



**POLITÉCNICO
DE LEIRIA**

ESCOLA SUPERIOR
DE TURISMO E
TECNOLOGIA DO MAR

*Avaliação ambiental e nutricional do ciclo de vida da spirulina em
modo de produção artesanal*

Jessica Cristina Nobre Dias

2024



**POLITÉCNICO
DE LEIRIA**

ESCOLA SUPERIOR
DE TURISMO E
TECNOLOGIA DO MAR

*Avaliação ambiental e nutricional do ciclo de vida da spirulina em
modo de produção artesanal*

Jessica Cristina Nobre Dias

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação da Doutora Sílvia Lourenço e coorientação da
Doutora Cheila Almeida

2024

Avaliação ambiental e nutricional do ciclo de vida da spirulina em modo de produção artesanal

“Copyright” Jessica Cristina Nobre Dias | Escola de Turismo e Tecnologia do Mar | Politécnico de Leiria

A Escola de Turismo e Tecnologia do Mar e o Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Em primeiro lugar queria agradecer a Deus por nunca me deixar faltar forças, nesse que foi o maior desafio da minha vida até hoje.

Agradeço aos meus pais pelo esforço e apoio ao longo do meu percurso acadêmico.

Ao meu companheiro que sempre me apoiou e me incentivou, e nunca deixou de acreditar em mim. E que mesmo estando longe sempre se fez presente.

Às minhas orientadoras, Sílvia Lourenço e Cheila Almeida, que souberam me guiar. Obrigada pela vossa enorme contribuição ao longo dessa jornada, e por puxarem por mim para que eu pudesse dar o melhor de mim.

Obrigada ao colega Henrique pela grande ajuda nas análises laboratoriais.

Obrigada a toda a minha família e amigos que me apoiaram. Principalmente aqueles que sempre tinham uma palavra amiga para os momentos mais difíceis.

Resumo

A Avaliação do Ciclo de Vida (ACV) é uma metodologia que quantifica os impactos ambientais de um sistema ou de um produto. Pode ser aplicada na aquacultura em geral, assim como no cultivo de spirulina, auxiliando na tomada de decisões para reduzir os impactos causados. O presente estudo teve como objetivos fazer uma avaliação ambiental da produção artesanal de spirulina e comparar com um cenário de produção com certificação biológica, fazendo uma avaliação da sua composição nutricional, de forma a perceber qual das produções seria mais vantajosa a nível ambiental. Para a ACV foi elaborado um inventário do ciclo de vida com os recursos e processos utilizados na produção artesanal de spirulina produzida entre os meses de abril e outubro, na unidade de produção da Tomar Natural. A abordagem utilizada foi desde o início da produção até à fase do embalamento, e a unidade funcional foi definida como 1 kg de spirulina. A avaliação dos impactos foi feita com o programa *SimaPro* utilizando o método *ReCiPe*. Para o perfil bioquímico foi feita a quantificação da humidade e das cinzas, e a determinação da gordura total, perfil de ácidos gordos e conteúdo em proteína. Os resultados da ACV da produção artesanal obtiveram os maiores impactos na maioria das categorias de impacto associados à infraestrutura, energia e em terceiro lugar, a embalagem; o elevado impacto da infraestrutura pode estar ligado à produção dos materiais usados na construção da unidade de produção, mas também ao facto da contribuição dos restantes fatores ser relativamente baixa. Na produção biológica os maiores impactos foram: a infraestrutura para a ecotoxicidade terrestre e a energia nas alterações climáticas. Ao comparar os dois modos de produção, a biológica apresentou maiores impactos ambientais, principalmente no consumo da água, eutrofização de água doce e alterações climáticas. Na produção artesanal a água do cultivo e os nutrientes são reciclados, enquanto que na biológica o uso da ureia certificada como fonte de azoto gera muitos resíduos, fazendo com que a água seja renovada com maior frequência, e conseqüentemente há um maior consumo energético. Os resultados mostraram que a produção biológica obteve maiores impactos ambientais e maiores custos de produção. Os resultados da análise nutricional demonstraram diferenças significativas no conteúdo lipídico e proteico, enquanto que o perfil de ácidos gordos é semelhante entre os dois modos de produção. Os PUFA (ácidos gordos polinsaturados), de forma geral, constituem a maioria dos lípidos totais, reforçando a ideia de que a spirulina é uma excelente fonte de ácidos gordos. A diferença no perfil bioquímico varia de acordo com a temperatura de cultivo e de secagem, intensidade da luz, nutrientes, modo de produção e o momento da colheita. No

caso da produção artesanal, o cultivo é feito em *raceways* onde podem ocorrer oscilações da temperatura, afetando a eficiência na produção de proteína e diminuir o conteúdo proteico do produto final. A baixa percentagem de proteína na spirulina artesanal pode estar relacionada com o método de extração utilizado ou o processo da produção do pó para as análises.

Palavras-chave: Avaliação de Ciclo de Vida, nutrição, *Limnospira platensis*, produção artesanal, certificação biológica.

Abstrat

Life Cycle Assessment (LCA) is a methodology that quantifies the environmental impacts of a system or product. It can be applied to aquaculture in general, as well as spirulina cultivation, helping to make decisions to reduce the impacts caused. The aim of this study was to carry out an environmental assessment of the artisanal production of spirulina and to compare it with a scenario of production with organic certification, assessing its nutritional composition in order to understand which production would be more environmentally advantageous. For the LCA, a life cycle inventory was drawn up of the resources and processes used in the artisanal production of spirulina produced between april and october at the Tomar Natural production unit. The approach used was from the start of production to the packaging stage, and the functional unit was defined as 1 kg of spirulina. The impact assessment was carried out with the SimaPro program using the ReCiPe method. For the biochemical profile, moisture and ash were quantified, and total fat, fatty acid profile and protein content were determined. The results of the LCA for artisanal production showed that the greatest impacts in most impact categories were associated with infrastructure, energy and, in third place, packaging; the high impact of infrastructure may be linked to the production of the materials used in the construction of the production unit, but also to the fact that the contribution of the other factors was relatively low. In organic production, the greatest impacts were: infrastructure on terrestrial ecotoxicity and energy on climate change. When comparing the two modes of production, organic production had greater environmental impacts, mainly in terms of water consumption, freshwater eutrophication and climate change. In artisanal production, cultivation water and nutrients are recycled, while in organic production the use of certified urea as a nitrogen source generates a lot of waste, causing water to be renewed more frequently, and consequently there is greater energy consumption. The results showed that organic production had greater environmental impacts and higher production costs. The results of the nutritional analysis showed significant differences in lipid and protein content, while the fatty acid profile was similar between the two production methods. PUFA (polyunsaturated fatty acids) generally make up the majority of total lipids, reinforcing the idea that spirulina is an excellent source of fatty acids. The difference in biochemical profile varies according to the cultivation and drying temperature, light intensity, nutrients, production method and time of harvest. In the case of artisanal production, cultivation takes place in raceways where temperature

fluctuations can occur, affecting the efficiency of protein production and reducing the protein content of the final product. The low percentage of protein in artisanal spirulina may be related to the extraction method used or the process of producing the powder for analysis.

Keywords: *Life Cycle Assessment*, nutrition, *Limnospira platensis*, artisanal production, organic certification.

Índice

1. Introdução	13
1.1. A cianobactéria spirulina, <i>Limnospira platensis</i>	14
1.2. Valor nutricional da spirulina	16
2. Avaliação do Ciclo de Vida	18
2.1. Metodologia de Avaliação do Ciclo de Vida	18
2.1.1. Definição do objetivo e do âmbito	19
2.1.2. Inventário do Ciclo de Vida	21
2.1.3. Avaliação dos Impactes do Ciclo de Vida	22
2.1.4. Interpretação dos resultados da Avaliação do Impacte do Ciclo de Vida	23
2.2. Métodos de Avaliação do Impacte do Ciclo de Vida	23
2.3. Categorias de Impacte da Avaliação do Ciclo de Vida do método <i>ReCiPe</i>	25
2.3.1. Aquecimento global	25
2.3.2. Eutrofização da água doce	25
2.3.3. Ecotoxicidade terrestre e de água doce	26
2.3.4. Consumo de água	26
2.4. Avaliação do Ciclo de Vida aplicada à aquacultura	26
2.4.1. Avaliação do Ciclo de Vida aplicada à produção de spirulina	27
2.5. A empresa Tomar Natural	35
2.6. Produção biológica de spirulina	36
3. Metodologia	39
3.1. Avaliação do Ciclo de Vida	39
3.1.1. Definição do objetivo	39
3.1.2. Definição do âmbito e das fronteiras do sistema	39
3.1.3. Inventário do Ciclo de Vida	42
3.1.4. Cenário de produção de spirulina em modo biológico	46
3.2. Análise nutricional	46
3.2.1. Quantificação da humidade e das cinzas	47
3.2.2. Determinação de gordura total	48
3.2.3. Determinação de proteínas	51
3.2.4. Análise Estatística	51
4. Resultados	52
4.1. Avaliação do Ciclo de Vida	52
4.1.1. Avaliação de impactes ambientais da produção artesanal de spirulina	52
4.1.2. Avaliação de impactes ambientais no cenário de produção biológica	54

4.1.3. Comparação da produção artesanal com o cenário de produção biológica.....	56
4.2. Análise do perfil nutricional da spirulina da produção artesanal e biológica	57
5. Discussão	61
5.1. Avaliação do Ciclo de Vida da produção artesanal.....	61
5.2. Comparação da produção artesanal com o cenário biológico.....	63
5.3. Análise nutricional	65
6. Conclusão	67
7. Referências bibliográficas.....	68

Índice figura

Figura 1.1 – Ciclo de vida da <i>Limnospira platensis</i> . (1) Tricoma maduro na fase estacionária do crescimento, (2) formação dos necrídios, (3) separação de pequenos aglomerados de células ou de células individuais, (4) crescimento de hormogónios por divisão celular, (5) crescimento dos tricomas por divisão binária e (6) os tricomas crescem e atingem o forma helicoidal. Os necrídios são células especializadas do filamento formado durante a propagação da <i>L. platensis</i> , que são acompanhados pela lise celular e formação de detritos. Os hormogónios são fragmentos de filamentos de cianofíceas que se separam e crescem, formam-se durante a reprodução assexuada (Jung et al., 2021).....	17
Figura 2.2 – Fases da Avaliação do Ciclo de Vida.....	19
Figura 2.3 – Tipos de limites do sistema na Avaliação do Ciclo de Vida (Entrena-Barbero et al., 2023).....	21
Figura 2.4 – Relação entre as categorias de impacto médio (<i>midpoint</i>) e de impacto final (<i>endpoint</i>) do método ReCiPe (Hauschild et al., 2018).....	24
Figura 2.5 – Unidade de produção da Tomar Natural (Fonte: Tomar Natural).	35
Figura 2.6 – Logotipo biológico da União Europeia.....	37
Figura 3.7 – Esquema do sistema de produção de spirulina da Tomar Natural, com as respetivas entradas e saídas. O quadro tracejado corresponde aos processos analisados (cultivo, colheita e processamento) para a avaliação do ciclo de vida.	40
Figura 3.8 – <i>Raceways</i> dentro da estufa e o sistema de colheita e retenção da biomassa húmida.	41
Figura 3.9 – Equipamento de prensagem da biomassa húmida (A), a máquina de modelagem dos fios (B) e o desidratador elétrico (C).	41
Figura 3.10 – Spirulina Artesanal (100 gr) desidratada e comercializada pela Tomar Natural.	42
Figura 3.11 – Spirulina comercializada em pó da Tomar Natural.	47
Figura 3.12 – Cadinhos com as amostras secas utilizadas para determinar as percentagens de humidade e das cinzas (A – amostras da spirulina artesanal, B – amostras da spirulina biológica).....	48
Figura 3.13 – Separação das frações lipídicas por coluna de cromatografia de fase móvel.	50
Figura 4.14 – Contribuições dos fatores de produção nas diferentes categorias de impacto da produção artesanal para UF de 1 kg de spirulina.....	54

