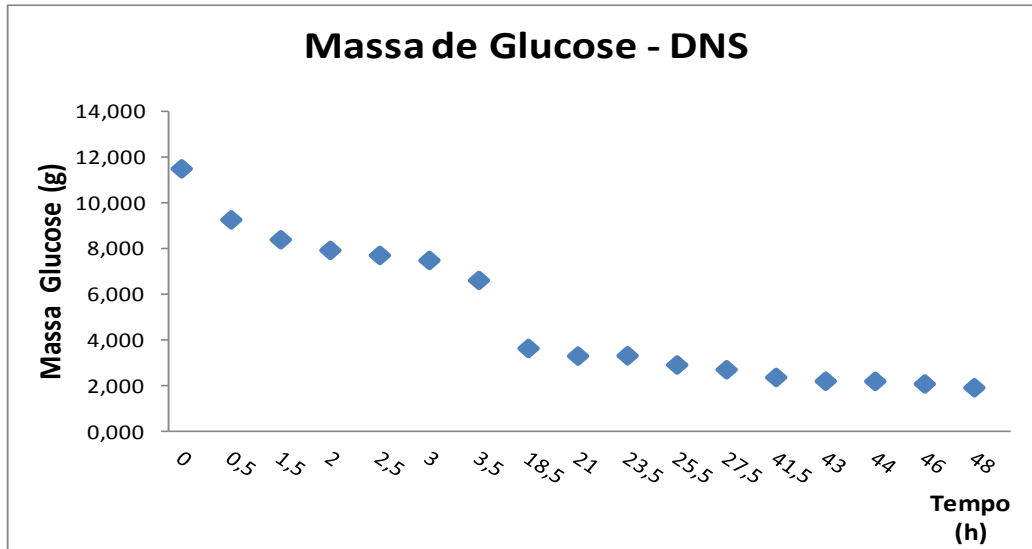
A utilização do método refractométrico permite a determinação aproximada do teor de açúcares presentes no mosto (Corazza *et al.*, 2001).

Analisando a figura é possível observar a existência de duas fases distintas no processo fermentativo. Nas primeiras horas observa-se um decréscimo acentuado no consumo de açúcares, indicativo de uma alta actividade dos microrganismos, enquanto numa segunda fase, após as 2,5h esse decréscimo é menos acentuado, correspondendo a uma diminuição de actividade das leveduras.

Relativamente, aos resultados quantitativos, a massa inicial de açúcares, representados pela glucose, apresenta um valor de 34,56 g (39,73 g/L), valor correspondente a 67,9% da amostra de biomassa utilizada ( $\approx 50,88$  g).

Ao longo das 48 horas de fermentação, ocorreu um consumo total de açúcares no valor de 20,11 g, terminando o ensaio, com 14,33 g de açúcares por fermentar.

A Figura 4.16, tal como a figura anterior, apresenta a evolução da massa de glucose ao longo do tempo da fermentação, mas neste caso, determinada pelo método colorimétrico (DNS).



**Figura 4.16** – Massa de glucose determinada, ao longo do tempo de fermentação, pelo método do DNS.

Através da análise da Figura 4.16, é possível constatar que, ao longo do tempo, com o aumento da acção da levedura, a quantidade de açúcares vai diminuindo, resultado que se encontra dentro do que era esperado. No entanto, ao final das 48h, este consumo não é total, indicando que o processo fermentativo talvez não tenha terminado. Uma forma passível de ser adoptada como critério de paragem, seria a estabilização da densidade do mosto, a qual indicaria, o fim da actividade das leveduras, ou seja, do consumo de açúcares fermentáveis pelas mesmas.

A utilização do método colorimétrico (Figura 4.16) permitiu a determinação inicial de uma massa de glucose de 11,50 g (13,22 g glucose/L), valor correspondente a cerca de 23% da biomassa utilizada.

Ao longo da fermentação, os açúcares vão sendo consumidos, finalizando com uma massa de 1,91 g, equivalente a 3,36 g glucose/L.

Apesar de ambos os métodos apresentarem resultados viáveis, apenas será considerado o método do DNS, para a colocação dos restantes resultados no subcapítulo seguinte, uma vez que o método apenas se refere aos açúcares redutores presentes no mosto, enquanto o método refractométrico apresenta além destes, outros componentes não fermentáveis, como os ácidos orgânicos.

Todos os outros resultados, inclusive os do método refractométrico, encontram-se no anexo B.3.3.

#### 4.3.1.2. Produção de etanol e sua quantificação

Ao longo da fermentação, foram também recolhidas algumas amostras, para uns pequenos eppendorfs, para posterior quantificação do etanol.

A Figura 4.17 mostra a evolução dessa mesma produção.

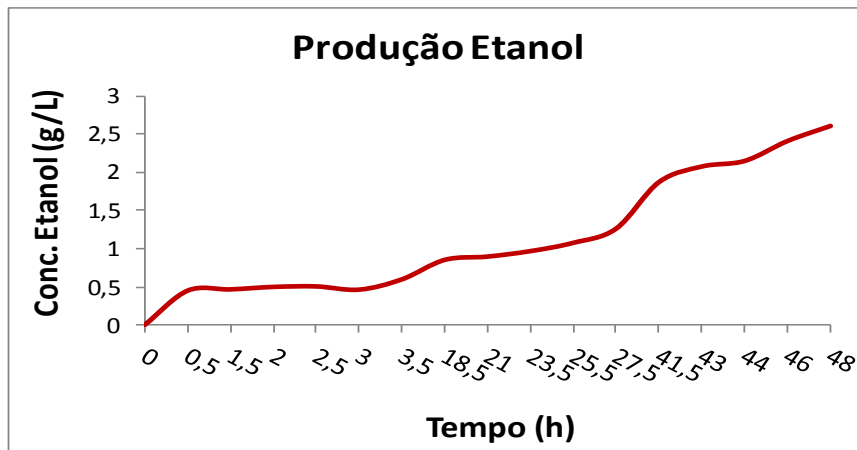


Figura 4.17 – Evolução da produção de etanol, ao longo da fermentação.

Analisando a Figura 4.17, é possível verificar um aumento tendencial ao longo da fermentação, resultado que se encontra dentro do que era esperado, dado que à medida que ocorre o consumo de açúcares, dá-se a formação de moléculas de etanol.

Obtendo-se uma concentração final de etanol, igual a 2,61 g/L.

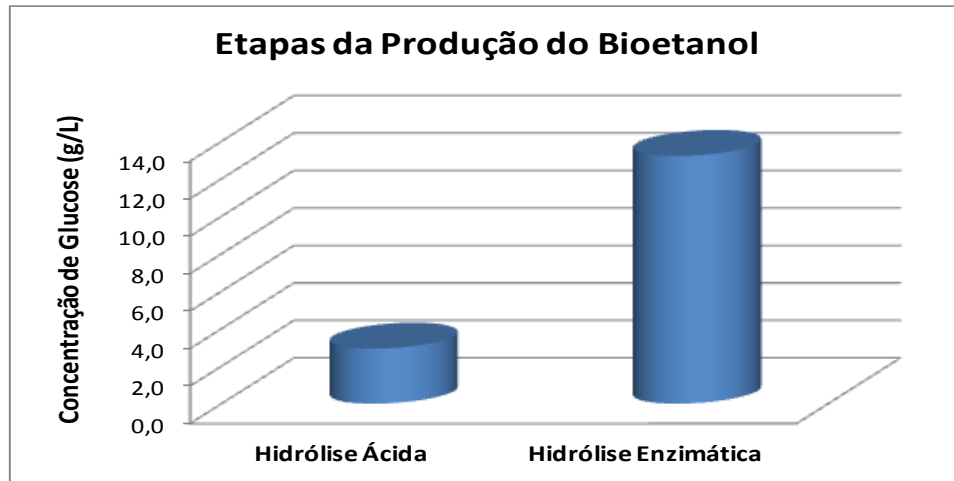
Comparando os resultados obtidos com os da bibliografia encontrada, a concentração máxima de etanol produzida, a partir da borra de café e com auxílio da enzima *Saccharomyces cerevisiae* (30 °C e 150 rpm), é de 18,2 g/L, segundo Matos *et al.* (2010). No entanto, este valor encontra-se bastante diferente do obtido neste trabalho, 2,61 g/L.

As diferenças ocorridas poderão ter explicação nos possíveis processos de pré-tratamento utilizados, na agitação do processo fermentativo (de 50 rpm para 150 rpm), ou no processo de determinação do etanol, que neste trabalho teve como base, a análise cromatográfica, com uma seringa, cujas condições poderiam não se encontrar como as mais estanques.

#### 4.3.1.3. Eficiência do processo

Mediante os resultados obtidos, pelo método do DNS, foram avaliadas as eficiências das diversas etapas utilizadas, na produção do bioetanol.

A Figura 4.18 representa as concentrações de açúcares (glucose) obtidas, no final da etapa da hidrólise ácida e da hidrólise enzimática. Respectivamente, foram obtidas as concentrações de 2,93 g/L e 13,22 g/L.

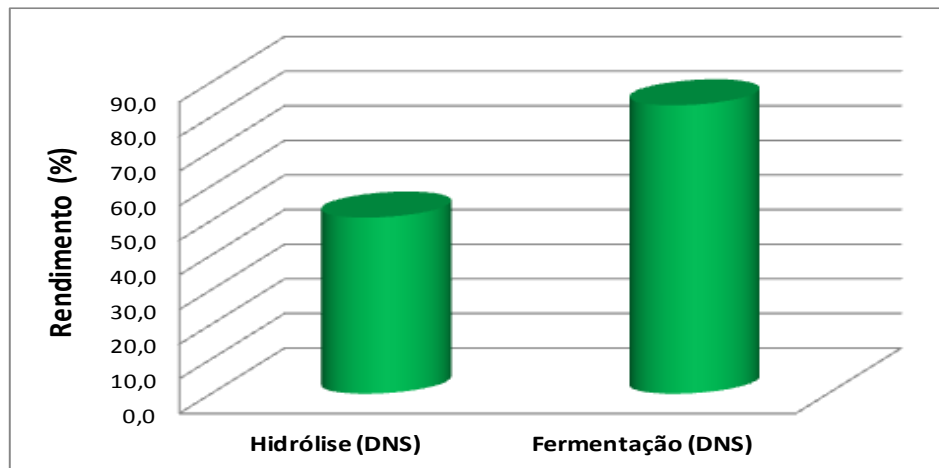


**Figura 4.18** – Concentração de glucose final obtida nas etapas de hidrólise ácida ( $H_2SO_4$  a 3% (v/v), 85 °C, 50 rpm, e tempo de reacção de 6h) e hidrólise enzimática (100  $\mu$ L enzima/g borra, 50 °C e 2h de reacção).

As baixas concentrações de glucose podem ser justificadas pela utilização de uma baixa temperatura (85 °C) ou de um tempo de reacção de 6h, o qual se baseou no tempo de reacção necessário para a deslenhificação da lenhina, na etapa da caracterização. Outra razão para a diferença de valores, pode-se dever à existência de interferentes, formados durante a reacção, como o furfural, o ácido fórmico, entre outros.

Além destas razões, uma outra pode ter estado na origem deste resultado, como a proveniência da borra de diferentes grãos de café, as características do processo de torrefacção ou do processo extractivo utilizados (Mussatto et al., 2011).

Em relação aos rendimentos obtidos nas etapas da hidrólise e da fermentação, a Figura 4.19, mostra o resultado obtido na aplicação do pré-tratamento com o ácido sulfúrico a 3% (v/v) e a aplicação da etapa da hidrólise enzimática, com o auxílio da enzima *Viscozyme L*.

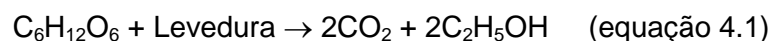


**Figura 4.19** – Eficiência das etapas da hidrólise e fermentação dos açúcares, após a escolha do pré-tratamento com  $H_2SO_4$  a 3% (v/v), nas condições de 85 °C, 50 rpm, e tempo de reacção de 6h e a etapa da hidrólise enzimática (100  $\mu$ L enzima/g borra, 50 °C e 2h de reacção).

Pela análise da Figura 4.19 é possível observar um rendimento da hidrólise na ordem dos 45,9%, e da fermentação, na ordem dos 83,4%.

Relativamente à eficiência da hidrólise, o cálculo do seu rendimento teve como base o teor de celulose máximo obtido experimentalmente (15,80%) e o teor de hemicelulose descrito na literatura para a borra de café (36,7%, Mussatto *et al.*, 2011). O resultado apresentado (45,9%, com uma concentração final de glucose de 13,22 g/L) não é um resultado elevado, cerca de 54% dos açúcares não foram disponibilizados para fermentação, possivelmente devido às razões referidas anteriormente, como as condições do pré-tratamento, as características da amostra, entre outros.

Apesar da eficiência da hidrólise não ter sido a mais elevada, a eficiência da fermentação, no que diz respeito ao consumo de açúcares, igualou os 83,4%, rendimento considerável, mas que no entanto não se vê reflectido na formação do etanol. Com o consumo de 9,59 g de açúcares (glucose), e tendo por base a estequiometria da seguinte equação,



deveriam ter sido produzidos 4,90 g de etanol, resultado que não ocorreu, dado que a massa produzida igualou apenas os 1,49 g.

Este resultado pode ser explicado pela formação de produtos intermediários decorrentes do consumo da glucose. Segundo o processo fermentativo (capítulo 2.5.1), a glucose é transformada em gliceraldeído – 3 – fosfato, seguidamente, em piruvato, acetaldeído e por fim, em etanol, ou seja, ao longo do processo produtivo, existem vários produtos intermediários, que podem não ser completamente convertidos, resultando na baixa produção de etanol. Segundo Vieira (2009), além do etanol, normalmente produzido em maiores quantidades, as leveduras podem metabolizar outros produtos, como ácidos



orgânicos, glicerol, aldeídos, álcoois superiores (propílico, butírico, isopropílico, entre outros, resultando numa produção de etanol inferior a 100%. Aliás, segundo (Balat e Balat 2009), teoricamente 1 kg de glucose poderá produzir 0,51 kg de etanol (estequiometria) e 0,49 kg de dióxido de carbono, mas na realidade, nem toda a glucose é utilizada na produção, dado que os microrganismos a utilizam para o seu desenvolvimento.

Avaliando a eficiência da produção de etanol, a Figura 4.20 apresenta os teores de etanol obtidos experimentalmente e a respectiva produção teórica, valores calculados a partir de balanços mássicos, estequiometria da reacção de fermentação (tendo como base, apenas a glucose), concentração de açúcares e a análise cromatográfica (Anexo B.3.4).

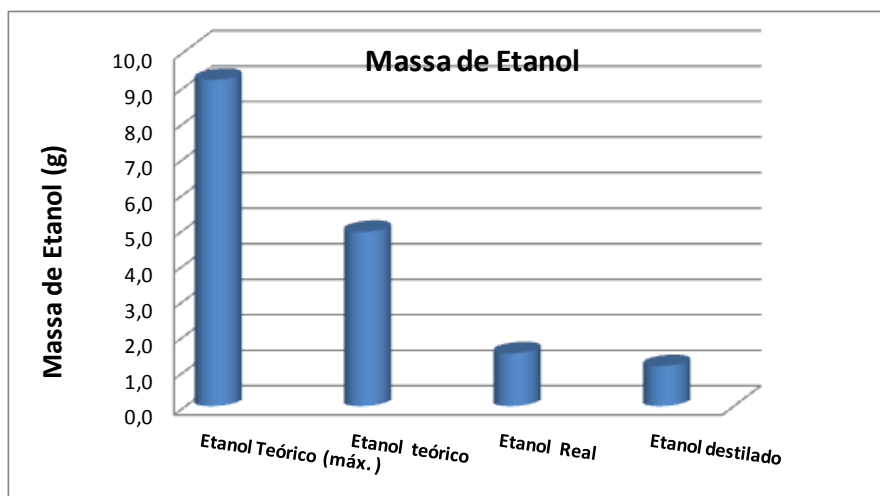


Figura 4.20 – Massa de etanol teórico, real e destilado, obtido através da fermentação.

Assim sendo, a produção de etanol observada experimentalmente (Etanol real) e determinada por análise cromatográfica, como já foi referido igualou os 1,49 g de etanol (2,61 g etanol/L).

A produção teórica de etanol, máxima, diz respeito à produção de etanol, tendo em conta a conversão total do material celulósico em açúcares fermentáveis. Descrito na bibliografia (Capítulo 1.2.3), por Mussatto *et al.* (2011), na borra de café, o teor de celulose é de 8,6% e o de hemicelulose 36,7%, totalizando os 45,3% de material celulósico. Tendo por base esse teor e a eficiência da hidrólise e da fermentação, descritas na Figura 4.19 (os cálculos realizados poderão ser consultados no ANEXO B.3.4.), a produção máxima de etanol seria igual a 9,18g.

Quanto à produção teórica (4,90g etanol), os resultados dizem respeito ao valor máximo de etanol que se obteria, tendo por base, a quantidade de açúcares determinada experimentalmente e o rendimento de 100% na fermentação.

Por fim, a massa de etanol destilada (1,12 g etanol), diz respeito à massa de etanol obtido experimentalmente, após destilação por arrastamento de vapor.

Assim, considerando a informação recolhida e segundo a massa de etanol real e a massa de etanol teórica (máxima), a eficiência da sua produção iguala o valor de 30,3%.

Por fim, efectuando a avaliação da razão de produção de etanol com a massa de borra de café utilizada, a nível da estequiometria (teórico, tendo em conta os açúcares libertados) a razão iguala os 0,10 g bioetanol/g borra de café (100g/kg), enquanto a nível experimental, a razão é de 0,03 g bioetanol/g borra de café (30g/kg). Quando comparado com a produção do etanol a partir do milho (300g/kg) (Caetano e Mata, 2011), a produção máxima de etanol a partir da borra de café apresenta um rendimento de 33,3%. No entanto, na comparação com a produção de etanol obtida a partir do bagaço de cana-de-açúcar (100g etanol/kg), estudo efectuado por Santos e Gouveia (2009), a produção máxima com a utilização da borra de café, apresenta um rendimento de 100%.

#### **4.4. Caracterização das cápsulas metálicas**

A gestão de resíduos tem como objectivos a reutilização de um bem ou a valorização do mesmo, de forma a minimizar todos os impactes negativos inerentes ao produto, sobre a saúde pública e o ambiente (Martinho e Gonçalves, 2000).

Um desse tipo de resíduos é a cápsula metálica resultante da toma de café.

Os metais, além de serem um dos materiais com maior potencial de reciclagem, têm características físico-químicas que permitem uma reutilização quase ilimitada, podendo, com tecnologias mais ou menos complexas, obter-se material com características semelhantes, ou com características mais nobres (Rede, Silva e Fonseca 2009).

Assim sendo, tornou-se necessário proceder à sua caracterização, a fim de avaliar quais os processos mais adequados à sua valorização.

**Tabela 4.6** – Constituição metálica de uma cápsula de café.

| Amostra              | Concentração (ppm) |                |
|----------------------|--------------------|----------------|
| Cápsula Metálica     | 5418,00            |                |
| Metais Constituintes | Concentração (ppm) | % Constituição |
| Chumbo               | 0,34               | 0,01%          |
| Crómio               | 1,30               | 0,02%          |
| Ferro                | 37,89              | 0,70%          |
| Níquel               | 6,37               | 0,12%          |
| Zinco                | 0,59               | 0,01%          |
| Alumínio             | 4200,00            | 77,52%         |
| Outros elementos     | 1171,37            | 21,62%         |

Com uma concentração total de 5,42 g/L (5418 ppm) e avaliando os resultados descritos na Tabela 4.6, é possível constatar que o metal presente em maior quantidade na cápsula é o alumínio (77,52%), seguido de outros elementos (21,62%), os quais não foram possíveis identificar por ausência de padrões, mas segundo a bibliografia serão compostos por porções de cobre, manganês, magnésio, e outros, além da possível presença de elementos constituintes da tinta, presente no invólucro e que foi dissolvida juntamente com a solução ácida.

Tratando-se de uma embalagem que se encontra em contacto com alimentos (café), o alumínio apresenta-se na forma de uma liga, combinada com outros elementos metálicos, em proporções mais pequenas, como o crómio (0,02%), o ferro (0,70%), o níquel (0,12%), entre outros, referenciados bibliograficamente (ESB, 2003). Todos estes compostos metálicos, possibilitam ao alumínio, adquirir uma maior resistência à corrosão e uma melhoria nas suas características mecânicas (ESB, 2003).

Sendo o alumínio, um elemento metálico de infinita reciclabilidade e cujas propriedades lhe permitem ser utilizado nas mais diversas situações, este metal, torna-se um componente de alta rentabilidade para o investidor. Dado que, a reciclagem do alumínio, além de reduzir o impacto ambiental, conduz à economia de 95% de energia necessária à sua produção, considerando que a temperatura para a sua fusão é de 660 °C, além de elevar o seu valor no mercado de investimento.

Assim sendo, a reciclagem destas cápsulas de alumínio, possibilitará enormes progressos na perspectiva socioeconómica e ambiental.



## 5. Conclusões e sugestões para trabalhos futuros

A realização deste trabalho teve como principal objectivo, o estudo da viabilidade da utilização do resíduo de café (borra) para a produção de biocombustíveis.

Visando o cumprimento do mesmo, vários estudos foram efectuados. Após recuperação dos constituintes das cápsulas de café (invólucros metálicos e a borra de café), foi efectuada a extracção do óleo da borra, com recurso a diversos solventes, tal como a sua caracterização e da borra de café (antes e após extracção). Numa fase seguinte, avaliou-se a potencialidade da utilização do óleo na produção do biodiesel, e da borra de café, na produção de bioetanol. Por fim, foi avaliada a composição metálica dos invólucros, tendo em vista a sua valorização.

Na caracterização da borra de café, foram avaliados diversos parâmetros dos quais se pode destacar, a razão carbono:azoto de 5 para 1, o que permite a sua utilização como fertilizante (rico em azoto) e o seu poder calorífico, que se encontra entre os 4619,2 e os 4941 kcal/kg, permitindo a sua utilização como combustível sólido em caldeiras, por exemplo, caso não existam limitações por parte de outros parâmetros .

Relativamente ao óleo da borra de café, a sua extracção foi realizada usando diversos solventes dos quais se destaca o n-octano, com extracções médias de 26,31%, mas que no entanto, mediante todas as suas características (preço, riscos ambientais e tempo de extracção de 9,5h) não se apresenta como o melhor candidato. Segue-se então a mistura de hexano e isopropanol, nas proporções de 5 para 5, que apresenta uma extracção média de 21,54%, com uma duração de aproximadamente 3h.

Relativamente à sua caracterização distingue-se o seu poder calorífico de 8710,4 kcal/kg, que comparado com o PCS do coque de petróleo, 8500 kcal/kg, viabiliza a sua utilização como combustível. Outros parâmetros que se destacam e são relevantes para a produção do biodiesel, são o índice de iodo (54,3g I<sub>2</sub>/ 100 g óleo), o teor de água (2004 ppm), superior ao limite imposto para o biodiesel (500 ppm) e o índice de acidez (118,4 mg KOH/g óleo). Estas características indicam que será necessário fazer uma secagem prévia do óleo e esterificá-lo, de modo a reduzir a acidez, o que permitirá reduzir a ocorrência de reacções secundárias que inibem a produção de biodiesel

Na produção do biodiesel, foram efectuadas 3 esterificações (usando 1% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e 40% de metanol durante 2h a 60 °C e 500 rpm), de forma a diminuir o índice de acidez para um

valor recomendável e de seguida sofreu uma transesterificação (1% de NaOH e 40% de metanol durante 2h a 60 °C e 500 rpm). Obteve-se um rendimento entre os 58,8 e os 62,2%. Na sua caracterização foram avaliados alguns parâmetros, dos quais não cumprem os limites impostos pela norma EN 14214, tais como, o índice de acidez (1,9 e 2,4 mg KOH/g biodiesel > 0,5 mg KOH/g biodiesel), a densidade ( $d_{\text{ensaio 1}} = 912 > 900 \text{ kg/m}^3$ ;  $d_{\text{ensaio 2}} = 909 > 900 \text{ kg/m}^3$ ), a viscosidade (13,34 e 12,43  $\text{mm}^2/\text{s} > \text{limite máximo} = 5 \text{ mm}^2/\text{s}$ ) e o teor de ésteres de 65,7 e 72,9%, valores bastante inferiores ao tabelado (no mínimo 96,5% de ésteres presentes no combustível).

O único parâmetro encontrado dentro dos limites impostos pela norma foi o índice de iodo com 26 e 58,4 g  $\text{I}_2/100 \text{ g}$  biodiesel.

O facto de muitos dos parâmetros se encontrarem fora dos limites tabelados na norma EN 14214, leva a concluir que as condições reaccionais utilizadas na produção do biodiesel não tenham sido as mais indicadas.

Para a produção do bioetanol, foi avaliado o teor do material lenhocelulósico da biomassa (lenhina e celulose), antes e após extracção do óleo. Seguidamente foi avaliado, qual o melhor pré-tratamento a utilizar, se a hidrólise ácida, com ácido sulfúrico a 1% ou 3% (v/v), ou a aplicação de uma hidrólise ácida, seguida da hidrólise básica com NaOH (celulose). Após a aplicação do pré-tratamento, a borra de café foi submetida à etapa da hidrólise enzimática e, por fim, à fermentação.

Relativamente à caracterização, o teor de celulose apresentou um valor entre 13,50 e 14,83%, enquanto o teor de lenhina total, tomou os valores de 33,60 e 32,51%, antes e após extracção do óleo.

O melhor pré-tratamento resultou na aplicação de uma hidrólise com ácido sulfúrico a 3% (v/v), à temperatura de 85 °C, com um tempo de reacção de 6h (360min) e uma agitação a 50 rpm, obtendo-se um rendimento em glucose de 24,2% (12,6 g/L).

Seguiu-se a hidrólise enzimática, com a adição da enzima *Viscozyme L*, nas proporções de 100  $\mu\text{L}$  enzima/g amostra, a uma temperatura de 50 °C, durante 2h e a 50 rpm.

Segundo a determinação pelo método do DNS, a eficiência da hidrólise, tendo por base dados bibliográficos, igualou os 45,9%, e a fermentação, os 83,4%. Apesar da eficiência da fermentação ter sido elevada, no que diz respeito ao consumo de açúcares, esse resultado não se vê reflectido na formação do etanol, dado que apenas foram produzidos 1,49 g das 4,90 g esperadas.

Assim sendo, a eficiência real da sua produção foi de 30,3%, com uma razão bioetanol/borra de café igual, a nível estequiométrico (teórico, tendo em conta os açúcares libertados),

aos 0,10 g bioetanol/g borra de café, enquanto a nível experimental, 0,03 g bioetanol/g borra de café.

Comparado com a produção de etanol a partir da cana de açúcar (100g/kg) a produção máxima de etanol a partir da borra de café, apresenta um rendimento de 100%.

Por fim, a composição metálica dos invólucros inclui 77,52% de alumínio, seguido de outros metais (21,62%), e porções mais pequenas, de crómio (0,02%), de ferro (0,70%), e níquel (0,12%). Tratando-se de uma cápsula de alumínio e dadas as características deste elemento, a sua reciclagem, possibilitará enormes progressos numa perspectiva socioeconómica e ambiental.

Assim sendo, pode-se afirmar, que existe um grande potencial na produção de biodiesel e bioetanol a partir da borra de café, além da valorização dos invólucros metálicos, provenientes com as mesmas.

Mas apesar da viabilidade deste projecto, é necessário ter-se em consideração novas investigações sobre utilização de outros solventes na extracção do óleo de café, como éter de petróleo, entre outros. As condições reaccionais na produção do biodiesel, como o tempo de reacção, a agitação, e diferentes razões entre o álcool e o óleo e o catalisador.

Na produção do bioetanol, é necessário avaliar o teor da hemicelulose na borra de café, testar a utilização de outros pré-tratamentos (método organosolv, hidrotermólise), ou outras condições reaccionais para os pré-tratamentos utilizados neste trabalho, como o tempo, a temperatura e a agitação reaccional, tal como no processo da hidrólise enzimática.

Na etapa da fermentação, é necessário testar outro tipo de leveduras, como a *Pichia stipitis* e a *Candida shehatae*, para fermentar a manose, presente em maioria na borra de café, segundo dados bibliográficos. É conveniente, avaliar o crescimento da biomassa e a concentração do oxigénio dissolvido no meio, durante o processo fermentativo.





## Bibliografia

- Aguiar, C., 2010. *Hidrólise Enzimática de resíduos lignocelulósicos utilizando celulases, produzidas pelo fungo Aspergillus niger*. Tese de Mestrado. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Toledo. 118pp.
- Alves, B., Nascimento, E., Aquino, F., Chang, R. e Morais, S, 2007. Composição química de cafés torrados do Cerrado e do Sul de Minas Gerais, *Ciência & Engenharia*, 16 (1/2): 9-15.
- Ampensan, F., 2009. *Avaliação de diferentes métodos de secagem do café (Coffea arábica L.) cereja descascado*. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais – Brasil.
- ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 2011. *Dados Estatísticos Mensais – Produção de Biodiesel*. Ministério de Minas e Energia. Brasil. Agosto de 2011. (acedido em 6 de Setembro de 2011, em <http://www.anp.gov.br/?pg=57621&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1315925886173>).
- ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 2011b. *Resolução ANP nº4, de 2.2.2010 – DOU 3.2.2010 – Efeitos a partir de 3.2.2010*. [http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/resolucoes\\_anp/2008/mar%C3%A7o/ranp\\_00007\\_2008\\_005.htm](http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2008/mar%C3%A7o/ranp_00007_2008_005.htm) (acedido em 6 de Setembro de 2011)
- Anthonisen, D., Schirmer, M., Silva, S. e Freire, E., 2006. Teor de Óleo em sementes de Mamona de variedades introduzidas na zona sul do Rio Grande do Sul. *In: 2º Congresso Brasileiro de Mamona: Aracajú*.1-5.
- APHA, AWWA, WPCF, 1999. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th edn. APHA, Washington, DC.
- Azevedo, A., Kieckbush, T., Tashima, A., Mohamed, R., Mazzafera, P. e Vieira de Melo, S., 2008. Extraction of green coffee oil using supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*, 44 (2):186-192.
- Balat, M., e Balat, H., 2009. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. *Applied Energy*, 86 (11): 2273-2282.
- Bates, R., Schaefer, J., 1971. *Research Techniques in Organic Chemistry*. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs. 141pp
- BCSD Portugal – Conselho Empresarial para o Desenvolvimento Sustentável, 2008. Biocombustíveis. *Resumo Temático – Energia e Clima*, 11pp.
- Bernardes, O., Langone, M. e Merçon, F., 2007. *Produção de Biodiesel através da transesterificação de óleo de Soja por via química e enzimática. XI Encontro da SBQ-Rio de Janeiro, Universidade Federal Fluminense*.
- Bidóia, V., 2009. *Emprego de Extrato de Moringa (Moringa oleifera Lam.) no processo de*

*clarificação do caldo de cana*. Universidade estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. São Paulo, 46pp.

Biofuels Plataform. “*European Norm EN 14214 / Biodiesel*”, 2011a. <http://www.biofuels-platform.ch/en/infos/en14214.php> (acedido em 12 de Setembro de 2011)

Biofuels Plataform. “*Production of bioethanol in the UE*”. 2011c. <http://www.biofuels-platform.ch/en/infos/eu-bioethanol.php> (acedido em 12 de Setembro de 2011)

Biofuels Plataform. “*Production of biofuels in the world in 2009*”. 2011b. <http://www.biofuels-platform.ch/en/infos/production.php?id=bioethanol> (acedido em 12 de Setembro de 2011)

Bizzo, W., 2003. Cap.2-combustíveis. Sebenta EM722 – Geração, Distribuição e utilização do vapor. Faculdade de Engenharia Mecânica. UNICAMP. 18-40.

Borre, L., Reinert, F. e Rosane, A., 2007. Transesterificação da Fracção Lipídica da Borra de Café. Rio de Janeiro.

Bradbury, A.G.W., 2010. Carbohydrates. In: *Coffee Recent Developments*. Clarke RJ, Vitzthum OG (eds), Blackwell Science, Oxford, 1-17.

Braun, 2011. “*Onde é cultivado o café*”, 2009, (acedido em 6 de Setembro de 2011, em <http://www.braun.com/pt/household/adviser/coffee/world-of-coffee/growing-regions.html>)

Caetano, N. e Mata, T. 2011. Utilização da biomassa residual na produção de biocombustíveis. *7<sup>as</sup> Jornadas Técnicas Internacionais de Resíduos – Energia dos Resíduos*.25pp.

*Café aranas*. 2009. Fonte:

[http://www.cafearanas.com.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=29&Itemid=14](http://www.cafearanas.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=29&Itemid=14) (acedido em 1 de Setembro de 2011).

Câmara, G., 2006. Biodiesel Brasil – Estado atual da arte. Universidade de São Paulo – USP/ESALQ. 26pp.

Camargos, R., 2005. *Avaliação da viabilidade de se produzir Biodiesel através da transesterificação de óleo de grãos de café defeituosos*. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte – Brasil. 105pp.

Caranton, C., 2010. *Producción de Etanol a partir de residuos provenientes del cultivo de café*. Tese de mestrado. Universidade Nacional de Columbia. Manizales. 108pp.

Carmona, C., 2010. *Variação do teor de extractives e Lenhina Klason em Madeira de castanheiro e carvalho que serviram de base para o envelhecimento de aguardentes vínicas*. Dissertação de Mestrado. Escola Superior Agrária. Castelo Branco. 59pp.

Carvalho, R., 2009. *Dilute acid and enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse for biogas production*. Dissertação Mestrado. Instituto Superior Técnico. 109pp.

Carvalho, S., 2007. *Equilíbrio Líquido – Líquido na produção de Biodiesel*. Dissertação de Mestrado. Universidade de Aveiro. 121pp.

Coelho, D., 2006. *Estudo Sistemático da composição química das fibras de Arundo donax e a sua evolução durante a produção de pasta de papel através do processo Organoslov*. Dissertação Mestrado. Universidade Aveiro. 102pp.

Coffee Intelligence, Inc. “Carbohydrates in Coffee”, CofeeChemistry.com, <http://coffeechemistry.com/index.php/Chemistry/Carbohydrates/carbohydrates-in-coffee.html> (acedido a 6 de Setembro de 2011)

Corazza, M., Rodrigues, D. e Nozaki, J., 2001. Preparação e caracterização do vinho de laranja. *Quimica Nova*, 24 (4): 449-552.

Correia, I., 2009. *Extração e Pirólise do óleo de Girassol (Helianthus annus L.) visando a produção de Biocombustíveis*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal. 105pp.

Couto, R., Fernandes, J., Silva, M. e Simões, P., 2009. Supercritical fluid extraction of lipids from spent coffee grounds. *Journal of supercritical Fluids*, 51 (2): 159-166.

D’Orey, L.A., 2009. *Produção de Biodiesel a partir de óleo de semente da Datura stramonium*. Dissertação de mestrado. Instituto Superior de Agronomia – UTL. Lisboa. 78pp.

Delgado, P., 2008. *Desenvolvimento de processo enzimático para a redução de sedimentos em extratos de café solúvel*. Tese de Doutoramento. Universidade Estadual de Campinas. São Paulo. 111pp.

Dias, J., 2004. *Análise Sedimentar e o conhecimento dos sistemas marinhos*. Versão preliminar. Universidade do Algarve. 10-15.

Diniz, D., 2008. *Produção de álcool etílico utilizando como matérias-primas resíduos florestais e agrícolas*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências e Tecnologia – UNL. Lisboa. 253pp.

EBB – European Biodiesel Board, 2009a. “Biodiesel”. <http://www.ebb-eu.org/biodiesel.php> (acedido em 5 de Setembro de 2011)

EBB – European Biodiesel Board, 2009b. “EBB membership”. <http://www.ebb-eu.org/members.php#austria> (acedido em 5 de Setembro de 2011)

Edson, L. 2002. *Espectrofotometria e Curvas - Padrão para análises bioquímicas*. UFLA. Minas Gerais – Brasil.

EERE – Energy Efficiency & Renewable Energy, 2010f. “Ethanol”, Alternative & Advanced Fuels, U.S. Department of Energy. (acedido em 12 de Setembro de 2011, em [http://www.afdc.energy.gov/afdc/ethanol/what\\_is.html](http://www.afdc.energy.gov/afdc/ethanol/what_is.html)).

EERE – Energy Efficiency & Renewable Energy, 2010c. “Alternative Fuel Driver Training –

*Companion manual*", U.S. Department of Energy. p.1-24

EERE – Energy Efficiency & Renewable Energy, 2010d. “*What is Biodiesel*”, Alternative & Advanced Fuels, U.S. Department of Energy. (acedido em 8 de Setembro de 2011, em [http://www.afdc.energy.gov/afdc/fuels/biodiesel\\_what\\_is.html](http://www.afdc.energy.gov/afdc/fuels/biodiesel_what_is.html)).

EERE – Energy Efficiency & Renewable Energy, 2010e. “ASTM Biodiesel Specifications”, Alternative & Advanced Fuels, U.S. Department of Energy. (acedido em 8 de Setembro de 2011, em [http://www.afdc.energy.gov/afdc/fuels/biodiesel\\_specifications.html](http://www.afdc.energy.gov/afdc/fuels/biodiesel_specifications.html)).

EERE – Energy Efficiency & Renewable Energy, 2011. “*Biofuels and the Environment*”. Biomass Program, U.S. Department of Energy. (acedido em 8 de Setembro de 2011, em [http://www1.eere.energy.gov/biomass/abcs\\_biofuels.html#feed](http://www1.eere.energy.gov/biomass/abcs_biofuels.html#feed)).

EERE– Energy Efficiency & Renewable Energy, 2010b. “*Environmental Benefits*”. Biomass Program, U.S. Department of Energy. (acedido em 8 de Setembro de 2011, em <http://www1.eere.energy.gov/biomass/environmental.html>).

EDP – Energias de Portugal, 2011. “Tarifas e horários”. (acedido a 15 de Outubro de 2011, em <http://www.edpsu.pt/pt/particulares/tarifasehorarios/Pages/TarifasBTE.aspx>)

Embrapa Agrobiologia, 2006. *Sistemas de Produção – O cultivo de Café Orgânico*. 2-2ª Edição, ISSN: 1806-2830, Versão electrónica. Fonte: [http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cafe/CafeOrganico\\_2ed/colheita.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cafe/CafeOrganico_2ed/colheita.htm) (acedido a 15 de Setembro de 2011)

EPA – United States Environmental Protection Agency, 2009. *Biodiesel Technical Highlights*. 3pp.

ePure – European Renewable Ethanol, 2010. *The EU Market*. (acedido em 15 de Setembro de 2011, em <http://epure.org/theindustry/eumarket>).

ESB, 2003. *Embalagens para produtos alimentares - Capítulo III - embalagens metálicas*. Sebenta. Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa. 51pp.

European Commission, 1996. Bioconversion Assessment study. *Science Research Development. Agro-industrial Research Division*. 81pp.

Évora, A., 2010. *Produção de biodiesel a partir de pastas de gordura e resíduo de glicerol*. Dissertação Mestrado. Instituto Superior de Engenharia do Porto. 181pp.

Felizardo, P., 2003. *Produção de Biodiesel a partir de óleos usados de fritura*. Relatório de Estágio. Instituto Superior Técnico. 178pp.

Ferrari, M., Ravera, F., De Angelis, E., Suggi Liverani, F. e Navarini, L., 2010. Interfacial properties of coffee oils. *Colloids and surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 365 (1-3): 79-82.

Ferrari, R., Oliveira, V., e Scabio, A., 2005. Biodiesel de soja – taxa de conversão em

ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. *Química Nova*, 28 (1): 19-23.

Ferreira, E. 2008. *Modernização de um refractometro linear digital para a indústria de açúcar*. Boletim Técnico da FATEC-SP-BT/24: 25-27.

Ferreira, G., 2010. *Avaliação da qualidade Física, Química, Sensorial e da composição fúngica de grãos de cafés beneficiados*. Dissertação de Mestrado. UESB – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. 81pp.

Ferreira, J., Furtado, T., Neves, M. e Brandi, M., 2007. Influencia do teor de humidade no poder calorífico em diferentes idades e componentes de arvores de Pinus taede. In: *1º Congresso Brasileiro sobre Florestas Energéticas*. 2-5 Jun. Belo Horizonte. Minas Gerais. Brasil. 4pp.

Ferreira, V., Rocha, D. e Silva, F., 2009. Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. *Química Nova*, 32 (3). São Paulo.  
[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422009000300007&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422009000300007&script=sci_arttext) (acedido em 15 de Setembro de 2011)

Flament, I., 2002. *Coffee Flavor Chemistry*. John Wiley & Sons, Ltd. England. 410pp.

Freedman, B., Pryde, E. e Mounts, T., 1984. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. *JAOC*, 61 (10): 1638-1643.

Freire, V., 2006. *Métodos Instrumentais de Análise*. Texto de apoio. Engenharia Química, Instituto Superior de Engenharia do Porto. 776pp.

Freitas, S., Lago, R., 2007. Dados de equilíbrio para o processo de extracção de óleos de café e girassol usando etanol., *Braz. J. Food Technol.*, 10 (3): 220-224.

Freitas, S., Monteiro, P., Lago, R., 2000. Extracção do óleo da borra de café solúvel com etanol comercial. In: *I simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café, Industrialização*: 740-743.

Fukuda, H., Kondo, A. e Noda, H., 2001. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 92 (5): 405-416.

Gil, M.H. e Ferreira, P., 2006. Polissacarídeos como biomateriais. *Química*, 100: 72-74.

Gomes, M., 2009. *Produção de Biodiesel a partir da esterificação de ácidos graxos obtidos por hidrólise de óleo residual de peixe*. Tese pós-graduação. Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro. 93pp.

Grandison, A. e Lewis, M., 1996. Separation Processes – an overview. In: *Separation processes in the Food and Biotechnology Industries – Principles and applications*. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England. 290pp.

Guedes, A., 2006. *Estudo da extracção de óleo da polpa de Tucamã por CO<sub>2</sub> Supercrítico*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará. 78pp.

- Guedes, A., 1998. *Oxidação Química com Reagente de Fenton: aplicação às águas de cozimento da cortiça*, Dissertação para grau de mestre em Engenharia dos Processo Químicos, FEUP, Porto;
- Guo, Y., 2005. *Alkaline-catalyzed production of Biodiesel fuel from virgin canola oil and recycled waste oils*. Tese de Doutoramento. Universidade de Hong Kong. 206pp.
- Halal, S., 2008. *Composição, processamento e qualidade do café*. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. 47pp.
- Halim, R., Gladman, B., Danquah, M. e Webley, P., 2011. Oil extraction from microalgae for biodiesel production. *Bioresource Technology* 102(1): 178-185.
- Hoffmann, C., 2001. *Resfriamento no processo de torra nas características de qualidade tecnológica e sensorial do café*. Dissertação de Mestrado em Ciências. Universidade Federal de Pelotas. 86pp.
- IBEROL, 2007. "Qualidade e Inovação". <http://www.iberol.com.pt/qualidade.php> (visitado em 7 Setembro de 2011)
- IIIY, A., Viani, R., 1995. *Expresso coffee: The chemistry of quality*. San Diego. 253pp.  
Localizado: Lopes, M.V., 2000. *Avaliação da qualidade de grãos crus e torrados de cultivares de cafeeiro (Coffea arábica L.)*. Dissertação Mestrado. Universidade Federal de Lavras. 103pp.
- Kondamudi, N., Mohapatra, S. e Misra, M. 2008. Spent Coffee Grounds as a versatile Source of Green Energy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (24): 11757-11760.
- Lago, R., 2001. Lipídios em grãos de café. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 19 (2): 319-340.
- Lago, R., Antoniassi, R. e Freitas, S., 2001. Composição centesimal e de aminoácidos de café verde, torrado e de borra de café solúvel. *Embrapa – Agroindústria de Alimentos, II Simpósio de pesquisa dos Cafés do Brasil*. 1473-1478.
- Leung, D.Y, Whu, X. e Leung, M., 2010. A review on Biodiesel production using catalyzed transesterification. *Applied Energy*, 87 (4): 1083-1095.
- Lopes, D., Pereira, I.B. e Ribeiro, M., 2007. *Introdução aos Processos de Separação – Absorção*. Adaptação dos Apontamentos da Doutora Lúcia Vasconcelos. Versão provisória. ISEP. 46pp.
- Lopes, M., 2000. *Avaliação da qualidade de grãos crus e torrados de cultivares de cafeeiro (Coffea arábica L.)*. Dissertação Mestrado. Universidade Federal de Lavras. 103pp.
- Lourenço, N., 2010. Borrás de Café - Características e sua valorização orgânica por vermicompostagem. 1-3.
- Ma, F. e Hanna, M., 1999. Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology* 70(1):1-15.

- Macêdo, L., Araújo, I. e Franco, C., 2003. Caracterização físico-química de frutos da mangabeira nativa e naturalizada da mata paraibana. In: *I Simpósio sobre a cultura da Mangaba - Embrapa semi-árido*. Aracaju.1-4.
- Marinho, F., 2007. *Energia Nuclear: O desafio do séc. XXI?* Pós-graduação em Direito da Energia e Ambiente. Faculdade de Direito da Universidade de Lisboa.
- Marques, T. 2007. Apostila de análises tecnológicas usinas e destilarias. *Ciência e Tecnologia de alimentos, Tecnologia do açúcar e do álcool*.58pp.
- Martinho, M. e Gonçalves, M., 2000. *Gestão de Resíduos*. Universidade Aberta. Lisboa. 284pp.
- Math, M., Kumar, S. e Chetty, S., 2010. Optimization of biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids. *Indian Journal of Science and Technology*, 3 (3): 318-321.
- Matos, L., Costa, E., Lima, L. e Fernandes, F., 2010. Estudo comparativo da extração do óleo da borra de café. In: *V Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica (CONNEPI 2010)*, 17-19 Novembro, Maceió. 6pp.
- Maul, A., 1999. Fluidos Supercríticos – situação actual e futura da extração supercrítica. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Ano II (11): 42-46.
- Maurício, S., 2008. *A produção de Biodiesel a partir de óleos alimentares usados*. Dissertação de Mestrado. Universidade de Aveiro. 173pp.
- Mazzafera, P., 1999. Chemical composition of defective coffee beans. *Food Chemistry*, (64): 547-554.
- Mediazine, 2011. De grão a grão - o currículo do café. *Revista Mediazine Lifestyle digital e electrónica*, (Março): 28-31, acedido em 30 Outubro de 2011, em [http://issuu.com/immediate\\_nl/docs/mediazine\\_portugal\\_02\\_low](http://issuu.com/immediate_nl/docs/mediazine_portugal_02_low).
- Meher, L., Vidyasagar, D. e Naik, S., 2006. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 10(3): 248-268.
- Melo, G., Melo, V. e Melo, W., 2007. *Compostagem*. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 1-10.
- Merck, 2009. “Ficha de segurança do metanol”.
- Miranda, J., 2011. *Produção de Bioetanol a partir da Microalga Scenedesmus obliquus*. Dissertação de Mestrado. Universidade Nova de Lisboa. 1-130.
- Moraes, I., 2006. Dossiê Técnico – Processamento de Café. *Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro*. SBRT. 19pp. <http://www.respostatecnica.org.br> (acedido em 30.11.2011)

- Morais, L. C., 2005. Avaliação da Tratabilidade de Efluentes da Indústria de Curtumes por Oxidação química e Biológica, Dissertação para doutoramento em Engenharia química, FEUP, Porto.
- Mussatto, S., Machado, E., Martins, S. e Teixeira, J., 2011b. Production, composition and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technol.*, 4(5): 661-672.
- Mussatto, S. e Teixeira, J., 2010. Lignocellulose as raw material in fermentation process. *Communicating Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. 2: 897-907.
- Mussatto, S., Carneiro, L., Silva, J., Roberto, I. e Teixeira, J., 2011a. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers*, (83): 368-374.
- Nestlé, 2011. “História do Café”. <http://www.nestle.pt/CmsPage.aspx?PageIndex=86> (acedido em 5 Setembro de 2011).
- Nogueira, A., e D. Costa., 1999. Variação da Temperatura na compostagem de resíduos sólidos orgânicos. *Brasil*: 1-8.
- Nunes, A., 2011. *Valorização da Drêche do processo cervejeiro para a produção de Bio-etanol*. Tese de Mestrado. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto. 76pp.
- Oliveira, G., 2006. *Comparação Química dos Grãos de Café (Coffea arábica), sadio e seus grãos PVA (pretos, verdes, ardidos) oriundos do sul de Minas e do Cerrado Mineiro, submetidos a diferentes graus de torrefação*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, 113pp.
- Oliveira, F., Suarez, P. e Santos, W., 2008. Biodiesel: Possibilidades e Desafios. *Química Nova na Escola* (28): 1-6.
- Ormond, J., Paula, S. e Filho, P., 1999. Café: (Re) Conquista dos mercados. BNDES Setorial, *Rio de Janeiro*, 10: 3-56. Acedido em 30.11.2011 em [http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes\\_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/set1001.pdf](http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/set1001.pdf)
- Pereira, J., Prados, C., Franco, P., 2009. Produção de Biodiesel a partir do óleo de borra de café. *3º Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel - RBTB*. 1 - 3.
- Pereira, R., 1997. *Efeito da Inclusão de grãos defeituosos na composição química e qualidade do café (Coffea arábica L.) “estritamente mole”*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras. 111pp.
- Pereira, R., Barbosa, C. e Lopes, L., 2000a. Avaliação química de Misturas em diferentes proporções de café Arábica (*Coffea arábica* L.), Bebida mole e Conilon (*Coffea canephora* Pierre). In: *I Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*. 643-645.



Pereira, R., Barbosa, C., Lopes, L. e Castro, D., 2000b. Composição química do café obtido pela mistura em diferentes proporções de Arábica (*Coffea arábica* L.), bebida Riada e Conilon (*Coffea canephora* Pierre). *Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*: 669-672.

Pereira, M., Oliveira, M., Bohn, A., Paraginski, R. e Elias, M., 2010. Avaliação de efeitos do armazenamento refrigerado de grãos de soja na manutenção da qualidade do óleo. *XII ENPOS, II Mostra Científica*. 4pp.

Pereira, R., Vilela, T. e Lopes, L., 2000c. Avaliação da composição química de cafés Arábica e Conilon, produzidos em Rondônia – RO e submetidos a diferentes tipos de pré-processamento. *I Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*, 638-640.

Peres, S., Schuler, A., Almeida, C., Soares, M., Campos, R. e Lucena, A., 2007. Caracterização e determinação do poder calorífico e do número de cetanos de vários tipos de biodiesel através da cromatografia. 1-6.

Poisson, J., 1979. Aspects chimiques et biologiques de la composition du café vert. *Colloque scientifique International sur le café*. Abidjan. ASIC, 8: 33-57.

Pombeiro, A., 2003. *Técnicas e Operações unitárias em Química Laboratorial*. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa. 190-191, 1070pp.

Portal do Biodiesel, 2011. *Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel – PNPB*. <http://www.biodiesel.gov.br/> (acedido em 6 de Setembro de 2011)

Prio Energy, 2011. *Produção de Biodiesel*. <http://www.priofuels.com/produtos-e-servicos/producao-de-biodiesel/> (acedido em 8 de Setembro de 2011)

Protásio, T., Bufalino, L., Tondi, G., Couto, A., Trugilho, P. e Junior, M., 2011. Relação entre o poder calorífico superior e os componentes elementares e minerais da biomassa vegetal. *Pesquisa Florestal Brasileira* (31): 113-122.

Rabelo, S., 2007. *Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogénio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. 180pp.

Rede, D., Silva, V. e Fonseca, C., 2009. *Separação de metais*. Instituto Superior de Engenharia do Porto. 31pp.

Refaat, A., Attia, N., Sibak, H., El Sheltawy, S. e Eidiwani, G., 2008. Production optimization and quality assessment of Biodiesel from waste vegetable oil. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 5 (1): 75-82.

Rei, P., 2007. *Procedimentos laboratoriais para o controlo da qualidade do Biodiesel*. Dissertação de Mestrado. IST – Instituto Superior Técnico. Lisboa. 147pp.

Rezende, J., 2009. *Desacidificação de óleo de Macaúba por extracção líquido-líquido, para produção de Biodiesel*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB. 61pp.

- Roehr, M., 2001. *The Biotechnology of Ethanol: classical and future applications*. Weinheim, Germany. Wiley-VCH Verlag GmbH. 243pp.
- Rodrigues, R., 2009. *Produção de enzimas e avaliação do pré-tratamento ácido de biomassas para a produção de Bioetanol*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa. 81pp.
- Sandi, D., 2003. *Extracção do óleo e Diterpenos do café com CO<sub>2</sub> Supercrítico*. Tese Doutoramento. Universidade Federal de Viçosa. 155pp.
- Santos, D., 2010. *Desenvolvimento de método para a obtenção de energia a partir da produção de biodiesel via extracção de óleo de borra de pó de café em escala laboratorial*. Dissertação. Universidade de São Paulo. 56pp.
- Santos, F., 2008. *Biocombustíveis: prós e contras*. Vila Real. UTAD. 18pp.
- Santos, J. e Gouveia, E., 2009. Produção de Bioetanol de Bagaço de Cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 11 (1): 27-33.
- Schols, M., Prete, C., Crudi, E. e Magri, T., 2000. Composição química de variedades de café (*coffea arabica*). In: *Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*. 673-676
- Sengo, I.C., 2008. *Produção de Biodiesel a partir de óleo de sementes de Cardo*. Dissertação de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia – UTL. Lisboa. 68pp.
- Silva, J., Neto, J., Gomes, J., Maciel, J., Silva, M. e Lacerda, R., 2008. Avaliação do °Brix e pH de frutos da Goiabeira em função de lâminas de água e adubação nitrogenada. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 10 (1): 43-52.
- Silva, N., 2010. *Produção de Bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose*. Dissertação de Mestrado. Escola de Química, Universidade Federal de RJ. 123pp.
- Silva, R., Ascheri, J., Pereira, R., 2007. Composição centesimal e perfil de aminoácidos de arroz e pó de café. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 18 (3): 325-330.
- Silva, R., Ferreira, R., Borém, F. e Muniz, J., 2004. Qualidade do café – cereja descascado produzido na região Sul de Minas Gerais. *Ciênc. Agrotec.*, 28 (6): 1367-1375
- Silva, V., 2009. *Estudos de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol celulósico*. Dissertação do Mestrado, Universidade de São Paulo. 113pp.
- Simões, J., Madureira, P., Nunes, F., Domingues, M., Vilanova, M. e Coimbra, M., 2009. Immunostimulatory properties of coffee mannans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(8): 1036-1043.
- Soares, E., 2006. *Biologia e processos biológicos*. Diapositivos de apoio. Engenharia Química, Instituto Superior de Engenharia do Porto. 424pp.

- Socol, C., 2000. Resíduo de café: um substrato promissor para a produção industrial de bioprodutos com alto valor agregado. In: *I Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*, Poços de Caldas, 83-98.
- Sousa, C., 2009. *Valorização energética de resíduos industriais textéis e poliméricos*. Tese de Mestrado. Universidade do Minho. 130pp.
- Souza, W., Ferrari, R., Scabio, A. e Barcaro, P., 2005. Biodiesel de óleo de Girassol e Etanol – Sunflower Oil and Ethanol Biodiesel. *Biomassa & Energia*, 2 (1): 1-5.
- Speer, K. e Kölling-Speer, I., 2006. The lipid fraction of the coffee bean. *Braz. J. Plant Physiol.*, 18 (1): 210-216.
- Sun, Y. e Cheng, J., 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Review paper, Bioresource Technology*, 83 (1): 1-11.
- Telmo, A., 2010. *Determinação de Cinzas*. Universidade Federal de Campina Grande. 12pp.
- Thomazini, A., Tomaz, M., Martins, L., e Rodrigues, W., 2011. Abordagem sobre qualidade da bebida no café Conilon. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer – Goiânia*, 7(12): 1-16.
- Turatti, J., 2001. Extração e caracterização de óleo de café. Embrapa – *Agroindústria de Alimentos. II Simpósio de Pesquisa dos cafés do Brasil*. 1533-1539.
- Van Gerpen, J., 2005. Biodiesel Processing and Production. *Fuel Processing Technology*, 86(10): 1097-1107.
- Van Gerpen, J., Shanks, B., Pruszko, R., Clements, D. e Knothe, G., 2004. *Biodiesel Production Technology*, Subcontractor Report, NREL/ SR-510-36244, 110pp.
- Veal, M., Chinn, M., 2007. Ethanol: A gasoline alternative for North Carolina. North Carolina Cooperative Extension Service. *Agriculture & LifeSciences*. 1-12 (acedido em 30/10/2011, em [http://www.bae.ncsu.edu/programs/extension/publicat/energy/ethanol\\_report.pdf](http://www.bae.ncsu.edu/programs/extension/publicat/energy/ethanol_report.pdf)).
- Vidal, H., 2001. *Composição Lipídica e a qualidade do café (Coffea arábica L.) durante armazenamento*. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, 93 pp..
- Vidmantiene, D., Juodeikiene, G. e Basinskiene, L., 2006. Technical ethanol production from waste of cereals and its products using a complex enzyme preparation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(11): 1732-1736.
- Vieira, S., 2009. *Produção de Bioetanol a partir de um resíduo orgânico proveniente da Central de Compostagem da Lipor*. Dissertação de Mestrado. ISEP. 104pp.
- Vilela, E. e Pereira, R., 1998. Armazenamento e processamento de produtos agrícolas-pós-colheita e qualidade do café. In: *XXVII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola*, Poços de Caldas, 219-274.

Wagemaker, T., 2009. *Variabilidade do teor de óleo, de seu factor de proteção solare de outros componentes da fração lipídica do género coffea visando usos alternativos aos grãos*. Dissertação de Mestrado. Instituto Agronomico, Campinas – SP. 96pp.

### **Fonte das imagens**

Figura 1.a) - Braun “*Onde é cultivado o café*”, 2009, acedido em: <http://www.braun.com/pt/household/adviser/coffee/world-of-coffee/growing-regions.html>

Figura 1.b) - Embrapa Agrobiologia, “*Sistemas de Produção – O cultivo de Café Orgânico*”, 2-2ª Edição, ISSN 1806-2830. Versão electrónica, Dezembro de 2006, acedido em [http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cafe/CafeOrganico\\_2ed/colheita.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cafe/CafeOrganico_2ed/colheita.htm)

Figura 1.2 - Moço, L., Azeredo, C., “*Do Pé ao Grão de Café Parte II*”, Blogspot Café do Moço, 31 de Julho de 2009, <http://cafedomoco.blogspot.com/2009/07/cape-natural-producao.html>

Figura 1.3 - Oliveira, G.S., “*Comparação Química dos Grãos de Café (Coffea arábica), sadio e seus grãos PVA (pretos, verdes, ardidos) oriundos do sul de Minas e do Cerrado Mineiro, submetidos a diferentes graus de torrefação*”, Dissertação de Mestrado, Universidade federal de Uberlândia, Uberlândia, 2006, p.

### **Legislação e normas consultadas**

Norma NP EN 14214: 2009 – Combustíveis para automóveis. Ésteres metílicos de ácidos gordos (FAME) para motores a gasóleo. Especificações técnicas. IPQ, Agosto de 2009.

Portaria 209/2004. Diário da República I – Serie B, nº53. 3 de Março de 2004. 1188-1206.

DL 178/2006. Diário da República I – Serie A, nº171. 5 Setembro de 2006.

DL 117/2010. Diário da República I – Serie A, nº207. 25 Outubro de 2010. 4782-4795.

DL 142/2010. Diário da República I – Serie A, nº253. 31 Dezembro de 2010. 6098-6119.

## ANEXOS

No presente capítulo procede-se à descrição experimental segundo as normas utilizadas. Encontram-se também registados os valores experimentais obtidos assim como o exemplo de cálculo correspondente. As fichas de segurança são outro dos subcapítulos abordados.

### A. Normas e procedimentos

Neste subcapítulo encontram-se descritos todos os procedimentos utilizados, para a caracterização da borra de café (matéria-prima), do óleo de café, do biodiesel e algumas das etapas envolvidas na produção de bioetanol.

#### A.1. Caracterização da matéria-prima

Para a caracterização da matéria-prima foram analisados diversos parâmetros, que se encontram descritos nos próximos passos.

- **Teor de Humidade**

O teor de humidade foi determinado pelo método directo, cujo procedimento se encontra descrito de seguida.

##### Procedimento

- Pesou-se o cadinho de porcelana previamente seco na estufa a 105°C;
- Pesou-se rigorosamente para esse cadinho  $5 \pm 0,001\text{g}$  de amostra;
- Levou-se à estufa a 105°C durante duas horas, e colocou-se num exsiccador até a estabilização da temperatura para posteriormente pesar;
- Repetiu-se a secagem e pesagem até estabilização do peso
- Determinou-se a humidade (%) pela equação (A.1).

$$\text{Teor Humidade (\%)} = \frac{m_{\text{amostra}} - m_{\text{amostra}(\text{sec a } 105^{\circ}\text{C})}}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (\text{Equação A. 1})$$

- **Poder Calorífico**

O poder calorífico foi determinado segundo a norma *ASTM D5865-10*. O procedimento, equipamento e reagentes encontram-se descritos de seguida.

Equipamento:

- Calorímetro Parr 6722.
- Reagentes:
- Pastilha Ácido Benzóico (Marca: Parr)

Procedimento:

- De acordo com o manual do equipamento.



**Figura A.1** – Calorímetro Parr, modelo 6722.

O poder calorífico superior foi determinado pela equação (A.2):

$$PCS_{final} \times m_{final} = PCS_{amostra} \times m_{amostra} + PCS_{ácido} \times m_{ácido} \quad (\text{Equação A. 2})$$

- **Teor de Carbono** (Guedes, 1998; Morais, 2005))

O teor de carbono foi determinado de acordo com o manual do equipamento.



**Figura A.2** - Analisador do Carbono Orgânico Total, da marca SHIMADZU

- **Teor de Azoto**

O teor de azoto foi determinado segundo o método de Kjeldahl. Todos os passos envolvidos foram realizados de acordo com o manual do equipamento.

O teor de Azoto foi calculado pela equação (A.3):

$$N_{Kjeldahl} = \frac{(V_A - V_B) \times N \times 14,007 \times 100}{m_{amostra} \times 1000} \quad (\text{Equação A.3})$$

Em que:

N - Normalidade do HCl (N);

V<sub>A</sub> – Volume de HCl gasto na titulação da amostra (mL);

V<sub>B</sub> – Volume de HCl gasto na titulação do Branco (mL)

m<sub>amostra</sub> – massa da amostra (g)

Na caracterização do material lenhocelulósico foram abordados dois parâmetros, o teor de celulose bruta e o teor de lenhina, resultante da soma do teor de lenhina Klason (insolúvel) e o teor de lenhina solúvel.

- **Determinação do Teor em Celulosa Bruta**

A determinação do teor em celulose bruta foi efectuada de acordo com a norma portuguesa NP-1005, de 1974.

**Equipamento:**

- Placa de aquecimento (Agimatic – E, da marca SELECTA);
- Balança Analítica (Marca: Kern ALJ 220-4);
- Mufla (Vulcan A-550)
- Estufa de Secagem(WTB Binder).

**Reagentes/soluções:**

- Solução de Ácido Sulfúrico 0,1N (Panreac)
- Solução de Hidróxido de Sódio 0,1N (Marca: José Vaz Pereira);
- Álcool Etílico a 96% (Marca: Álcool e géneros alimentares, S.A.)

**Procedimento:**

- Após extracção da gordura, pesou-se  $2 \pm 0,0001$ g da amostra e introduziu-se a massa num matraz;

- Adicionou-se cerca de 200mL da solução de ácido sulfúrico aquecida à ebulição;
- Adicionou-se algumas esferas de vidro, de modo a evitar uma ebulição excessiva;
- Efectuou-se a ligação do matraz a um condensador de refluxo e procedeu-se ao seu aquecimento numa manta de aquecimento, tendo em atenção a regulação da temperatura de forma a proporcionar a ebulição da mistura ao fim de um minuto;
- Manteve-se a ebulição durante 30 minutos.
- No fim do aquecimento, procedeu-se à decantação do líquido, fazendo-o passar por um sistema de filtração por vácuo.
- Durante a filtração, lavou-se o resíduo com 50mL de água desionizada em ebulição, até se obter pH neutro;
- Todo o resíduo que possa ter sido transferido para o dispositivo de filtração deve retomar ao matraz, com a ajuda de 200mL da solução de hidróxido de sódio, em ebulição.
- Novamente, efectuou-se a ligação do matraz ao condensador e procedeu-se à ebulição durante 30min;
- Novamente procede-se à filtração e lavagem com água em ebulição até pH neutro.
- Após neutralização da solução, procedeu-se à lavagem da mesma com 50mL de álcool etílico.
- No final da lavagem transferiu-se tudo para um cadinho de porcelana, previamente calcinado na mufla.
- Efectua-se a secagem do resíduo numa estufa, a  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ , até peso constante;
- Por fim, calcinou-se o resíduo, durante 30min, a  $600 \pm 25^\circ\text{C}$ . E, após o arrefecimento no exsiccador, efectuou-se a pesagem final.

O teor de celulose foi calculado segundo a equação (A.12).

$$\boxed{\text{Teor Celulose Bruta (\%)} = \frac{(m_1 - m_2) \times [100 - (H + G)]}{2}} \quad (\text{Equação A.4})$$

Em que:

H – Perda de massa após secagem na estufa a  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ ;

G – Matéria Gorda (%);

$m_1$  – massa do resíduo seco com cadinho antes da calcinação (g);

$m_2$  – massa do resíduo com cadinho após calcinação (g).



- **Determinação do Teor de Lenhina**

Como já foi referido, para a determinação da lenhina, foram efectuados dois processos, a determinação do teor de lenhina Klason ou lenhina insolúvel e o teor de lenhina solúvel. A soma destes dois valores resultará na totalidade da lenhina presente na biomassa em causa.

- **Determinação do Teor de Lenhina Klason**

A determinação do teor de lenhina Klason, teve como base o procedimento descrito na norma TAPPI T222om-02.

**Equipamento:**

- Placa de aquecimento e agitação (Agimatic – E, da marca SELECTA);
- Estufa de Secagem (WTB Binder).

**Reagentes/Soluções:**

- Solução de Ácido Sulfúrico a 72% (Panreac)

**Procedimento:**

- Pesou-se  $1 \pm 0,0001$ g de amostra para um gobelé e adicionou-se, de forma lenta e com agitação constante, 15,00mL de  $H_2SO_4$  (72%);
- Manteve-se a mistura num banho a  $2 \pm 1^\circ C$ , durante a dispersão do material;
- Após a dispersão da amostra, colocou-se um vidro do relógio no topo do gobelé, mantendo-se a mistura num banho a  $20 \pm 1^\circ C$ , durante 2horas e com agitação constante;
- No final desse tempo, adicionou-se 575mL de água desionizada, diluindo o ácido a 3% e, colocou-se a solução em ebulição durante 4horas, tentando manter sempre o volume da solução igual;
- Após esse tempo, procedeu-se à estabilização da solução e aguardou-se pela deposição de todas as partículas;
- Sem agitar a solução, filtrou-se a solução num sistema de filtração a vácuo;
- Com o auxílio de água desionizada em ebulição efectuou-se a lavagem do resíduo até pH neutro;
- Após neutralização, colocou-se o resíduo na estufa, até obtenção de peso constante.

O cálculo da lenhina Klason seguiu a equação (A.13):

$$\text{Lenhina Klason (\%)} = \frac{m_{\text{Lenhina}}}{m_{\text{amostracafé}}} \times 100 \quad (\text{Equação A.5})$$

Em que:

$m_{\text{lenhina}}$  – massa obtida após secagem a  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  (g);

$m_{\text{amostra café}}$  – massa inicial da amostra de café (g);

- **Determinação do Teor de Lenhina solúvel**

Tal como já foi referido, a quantificação da lenhina solúvel resulta da leitura da absorvância do filtrado, resultante do procedimento da lenhina Klason, num espectrofotómetro de UV-Vis (UV-1700 pharماسpec, da marca Shimadzu) a 205nm.

A equação refere-se ao seu cálculo.

$$\text{Lenhina Solúvel(\%)} = \frac{A_{205nm} \times V_{\text{Filtrado}} \times f}{\varepsilon \times m_{\text{amostracafé seca}}} \times 100 \quad (\text{Equação A. 6})$$

Em que:

$A_{205nm}$  – Valor medido no espectrofotómetro utilizando uma absorvância de 205nm;

$V_{\text{filtrado}}$  – Volume filtrado (mL);

$f$  – Factor de diluição;

$\varepsilon$  – Factor de conversão e igual a  $110 \text{ dm}^3/\text{g.cm}$ ;

$m_{\text{amostra café seca}}$  – massa de amostra de café utilizada (g).

## **A.2. Produção de biodiesel**

Neste subcapítulo serão abordados os procedimentos utilizados na caracterização do óleo e dos métodos utilizados para a produção de biodiesel.

### **A.2.1. Caracterização do óleo e biodiesel**

Na caracterização do óleo e do biodiesel foram avaliados diversos parâmetros, sendo referidos os equipamentos, reagentes envolvidos, tal como o procedimento.

- **Índice de Acidez**

Para a determinação deste parâmetro, os procedimentos seguidos basearam-se na *norma EN14104*.

Equipamento

— Balança Analítica (Kern ALJ 220-4)

Reagentes/Soluções

- Solução de Hidróxido de Potássio (KOH) em etanol,  $[\text{KOH}] = 0,1 \text{ mol/L}$  (KOH: Pronolab);
- Mistura solvente: Éter Dietílico (Panreac) e Etanol 95% (AGA, LDA) (1:1);
- Amostra de Óleo ou de biodiesel.

Procedimento

- Pesou-se cerca de  $0,3 \text{ a } 0,5 \pm 0,0001 \text{ g}$  de amostra num matraz de 250 mL;
- Adicionou-se 50 mL de mistura solvente neutralizada;
- Adicionou-se à mistura umas gotas de fenolftaleína;
- Procedeu-se à titulação com a solução de KOH até ser atingido o ponto final da reacção (mudança para cor de rosa ténue, mas persistente durante 15 segundos)
- Anotou-se o volume gasto.

O índice de Acidez foi calculado pela equação (A.4):

$$IA \left( \frac{\text{mg KOH}}{\text{g amostra}} \right) = \frac{56,1 \times V_{\text{KOH}} \times C_{\text{KOH}}}{m_{\text{amostra}}} \quad (\text{Equação A.7})$$

Em que:

$V_{\text{KOH}}$  - volume de KOH (mL) utilizado na titulação;

$C_{\text{KOH}}$  - concentração exacta do KOH (mol/L)

$m_{\text{amostra}}$  - massa da amostra (g)

- **Índice de Iodo**

A determinação do índice de Iodo (g Iodo/100g amostra) teve como base a *norma EN14111*.

### Equipamento

- Balança Analítica (Kern ALJ 220-4);
- Bureta Automática (715 Dosimat Metrohm).

### Reagentes/Soluções

- Iodeto de Potássio (KI), 100g/L de solução aquosa livre de iodato e iodo (Fisher Scientific);
- Solução de amido;
- Solução de tiosulfato de sódio, 0,1 M (Riedel-de Haen);
- Mistura Solvente: Ciclohexano (Panreac) e Ácido Acético Glacial (José M. Vaz Pereira, SA) (1:1);
- Reagente de Wijs (Panreac);
- Amostra de Óleo de Café.

O índice de iodo é calculado pela equação (A.5), que se apresenta a seguir:

$$\boxed{\text{Índice Iodo} \left( \frac{\text{g Iodo}}{100\text{g amostra}} \right) = \frac{12,69 \times C \times (V_1 - V_2)}{m_{\text{amostra}}}} \quad (\text{Equação A. 8})$$

Em que:

- C – concentração exacta da solução de tiosulfato de sódio (mol/L);
- $V_1$  – volume da solução de tiosulfato gasto no ensaio em branco (mL);
- $V_2$  – volume da solução de tiosulfato gasto na titulação da amostra (mL);
- $m_{\text{amostra}}$  – massa da amostra (g).

- **Viscosidade Cinemática a 40°C**

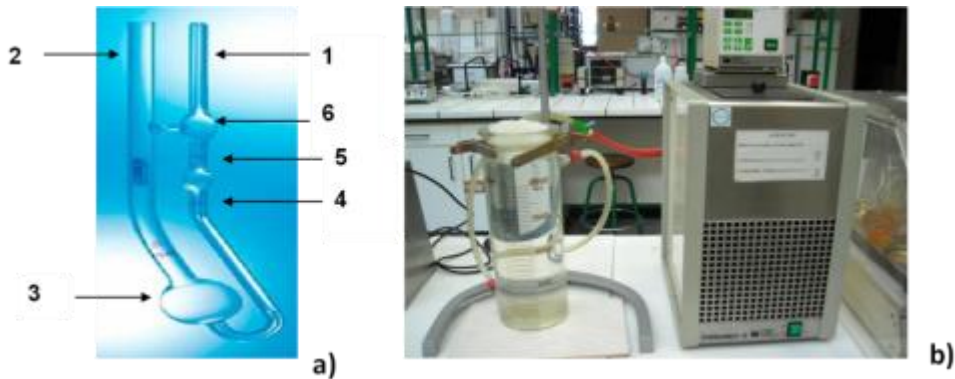
A viscosidade cinemática foi determinada segundo a *Norma EN ISO 3104*.

### Equipamento

- Termopar (Testo 922);
- Viscosímetro capilar 100 (Cannon Fenske);
- Banho com controlo de temperatura (Thermomix BM).

### Reagentes/Soluções

- Acetona (Valente e Ribeiro, LDA)
- Amostras de Óleo ou Biodiesel



**Figura A. 3** – a) Viscosímetro Capilar; b) Instalação utilizada na determinação da viscosidade cinemática.

A viscosidade cinemática foi determinada segundo a equação (A.6), descrita de seguida:

$$\nu = K(t - \mathcal{G}) \quad (\text{Equação A.9})$$

Em que:

$\nu$  – viscosidade ( $\text{mm}^2/\text{s}$ );

K – constante;

t – tempo experimental de passagem do fluído (seg);

$\mathcal{G}$  – factor de correcção obtido da tabela de factores de correcção de Hagenbach.

- **Densidade a 15°C (Método dos Picnómetros)**

Para a determinação da densidade do óleo e do biodiesel utilizou-se o método do picnómetro. Na concretização deste método experimental foi necessário utilizar os seguintes reagentes e equipamentos.

#### Equipamento:

- Balança analítica (Kern, Alj220-4)
- Banho Termostatizado a 15°C

Reagentes:

- Amostras de Óleo ou Biodiesel
- Água destilada
- Acetona

O cálculo da densidade foi de acordo com a equação (A.7):

$$d' = \frac{c - a}{b - a} \quad (\text{Equação A. 10})$$

Em que:

- a - massa do picnómetro (g);
- b - massa do picnómetro com água destilada (g);
- c - massa do picnómetro com o biodiesel (g);

Para o cálculo da densidade corrigida, foi utilizada a equação (A.8):

$$d = d_{\text{água}}(T = 15^{\circ}C) * d' \quad (\text{Equação A. 11})$$

Com a densidade da água igual a:

$$d_{\text{água}}(T = 15^{\circ}C) = 0,9991026 \text{ g/cm}^3$$

• **Teor de Ácidos Gordos e Teor de Ésteres**

A determinação do teor de ésteres e de ácidos gordos foi realizada segundo a *Norma EN 14103*.

Equipamento:

- Balança Analítica (Kern ALJ 220-4 NM);
- Cromatógrafo (DANI, GC 100 DPC Digital Pressure Control)
- FID e Coluna para FAME's/ FAEE's TRB-WAX (30m × 0,32 mm × 0,25 μm)

Reagentes/Soluções:

- Solução de metil heptadecanoato 10 mg/mL (Marca:Fluka Analytical)
- Heptano (Marca: Panreac);

— Amostras de óleo e biodiesel.

Procedimento:

- Ligou-se o cromatógrafo e abriram-se as válvulas dos gases;
- Foram definidas as pressões de Ar (1,07 bar), H<sub>2</sub> (0,70 bar) e He (0,90 bar, gás de arraste);
- Foi fixado o caudal do gás de arraste (He) para 1mL/min e o injector foi utilizado no modo “Split” com uma razão de 1:120, com um volume de injeção de 0,1µL;
- Estabeleceu-se os valores de temperatura pretendidos: “Oven Temperature” (195°C), “Detector Temperature (FID)” (250°C) e “Injector Temperature” (250°C);
- Num frasco de cromatografia pesou-se cerca de 100 mg de amostra;
- Adicionou-se 2 mL de solução padrão;
- Injectou-se a amostra;
- Efectuou-se a leitura da amostra, resultando um cromatograma.

Para a determinação destes parâmetros foi utilizado um Cromatógrafo de Gás (DANI GC – DPC Digital Pressure Control), que se encontra representado na figura (A.4).



**Figura A.4** – Cromatógrafo (Marca: DANI GC – DPC Digital Pressure Control), com injeção automática.

Para a determinação do teor de ésteres total foi utilizada a equação (A.9):

$$\% \text{Ésteres} = \frac{\Sigma A - A_{\text{Padrão}}}{A_{\text{Padrão}}} \times \frac{V_{\text{Padrão}} \times C_{\text{Padrão}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (\text{Equação A.12})$$

Em que:

$\Sigma A$  – Somatório das áreas;

$A_{\text{padrão}}$  – Área do padrão;

$V_{\text{padrão}}$  – Volume do padrão;

$C_{\text{padrão}}$  – Concentração do padrão;

$m_{\text{amostra}}$  – Massa da amostra

Na determinação dos Ésteres parciais recorreu-se à equação (A.10):

$$\% \text{Éster} = \frac{A_{\text{Éster}}}{\Sigma A} \times 100 \quad (\text{Equação A.13})$$

Em que:

$\Sigma A$  – Somatório das áreas;

$A_{\text{Éster}}$  – Área do Éster;

A determinação do teor de ácidos gordos totais foi efectuada de acordo com a equação (A.11), e tendo em conta, o ácido gordo que apresenta maior área na análise do cromatograma.

$$\% \text{AG}_{(\text{Ácido Behénico})} = \frac{IA_{\text{Óleo}} \times MM_{\text{Ácido Behénico}}}{MM_{\text{KOH}} \times 1000} \times 100 \quad (\text{Equação A.14})$$

Em que:

$IA_{\text{óleo}}$  – Índice de Acidez do Óleo (mg KOH/g amostra);

$MM_{\text{Ácido Behénico}}$  – Massa molecular do Ácido Behénico (g/mol);

$MM_{\text{KOH}}$  – Massa molecular do Hidróxido de Potássio (g/mol).

- **Ponto de Inflamação**

O ponto de inflamação foi determinado de acordo com a norma ISO 3679 (2004) e trata-se de uma método de tentativa/erro.

Na concretização deste método experimental foi necessário utilizar o equipamento de marca Petrotest e modelo Rapid Tester S.3.



**Figura A. 5** – Equipamento utilizado na determinação do ponto inflamação do óleo, Petrotest, modelo Rapid Tester S.3.



- **Teor de Água**

Para a determinação deste parâmetro foi seguida a norma EN 12937.

**Equipamento**

- Seringa (Hamilton Syringe 1001 RN 1ml)
- Balança Analítica (Kern ALJ 220-4);
- Coulómetro (Methrom K 684);
- Agitador (Metrohm 703 Ti Stand).

**Reagentes/Soluções**

- Solução Coulomat A AQUAMETRIC (liquido anódico) (Panreac);
- Solução Coulomat C AQUAMETRIC (liquido catódico) (Panreac);
- Amostra de Óleo.

**Procedimento**

- De acordo com o manual do equipamento.

A instalação, na qual, decorreu a determinação do teor de água encontra-se representada pela figura A.6.



**Figura A. 6** - Coulómetro utilizado na determinação do teor de água.

### **A.3. Produção de bioetanol**

Neste subcapítulo serão apenas abordados os procedimentos relativos à caracterização do material lenhocelulósico e a determinação dos açúcares pelo método do DNS.