Figura 4.15 – Contribuições dos diferentes fatores usados para a produção de spirulina nas categorias de impacto selecionadas no cenário da produção biológica para UF de 1kg de spirulina. 56

Índice tabela

Tabela 2.1 – Resumo dos artigos científicos sobre a aplicação da ACV na produção da spirulina. Legenda: GEE – gases de efeito estufa, GWP – Global Warming Potencial.....	30
Tabela 3.2 – Inventário do ciclo de vida da produção artesanal da spirulina relativo à unidade funcional (UF, 1 Kg de spirulina).....	45
Tabela 4.3 – Contributos absolutos dos vários fatores de produção por categoria de impacte da produção artesanal de spirulina para a unidade funcional de 1kg de spirulina desidratada. U – Unidade.....	53
Tabela 4.4 – Contributos absolutos dos vários fatores de produção por categoria de impacte no cenário da produção biológica para a unidade funcional de 1kg de spirulina desidratada. U – Unidade.....	55
Tabela 4.5 – Comparação dos valores obtidos nas categorias de impacte para os modos de produção artesanal e biológico, com as diferenças em percentagem.	57
Tabela 4.6 – Perfil nutricional da spirulina da produção artesanal e da produção biológica. Valor médio e desvio-padrão, e resultados do teste ANOVA da análise de 3 réplicas das cinzas e da humidade, e de 4 réplicas das proteínas e da gordura total. * Os hidratos de carbono (HC) são estimados pela diferença: HC (% Matéria Seca MS = 100 – (cinzas + proteínas + lípidos). ^a e ^b indicam diferenças estatisticamente significativas entre amostras para nível de significancia $p < 0,05$	58
Tabela 4.7 – Conteúdo médio \pm desvio padrão dos ácidos gordos identificados por cromatografia gasosa nas diferentes frações lipídicas.....	59

1. Introdução

As microalgas são microrganismos unicelulares que habitam em ambientes terrestres, marinhos e de água doce, como rios, lagos, oceanos, árvores e solo, e constituem o grupo com maior capacidade fotossintética com cerca de 200.000 – 800.000 espécies (Olabi et al., 2023; J. Wu et al., 2021). Desenvolvem-se sob condições ambientais menos favoráveis, como as que existem em águas residuais e terrenos não agrícolas (Wu et al., 2021). São classificadas em três grupos principais: as Rhodophytas (algas vermelhas) que são essencialmente marinhas com algumas espécies de água doce, incluem *Porphyridium cruentum* e *Rhodella reticulata*; as Chlorophytas (algas verdes) habitam ambientes de água doce, marinho e terrestres, como *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina*, *Microspora* sp. e *Chlamydomonas* sp.; e as cianobactérias (algas verde-azuladas) (Heimann & Huerlimann, 2015; Olabi et al., 2023).

O cultivo das microalgas teve início aproximadamente na década de 1960 e desde então têm sido utilizadas como fonte de proteína e lípidos, em decorrência do aumento populacional e da possível falta de alimentos no futuro. A deficiência de proteínas na nutrição humana é uma preocupação sobretudo nos países em desenvolvimento, havendo por isso a necessidade de diversificar as proteínas de fontes não convencionais. Neste sentido, e devido ao seu alto valor nutritivo, as microalgas começaram a ser incluídas na alimentação humana (Lupatini et al., 2017). Os primeiros estudos foram realizados com o objetivo de desenvolver uma fonte de proteína alternativa, no entanto, a necessidade de uma produção de energia sustentável, a partir de substâncias inorgânicas e minerais oxidados pela fotossíntese, aumentou o seu interesse. O sucesso da produção de microalgas está associado ao seu rápido crescimento, elevada eficiência energética, baixa poluição, capacidade de conversão de dióxido de carbono em matéria orgânica e uso de terrenos que não servem para a agricultura (Dolganyuk et al., 2020; Lupatini et al., 2017).

A composição química da biomassa das microalgas depende das condições de crescimento, nomeadamente a disponibilidade de nutrientes, temperatura, pH, intensidade luminosa e método de colheita (Lupatini et al., 2017). São consideradas uma matéria-prima versátil e a exploração adequada da biomassa permite a produção de biocombustíveis, como o biodiesel e biogás. Para além de serem ricas em nutrientes como proteínas, lípidos, vitaminas, hidratos de carbono e pigmentos com propriedades antioxidantes, antibacterianas, antivirais, neuroprotetores, imunoestimulantes e regenerativos; são aplicadas em diversas áreas, como

a medicina, farmacêutica, cosmética, produção de ração, alimentos funcionais, biotecnologia e tratamento de águas residuais (Dolganyuk et al., 2020; Olabi et al., 2023; Wu et al., 2021).

As microalgas desempenham um papel fundamental nos ecossistemas aquáticos como produtores primários, formando a base da cadeia alimentar. São utilizadas como uma medida mitigadora das alterações climáticas, devido a sua capacidade de fixar o dióxido de carbono através da fotossíntese, permitindo a produção sustentável de bioenergia. Além disso, têm a capacidade de remover os nutrientes das águas residuais, melhorando a sua qualidade e reduzindo os impactos ambientais associadas a descargas (Kholssi et al., 2023; Reisoglu & Aydin, 2023). Nas últimas décadas o interesse pelas microalgas tem aumentado devido à sua elevada eficiência e uma produção mais sustentável de alimentos no contexto atual das alterações climáticas, contribuindo para bons rendimentos e uma pegada de carbono baixa.

Muitos investigadores utilizam as microalgas de água doce para investigar a sua fisiologia e a forma como respondem às alterações climáticas, e a sua produção industrial tornou-se mais comum do que de microalgas marinhas porque alguns países não têm acesso ao mar (Prihanto et al. 2022). Tal como as microalgas marinhas, as microalgas de água doce possuem um alto valor nutricional devido a sua composição química balanceada. A adição de microalgas nos produtos alimentares é uma excelente forma de fazer a suplementação de nutrientes e de compostos biologicamente ativos (Prihanto et al. 2022). As espécies *Limnospira platensis* e a *Chlorella vulgaris* são as mais estudadas e foram consideradas como seguras para a alimentação humana pela *Food and Drug Administration* (Medeiros de et al., 2021; Prihanto et al., 2022).

1.1. A cianobactéria spirulina, *Limnospira platensis*

A *Limnospira platensis* (Gomont) K. R. S. Santos & Hentschke 2023, comumente conhecida como spirulina pertence ao reino Bacteria, subreino Negibacteria, filo Cyanobacteria, classe Cyanophyceae, subclasse Oscillatoriophyceae, ordem Oscillatoriales, família Microcoleacea, género *Limnospira* e espécie *Limnospira platensis* (Gomont) K. R. S. Santos & Hentschke 2023. A spirulina é, portanto, uma cianobactéria encontrada em ambientes de água doce e salobra, de filamentos helicoidais, com 200 a 300 μm de comprimento e entre 5 e 10 μm de largura, de cor azul-esverdeada, autotrófica pluricelular, o que lhe confere uma

elevada taxa de crescimento, e pode ser encontrada sob forma de agregados filamentosos (Cardoso, 2022; Lupatini et al., 2017; Quintero et al., 2021; Tzachor et al., 2022).

A spirulina tem sido cultivada em sistemas abertos e fechados, utilizando diversas estruturas, desde *raceways*, ao ar livre ou em estufas, até fotobiorreatores. É facilmente cultivada a temperaturas entre 25 e 35 °C, tem alta tolerância ao pH alcalino, que pode variar entre 8,5 e 11, sendo 9 o valor ótimo para o crescimento (Lafarga et al., 2021; Lupatini et al., 2017; Ragaza et al., 2020; Tzachor et al., 2022; Zrimec et al., 2024). A spirulina cresce bem sob a iluminação artificial, mas prefere a luz solar (Lafarga et al., 2021). O sucesso do cultivo vai depender diretamente da produtividade, composição nutricional, propriedades organolépticas do produto final, custos de produção e do impacto ambiental da biomassa produzida (Lupatini et al., 2017; Tzachor et al., 2022).

Os *raceways* são tanques abertos com recirculação de água, que possuem rodas de pás para promover o movimento da água a uma velocidade de agitação que evite a deposição de células no fundo. Os *raceways* dividem-se em dois canais cujo comprimento deve ser proporcional a largura. A relação superfície/volume destes sistemas deve ser baixa e a profundidade deve variar entre 0,20 e 0,40 m. Quanto maior a profundidade, menor é a penetração da luz no cultivo e conseqüentemente menor é o crescimento das microalgas (Lafarga et al., 2021). São equipamentos de fácil manutenção e construção, resultando em baixos custos de produção e operação. Podem, no entanto, ocorrer perdas de água por evaporação, difusão de dióxido de carbono para a atmosfera, baixa produtividade e apresentam maiores riscos de contaminação. O uso de estufas confere maior proteção e otimização da biomassa cultivada, diminuindo as perdas resultantes das condições ambientais indesejáveis e das contaminações (Soni et al., 2017).

Os fotobiorreatores são utilizados em cultivos intensivos, possuem diferentes formatos, podendo ser de coluna, planos, ou tubulares, e construídos em vidro ou plástico. A recirculação da água é feita por meio de bombas e possuem elevada relação superfície/volume, o que permite alcançar elevada produção de biomassa (Lafarga et al., 2021; Soni et al., 2017). Porém, a elevada agitação do meio de cultivo pode afetar a taxa de crescimento e a viabilidade celular da spirulina que é sensível à tensão causada pelas bombas (Lafarga et al., 2021). São sistemas com baixo risco de contaminação, não ocorre evaporação da água, permitem maior concentração da biomassa e de cultivo através do fornecimento de dióxido de carbono, do controle da temperatura, da intensidade da luz (natural ou artificial),

e do arejamento (Soni et al., 2017). Normalmente possuem um sistema que fornece dióxido de carbono e que remove o oxigénio dissolvido, que se torna tóxico ao atingir o limite definido para a espécie cultivada. Os fotobiorreatores são os sistemas mais comuns para o cultivo de microalgas, mas para o cultivo da spirulina os mais utilizados são os *raceways* devido a uma maior produtividade associada (Cardoso, 2022; Lafarga et al., 2021).

Considerada a microalga mais cultivada na Europa, a spirulina é produzida em mais de 200 instalações, atingindo um total de cerca de 150 toneladas de biomassa seca por ano. Em 2019 a produção global foi avaliada em 56.208 toneladas pela FAO, e em 2023 o mercado global atingiu 533 milhões de euros (Zrimec et al., 2024). Estima-se que até 2032 o mercado alcance 1.189,6 milhões de euros, com uma taxa de crescimento anual de 9% entre os anos 2024 e 2032 (Zrimec et al., 2024). Apesar disso, o seu potencial permanece inexplorado em condições climáticas favoráveis ao cultivo, sobretudo nas regiões tropicais ou semitropicais (Zrimec et al., 2024).

1.2. Valor nutricional da spirulina

Nutricionalmente a spirulina é um alimento muito rico, uma vez que possui um alto teor de proteínas, é rica em vitaminas B12 e E, β -caroteno, minerais, antioxidantes (e.g., ficocianina, um pigmento de cor azul produzido por cianobactérias, principalmente pela spirulina que pertence à família das ficobiliproteínas), ácidos gordos (ómega 3 e 6), ferro, cálcio e polissacarídeos, e pode ser utilizada para fins nutricionais, terapêuticos, alimentícios, cosméticos, e em biofertilizantes, biocombustíveis (biodiesel e biogás), e rações (Lupatini et al., 2017; Quintero et al., 2021; Tzachor et al., 2022). De acordo com Casazza et al. (2022) a *L. platensis* é utilizada para a alimentação humana e animal, sendo que a maior parte da sua produção global é destinada a nutrição humana, devido ao seu alto valor proteico e nutricional.