#### **A.3.1. Determinação dos açúcares (DNS)**

A determinação dos açúcares redutores foi determinada pelo método do DNS, o qual se encontra descrito nos passos de seguida.

Equipamento:

- Espectrofotómetro de UV-Vis (Shimadzu, UV-160A).
- Vortex

Reagentes/soluções:

- Ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS).

Procedimento:

- Descongelou-se as amostras e homogeneizou-se as mesmas, no vortex;
- Caso fosse necessário, procedeu-se à diluição das amostras com água desionizada;
- Colocou-se 1mL da amostra, num tubo de ensaio alto e com rosca e adicionou-se 1mL de reagente (DNS);
- Agitou-se de forma vigorosa, no vortex, durante 10 segundos;
- Colocou-se a mistura num banho a 100°C, durante, exactamente, 5 minutos;
- Após arrefecimento rápido dos tubos, adicionou-se 10mL de água desionizada;
- Procedeu-se a uma nova agitação, durante 10 segundos;
- No espectrofotómetro, realizou-se a leitura da absorvância a 540nm e determinou-se a concentração dos açúcares redutores totais, através da curva de calibração, previamente efectuada;



**Figura A.7** – Espectrofotómetro UV-Vis.

#### **A.4. Caracterização das cápsulas**

A caracterização do conteúdo metálico nas cápsulas teve início com uma diluição numa mistura de ácidos, seguida da determinação dos metais no espectrofotómetro de absorção atómica.

**Equipamento:**

- Placa de aquecimento e agitação (SELECTA, Agimatic – E);
- Espectrofotómetro de absorção atómica (Varian, SpectrAA – 300).
- Reagente/soluções:
- Ácido Clorídrico concentrado (37% Puro, Pronalab );
- Ácido Nítrico (65% Puro, Pronalab);
- Chumbo (1000mg/L Pb, Merck);
- Crómio (1000g Cr, Fixanal);
- Ferro (1000mg/L Fe, Merck);
- Alumínio (1000mg/L Al, Merck);
- Zinco (1000mg/L zn, Fixanal)
- Níquel (1000mg/L Ni, Reagecon)

**Procedimento:**

- Pesou-se cerca de  $1 \pm 0,0001$ g de amostra;
- Adicionou-se 10mL de HCl concentrado e 25mL de HNO<sub>3</sub> concentrado;
- Procedeu-se ao aquecimento da solução, de forma a acelerar a reacção;
- Tendo sempre em atenção a libertação de fumos constantes, foi colocado um vidro de relógio no topo do gobelé, para evitar a secura da solução;
- O fim da libertação de fumos, ditou a conclusão da reacção;
- Após ter sido efectuadas várias rectas de calibração, para os diversos metais, transferiu-se a solução para um balão e procedeu-se à análise no espectrofotómetro de absorção atómica, de acordo com o procedimento do equipamento.



**Figura A.8** – Espectrofotómetro de Absorção Atómica.



## B. Resultados experimentais obtidos e exemplos de cálculo

Neste subcapítulo serão apresentados todos os resultados obtidos e os respectivos exemplos de cálculo para uma melhor compreensão do trabalho.

Inicialmente apresentam-se os resultados referentes à caracterização da matéria-prima, seguindo-se todas as etapas envolvidas na produção do biodiesel e do bioetanol, finalizando com a caracterização das cápsulas (invólucros metálicos).

### B.1. Caracterização da matéria-prima

Para a caracterização da matéria-prima foram analisados diversos parâmetros, que se encontram descritos de seguida.

Numa primeira fase, a borra de café foi caracterizada para avaliar os teores de humidade, carbono, azoto, proteínas, cinzas, bem como o poder calorífico superior, antes e após a extracção do óleo da borra de café.

Numa segunda fase, a produção de bioetanol, a borra foi também caracterizada quanto aos teores de celulose bruta e de lenhina (Klason e solúvel).

- **Determinação do teor de humidade**

Os resultados experimentais obtidos para a caracterização da borra de café, antes da extracção do óleo (borra inicial), no que diz respeito ao teor de humidade, encontram-se na Tabela B.1.

**Tabela B.1** - Determinação do teor de humidade, na borra de café, antes da extracção do óleo.

| Ensaio    | massa cadinho (g) | massa inicial (cadinho + borra de café) (g) | massa inicial (borra de café) (g) | massa final (cadinho + borra café) (g) | massa final (borra de café) (g) | Teor Humidade |
|-----------|-------------------|---|-----------------------------------|--|---------------------------------|---------------|
| Réplica 1 | 28,3092           | 33,4057                                     | 5,0965                            | 32,7758                                | 4,4666                          | 12,36         |
| Réplica 2 | 19,5548           | 24,7106                                     | 5,1558                            | 24,0950                                | 4,5402                          | 11,94         |
| Réplica 3 | 28,1922           | 33,3574                                     | 5,1652                            | 32,7434                                | 4,5512                          | 11,89         |
|           |                   |   |                                   |  | <b>Media</b>                    | <b>12,06</b>  |

Na Tabela B.2 encontram-se os resultados obtidos em todas as secagens e pesagens efectuadas ao longo do tempo, para cada uma das réplicas correspondentes à borra de café inicial.

**Tabela B.2** - Pesagens e respectivo tempo de secagem para cada uma das réplicas correspondentes à borra de café antes da extração do óleo

| Pesagem | Cadinho | Tempo estufa (h) | m total(g) | m cadinho(g) | m amostra(g) |
|---------|---------|------------------|------------|--------------|--------------|
| 1       | 1       | 2                | 32,8472    | 28,3092      | 4,5380       |
|         | 2       |                  | 24,1572    | 19,5548      | 4,6024       |
|         | 3       |                  | 32,7977    | 28,1922      | 4,6055       |
| 2       | 1       | 1                | 32,862     | 28,3092      | 4,5528       |
|         | 2       |                  | 24,146     | 19,5548      | 4,5912       |
|         | 3       |                  | 32,8016    | 28,1922      | 4,6094       |
| 3       | 1       | 17,3             | 32,8419    | 28,3092      | 4,5327       |
|         | 2       |                  | 24,135     | 19,5548      | 4,5802       |
|         | 3       |                  | 32,7821    | 28,1922      | 4,5899       |
| 4       | 1       | 3                | 32,8456    | 28,3092      | 4,5364       |
|         | 2       |                  | 24,1329    | 19,5548      | 4,5781       |
|         | 3       |                  | 32,7872    | 28,1922      | 4,595        |
| 5       | 1       | 120              | 32,7844    | 28,3092      | 4,4752       |
|         | 2       |                  | 24,0996    | 19,5548      | 4,5448       |
|         | 3       |                  | 32,7385    | 28,1922      | 4,5463       |
| 6       | 1       | 24               | 32,7517    | 28,3092      | 4,4425       |
|         | 2       |                  | 24,1053    | 19,5548      | 4,5505       |
|         | 3       |                  | 32,7530    | 28,1922      | 4,5608       |
| 7       | 1       | 120              | 32,7429    | 28,3092      | 4,4337       |
|         | 2       |                  | 24,0720    | 19,5548      | 4,5172       |
|         | 3       |                  | 32,7118    | 28,1922      | 4,5196       |
| 8       | 1       | 24               | 32,7539    | 28,3092      | 4,4447       |
|         | 2       |                  | 24,0765    | 19,5548      | 4,5217       |
|         | 3       |                  | 32,7162    | 28,1922      | 4,5240       |
| 9       | 1       | 24               | 32,7796    | 28,3092      | 4,4704       |
|         | 2       |                  | 24,0936    | 19,5548      | 4,5388       |
|         | 3       |                  | 32,7391    | 28,1922      | 4,5469       |
| 10      | 1       | 24               | 32,7758    | 28,3092      | 4,4666       |
|         | 2       |                  | 24,0950    | 19,5548      | 4,5402       |
|         | 3       |                  | 32,7434    | 28,1922      | 4,5512       |

Os resultados experimentais obtidos para a caracterização da borra de café, após da extração do óleo (borra extraída), no que diz respeito ao teor de humidade, encontram-se na Tabela B.3.

**Tabela B.3** - Determinação do teor de humidade, na borra de café, após da extração do óleo.

| Ensaio       | massa cadinho (g) | massa inicial (cadinho + borra de café) (g) | massa inicial (borra de café) (g) | massa final (cadinho + borra café) (g) | massa final (borra de café) (g) | Teor Humidade |
|--------------|-------------------|---|-----------------------------------|--|---------------------------------|---------------|
| Réplica 1    | 26,1862           | 31,2975                                     | 5,1113                            | 30,9897                                | 4,8035                          | 6,02          |
| Réplica 2    | 24,3702           | 29,4393                                     | 5,0691                            | 29,1222                                | 4,752                           | 6,26          |
| Réplica 3    | 20,5563           | 25,7293                                     | 5,1730                            | 25,4055                                | 4,8492                          | 6,26          |
| <b>MEDIA</b> |                   |   |                                   |  |                                 | <b>6,18</b>   |

Na Tabela B.4 encontram-se os resultados obtidos em todas as secagens e pesagens efectuadas ao longo do tempo, para cada uma das réplicas correspondentes à borra de café extraída.

**Tabela B.4** - Pesagens e respectivo tempo de secagem para cada uma das réplicas correspondentes à borra de café após da extracção do óleo

| Pesagem | Cadinho | Tempo estufa (h) | m total(g) | m cadinho(g) | m amostra(g) |
|---------|---------|------------------|------------|--------------|--------------|
| 1       | 1       | 2                | 31,0049    | 26,1862      | 4,8187       |
|         | 2       |                  | 29,1508    | 24,3702      | 4,7806       |
|         | 3       |                  | 25,4416    | 20,5563      | 4,8853       |
| 2       | 1       | 1                | 31,0047    | 26,1862      | 4,8185       |
|         | 2       |                  | 29,1483    | 24,3702      | 4,7781       |
|         | 3       |                  | 25,4325    | 20,5563      | 4,8762       |
| 3       | 1       | 17,3             | 30,9994    | 26,1862      | 4,8132       |
|         | 2       |                  | 29,1395    | 24,3702      | 4,7693       |
|         | 3       |                  | 25,424     | 20,5563      | 4,8677       |
| 4       | 1       | 3                | 30,9951    | 26,1862      | 4,8089       |
|         | 2       |                  | 29,1405    | 24,3702      | 4,7703       |
|         | 3       |                  | 25,4325    | 20,5563      | 4,8762       |
| 5       | 1       | 120              | 30,9823    | 26,1862      | 4,7961       |
|         | 2       |                  | 29,1238    | 24,3702      | 4,7536       |
|         | 3       |                  | 25,4167    | 20,5563      | 4,8604       |
| 6       | 1       | 24               | 30,9834    | 26,1862      | 4,7972       |
|         | 2       |                  | 29,1223    | 24,3702      | 4,7521       |
|         | 3       |                  | 25,4091    | 20,5563      | 4,8528       |
| 7       | 1       | 120              | 30,9566    | 26,1862      | 4,7704       |
|         | 2       |                  | 29,123     | 24,3702      | 4,7528       |
|         | 3       |                  | 25,3966    | 20,5563      | 4,8403       |
| 8       | 1       | 24               | 30,9636    | 26,1862      | 4,7774       |
|         | 2       |                  | 29,1229    | 24,3702      | 4,7527       |
|         | 3       |                  | 25,4053    | 20,5563      | 4,8490       |
| 9       | 1       | 24               | 30,9887    | 26,1862      | 4,8025       |
|         | 2       |                  | 29,1227    | 24,3702      | 4,7525       |
|         | 3       |                  | 25,4136    | 20,5563      | 4,8573       |
| 10      | 1       | 24               | 30,9897    | 26,1862      | 4,8035       |
|         | 2       |                  | 29,1222    | 24,3702      | 4,7520       |
|         | 3       |                  | 25,4055    | 20,5563      | 4,8492       |

Apresenta-se de seguida um exemplo de cálculos do teor de humidade, tendo por base os resultados obtidos para a primeira réplica da amostra de borra de café, antes da extracção.

$$\text{Teor Humidade}(\%) = \frac{m_{\text{amostra}} - m_{\text{amostra}(\text{sec a } 105^{\circ}\text{C})}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

$$\text{Teor Humidade}(\%) = \frac{5,0965 - 4,4666}{5,0965} \times 100 = 12,36\%$$

- **Determinação do Poder Calorífico**

Os resultados experimentais obtidos para os ensaios com a borra de café, antes e após extracção do óleo encontram-se representados na Tabela B.5.

Tabela B.5 - Determinação do poder calorífico superior, para amostras de borra de café, antes e após extracção

| Amostra                       | Réplicas  | m ácido benzóico (g) | m amostra (g) | massa final (g) | PCS final (cal/g) | PCS ácido (cal/g) | PCS amostra (cal/g) | PCS amostra médio (cal/g) |
|-------------------------------|-----------|----------------------|---------------|-----------------|-------------------|-------------------|---------------------|---------------------------|
| Borra de café antes extracção | Réplica 1 | 0,5942               | 0,5052        | 1,0994          | 5441,95           | 6314,22           | 4416,02             | 4619,2                    |
|                               | Réplica 2 | 0,5213               | 0,6182        | 1,1395          | 5504,87           | 6314,22           | 4822,39             |                           |
| Borra de café após extracção  | Réplica 1 | 0,4165               | 0,5039        | 0,9204          | 5460,28           | 6165,73           | 4877,18             | 4941,0                    |
|                               | Réplica 2 | 0,4774               | 0,5182        | 0,9956          | 5561,46           | 6165,73           | 5004,76             |                           |

A seguinte equação exemplifica o cálculo do poder calorífico superior, para a réplica1 do ensaio efectuado à amostra de borra de café antes da extracção:

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

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

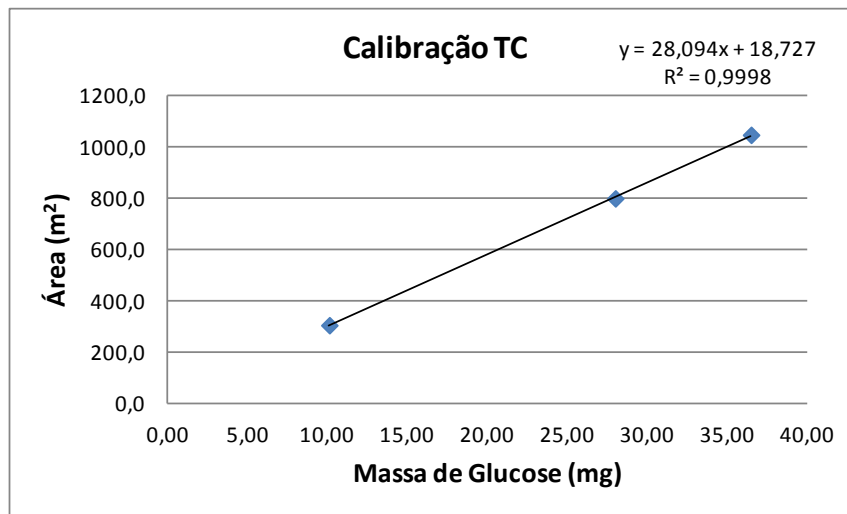
$$(=) PCS_{\text{amostra}} = \frac{(5441,95 \times 1,0994) - (6314,22 \times 0,5942)}{0,5052} = 4416,02 \text{ cal / g}$$

- **Determinação do Teor de Carbono**

Para a determinação do teor de carbono, foi necessário traçar uma curva de calibração para o carbono total e para o carbono inorgânico.



A curva de calibração do carbono total foi construída usando como padrão a glucose monohidratada (Figura B.1)



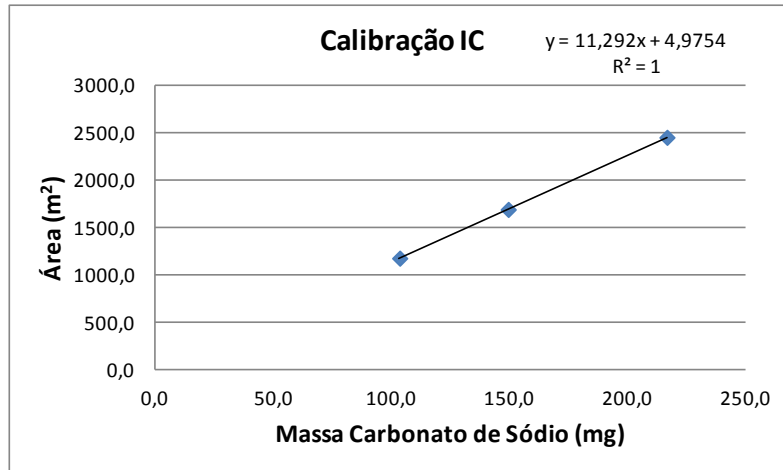
**Figura B.1** - Curva de calibração do carbono total

Os resultados obtidos para o carbono total encontram-se descritos na Tabela B. 6.

**Tabela B. 6** - Resultados obtidos para o teor de carbono total em cada uma das amostras

| Amostra                      | Réplica | m Borra Café (g) | m Borra Café (mg) | Área   | Concentração (mg/L) | % C (massa Seca) |
|------------------------------|---------|------------------|-------------------|--------|---------------------|------------------|
| Borra de café antes extração | 1       | 0,0209           | 20,90             | 828,5  | 11,53               | 55,2%            |
|                              | 2       | 0,0219           | 21,90             | 816,4  | 11,36               | 51,9%            |
|                              | 3       | 0,0176           | 17,60             | 684,5  | 9,479               | 53,9%            |
|                              | 4       | 0,0213           | 21,30             | 781,7  | 10,86               | 51,0%            |
| <b>Media</b>                 |         | 0,0204           | 20,43             | 777,78 | 10,81               | 52,24%           |
| Borra de café após extração  | 1       | 0,0200           | 20,0              | 776,9  | 10,79               | 54,0%            |
|                              | 2       | 0,0219           | 21,9              | 824,5  | 11,47               | 52,4%            |
|                              | 3       | 0,0179           | 17,9              | 703,8  | 9,754               | 54,5%            |
|                              | 4       | 0,0219           | 21,9              | 813,7  | 11,32               | 51,7%            |
| <b>Media</b>                 |         | 0,0204           | 20,4              | 779,73 | 10,83               | 53,13%           |

A curva de calibração do carbono inorgânico foi construída usando como padrão o carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (Figura B. 2).



**Figura B. 2** - Curva de calibração do carbono inorgânico.

Os resultados obtidos para o carbono total nas amostras de borra de café encontram-se descritos na Tabela B.7. Como é possível verificar pela mesma, nas amostras não existe qualquer vestígio de carbono inorgânico, indicando que todo o carbono total corresponde ao carbono orgânico.

**Tabela B.7** - Resultados obtidos para o teor de carbono inorgânico para cada uma das amostras.

| Amostra                       | Réplica | m Borra Café (g) | m Borra Café (mg) | Área | Concentração (mg/L) |
|-------------------------------|---------|------------------|-------------------|------|---------------------|
| Borra de café antes extracção | 1       | 0,0960           | 96,0              | 0,00 | 0,00                |
|                               | 2       | 0,1047           | 104,7             | 0,00 | 0,00                |
|                               | 3       | 0,1167           | 116,7             | 0,00 | 0,00                |
| <b>Media</b>                  |         | 0,1058           | 105,80            | 0,00 | 0,00                |
| Borra de café após extracção  | 1       | 0,0645           | 64,5              | 0,00 | 0,00                |
|                               | 2       | 0,0664           | 66,4              | 0,00 | 0,00                |
|                               | 3       | 0,0839           | 83,9              | 0,00 | 0,00                |
| <b>Media</b>                  |         | 0,0716           | 71,60             | 0,00 | 0,00                |

- **Determinação do teor de azoto**

O teor de azoto foi determinado segundo o método de Kjeldahl. Todos os passos envolvidos nesta determinação encontram-se descritos de seguida.

**Tabela B.8** - Dados experimentais referentes ao cálculo do teor de azoto Kjeldahl na amostra de borra de café, antes e após extracção.

| Amostra                    | Réplica  | V <sub>inicial HCl</sub> (mL) | V <sub>HCl final</sub> (mL) | V <sub>gasto HCl</sub> (mL) | m borra café (g) | N <sub>kjedahl</sub> (gN/100g amostra) | %N           |
|----------------------------|----------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------|--|--------------|
| Borra café antes extracção | Branco   | 0                             | 0,2                         | 0,2                         | -----            | -----                                  | -----        |
|                            | 1        | 2,9                           | 4,00                        | 1,1                         | 0,0532           | 2,13                                   | 40,04        |
|                            | 2        | 4,9                           | 6,10                        | 1,2                         | 0,0586           | 2,15                                   | 36,67        |
|                            | 3        | 3,4                           | 4,80                        | 1,4                         | 0,0534           | 2,12                                   | 39,74        |
| <b>Média</b>               |          |                               |                             |                             |                  | <b>2,1</b>                             | <b>39,89</b> |
| Borra café após extracção  | Branco 1 | 0                             | 0,5                         | 0,5                         | -----            | -----                                  | -----        |
|                            | 1        | 2                             | 3,7                         | 1,7                         | 0,0576           | 2,62                                   | 45,55        |
|                            | 2        | 3,7                           | 5,50                        | 1,8                         | 0,0567           | 2,89                                   | 50,92        |
|                            | Branco 2 | 0                             | 0,20                        | 0,2                         | -----            | -----                                  | -----        |
|                            | 3        | 1,3                           | 2,50                        | 1,2                         | 0,0533           | 2,36                                   | 44,33        |
| <b>Média</b>               |          |                               |                             |                             |                  | <b>2,8</b>                             | <b>44,94</b> |

A seguinte equação exemplifica o cálculo do teor de azoto, para a réplica1 do ensaio efectuado à amostra de borra de café antes da extracção do óleo, com uma normalidade do HCl igual a 0,0899N.

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

$$(\Rightarrow) N_{Kjedahl} = \frac{(1,1 - 0,2) \times 0,0899 \times 14,007 \times 100}{0,0532 \times 1000} = 2,13 \text{ g N / g borra café}$$

- **Determinação do teor de proteínas**

O teor de proteínas foi determinado através da multiplicação do teor de azoto por um factor igual a 6,25, factor utilizado por Alves et al., em 2007, na caracterização de amostras de café.

A Tabela B.9 mostra os resultados obtidos para o cálculo do teor de proteínas, de cada uma das amostras, a borra de café antes e após extracção.

**Tabela B.9** - Resultados obtidos na determinação do teor de proteínas Kjeldahl, na borra de café.

| Amostra                    | Réplica | N <sub>Kjedahl</sub><br>(gN/100g amostra) | Teor Proteínas<br>(g Proteína/100g borra café) |
|----------------------------|---------|---|--|
| Borra café antes extracção | 1       | 2,13                                      | 13,31  |
|                            | 2       | 2,15                                      | 13,43  |
|                            | 3       | 2,12                                      | 13,26  |
| <b>Média</b>               |         | <b>2,13</b>                               | <b>13,3</b>                                    |
| Borra café após extracção  | 1       | 2,62                                      | 16,40  |
|                            | 2       | 2,89                                      | 18,04  |
|                            | 3       | 2,36                                      | 14,77  |
| <b>Média</b>               |         | <b>2,62</b>                               | <b>16,4</b>                                    |

- **Determinação do teor de cinzas**

O teor de cinzas foi determinado usando o método gravimétrico (APHA, 1999). A Tabela B.10 resume todos os resultados obtidos, para este cálculo.

**Tabela B.10** – Determinação do teor de cinzas.

| Ensaio                        | Réplica | m Cápsula (g) | m amostra (g) | m cinzas(g) | Teor Cinzas (%) | Teor Cinzas médio (%) |
|-------------------------------|---------|---------------|---------------|-------------|-----------------|-----------------------|
| Borra de café antes extracção | 1       | 96,6217       | 5,0109        | 0,072       | 1,44            | 1,43                  |
|                               | 2       | 45,1387       | 5,0021        | 0,071       | 1,42            |                       |
| Borra de café após extracção  | 1       | 19,5545       | 2,9775        | 0,0445      | 1,49            | 1,51                  |
|                               | 2       | 20,5551       | 3,1233        | 0,0474      | 1,52            |                       |

Tendo como objectivo, a determinação do teor de cinzas da réplica 1, do ensaio da borra de café, antes da extracção do óleo, usou-se o exemplo de cálculo seguinte:

$$\text{Teor cinzas}(\%) = \frac{0,072}{5,0109} = 1,44\%$$

Na caracterização do material lenhocelulósico foram avaliados dois parâmetros, o teor de celulose bruta e o teor de lenhina, resultante da soma do teor de lenhina Klason (insolúvel) e do teor de lenhina solúvel.

- **Determinação do Teor em celulose bruta**

A determinação do teor em celulose bruta foi efectuada, conforme mencionado anteriormente, de acordo com a norma portuguesa NP-1005, de 1974, através da equação A.12:

$$\text{Teor Celulose Bruta} (\%) = \frac{(m_1 - m_2) \times [100 - (H + G)]}{2} \quad (\text{Equação A.12})$$

Na determinação do teor de celulose, na borra de café inicial (antes da extracção) e por razões de procedimento, efectuou-se a extracção dos lipidos de acordo com o especificado na norma, utilizando o hexano e as condições descritas pela mesma norma.

Assim sendo, foram tomados em consideração os seguintes dados obtidos para a primeira réplica do ensaio da celulose, a partir da borra inicial e a equação A.12:

$$\text{Teor de Humidade} = 3,6\% \rightarrow \text{calculado de acordo com os dados da tabela A.26}$$

$$\text{Teor de gordura} = 4,7\%$$

$$\text{papel de filtro} + \text{cadinho} = 45,2300\text{g}$$

$$m_{\text{Borracafé}} = 2,0212\text{g}$$

A Tabela B.11 apresenta alguns resultados experimentais necessários para a determinação do teor de celulose. Todo o procedimento encontra-se de acordo com o especificado na norma NP-1005, para a determinação do teor de celulose bruta.

**Tabela B.11** - Resultados experimentais, até obtenção de massa constante (após secagem) e da massa obtida após calcinação da amostra, para a determinação do teor de celulose bruta. (1ª réplica – ensaio: Borra inicial)

| Ensaio  | Tempo estufa (h)    | Tempo exsiccador (h) | m cadinho + papel + amostra (g) |
|---------|---------------------|----------------------|---------------------------------|
| Inicial | 0                   | 0                    | 47,2512                         |
| 1       | 72                  | 0,5                  | 45,5307                         |
| 2       | 24                  | 0,5                  | 45,5339                         |
| 3       | 48                  | 0,5                  | 45,5295                         |
| 4       | 24                  | 0,5                  | 45,5290                         |
| Ensaio  | Após Calcinação (h) | Tempo exsiccador (h) | m (g)                           |
| 1       | 0,5                 | 0,5                  | 45,2260                         |

$$\text{Teor Celulose Bruta (\%)} = \frac{((45,5290 - 45,2300) - (45,2260 - 45,2300)) \times [100 - (3,6 + 4,7)]}{2} = 14,43\%$$

Na segunda réplica, efectuada para a amostra de borra de café inicial, foram considerados os seguintes dados experimentais, obtidos ao longo deste procedimento:

$$\text{Teor de Humidade} = 1,8\%$$

$$\text{Teor de gordura} = 4,7\%$$

$$\text{papel de filtro} + \text{cadinho} = 96,7137 \text{ g}$$

$$m_{\text{Borra café}} = 2,0123 \text{ g}$$

A Tabela B.12 apresenta alguns resultados experimentais necessários para a determinação do teor de celulose.

**Tabela B.12** - Resultados experimentais, até obtenção de massa constante (após secagem) e da massa obtida após calcinação da amostra, para a determinação do teor de celulose bruta (2ª réplica – ensaio: Borra inicial).

| Ensaio  | Tempo estufa (h)    | Tempo exsicador (h) | m cadinho + papel + amostra (g) |
|---------|---------------------|---------------------|---------------------------------|
| Inicial | 0                   | 0,5                 | 98,7260                         |
| 1       | 46,5                |                     | 96,9759                         |
| 2       | 72                  |                     | 96,9738                         |
| 3       | 19                  |                     | 96,9736                         |
| 4       | 26                  |                     | 96,9738                         |
| 5       | 48                  |                     | 96,9706                         |
| 6       | 72                  |                     | 96,9703                         |
| 7       | 24                  |                     | 96,9702                         |
| Ensaio  | Após Calcinação (h) | Tempo exsicador (h) | m (g)                           |
| 1       | 0,5                 | 0,5                 | 96,7049                         |

Com todos estes dados, o cálculo resulta no valor de :

$$\text{Teor Celulose Bruta (\%)} = \frac{((96,9702 - 96,7137) - (96,7049 - 96,7137)) \times [100 - (1,8 + 4,7)]}{2} = 13,26\%$$

Tendo um teor de celulose bruta médio igual a:

$$\text{Teor Celulose Bruta (\%)} = \frac{14,46 + 13,26}{2} = 13,84\%$$

Na determinação do teor de celulose na borra de café final (após extracção do óleo), a extracção das gorduras foi efectuada com a utilização de hexano e isopropanol, nas proporções de 5 para 5. Assim sendo, e tendo em conta os seguintes resultados obtidos para a primeira réplica do ensaio da celulose, a partir da borra inicial e a equação A.12:

*Teor de Humidade* = 3,6%

*Teor de gordura* = 19,49%

*papel de filtro + cadinho* = 45,2994 g

$m_{\text{Borra café}} = 2,0401 \text{ g}$

A Tabela B.13 apresenta alguns resultados experimentais necessários para a determinação do teor de celulose.

**Tabela B.13** - Resultados experimentais, até obtenção de massa constante (após secagem) e da massa obtida após calcinação da amostra, para a determinação do teor de celulose bruta (1ª réplica – ensaio: Borra final).

| Ensaio  | Tempo estufa (h)    | Tempo exsicador (h) | m cadinho + papel + amostra (g) |
|---------|---------------------|---------------------|---------------------------------|
| Inicial | 0                   | 0,5                 | 47,3395                         |
| 1       | 24                  |                     | 45,6210                         |
| 2       | 25                  |                     | 45,6257                         |
| 3       | 50                  |                     | 45,6225                         |
| 4       | 72                  |                     | 45,6217                         |
| 5       | 2                   |                     | 45,6212                         |
| Ensaio  | Após Calcinação (h) | Tempo exsicador (h) | m (g)                           |
| 1       | 0,5                 | 0,5                 | 45,2962                         |

Com todos estes dados, o cálculo resulta no valor de :

$$\text{Teor Celulose Bruta (\%)} = \frac{((45,6212 - 45,2994) - (45,2962 - 45,2994) \times [100 - (3,6 + 19,49)])}{2} = 16,21\%$$

Na segunda réplica, efectuada para a amostra de borra de café inicial, foram considerados os seguintes dados experimentais, obtidos ao longo deste procedimento:

*Teor de Humidade* = 2,0%

*Teor de gordura* = 19,49%

*papel de filtro + cadinho* = 81,8147 g

$m_{\text{Borra café}} = 2,0056 \text{ g}$

Tabela B.14 apresenta alguns resultados experimentais necessários para a determinação do teor de celulose.

**Tabela B.14** – Resultados experimentais, até a obtenção de uma massa constante (após secagem) e da massa obtida após calcinação da amostra, para a determinação do teor de celulose bruta (2ª réplica – ensaio: Borra final).

| Ensaio | Tempo estufa (h)    | Tempo exsicador (h) | m cadinho + papel + amostra (g) |
|--------|---------------------|---------------------|---------------------------------|
| Início | 0                   | 0,5                 | 83,8203                         |
| 1      | 19                  |                     | 82,1298                         |
| 2      | 26                  |                     | 82,1279                         |
| 3      | 50                  |                     | 82,1218                         |
| 4      | 72                  |                     | 82,1210                         |
| 5      | 24                  |                     | 82,1202                         |
| 6      | 24                  |                     | 82,1209                         |
| Ensaio | Após Calcinação (h) | Tempo exsicador (h) | m (g)                           |
| 1      | 0,5                 | 0,5                 | 81,8125                         |

Com todos estes dados, o cálculo resulta no valor de :

$$\text{Teor Celulose Bruta (\%)} = \frac{((82,1209 - 81,8147) - (81,8125 - 81,8147)) \times [100 - (2,0 + 19,49)]}{2} = 15,39\%$$

Tendo um teor de celulose média igual a:

$$\text{Teor Celulose Bruta (\%)} = \frac{16,21 + 15,39}{2} = 15,80\%$$

- **Determinação do teor de lenhina**

Como já foi referido, para a determinação do teor de lenhina, foram efectuados dois procedimentos, a determinação do teor de lenhina Klason ou lenhina insolúvel e a determinação do teor de lenhina solúvel. A soma destes dois valores resultará na totalidade da lenhina presente na biomassa em análise.

O cálculo do teor de lenhina Klason seguiu a equação (A.13):

$$\text{Lenhina Klason (\%)} = \frac{m_{\text{Lenhina}}}{m_{\text{amostracafé}}} \times 100 \quad (\text{Equação A.153})$$

A quantificação da lenhina solúvel resulta da leitura da absorvância do filtrado, resultante da aplicação do procedimento da lenhina Klason, num espectrofotómetro de UV-Vis (SHIMADZU, UV-1700 pharmaspec) a 205nm.

A equação A.14 refere-se ao seu cálculo:



$$\text{Lenhina Solúvel}(\%) = \frac{A_{205nm} \times V_{\text{Filtrado}} \times f}{\epsilon \times m_{\text{amostracafé seca}}} \times 100 \quad (\text{Equação A. 164})$$

Borra de café, antes da extracção do óleo (Inicial) - 1ª Réplica

Foram considerados os seguintes dados obtidos para a primeira réplica do ensaio da determinação do teor de lenhina, a partir da borra inicial, e a Tabela B. 15 contendo os resultados obtidos para o teor de lenhina insolúvel. O teor de lenhina avaliado foi de 31,86%

$$\text{papel de filtro} + \text{cadinho} = 39,0536g$$

$$m_{\text{Borra café em base seca}} = 1,0082g$$

A Tabela B. 15 apresenta alguns resultados experimentais necessários para a determinação do teor de lenhina insolúvel.

**Tabela B. 15** - Resultados experimentais, até obtenção de massa constante (após secagem), para a determinação do teor de lenhina insolúvel (1ª réplica – ensaio: Borra inicial).

| Ensaio | Tempo estufa (h) | Tempo exsiccador (h) | m cadinho + papel + amostra (g) |
|--------|------------------|----------------------|---------------------------------|
| Início | 0                | 0                    | 40,0618                         |
| 1      | 48               | 0,5                  | 39,3757                         |
| 2      | 24               |                      | 39,3743                         |
| 3      | 72               |                      | 39,3748                         |

O teor de lenhina insolúvel (Klason) foi avaliado em:

$$\text{Lenhina Klason} (\%) = \frac{(39,3748 - 30,0536)}{1,0082} \times 100 = 31,86\%$$

Para o cálculo da lenhina solúvel, a Tabela B.16 apresenta as determinações efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis.

**Tabela B.16** - Leituras de absorvância, efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis, para a determinação do teor de lenhina solúvel (1ª réplica – ensaio: Borra inicial).

| Amostra       | Diluição | Abs ( $\lambda=205\text{nm}$ ) | Abs media |
|---------------|----------|--------------------------------|-----------|
| Branco (água) | 0        | 0                              | 0         |
| Ensaio 1a_1R  | 0        | 4                              | 4         |
| Ensaio 1a_2R  |          | 4                              |           |
| Ensaio 1a_3R  |          | 4                              |           |
| Ensaio 1b_1R  | 10x      | 0,864                          | 0,868     |
| Ensaio 1b_2R  |          | 0,867                          |           |
| Ensaio 1b_3R  |          | 0,872                          |           |
| Ensaio 1c_1R  | 50x      | 0,201                          | 0,202     |
| Ensaio 1c_2R  |          | 0,203                          |           |
| Ensaio 1c_3R  |          | 0,199                          |           |

Com uma massa de amostra de 1,0082g, um factor de diluição ( $f$ ) igual a 1/50, um volume de filtrado igual a 484,5mL e um factor de conversão ( $\varepsilon$ ), igual a 110dm<sup>3</sup>/g.cm, o teor de lenhina solúvel foi avaliado em:

$$\begin{aligned} \text{Lenhina Solúvel}(\%) &= \frac{A_{205\text{nm}} \times V_{\text{Filtrado}} \times f}{\varepsilon \times m_{\text{amostracafé seca}}} \times 100 = \\ &= \frac{0,202 \times 484,5 \times \frac{1}{50}}{110 \times 1,0082} \times 100 = 1,76\% \end{aligned}$$

Logo o teor de lenhina total obtido para a réplica 1, do ensaio da borra de café inicial (antes de extracção do óleo) tomou o valor de:

$$\begin{aligned} \text{Lenhina Total}(\%) &= \text{Lenhina Insolúvel}(\%) + \text{Lenhina Solúvel}(\%) = \\ &= 31,86 + 1,76 = 33,62\% \end{aligned}$$

O teor de lenhina insolúvel, solúvel e total foram calculados da mesma forma, para a segunda réplica do ensaio da borra de café inicial e para as réplicas efectuadas para o ensaio da borra de café final (após extracção do óleo).

Assim sendo, de seguida, serão apenas apresentados os resultados obtidos experimentalmente, tal como os resultados obtidos para o cálculo dos diversos teores de lenhina.

Borra de café, antes da extracção do óleo (Inicial) - 2ª Réplica

Na Tabela B.17 apresentam-se os resultados obtidos experimentalmente, para o cálculo do teor de lenhina insolúvel.

**Tabela B.17** - Resultados experimentais obtidos, para a determinação do teor de lenhina insolúvel (2ª réplica – ensaio: Borra inicial).

| Ensaio | Tempo estufa (h) | Tempo exsicador (h) | m cadinho + papel + amostra (g) |
|--------|------------------|---------------------|---------------------------------|
| Início | 0                | 0                   | 27,4365                         |
| 1      | 48               | 0,5                 | 26,7522                         |
| 2      | 24               |                     | 26,7520                         |
| 3      | 72               |                     | 26,7522                         |

Com os seguintes dados, o teor de lenhina insolúvel tomou o valor de:

$$\text{papel de filtro} + \text{cadinho} = 26,4302\text{g}$$

$$m_{\text{Borra café em base seca}} = 1,0063\text{g}$$

$$\text{Lenhina Insolúvel} = 32,00\%$$

Para o cálculo da lenhina solúvel, a Tabela B.18 apresenta as determinações efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis.

**Tabela B.18** - Leituras de absorvância, efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis, para a determinação do teor de lenhina solúvel (2ª réplica – ensaio: Borra inicial)

| Amostra       | Diluição | Abs ( $\lambda=205\text{nm}$ ) | Abs media |
|---------------|----------|--------------------------------|-----------|
| Branco (água) | 0        | 0                              | 0         |
| Ensaio 2a_1R  | 0        | 4                              | 4         |
| Ensaio 2a_2R  |          | 4                              |           |
| Ensaio 2a_3R  |          | 4                              |           |
| Ensaio 2b_1R  | 10x      | 0,821                          | 0,825     |
| Ensaio 2b_2R  |          | 0,829                          |           |
| Ensaio 2b_3R  |          | 0,802                          |           |
| Ensaio 2c_1R  | 50x      | 0,183                          | 0,184     |
| Ensaio 2c_2R  |          | 0,183                          |           |
| Ensaio 2c_3R  |          | 0,187                          |           |

Com uma massa de amostra de 1,0063g, um factor de diluição ( $f$ ) igual a 1/50, um volume de filtrado igual a 502mL e um factor de conversão ( $\varepsilon$ ), igual a 110dm<sup>3</sup>/g.cm, o teor de lenhina solúvel totaliza o valor de,

$$\text{Lenhina Solúvel}(\%) = 1,67\%$$

Logo o teor de lenhina total obtido para a réplica 2, do ensaio da borra de café inicial (antes de extracção do óleo) igualou o valor de:

$$\begin{aligned} \text{Lenhina Total}(\%) &= \text{Lenhina Insolúvel}(\%) + \text{Lenhina Solúvel}(\%) = \\ &= 32,00 + 1,67 = 33,67\% \end{aligned}$$

Sendo o teor de lenhina total médio igual a 33,65%.

Borra de café, após da extracção do óleo (final) - 1ª Réplica

A Tabela B.19 apresenta os resultados obtidos experimentalmente, para o cálculo do teor de lenhina insolúvel.

**Tabela B.19** - Resultados experimentais obtidos, para a determinação do teor de lenhina insolúvel (1ª réplica – ensaio: Borra final).

| Ensaio | Tempo estufa (h) | Tempo exsicador (h) | m cadinho + papel + amostra (g) |
|--------|------------------|---------------------|---------------------------------|
| Início | 0                | 0                   | 51,9288                         |
| 1      | 24               | 0,5                 | 51,1864                         |
| 2      | 72               |                     | 51,1811                         |

Com os seguintes dados, o teor de lenhina insolúvel tomou o valor de:

$$\text{papel de filtro} + \text{cadinho} = 50,8538\text{g}$$

$$m_{\text{Borra café em baseseca}} = 1,0750\text{g}$$

$$\text{Lenhina Insolúvel} = 30,45\%$$

Para o cálculo da lenhina solúvel, a Tabela B.20 apresenta as determinações efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis.

**Tabela B.20** - Leituras de absorvância, efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis, para a determinação do teor de lenhina solúvel (1ª réplica – ensaio: Borra final)

| Amostra       | Diluição | Abs ( $\lambda=205\text{nm}$ ) | Abs media |
|---------------|----------|--------------------------------|-----------|
| Branco (água) | 0        | 0                              | 0         |
| Ensaio 1a_1R  | 0        | 4                              | 4         |
| Ensaio 1a_2R  |          | 4                              |           |
| Ensaio 1a_3R  |          | 4                              |           |
| Ensaio 1b_1R  | 5x       | 1,765                          | 1,753     |
| Ensaio 1b_2R  |          | 1,753                          |           |
| Ensaio 1b_3R  |          | 1,753                          |           |
| Ensaio 1c_1R  | 50x      | 0,207                          | 0,207     |
| Ensaio 1c_2R  |          | 0,207                          |           |
| Ensaio 1c_3R  |          | 0,212                          |           |

Com uma massa de amostra de 1,0750g, um factor de diluição ( $f$ ) igual a 1/50, um volume de filtrado igual a 450mL e um factor de conversão ( $\varepsilon$ ), igual a 110dm<sup>3</sup>/g.cm, o teor de lenhina solúvel totaliza o valor de,

$$\text{Lenhina Solúvel}(\%) = 1,58\%$$

Logo o teor de lenhina total obtido para a réplica 1, do ensaio da borra de café inicial (antes de extracção do óleo) igualou o valor de:

$$\text{Lenhina Total}(\%) = \text{Lenhina Insolúvel}(\%) + \text{Lenhina Solúvel}(\%) = 30,45 + 1,58 = 32,02\%$$

Borra de café, após da extracção do óleo (final) - 2ª Réplica

A Tabela B.21 apresenta os resultados obtidos experimentalmente, para o cálculo do teor de lenhina insolúvel.

**Tabela B.21** - Ensaios experimentais efectuados, para a determinação do teor de lenhina insolúvel (2ª réplica – ensaio: Borra final).

| Ensaio | Tempo estufa (h) | Tempo exsicador (h) | m cadinho + papel + amostra (g) |
|--------|------------------|---------------------|---------------------------------|
| Início | 0                | 0                   | 31,7062                         |
| 1      | 24               | 0,5                 | 30,9869                         |
| 2      | 72               | 0,5                 | 30,9860                         |

Com os seguintes dados, o teor de lenhina insolúvel igualou o valor de:

$$\text{papel de filtro} + \text{cadinho} = 30,6577 \text{ g}$$

$$m_{\text{Borra café em base seca}} = 1,0485 \text{ g}$$

$$\text{Lenhina Insolúvel} = 31,31\%$$

Para o cálculo da lenhina solúvel, na Tabela B.22 apresentam-se as determinações efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis.

**Tabela B.22** - Leituras de absorvância, efectuadas no espectrofotómetro de UV-Vis, para a determinação do teor de lenhina solúvel (2ª réplica – ensaio: Borra final)

| Amostra       | Diluição | Abs ( $\lambda=205\text{nm}$ ) | Abs media |
|---------------|----------|--------------------------------|-----------|
| Branco (água) | 0        | 0                              | 0         |
| Ensaio 2a_1R  |          | 4                              |           |
| Ensaio 2a_2R  | 0        | 4                              | 4         |
| Ensaio 2a_3R  |          | 4                              |           |
| Ensaio 2b_1R  |          | 1,565                          |           |
| Ensaio 2b_2R  | 5x       | 1,559                          | 1,559     |
| Ensaio 2b_3R  |          | 1,559                          |           |
| Ensaio 2c_1R  |          | 0,190                          |           |
| Ensaio 2c_2R  | 50x      | 0,190                          | 0,191     |
| Ensaio 2c_3R  |          | 0,193                          |           |

Com uma massa de amostra de 1,0485g, um factor de diluição ( $f$ ) igual a 1/50, um volume de filtrado igual a 510mL e um factor de conversão ( $\varepsilon$ ), igual a 110dm<sup>3</sup>/g.cm, o teor de lenhina solúvel totaliza o valor de,

$$\text{Lenhina Solúvel}(\%) = 1,69\%$$

Logo o teor de lenhina total obtido para a réplica 1, do ensaio da borra de café inicial (antes de extracção do óleo) tomou o valor de:

$$\text{Lenhina Total}(\%) = \text{Lenhina Insolúvel}(\%) + \text{Lenhina Solúvel}(\%) = 33,0\%$$

Sendo a media de teores de lenhina total igual a 32,51%.

## **B.2. Produção de biodiesel**

Neste subcapítulo serão abordados todos os resultados obtidos na caracterização do óleo e dos métodos utilizados para a produção de biodiesel e respectivos exemplos de cálculo

### **B.2.1. Extração do óleo da borra de café**

Dos 31 ensaios efectuados, apenas será apresentado um exemplo de cada extração e os respectivos dados necessários para a sua compreensão.

Na tabela seguinte, a Tabela B.23 encontra-se um resumo de todos os dados obtidos experimentalmente para a avaliação do desempenho dos solventes na extração do óleo da borra de café.

**Tabela B.23** - Resultados obtidos para os diversos ensaios de extracção do óleo da borra de café.

| Ensaio | Solvente      | Réplica | tempo (s) | Massa Óleo Recuperada (g) | %oleo  | % Recuperação oleo | % Recuperação Solvente | % Recuperação Solvente media |
|--------|---------------|---------|-----------|---------------------------|--------|--------------------|------------------------|------------------------------|
| 1      | HEX:ISO - 5:5 | 1       | 14712     | 2,16                      | 20,61% | 21,54%             | 61,0%                  | 61,5%                        |
| 2      |               | 2       | 10984     | 2,46                      | 22,83% |                    | 67,0%                  |                              |
| 3      |               | 3       | 12231     | 1,31                      | 11,22% |                    | 34,0%                  |                              |
| 4      |               | 4       | 10258     | 2,47                      | 21,18% |                    | 62,0%                  |                              |
| 5      | HEX:ISO - 6:4 | 1       | 11261     | 2,44                      | 22,74% | 17,01%             | 61,0%                  | 61,5%                        |
| 6      |               | 2       | 11210     | 1,65                      | 15,55% |                    | 62,0%                  |                              |
| 7      |               | 3       | 9865      | 2,02                      | 17,54% |                    | 61,0%                  |                              |
| 8      |               | 4       | 13906     | 1,86                      | 17,93% |                    | 62,0%                  |                              |
| 8      | HEX:ISO - 7:3 | 1       | 10712     | 2,46                      | 22,10% | 20,69%             | 69,0%                  | 65,1%                        |
| 9      |               | 2       | 9952      | 2,26                      | 19,82% |                    | 64,5%                  |                              |
| 10     |               | 3       | 10796     | 3,00                      | 26,03% |                    | 64,0%                  |                              |
| 11     |               | 4       | 10289     | 1,77                      | 16,87% |                    | 66,0%                  |                              |
| 12     |               | 5       | 11121     | 2,04                      | 20,16% |                    | 66,0%                  |                              |
| 13     | HEX:ISO - 8:2 | 1       | 12473     | 2,03                      | 19,12% | 19,44%             | 57,5%                  | 59,9%                        |
| 14     |               | 2       | 7974      | 2,58                      | 18,61% |                    | 60,8%                  |                              |
| 15     |               | 3       | 8091      | 2,99                      | 20,18% |                    | 54,3%                  |                              |
| 16     |               | 4       | 8952      | 1,40                      | 13,84% |                    | 64,8%                  |                              |
| 17     |               | 5       | 7913      | 2,11                      | 19,86% |                    | 61,9%                  |                              |
| 18     | Hexano        | 1       | 6460      | 0,75                      | 6,34%  | 15,87%             | 66,0%                  | 66,0%                        |
| 19     |               | 2       | 8743      | 1,47                      | 16,17% |                    | 68,0%                  |                              |
| 20     |               | 3       | 9154      | 1,54                      | 14,07% |                    | 78,0%                  |                              |
| 21     |               | 4       | 12527     | 1,36                      | 15,57% |                    | 64,0%                  |                              |
| 22     | Isopropanol   | 1       | 19356     | 2,86                      | 28,25% | 20,97%             | 67,5%                  | 66,8%                        |
| 23     |               | 2       | 24462     | 2,29                      | 20,69% |                    | 66,0%                  |                              |
| 24     |               | 3       | 17433     | 2,25                      | 21,26% |                    | 74,0%                  |                              |
| 25     | Etanol        | 1       | 31246     | 2,62                      | 18,53% | 15,72%             | 48,0%                  | 61,3%                        |
| 26     |               | 2       | 27625     | 2,78                      | 24,95% |                    | 67,0%                  |                              |
| 27     |               | 3       | 26553     | 1,41                      | 12,92% |                    | 69,0%                  |                              |
| 28     | n-Octano      | 1       | 19154     | 2,85                      | 26,35% | 26,31%             | 58,0%                  | 62,0%                        |
| 29     |               | 2       | 49010     | 2,99                      | 26,27% |                    | 66,0%                  |                              |
| 30     | n-Heptano     | 1       | 42542     | 1,90                      | 17,81% | 18,44%             | 62,0%                  | 60,5%                        |
| 31     |               | 2       | 20342     | 2,08                      | 19,08% |                    | 59,0%                  |                              |

Extracção com hexano:isopropanol, nas proporções 5:5

Na extracção do óleo da borra de café, utilizando como solvente a mistura de hexano e isopropanol, nas proporções de 5 para 5 (v/v), foi possível extrair, em média, um teor de óleo de 21,54%, recuperando-se 61,5% do solvente aplicado.

A Tabela B.24 apresenta um pequeno exemplo dos resultados obtidos neste estudo, para a extracção com a mistura de hexano e isopropanol (5:5).

**Tabela B.24** - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado (hexano:isopropanol = 5:5 v/v).

| Composto            | Massa (g) | Volume (mL) | % recuperação |
|---------------------|-----------|-------------|---------------|
| Borra de café       | 10,4826   | ....        |               |
| Borra extraída      | 9,7139    | ....        |               |
| Óleo extraído       | 2,16      | ....        | 20,61%        |
| Solvente recuperado | ....      | 122         | 61,0%         |

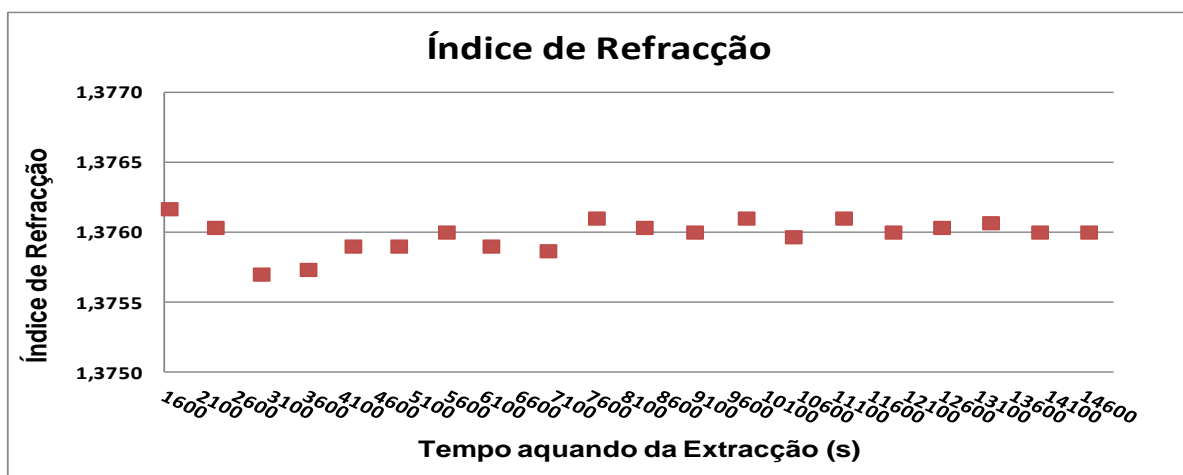
Exemplo de cálculo para o cálculo das percentagens de recuperação:

$$\text{Teor óleo}(\%) = \frac{m_{\text{Óleo}}}{m_{\text{Borra de café}}} \times 100 = \frac{2,16}{10,4826} \times 100 = 20,61\%$$

A percentagem de recuperação do óleo, tem sempre como base, um volume inicial de 200mL.

$$(\%) \text{Recuperação} = \frac{m_{\text{solventeRecuperado}}}{m_{\text{solventeInicial}}} \times 100 = \frac{122}{200} \times 100 = 61,0\%$$

A Figura B.3 representa a evolução do índice de refração da mistura solvente/óleo ao longo do processo de extracção.



**Figura B.3** - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, observado durante aproximadamente 4 horas de ensaio



A Tabela B.25 representa todos os resultados obtidos experimentalmente, ao longo do período de extracção, decorrido durante cerca de 4 horas.

Tabela B.25 - Resultados obtidos na extracção com hexano:isopropanol, nas proporções 5:5.

| tempo (s) | Andar | Índice Refracção           | Índice medio | T(°C)                | Tmedia (°C) |
|-----------|-------|----------------------------|--------------|----------------------|-------------|
| 1660      | 1     | 1,3762<br>1,3762<br>1,3761 | 1,3762       | 20,7<br>20,6<br>20,6 | 20,6        |
| 2312      | 2     | 1,3760<br>1,3760<br>1,3761 | 1,3760       | 20,7<br>20,6<br>20,5 | 20,6        |
| 2960      | 3     | 1,3757<br>1,3757<br>1,3757 | 1,3757       | 20,8<br>20,9<br>20,9 | 20,9        |
| 3622      | 4     | 1,3757<br>1,3758<br>1,3757 | 1,3757       | 21,1<br>21,0<br>20,9 | 21,0        |
| 4256      | 5     | 1,3759<br>1,3759<br>1,3759 | 1,3759       | 20,8<br>20,8<br>20,8 | 20,8        |
| 4903      | 6     | 1,3759<br>1,3759<br>1,3759 | 1,3759       | 20,9<br>20,9<br>20,7 | 20,8        |
| 5577      | 7     | 1,3760<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 20,9<br>20,9<br>21,0 | 20,9        |
| 6206      | 8     | 1,3759<br>1,3759<br>1,3759 | 1,3759       | 21,1<br>20,9<br>20,9 | 21,0        |
| 7012      | 9     | 1,3758<br>1,3759<br>1,3759 | 1,3759       | 21,0<br>20,9<br>20,8 | 20,9        |
| 7697      | 10    | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 20,9<br>20,8<br>20,8 | 20,8        |
| 8374      | 11    | 1,3760<br>1,3761<br>1,3760 | 1,3760       | 20,8<br>20,9<br>20,8 | 20,8        |
| 9084      | 12    | 1,3760<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,0<br>21,0<br>21,1 | 21,0        |
| 9813      | 13    | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,0<br>21,0<br>21,0 | 21,0        |
| 10479     | 14    | 1,3759<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,2<br>21,0<br>21,0 | 21,1        |
| 11189     | 15    | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 20,8<br>20,8<br>20,8 | 20,8        |
| 11888     | 16    | 1,3760<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,0<br>20,9<br>20,9 | 20,9        |
| 12574     | 17    | 1,3761<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 20,9<br>21,0<br>21,0 | 21,0        |
| 13266     | 18    | 1,3760<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,2<br>21,0<br>21,0 | 21,1        |
| 13959     | 19    | 1,3760<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,1<br>21,1<br>21,1 | 21,1        |
| 14652     | 20    | 1,3760<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,1<br>21,1<br>21,0 | 21,1        |

Extracção com hexano:isopropanol, nas proporções 6:4

Na extracção do óleo da borra de café, utilizando como solvente a mistura de hexano e isopropanol, nas proporções de 6 para 4 (v/v), foi possível extrair, em média, um teor de óleo de 17,01%, recuperando-se 61,5% do solvente aplicado.

A Tabela B.26 apresenta um pequeno exemplo dos resultados obtidos neste estudo, para a extracção com a mistura de hexano e isopropanol (6:4).

**Tabela B.26** - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado.

| Composto            | Massa (g) | Volume (mL) | % recuperação |
|---------------------|-----------|-------------|---------------|
| Borra de café       | 11,5188   | ....        |               |
| Borra extraída      | 10,9632   | ....        | 95,2%         |
| Óleo extraído       | 2,02      | ....        | 17,5%         |
| Solvente recuperado | ....      | 122         | 61,0%         |

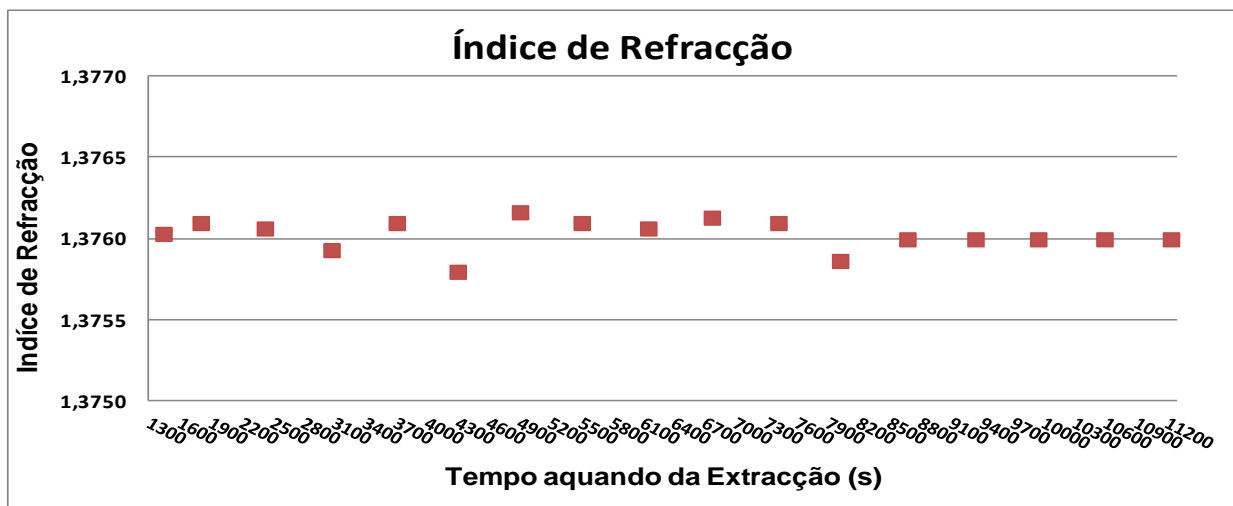
Exemplo de cálculo para o cálculo das percentagens de recuperação:

$$\text{Teor óleo}(\%) = \frac{m_{\text{Óleo}}}{m_{\text{Borradecafé}}} \times 100 = \frac{2,02}{11,5188} \times 100 = 17,5\%$$

A percentagem de recuperação do óleo, tem sempre como base, um volume inicial de 200mL.

$$(\%) \text{Recuperação} = \frac{m_{\text{solventeRecuperado}}}{m_{\text{solventeinicial}}} \times 100 = \frac{122}{200} \times 100 = 61,0\%$$

A Figura B.4 representa a evolução do índice de refração da mistura solvente/óleo ao longo do processo de extracção



**Figura B.4** - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, observado durante aproximadamente 3horas de ensaio

A Tabela B.27 demonstra todos os resultados obtidos experimentalmente, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante cerca de 3 horas.

Tabela B.27 - Resultados obtidos na extracção com hexano:isopropanol, nas proporções 6:4.

| tempo (s) | Andar | Índice Refracção           | Índice medio | T(°C)                | Tmedia (°C) |
|-----------|-------|----------------------------|--------------|----------------------|-------------|
| 1442      | 1     | 1,3760<br>1,3761<br>1,3760 | 1,3760       | 20,6<br>20,7<br>20,6 | 20,6        |
| 1804      | 2     | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,1<br>20,9<br>21,0 | 21,0        |
| 2428      | 3     | 1,3761<br>1,3761<br>1,3760 | 1,3761       | 20,9<br>21,1<br>21,2 | 21,2        |
| 3076      | 4     | 1,3760<br>1,3759<br>1,3759 | 1,3759       | 21,1<br>21,1<br>21,1 | 21,1        |
| 3711      | 5     | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,2<br>21,2<br>21,1 | 21,2        |
| 4303      | 6     | 1,3758<br>1,3758<br>1,3758 | 1,3758       | 21,0<br>21,0<br>21,2 | 21,0        |
| 4909      | 7     | 1,3761<br>1,3762<br>1,3762 | 1,3762       | 20,9<br>20,9<br>20,8 | 20,9        |
| 5509      | 8     | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,3<br>20,8<br>20,8 | 20,8        |
| 6156      | 9     | 1,3760<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,0<br>20,9<br>20,8 | 20,9        |
| 6775      | 10    | 1,3761<br>1,3761<br>1,3762 | 1,3761       | 20,9<br>20,8<br>20,7 | 20,8        |
| 7422      | 11    | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 20,9<br>20,9<br>20,8 | 20,9        |
| 8022      | 12    | 1,3759<br>1,3759<br>1,3758 | 1,3759       | 21,5<br>21,4<br>21,3 | 21,4        |
| 8676      | 13    | 1,3760<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,1<br>21,1<br>21,1 | 21,1        |
| 9338      | 14    | 1,3760<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,5<br>21,2<br>21,2 | 21,2        |
| 9948      | 15    | 1,3760<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,3<br>21,2<br>21,2 | 21,2        |
| 10592     | 16    | 1,3760<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,3<br>21,2<br>21,5 | 21,3        |
| 11239     | 17    | 1,3760<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,2<br>21,3<br>21,2 | 21,3        |

Extracção com hexano:isopropanol, nas proporções 7:3

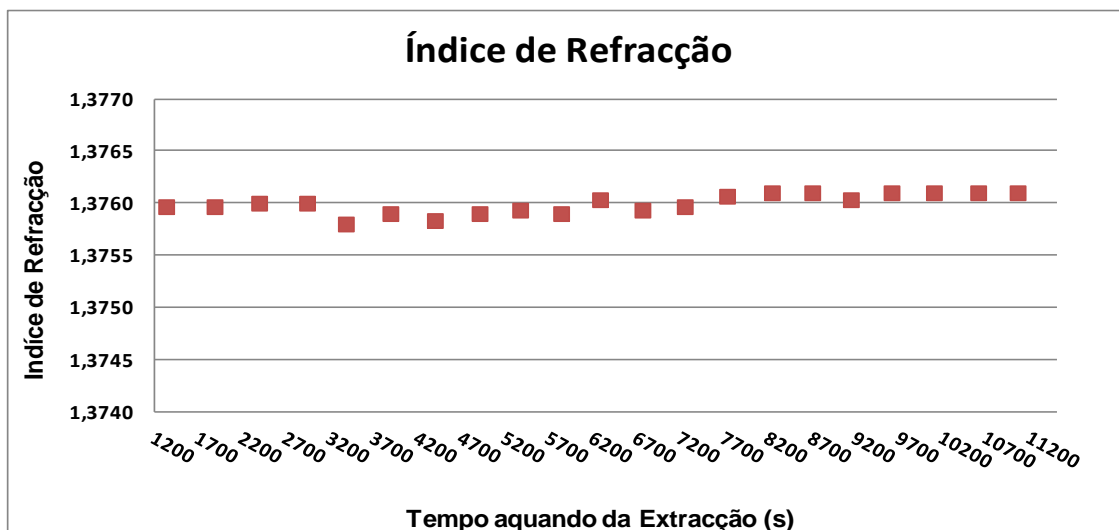
Na extracção do óleo da borra de café, utilizando como solvente a mistura de hexano e isopropanol, nas proporções de 7 para 3(v/v), foi possível extrair, em média, um teor de óleo de 20,69%, recuperando-se 65,1% do solvente aplicado, no entanto, este óleo apresentava uma tendência para solidificar.

A Tabela B.28 apresenta um pequeno exemplo dos resultados obtidos neste estudo, para a extracção com a mistura de hexano e isopropanol (7:3).

**Tabela B.28** - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado.

| Composto            | Massa (g) | Volume (mL) | % recuperação |
|---------------------|-----------|-------------|---------------|
| Borra de café       | 10,1184   | ....        |               |
| Borra extraída      | 10,0139   | ....        |               |
| Óleo extraído       | 2,04      | ....        | 20,16%        |
| Solvente recuperado | ....      | 132         | 66,0%         |

A Figura B.5 representa a evolução do índice de refração da mistura solvente/óleo ao longo do processo de extracção.



**Figura B.5** - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, observado durante aproximadamente 3 horas de ensaio.

A Tabela B.29 apresenta todos os resultados obtidos experimentalmente, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante cerca de 3 horas.

**Tabela B.29** - Resultados obtidos na extração com hexano:isopropanol, nas proporções 7:3.

| tempo (s) | Contacto | Índice Refracção           | Índice medio | T(°C)                | Tmedia (°C) |
|-----------|----------|----------------------------|--------------|----------------------|-------------|
| 1337      | 1        | 1,3759<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,5<br>21,4<br>21,4 | 21,4        |
| 1889      | 2        | 1,3759<br>1,376<br>1,376   | 1,3760       | 21,3<br>21,2<br>21,2 | 21,2        |
| 2398      | 3        | 1,376<br>1,376<br>1,376    | 1,3760       | 21,4<br>21,3<br>21,2 | 21,3        |
| 2945      | 4        | 1,376<br>1,376<br>1,376    | 1,3760       | 21,6<br>21,5<br>21,4 | 21,5        |
| 3388      | 5        | 1,3757<br>1,3758<br>1,3759 | 1,3758       | 21,6<br>21,5<br>21,4 | 21,5        |
| 3896      | 6        | 1,3759<br>1,3759<br>1,3759 | 1,3759       | 21,6<br>21,5<br>21,5 | 21,5        |
| 4404      | 7        | 1,3758<br>1,3758<br>1,3759 | 1,3758       | 21,6<br>21,6<br>21,6 | 21,6        |
| 4914      | 8        | 1,3759<br>1,3759<br>1,3759 | 1,3759       | 21,8<br>21,7<br>21,6 | 21,7        |
| 5377      | 9        | 1,376<br>1,3759<br>1,3759  | 1,3759       | 21,6<br>21,5<br>21,5 | 21,5        |
| 5845      | 10       | 1,3759<br>1,3759<br>1,3759 | 1,3759       | 21,5<br>21,5<br>21,5 | 21,5        |
| 6289      | 11       | 1,376<br>1,376<br>1,3761   | 1,3760       | 21,8<br>21,7<br>21,7 | 21,7        |
| 6773      | 12       | 1,3759<br>1,3759<br>1,376  | 1,3759       | 21,7<br>21,7<br>21,6 | 21,7        |
| 7256      | 13       | 1,3759<br>1,3760<br>1,3760 | 1,3760       | 21,8<br>21,8<br>21,7 | 21,8        |
| 7739      | 14       | 1,3760<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,5<br>21,5<br>21,5 | 21,5        |
| 8251      | 15       | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,6<br>21,6<br>21,6 | 21,6        |
| 8711      | 16       | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,6<br>21,6<br>21,5 | 21,6        |
| 9152      | 17       | 1,3760<br>1,3761<br>1,3760 | 1,3760       | 21,8<br>21,7<br>21,8 | 21,8        |
| 9616      | 18       | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,6<br>21,6<br>21,6 | 21,6        |
| 10100     | 19       | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,8<br>21,8<br>21,7 | 21,8        |
| 10605     | 20       | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,8<br>21,7<br>21,7 | 21,7        |
| 11055     | 21       | 1,3761<br>1,3761<br>1,3761 | 1,3761       | 21,5<br>21,5<br>21,5 | 21,5        |

Extracção com hexano:isopropanol, nas proporções 8:2

Na extracção do óleo da borra de café, utilizando como solvente a mistura de hexano e isopropanol, nas proporções de 8 para 2 (v/v), foi possível extrair, em média, um teor de óleo de 19,44%, recuperando-se 59,9% do solvente aplicado, no entanto, tal como o óleo anterior, este óleo apresentava uma tendência para solidificar.

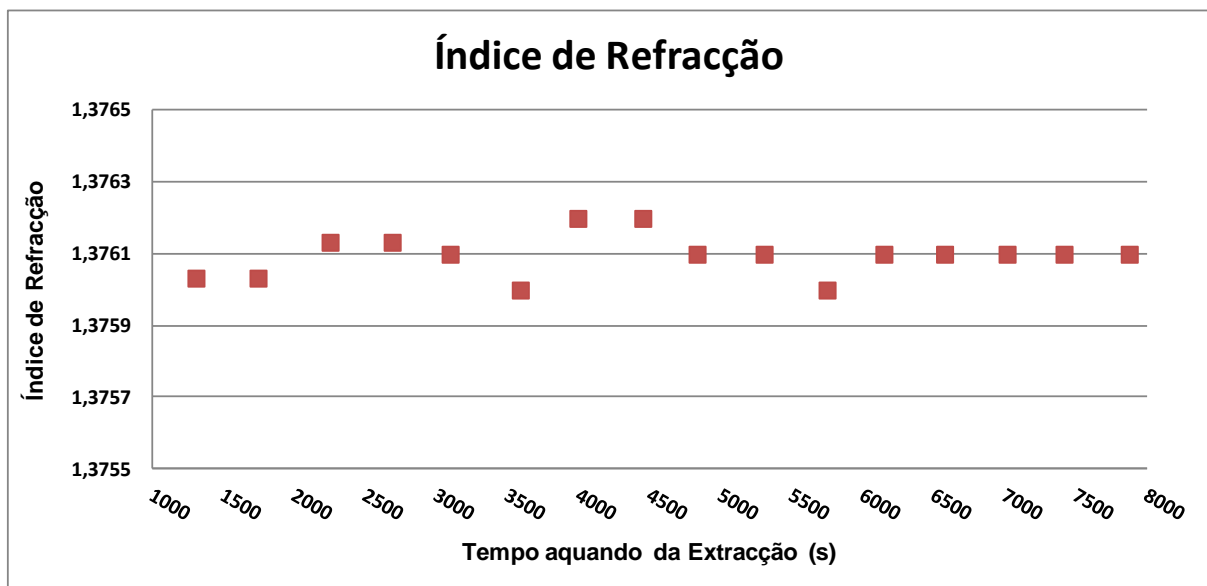
A Tabela B.30 apresenta um pequeno exemplo dos resultados obtidos neste estudo, para a extracção com a mistura de hexano e isopropanol (8:2).

**Tabela B.30** - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado.

| Composto            | Massa (g) | Volume (mL) | % recuperação |
|---------------------|-----------|-------------|---------------|
| Borra de café       | 10,6229   | ....        |               |
| Borra extraída      | 10,0622   | ....        |               |
| Óleo extraído       | 2,11      | ....        | 19,86%        |
| Solvente recuperado | ....      | 130         | 62%           |

Para o cálculo do teor de óleo e da percentagem de recuperação, o cálculo adoptado é o mesmo que os ensaios anteriores.

A Figura B.6 representa a evolução do índice de refracção da mistura solvente/óleo ao longo do processo de extracção.



**Figura B.6** - Variação do índice de refracção, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante aproximadamente 2,2horas de ensaio.

A Tabela B.31 apresenta todos os resultados obtidos experimentalmente, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante cerca de 2,2 horas.



**Tabela B.31** - Resultados obtidos na extração com hexano:isopropanol, nas proporções 8:2.

| tempo (s) | Contacto | Índice Refracção | Índice medio | T(°C) | Tmedia (°C) |
|-----------|----------|------------------|--------------|-------|-------------|
| 1303      | 1        | 1,3760           | 1,3760       | 21,9  | 21,9        |
|           |          | 1,3760           |              | 21,9  |             |
|           |          | 1,3761           |              | 21,9  |             |
| 1740      | 2        | 1,3760           | 1,3760       | 21,6  | 21,5        |
|           |          | 1,3760           |              | 21,6  |             |
|           |          | 1,3761           |              | 21,4  |             |
| 2247      | 3        | 1,3761           | 1,3761       | 21,5  | 21,4        |
|           |          | 1,3761           |              | 21,4  |             |
|           |          | 1,3762           |              | 21,4  |             |
| 2684      | 4        | 1,3761           | 1,3761       | 21,6  | 21,5        |
|           |          | 1,3761           |              | 21,5  |             |
|           |          | 1,3762           |              | 21,4  |             |
| 3092      | 5        | 1,3761           | 1,3761       | 21,5  | 21,4        |
|           |          | 1,3761           |              | 21,4  |             |
|           |          | 1,3761           |              | 21,4  |             |
| 3586      | 6        | 1,3760           | 1,3760       | 21,6  | 21,6        |
|           |          | 1,3760           |              | 21,6  |             |
|           |          | 1,3760           |              | 21,5  |             |
| 3991      | 7        | 1,3762           | 1,3762       | 21,6  | 21,5        |
|           |          | 1,3762           |              | 21,5  |             |
|           |          | 1,3762           |              | 21,4  |             |
| 4448      | 8        | 1,3762           | 1,3762       | 21,4  | 21,4        |
|           |          | 1,3762           |              | 21,4  |             |
|           |          | 1,3762           |              | 21,4  |             |
| 4830      | 9        | 1,3761           | 1,3761       | 21,6  | 21,6        |
|           |          | 1,3761           |              | 21,6  |             |
|           |          | 1,3761           |              | 21,6  |             |
| 5302      | 10       | 1,3761           | 1,3761       | 21,7  | 21,6        |
|           |          | 1,3761           |              | 21,6  |             |
|           |          | 1,3761           |              | 21,6  |             |
| 5745      | 11       | 1,376            | 1,3760       | 21,5  | 21,5        |
|           |          | 1,376            |              | 21,5  |             |
|           |          | 1,376            |              | 21,5  |             |
| 6145      | 12       | 1,3761           | 1,3761       | 21,8  | 21,6        |
|           |          | 1,3761           |              | 21,6  |             |
|           |          | 1,3761           |              | 21,5  |             |
| 6572      | 13       | 1,3761           | 1,3761       | 21,3  | 21,3        |
|           |          | 1,3761           |              | 21,3  |             |
|           |          | 1,3761           |              | 21,3  |             |
| 7012      | 14       | 1,3761           | 1,3761       | 21,6  | 21,6        |
|           |          | 1,3761           |              | 21,6  |             |
|           |          | 1,3761           |              | 21,6  |             |
| 7413      | 15       | 1,3761           | 1,3761       | 21,5  | 21,5        |
|           |          | 1,3761           |              | 21,5  |             |
|           |          | 1,3761           |              | 21,5  |             |
| 7872      | 16       | 1,3761           | 1,3761       | 21,6  | 21,6        |
|           |          | 1,3761           |              | 21,6  |             |
|           |          | 1,3761           |              | 21,6  |             |

Extracção com hexano

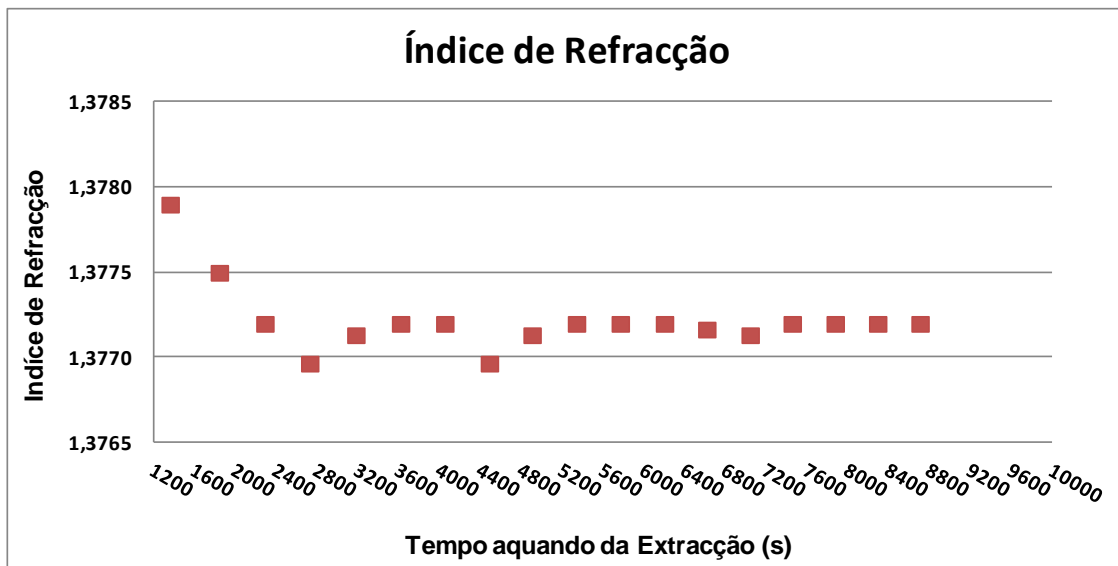
Na extracção do óleo da borra de café, utilizando como solvente o hexano, foi possível extrair, em média, um teor de óleo de 15,87%, recuperando-se 66,0% do solvente aplicado. A Tabela B.32 apresenta um pequeno exemplo dos resultados obtidos neste estudo, para a extracção com o hexano.

**Tabela B.32** - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado

| Composto            | Massa (g) | Volume (mL) | % recuperação |
|---------------------|-----------|-------------|---------------|
| Borra de café       | 9,0925    | ....        |               |
| Borra extraída      | 8,7586    | ....        |               |
| Óleo extraído       | 1,47      | ....        | 16,2%         |
| Solvente recuperado | ....      | 136         | 68,0%         |

Para o cálculo do teor de óleo e da percentagem de recuperação, o cálculo adoptado foi o mesmo que os ensaios anteriores.

A Figura B.7 representa a evolução do índice de refração da mistura solvente/óleo ao longo do processo de extracção.



**Figura B.7** - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante aproximadamente 2,4 horas de ensaio

A Tabela B.33 resume todos os resultados obtidos experimentalmente, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante cerca de 2,4 horas.