Reproduz-se por fissão binária cruzada originando tricomas unisseriados, que produzem um novo filamento (Figura 1.1). A parede celular que envolve a membrana celular é composta por várias camadas, cobertas de polissacarídeo sem celulose, o que facilita a sua absorção e digestão. Essa característica permite quebrar a parede celular com facilidade e aceder os seus compostos (Lupatini et al., 2017).

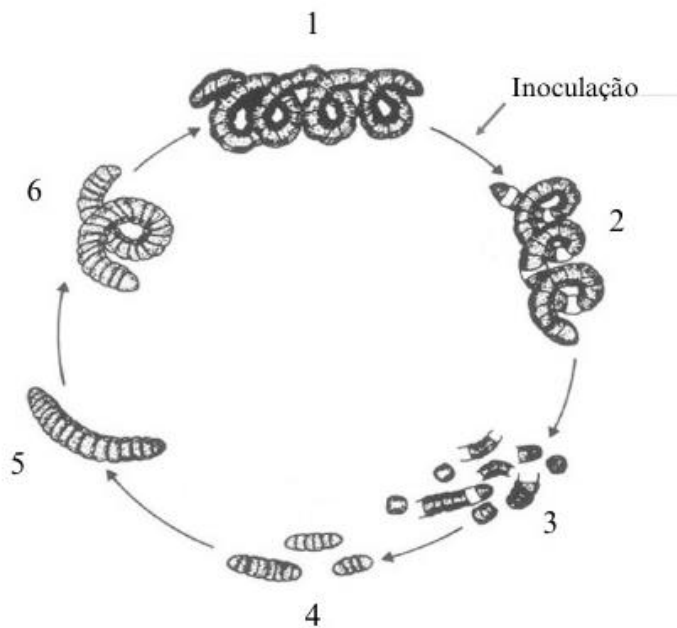


Figura 1.1 – Ciclo de vida da *Limnospira platensis*. (1) Tricoma maduro na fase estacionária do crescimento, (2) formação dos necrídios, (3) separação de pequenos aglomerados de células ou de células individuais, (4) crescimento de hormogônios por divisão celular, (5) crescimento dos tricomas por divisão binária e (6) os tricomas crescem e atingem o forma helicoidal. Os necrídios são células especializadas do filamento formado durante a propagação da *L. platensis*, que são acompanhados pela lise celular e formação de detritos. Os hormogônios são fragmentos de filamentos de cianobactérias que se separam e crescem, formam-se durante a reprodução assexuada (Jung et al., 2021).

2. Avaliação do Ciclo de Vida

2.1. Metodologia de Avaliação do Ciclo de Vida

Avaliação do Ciclo de Vida (ACV ou em inglês LCA, de *Life Cycle Assessment*) é um processo que quantifica os potenciais impactos ambientais de um sistema de produção ou de um produto ao longo do seu ciclo de vida (EC, 2010; Guinée et al., 2002). Entre 1960 e 1970 surgiram os primeiros estudos da ACV devido à limitação dos recursos naturais e preocupações ambientais. Inicialmente o foco eram estudos de modelação e de auditoria, até o termo ACV se tornar uma norma pela ISO 14040, em 1997 (Guinée et al., 2002). Os primeiros métodos tiveram origem nos EUA e no Norte da Europa, eram caracterizados pela estimativa de consumos com foco na energia, recursos utilizados, emissões e produção de resíduos sólidos, de cada processo industrial ao longo do ciclo de vida. A medida que os inventários se tornaram mais complexos, o objetivo passou a ser a interpretação dos resultados do inventário em categorias de impacto ambiental. Ou seja, a partir dos recursos e das emissões foi calculado um conjunto de pontuações de indicadores, que representam as contribuições de cada indicador para as categorias de impacto (Hauschild et al., 2018). É uma ferramenta que permite comparar produtos com a mesma função e considerar que cada produto está associado a fatores externos que interagem entre si. Auxilia na gestão ambiental a curto prazo, contribuindo também para o desenvolvimento sustentável a longo prazo, e fornece informações para relatórios ambientais e de sustentabilidade. Nesse sentido ajuda na tomada de decisões, seleção dos indicadores, identificação de fases ou processos com maior impacto ambiental ou custo energético (*hotspots*) e na apresentação de soluções para otimizar a produção (Macome, 2022).

A ACV é desenvolvida em quatro fases, nomeadamente a 1) definição do objetivo e do âmbito, 2) preparação do inventário, 3) avaliação do impacto e 4) interpretação dos resultados, que se relacionam e influenciam entre si (Figura 2.2).



Figura 2.2 – Fases da Avaliação do Ciclo de Vida¹.

A ACV apresenta algumas limitações, tais como a falta de informação detalhada, por vezes devido a questões de confidencialidade, fazendo com que as informações recolhidas tenham um certo grau de incerteza. Pode também gerar resultados incompletos, que vão influenciar as decisões. No entanto, pode-se aplicar a análise de sensibilidade que permite a criação de diferentes cenários, para avaliar a variação dos impactos ambientais sob determinadas condições (Quintero et al., 2021). A comparação dos resultados de diferentes estudos de ACV só é possível se os pressupostos e o contexto dos estudos forem semelhantes. A norma da ISO 14040:2006 estabelece as diretrizes para garantir a transparência na análise e resultados.

2.1.1. Definição do objetivo e do âmbito

A definição do objetivo determina o contexto do estudo da ACV e deve ser formulado através da questão inicial, do público-alvo e da aplicação pretendida, constituindo a base da definição do âmbito. A definição do objetivo exige conhecimentos técnicos, científicos, económicos e sociais, para selecionar alternativas que possam ser comparadas atendendo à aplicação pretendida (Heijungs et al., 1992). O âmbito é elaborado atendendo à unidade funcional, as atividades e os processos envolvidos no ciclo de vida do produto estudado, os impactos a serem avaliados, os limites geográficos e temporais, o contexto do estudo e a tecnologia utilizada no sistema (Guinée et al., 2002; Hauschild et al., 2018; Heijungs et al.,

¹ <https://ecochain.com/blog/life-cycle-assessment-lca-guide/>.

1992). A unidade funcional é o elemento que quantifica a função do sistema e permite comparar produtos que tenham a mesma função (Entrena-Barbero et al., 2023; Ruiz-Salmón et al., 2021). É importante ter em conta como será feita a interpretação dos resultados do estudo, uma vez que esta fase influencia a recolha de dados, a modelação, a avaliação do sistema, e conseqüentemente as conclusões e as recomendações com base nos resultados (Hauschild et al., 2018).

É nesta fase que se define o sistema que se vai avaliar. Os limites do sistema são definidos e especificam os processos relacionados com o ciclo de vida do produto que se vai estudar (Ruiz-Salmón et al., 2021). A abordagem do sistema pode ser²:

- “*cradle to grave*” (do berço ao túmulo) - que inclui todas as fases do ciclo de vida;
- “*cradle to cradle*” (do berço ao berço) - normalmente é utilizado no âmbito da economia circular, os resíduos gerados passam por um processo de reciclagem em circuito fechado, tornando esses resíduos reutilizáveis;
- “*cradle to gate*” (do berço ao portão) - começa no início do ciclo até um ponto médio, por exemplo, avalia um produto até sair da fábrica, antes de chegar ao consumidor, eliminando o uso e o fim-de-vida;
- “*gate to gate*” (do portão ao portão) - inclui fases intermédias do ciclo de vida, podendo ser utilizado em processos com valor agregado;
- ou “*gate to grave*” (do portão ao túmulo) que vai de um ponto intermediário até ao final da vida útil (Figura 2.3).

² <https://ecochain.com/blog/life-cycle-assessment-lca-guide/>. Acedido em setembro de 2024.

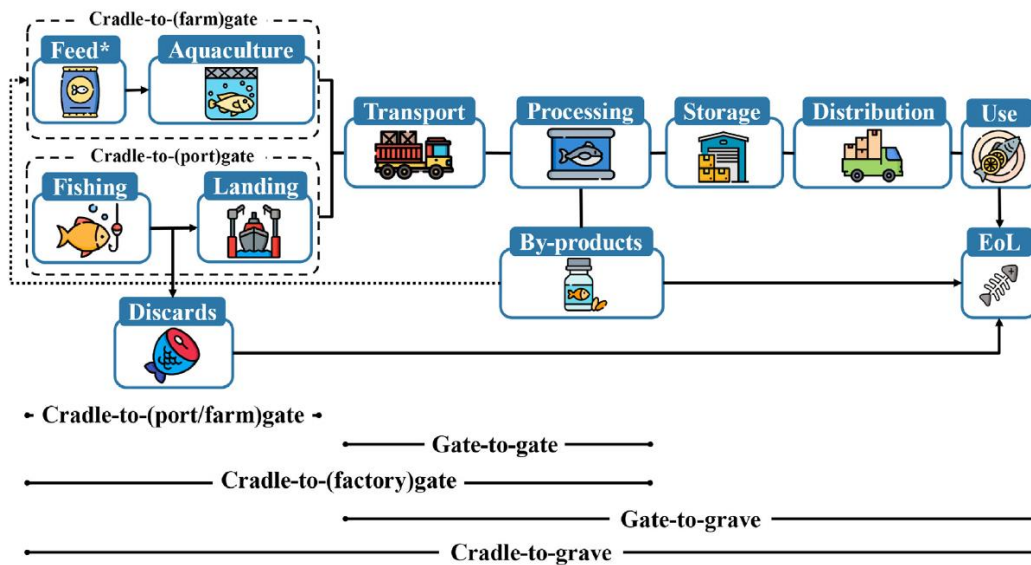


Figura 2.3 – Tipos de limites do sistema na Avaliação do Ciclo de Vida (Entrena-Barbero et al., 2023).

2.1.2. Inventário do Ciclo de Vida

O inventário do ciclo de vida (ICV) faz a quantificação dos fluxos de entrada e de saída durante o ciclo de vida do produto, que através da ação humana causam alterações no ambiente (Heijungs et al., 1992). É a fase onde se define as entradas (*inputs*) e as saídas (*outputs*) associados à produção e recolha de dados dos processos (Guinée et al., 2002).

A recolha de dados para o inventário vai avaliar o tipo e as quantidades dos recursos naturais utilizados, das emissões de poluentes durante a produção, do transporte, de como o produto é utilizado durante a sua vida útil e do descarte, reportando-os à unidade funcional definida (Amorim, 2019; Menoufi, 2011). O objetivo é obter uma tabela com um inventário quantitativo de todos os processos envolvidos no ciclo de vida do sistema do produto, detalhando as interações com o ambiente (Guinée et al., 2002; Heijungs et al., 1992). Assim, Guinée et al. (2002) define sistema de produção como um conjunto de processos unitários ligados por um fluxo de produtos intermédios, onde cada processo unitário corresponde a uma atividade que origina um produto ou serviço.

2.1.3. Avaliação dos Impactes do Ciclo de Vida

A Avaliação do Impacte do Ciclo de Vida (AICV) é um método que identifica e avalia os potenciais impactes humanos e ambientais associados a utilização dos recursos naturais e das emissões resultantes do inventário (Amorim, 2019; Menoufi, 2011). A AICV faz o processamento e modelação dos resultados do inventário, relacionando os dados do sistema com as categorias de impacto seleccionadas. Tem como objetivo compreender e avaliar a importância dos impactos ambientais associados a um produto ou sistema (Guinée et al., 2002).