Tabela B.33 - Resultados obtidos na extração com hexano.

| tempo (s) | Andar | Índice Refracção | Índice medio | T(°C) | Tmedia (°C) |
|-----------|-------|------------------|--------------|-------|-------------|
| 1364      | 1     | 1,3779           | 1,3779       | 20,7  | 20,9        |
|           |       | 1,3779           |              | 20,9  |             |
|           |       | 1,3779           |              | 20,9  |             |
| 1846      | 2     | 1,3771           | 1,3775       | 21,2  | 21,1        |
|           |       | 1,3775           |              | 21,1  |             |
|           |       | 1,3775           |              | 21,0  |             |
| 2292      | 3     | 1,3775           | 1,3772       | 21,1  | 21,1        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,1  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
| 2731      | 4     | 1,3769           | 1,3770       | 21,2  | 21,2        |
|           |       | 1,377            |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,377            |              | 21,2  |             |
| 3183      | 5     | 1,3771           | 1,3771       | 21,2  | 21,1        |
|           |       | 1,3771           |              | 21,0  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,0  |             |
| 3621      | 6     | 1,3772           | 1,3772       | 21,1  | 21,1        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,1  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,1  |             |
| 4054      | 7     | 1,3772           | 1,3772       | 21,2  | 21,2        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,0  |             |
| 4491      | 8     | 1,3769           | 1,3770       | 21,4  | 21,2        |
|           |       | 1,3770           |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,3770           |              | 21,2  |             |
| 4909      | 9     | 1,3770           | 1,3771       | 21,3  | 21,2        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,1  |             |
| 5344      | 10    | 1,3772           | 1,3772       | 21,4  | 21,2        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
| 5773      | 11    | 1,3772           | 1,3772       | 21,2  | 21,2        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,1  |             |
| 6206      | 12    | 1,3772           | 1,3772       | 21,2  | 21,2        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
| 6620      | 13    | 1,3771           | 1,3772       | 21,2  | 21,2        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,1  |             |
| 7045      | 14    | 1,3770           | 1,3771       | 21,3  | 21,2        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
| 7457      | 15    | 1,3772           | 1,3772       | 21,2  | 21,2        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,0  |             |
| 7878      | 16    | 1,3772           | 1,3772       | 21,4  | 21,2        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
| 8294      | 17    | 1,3772           | 1,3772       | 21,3  | 21,3        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,2  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 21,3  |             |
| 8709      | 18    | 1,3772           | 1,3772       | 21,2  | 21,0        |
|           |       | 1,3772           |              | 21,0  |             |
|           |       | 1,3772           |              | 20,9  |             |

Extracção com Isopropanol

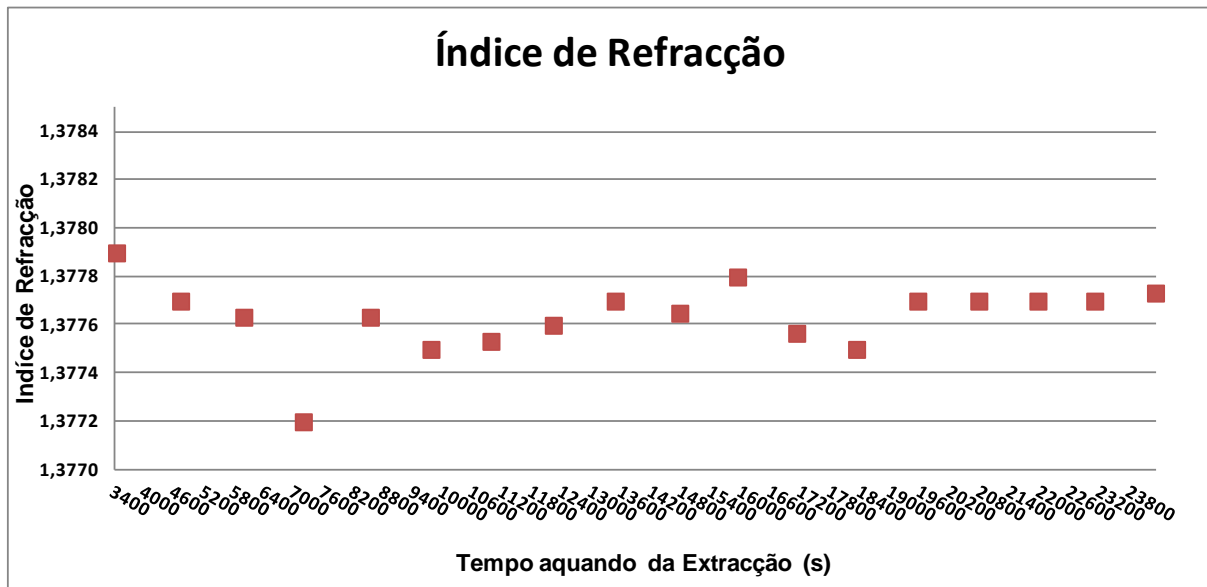
Na extracção do óleo da borra de café, utilizando como solvente o isopropanol, foi possível extrair, em média, um teor de óleo de 15,87%, recuperando-se 66,0% do solvente aplicado. A Tabela B.34 apresenta um pequeno exemplo dos resultados obtidos neste estudo, para a extracção com o isopropanol.

**Tabela B.34** - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado.

| Composto            | Massa (g) | Volume (mL) | % recuperação |
|---------------------|-----------|-------------|---------------|
| Borra de café       | 11,0697   | ....        |               |
| Borra extraída      | 10,4496   | ....        |               |
| Óleo extraído       | 2,29      | ....        | 20,7%         |
| Solvente recuperado | ....      | 132         | 66,0%         |

Para o cálculo do teor de óleo e da percentagem de recuperação, o cálculo adoptado é o mesmo que os ensaios anteriores.

A Figura B.8 representa a evolução do índice de refração da mistura solvente/óleo ao longo do processo de extracção



**Figura B.8** - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante aproximadamente 6,7 horas de ensaio.

A Tabela B.35 resume todos os resultados obtidos experimentalmente, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante cerca de 6,7 horas.

Tabela B.35 – Resultados obtidos na extracção com isopropanol.

| tempo (s) | Andar | Índice Refracção           | Índice Médio | T(°C)                | Tmedia (°C) |
|-----------|-------|----------------------------|--------------|----------------------|-------------|
| 3426      | 1     | 1,3779<br>1,3779<br>1,3779 | 1,3779       | 21,4<br>21,4<br>21,5 | 21,4        |
| 4712      | 2     | 1,3777<br>1,3777<br>1,3777 | 1,3777       | 21,8<br>21,7<br>21,6 | 21,7        |
| 5980      | 3     | 1,3777<br>1,3777<br>1,3775 | 1,3776       | 21,9<br>21,8<br>21,8 | 21,8        |
| 7175      | 4     | 1,3772<br>1,3772<br>1,3772 | 1,3772       | 21,9<br>21,8<br>21,8 | 21,9        |
| 8521      | 5     | 1,3775<br>1,3777<br>1,3777 | 1,3776       | 21,6<br>21,5<br>21,5 | 21,5        |
| 9737      | 6     | 1,3775<br>1,3775<br>1,3775 | 1,3775       | 21,8<br>21,6<br>21,6 | 21,6        |
| 10941     | 7     | 1,3775<br>1,3775<br>1,3776 | 1,3775       | 21,8<br>21,8<br>21,6 | 21,7        |
| 12193     | 8     | 1,3776<br>1,3776<br>1,3776 | 1,3776       | 21,6<br>21,6<br>21,5 | 21,6        |
| 13436     | 9     | 1,3777<br>1,3777<br>1,3777 | 1,3777       | 21,5<br>21,6<br>21,6 | 21,6        |
| 14731     | 10    | 1,3776<br>1,3776<br>1,3777 | 1,3777       | 21,7<br>21,6<br>21,6 | 21,6        |
| 15892     | 11    | 1,3778<br>1,3778<br>1,3778 | 1,3778       | 21,5<br>21,5<br>21,4 | 21,5        |
| 17078     | 12    | 1,3777<br>1,3775<br>1,3775 | 1,3776       | 21,7<br>21,8<br>21,6 | 21,8        |
| 18280     | 13    | 1,3775<br>1,3775<br>1,3775 | 1,3775       | 21,7<br>21,8<br>21,6 | 21,7        |
| 19508     | 14    | 1,3777<br>1,3777<br>1,3777 | 1,3777       | 21,8<br>21,7<br>21,7 | 21,7        |
| 20733     | 15    | 1,3777<br>1,3777<br>1,3777 | 1,3777       | 21,5<br>21,4<br>21,6 | 21,5        |
| 21920     | 16    | 1,3775<br>1,3777<br>1,3777 | 1,3777       | 21,7<br>21,7<br>21,6 | 21,7        |
| 23060     | 17    | 1,3777<br>1,3777<br>1,3777 | 1,3777       | 21,8<br>21,6<br>21,6 | 21,7        |
| 24280     | 18    | 1,3777<br>1,3777<br>1,3778 | 1,3777       | 21,7<br>21,8<br>21,8 | 21,8        |

Extracção com Etanol

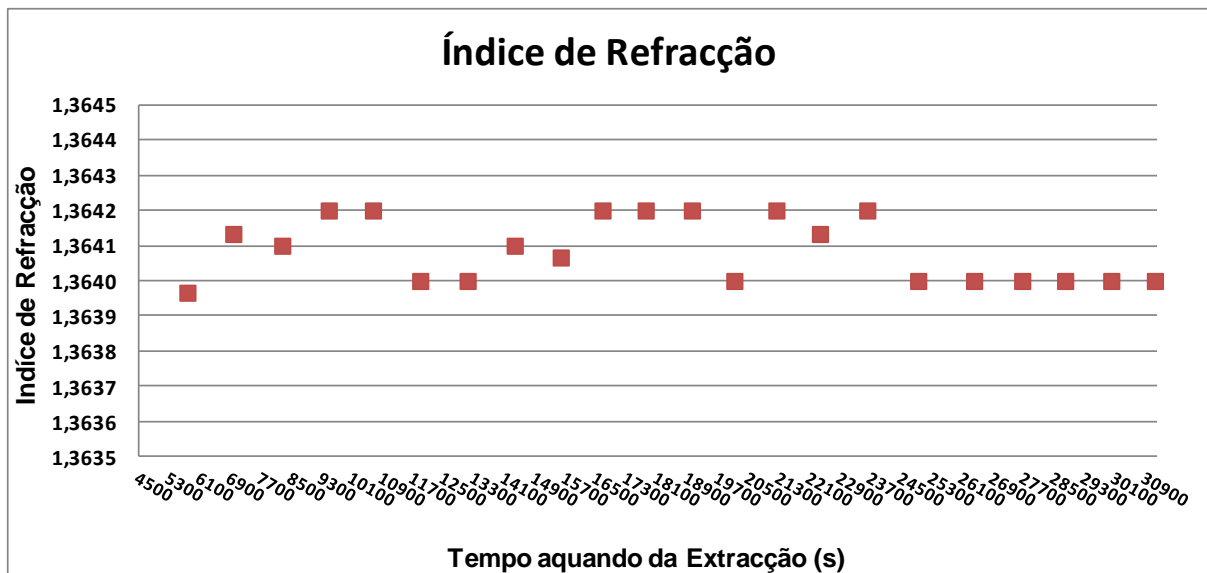
Na extracção do óleo da borra de café, utilizando como solvente o etanol, foi possível extrair, em média, um teor de óleo de 15,72%, recuperando-se 61,3% do solvente aplicado. A Tabela B.36 apresenta um pequeno exemplo dos resultados obtidos neste estudo, para a extracção com o etanol.

**Tabela B.36** - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado.

| Composto            | Massa (g) | Volume (mL) | % recuperação |
|---------------------|-----------|-------------|---------------|
| Borra de café       | 14,1374   | ....        |               |
| Borra extraída      | 13,2146   | ....        |               |
| Óleo extraído       | 2,62      | ....        | 18,5%         |
| Solvente recuperado | ....      | 96          | 48,0%         |

Para o cálculo do teor de óleo e da percentagem de recuperação, o cálculo adoptado é o mesmo que os ensaios anteriores.

A Figura B.9 representa a evolução do índice de refração da mistura solvente/óleo ao longo do processo de extracção



**Figura B.9** - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante aproximadamente 8,6 horas de ensaio

A Tabela B.37 resume todos os resultados obtidos experimentalmente, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante cerca de 8,6 horas.

Tabela B.37 - Resultados obtidos na extração com etanol.

| tempo (s) | Andar | Índice Refracção           | Índice medio | T(°C)                | Tmedia (°C) |
|-----------|-------|----------------------------|--------------|----------------------|-------------|
| 4622      | 1     | 1,3650<br>1,3650<br>1,3650 | 1,3650       | 20,8<br>20,7<br>20,8 | 20,8        |
| 5769      | 2     | 1,3639<br>1,3640<br>1,3640 | 1,3640       | 20,8<br>20,8<br>20,8 | 20,8        |
| 6972      | 3     | 1,3641<br>1,3641<br>1,3642 | 1,3641       | 20,8<br>20,8<br>20,8 | 20,8        |
| 8255      | 4     | 1,3642<br>1,3642<br>1,3639 | 1,3641       | 21,3<br>21,3<br>21,1 | 21,2        |
| 9474      | 5     | 1,3642<br>1,3642<br>1,3642 | 1,3642       | 21,0<br>20,8<br>20,6 | 20,8        |
| 10633     | 6     | 1,3642<br>1,3642<br>1,3642 | 1,3642       | 20,5<br>20,5<br>20,6 | 20,5        |
| 11872     | 7     | 1,3640<br>1,3640<br>1,3640 | 1,3640       | 20,9<br>20,9<br>20,9 | 20,9        |
| 13114     | 8     | 1,3640<br>1,3640<br>1,3640 | 1,3640       | 21,2<br>20,5<br>20,5 | 20,7        |
| 14349     | 9     | 1,3640<br>1,3641<br>1,3642 | 1,3641       | 20,8<br>20,8<br>20,6 | 20,7        |
| 15555     | 10    | 1,3640<br>1,3640<br>1,3642 | 1,3641       | 20,8<br>20,8<br>20,7 | 20,8        |
| 16650     | 11    | 1,3642<br>1,3642<br>1,3642 | 1,3642       | 20,7<br>20,6<br>20,5 | 20,6        |
| 17782     | 12    | 1,3642<br>1,3642<br>1,3642 | 1,3642       | 21,1<br>20,9<br>20,8 | 20,9        |
| 18993     | 13    | 1,3642<br>1,3642<br>1,3642 | 1,3642       | 20,5<br>20,6<br>20,6 | 20,6        |
| 20106     | 14    | 1,3640<br>1,3640<br>1,3640 | 1,3640       | 21,0<br>20,7<br>20,6 | 20,8        |
| 21208     | 15    | 1,3642<br>1,3642<br>1,3642 | 1,3642       | 20,6<br>20,6<br>20,5 | 20,6        |
| 22350     | 16    | 1,364<br>1,3642<br>1,3642  | 1,3641       | 20,9<br>20,6<br>20,5 | 20,7        |
| 23590     | 17    | 1,3642<br>1,3642<br>1,3642 | 1,3642       | 20,7<br>20,5<br>20,7 | 20,6        |
| 24925     | 18    | 1,3640<br>1,3640<br>1,3640 | 1,3640       | 20,7<br>20,7<br>20,7 | 20,7        |
| 26391     | 19    | 1,3640<br>1,3640<br>1,3640 | 1,3640       | 20,8<br>20,6<br>20,7 | 20,7        |
| 27652     | 20    | 1,3640<br>1,3640<br>1,3640 | 1,3640       | 20,8<br>20,8<br>20,8 | 20,8        |
| 28777     | 21    | 1,3640<br>1,3640<br>1,3640 | 1,3640       | 20,8<br>20,8<br>20,8 | 20,8        |
| 29986     | 22    | 1,3640<br>1,3640<br>1,3640 | 1,3640       | 20,8<br>20,8<br>20,8 | 20,8        |
| 31130     | 23    | 1,3640<br>1,3640<br>1,3640 | 1,3640       | 21,2<br>21,0<br>20,8 | 21,0        |

Extracção com n-Octano

Na extracção do óleo da borra de café, utilizando como solvente o etanol, foi possível extrair, em média, um teor de óleo de 26,31%, recuperando-se 62% do solvente aplicado.

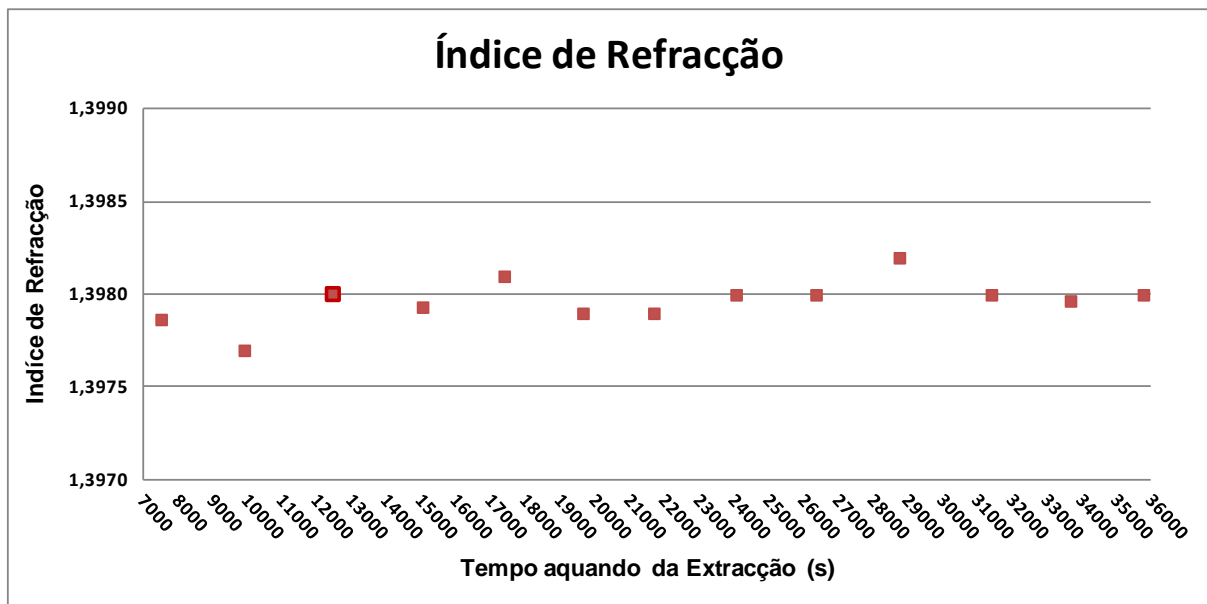
A Tabela B.38 apresenta um pequeno exemplo dos resultados obtidos neste estudo, para a extracção com o n-octano.

**Tabela B.38** - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado

| Composto            | Massa (g) | Volume (mL) | % recuperação |
|---------------------|-----------|-------------|---------------|
| Borra de café       | 11,3817   | ...         |               |
| Borra extraída      | 11,4166   | ...         |               |
| Óleo extraído       | 2,99      | ...         | 26,3%         |
| Solvente recuperado | ...       | 132         | 66,0%         |

Para o cálculo do teor de óleo e da percentagem de recuperação, o cálculo adoptado é o mesmo que os ensaios anteriores.

A Figura B.10 representa a evolução do índice de refração da mistura solvente/óleo ao longo do processo de extracção.



**Figura B.10** - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante aproximadamente 14 horas de ensaio

A Tabela B.39 resume todos os resultados obtidos experimentalmente, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante cerca de 14 horas.



Tabela B.39 - Resultados obtidos na extração com n-Octano.

| tempo (s) | Contacto | Índice Refracção           | Índice medio | T(°C)                | Tmedia (°C) |
|-----------|----------|----------------------------|--------------|----------------------|-------------|
| 7494      | 1        | 1,3978<br>1,3979<br>1,3979 | 1,3979       | 21,7<br>21,7<br>21,5 | 21,6        |
| 9886      | 2        | 1,3977<br>1,3977<br>1,3977 | 1,3977       | 21,8<br>21,9<br>21,8 | 21,8        |
| 12470     | 3        | 1,3979<br>1,398<br>1,398   | 1,3980       | 21,8<br>21,6<br>21,6 | 21,7        |
| 15013     | 4        | 1,3979<br>1,3979<br>1,398  | 1,3979       | 21,8<br>21,6<br>21,5 | 21,6        |
| 17361     | 5        | 1,3981<br>1,3981<br>1,3981 | 1,3981       | 21,5<br>21,5<br>21,6 | 21,5        |
| 19625     | 6        | 1,3979<br>1,3979<br>1,3979 | 1,3979       | 21,8<br>21,5<br>21,6 | 21,6        |
| 21664     | 7        | 1,3979<br>1,3979<br>1,3979 | 1,3979       | 21,9<br>21,9<br>21,7 | 21,9        |
| 24030     | 8        | 1,3980<br>1,3980<br>1,3980 | 1,3980       | 21,8<br>21,8<br>21,8 | 21,8        |
| 26329     | 9        | 1,3980<br>1,398<br>1,398   | 1,3980       | 21,7<br>21,7<br>21,6 | 21,7        |
| 28726     | 10       | 1,3982<br>1,3982<br>1,3982 | 1,3982       | 21,3<br>21,3<br>21,3 | 21,3        |
| 31373     | 11       | 1,398<br>1,398<br>1,398    | 1,3980       | 21,5<br>21,5<br>21,5 | 21,5        |
| 33648     | 12       | 1,3979<br>1,3980<br>1,3980 | 1,3980       | 22,1<br>22,1<br>22   | 22,1        |
| 35744     | 13       | 1,3980<br>1,3980<br>1,3980 | 1,3980       | 22,1<br>22,1<br>22,1 | 22,1        |
| 37810     | 14       | 1,398<br>1,398<br>1,398    | 1,3980       | 22,3<br>22,1<br>22,2 | 22,2        |
| 39881     | 15       | 1,3978<br>1,3978<br>1,3978 | 1,3978       | 22,5<br>22,5<br>22,3 | 22,4        |
| 42047     | 16       | 1,3979<br>1,3980<br>1,3980 | 1,3980       | 22,3<br>22,4<br>22,4 | 22,4        |
| 44170     | 17       | 1,398<br>1,398<br>1,398    | 1,3980       | 22,3<br>22,2<br>22,2 | 22,2        |
| 46345     | 18       | 1,398<br>1,3980<br>1,3980  | 1,3980       | 22<br>22,2<br>22,1   | 22,1        |
| 48027     | 19       | 1,3980<br>1,3980<br>1,3980 | 1,3980       | 22,1<br>22,1<br>22,2 | 22,1        |
| 50727     | 20       | 1,3980<br>1,3980<br>1,3980 | 1,3980       | 22,1<br>22,1<br>22,1 | 22,1        |

Extracção com n-Heptano

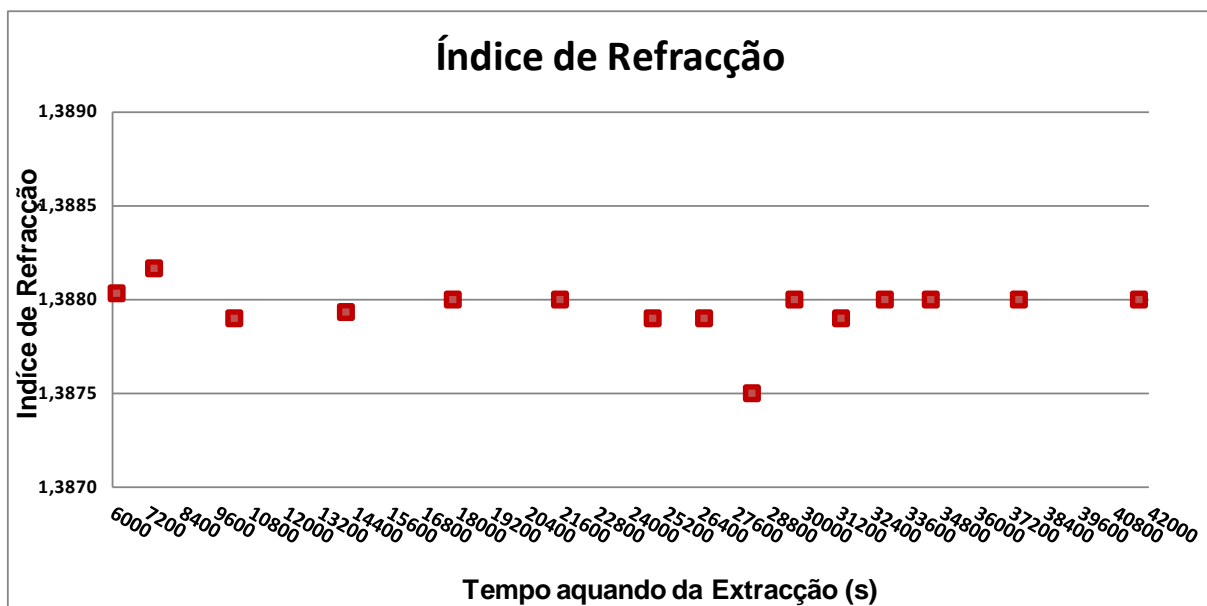
Na extracção do óleo da borra de café, utilizando como solvente o etanol, foi possível extrair, em média, um teor de óleo de 18,44%, recuperando-se 60,5% do solvente aplicado. A Tabela B.40 apresenta um pequeno exemplo dos resultados obtidos neste estudo, para a extracção com o n-heptano.

**Tabela B.40** - Massa de amostra (borra de café) utilizada e respectivos resultados calculados para a percentagem de recuperação do óleo e do solvente utilizado

| Composto            | Massa (g) | Volume (mL) | % recuperação |
|---------------------|-----------|-------------|---------------|
| Borra de café       | 10,6672   | ...         |               |
| Borra extraída      | 10,3644   | ...         |               |
| Óleo extraído       | 1,90      | ...         | 17,8%         |
| Solvente recuperado | ...       | 124         | 62,0%         |

Para o cálculo do teor de óleo e da percentagem de recuperação, o cálculo adoptado é o mesmo que os ensaios anteriores.

A Figura B.11 representa a evolução do índice de refração da mistura solvente/óleo ao longo do processo de extracção.



**Figura B.11** - Variação do índice de refração, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante aproximadamente 11,6 horas de ensaio

A Tabela B.41 resume todos os resultados obtidos experimentalmente, ao longo do tempo de extracção, decorrido durante cerca de 11,6 horas.

**Tabela B.41** - Resultados obtidos na extração com n-Heptano.

| tempo (s) | Contacto | Índice Refracção | Índice medio | T(°C) | Tmedia (°C) |
|-----------|----------|------------------|--------------|-------|-------------|
| 6123      | 1        | 1,3880           | 1,3880       | 21,5  | 21,5        |
|           |          | 1,3881           |              | 21,5  |             |
|           |          | 1,3880           |              | 21,6  |             |
| 7423      | 2        | 1,3882           | 1,3882       | 21,5  | 21,5        |
|           |          | 1,3882           |              | 21,4  |             |
|           |          | 1,3881           |              | 21,6  |             |
| 10208     | 3        | 1,3879           | 1,3879       | 21,8  | 21,7        |
|           |          | 1,3879           |              | 21,7  |             |
|           |          | 1,3879           |              | 21,7  |             |
| 14084     | 4        | 1,3879           | 1,3879       | 22,0  | 21,9        |
|           |          | 1,3879           |              | 22,0  |             |
|           |          | 1,3880           |              | 21,8  |             |
| 17794     | 5        | 1,3880           | 1,3880       | 21,8  | 21,8        |
|           |          | 1,3880           |              | 21,8  |             |
|           |          | 1,3880           |              | 21,7  |             |
| 21516     | 6        | 1,3880           | 1,3880       | 21,6  | 21,6        |
|           |          | 1,3880           |              | 21,5  |             |
|           |          | 1,3880           |              | 21,6  |             |
| 24735     | 7        | 1,3879           | 1,3879       | 21,9  | 22,0        |
|           |          | 1,3878           |              | 21,9  |             |
|           |          | 1,3880           |              | 22,0  |             |
| 26519     | 8        | 1,3879           | 1,3879       | 22,1  | 22,0        |
|           |          | 1,3879           |              | 22,0  |             |
|           |          | 1,3879           |              | 21,9  |             |
| 28180     | 9        | 1,3875           | 1,3875       | 22,3  | 22,3        |
|           |          | 1,3875           |              | 22,3  |             |
|           |          | 1,3875           |              | 22,2  |             |
| 29656     | 10       | 1,3880           | 1,3880       | 22,3  | 22,2        |
|           |          | 1,3880           |              | 22,2  |             |
|           |          | 1,3880           |              | 22,2  |             |
| 31274     | 11       | 1,3879           | 1,3879       | 22,2  | 22,2        |
|           |          | 1,3879           |              | 22,3  |             |
|           |          | 1,3879           |              | 22,2  |             |
| 32795     | 12       | 1,3880           | 1,3880       | 22,3  | 22,3        |
|           |          | 1,3880           |              | 22,3  |             |
|           |          | 1,3880           |              | 22,3  |             |
| 34390     | 13       | 1,3880           | 1,3880       | 22,2  | 22,2        |
|           |          | 1,3880           |              | 22,3  |             |
|           |          | 1,3880           |              | 22,2  |             |
| 37449     | 14       | 1,3880           | 1,3880       | 22,0  | 22,0        |
|           |          | 1,3880           |              | 21,9  |             |
|           |          | 1,3880           |              | 22,0  |             |
| 41618     | 15       | 1,3880           | 1,3880       | 22,0  | 22,0        |
|           |          | 1,3880           |              | 22,0  |             |
|           |          | 1,3880           |              | 22,0  |             |

## B.2.2. Caracterização do óleo e do biodiesel

Na caracterização do óleo e do biodiesel foram estudados diversos parâmetros, dos quais são referidos os resultados e exemplos de cálculo correspondentes.

- **Determinação do Índice de Acidez**

Para a determinação do índice de acidez do óleo e do biodiesel, foi utilizada uma solução de hidróxido de potássio (KOH), com uma concentração de 0,1045mol/L.

A Tabela B. 42 e a Tabela B.43 e apresentam os resultados obtidos e calculados segundo a equação A.4, para ambas as amostras.

$$IA \left( \frac{mg \text{ KOH}}{g \text{ amostra}} \right) = \frac{56,1 \times V_{KOH} \times C_{KOH}}{m_{amostra}} \quad (\text{equação A.4})$$

**Tabela B. 42** - Valores de massa do óleo de borra de café utilizada, o volume de solução de KOH e o índice de acidez.

| Ensaio       | m <sub>óleo</sub> (g) | Vi (KOH) (mL) | Vf (KOH) (mL) | V gasto (mL) | Conc <sub>KOH</sub> (mol/L) | IA (mgKOH/g amostra) |
|--------------|-----------------------|---------------|---------------|--------------|-----------------------------|----------------------|
| 1            | 0,3993                | 0,1           | 8,2           | 8,1          | 0,1045                      | 118,92               |
| 2            | 0,3678                | 8,2           | 15,6          | 7,4          |                             | 117,95               |
| <b>Média</b> |                       |               |               |              |                             | <b>118,4</b>         |

**Tabela B.43** - Valores de massa do biodiesel, o volume de solução de KOH e o índice de acidez, obtido para o ensaio 1

| Réplica      | m <sub>Biodiesel</sub> (g) | Vi (KOH) (mL) | Vf (KOH) (mL) | V gasto (mL) | Conc <sub>KOH</sub> (mol/L) | IA (mgKOH/g amostra) |
|--------------|----------------------------|---------------|---------------|--------------|-----------------------------|----------------------|
| 1            | 0,3045                     | 0             | 0,1           | 0,1          | 0,1045                      | 1,93                 |
| 2            | 0,3123                     | 0,1           | 0,2           | 0,1          |                             | 1,88                 |
| <b>Média</b> |                            |               |               |              |                             | <b>1,90</b>          |

**Tabela B.44** - Valores de massa do biodiesel, o volume de solução de KOH e o índice de acidez, obtido para o ensaio 2.

| Réplica      | m <sub>Biodiesel</sub> (g) | V gasto (mL) | Conc <sub>KOH</sub> (mol/L) | IA (mgKOH/g amostra) |
|--------------|----------------------------|--------------|-----------------------------|----------------------|
| 1            | 0,7115                     | 0,3          | 0,1045                      | 2,47                 |
| 2            | 0,5158                     | 0,2          |                             | 2,27                 |
| <b>Média</b> |                            |              |                             | <b>2,4</b>           |

Assim sendo, o exemplo de cálculo para o ensaio 1 do biodiesel, réplica 1 é o seguinte:

$$IA = \frac{56,1 \times 0,1 \times 0,1045}{0,3045} = 1,93 \text{ mgKOH} / \text{g amostra}$$

- **Determinação do Índice de Iodo**

A determinação do índice de Iodo (g Iodo/100g amostra) na amostra de óleo foi efectuada usando uma solução de tiosulfato, de concentração igual a 0,17801mol/L e o valor correspondente foi calculado através da equação A.5.

$$\boxed{\text{Índice Iodo} \left( \frac{\text{g Iodo}}{100\text{g amostra}} \right) = \frac{12,69 \times C \times (V_1 - V_2)}{m_{\text{amostra}}}} \quad (\text{equação A.5})$$

A tabela seguinte apresenta os valores obtidos na determinação do índice de iodo para os ensaios efectuados com o óleo extraído da borra de café.

**Tabela B.45** - Resultados obtidos e calculados na determinação do índice de iodo, para a amostra de óleo extraído da borra de café.

| Réplica      | m <sub>óleo</sub> (g) | V(branco) (mL) | V (amostra) (mL) | V gasto (mL) | Conc <sub>tiosulfato</sub> (mol/L) | II          |
|--------------|-----------------------|----------------|------------------|--------------|------------------------------------|-------------|
| 1            | 0,1386                | 28,45          | 25,16            | 3,29         | 0,17801                            | 53,65       |
| 2            | 0,1352                | 28,45          | 25,17            | 3,28         |                                    | 54,87       |
| <b>Média</b> |                       |                |                  |              |                                    | <b>54,3</b> |

O exemplo de cálculo para o ensaio do óleo da borra de café (réplica 1) é descrito de seguida:

$$\text{Índice Iodo} = \frac{12,69 \times 0,17801 \times (28,45 - 25,16)}{0,1386} = 53,65 \text{ g Iodo} / 100\text{g amostra}$$

Para o biodiesel o índice de iodo foi calculado de acordo com o estipulado na norma EN 14214, a qual refere que o índice de iodo pode ser calculado a partir do somatório dos valores resultantes da multiplicação da percentagem mássica de cada éster metílico, pelo seu respectivo factor, que se encontra na. Tabela B.46.

**Tabela B.46** - Factores dos ésteres metílicos (fonte: Norma EN14214).

| Éster Metílico do ácido Gordo | Estrutura | Factor |
|-------------------------------|-----------|--------|
| Mirístico                     | C14:0     | 0      |
| Palmítico                     | C16:0     | 0      |
| Palmitoleico                  | C16:1     | 0,95   |
| Esteárico                     | C18:0     | 0      |
| Oleico                        | C18:1     | 0,86   |
| Linoleico                     | C18:2     | 1,732  |
| Linolénico                    | C18:3     | 2,616  |
| Eicosanóico                   | C20:0     | 0      |
| Eicosenoico                   | C20:1     | 0,785  |
| Docosonóico                   | C22:0     | 0      |
| Docosenoico                   | C22:1     | 0,723  |

A Tabela B.47 e a Tabela B. 48 apresentam os resultados obtidos, no cálculo do índice de iodo para o ensaio1 e o ensaio 2, respectivamente.

**Tabela B.47** - Resultados obtidos para o teor de ésteres e cálculo do respectivo índice de iodo, para o ensaio 1.

| Éster Metílico do ácido Gordo                               | Estrutura | Tempo retenção (min) | % Éster Parcial | Factor | Contribuição |
|---|-----------|----------------------|-----------------|--------|--------------|
| Oleico  | C18:1     | 6,10                 | 6,25            | 0,860  | 5,38         |
| Linoleico   | C18:2     | 6,77                 | 19,48           | 1,732  | 33,74        |
| Linolénico  | C18:3     | 8,26                 | 0,42            | 2,616  | 1,10         |
| <b>Índice Iodo calculado (g I<sub>2</sub>/100g amostra)</b> |           |                      |                 |        | <b>40,2</b>  |

**Tabela B. 48** - Resultados obtidos para o teor de ésteres e cálculo do respectivo índice de iodo, para o ensaio 2.

| Éster Metílico do ácido Gordo                               | Estrutura | Tempo retenção (min) | % Éster Parcial | Factor | Contribuição |
|---|-----------|----------------------|-----------------|--------|--------------|
| Oleico  | C18:1     | 6,10                 | 7,89            | 0,860  | 6,8          |
| Linoleico   | C18:2     | 6,97                 | 20,65           | 1,732  | 35,8         |
| Linolénico  | C18:3     | 8,26                 | 3,91            | 2,616  | 10,2         |
| <b>Índice Iodo calculado (g I<sub>2</sub>/100g amostra)</b> |           |                      |                 |        | <b>52,8</b>  |

- **Determinação da viscosidade cinemática a 40°C**

A viscosidade cinemática a 40°C é calculada pela equação A.6

$$\nu = K(t - \vartheta) \quad (\text{Equação A.6})$$

Nas tabelas seguintes (Tabela B.49, Tabela B.50, Tabela B.51) constam os valores obtidos para a determinação da viscosidade, para o óleo da borra de café para o biodiesel produzido (ensaio 1 e 2).

**Tabela B.49** - Resultados obtidos e calculados, para a determinação do teor de viscosidade, no óleo da borra de café.

| Réplica      | Tempo (s) | $k_{40^{\circ}\text{C}}$ (Viscosímetro 200) | Viscosidade  |
|--------------|-----------|---|--------------|
| 1            | 205       | 0,1067                                      | 21,87        |
| 2            | 208       |   | 22,19        |
| 3            | 209       |   | 22,30        |
| 4            | 208       |   | 22,19        |
| <b>Média</b> |           |   | <b>22,23</b> |

**Tabela B.50** - Resultados obtidos e calculados para a determinação do teor de viscosidade, no biodiesel (ensaio 1).

| Réplica      | Tempo (s) | $k_{40^{\circ}\text{C}}$ (Viscosímetro 200) | Viscosidade (mm <sup>2</sup> /s) |
|--------------|-----------|---|----------------------------------|
| 1            | 128       | 0,1067                                      | 13,66                            |
| 2            | 126       |   | 13,44                            |
| 3            | 124       |   | 13,23                            |
| <b>Média</b> |           |   | <b>13,34</b>                     |

**Tabela B.51** - Resultados obtidos e calculados para a determinação do teor de viscosidade, no biodiesel (ensaio 2).

| Réplica      | Tempo (s) | $k_{40^{\circ}\text{C}}$ (Viscosímetro 100) | Viscosidade (mm <sup>2</sup> /s) |
|--------------|-----------|---|----------------------------------|
| 1            | 117       | 0,1067                                      | 12,48                            |
| 2            | 116       |   | 12,38                            |
| 3            | 117       |   | 12,48                            |
| <b>Média</b> |           |   | <b>12,43</b>                     |

- **Determinação da densidade a 15°C**

A determinação da densidade foi efectuada de acordo com o método dos picnómetros.

Os resultados da densidade do óleo encontram-se descritos na Tabela B.52.

**Tabela B.52** - Resultados obtidos e calculados para a determinação da densidade, no óleo da borra de café.

| Réplica      | $m_{Pic\ Vazio}$ (g) | $m_{Pic\ c/ H2O}$ (g) | $m_{Pic\ c/ Amostra}$ (g) | Densidade    | d corrigida  |
|--------------|----------------------|-----------------------|---------------------------|--------------|--------------|
| 1            | 13,8761              | 22,8605               | 21,9208                   | 0,8954       | 0,895        |
| 2            | 13,8763              | 22,8402               | 22,1002                   | 0,9174       | 0,917        |
| 3            | 13,8769              | 22,8492               | 22,109                    | 0,9175       | 0,917        |
| <b>Média</b> |                      |                       |                           | <b>0,917</b> | <b>0,917</b> |

A Tabela B.53 apresenta os resultados obtidos para a densidade do biodiesel (ensaio 1).

**Tabela B.53** - Resultados obtidos e calculados para a determinação da densidade, no biodiesel produzido (ensaio 1).

| Réplica      | $m_{Pic\ Vazio}$ (g) | $m_{Pic\ c/ H2O}$ (g) | $m_{Pic\ c/ Amostra}$ (g) | Densidade (g/cm <sup>3</sup> ) | Densidade corrigida (g/cm <sup>3</sup> ) |
|--------------|----------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------------------|--|
| 1            | 13,8785              | 22,8508               | 22,0745                   | 0,913                          | 0,913                                    |
| 2            | 13,8785              | 22,8508               | 22,0567                   | 0,911                          | 0,911                                    |
| <b>Média</b> |                      |                       |                           | <b>0,912</b>                   | <b>0,912</b>                             |

Na tabela encontra-se representado todos os resultados inerentes à densidade do biodiesel obtido a partir do óleo da borra de café (ensaio 2).

**Tabela B.54** - Resultados obtidos e calculados para a determinação da densidade, no biodiesel produzido (ensaio 2).

| Réplica      | $m_{Pic\ Vazio}$ (g) | $m_{Pic\ c/ H2O}$ (g) | $m_{Pic\ c/ Amostra}$ (g) | Densidade (g/cm <sup>3</sup> ) | Densidade corrigida (g/cm <sup>3</sup> ) |
|--------------|----------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------------------|--|
| 1            | 13,8760              | 22,8435               | 22,0298                   | 0,909                          | 0,908                                    |
| 2            | 13,8760              | 22,8435               | 22,0427                   | 0,911                          | 0,910                                    |
| <b>Média</b> |                      |                       |                           | <b>0,910</b>                   | <b>0,909</b>                             |

O cálculo da densidade foi efectuado de acordo com a equação (A.7):

$$d' = \frac{c - a}{b - a} \quad (\text{Equação A.7})$$

Para a correcção do resultado obtido, foi utilizada a equação (A.8):

$$d = d_{\text{água}}(T = 15^{\circ}C) * d' \quad (\text{Equação A. 17})$$

Com a densidade da água igual:

$$d_{\text{água}}(T = 15^{\circ}C) = 0,9991026\text{ g/cm}^3$$



O cálculo da densidade, da primeira réplica do ensaio 2, do biodiesel,

$$d' = \frac{c - a}{b - a} = \frac{22,0298 - 13,8760}{22,8435 - 13,8760} = 0,909 \text{ g / cm}^3$$

Sendo a sua correcção igual a:

$$d = 0,9991 * 0,909 = 0,909 \text{ g / cm}^3$$

- **Teor de Ácidos Gordos e Teor de Ésteres**

A determinação do teor de ésteres e de ácidos gordos foi realizada segundo a *Norma EN 14103*.

Para o cálculo do teor de ésteres foi utilizada a equação A.9.

$$\% \text{ Ésteres} = \frac{\Sigma A - A_{\text{Padrão}}}{A_{\text{Padrão}}} \times \frac{V_{\text{Padrão}} \times C_{\text{Padrão}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (\text{Equação A.9})$$

Para o cálculo do teor de ésteres no biodiesel (ensaio1) foram utilizados:

$$V_{\text{padrão}} = 2 \text{ mL}$$

$$C_{\text{padrão}} = 10,076 \text{ mg/mL}$$

$$m_{\text{amostra}} = 117,9 \text{ mg}$$

Enquanto no ensaio 2, foram utilizadas:

$$V_{\text{padrão}} = 2 \text{ mL}$$

$$C_{\text{padrão}} = 10,220 \text{ mg/mL}$$

$$m_{\text{amostra}} = 118,4 \text{ mg}$$

Para além do cálculo dos ésteres totais foram também calculados os ésteres parciais. Para calcular o teor de ésteres parciais, utiliza-se a seguinte equação:

$$\% \text{ Éster} = \frac{A_{\text{Éster}}}{\Sigma A} \times 100 \quad (\text{Equação A.10})$$

Das três injeções efectuadas para o ensaio 1, na tabela seguinte (Tabela B.55) constam os valores obtidos na 1ª injeção.

**Tabela B.55** - Valores de tempos de retenção, áreas dos picos e respectiva percentagem de ésteres parciais e percentagem de éster total, obtidos para a 1ª injeção do ensaio 1.

| Éster Metílico do ácido Gordo                  | Estrutura | TEMPO | AREA        | % Éster Parcial |
|--|-----------|-------|-------------|-----------------|
| Palmítico                                      | C16:0     | 3,48  | 41576,357   | 32,9%           |
| Metil Heptadecanoato (Padrão)                  | C17:0     | 4,45  | 25930,916   | 20,5%           |
| Esteárico                                      | C18:0     | 5,77  | 11455,837   | 9,1%            |
| Oleico   | C18:1     | 6,09  | 8147,008    | 6,4%            |
| Linoleico                                      | C18:2     | 6,98  | 24582,066   | 19,4%           |
| -  | -         | 7,22  | 1689,625    | 1,3%            |
| -  | -         | 7,6   | 186,601     | 0,1%            |
| Linolénico                                     | C18:3     | 8,25  | 530,564     | 0,4%            |
| Eicosanóico                                    | C20:0     | 9,94  | 4818,953    | 3,8%            |
| -  | -         | 10,33 | 664,766     | 0,5%            |
| Docosonóico                                    | C22:0     | 14,36 | 2198,481    | 1,7%            |
| -  | -         | 15,69 | 390,013     | 0,3%            |
| -  | -         | 16,42 | 243,076     | 0,2%            |
| Metil Tetracosanoico                           | C24:0     | 18,02 | 662,067     | 0,5%            |
| Metil cis-15-Tetracosanoico ou éster nervónico | C24:1     | 18,36 | 665,596     | 0,5%            |
| -  | -         | 20,28 | 2288,58     | 1,8%            |
| -  | -         | 20,98 | 178,508     | 0,1%            |
| -  | -         | 21,72 | 220,983     | 0,2%            |
| <b>Somatório</b>                               |           |       | 126430,0    |                 |
| <b>%Ésteres</b>                                |           |       | <b>66,2</b> |                 |

No ensaio 2 foram efectuadas quatro injeções. Os valores obtidos na 1ª injeção encontram-se na Tabela B.56.

**Tabela B.56** - Valores de tempos de retenção, áreas dos picos e respectiva percentagem de ésteres parciais e percentagem de éster total, obtidos para a 1ª injeção do ensaio 2.

| Éster Metílico do ácido Gordo                  | Estrutura | TEMPO            | AREA        | % Éster Parcial |
|--|-----------|------------------|-------------|-----------------|
| Palmitico                                      | C16:0     | 3,48             | 31477,1     | 33,1%           |
| Metil Heptadecanoato (Padrão)                  | C17:0     | 4,44             | 18175,379   | 19,1%           |
| Esteárico                                      | C18:0     | 5,78             | 9115,261    | 9,6%            |
| Oleico   | C18:1     | 6,1              | 7668,383    | 8,1%            |
| Linoleico                                      | C18:2     | 6,97             | 20055,495   | 21,1%           |
| -  | -         | 7,62             | 196,417     | 0,2%            |
| Linolénico                                     | C18:3     | 8,26             | 358,534     | 0,4%            |
| Eicosanóico                                    | C20:0     | 9,95             | 3685,061    | 3,9%            |
| -  | -         | 10,35            | 518,818     | 0,5%            |
| Docosonóico                                    | C22:0     | 14,37            | 1243,84     | 1,3%            |
| -  | -         | 16,43            | 140,238     | 0,1%            |
| Metil Tetracosanoico                           | C24:0     | 18,04            | 406,843     | 0,4%            |
| Metil cis-15-Tetracosanoico ou éster nervónico | C24:1     | 18,38            | 474,607     | 0,5%            |
| -  | -         | 20,29            | 1623,338    | 1,7%            |
| -  | -         | <b>Somatório</b> | 95139,3     |                 |
| -  | -         | <b>%Ésteres</b>  | <b>73,1</b> |                 |

Assim, por exemplo, no cálculo efectuado ao teor de esteres parciais, no ensaio 2, a determinação da percentagem do C18:1 (Oleico) fica igual a:

$$\% \text{ C18:1} = \frac{7668,383}{95139,3} \times 100 = 8,1\%$$

A determinação do teor de ácidos gordos totais no óleo foi efectuada de acordo com a equação (A.11), e tendo em conta, o ácido gordo que apresenta maior área na análise do cromatograma.

$$\% \text{AG}_{(\text{Ácido Behénico})} = \frac{IA_{\text{Óleo}} \times MM_{\text{Ácido Behénico}}}{MM_{\text{KOH}} \times 1000} \times 100 \quad (\text{Equação A. 11})$$

- **Determinação do teor de água**

Os resultados da determinação do teor de água no óleo encontram-se descritos na Tabela B.57.

**Tabela B.57** - Resultados obtidos na determinação do teor de água no óleo da borra de café.

| Ensaio       | m Óleo (g) | Teor Água (%) | Teor Água (ppm) |
|--------------|------------|---------------|-----------------|
| 1            | 0,1047     | 0,2091        | 2091            |
| 2            | 0,0957     | 0,1964        | 1964            |
| 3            | 0,1073     | 0,1957        | 1957            |
| <b>Media</b> | 0,1026     | <b>0,2004</b> | <b>2004</b>     |

### **B.2.3. Métodos utilizados na produção do biodiesel**

Quer nas etapas da esterificação, quer nas etapas de transesterificação, o método de cálculo é sempre o mesmo, alterando-se apenas o tipo de catalisador.

Para a produção de biodiesel é necessário pesar uma porção de óleo, a partir da qual todos os restantes cálculos são efectuados.

A Tabela B.58 e Tabela B.59 apresentam todas as quantidades de reagentes aplicadas, as condições reaccionais e respectivo rendimento do processo, para cada ensaio.

**Tabela B.58** - Condições reaccionais e quantias de óleo, catalisador e álcool utilizados, para o ensaio 1, na produção de biodiesel.

| Processo           | m óleo (g) | Álcool                          | V <sub>álcool</sub> (mL) | Catalisador  | m catalisador (g)         | Temperatura (°C) | Tempo Reacção (h) | Agitação (rpm) | Rendimento (%) |
|--------------------|------------|---------------------------------|--------------------------|--|---------------------------|------------------|-------------------|----------------|----------------|
| 1ª Esterificação   | 52,70      |                                 | 21,08                    |  | 0,62                      |                  |                   |                | -----          |
| 2ª Esterificação   | 63,71      | Metanol<br>(CH <sub>3</sub> OH) | 25,48                    | Ácido Sulfúrico<br>(H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) | 0,64                      | 60               | 2                 | 500            | -----          |
| 3ª Esterificação   | 76,22      |                                 | 30,49                    |  | 0,92                      |                  |                   |                | -----          |
| Transesterificação | 83,04      |                                 | 33,22                    |  | Hidróxido de Sódio (NaOH) |                  |                   |                | 0,82           |

**Tabela B.59** - Condições reaccionais e quantias de óleo, catalisador e álcool utilizados, para o ensaio 2, na produção de biodiesel.

| Processo           | m óleo (g) | Álcool                          | V <sub>álcool</sub> (mL) | Catalisador  | m catalisador (g)         | Temperatura (°C) | Tempo Reacção (min) | Agitação | Rendimento (%) |
|--------------------|------------|---------------------------------|--------------------------|--|---------------------------|------------------|---------------------|----------|----------------|
| 1ª Esterificação   | 47,22      |                                 | 18,89                    |  | 0,60                      |                  |                     |          | -----          |
| 2ª Esterificação   | 58,99      | Metanol<br>(CH <sub>3</sub> OH) | 23,60                    | Ácido Sulfúrico<br>(H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) | 0,73                      | 60               | 2                   | 500      | -----          |
| 3ª Esterificação   | 71,14      |                                 | 28,46                    |  | 0,77                      |                  |                     |          | -----          |
| Transesterificação | 76,07      |                                 | 30,43                    |  | Hidróxido de Sódio (NaOH) |                  |                     |          | 0,74           |

Após a realização de cada esterificação, foi determinado o índice de acidez de cada amostra (Ensaio 1 e ensaio 2).

Os resultados obtidos ao longo do processo de esterificação são apresentados nas tabelas seguintes, a Tabela B.60 e Tabela B.61.

**Tabela B.60** - Quantidades utilizadas e resultados obtidos na determinação do índice de acidez ao longo do processo de esterificação, para o ensaio 1.

| Processo         | Ensaio | m <sub>Biodiesel</sub> (g) | V gasto (mL) | Conc <sub>KOH</sub> (mol/L) | N.A.   | Média  |
|------------------|--------|----------------------------|--------------|-----------------------------|--------|--------|
| -----            | 1      | 0,3993                     | 8,1          | 0,1045                      | 118,92 | 118,44 |
|                  | 2      | 0,3678                     | 7,4          |                             | 117,95 |        |
| 1ª Esterificação | 1      | 0,4875                     | 1,5          | 0,1045                      | 18,04  | 18,14  |
|                  | 2      | 0,3856                     | 1,2          |                             | 18,24  |        |
| 2ª Esterificação | 1      | 0,6207                     | 1            | 0,1045                      | 9,44   | 9,25   |
|                  | 2      | 0,4534                     | 0,7          |                             | 9,05   |        |
| 3ª Esterificação | 1      | 0,3337                     | 0,3          | 0,1045                      | 5,27   | 5,40   |
|                  | 2      | 0,3176                     | 0,3          |                             | 5,54   |        |
| Reacção de 2h    | 1      | 0,7808                     | 0,2          | 0,1045                      | 1,50   | 1,53   |
|                  | 2      | 0,3754                     | 0,1          |                             | 1,56   |        |

**Tabela B.61** - Quantidades utilizadas e resultados obtidos na determinação do índice de acidez ao longo do processo de esterificação, para o ensaio 2.

| Processo         | Ensaio | m <sub>Biodiesel</sub> (g) | V gasto (mL) | Conc <sub>KOH</sub> (mol/L) | N.A.   | Média  |
|------------------|--------|----------------------------|--------------|-----------------------------|--------|--------|
| -----            | 1      | 0,3993                     | 8,1          | 0,1045                      | 118,92 | 118,44 |
|                  | 2      | 0,3678                     | 7,4          |                             | 117,95 |        |
| 1ª Esterificação | 1      | 0,6438                     | 1,6          | 0,1045                      | 14,57  | 14,30  |
|                  | 2      | 0,5432                     | 1,3          |                             | 14,03  |        |
| 2ª Esterificação | 1      | 0,7658                     | 1,4          | 0,1045                      | 10,72  | 10,85  |
|                  | 2      | 0,5342                     | 1            |                             | 10,97  |        |
| 3ª Esterificação | 1      | 0,7487                     | 0,4          | 0,1045                      | 3,13   | 3,29   |
|                  | 2      | 0,6812                     | 0,4          |                             | 3,44   |        |
| Reacção de 2h    | 1      | 0,9650                     | 0,3          | 0,1045                      | 1,82   | 1,83   |
|                  | 2      | 0,6377                     | 0,2          |                             | 1,84   |        |

### B.3. Produção de bioetanol

Neste subcapítulo serão abordados todos os resultados obtidos para as diversas etapas, envolvidas na produção de bioetanol, tais como a identificação e quantificação açúcares e as etapas produtivas.

#### B.3.1. Pré-tratamento da biomassa

Antes de se proceder à fermentação, foram avaliadas quatro situações relativas ao pré-tratamento da biomassa: a utilização da borra de café sem qualquer pré-tratamento, a utilização de borra de café com um *pré-tratamento*, recorrendo a um processo de hidrólise usando ácido sulfúrico em concentrações diferentes, a 1% ou a 3% e, por fim, a aplicação directa de celulose, resultante da aplicação de um pré-tratamento ácido seguido de um alcalino, na fase de caracterização.

De forma a avaliar qual o pré-tratamento mais eficiente foi necessário proceder-se a uma hidrólise enzimática, provida pela enzima *Viscozyme L.*, seguida da determinação dos açúcares que se formaram, usando quatro métodos distintos: o método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS), o método refractométrico, o método espectrofotométrico por UV-Vis e o método por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Foram efectuadas 2 réplicas para cada ensaio, no entanto dois ensaios foram perdidos, a réplica 2 da borra de café sem pré-tratamento e a réplica do ensaio envolvendo o ácido sulfúrico a 3%.

- **Método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS)**

Para a determinação do teor de açúcares redutores totais foi necessário traçar uma curva de calibração usando soluções padrão de glucose.

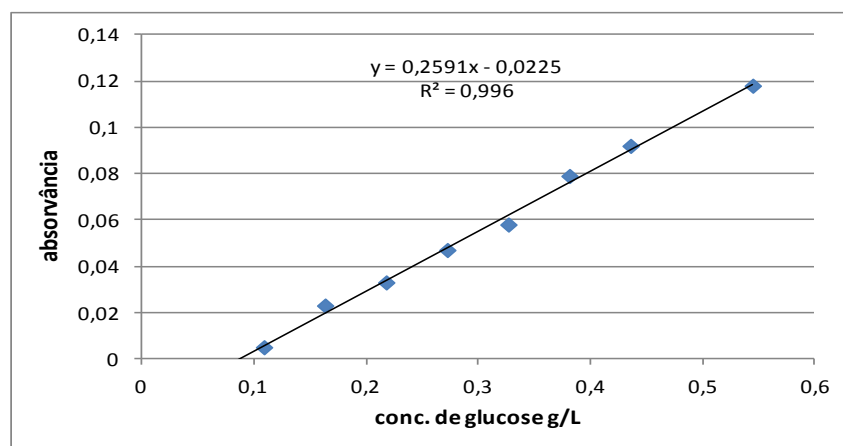


Figura B.12 – Curva de calibração da glucose utilizada no método do DNS.

Através da análise dos resultados da Figura B.12, verifica-se que o pré-tratamento por hidrólise com ácido na concentração de 1% (v/v) é aquele que apresenta o melhor resultado, no que diz respeito à concentração de glucose, 13,1g/L, correspondendo a um rendimento de 22,5%. No entanto, tendo em conta a massa de amostra utilizada, o cálculo do rendimento permite aferir que o pré-tratamento por hidrólise com ácido a 3% (v/v), que origina concentração de glucose de 12,6 g/L é, na realidade, o melhor método a utilizar, dado promover um rendimento na ordem dos 24,2%.

Os resultados obtidos, após aplicação dos pré-tratamentos, encontram-se na Tabela B.62.



**Tabela B.62** - Resultados da massa de glucose obtida e respectivo rendimento, após a aplicação de cada uma das opções de pré-tratamento.

| Ensaio após Hidrólise Enzimática | Massa (g) | Factor Diluição | Abs   | Abs   | Abs Médio | Conc. Glucose (g/L) | Conc. Glucose média (g/L) | V Filtrado (mL) | Massa Glucose (g) | Rendimento (%) | Media Rendimento (%) |
|----------------------------------|-----------|-----------------|-------|-------|-----------|---------------------|---------------------------|-----------------|-------------------|----------------|----------------------|
| Sem pré-tratamento (Borra)       | 10,3143   | 10              | 0,039 | 0,038 | 0,039     | 2,35                | 2,354                     | 166             | 0,391             | 3,8%           | 3,8%                 |
| H2SO4 (1%)_1R                    | 10,1970   | 25              | 0,118 | 0,118 | 0,118     | 13,56               | 13,146                    | 174             | 2,359             | 23,1%          | 22,5%                |
| H2SO4 (1%)_2R                    | 10,6054   | 25              | 0,110 | 0,109 | 0,110     | 12,74               |                           | 182             | 2,318             | 21,9%          |                      |
| H2SO4 (3%)_1R                    | 10,0433   | 25              | 0,108 | 0,108 | 0,108     | 12,59               | 12,592                    | 193             | 2,430             | 24,2%          | 24,2%                |
| Cel_1R                           | 0,2433    | 1               | 0,057 | 0,057 | 0,057     | 0,31                | 0,250                     | 193             | 0,059             | 24,3%          | 19,5%                |
| Cel_2R                           | 0,2635    | 1               | 0,027 | 0,028 | 0,028     | 0,19                |                           | 200             | 0,039             | 14,6%          |                      |

Exemplo de cálculo, para o ensaio com o pré-tratamento por hidrólise ácida a 3%(v/v):

Com os valores de absorvância obtidos, calcula-se através da curva de calibração da glucose, a concentração deste mesmo açúcar:

$$Abs = 0,2591 \times Conc.Glucose - 0,0225 \quad (=) \quad Conc.Glucose = \left( \frac{0,108 + 0,0225}{0,2591} \right) \times 25 = 12,59 \text{ g / L}$$

Com as concentrações de glucose obtidas em cada ensaio, calculam-se as massas de açúcar obtidas e o rendimento de cada ensaio

$$m_{Glucose} = Conc.Glucose \times V_{filtrado} \quad (=) \quad m_{Glucose} = 12,59 \text{ g/L} \times 0,193 \text{ L} = 2,43 \text{ g}$$

$$\eta = \frac{m_{Glucose}}{m_{amostra}} \quad (=) \quad \eta = \frac{2,43}{10,0433} = 24,2\%$$

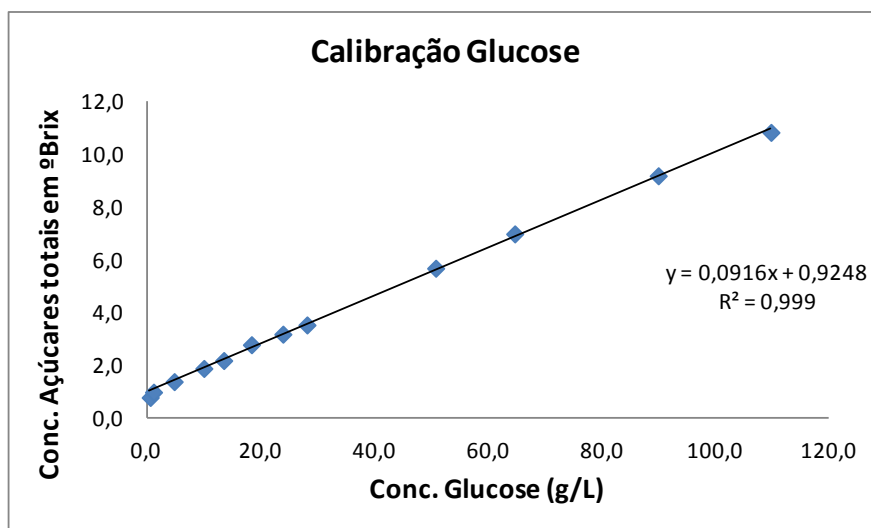
Além deste método, foram utilizados outros processos para a avaliação dos açúcares, que são descritos de seguida

- **Método refractométrico**

Tal como já havia sido referido, o método refractométrico baseia-se na medida do °Brix, que indica a quantidade de substâncias solúveis, na sua maioria açúcares e alguns ácidos (Silva, et al. 2008); (Macedo et al., 2003)) e que se encontra dependente do comprimento de onda utilizado nas medições e da temperatura (Ferreira, 2008).

Para a realização dos ensaios, foi efectuada apenas uma curva de calibração, a da glucose, para a qual, foram efectuadas leituras do °Brix, à temperatura de 22,5°C, utilizando soluções de glucose com concentrações de 0,6 a 110g/L, o que significa que a totalidade dos açúcares foi quantificada como glucose.

Na Figura B.13 representam-se as concentrações das soluções padrão de glucose, e os respectivos °Brix corrigidos para a temperatura de 20°C.



**Figura B.13** - Concentrações de glucose e respectivas leituras em °Brix, à temperatura de 20°C.

O cálculo da concentração em grau Brix, teve em conta a correcção do seu resultado, para uma temperatura de 20°C.

Além da correcção de temperatura, foi também efectuada a correcção da acidez do meio, retirando 5°Brix a todos os resultados provenientes dos pré-tratamentos com ácido sulfúrico a 3% (v/v) e 3°Brix, resultados dos ensaios provenientes dos pré-tratamentos realizados com ácido sulfúrico a 1%.

Para o cálculo do factor de correcção, devido à temperatura, foram efectuadas várias interpolações, tendo por base a Tabela B.63 consultada em (Marques 2007).

**Tabela B.63** - Tabela de correcção do °Brix, para valores de temperatura iguais a 20°C.

| Temperatura<br>°C | Brix observado (%)             |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-------------------|--------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                   | 0                              | 5    | 10   | 15   | 20   | 25   | 30   | 35   | 40   | 45   | 50   |
|                   | <b>SUBTRAIR A % OBSERVADA</b>  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 10                | 0,50                           | 0,54 | 0,58 | 0,61 | 0,64 | 0,66 | 0,68 | 0,70 | 0,72 | 0,73 | 0,74 |
| 11                | 0,46                           | 0,49 | 0,53 | 0,55 | 0,58 | 0,60 | 0,62 | 0,64 | 0,65 | 0,66 | 0,67 |
| 12                | 0,42                           | 0,45 | 0,48 | 0,50 | 0,52 | 0,54 | 0,56 | 0,57 | 0,58 | 0,59 | 0,60 |
| 13                | 0,37                           | 0,40 | 0,42 | 0,44 | 0,46 | 0,48 | 0,49 | 0,50 | 0,51 | 0,52 | 0,53 |
| 14                | 0,33                           | 0,35 | 0,37 | 0,39 | 0,40 | 0,41 | 0,42 | 0,43 | 0,44 | 0,45 | 0,45 |
| 15                | 0,27                           | 0,29 | 0,31 | 0,33 | 0,34 | 0,34 | 0,35 | 0,36 | 0,37 | 0,37 | 0,38 |
| 16                | 0,22                           | 0,24 | 0,25 | 0,26 | 0,27 | 0,28 | 0,28 | 0,29 | 0,30 | 0,30 | 0,30 |
| 17                | 0,17                           | 0,18 | 0,19 | 0,20 | 0,21 | 0,21 | 0,21 | 0,22 | 0,22 | 0,23 | 0,23 |
| 18                | 0,12                           | 0,13 | 0,13 | 0,14 | 0,14 | 0,14 | 0,14 | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,15 |
| 19                | 0,06                           | 0,06 | 0,06 | 0,07 | 0,07 | 0,07 | 0,07 | 0,08 | 0,08 | 0,08 | 0,08 |
|                   | <b>ADICIONAR A % OBSERVADA</b> |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 21                | 0,06                           | 0,07 | 0,07 | 0,07 | 0,07 | 0,08 | 0,08 | 0,08 | 0,08 | 0,08 | 0,08 |
| 22                | 0,13                           | 0,13 | 0,14 | 0,14 | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,16 | 0,16 |
| 23                | 0,19                           | 0,20 | 0,21 | 0,22 | 0,22 | 0,23 | 0,23 | 0,23 | 0,23 | 0,24 | 0,24 |
| 24                | 0,26                           | 0,27 | 0,28 | 0,29 | 0,30 | 0,30 | 0,31 | 0,31 | 0,31 | 0,31 | 0,31 |
| 25                | 0,33                           | 0,35 | 0,36 | 0,37 | 0,38 | 0,38 | 0,39 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 |
| 26                | 0,40                           | 0,42 | 0,43 | 0,44 | 0,45 | 0,46 | 0,47 | 0,48 | 0,48 | 0,48 | 0,48 |
| 27                | 0,48                           | 0,50 | 0,52 | 0,53 | 0,54 | 0,55 | 0,55 | 0,56 | 0,56 | 0,56 | 0,56 |
| 28                | 0,56                           | 0,57 | 0,60 | 0,61 | 0,62 | 0,63 | 0,63 | 0,64 | 0,64 | 0,64 | 0,64 |
| 29                | 0,64                           | 0,66 | 0,68 | 0,69 | 0,71 | 0,72 | 0,72 | 0,73 | 0,73 | 0,73 | 0,73 |
| 30                | 0,72                           | 0,74 | 0,77 | 0,78 | 0,79 | 0,80 | 0,80 | 0,81 | 0,81 | 0,81 | 0,81 |
| Temperatura       | 0                              | 5    | 10   | 15   | 20   | 25   | 30   | 35   | 40   | 45   | 50   |

A Tabela B.64 apresenta os factores de correcção, calculados por interpolação e usados para a correcção dos valores lidos experimentalmente.

**Tabela B.64** - Tabela de correcção do Brix refractométrico a 20°C.

| T (°C)    | Interpolação Brix |             |             |
|-----------|-------------------|-------------|-------------|
|           | 0                 | 5           | 10          |
| <b>19</b> | <b>0,06</b>       | <b>0,06</b> | <b>0,06</b> |
| 20,1      | 0,06              | 0,0655      | 0,0655      |
| 20,2      | 0,06              | 0,066       | 0,066       |
| 20,3      | 0,06              | 0,0665      | 0,0665      |
| 20,4      | 0,06              | 0,067       | 0,067       |
| 20,5      | 0,06              | 0,0675      | 0,0675      |
| 20,6      | 0,06              | 0,068       | 0,068       |
| 20,7      | 0,06              | 0,0685      | 0,0685      |
| 20,8      | 0,06              | 0,069       | 0,069       |
| 20,9      | 0,06              | 0,0695      | 0,0695      |
| <b>21</b> | <b>0,06</b>       | <b>0,07</b> | <b>0,07</b> |
| 21,1      | 0,067             | 0,076       | 0,077       |
| 21,2      | 0,074             | 0,082       | 0,084       |
| 21,3      | 0,081             | 0,088       | 0,091       |
| 21,4      | 0,088             | 0,094       | 0,098       |
| 21,5      | 0,095             | 0,1         | 0,105       |
| 21,6      | 0,102             | 0,106       | 0,112       |
| 21,7      | 0,109             | 0,112       | 0,119       |
| 21,8      | 0,116             | 0,118       | 0,126       |
| 21,9      | 0,123             | 0,124       | 0,133       |
| <b>22</b> | <b>0,13</b>       | <b>0,13</b> | <b>0,14</b> |
| 22,1      | 0,136             | 0,137       | 0,147       |
| 22,2      | 0,142             | 0,144       | 0,154       |
| 22,3      | 0,148             | 0,151       | 0,161       |
| 22,4      | 0,154             | 0,158       | 0,168       |
| 22,5      | 0,16              | 0,165       | 0,175       |
| 22,6      | 0,166             | 0,172       | 0,182       |
| 22,7      | 0,172             | 0,179       | 0,189       |
| 22,8      | 0,178             | 0,186       | 0,196       |
| 22,9      | 0,184             | 0,193       | 0,203       |
| <b>23</b> | <b>0,19</b>       | <b>0,2</b>  | <b>0,21</b> |
| 23,1      | 0,197             | 0,207       | 0,217       |
| 23,2      | 0,204             | 0,214       | 0,224       |
| 23,3      | 0,211             | 0,221       | 0,231       |
| <b>24</b> | <b>0,26</b>       | <b>0,27</b> | <b>0,28</b> |

Para o cálculo do factor de correcção, a fórmula utilizada teve como base a equação seguinte:

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

Uma vez que as temperaturas se eram superiores a 20°C, o factor de correcção é adicionado ao valor de Brix lido.

Exemplo cálculo factor correcção para o ensaio com pré-tratamento ácido a 3%, com uma temperatura de 22,5°C:

Uma vez que o grau Brix médio obtido tomou o valor de 2,2, e que este se encontra entre o °Brix0 e °Brix5, então:

$$^{\circ} Brix_{final} = ^{\circ} Brix5$$

$$^{\circ} Brix_{inicial} = ^{\circ} Brix0$$

Para a temperatura de 22,5°C, o valor do factor correctivo para cada um dos °Brix toma o valor:

$$F_{^{\circ}Brix\ final} = 0,165$$

$$F_{^{\circ}Brix\ inicial} = 0,16$$

Sendo assim, o cálculo do factor de correcção (F), para o ensaio em causa, corresponde ao valor de:

$$F = \frac{(0,165 - 0,16) \times (2,2 - 0)}{5 - 0} + 0,16 = 0,159$$

O qual deve ser adicionado ao grau de Brix obtido experimentalmente.

Com os valores de °Brix obtidos, calcula-se através da curva de calibração da solução padrão de glucose, a concentração deste mesmo açúcar. Com as concentrações de cada ensaio, calculam-se as massas de açúcar obtidas e, o rendimento para cada ensaio.

Os resultados obtidos, após a aplicação dos pré-tratamentos, encontram-se na Tabela B.65. Todos os valores apresentados na referida tabela foram corrigidos para a temperatura e a acidez do meio.

**Tabela B.65** - Resultados obtidos para a massa de glucose obtida e respectivo rendimento, após a aplicação de cada uma das opções de pré-tratamento.

| Ensaio                              | Réplica | Massa (g) | °Brix médio | T(°C) | F     | °Brix médio corrigido | Conc. Glucose (g/L) | Conc. Glucose média (g/L) | V Filtrado (mL) | Massa Glucose (g) | Rendimento (%) | Rendimento Médio (%) |
|-------------------------------------|---------|-----------|-------------|-------|-------|-----------------------|---------------------|---------------------------|-----------------|-------------------|----------------|----------------------|
| Sem pré-tratamento                  | 1       | 10,3143   | 1,5         | 22,2  | ----  | 1,5                   | 6,279               | 6,279                     | 166             | 1,042             | 10,1%          | 10,1%                |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%) | 1       | 10,197    | 1,8         |       | 0,162 | 2,0                   | 11,321              | 11,321                    | 174             | 1,970             | 19,3%          | 19,4%                |
|                                     | 2       | 10,6054   | 1,8         |       | 0,162 | 2,0                   | 11,321              |                           | 182             | 2,060             | 19,4%          |                      |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (3%) | 1       | 10,0433   | 2,2         |       | 0,159 | 2,4                   | 15,662              | 15,662                    | 193             | 3,023             | 30,1%          | 30,1%                |
| Celulose                            | 1       | 0,2433    | 0,8         |       | ----  | 0,8                   | 0,394               | 0,394                     | 193             | 0,076             | 31,2%          | 30,6%                |
|                                     | 2       | 0,2635    | 0,8         |       | ----  | 0,8                   | 0,394               |                           | 200             | 0,079             | 29,9%          |                      |

Exemplo de cálculo, para o ensaio com o pré-tratamento por hidrólise ácida a 3%(v/v):

Com os valores de absorvância obtidos, calcula-se através da curva de calibração da glucose, a concentração deste mesmo açúcar:

$$^{\circ}Brix = 0,0916 \times Conc.Glucose + 0,9248 \quad (=) \quad Conc.Glucose = \left( \frac{2,4 - 0,9248}{0,0916} \right) = 15,66 g / L$$

Com as concentrações de glucose obtidas em cada ensaio, calculam-se as massas de açúcar obtidas e o rendimento obtido de cada ensaio

$$m_{Glucose} = Conc.Glucose \times V_{filtrado} \quad (=) \quad m_{Glucose} = 15,66 g / L \times 0,193L = 3,02 g$$

$$\eta = \frac{m_{Glucose}}{m_{amostra}} \quad (=) \quad \eta = \frac{3,02}{10,0433} = 30,1\%$$

• **Método espectrofotométrico UV-Vis**

Através do espectro de absorção traçado para cada uma das soluções, foi possível verificar, a absorvância da glucose num comprimento de onda de 190nm, da xilose a 222nm e da arabinose a 214nm e 271nm, tendo sido escolhido o comprimento de onda igual a 190nm para a glucose, 222nm para a xilose e 271nm para a arabinose, para não ocorrer dificuldades na distinção entre os açúcares.

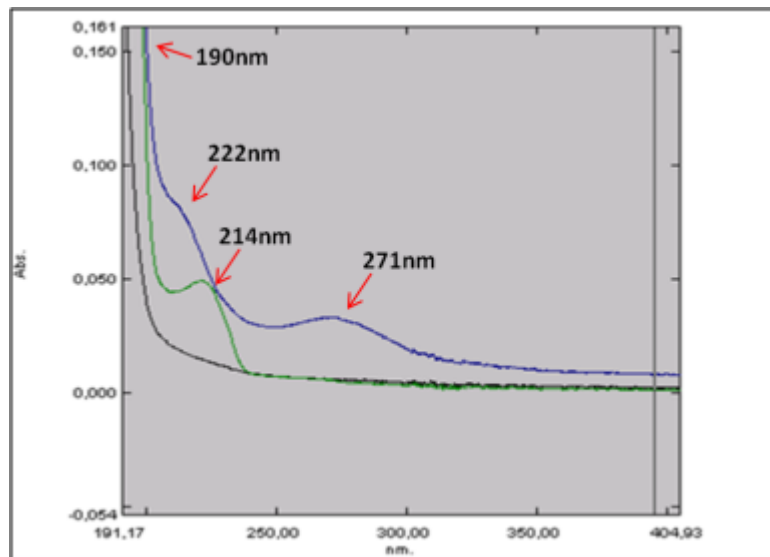


Figura B.14 - Espectro de absorção dos padrões de glucose (linha preto), xilose (linha verde) e arabinose (linha azul), na concentração de 1g/L, traçado entre 200 e os 400nm

Quantificação da Glucose:

O gráfico representado na Figura B.15 apresenta a curva de calibração efectuada para a glucose.

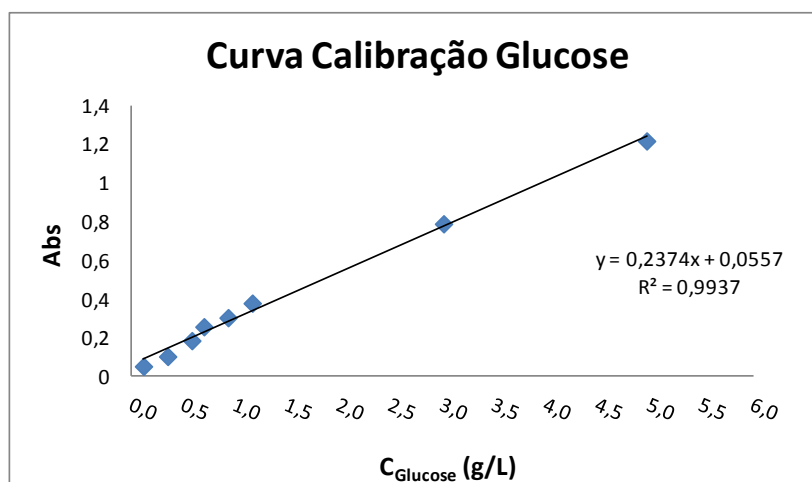


Figura B.15 - Curva de calibração da glucose, pelo método da espectrofotometria UV-Vis.

Na Tabela B.66 apresentam-se os resultados obtidos para a concentração e massa de glucose obtidas após a aplicação do pré-tratamento e da hidrólise enzimática.

**Tabela B.66** - Valores da concentração e massa de glucose obtidos a partir da média das absorvâncias, para os diversos ensaios de pré-tratamento e a após hidrólise enzimática, determinada por espectrofotometria UV-Vis.

| Ensaio                                 | Factor Diluição | $\lambda = 190\text{nm}$ |                     |                          |                               |                      |                        |
|--|-----------------|--------------------------|---------------------|--------------------------|-------------------------------|----------------------|------------------------|
|  |                 | Abs                      | Conc. Glucose (g/L) | Conc. Glucose Real (g/L) | Conc. Glucose Real media(g/L) | Volume Filtrado (mL) | Massa Glucose Real (g) |
| Sem Pré-tratamento                     | 2000            | 0,082                    | 0,1108              | 221,57                   | 221,57                        | 166                  | 36,78                  |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%)_1R | 3000            | 0,207                    | 0,6373              | 1911,96                  | 1820,13                       | 174                  | 332,68                 |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%)_2R | 1000            | 0,466                    | 1,7283              | 1728,31                  |                               | 182                  | 314,55                 |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (3%)_1R | 2000            | 0,176                    | 0,5067              | 1013,48                  | 1013,48                       | 193                  | 195,60                 |
| Celulose_1R                            | 100             | 0,232                    | 0,7426              | 74,26                    | 52,15                         | 193                  | 14,33                  |
| celulose_2R                            | 100             | 0,127                    | 0,3003              | 30,03                    |                               | 200                  | 6,01                   |

Exemplo de cálculo, para o ensaio com o pré-tratamento com ácido a 3%(v/v):

Com os valores de absorvância obtidos, calcula-se através da curva de calibração da glucose, a concentração deste mesmo açúcar:

$$Abs = 0,2374 \times Conc.Glucose + 0,0557 \quad (=)$$

$$(\Rightarrow) \quad Conc.Glucose = \left( \frac{0,176 - 0,0557}{0,2374} \right) \times 2000 = 1013,48 \text{ g/L}$$

Com as concentrações de cada ensaio, calculam-se as massas de açúcar obtidas e o rendimento de cada ensaio,

$$m_{Glucose} = Conc.Glucose \times V_{filtrado} \quad (\Rightarrow) \quad m_{Glucose} = 1013,48 \text{ g/L} \times 0,193 \text{ L} = 195,60 \text{ g}$$

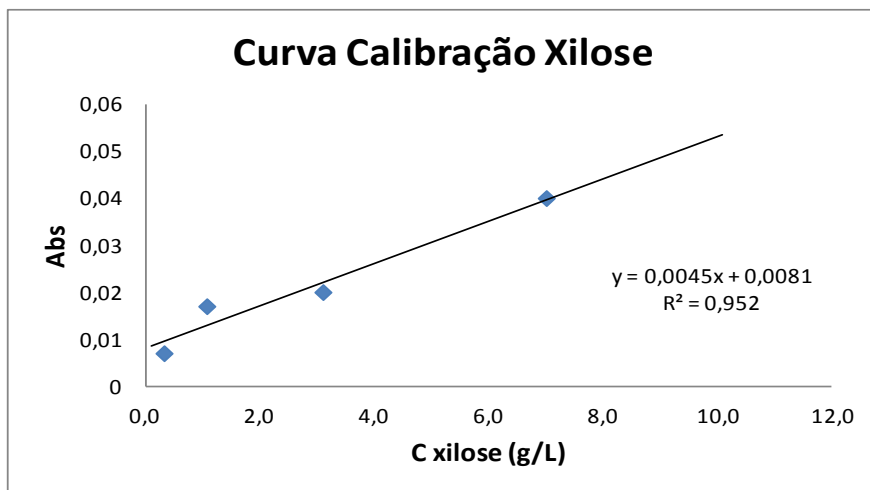
$$\eta = \frac{m_{Glucose}}{m_{amostra}} \quad (\Rightarrow) \quad \eta = \frac{195,60}{10,0433} = 1948\% \leftarrow \text{impossível}$$

Dadas as concentrações se encontrarem na escala dos milhares, para o ensaio da glucose, estes resultados inviabilizam a utilização deste método, para a sua determinação.