De acordo com a ISO 14040, a AICV possui seis fases – i) seleção de categorias de impacte, indicadores de categoria e métodos de caracterização; ii) classificação, iii) caracterização; iv) normalização; v) agrupamento; e vi) ponderação – sendo as três primeiras obrigatórias e as restantes opcionais (Hauschild et al., 2018). Nas fases obrigatórias os resultados obtidos correspondem a um valor para cada categoria de impacte, enquanto que as fases opcionais permitem normalizar, pesar ou agregar os esses resultados das categorias de impacte (Amorim, 2019).

Na primeira fase, as categorias de impacte são seleccionadas tendo em conta os parâmetros de avaliação identificados na definição do âmbito e o método de AICV selecionado (Guinée et al., 2002; Hauschild et al., 2018). Na classificação os dados obtidos do inventário são distribuídos nas categorias de impacto ou nos indicadores de cada categoria conforme o modelo ou método de caracterização escolhido (Hauschild et al., 2018). Na caracterização os fatores de equivalência ou de caracterização irão permitir calcular as contribuições dos resultados do inventário para cada categoria de impacte. Por exemplo, todos os gases que contribuem para o aquecimento global são convertidos em quilogramas equivalentes de dióxido de carbono. Os resultados são expressos numa métrica que permite agregar todas as contribuições numa pontuação, representando o valor total da categoria de impacte.

A normalização corresponde ao peso de cada categoria de impacto em relação a um impacto de referência, de forma a melhorar a interpretação dos resultados e verificar erros que possam influenciar os resultados (Hauschild et al., 2018). De seguida os resultados das categorias de impacto podem ser agrupados e na ponderação esses resultados são comparados atribuindo pesos às categorias, o que permite agregar os resultados num único indicador de impacte

ambiental, melhorar a compreensão dos resultados e auxiliando na tomada de decisões (Guinée et al., 2002; Hauschild et al., 2018).

2.1.4. Interpretação dos resultados da Avaliação do Impacte do Ciclo de Vida

A interpretação dos resultados permite identificar, verificar e avaliar os resultados do inventário e da avaliação de impacte para responder as questões identificadas na definição do objetivo e do âmbito (Guinée et al., 2002; Hauschild et al., 2018). Nesta fase os resultados da análise e as decisões tomadas são avaliados em termos de robustez, são resumidos e discutidos para formular as conclusões, as recomendações e as tomadas de decisões com menor impacto ambiental possível (Amorim, 2019; Guinée et al., 2002).

2.2. Métodos de Avaliação do Impacte do Ciclo de Vida

Desde a década de 1990 que os métodos de AICV evoluíram de forma a quantificarem cada vez mais impactes ambientais. Foram surgindo também várias bases de dados de ICV geridas por diferentes instituições e organizações, que apresentam diferenças relacionadas com as normas, qualidade dos dados, e a utilização dos recursos e emissões. Em 2003 surgiu a primeira base de dados *Ecoinvet (v 1.01)* com o objetivo de manter normas e qualidade dos dados consistentes, abrangendo todos os setores industriais (Hauschild et al., 2018).

Com a complexidade da modelação dos métodos de AICV houve a necessidade de desenvolvimento de *softwares* específicos, como o SimaPro e o GaBi, com impacto nos resultados e na tomada de decisões (Hauschild et al., 2018; Razman et al., 2022). O SimaPro é um software com reconhecimento internacional, utilizado para realizar análises de ACV, que inclui várias bases de dados, sendo a *Ecoinvent* a mais utilizada (Henriksson et al., 2012; Razman et al., 2022). O software permite a aplicação de diferentes métodos de avaliação, tais como *CML*, *ReCiPe*, *TRACI*, *Impact 2002+*, *CED*, *IPCC* (Razman et al., 2022). Por exemplo, o método *ReCiPe* distribui os resultados do inventário em dois níveis de indicadores de avaliação: 18 indicadores médios (*midpoint*) e 3 finais (*endpoint*) (Razman et al., 2022). Uma das principais vantagens é permitir que sejam selecionadas categorias de impacte ambiental de efeito médio (*midpoint*).

A fase da caracterização pode originar valores para indicadores de impacte médio (*midpoint*), que em conjunto formam um perfil de impacte final (*endpoint*), e podem ser

comunicados como resultados da ACV (Hauschild et al., 2018). As categorias de impacto médio que constituem o método *ReCiPe* são: alterações climáticas, destruição da camada de ozono, acidificação (terrestre, água doce), eutrofização (terrestre, água doce e marinha), ecotoxicidade (terrestre, água doce e marinha), toxicidade humana (cancerígeno e não cancerígeno), formação de partículas, radiação ionizante (saúde humana, ecossistemas aquáticos e terrestres), utilização dos solos (erosão, fixação de carbono, produtividade biótica), utilização da água (saúde humana, ecossistemas aquáticos e terrestres), utilização de recursos abióticos (fósseis e minerais), utilização de recursos bióticos (pesca, extração de madeira), ruído e agentes patogénicos (Hauschild et al., 2018). Os indicadores de impacto final evidenciam os danos reais e representam as seguintes áreas de proteção: saúde humana, ambiente e recursos naturais. Consequentemente, as categorias de impacto médio podem estar associadas a mais do que um indicador de impacto final e contribuir para vários indicadores finais (Figura 2.4) (Hauschild et al., 2018; Pré Sustainability, 2017).

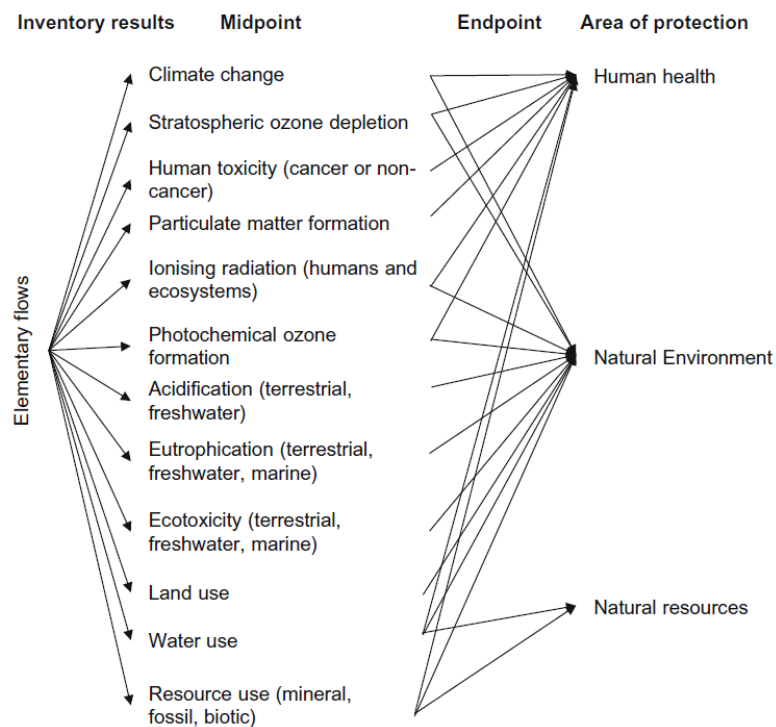


Figura 2.4 – Relação entre as categorias de impacto médio (*midpoint*) e de impacto final (*endpoint*) do método ReCiPe (Hauschild et al., 2018).

2.3. Categorias de Impacte da Avaliação do Ciclo de Vida do método *ReCiPe*

O mecanismo ambiental está associado a relação causa-efeito de uma determinada categoria de impacte (Bare et al., 2000). É o sistema dos processos físicos, químicos e biológicos de uma categoria que liga os resultados do inventário as categorias de impacte, através de modelo de caracterização. Os modelos de caracterização devem refletir esse mecanismo e descrever a relação entre o inventário e os indicadores de categoria de impacte e, em alguns casos, os indicadores de impacto final das categorias (Hauschild et al 2018).

2.3.1. Aquecimento global

O Painel Intergovernamental sobre as Alterações Climáticas (IPCC) define as alterações climáticas como uma mudança no clima identificada por alterações nas médias e/ou nas propriedades que persistem ao longo do tempo (Hauschild et al 2018). Todos os métodos de AICV utilizam o Potencial de Aquecimento Global para a caracterização do impacto médio, expresso em quantidades equivalentes de dióxido de carbono. Relativamente à perspetiva temporal, alguns métodos utilizam 100 anos para uma melhor comparação entre os Gases de Efeito Estufa (GEE) e outros utilizam 500 anos. Portanto, quanto maior a perspetiva temporal maior é o peso dos GEE de longa duração (por ex., óxido nitroso, CFC – clorofluorocarboneto e SF₆ – hexafluoreto de enxofre), e menor é o peso dos GEE de curta duração (por ex., metano). Isto demonstra que um longo período pode “dissolver” os impactos de curto prazo durante esse período. Expressa em quantidade equivalente de dióxido de carbono (Hauschild et al 2018).

2.3.2. Eutrofização da água doce

A eutrofização engloba os impactos causados pela elevada concentração de macronutrientes, essencialmente o azoto e o fósforo, e atua nas 3 áreas de proteção: saúde humana, ecossistema e recursos naturais. O enriquecimento de nutrientes pode causar alterações na biodiversidade, nomeadamente a perda de espécies aquáticas, aumentar a produção da biomassa, diminuindo os níveis de oxigénio e a degradação da qualidade das águas superficiais (por exemplo, fonte de água potável) devido à acumulação de matéria orgânica (Guinée et al 2002). É expressa em quantidade equivalente de fósforo (Hauschild et al 2018).

2.3.3. Ecotoxicidade terrestre e de água doce

A ecotoxicidade é a categoria que inclui os impactos associados às substâncias tóxicas nos ecossistemas, e contribui para a áreas de proteção do ambiente (Guinée et al 2002). Qualquer substância pode ser considerada tóxica, dependendo da quantidade emitida, mobilidade, persistência, exposição, biodisponibilidade e toxicidade, demonstrando que o potencial de impacto ecotóxico de uma substância não depende somente da toxicidade. A ecotoxicidade é expressa em quantidade equivalente de 1,4-DCB (diclorobenzeno) (Hauschild et al 2018).

2.3.4. Consumo de água

A água sendo um recurso indispensável aos seres vivos e ao ambiente é importante para as áreas de proteção de saúde humana e do ecossistema. Ao nível do inventário do ciclo de vida a água representa um fluxo de entrada e de saída, embora exista pouca diferenciação entre os tipos de água e os critérios de qualidade, que podem ser relevantes para a avaliação do impacto. Essa falta de informação pode ser um ponto negativo, pois dificulta a contabilização adequada dos potenciais impactes (Finnveden et al., 2009).

A avaliação de impacte do consumo da água aborda as consequências da escassez da água para os seres humanos e os ecossistemas. Quanto maior a escassez de água e a competição para o seu consumo, maior é a limitação do seu uso (Hauschild et al., 2018). Existe um índice de escassez que é baseado na comparação entre a água utilizada e a água renovável disponível, representando o nível de concorrência entre os seres humanos e os ecossistemas (Hauschild et al., 2018).

2.4. Avaliação do Ciclo de Vida aplicada à aquacultura

A ACV surge na aquacultura com o intuito de avaliar os impactos ambientais, auxiliando na tomada de decisões que pode ser dividida em três níveis: micro (e.g., num processo específico, por exemplo a produção de ração), médio (e.g., uma exploração aquícola) ou macro (e.g., o sector da aquacultura ou um país inteiro) (Bohnes et al., 2019). Este método permite identificar os pontos críticos, e comparar e adaptar os sistemas e/ou produtos de aquacultura de forma a reduzir os seus impactos (Bohnes et al., 2019; Henriksson et al., 2012). Os principais impactos resultam de fases ou elementos específicos, como a gestão de águas residuais e lamas, a alimentação/produção das rações e a gestão de nutrientes

libertados para o meio ambiente (Bohnes et al., 2019). Os estudos de ACV da aquacultura têm aumentado nas últimas duas décadas, no entanto existem diferenças relacionadas como, a abordagem, a definição do sistema, os limites e as categorias de impacto que são avaliadas individualmente, e os resultados são pouco representativos do sector a nível global (Entrena-Barbero et al., 2023; Henriksson et al., 2021).