Quantificação da xilose:

O gráfico representado na Figura B.16, apresenta a curva de calibração construída para a xilose.



**Figura B.16** - Curva de calibração da xilose, pelo método da espectrofotometria UV-Vis.

Na Tabela B.67 apresentam-se os resultados obtidos para as concentrações de xilose nos diversos ensaios de pré-tratamento efectuados, após hidrólise enzimática.

**Tabela B.67** - Valores da concentração e massa de xilose obtidos a partir da média das absorvâncias, para os diversos ensaios de pré-tratamento e a após hidrólise enzimática, determinada por espectrofotometria UV-Vis

| Ensaio                                 | Factor Diluição | $\lambda = 222\text{nm}$ |                    |                         |                               |     | Volume Filtrado (mL) | Massa Xilose Real (g) |
|--|-----------------|--------------------------|--------------------|-------------------------|-------------------------------|-----|----------------------|-----------------------|
|  |                 | Abs                      | Conc. Xilose (g/L) | Conc. Xilose Real (g/L) | Conc. Glucose Real media(g/L) |     |                      |                       |
| Sem Pré-tratamento                     | 2000            | 0,031                    | 5,089              | 10177,8                 | 10177,78                      | 166 | 1689,51              |                       |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%)_1R | 3000            | 0,066                    | 12,867             | 38600,0                 | 34066,67                      | 174 | 6716,40              |                       |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%)_2R | 1000            | 0,141                    | 29,533             | 29533,3                 |                               | 182 | 5375,07              |                       |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (3%)_1R | 2000            | 0,051                    | 9,533              | 19066,7                 | 19066,67                      | 193 | 3679,87              |                       |
| Celulose_1R                            | 100             | 0,037                    | 6,422              | 642,2                   | 520,00                        | 193 | 123,95               |                       |
| celulose_2R                            | 100             | 0,026                    | 3,978              | 397,8                   |                               | 200 | 79,56                |                       |

Exemplo de cálculo, para o ensaio com o pré-tratamento com ácido a 3%(v/v):

Com os valores de absorvância obtidos, calcula-se através da curva de calibração da solução padrão de xilose, a concentração deste mesmo açúcar:

$$Abs = 0,0045 \times Conc.Xilose + 0,0081 \quad (=)$$

$$(\Rightarrow) Conc.Xilose = \left( \frac{0,051 - 0,0081}{0,0045} \right) \times 2000 = 19066,67 \text{ g/L}$$

Com as concentrações de cada ensaio, calculam-se as massas de açúcar obtidas e, respectivamente, o rendimento de cada ensaio,

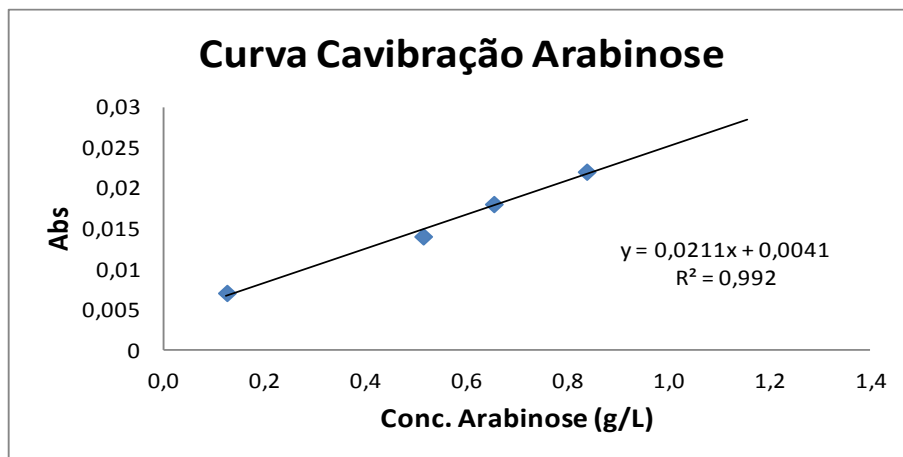
$$m_{Xilose} = Conc.Xilose \times V_{filtrado} \quad (\Rightarrow) \quad m_{Xilose} = 19066,67 \text{ g/L} \times 0,193 \text{ L} = 3679,87 \text{ g}$$

$$\eta = \frac{m_{Xilose}}{m_{amostra}} \quad (\Rightarrow) \quad \eta = \frac{3679,87}{10,0433} = 36641\% \leftarrow \text{impossível}$$

Dadas as concentrações se encontrarem na escala dos milhares, para o ensaio da xilose, estes resultados inviabilizam a utilização deste método, para a sua determinação.

#### Quantificação da Arabinose:

O gráfico da Figura B.17 representa a curva de calibração construída para a arabinose.



**Figura B.17** - Curva de calibração da arabinose, pelo método da espectrofotometria UV-Vis.

A Tabela B.68 apresenta os resultados obtidos para a concentração da arabinose nos diversos ensaios de pré-tratamento efectuados, após hidrólise enzimática.

**Tabela B.68** - Valores da concentração e massa de arabinose obtidos a partir da média das absorvâncias, para os diversos ensaios de pré-tratamento e a após hidrólise enzimática, determinada por espectrofotometria UV-Vis.

| Ensaio                                 | Factor Diluição | $\lambda = 271\text{nm}$ |                       |                            |                               | Volume Filtrado (mL) | Massa Arabinose Real (g) |
|--|-----------------|--------------------------|-----------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------|--------------------------|
|  |                 | Abs                      | Conc. Arabinose (g/L) | Conc. Arabinose Real (g/L) | Conc. Glucose Real media(g/L) |                      |                          |
| Sem Pré-tratamento                     | 2000            | 0,015                    | 0,5166                | 1033,18                    | 1033,18                       | 166                  | 171,51                   |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%)_1R | 3000            | 0,030                    | 1,2275                | 3682,46                    | 3331,75                       | 174                  | 640,75                   |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%)_2R | 1000            | 0,067                    | 2,9810                | 2981,04                    |                               | 182                  | 542,55                   |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (3%)_1R | 2000            | 0,023                    | 0,8957                | 1791,47                    | 1791,47                       | 193                  | 345,75                   |
| Celulose_1R                            | 100             | 0,015                    | 0,5166                | 51,66                      | 39,81                         | 193                  | 9,97                     |
| celulose_2R                            | 100             | 0,010                    | 0,2796                | 27,96                      |                               | 200                  | 5,59                     |

Exemplo de cálculo, para o ensaio com o pré-tratamento com ácido a 3%(v/v):

Com os valores de absorvância obtidos, calcula-se através da curva de calibração da solução padrão de arabinose, a concentração deste mesmo açúcar:

$$Abs = 0,0211 \times Conc.Arabinose + 0,0041 \quad (=)$$

$$(\Rightarrow) \quad Conc.Arabinose = \left( \frac{0,023 - 0,0041}{0,0211} \right) \times 2000 = 1791,47 \text{ g / L}$$

Com as concentrações obtidas para cada ensaio, calculam-se as massas de açúcar obtidas e, respectivamente, o rendimento de cada ensaio,

$$m_{Arabinose} = Conc.Arabinose \times V_{filtrado} \quad (\Rightarrow) \quad m_{Arabinose} = 1791,47 \text{ g / L} \times 0,193 \text{ L} = 345,75 \text{ g}$$

$$\eta = \frac{m_{Arabinose}}{m_{amostra}} \quad (\Rightarrow) \quad \eta = \frac{345,75}{10,0433} = 3443\% \leftarrow \text{impossível}$$

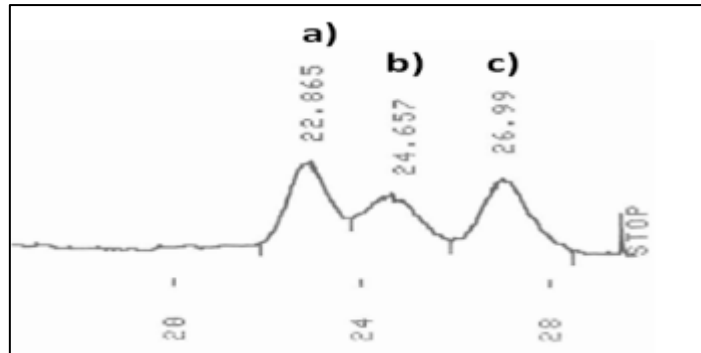
Ao analisar as diversas figuras e tabelas, torna-se evidente que os resultados não se apresentam como os mais correctos, uma vez que, os valores obtidos para cada uma das concentrações se encontram na escala dos milhares.

Todos estes resultados inviabilizam a utilização do método espectrofotométrico UV-Vis na determinação dos açúcares.

• **Método cromatográfico (HPLC)**

O método cromatográfico em causa tem como objectivo identificar e quantificar os açúcares constituintes da biomassa, de forma individual. Tratando-se de uma técnica selectiva, é possível efectuar uma curva de calibração para cada um dos açúcares pretendidos.

A Figura B.18 ilustra um dos cromatogramas obtidos, aquando da determinação dos açúcares em solução.



**Figura B.18** - Cromatograma correspondente a uma solução contendo a xilose (a), arabinose (b) e glucose (c).

Usando o tempo de retenção para identificar cada açúcar e a área correspondente, foram traçadas as curvas de calibração, para a glucose, xilose e arabinose.

A Tabela B.69 apresenta os resultados médios obtidos para as diversas concentrações dos padrões utilizados, a partir das quais se construíram as curvas de calibração.

**Tabela B.69** - Concentrações de açúcares da solução padrão (curva de calibração) e os valores obtidos para o tempo de retenção e a área do pico obtido durante na análise por HPLC.

| Diluição | Tempos Médios de Retenção (min) |           |         | Área Média do Pico (min.g/L) |           |         | Concentração (g/L) |           |         |
|----------|---------------------------------|-----------|---------|------------------------------|-----------|---------|--------------------|-----------|---------|
|          | Xilose                          | Arabinose | Glucose | Xilose                       | Arabinose | Glucose | Xilose             | Arabinose | Glucose |
| Sol. Mãe | ----                            | ----      | ----    | ----                         | ----      | ----    | 0,5080             | 0,5090    | 0,4600  |
| 4x       | 22,818                          | 24,663    | 27,119  | 1139449                      | 1029362,5 | 1135429 | 0,1270             | 0,1273    | 0,1150  |
| 5x       | 22,983                          | 24,709    | 27,382  | 515240                       | 435983    | 635026  | 0,1016             | 0,1018    | 0,0920  |
| 6x       | 23,140                          | 24,983    | 27,458  | 548791                       | 473498    | 489489  | 0,0847             | 0,0848    | 0,0767  |
| 7x       | 22,737                          | 24,502    | 27,177  | 317608                       | 261559    | 276505  | 0,0726             | 0,0727    | 0,0657  |
| 8x       | 22,247                          | 24,595    | 26,920  | 266541                       | 239140    | 239140  | 0,0635             | 0,0636    | 0,0575  |
| 10x      | 22,833                          | 24,800    | 26,927  | 310134                       | 261559    | 261530  | 0,0508             | 0,0509    | 0,0460  |

Nas figuras seguintes (Figura B.19, Figura B.20, Figura B.21) apresentam-se as respectivas rectas de calibração para os açúcares objecto de estudo.

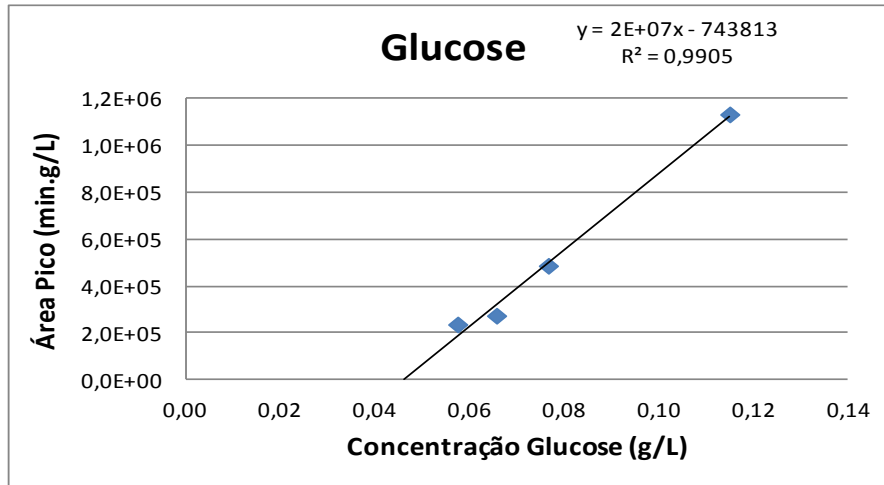


Figura B.19 - Curva de calibração da glucose, pelo método do HPLC.

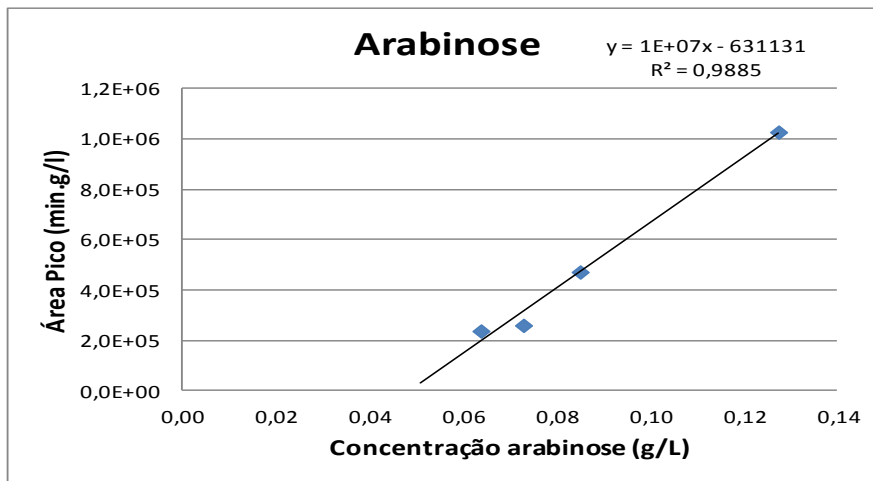


Figura B.20 - Curva de calibração da arabinose, pelo método do HPLC.

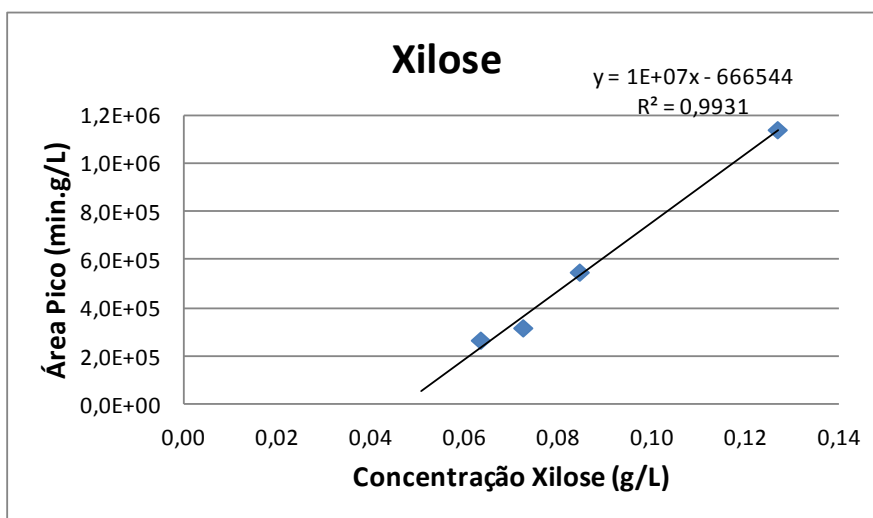


Figura B.21 - Curva de calibração da xilose, pelo método do HPLC..

Na Tabela B.70 encontram-se os resultados obtidos para a quantificação dos açúcares obtidos após aplicação dos diferentes pré-tratamentos e sequente hidrólise enzimática nas condições de referência.

**Tabela B.70** - Valores de concentração de açúcares obtidos a partir da análise dos tempos de retenção e das áreas dos picos obtidos na análise por HPLC, para a avaliação da eficiência dos pré-tratamentos.

| Ensaio                              | Réplica | Diluição    | Réplica | Área <sub>Média</sub> do Pico (min.g/L) |           |         | Concentração (g/L) |           |         | Concentração real (g/L) |           |         | Concentração real média(g/L) |           |         |
|-------------------------------------|---------|-------------|---------|---|-----------|---------|--------------------|-----------|---------|-------------------------|-----------|---------|------------------------------|-----------|---------|
|                                     |         |             |         | Xilose                                  | Arabinose | Glucose | Xilose             | Arabinose | Glucose | Xilose                  | Arabinose | Glucose | Xilose                       | Arabinose | Glucose |
| S/ Pré-tratamento                   | 1       | S/ diluição | -----   | -----                                   | -----     | -----   | 0,5080             | 0,5090    | 0,4600  | 0,5080                  | 0,5090    | 0,4600  | 0,5080                       | 0,5090    | 0,4600  |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%) | 1       | 20x         | 1       | 291452                                  | 1120968   | 1446049 | 0,0958             | 0,1752    | 0,1095  | 1,9160                  | 3,5042    | 2,1899  | 1,4773                       | 3,4020    | 1,9607  |
|                                     |         |             | 2       |   |           |         |                    |           |         |                         |           |         |                              |           |         |
|                                     | 2       | 10x         | 1       | 0                                       | 2671640   | 2417554 | 0,0000             | 0,330277  | 0,1581  | 1,0387                  | 3,2997    | 1,7316  |                              |           |         |
| 2                                   | 25x     | 3           | 164409  |   |           |         |                    |           |         |                         |           |         | 687527                       | 762258    | 0,0831  |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (3%) | 1       | 20x         | 1       | 0                                       | 1584301   | 1315269 | 0,0000             | 0,2215    | 0,1030  | 0,0000                  | 4,4309    | 2,0591  | 0,0000                       | 4,4309    | 2,0591  |
|                                     |         |             | 2       |   |           |         |                    |           |         |                         |           |         |                              |           |         |
|                                     |         |             | 3       |   |           |         |                    |           |         |                         |           |         |                              |           |         |
| Celulose                            | 1       | S/ diluição | 1       | 0                                       | 0         | 1514704 | 0,0000             | 0,0000    | 0,1129  | 0,0000                  | 0,0000    | 0,1129  | 0,0000                       | 0,0000    | 0,0965  |
|                                     |         |             | 2       |   |           |         |                    |           |         |                         |           |         |                              |           |         |
|                                     | 2       | S/ diluição | 1       | 0                                       | 0         | 855672  | 0,0000             | 0,0000    | 0,0800  | 0,0000                  | 0,0000    | 0,0800  |                              |           |         |
|                                     |         |             | 2       |   |           |         |                    |           |         |                         |           |         |                              |           |         |

Exemplo de cálculo, para o ensaio com o pré-tratamento por hidrólise ácida a 3%(v/v):

Com os valores de área de pico obtidos calcula-se, usando da curva de calibração da glucose, a concentração deste mesmo açúcar:

$$Area\ Pico = 2 \times 10^7 \times Conc.Glucose - 743813 \quad (=)$$

$$(\Rightarrow) Conc.Glucose = \left( \frac{1315269 + 743813}{2 \times 10^7} \right) \times 20 = 2,059\ g / L$$

Com as concentrações dos açúcares obtidos em cada ensaio, calculam-se as massas de açúcar obtidas para cada ensaio,

$$m_{Glucose} = Conc.Glucose \times V_{filtrado} \quad (\Rightarrow) \quad m_{Glucose} = 2,059 \text{ g/L} \times 0,193 \text{ L} = 0,397 \text{ g}$$

Para a quantificação dos diversos açúcares, o procedimento a tomar é o mesmo, tendo em atenção as equações das respectivas curvas de calibração.

$$Area \text{ Pico} = 1 \times 10^7 \times Conc.Arabinose - 631131$$

$$Area \text{ Pico} = 1 \times 10^7 \times Conc.Xilose - 666544$$

A partir da análise do gráfico obtido é possível constatar que, tal como quando se fez a análise pelo método do DNS e pelo método refractométrico, o pré-tratamento com ácido a 3% proporciona uma maior concentração de açúcares, glucose (2,06g/L), arabinose (4,43g/L), não havendo formação de xilose.

Apesar de o método ser o mais selectivo, não foi possível continuar a utilizá-lo, dado que a coluna começou a acusar deficiência na separação dos açúcares, além de sujidade no sistema de injeção e um aumento descontrolado da pressão na coluna do HPLC. Apesar de não constituir risco de explosão, uma vez que os líquidos não são muito compressíveis, a ruptura de um componente do sistema, resulta na perda do solvente e num aumento do perigo de incêndio (Freire 2006). Assim sendo, por questões de segurança e falta de reprodutibilidade das análises, optou-se por excluí-lo das restantes etapas.

Com base nos ensaios realizados, os resultados demonstraram que a utilização do ácido sulfúrico como agente hidrolisante, na concentração de 3% (v/v), implica uma maior efectividade no enfraquecimento da estrutura da lenhina e na hidrólise do material celulósico, na maioria dos ensaios realizados.

### **B.3.2. Fermentação**

Após a determinação do pré-tratamento a utilizar (ácido sulfúrico a 3%, à temperatura de 85°C e com um tempo de reacção de 6h, na razão massa borra/volume ácido de 10g/200mL), foram efectuados novos ensaios de pré-tratamento, seguidos da hidrólise enzimática e por fim, da etapa de fermentação.

A fermentação foi realizada por intermédio da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, na razão de 1,10g/L, durante 48 horas, a 30°C e 50rpm.

Exemplo de cálculo, para a determinação da massa de levedura a utilizar:

Tendo como base de cálculo a relação teórica (Soares, 2006):

$$1 \times 10^{10} \text{ células} \Leftrightarrow 1\text{g Levedura}$$

$$1 \times 10^7 \text{ células} \Leftrightarrow 1\text{mL}$$

Assim sendo, com um volume de solução de 870mL, a massa de levedura necessária é de:

$$m_{\text{Levedura}} = \frac{870 \times 10^7}{1 \times 10^{10}} = 0,870\text{g}$$

Sendo a massa realmente pesada igual a 0,9652g.

Ao longo da fermentação foram retiradas diversas amostras, as quais foram avaliadas relativamente à concentração de açúcares, pelos métodos do DNS e da refractometria.

- **Método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS)**

Tal como nos processos anteriormente descritos, a determinação da concentração de glucose é efectuada recorrendo à curva de calibração da mesma. Através deste resultado e com o volume correspondente, é calculada a massa de glucose e, seguidamente, o rendimento do processo, no que diz respeito aos açúcares.

Após a determinação dos açúcares formados durante a etapa da hidrólise enzimática, foi calculada a sua eficiência tendo como base os valores teóricos referidos na bibliografia (capítulo 1.2.3)

A Tabela B.71 e a Figura B.22 apresentam a variação da concentração de glucose durante a etapa da hidrólise enzimática

**Tabela B.71** - Valores de concentração da glucose obtidos ao longo do processo da hidrólise enzimática.

| Ensaio Hidrólise Enzimática (h) | Massa (g) | Factor Diluição | Abs   | Abs   | Abs Médio | Conc. Glucose (g/L) |
|---------------------------------|-----------|-----------------|-------|-------|-----------|---------------------|
| 0,5                             |           |                 | 0,097 | 0,097 | 0,097     | 11,530              |
| 1,5                             | 50,8764   | 25              | 0,102 | 0,102 | 0,102     | 12,013              |
| 2                               |           |                 | 0,114 | 0,115 | 0,115     | 13,219              |



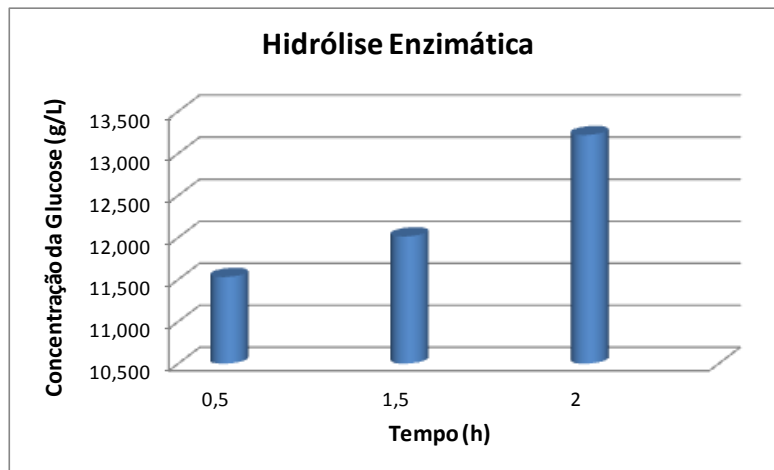


Figura B.22 - Variação da concentração de glucose, ao longo da etapa da hidrólise enzimática.

O cálculo da eficiência da hidrólise enzimática tendo como base o teor de celulose (8,6%) e hemicelulose (36,7%) encontrados na bibliografia (capítulo 1.2.3) é descrito nos passos seguintes.

Calculou-se a massa seca da amostra utilizada, sabendo que a sua massa inicial foi de 50,8764g e que o teor de humidade era de 6,2% (teor de humidade obtido para a borra de café, após extracção do óleo), obtendo-se o valor de 47,2112g.

$$massa\ sec\ a_{Borra\ de\ Café} = 50,8764 - 50,8764 \times 0,062 = 47,7221g$$

Após o cálculo da massa da borra de café, em base seca, e tendo por base o teor de celulose máximo obtido experimentalmente (15,80%) e o teor de hemicelulose bibliográfico (36,7%), a percentagem de material celulósico toma o valor de 52,5% (15,80%+36,7%), estimando-se uma massa de celulose e hemicelulose na amostra em 25,05g

$$m_{celulose+hemicelulose} = 0,525 \times massa\ sec\ a_{Borra\ de\ Café} = 0,525 \times 47,7221 = 25,05g$$

Seguiu-se o cálculo da eficiência da hidrólise, efectuado a partir da massa de celulose e hemicelulose e da massa de glucose obtida 11,5g (correspondente a uma concentração de 13,219g/L).

$$Eficiência_{Hidrólise\ Enzimática} = \frac{m_{açúcares(Glucose)}}{m_{celulose+hemicelulose}} \times 100 = \frac{11,5}{25,05} \times 100 = 45,9\%$$

Em relação à etapa de fermentação, a Tabela B.72 resume todos os resultados obtidos ao longo do processo bem como o rendimento do consumo de açúcares.

**Tabela B.72** - Resultados obtidos na quantificação dos açúcares, pelo método do DNS, após o processo fermentativo.

| Ensaio após Fermentação (h) | Massa (g) | Factor Diluição | Abs <sub>Médio</sub> | Conc. Glucose (g/L) | V <sub>Filtrado</sub> (mL) | Massa Glucose (g) | Rendimento fermentação |
|-----------------------------|-----------|-----------------|----------------------|---------------------|----------------------------|-------------------|------------------------|
| 0                           |           | 25              | 0,1145               | 13,219              | 870                        | 11,500            | 0                      |
| 0,5                         |           | 20              | 0,119                | 10,884              | 851,3                      | 9,265             | 19,4%                  |
| 1,5                         |           | 25              | 0,082                | 10,083              | 832,5                      | 8,394             | 27,0%                  |
| 2                           |           | 25              | 0,079                | 9,745               | 813,8                      | 7,930             | 31,0%                  |
| 2,5                         |           | 25              | 0,078                | 9,697               | 795,0                      | 7,709             | 33,0%                  |
| 3                           |           | 25              | 0,078                | 9,649               | 776,3                      | 7,490             | 34,9%                  |
| 3,5                         |           | 25              | 0,068                | 8,732               | 757,5                      | 6,615             | 42,5%                  |
| 18,5                        |           | 25              | 0,029                | 4,921               | 738,8                      | 3,635             | 68,4%                  |
| 21                          | 50,8764   | 25              | 0,025                | 4,583               | 720,0                      | 3,300             | 71,3%                  |
| 23,5                        |           | 10              | 0,100                | 4,728               | 701,3                      | 3,315             | 71,2%                  |
| 25,5                        |           | 10              | 0,088                | 4,265               | 682,5                      | 2,911             | 74,7%                  |
| 27,5                        |           | 10              | 0,083                | 4,072               | 663,8                      | 2,703             | 76,5%                  |
| 41,5                        |           | 10              | 0,073                | 3,667               | 645,0                      | 2,365             | 79,4%                  |
| 43                          |           | 10              | 0,069                | 3,512               | 626,3                      | 2,199             | 80,9%                  |
| 44                          |           | 10              | 0,071                | 3,609               | 607,5                      | 2,192             | 80,9%                  |
| 46                          |           | 10              | 0,069                | 3,531               | 588,8                      | 2,079             | 81,9%                  |
| 48                          |           | 10              | 0,065                | 3,358               | 570                        | 1,914             | 83,4%                  |

Exemplo de cálculo, para o ensaio de fermentação em 48h:

Com os valores de absorvância obtidos, calcula-se usando a curva de calibração da glucose, a concentração deste mesmo açúcar:

$$Abs = 0,2591 \times Conc.Glucose - 0,0225 \quad (=)$$

$$Conc.Glucose = \left( \frac{0,065 + 0,0225}{0,2591} \right) \times 10 = 3,358 \text{ g/L}$$

Com as concentrações obtidas em cada ensaio, calculam-se as massas de açúcar obtidas.

$$m_{Glucose} = Conc.Glucose \times V_{filtrado} \quad (=) \quad m_{Glucose} = 3,358 \text{ g/L} \times 0,570 \text{ L} = 1,914 \text{ g}$$

O rendimento do processo fermentativo é calculado, tendo sempre como base a massa da amostra de açúcares inicialmente determinada (zero horas)

$$\eta = \frac{m_{Glucose(0h)} - m_{Glucose(48h)}}{m_{Glucose(0h)}} \quad (=) \quad \eta = \frac{11,500 - 1,914}{11,500} = 83,4\%$$

- **Método refractométrico**

A determinação da concentração de glucose, tal como tem sido referido, resultou da equação obtida pela curva de calibração deste açúcar. Através deste resultado e com o volume correspondente, é calculada a massa de glucose e, seguidamente, o rendimento do processo, no que diz respeito aos açúcares.

Uma vez que, durante as determinações do °Brix, as temperaturas das leituras, variaram constantemente e de forma significativa, tornou-se necessário efectuar a sua correcção, para a obtenção de um resultado mais real. Além da correcção da acidez do meio, retirando 5°Brix a todos os resultados, uma vez que este corresponde ao grau Brix, de uma solução de ácido sulfúrico a 3%.

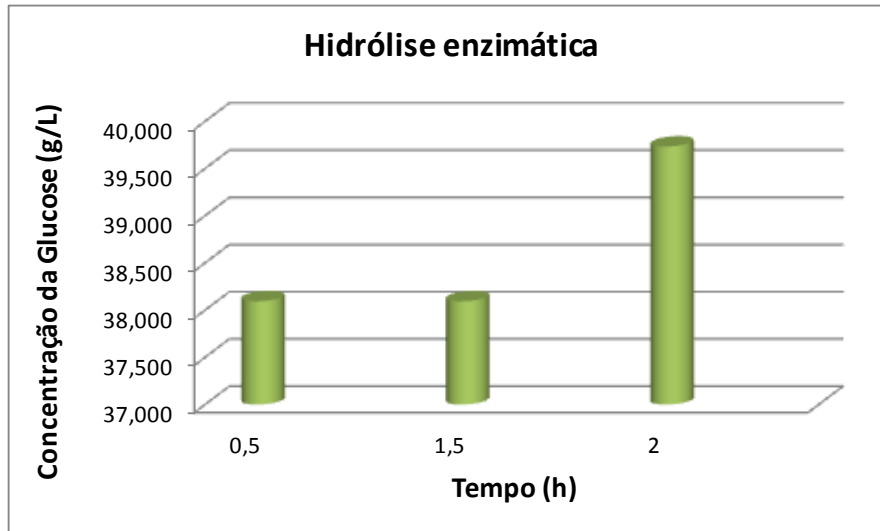
Para o cálculo do factor correctivo, a nível da temperatura, foram efectuadas várias interpolações, tendo por base a Tabela B.63 consultada em (Marques 2007).

Após a determinação dos açúcares libertados durante a etapa da hidrólise enzimática, foi calculada a eficiência desta etapa tendo como base os valores teóricos referidos na bibliografia (capítulo 1.2.3)

A Tabela B.73 e a Figura B.23 apresentam a variação da concentração de glucose durante a etapa da hidrólise enzimática

**Tabela B.73** - Valores de concentração da glucose obtidos ao longo da etapa da hidrólise enzimática.

| Ensaio Hidrólise Enzimática (h) | Massa (g) | T (°C) | °Brix1 | °Brix2 | °Brix <sub>Médio</sub> | F     | °Brix Corrigido | Conc. Glucose (g/L) |
|---------------------------------|-----------|--------|--------|--------|------------------------|-------|-----------------|---------------------|
| 0,5                             |           |        | 4,25   | 4,25   | 4,3                    | 0,164 | 4,4             | 38,094              |
| 1,5                             | 50,8764   | 22,5   | 4,25   | 4,25   | 4,3                    | 0,164 | 4,4             | 38,094              |
| 2                               |           |        | 4,4    | 4,4    | 4,4                    | 0,164 | 4,6             | 39,734              |



**Figura B.23** - Variação da concentração de glucose, ao longo da etapa da hidrólise enzimática, avaliada pelo método refractométrico.

O cálculo da eficiência da hidrólise enzimática tendo por base os cálculos efectuados anteriormente para a massa de celulose e hemicelulose e a massa de glucose obtida experimentalmente, pelo método refractométrico (34,57g), tomou o valor de:

$$Eficiência_{HidróliseEnzimática} = \frac{m_{açúcares(Glucose)}}{m_{celulose+hemicelulose}} \times 100 = \frac{34,57}{25,05} \times 100 = 138,0\%$$

Como é possível verificar, o resultado apresenta valores absurdos, indicando a possível interferência de outros compostos na quantificação dos açúcares.

Em relação à fermentação, a Tabela B.74 resumem-se todos os resultados obtidos ao longo do processo e o respectivo rendimento do consumo de açúcares

**Tabela B.74** - Resultados obtidos na determinação dos açúcares, pelo método refractométrico, após o processo fermentativo.

| Ensaio (h) | Massa (g) | °Brix médio | T (°C) | F     | °Brix Corrig. | Conc. Glucose (g/L) | V Filtrado (mL) | Massa Glucose (g) | Rendimento da Fermentação |
|------------|-----------|-------------|--------|-------|---------------|---------------------|-----------------|-------------------|---------------------------|
| 0          |           | 4,4         | 22,5   | 0,164 | 4,56          | 39,727              | 870,0           | 34,563            | -----                     |
| 0,5        |           | 3,9         | 22,8   | 0,184 | 4,08          | 34,487              | 851,3           | 29,357            | 15,1%                     |
| 1,5        |           | 3,6         | 22,9   | 0,190 | 3,79          | 31,282              | 832,5           | 26,629            | 23,0%                     |
| 2          |           | 3,4         | 22,8   | 0,183 | 3,58          | 29,017              | 813,8           | 24,701            | 28,5%                     |
| 2,5        |           | 3           | 22,7   | 0,175 | 3,18          | 24,566              | 795,0           | 20,911            | 39,5%                     |
| 3          |           | 3           | 22,8   | 0,182 | 3,18          | 24,642              | 776,3           | 20,976            | 39,3%                     |
| 3,5        |           | 3           | 22,7   | 0,175 | 3,18          | 24,566              | 757,5           | 20,911            | 39,5%                     |
| 18,5       |           | 2,9         | 22,6   | 0,171 | 3,07          | 23,427              | 738,8           | 19,942            | 42,3%                     |
| 21         | 50,8764   | 2,9         | 22,7   | 0,175 | 3,07          | 23,472              | 720,0           | 19,980            | 42,2%                     |
| 23,5       |           | 2,5         | 22,5   | 0,160 | 2,66          | 18,943              | 701,3           | 16,125            | 53,3%                     |
| 25,5       |           | 2,4         | 22,6   | 0,167 | 2,57          | 17,926              | 682,5           | 15,259            | 55,9%                     |
| 27,5       |           | 2,5         | 22,7   | 0,174 | 2,67          | 19,096              | 663,8           | 16,256            | 53,0%                     |
| 41,5       |           | 2,5         | 22,7   | 0,174 | 2,67          | 19,096              | 645,0           | 16,256            | 53,0%                     |
| 43         |           | 2,5         | 22,7   | 0,167 | 2,67          | 19,020              | 626,3           | 16,190            | 53,2%                     |
| 44         |           | 2,4         | 22,6   | 0,167 | 2,57          | 17,926              | 607,5           | 15,259            | 55,9%                     |
| 46         |           | 2,4         | 22,6   | 0,177 | 2,58          | 18,037              | 588,8           | 15,354            | 55,6%                     |
| 48         |           | 2,3         | 22,5   | 0,180 | 2,48          | 16,974              | 570,0           | 14,449            | 58,2%                     |

Exemplo de cálculo, para o ensaio de fermentação em 48h:

Com os valores de absorvância obtidos, calcula-se usando a curva de calibração da solução glucose, a concentração deste mesmo açúcar:

$$^{\circ}Brix = 0,0916 \times Conc.Glucose + 0,9248$$

$$(\Rightarrow) Conc.Glucose = \left( \frac{2,48 + 0,9248}{0,0916} \right) = 16,97 \text{ g / L}$$

Com as concentrações obtidas em cada ensaio, calculam-se as massas de açúcar obtidas.

$$m_{Glucose} = Conc.Glucose \times V_{filtrado} \quad (\Rightarrow) \quad m_{Glucose} = 16,97 \text{ g / L} \times 0,570 \text{ L} = 14,45 \text{ g}$$

O rendimento do processo fermentativo, no que diz respeito ao consumo de açúcares, é calculado, tendo sempre como base a massa da amostra de açúcares inicialmente determinada (zero horas)

$$\eta = \frac{m_{Glucose(0h)} - m_{Glucose(48h)}}{m_{Glucose(0h)}} \quad (=) \quad \eta = \frac{34,563 - 14,45}{34,563} = 58,2\%$$

Comparando os resultados obtidos pelo método refractométrico (58,2%) e pelo método do DNS (83,4%), é possível verificar uma diferença significativa na eficiência do consumo de açúcares durante o processo fermentativo. Esta diferença deve-se às características do método utilizado, dado que o método do DNS, apenas quantifica os açúcares redutores presentes na amostra, enquanto o método refractométrico quantifica as substâncias solúveis, na sua maioria açúcares e alguns ácidos (Silva, *et al.* 2008); (Macedo *et al.*, 2003)). Sendo assim, o método do DNS apresenta-se como o mais selectivo, logo, é o método escolhido para a avaliação da eficiência na produção do etanol.

### B.3.3. Determinação do etanol

Na explicação de todo o processo de determinação do etanol apenas será considerado o método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS).

O etanol foi determinado segundo quatro hipóteses:

- A produção de etanol teórica máxima, tendo em conta, a conversão total do material celulósico, em açúcares fermentáveis (etanol teórico, máximo).
- A produção de etanol teórica, cujos resultados dizem respeito ao valor máximo de etanol que se obteria tendo por base, a quantidade de açúcares consumida experimentalmente e o rendimento de 100% na fermentação (etanol teórico).
- A massa de etanol destilada que diz respeito, à massa de etanol obtido experimentalmente, após destilação por arrastamento vapor (etanol destilado).
- E, a produção real de etanol, com a determinação efectuada por cromatografia gasosa (etanol real).

#### Etanol Real

Para a determinação do etanol real, obtido pelo método cromatográfico, foi necessário traçar uma curva de calibração para o etanol, utilizando como solvente o xileno.

A curva de calibração encontra-se representada pela Figura B.24.

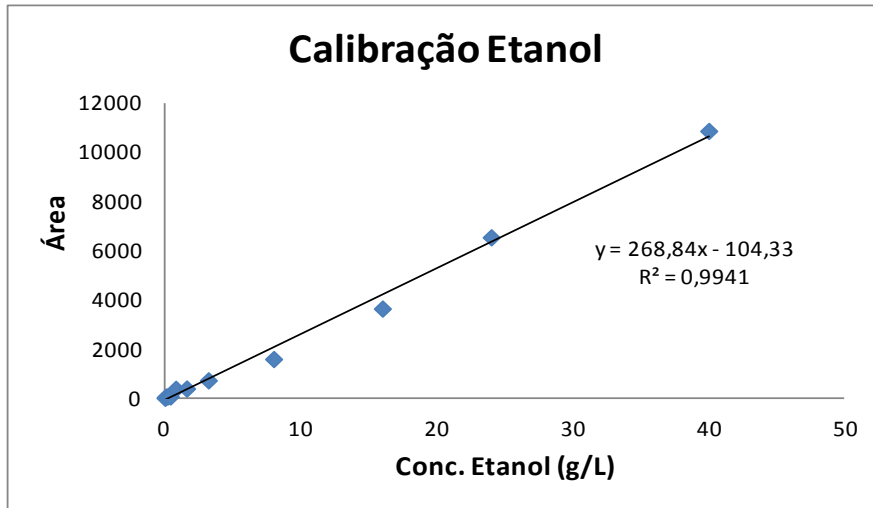


Figura B.24 - Curva de calibração para o etanol, obtida pela leitura das áreas, por cromatografia gasosa.

Ao longo da fermentação, foram recolhidas algumas amostras, para uns pequenos eppendorfs, para posterior quantificação do etanol.

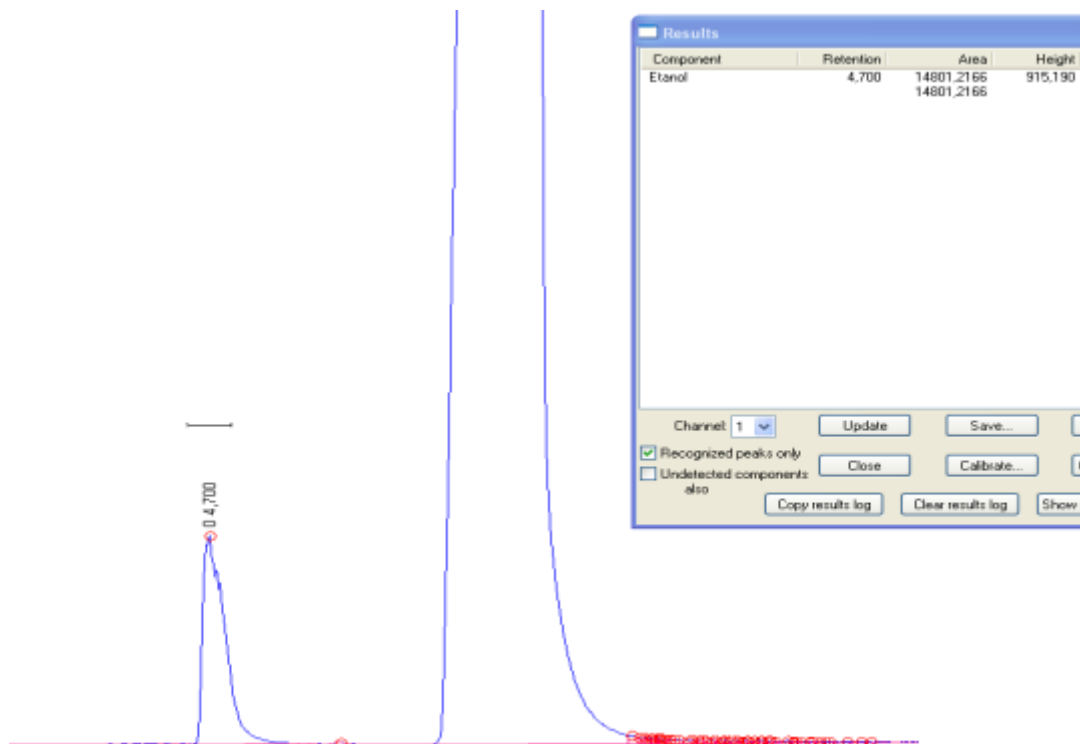


Figura B.25 - Cromatograma obtido com a solução padrão de etanol.

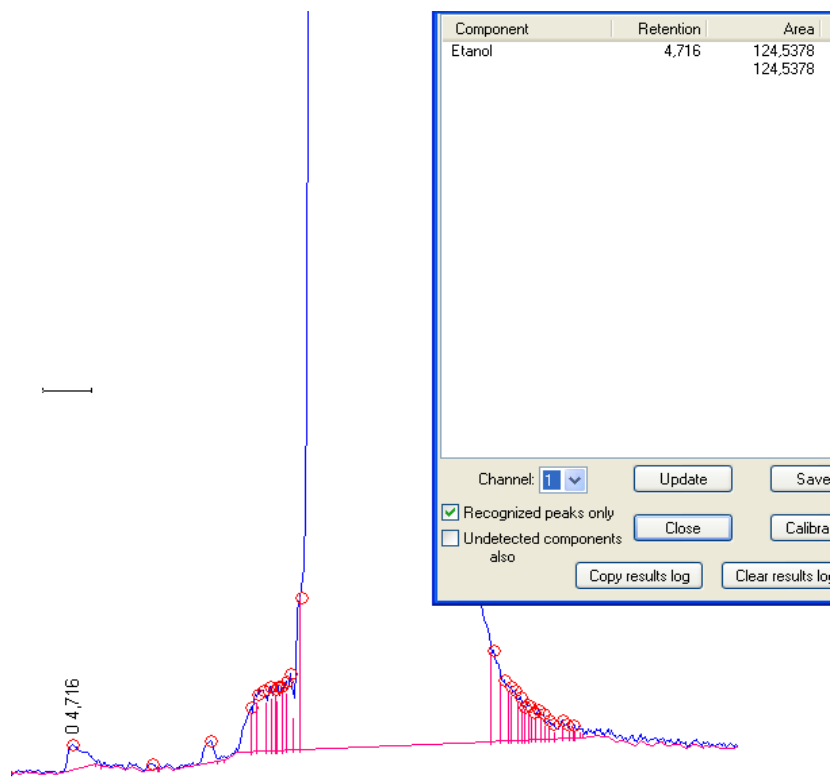


Figura B.26 - Cromatograma obtido na determinação do etanol, no ensaio 1.

A determinação do etanol obtido resultou do cálculo da concentração de etanol, a partir das áreas obtidas para cada ensaio e de acordo com a curva de calibração.

Exemplo do cálculo da concentração de etanol no ensaio da fermentação em 48 horas:

$$Area\ Pico = 268,84 \times Conc.E\ tan\ ol - 104,33 \quad (=)$$

$$(\Rightarrow) Conc.E\ tan\ ol = \left( \frac{596,5670 + 104,33}{268,84} \right) = 2,607\ g / L$$

Com as concentrações de cada ensaio, calculam-se as massas de açúcar obtidas para cada ensaio,

$$m_{E\ tan\ ol} = Conc.E\ tan\ ol \times V_{filtrado} \quad (\Rightarrow) \quad m_{E\ tan\ ol} = 2,607\ g / L \times 0,507L = 1,486g$$

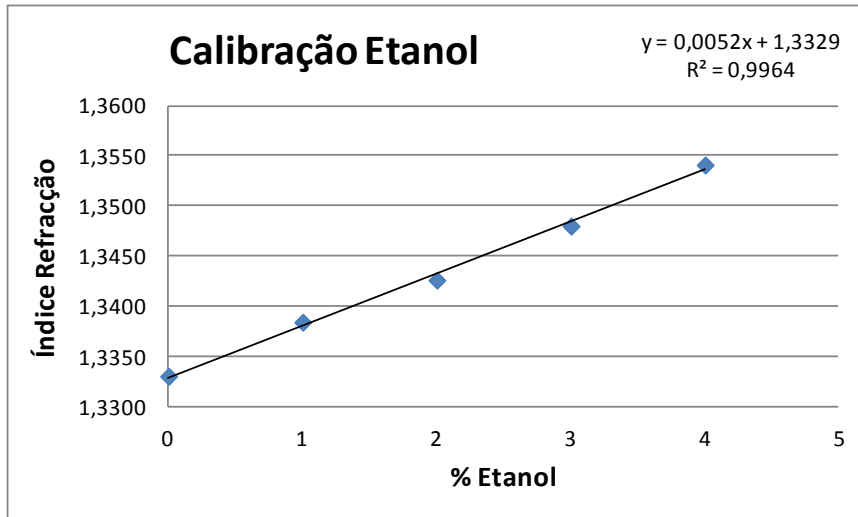


**Tabela B.75** - Resultados obtidos na determinação do etanol, resultante do processo fermentativo.

| Ensaio após Fermentação (h) | Massa (g) | Área     | Volume(L) | Conc. Etanol (g/L) | massa etanol (g) | mol etanol |
|-----------------------------|-----------|----------|-----------|--------------------|------------------|------------|
| 0                           |           | 0        | 0,870     | 0                  | ---              | ---        |
| 0,5                         |           | 16,1208  | 0,851     | 0,448              | 0,3814           | 0,0083     |
| 1,5                         |           | 20,3396  | 0,833     | 0,464              | 0,3861           | 0,0084     |
| 2                           |           | 29,1312  | 0,814     | 0,496              | 0,4040           | 0,0088     |
| 2,5                         |           | 30,8404  | 0,795     | 0,503              | 0,3997           | 0,0087     |
| 3                           |           | 19,4744  | 0,776     | 0,461              | 0,3575           | 0,0078     |
| 3,5                         |           | 55,9174  | 0,758     | 0,596              | 0,4515           | 0,0098     |
| 18,5                        |           | 124,5378 | 0,739     | 0,851              | 0,6289           | 0,0137     |
| 21                          | 50,8764   | 136,0176 | 0,720     | 0,894              | 0,6437           | 0,0140     |
| 23,5                        |           | 155,3421 | 0,701     | 0,966              | 0,6773           | 0,0147     |
| 25,5                        |           | 184,5467 | 0,683     | 1,075              | 0,7334           | 0,0159     |
| 27,5                        |           | 234,6987 | 0,664     | 1,261              | 0,8370           | 0,0182     |
| 41,5                        |           | 398,7658 | 0,645     | 1,871              | 1,2070           | 0,0262     |
| 43                          |           | 453,5667 | 0,626     | 2,075              | 1,2996           | 0,0283     |
| 44                          |           | 473,3452 | 0,607     | 2,149              | 1,3054           | 0,0284     |
| 46                          |           | 543,5853 | 0,589     | 2,410              | 1,4189           | 0,0308     |
| 48                          |           | 596,5670 | 0,570     | 2,607              | 1,4861           | 0,0323     |

Etanol destilado:

Para o cálculo do etanol destilado, foi utilizada a curva de calibração adaptada de Nunes (2011), construída segundo a análise de diferentes concentrações da solução etanol/água, em função do índice de refração.



**Figura B.27** - Curva de calibração da %etanol dissolvido em água em função do índice de refração da mistura Etanol/água (Nunes, 2011).

Na Tabela B.76 apresenta-se o índice de refração resultante da destilação do mosto da fermentação, por destilação arrastamento de vapor.

**Tabela B.76** - Índice de refração obtido experimentalmente após destilação por arrastamento de vapor.

| Ensaio | Índice de Refracção |
|--------|---------------------|
| 1      | 1,3341              |
| 2      | 1,3342              |
| 3      | 1,3342              |
| Média  | 1,3342              |

A percentagem de etanol presente em solução é igual ao valor de:

$$\text{Índice refração} = 0,0052 \times \%_{Etanol} + 1,3329 \quad (=)$$

$$\%_{Etanol} = \frac{1,3342 - 1,3329}{0,0052} = 0,25\%$$

Considerando a determinação do etanol destilado obtida a partir dos seguintes dados:

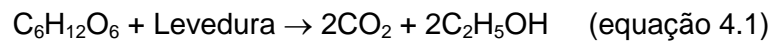
$$\rho_{E\text{tanol}} = 0,7894 \text{ g} / \text{cm}^3$$

$$V = 570 \text{ mL}$$

$$m_{E\text{tanol destilado}} = (570 \times 0,0025) \times 0,7894 = 1,125 \text{ g}$$

### Etanol teórico:

Para o cálculo do etanol teórico foi utilizada a estequiometria da reacção fermentativa.



$$\begin{aligned} m_{E\text{tanol teórico}} &= \frac{m_{\text{Glucose}(t=0h)} - m_{\text{Glucose}(t=48h)}}{180,16 \text{ g} / \text{mol}} \times 2 \times 46,07 \text{ mol} / \text{L} \\ &= \frac{(11,500 - 1,914)}{180,16} \times 2 \times 46,07 = 4,90 \text{ g} \end{aligned}$$

### Etanol Teórico (produção máxima)

A produção de etanol teórica máxima, diz respeito à produção de etanol, tendo em conta a conversão total do material celulósico em açúcares fermentáveis. Descrito na bibliografia (Capítulo 1.2.3), por Mussatto et al. (2011). Na borra de café, o teor de celulose é de 8,6% e o de hemicelulose 36,7%, totalizando os 45,3% de material celulósico. Tendo por base esse teor e a eficiência da hidrólise (50,9%) e da fermentação (83,4%), a produção máxima de etanol seria igual a 9,18g.

$$\eta_{\text{Hidroliseenzimática}} = 50,9\%$$

$$\eta_{\text{Fermentação}} = 83,4\%$$

$$m_{\text{celulose+hemicelulose}} = 21,62 \text{ g}$$

$$m_{E\text{tanol destilado}} = 21,62 \times 0,509 \times 1 \times 0,834 = 9,18 \text{ g}$$

#### B.4. Caracterização das cápsulas metálicas

A caracterização das cápsulas metálicas, teve como base as diversas curvas de calibração construídas para diversos metais, usando espectrofotometria de absorção atómica e são descritas em seguida.

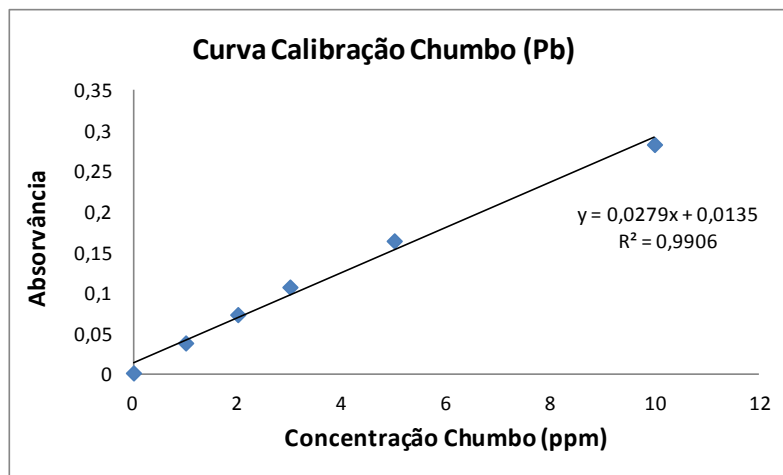


Figura B.28 - Curva de calibração para o Chumbo (Pb).

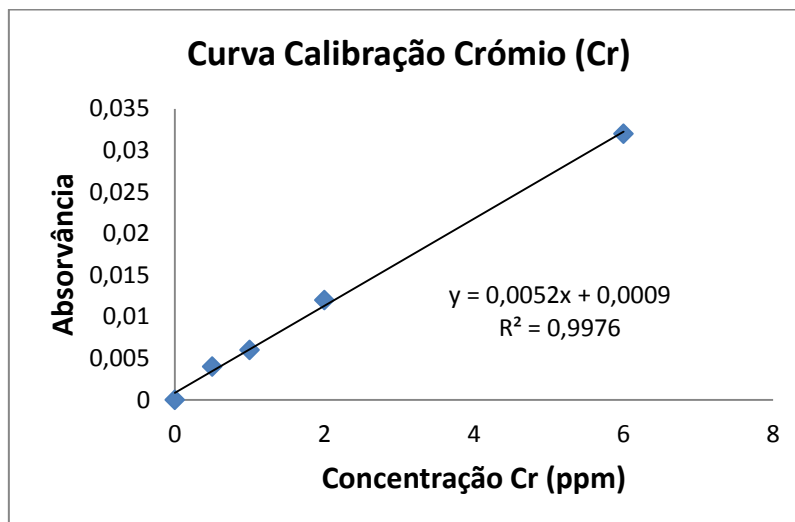


Figura B.29 - Curva de calibração para o Crómio (Cr).

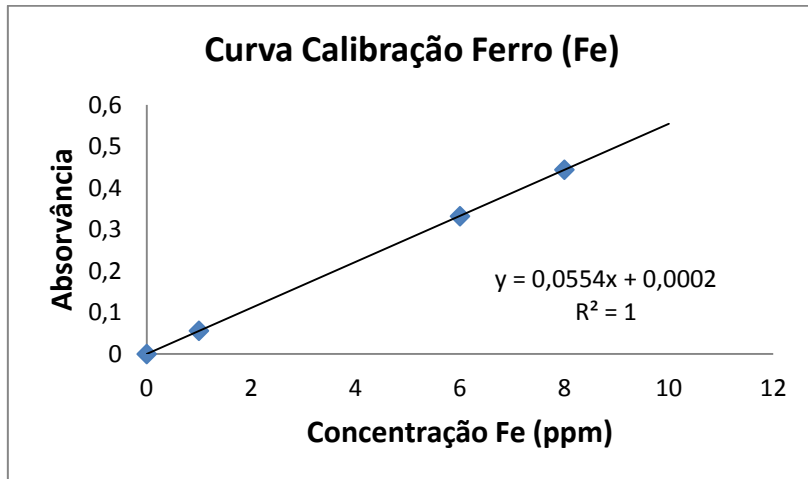


Figura B.30 - Curva de calibração para o Ferro (Fe).

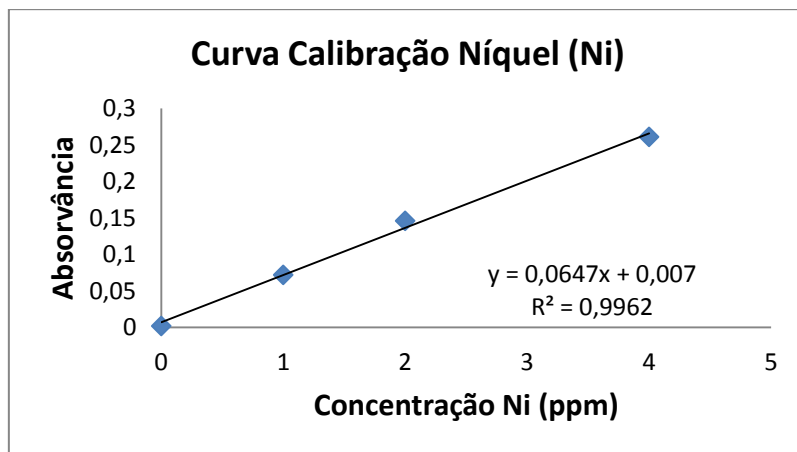


Figura B.31 - Curva de calibração para o Níquel (Ni).

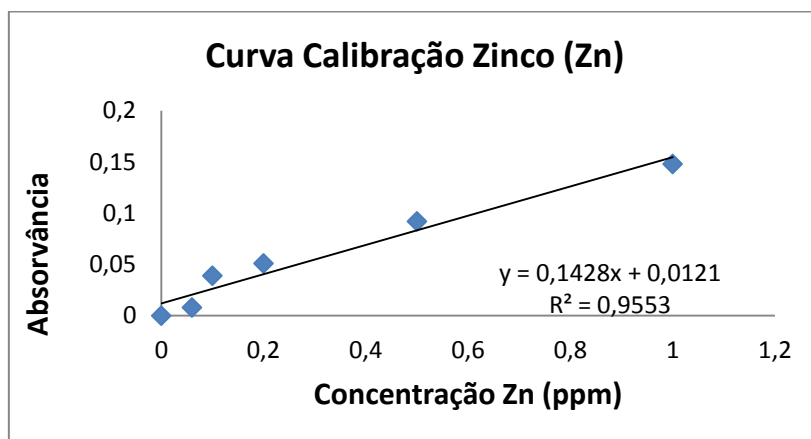


Figura B.32 - Curva de calibração para o Zinco (Zn).

## B.5. Custos inerentes ao Pré-tratamento

A comparação entre o pré-tratamento com ácido sulfúrico a 3% (v/v) com o pré-tratamento ácido, seguido do pré-tratamento básico foi efectuada tomando em consideração os seus gastos energéticos e os gastos relacionados com os reagentes.

Assim sendo, neste subcapítulo serão apresentados alguns desses cálculos.

### Gastos energéticos:

Para o cálculo da energia consumida, são aplicadas as seguintes equações:

$$Energia Consumida_{(kWh)} = Potência do equipamento_{(kW)} \times tempo operação_{(h)}$$

Assumindo que a tarifa aplicada no laboratório de tecnologia é de “baixa tensão especial”, habitualmente empregue em pequenos negócios, e tendo por base, uma utilização média e um período horário equivalente a “horas cheias”, (EDP, 2011), o custo por kWh iguala o valor de 0,1028 €.

Assim sendo, no cálculo do custo energético total, as fórmulas envolvidas são as seguintes:

$$Custo Energia Consumida_{(euros/ensaio)} = Energia consumida_{(kWh)} \times Custo energético_{(euros/kWh)}$$

$$Custo Total Energético_{(euros)} = Custo Energia Consumida_{(euros/ensaio)} \times n^{\circ} Ensaio$$

### Gastos com os reagentes:

Nos processos em causa, apenas será avaliado o gasto decorrente da utilização de ácido sulfúrico e o hidróxido de sódio, como reagente reaccional.

Tendo por base o preço do reagente, e o seu volume/massa utilizado (Tabela B.77), o cálculo é efectuado da seguinte forma:

$$Custo Total Reagentes_{(euros)} = Custo Reagente_{(euros/L ou kg)} \times Volume_{(L)} / massa_{(kg)} utilizada \times n^{\circ} Ensaio$$

**Tabela B.77** - Valor comercial dos reagentes.

| Reagente           | Preço (€/kg ou €/L) |
|--------------------|---------------------|
| Ácido Sulfúrico    | 4,25                |
| Hidróxido de Sódio | 3,6                 |

Assim sendo, serão apresentados em seguida, todos os cálculos efectuados, tais como os resultados obtidos para cada um dos pré-tratamentos.

Pré-tratamento com ácido a 3%(v/v):

Sabendo que o processo foi efectuado utilizando um banho termostaticado, com uma potência de 1750W (1,75kW), durante 6 horas e um volume de 200mL de ácido sulfúrico a 3% (v/v), os gastos inerentes à aplicação deste pré-tratamento são calculados de seguida.

$$\begin{aligned} \text{Energia Consumida}_{(kWh)} &= \text{Potência do equipamento}_{(kW)} \times \text{tempo operação}_{(h)} \\ (=) \text{Energia Consumida} &= 1,75kW \times 6h = 10,5kWh \end{aligned}$$

A energia consumida totalizou os 10,5kWh. Enquanto o seu custo ficou no valor de 1,079euros/ensaio.

$$\begin{aligned} \text{Custo Energia Consumida}_{(euros/ensaio)} &= \text{Energia consumida}_{(kWh)} \times \text{Custo energético}_{(euros/kWh)} \\ (=) \text{Custo Energia Consumida} &= 10,5kWh \times 0,1028euros / kWh = 1,079euros / ensaio \end{aligned}$$

Por fim o custo total energético igualou os 2,16€.

$$\begin{aligned} \text{Custo Total Energético}_{(euros)} &= \text{Custo Energia Consumida}_{(euros/ensaio)} \times n^{\circ} \text{Ensaios} \\ (=) \text{Custo Total Energético} &= 1,079euros / ensaio \times 2ensaio = 2,16euros \end{aligned}$$

Relativamente aos gastos com os reagentes, o único a ser avaliado foi o ácido sulfúrico a 3% (v/v).

Para uma solução de 200mL, contendo ácido sulfúrico a 3%(v/v), foram utilizados 6,25mL da solução de ácido sulfúrico a 96%.

Tendo em conta a Tabela B.77, o custo do reagente iguala o valor de:

$$\text{Custo Total Reagentes}_{(euros)} = 4,25euros / L \times 0,00625L \times 2ensaio = 0,053euros$$

Calculando o custo total do pré-tratamento como a soma do custo com os reagentes e o custo energético, a etapa fica pelo valor de 2,21€.

Celulose (Pré-tratamento ácido e alcalino):

A etapa ocorreu com o auxílio de uma manta de aquecimento, com uma potência de 550W (0,55kW), durante cerca de 1 hora, uma estufa (P=1500W=1,5kW), durante 24horas e uma bomba utilizada na filtração por vácuo (P=0,186kW), durante 6horas. Relativamente aos

reagentes foi utilizado um volume de solução de 200mL de ácido sulfúrico a 0,1N e de hidróxido de sódio a 0,1N.

A descrição do cálculo dos gastos inerentes à aplicação deste pré-tratamento encontra-se descrita de seguida.

$$\begin{aligned} \text{Energia Consumida}_{(kWh)} &= \text{Potência do equipamento}_{(kW)} \times \text{tempo operação}_{(h)} \\ (=) \text{Energia Consumida} &= 0,55kW \times 1h + 1,50kW \times 24h + 0,186kW \times 6h = 37,67kWh \end{aligned}$$

A energia consumida totalizou os 37,67kWh. Enquanto o seu custo ficou no valor de 3,87€/ensaio.

$$\begin{aligned} \text{Custo Energia Consumida}_{(euros/ensaio)} &= \text{Energia consumida}_{(kWh)} \times \text{Custo energético}_{(euros/kWh)} \\ (=) \text{Custo Energia Consumida} &= 37,67kWh \times 0,1028euros / kWh = 3,87euros / ensaio \end{aligned}$$

Por fim o custo total energético igualou os 7,74€.

$$\begin{aligned} \text{Custo Total Energético}_{(euros)} &= \text{Custo Energia Consumida}_{(euros/ensaio)} \times n^{\circ} \text{Ensaio} \\ (=) \text{Custo Total Energético} &= 3,87euros / ensaio \times 2ensaio = 7,74euros \end{aligned}$$

Relativamente aos gastos com os reagentes, para uma solução de 200mL, contendo ácido sulfúrico a 0,1N foram utilizados 0,53mL da solução de ácido sulfúrico a 96%.

Tendo em conta a Tabela B.77, o custo do ácido equivale a 0,005€

$$\text{Custo Total Ácido}_{(euros)} = 4,25€ / L \times 0,00053L \times 2ensaio = 0,0045€$$

Relativamente ao hidróxido de sódio, para uma solução de 200mL, de hidróxido de sódio a 0,1N, a massa necessária do reagente é igual a 0,7816g. Assim sendo, o custo da utilização deste reagente fica por 0,0056€.

$$\text{Custo Total hidróxido}_{(euros)} = 3,6€ / kg \times 0,00078kg \times 2ensaio = 0,0056€$$

$$\text{Custo Total Reagentes}_{(euros)} = 0,0045 + 0,0056 = 0,01€$$

Calculando o custo total do pré-tratamento pela soma do custo com os reagentes e o custo energético, a etapa fica pelo valor de 7,75€.

$$\text{Custo Total}_{(euros)} = 0,01€ + 7,74€ = 7,75€$$



## **C. Tabelas de referência**

Neste subcapítulo serão apresentados algumas tabelas e texto que de alguma forma serviram de referência para o trabalho em causa.

### **C.1. Propriedades do Biodiesel normalizadas**

Na Tabela C.1, apresentam-se todos os parâmetros e limites que regulamentam a qualidade do biodiesel brasileiro, americano e europeu e nos quais, se verifica que a norma europeia é aquela que apresenta mais requisitos.

**Tabela C.1** - Parâmetros e Limites utilizados na avaliação da qualidade do Biodiesel, no Brasil, na América e na Europa.

| CARACTERÍSTICA                              | UNIDADE            | LIMITES                             |   |                                     |
|---|--------------------|-------------------------------------|---|-------------------------------------|
|   |                    | ABNT NBR -<br>Brasil <sup>(a)</sup> | ASTM D - 6751<br>América <sup>(b)</sup>   | EN 14214 - Europa <sup>(c)</sup>    |
| Aspecto                                     | -                  | LII <sup>(1)</sup>                  | -   | -                                   |
| Massa específica a 20° C                    | kg/m <sup>3</sup>  | 850-900                             | -   | 860-900 (15°C)                      |
| Viscosidade Cinemática a 40°C               | mm <sup>2</sup> /s | 3,0-6,0                             | 1,9-6,0                                   | 3,5-5,0                             |
| Água e Sedimentos (máx.)                    | mg/kg              | 500                                 | 0,050 (% vol.)                            | 500                                 |
| Contaminação Total, máx.                    | mg/kg              | 24                                  | -   | 24                                  |
| Ponto de Inflamação, mín.                   | °C                 | 100                                 | 93  | 101                                 |
| Teor de éster, mín                          | % (m/m)            | 96,5                                | -   | 96,5                                |
| Resíduo de carbono                          | % (m/m)            | 0,05                                | 0,050 (max.)                              | 0,30 (Resíduo de destilação de 10%) |
| Cinzas sulfatadas, máx.                     | % (m/m)            | 0,02                                | 0,02                                      | 0,02                                |
| Enxofre total, máx.                         | mg/kg              | 50                                  | 0,0015 %(m/m) (S15)<br>0,05 %(m/m) (S500) | 10                                  |
| Sódio + Potássio, máx.                      | mg/kg              | 5                                   | -   | 5                                   |
| Cálcio + Magnésio, máx.                     | mg/kg              | 5                                   | 5   | 5                                   |
| Fósforo, máx.                               | mg/kg              | 10                                  | 0,001 %(m/m)                              | 10                                  |
| Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx.    | -                  | 1 (classe)                          | 0,020 (máx.)                              | 1 (classe)                          |
| Número de Cetano                            | -                  | Anotar                              | 47 (min.)                                 | 51,00 (min.)                        |
| Ponto de entupimento de filtro a frio, máx. | °C                 | 19                                  | -   | -                                   |
| Índice de acidez, máx.                      | mg KOH/g           | 0,5                                 | 0,5                                       | 0,5                                 |
| Glicerol livre, máx.                        | % (m/m)            | 0,02                                | 0,02                                      | 0,02                                |
| Glicerol total, máx.                        | % (m/m)            | 0,25                                | 0,24                                      | 0,25                                |
| Mono, di, triacilglicerol                   | % (m/m)            | Anotar                              | -   | 0,8 (mono)<br>0,2 (di)<br>0,2 (tri) |
| Ésteres metílicos poliinsaturados           | % (m/m)            | -                                   | -   | 1                                   |
| Índice de lodo                              | % (m/m)            | Anotar                              | -   | 120 (máx.)                          |
| Metanol ou Etanol, máx.                     | % (m/m)            | 0,2                                 | 0,2                                       | 0,2                                 |
| Estabilidade à oxidação a 110°C, mín.       | h                  | 6                                   | 3   | 6                                   |

<sup>(1)</sup> Límpido e isento de impurezas com anotação da temperatura de ensaio.

<sup>(a)</sup> Fonte: ANP <sup>(b)</sup> (2011)

<sup>(b)</sup> Fonte: EERE <sup>(e)</sup> (2010)

<sup>(c)</sup> Fonte: Biofuels Plataform (2011a)

### C.1.1. Óleos e Gorduras

Dada a predominância de um determinado ácido gordo no óleo, os que apresentam maior relevância na sua classificação, segundo Maurício (2008) são o ácido Láurico (C12:0), ácido Palmítico (C16:0), ácido Oleico (C18:1) e Linoleico (C18:2).

Os óleos que apresentam na sua constituição uma composição rica em ácido Láurico, são óleos saturados e com índices de iodo entre 5 e 30 g Iodo/100 g amostra, como por exemplo o óleo de coco (Maurício, 2008). A influência do ácido palmítico, tal como o anterior, traduz-se numa saturação do óleo, sendo o óleo de palma um bom exemplo (Maurício, 2008). A predominância de ácidos gordos insaturados (Tabela C. 2), como o oleico e o linoléico, tornam o óleo insaturado. No caso do ácido oleico, o óleo também apresentará um índice de iodo compreendido entre os 80 e os 110 g Iodo/100g amostra, como o óleo de amendoim ou de colza, enquanto o óleo pertencente ao grupo linoleico exibirá um índice superior a 110 g Iodo/100g amostra, como o óleo de girassol, soja ou algodão (Maurício, 2008).

**Tabela C. 2** - Conjunto mais comum de ácidos gordos insaturados (Adaptado de Monteiro, 2009).

| Nome comercial     | Fórmula Química   |
|--------------------|---|
| Ácido Palmitoleico | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$   |
| Ácido Oleico       | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$   |
| Ácido Linoleico    | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$                    |
| Ácido Linolenico   | $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ |

A estabilidade oxidativa e o índice de cetano são outras das características dos óleos que variam linearmente com o grau de insaturação dos ácidos gordos. Estas características são inferiores no ácido linoléico e linolênico e superiores nos ácidos saturados (Tabela C. 2) como o esteárico ou palmítico (Maurício, 2008).

Segundo Correia (2009), enquanto o ácido oleico apresenta uma ligação dupla, a presença de duas ligações deste género no ácido linoléico, torna-o 64 vezes mais provável de sofrer oxidação. Por sua vez, o facto de o ácido linolênico apresentar duas ligações triplas, aumenta a sua probabilidade de oxidação para 100 vezes, quando comparado com o oleico (Correia, 2009).

**Tabela C.3** - Conjunto mais comum de ácidos gordos saturados (Adaptado de Monteiro, 2009)

| Nome comercial   | Fórmula Química                            | Nome Científico      |
|------------------|--|----------------------|
| Ácido butírico   | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$    | Ácido Butanóico      |
| Ácido Valérico   | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$    | Ácido Pentanóico     |
| Ácido Capróico   | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$    | Ácido Hexanóico      |
| Ácido Caprílico  | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$    | Ácido Octanóico      |
| Ácido Cáprico    | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$    | Ácido decanóico      |
| Ácido Láurico    | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ | Ácido Dodecanóico    |
| Ácido Mirístico  | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ | Ácido Tetradecanóico |
| Ácido Palmítico  | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ | Ácido Hexadecanóico  |
| Ácido Esteárico  | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$ | Ácido Octadecanóico  |
| Ácido Araquídico | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$ | Ácido Eicosanóico    |
| Ácido Linocérico | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$ | Ácido Tetracosanóico |

Na Tabela C.4 encontra-se representada a composição em ácidos gordos para diversos óleos e gorduras, segundo Felizardo (2003) e os respectivos valores de referência de acordo com a lei Portuguesa. De acordo com a Tabela C.4, pode-se observar que, dentre os óleos vegetais, o óleo de girassol é aquele que apresenta a maior percentagem de ácido linoléico (55,0 – 73,0 %), seguindo-se o óleo de colza, com o ácido oleico (52, 0-66,0%).

**Tabela C.4 - Composição em ácidos gordos (%), para alguns óleos e gorduras.**

| Ácidos Gordos              | Estrutura | Óleos e Gorduras |               |                  |               |                  |               |                  |               |                  |               |
|----------------------------|-----------|------------------|---------------|------------------|---------------|------------------|---------------|------------------|---------------|------------------|---------------|
|                            |           | Soja             |               | Palma            |               | Girassol         |               | Colza            |               | Milho            |               |
|                            |           | Felizardo (2003) | DL 106/2005** | Felizardo (2003) | DL 106/2005** | Felizardo (2003) | DL 106/2005** | Felizardo (2003) | DL 106/2005** | Felizardo (2003) | DL 106/2005** |
| -                          | C<14      | -                | <0,1          | vestígios        | <0,5          | vestígios        | <0,1          | vestígios        | -             | vestígios        | <0,3          |
| Ácido Mirístico            | C14:0     | <0,5             | <0,2          | 1,0 - 2,0        | 0,5 - 2,0     | vestígios        | <0,2          | vestígios        | <0,2          | vestígios        | <0,3          |
| Ácido Palmítico            | C16:0     | 8,0 - 12,0       | 8,0 - 13,0    | 41,0 - 46,0      | 39,3 - 47,5   | 5,5 - 8,0        | 5,0 - 7,6     | 2,0 - 4,0        | 2,5 - 7,0     | 9,0 - 12,0       | 8,6 - 16,5    |
| Ácido Palmitoleico         | C16:1     | -                | <0,2          | -                | <0,6          | -                | <0,3          | -                | <0,6          | -                | <0,5          |
| Ácido Esteárico            | C18:0     | 3,0 - 5,0        | 2,0 - 5,4     | 4,0 - 6,5        | 3,5 - 6,0     | 2,5 - 6,5        | 2,7 - 6,5     | 1,0 - 2,0        | 0,8 - 3,0     | 1,0 - 3,0        | <3,3          |
| Ácido Oleico (Ômega 9)     | C18:1     | 18,0 - 25,0      | 17,7 - 28,0   | 37,0 - 42,0      | 36,0 - 44,0   | 14,0 - 34,0      | 14,0 - 39,4   | 52,0 - 66,0      | 51,0 - 70,0   | 25,0 - 35,0      | 20,0 - 42,2   |
| Ácido Linoleico (Ômega 6)  | C18:2     | 49,0 - 57,0      | 49,8 - 59,0   | 8,0 - 12,0       | 9,0 - 12,0    | 55,0 - 73,0      | 48,3 - 74,0   | 17,0 - 25,0      | 15,0 - 30,0   | 40,0 - 60,0      | 34,0 - 65,6   |
| Ácido Linolênico (Ômega 3) | C18:3     | 6,0 - 11,0       | 5,0 - 11,0    | <0,5             | <0,5          | <0,4             | <0,3          | 8,0 - 11,0       | 5,0 - 14,0    | <1,0             | <2,0          |
| Ácido Araquídico           | C20:0     | <0,5             | 0,1 - 0,6     | <0,5             | <1,0          | <0,5             | 0,1 - 0,5     | 0,5 - 1,0        | 0,2 - 1,2     | <0,5             | 0,3 - 1,0     |
| Ácido Eicosenoico          | C20:1     | -                | <0,5          | -                | <0,4          | -                | <0,3          | -                | 0,1 - 4,3     | -                | 0,2 - 0,6     |
| Ácido Behênico             | C22:0     | vestígios        | <0,7          | -                | <0,2          | 0,5 - 1,0        | 0,3 - 1,5     | 0,5 - 2,0        | <0,6          | <0,5             | <0,5          |
| Ácido Lignocérico          | C24:0     | -                | <0,5          | -                | -             | <0,5             | <0,5          | <0,5             | <0,3          | <0,5             | <0,5          |

Valor de Referência do Decreto-Lei nº126/2005 - Portugal

**Tabela C.5 - Características físico-químicas de alguns óleos e gorduras e respectivo valor de referência utilizado em Portugal.**

| Óleos e Gorduras | Densidade a 50°C (g/cm <sup>3</sup> ) <sup>(a)</sup> | Índice Iodo (g I <sub>2</sub> /g óleo) <sup>(a)</sup> | Índice saponificação (mg KOH/g) <sup>(a)</sup> |
|------------------|--|---|--|
| Soja             | -  | 124 - 139   | 189 - 195                                      |
| Palma            | 0,889-0,895  | 50,0 - 55,0   | 190 - 209                                      |
| Girassol         | -  | 118 - 141   | 188 - 194                                      |
| Colza            | -  | 105 - 126   | 182 - 193                                      |
| Milho            | -  | 103 - 135   | 187 - 195                                      |