Têm sido realizados estudos de ACV relacionados com a sustentabilidade ambiental das microalgas em aplicações como, por exemplo, alimento para rações de aquacultura, substituição do óleo de peixe por microalgas, utilização de microalgas para o tratamento de águas residuais de aquacultura e para recuperação de bioprodutos, e biodiesel produzido a partir de microalgas.

2.4.1. Avaliação do Ciclo de Vida aplicada à produção de spirulina

Têm sido realizado estudos de ACV para avaliar os impactos ambientais associados à produção direta ou indireta da spirulina devido à sua vasta aplicabilidade e à crescente preocupação com o impacto das atividades humanas nas alterações climáticas. A tabela 2.1 apresenta um resumo de oito artigos, em que os autores aplicaram a ACV em sistemas relacionados com a produção de spirulina, particularmente para aplicar em: recuperar a ficocianina (Papadaki et al., 2017), utilizar na alimentação humana e animal (Smetana et al., 2017), produzir biogás (Rodríguez et al., 2018), comparar com outros produtos tradicionais como tofu, leite e milho (Ye et al., 2018), melhorar o desempenho de ambiental de reatores solares (Quintero et al., 2021), bioprodutos (Arashiro et al., 2022), comparar os impactos ambientais da produção de spirulina com a produção de carne de vaca (Tzachor et al., 2022) e capturar dióxido de carbono (Fernández-Ríos et al., 2023) e comparação da produção artesanal com a produção industrial e outros suplementos (Fernández-Ríos et al., 2024)

Smetana et al. (2017) publicaram um artigo que teve como objetivo realizar uma ACV da *Chlorella vulgaris* e da *Arthrospira platensis* para a alimentação humana e animal, baseando-se em sistemas de cultivo e processamento à escala industrial. A ACV foi dividida em quatro fases: (1) o modelo e a análise da produção sob condições autotróficas e heterotróficas na mesma escala de produção; (2) o processamento das biomassas em produtos adequados para a alimentação; (3) a comparação de produtos alimentares e de rações à base de microalgas com referências tradicionais e (4) a análise da sensibilidade e

identificação de cenários mais sustentáveis. Para além de terem seguido a abordagem padrão da ACV, foi utilizado o software *SimaPro8* e uma base de dados adaptada da *Ecoinvent*, foram definidas quatro unidades funcionais (UF), e três sistemas associados ao cultivo e processamento da biomassa com cinco cenários para o cultivo (duas espécies – *L. platensis* e *C. vulgaris* e três sistemas de cultivo – *raceways* autotróficos, fotobiorreator tubular autotrófico e fermentador heterotrófico). As UF definidas foram: (1) comparação de 1kg de biomassa fresca na fase de processamento, nomeadamente a floculação e a centrifugação; (2) uso da biomassa seca sob a forma de proteína em pó concentrada para alimentação; (3) uso de 1 kg de farinha concentrada para diferenciar os sistemas de cultivo de acordo com as espécies e as condições de cultivo; e (4) estimativa dos impactos ambientais dos óleos de microalgas utilizados na alimentação.

As categorias com maiores impactos foram, consumo de energia, aquecimento global, emissões inorgânicas respiratórias, esses impactos foram associados ao cultivo em *raceways* para ambas as espécies e aos procedimentos de limpeza dos fotobiorreatores tubulares das duas espécies. O cultivo da spirulina resultou numa diminuição dos impactos ambientais, devido a redução da necessidade de aquecimento dos *raceways*, mas houve um aumento do consumo da água devido a evaporação intensa, por ser ocorrer numa região árida. Assim sendo, os resultados demonstram a necessidade de seleccionar as melhores condições ambientais para o cultivo.

Um estudo sobre a ACV da produção de pastilhas de spirulina à escala industrial foi realizado por Ye et al. (2018), em que o principal objetivo foi avaliar a produção de alimentos à base de algas em termos de desempenho ambiental, identificar os *hotspots* e quais aspetos a melhorar. Foram estabelecidos os limites do sistema do berço ao portão (*cradle to gate*) e o ciclo de vida da produção das pastilhas foi dividido em 3 fases: inoculação e cultivo, colheita e desidratação, e fabrico das pastilhas. Os resultados de 1 kg de pastilhas produzidos numa escala comercial foram divididos em dois cenários, o existente (cenário 1) e o melhorado (cenário 2). O cenário 1, correspondente a produção de pastilhas, apresentou maior impacto para o aquecimento global (7,7 kg CO₂ eq.), *smog* (0,44 kg O₃ eq.), acidificação (0,096 kg SO₂ eq.), eutrofização (0,22 kg N eq.) e depleção de combustíveis fósseis (12,7 MJ *surplus*). A ACV das pastilhas de spirulina demonstraram maior impacto ambiental em relação à produção de spirulina para biocombustíveis devido ao uso de nutrientes e da energia elétrica ao longo da sua produção. Os autores recomendam o uso de

energias renováveis, reciclagem do dióxido de carbono e melhorias nos sistemas de produção, contribuindo para a diminuição dos impactos e custos associados.

Arashiro et al. (2022) realizaram um estudo de ACV de dois sistemas que utilizam spirulina para tratamento de águas residuais urbanas e industriais, recuperando os bioprodutos (pigmentos naturais, biofertilizantes e biogás), e que foram comparados com um sistema convencional de cultivo de spirulina. Obtiveram menor impacto no sistema de águas residuais industriais para a maioria das categorias de impacto (8 de 10) devido à alta produção de biogás a partir das águas residuais que foi convertido em energia, baixando as emissões de GEE para a atmosfera, e a concentração da amónia e metais pesados. Em relação à comparação dos dois sistemas com o convencional, os primeiros apresentaram melhor desempenho ambiental para a maioria das categorias, pois a quantidade de produtos químicos utilizados no cultivo foi menor.

O estudo realizado por Fernández-Ríos et al., (2024) teve como objetivo quantificar os impactos ambientais da produção artesanal de spirulina pura e seca, na Espanha, e compará-las com a produção industrial e outros suplementos. Foram estabelecidas duas unidades funcionais: (1) baseada no produtor – 1 kg de spirulina desidratada com formato de comprimidos e em massa e (2) com base no consumidor – baseada no índice 1000 NRF 9.2 que mede os nutrientes necessários para suprir as necessidades da população. Os dados foram recolhidos de duas produções, em Lleida (SP_LLE) e Valência (SP_VAL), entre 2021 e 2022. Também foi realizada uma análise económica, através da monetização dos impactos da produção artesanal e da contabilidade dos custos ambientais. Os comprimidos apresentaram maiores impactos ambientais, especialmente na pegada de carbono, devido ao transporte e uso de energia. Observado através das alterações climáticas e do uso de recursos fósseis. A spirulina produzida em SP_LLE apresentou menores cargas ambientais que SP_VAL, devido ao uso menos intensivo dos recursos, observado através da acidificação e da eutrofização. A pegada de carbono foi superior para os comprimidos. Em relação à análise orientada para o consumidor, ficou evidente o potencial da spirulina em suprir as necessidades nutricionais da população. Relativamente à exportação para a Europa e às importações da China para a Espanha, o desempenho dos sistemas é afetado pelo meio de transporte e pela distância percorrida.

Tabela 2.1 – Resumo dos artigos científicos sobre a aplicação da ACV na produção da spirulina. Legenda: GEE – gases de efeito estufa, GWP – *Global Warming Potencial*.

Autores	Espécies	Objetivos	Sistemas de produção	Método de avaliação dos impactes ambientais	Categorias de impacto ambiental	Principais conclusões
Papadaki et al. (2017)	<i>Limnospira platensis</i>	Comparar os impactes ambientais de diferentes métodos de extração da ficocianina da spirulina e identificar <i>hot spots</i> recorrendo a ACV.	Tanques abertos	<i>CML 2</i>	Depleção da camada de ozono; Toxicidade humana, Ecotoxicidade aquática de água doce; Ecotoxicidade aquática marinha; Ecotoxicidade terrestre; Oxidação fotoquímica; Aquecimento global; Acidificação; Depleção abiótica; Eutrofização.	A extração através de biomassa seca ou húmida com diferentes solventes mostraram diferenças no impacto ambiental, embora em ambos os casos algumas combinações tenham demonstrado alto potencial.
Smetana et al. (2017)	<i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Limnospira platensis</i>	ACV do cultivo de microalgas e cianobactérias em condições autotróficas e heterotróficas numa escala industrial piloto, incluindo o processamento para alimentos e rações.	<i>Raceways</i> , fotobiorreatores tubulares e fermentadores heterotróficos	<i>ReCiPe VI.08 - Midpoint IMPACT 2002+ - Endpoint</i>	<i>Endpoint</i> : Saúde humana; Ambiente; Recursos naturais.	Os sistemas utilizados tiveram maiores impactes ambientais em relação às fontes tradicionais de proteína como soja, frango e porco, devido ao aquecimento e energia no cultivo autotrófico e à glicose no cultivo heterotrófico.

Rodriguez et al. (2018)	<i>Arthrospira maxima</i>	Avaliar o desempenho ambiental do biogás produzido a partir da spirulina através da ACV, utilizando resultados experimentais e uma simulação.	Cultivo em lote em fotobiorreatores de 50 ml e cultivo contínuo em reatores de 12L e 10L	<i>CML 2001</i>	Depleção abiótica de recursos fósseis; Potencial de aquecimento global; Potencial ecotoxicidade aquática de água doce; Potencial de toxicidade humana; Demanda acumulativa de energia.	A produção de biogás teve melhor desempenho energético do que produção de biodiesel. A substituição dos fertilizantes minerais como fonte de nutrientes seria a melhor forma de melhorar o desempenho ambiental da produção de spirulina estudada.
Ye et al. (2018)	<i>Limnospira platensis</i>	Avaliar o desempenho ambiental da produção de pastilhas de spirulina através da ACV e comparação com outros produtos tradicionais como tofu, leite e milho.	Inoculação e cultivo em PBR de 5L. Colheita, desidratação com filtração e secagem com spray industrial. Fabricação das pastilhas com o pó (5% de humidade)	<i>TRACI 2</i>	Potencial de depleção da camada de ozono; Potencial de aquecimento global; <i>Smog</i> ; Potencial de acidificação; Potencial de eutrofização; Cancerígenos; Não cancerígenos; Efeitos respiratórios; Ecotoxicidade; Depleção de combustível fóssil.	A produção de spirulina para alimento possui maiores impactos ambientais quando comparada com a produção para biocombustíveis. Em termos de produção de proteína, as pastilhas de spirulina não são competitivos quando comparadas com alimentos tradicionais à base de plantas. No entanto, contêm uma grande variedade de nutrientes e os impactos para produzir as mesmas combinações de nutrientes de proteína e beta-caroteno a partir de cenoura + tofu foram mais elevados do que a produção de pastilhas de spirulina.
Quintero et al. (2021)	<i>Limnospira platensis</i>	Identificar aspetos operacionais que permitam melhorar o	Duas configurações de estufas com	<i>ILCD</i>	Potencial de aquecimento global.	Os <i>raceways</i> fechados, com e sem regulação térmica, apresentaram maiores impactos nas épocas quentes,

		equilíbrio ambiental de dois reatores solares através de ACV e utilizar um modelo de crescimento.	<i>raceways</i> abertos e fechados			devido a necessidade de regulação térmica. Para reduzir o impacto, as operações devem favorecer períodos com calor e luz solar suficientes.
Arashiro et al. (2022)	<i>Limnospira platensis</i>	Avaliar os impactos ambientais de dois sistemas de tratamento de águas residuais urbanas (cenário 1) e industriais (cenário 2) com base na spirulina e recuperação de bioprodutos e bioenergia, e compará-los com um sistema de referência de cultivo de spirulina (cenário 3).	Cenário 1: tanques de alta velocidade e fotobiorreatores Cenário 2: reator anaeróbico e tanques de alta velocidade Cenário 3: tanques de alta velocidade com meio de cultivo de microalgas padrão.	<i>ReCiPe 2016 - Midpoint</i>	Potencial de aquecimento global; Depleção da camada de ozono estratosférica; Acidificação terrestre; Eutrofização marinha; Eutrofização de água doce; Ecotoxicidade terrestre; Toxicidade carcinogénica humana; Escassez de recursos minerais; Formação de partículas finas.	O sistema de tratamento de águas residuais com spirulina teve menor impacto na recuperação de bioprodutos a partir de águas industriais do que urbanas devido à qualidade das águas.
Tzachor et al. (2022)	<i>Limnospira platensis</i>	Comparar os impactos ambientais da produção de spirulina. numa estrutura	Fotobiorreatores de 180 L	?	Potencial de aquecimento global.	A spirulina cultivada no parque geotérmico requer menos de 1% de terra e água e emite menos de 1% de

		industrial alimentada por energia geotérmica e com a carne de vaca.				GEE comparando com a carne de vaca produzida convencionalmente.
Fernandez-Ríos et al. (2023)	<i>Limnospira platensis</i>	Comparar a produção convencional de spirulina com dióxido de carbono (CO ₂) sintético, com dióxido de carbono proveniente da fermentação de cerveja e com a captura direta de carbono da atmosfera.	<p>Cenário 1: produção convencional de spirulina</p> <p>Cenário 2: produção com CO₂ produzido da fermentação da cerveja</p> <p>Cenário 3: produção com CO₂ capturado do ar</p>	<i>Environmental Footprint method 3.0</i>	Potencial de aquecimento global.	Embora o cenário com a fonte de CO ₂ da cervejaria ofereça uma maior mitigação de carbono na produção de spirulina, o processo não pode atingir emissões líquidas zero de GEE devido às emissões ao longo de toda a cadeia de abastecimento. O cenário com a captura de carbono do ar poderia fornecer tanto o CO ₂ necessário para a produção de spirulina, como compensar as emissões residuais removendo o CO ₂ da atmosfera.
Fernandez-Ríos et al. (2024)	<i>Limnospira platensis</i>	Quantificar os impactos ambientais da produção artesanal e comparar com a produção industrial e outros suplementos	<i>Raceways</i>	<i>Environmental Footprint method 3.0</i>	Uso de energia fóssil, minerais e metais; Acidificação; Eutrofização de água doce, marinha e terrestre; Ecotoxicidade de água doce; Alterações Climáticas.	A spirulina da produção artesanal tem bom desempenho ambiental e nutricional. O preço dos produtos auxilia na tomada de decisões em relação as opções mais baratas, mais saudáveis e mais sustentáveis. É importante ter em conta o método de

						ACV e os fatores de monetização de forma a alcançar resultantes consistentes.
--	--	--	--	--	--	---

2.5. A empresa Tomar Natural

A empresa Tomar Natural é um projeto familiar, localizado numa quinta agroflorestal em Tomar. Desde 2018 tem-se ocupado da produção de spirulina artesanal. A sua primeira atividade tem como objetivo manter a qualidade da cianobactéria e salvaguardar as propriedades nutricionais da mesma. A unidade de produção está integrada numa área agroflorestal onde se realizam atividades agrícolas, respeitando a biodiversidade e o ambiente (Figura 2.5). A água utilizada na produção de spirulina é captada perto da produção e analisada regularmente, tendo os padrões de qualidade adequados ao cultivo. A produção média anual da empresa é em média 263 kg de biomassa desidratada. A spirulina é comercializada em palhinhas desidratadas através do website da Tomar Natural ou diretamente ao público em feiras, mercados biológicos, e eventos na região de Tomar.

Em Portugal existem mais empresas que produzem spirulina, como a Nécton, Allmicroalgae, a Spirulina da Serra e a Quinta Verde 5essentia localizadas em Olhão, Pataias, Monchique e Graciosa (Açores), respetivamente. Todas as empresas mencionadas possuem uma produção biológica, e uma parte da produção da Nécton não é adequada para o consumo humano.



Figura 2.5 – Unidade de produção da Tomar Natural (Fonte: Tomar Natural)³.

³ Site oficial da Tomar Natural: <https://tomarnatural.pt/#Artesanal> (acedido em 7 de novembro de 2023).

2.6. Produção biológica de spirulina

O facto da spirulina da Tomar Natural ser cultivada sem nenhum aditivo químico faz com que seja considerada “quase” biológica. De facto, alguns produtores, inclusive a Tomar Natural e a Federação Francesa de Produtores de spirulina (FSF - *Fédération des Spiruliniers de France*) têm o cuidado de ter uma produção 100% natural, sempre que possível. De acordo com os produtores pertencentes a FSF, o cultivo desta cianobactéria é realizado em estufas através de reprodução assexuada sob condições naturais. A água do cultivo é enriquecida com sais minerais compatíveis com as recomendações da agricultura biológica europeia. Porém, a maioria não é biológica devido à utilização do azoto sintético como nutriente, tal como na Tomar Natural. O azoto sintetizado quimicamente e disponível no mercado não é compatível com o cultivo biológico. Muitos produtores usam a ureia em vez de azoto, produzindo spirulina de qualidade e sem contaminações, o que é confirmado pela ausência da ureia nas análises realizadas à biomassa produzida (*Fédération des Spiruliniers de France*, FSF, 2009).

O Regulamento da União Europeia (UE) 2018/848 define a produção biológica como “um sistema global de gestão das explorações agrícolas e da produção de géneros alimentícios que combina as melhores práticas em matéria ambiental e climática, um elevado nível de biodiversidade, a preservação dos recursos naturais e a aplicação de normas exigentes em matéria de bem-estar dos animais e de normas exigentes em matéria de produção em sintonia com a procura, por parte de um número crescente de consumidores de produtos originados através da utilização de substâncias e processos naturais”. Para garantir que os produtos estejam de acordo com o Regulamento Europeu de Agricultura Biológica, a produção, a preparação e a distribuição devem passar por um sistema de controlo. Torna-se obrigatório que cada produto tenha um Certificado de Modo de Produção Biológico e que todos os intervenientes tenham contrato com uma Entidade de Controlo⁴. Existem vários tipos de especificações, algumas são oficiais como os logotipos “AB” ou a folha europeia verde (Figura 2.6), em que o conteúdo é público e validado pelas entidades, mas também existem especificações que são privadas. No entanto, a presença dos logotipos ou a rotulagem “biológica” não são critérios de qualidade, mas sim uma indicação do modo de produção dos alimentos (*Fédération des Spiruliniers de France*, FSF, 2009).

⁴ <https://ecochain.com/blog/life-cycle-assessment-lca-guide/>. Acedido em setembro de 2024.



Figura 2.6 – Logotipo biológico da União Europeia⁵.

Em Portugal existe uma certificação em Modo de Produção Biológico que inclui 11 instituições de controlo privadas que são reconhecidas pelo Instituto Português da Acreditação e da Certificação (IPAC)⁶. O Regulamento UE 2018/848 do parlamento europeu, e do conselho europeu de 30 de maio, relativo à produção biológica e à rotulagem dos produtos biológicos revoga o Regulamento (CE) n° 834/2007, e estabelece os princípios, regras, certificação e utilização de indicadores relacionados com a produção biológica, rotulagem e a publicidade. Aplica-se aos produtos provenientes da agricultura, aquacultura e apicultura, e aos que são produzidos, preparados, rotulados, distribuídos, colocados no mercado, importados ou exportados da UE. No que diz respeito à produção de bens alimentares biológicos transformados, a certificação de produção biológica atribui-se quando: 1) a produção de bens alimentares é feita a partir de ingredientes agrícolas biológicos, 2) a exclusão de substâncias e métodos de transformação que sejam suscetíveis à indução de erro quanto à natureza do produto, 3) e preferência de métodos biológicos, mecânicos e físicos durante a transformação (Regulamento, 2018). A Estratégia Nacional para a Agricultura Biológica (ENAB) possui 5 objetivos estratégicos para um período de 10 anos (2017 – 2027), entre as quais: (1) estimular a expansão das áreas de produção biológica nos setores da agricultura, pecuária e aquacultura, através da melhoria da viabilidade técnica e do reforço da atividade económica; (2) aumentar a oferta de produtos obtidos da produção biológica, promovendo a competitividade e a rentabilidade no mercado interno e externo; (3) desenvolver a procura por produtos biológicos; (4) promover o conhecimento e elevar o nível de competências sobre a produção biológica tendo em conta as características específicas dos solos e (5) dinamizar a inovação empresarial e a disponibilidade de

⁵ https://agriculture.ec.europa.eu/farming/organic-farming/organics-glance_en.

⁶ <https://agrobio.pt/agricultura-biologica/certificacao/>. Acedido em setembro de 2024.

informações importantes relativas a produção biológica⁷. Existe o regulamento de execução UE 2011/1165 que autoriza a utilização de determinados produtos e substâncias de limpeza e desinfeção dos edifícios e das instalações na produção biológica (Jornal Oficial da União Europeia, 2021).

Este estudo teve como principal objetivo fazer uma avaliação ambiental da produção de spirulina artesanal e comparar essa produção com um cenário de produção biológica. A empresa Tomar Natural foi utilizada como caso de estudo. Uma das motivações para o estudo foi o interesse em perceber se a nível ambiental existem vantagens em se utilizar uma produção biológica quando comparada com uma produção artesanal.

Também foi realizada uma análise nutricional para comparar o perfil bioquímico da spirulina de produção artesanal com uma spirulina com certificação biológica, neste caso utilizou-se a spirulina comercializada num supermercado português.

⁷ <https://www.producaobiologica.pt/>. Acedido em setembro de 2024.

3. Metodologia

3.1. Avaliação do Ciclo de Vida

3.1.1. Definição do objetivo

Este estudo teve como principal objetivo fazer uma avaliação ambiental da produção de spirulina artesanal desde o início da produção até à fase do embalamento e comparar essa produção com um cenário de produção biológica em termos de impacto ambiental.

3.1.2. Definição do âmbito e das fronteiras do sistema

A unidade funcional foi definida como 1 kg de spirulina, produzida entre os meses de abril e outubro, na unidade de produção da Tomar Natural. Tendo em conta o objetivo definido, a abordagem utilizada foi “*cradle to gate*”, na qual a spirulina foi avaliada desde o início da sua produção até à fase do embalamento (Figura 3.7). As fases de distribuição, utilização e descarte por parte do consumidor final foram excluídas porque os dados são de difícil acesso, visto que o produto final é distribuído por diferentes pontos dentro de Portugal.

A empresa localiza-se na freguesia de Madalena em Tomar. A unidade de produção possui 4 *raceways* com 120 m² cada, localizados dentro de uma estufa que permite otimizar as condições de cultivo e evitar contaminações. A produção decorre nos *raceways* com água proveniente de um furo à qual são adicionados somente os nutrientes, sem nenhum tipo de aditivo, pesticida ou herbicida. Os tanques possuem pás que agitam a água favorecendo o contacto com a luz solar e a fotossíntese, e ocorre a injeção de CO₂ para controle do pH. A coloração verde intensa significa que o cultivo está saudável e com alta concentração da biomassa. A colheita é feita diariamente, corresponde a cerca de 25% do cultivo, através de tubagens de qualidade para uso alimentar. A spirulina é bombeada e encaminhada para a filtração, que dura cerca de 2h e consiste na retenção da biomassa húmida por meio de uma tela, separando-a do meio de cultivo, que volta para os tanques após uma filtração (Figura 3.8). Após 24 horas a biomassa recolhida é reposta pelas cianobactérias nos *raceways*. A água é reposta diariamente nos tanques, e corresponde a 2% do volume total e resulta da evaporação.

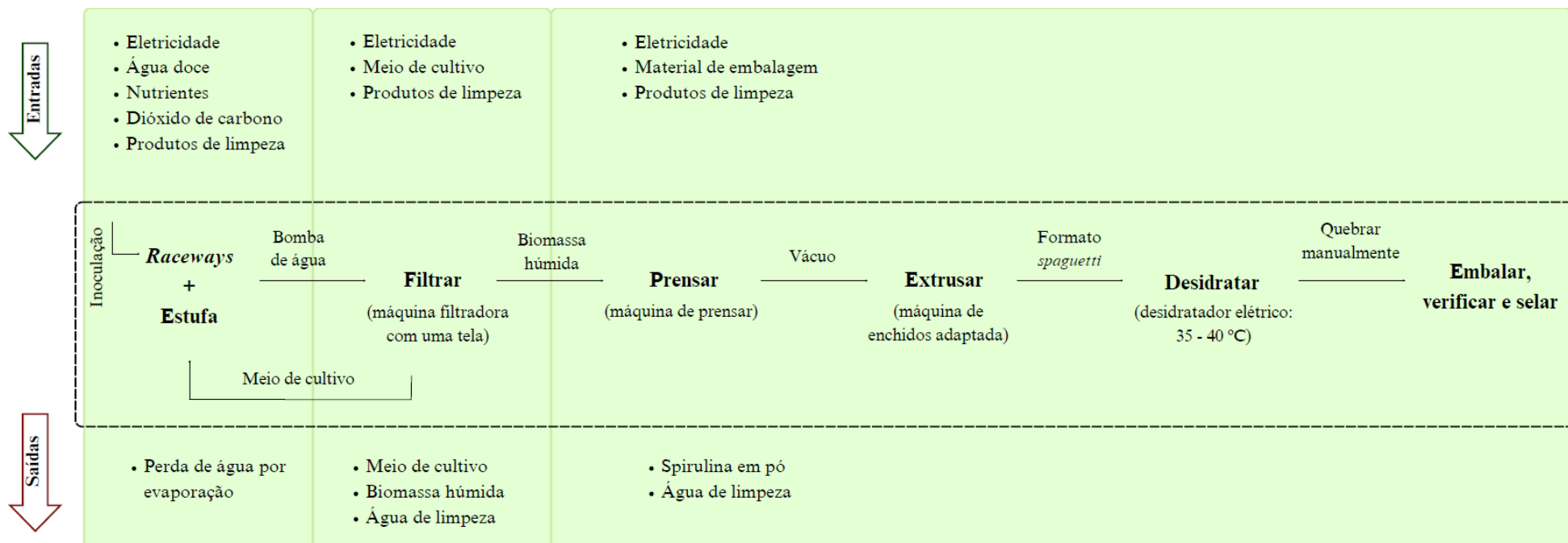


Figura 3.7 – Esquema do sistema de produção de spirulina da Tomar Natural, com as respetivas entradas e saídas. O quadro tracejado corresponde aos processos analisados (cultivo, colheita e processamento) para a avaliação do ciclo de vida. O dióxido de carbono não foi utilizado em 2023 e por isso não contabilizado para a ACV.



Figura 3.8 – Raceways dentro da estufa e o sistema de colheita e retenção da biomassa húmida.

A biomassa retida na tela é prensada a vácuo durante 2h (Figura 3.9 – A), até adquirir uma consistência moldável e é modelada em fios, tipo “esparguete”, recorrendo a uma máquina de enchidos adaptada (Figura 3.9 – B). A desidratação é feita com um desidratador elétrico (Figura 3.9 – C) a baixas temperaturas (35 – 40 °C) durante 5h para manter as propriedades nutricionais, até ficar estaladiça. De seguida os fios são quebrados manualmente em palhinhas com movimentos suaves. Por último, são pesadas 100 gr da spirulina e embalada em recipientes feitos de material reciclado (Figura 3.10), ficando pronta para ser distribuída.

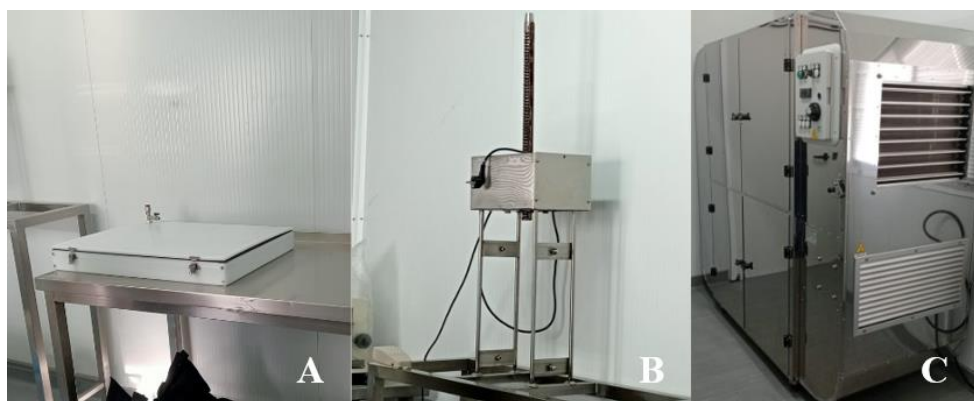


Figura 3.9 – Equipamento de prensagem da biomassa húmida (A), a máquina de modelagem dos fios (B) e o desidratador elétrico (C).



Figura 3.10 – Spirulina Artesanal (100 gr) desidratada e comercializada pela Tomar Natural⁸.

3.1.3. Inventário do Ciclo de Vida

Foi elaborada uma tabela de inventário com os recursos e processos envolvidos na produção artesanal da spirulina – o cultivo, a colheita e o processamento – com base nas unidades, dimensões, marca/fonte/tipo de material, quantidades por ciclo de produção e valores por unidade funcional dos respetivos fluxos de entrada e de saída no ano de 2023 (Tabela 3.2). Para auxiliar a construção da tabela foi elaborada uma lista de perguntas relacionadas com a origem e quantidade dos recursos utilizados, a preparação da água e do meio de cultivo que é reciclado, que tipo de produtos são utilizados para a limpeza, desinfeção dos equipamentos, as dimensões e o tempo de vida dos materiais. A lista de perguntas foi enviada aos proprietários da empresa para que estes fornecessem a informação necessária.

As entradas identificadas são os recursos utilizados para a produção, nomeadamente os materiais da estufa e dos *raceways*, os nutrientes, a eletricidade da rede e de painéis fotovoltaicos, a água doce, os produtos de limpeza, e a embalagem. E as saídas correspondem aos recursos resultantes da produção, tais como a água perdida por evaporação e resultante das limpezas dos *raceways* e dos restantes equipamentos, e a spirulina artesanal em palhinhas desidratada a baixa temperatura.

⁸ <https://tomarnatural.pt/product/spirulina-artesanal-em-po-100gr/>. Acedido em agosto de 2024.

Os *raceways* foram construídos com 220 tábuas de madeira do tipo pinho com tratamento. Cada tábua tinha 2,5 m de comprimento, 0,3 m de altura e 0,03 m de espessura. Cada *raceway* possui rodas de pás de plástico. São revestidos com uma tela de borracha EPDM, na qual foram utilizados 4 rolos de 32 m de comprimento e 6 m de largura. Os separadores e as curvas são de inox 316 de qualidade alimentar, o comprimento, a largura e a espessura dos 4 separadores são 30 cm x 25 m x 0,5 cm, e das 4 curvas são 30 cm x 1 m x 0,5 cm, respectivamente. Possuem 50 verguinhas de tubo de aço maciço com 12 m de comprimento e 12 mm de diâmetro. Para além da estufa, os *raceways* são cobertos com uma rede sombra de forma a diminuir a incidência da luz solar. A estufa é coberta de plástico polietileno de 1570 m² de densidade 270 g/m². Em 2023 mudaram 280 m² deste plástico devido ao dano causado por aves. A estufa possui uma estrutura feita de tubos de alumínio de 50 m e 0,68 kg/m, e janelas que podem ser abertas no verão. O tempo de vida útil varia tendo em conta os materiais. Foram considerados 5 anos para o polietileno; 10 anos para a madeira, a tela de borracha e tubos de alumínio; e 30 anos para o inox e para os tubos de aço.

Foram realizados diferentes cálculos relacionados com a infraestrutura. Em primeiro lugar calculou-se o valor unitário do peso de cada material tendo em conta as suas dimensões. De seguida dividiu-se o peso unitário de cada material pelo respetivo tempo de vida, obtendo o valor para um ciclo de produção. Por último fez-se a divisão entre o valor de ciclo de produção de cada material, que corresponde a um total de 263 kg de spirulina seca, pelo valor da unidade funcional (1 kg spirulina). O cálculo do peso unitário da madeira e do aço foi obtido através de sites na internet⁹.

Os nutrientes utilizados no crescimento da spirulina foram o nitrato de potássio, sulfato de magnésio, quelato de ferro, ácido fosfórico, sulfato de potássio, oligoelementos, sal marinho não refinado e bicarbonato de sódio. Todos os nutrientes exceto o bicarbonato e o sal são de origem vegetal, e são utilizados para preparar o meio de cultivo. Após cada colheita alguns destes nutrientes são repostos em menores quantidades.

As instalações contam com painéis solares fotovoltaicos, cuja energia elétrica produzida é utilizada para bombear a água, movimentar as pás que garantem a circulação da água dos tanques, bombear a spirulina durante a colheita, e alimentar os equipamentos utilizados no processamento.

⁹ <https://www.timberpolis.pt/wood-calculators>, <https://www.vimetal.com.br/site/calculadora/>.

A água utilizada é proveniente de um furo na quinta, e por ser um terreno calcário, a água passa por descalcificadores, filtro de partículas e UV antes de dar entrada nos tanques. Também são realizadas análises microbiológicas e de radioatividade em amostras da água do furo e dos *raceways*. A água resultante da filtragem volta para os tanques, enquanto que a água resultante da prensagem é descartada. Normalmente há a acumulação de matéria orgânica no fundo dos *raceways* que é retirada através de uma purga. Para além desse procedimento de limpeza, os tanques são limpos apenas com a pressão da água. As tubagens, rodas de pás, piso da estufa e restantes equipamentos são limpos com um produto de limpeza multiusos. O descarte da água é feito para uma fossa e foi assumido que será feito um tratamento de águas residuais posteriormente, quando a fosse for limpa.

As embalagens utilizadas para a comercialização da spirulina desidratada são feitas de material reciclado do tipo *Vegeplast* de origem francesa, composto por biomateriais e componentes naturais. Não são utilizados plásticos na sua constituição, é um material biodegradável e compostável, com certificação ISO 22000 para a segurança alimentar. O tubo é de papelão reciclável, fabricado pela SONOCO, e a tampa é feita de polímeros de origem 100% vegetal. Possui uma aba que desliza com sistema de bloqueio garantindo a preservação do produto.

Algumas saídas do inventário não foram consideradas por serem utilizadas quantidades reduzidas, como é o caso dos oligoelementos e do sódio, ou no caso da produção dos painéis fotovoltaicos por terem um tempo de vida longo. O dióxido de carbono não foi utilizado no ano de referência dos dados fornecidos para a ACV, apesar de ser utilizado normalmente para controlar o pH e promover o crescimento da spirulina. A empresa acredita que a sua utilização provocava a contaminação por rotíferos e verificaram melhor rendimento de produção quando não utilizavam o dióxido de carbono.

Para complementar os dados primários recolhidos na empresa, foram associados dados e processos secundários obtidos através da base de dados *Ecoinvent* (versão 3.7.1). A modelação das fases do ciclo de vida, incluindo cultivo, colheita, e processamento, foi feita no programa *SimaPro* (versão 9.4.0.2) através do método *ReCiPe*. Das várias categorias de impacto ambiental a nível *midpoint* que pertencem ao método *ReCiPe*, foram selecionadas as seguintes 5 categorias: alterações climáticas, eutrofização terrestre, ecotoxicidade terrestre, ecotoxicidade de água doce e consumo da água. Na fase de caracterização foi feita a

comparação dos resultados das contribuições para cada categoria, com base na unidade funcional definida como 1 kg de spirulina.

Tabela 3.2 – Inventário do ciclo de vida da produção artesanal da spirulina relativo à unidade funcional (UF, 1 Kg de spirulina). *A embalagem aparece duas vezes com os mesmos valores, no entanto os processos utilizados no SimaPro foram diferentes.

Fases	Unidade/ano	Valor (quantidade por 1 ciclo de produção)	Unidade	Valor para a UF (1 kg spirulina)
Inputs				
<i>Raceways (4 unidades)</i>				
Madeira (pinho com tratamento)	kg/ano	0,50	kg	0,002
Borracha EPDM (tela)	kg/ano	100,00	kg	0,38
Aço (tubos)	kg/ano	1,78	kg	0,01
Inox alimentar (separadores)	kg/ano	434,40	kg	1,65
<i>Estufa (1 unidade)</i>				
Polietileno (cobertura)	kg/ano	99,90	kg	0,38
Alumínio (tubos)	kg/ano	3,40	kg	0,01
<i>Consumíveis</i>				
<i>Nutrientes</i>				
Nitrato de potássio: 13,5% nitrogénio total (N) e 46% óxido de potássio (K ₂ O) solúvel em água	kg/ano	131,50	kg	0,50
Ácido fosfórico: 45% anidrido fosfórico solúvel em água	kg/ano	13,15	kg	0,05
Sulfato potássico: 51% óxido de potássio (K ₂ O)	kg/ano	10,52	kg	0,04
Sulfato magnésio: 9,8% magnésio e 13% enxofre	kg/ano	5,26	kg	0,02
Quelato de Ferro (Fe) EDTA: 13% ferro	kg/ano	5,26	kg	0,02
<i>Outros consumíveis</i>				
Eletricidade (da rede)	kW/ano	3000,00	kW	11,41
Eletricidade (painéis fotovoltaicos)	kW/ano	1,50	kW	0,01
Água doce (furo)	L/ano	96000,00	litros	365,02
<i>Produtos de limpeza (exemplos)</i>				
Hipoclorito de sódio (ou lixívia)	L/ano	120,00	litros	0,46
Produto de limpeza multiuso	L/ano	2,00	litros	0,01
<i>Embalagem*</i>				

Papel reciclado (tubo) + plástico origem vegetal (tampa)	kg/ano	300,00	kg	1,14
Papel reciclado (tubo) + plástico origem vegetal (tampa)	kg/ano	300,00	kg	1,14
Outputs				
Água (evaporação)	L/ano	0,72	litros	0,003
Água (limpeza dos <i>raceways</i>)	L/ano	9120	litros	34,68
Água (limpeza dos equipamentos)	L/ano	48	litros	0,18
Spirulina em palhinhas (desidratada)	kg/ano	263	kg	1

3.1.4. Cenário de produção de spirulina em modo biológico

De acordo com a empresa e comprovado com os mecanismos de certificação estabelecidos percebeu-se que a principal diferença entre a produção biológica e a não biológica é a fonte do azoto utilizada. Até o ano 2022, a Tomar Natural utilizou a ureia não certificada para a produção biológica como fonte de azoto, mas a sua utilização gera muitos resíduos na água. É um nutriente permitido na certificação biológica, mas a sua aquisição é dispendiosa, motivo pela qual foi substituído pelo nitrato de potássio sintetizado industrialmente. Nesse sentido, foi definido um cenário com a ureia de origem biológica e foi feita uma comparação com o caso real da Tomar Natural, que utiliza o nitrato de potássio como fonte de azoto. As diferenças do cenário da produção biológica estão relacionadas com os nutrientes utilizados e a frequência da troca de água nos *raceways*. Devido aos resíduos gerados pela ureia de origem biológica, a água dos *raceways* deve ser renovada a cada 3 meses, e consequentemente há um maior consumo de água para o cultivo e para a limpeza dos *raceways*, de produtos de limpeza e de eletricidade da rede (Anexo 1). Os dados foram adaptados no inventário do caso real tendo em conta as diferenças entre a produção artesanal e a produção biológica.

3.2. Análise nutricional

A composição nutricional das palhinhas da spirulina desidratada da Tomar natural foi comparada com uma spirulina desidrata em pó com certificação biológica comercial. Antes de iniciar a análise nutricional das duas spirulinas, e de forma que ambas fossem comparáveis, a amostra da Tomar Natural foi moída com o auxílio de um almofariz e pilão

até obter um pó (Figura 3.11) de partículas com a dimensão de $< 200 \mu\text{m}$. O número de amostras para a quantificação das cinzas e da humidade foi $n = 3$ e para a determinação de gordura total e de proteínas foi $n = 4$.



Figura 3.11 – Spirulina comercializada em pó da Tomar Natural.

3.2.1. Quantificação da humidade e das cinzas

De forma a determinar o conteúdo em humidade e cinzas da spirulina das duas origens, três amostras de 1 g de cada uma das spirulinas analisadas, foram pesadas em cadinhos de peso conhecido. Os cadinhos com a amostra foram de seguida à estufa a 105°C durante 48h para secagem. Após esse período foram transferidos para o exsiccador para arrefecer. Quando estes atingiram a temperatura ambiente, os cadinhos foram novamente pesados (Figura 3.12). A percentagem de matéria seca foi determinada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Matéria Seca (\%)} = 100 - \left(\frac{p_f - p_s}{p_f} \times 100 \right), \text{ sendo:}$$

P_s – peso da amostra seca (g) e P_f – peso da amostra fresca (g).

Para a determinação das cinzas, utilizaram-se as mesmas amostras. Os cadinhos com as amostras secas já pesados foram colocados na mufla a 525°C , durante 5h. Após a queima, os cadinhos com as amostras foram arrefecidos no exsiccador até atingirem a temperatura

ambiente. Finalmente, estas foram pesadas nos cadinhos e registou-se o peso. O peso da cinza foi calculado através das seguintes fórmulas:

$$\text{Cinza (peso seco \%)} = \frac{P_c}{P_s} \times 100 \qquad \text{Cinza (peso fresco \%)} = \frac{P_c}{P_f} \times 100, \text{ sendo:}$$

P_c – peso da cinza (g); P_s – peso da amostra seca (g) e P_f – peso da amostra fresca (g).

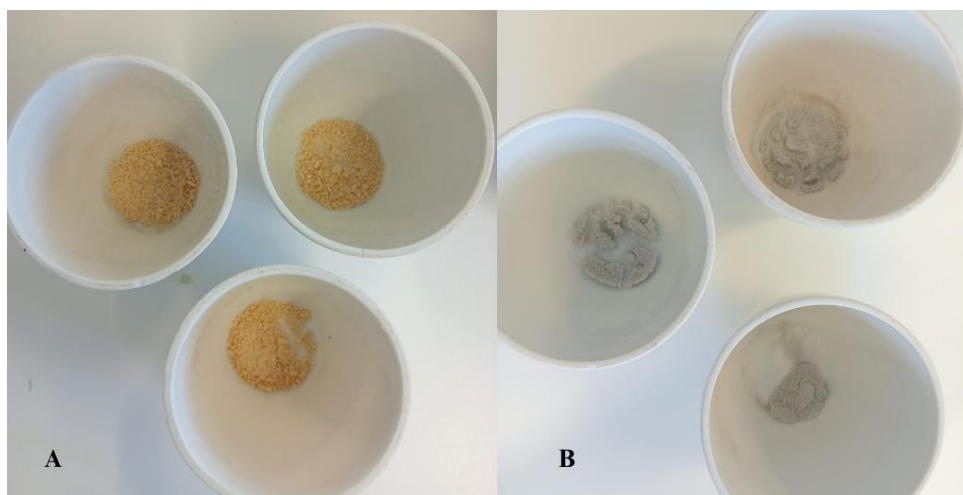


Figura 3.12 – Cadinhos com as amostras secas utilizadas para determinar as percentagens de humidade e das cinzas (A – amostras da spirulina artesanal, B – amostras da spirulina biológica).

3.2.2. Determinação de gordura total

a) Extração da matéria gorda

A gordura total foi extraída de acordo com o método de Folch et al. (1956). Num tubo falcon pesou-se 0,5 g de cada amostra, que foi dissolvida numa mistura de 0,4 mL de água ultrapura (18,02 M Ω , HiPerSolv CHROMANORN, Prolabo ® VWR, Fontanay-Sous-Bois, França) e 10 mL do reagente de Folch, previamente preparado na proporção 2:1 – 1 Clorofórmio (CHCl₃): 2 Metanol (MeOH).

A mistura foi homogeneizada durante 5 minutos no vórtex, adicionou-se 1,2 ml de solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,8%, homogeneizou-se novamente por 2 minutos. De seguida, a mistura foi centrifugada a 4500 g durante 10 min a 4 °C.

O extrato lipídico, correspondente a fração inferior (CHCl₃), foi recolhido com uma pipeta de pasteur e filtrado numa coluna de sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e algodão para uma pera de evaporação de peso conhecido. O procedimento de extração dos lípidos foi repetido

duas vezes, adicionando 2 ml de CHCl₃. O solvente foi evaporado num rotavapor (Heidolph, Laborota 4000) até o resíduo (extrato) lipídico secar. Para garantir que os balões estivessem 100% secos, foram colocados durante 1 hora numa estufa (Memmert, Schwabach, Alemanha) a 60 °C. Depois de arrefecidos no exsiccador, foram pesados até atingirem um peso constante. A determinação da concentração lipídica foi calculada como percentagem de gordura utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de gordura} = \frac{\text{peso do resíduo presente na pera}}{\text{peso da amostra}} \times 100$$

b) Separação das frações lipídicas

As frações lipídicas foram separadas em coluna de sílica de forma a identificar o perfil de ácidos gordos presentes na fração neutra, essencialmente triacilgliceróis, na fração polar, fosfolípidos e ácidos gordos livres. Por cada amostra, preparou-se uma bureta de 10 ml com sílica gel 60-200 µm (VWR chemicals) e lavadas com clorofórmio. Procedeu-se a ressuspensão do extrato lipídico com 1 ml de clorofórmio e, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur de vidro, este foi adicionado à coluna.

As diferentes frações lipídicas foram separadas com lavagens sucessivas com clorofórmio (para separar triacilgliceróis), acetona (ácidos gordos livres) e metanol (fosfolípidos). Em primeiro lugar adicionou-se 25 ml de clorofórmio, seguido de 25 ml de acetona, e por fim adicionou-se 25 ml de metanol até a coluna ficar limpa. As frações foram recolhidas em tubos de ensaio de acordo com o solvente usado (Figura 3.13).

As frações foram adicionadas num balão de rotavapor de 50 ml e parte do solvente foi evaporado, o que sobrou foi pipetado para um frasco previamente pesado, o restante do solvente evaporou *overnight*, e por fim pesou-se o frasco com a fração seca.



Figura 3.13 – Separação das frações lipídicas por coluna de cromatografia de fase móvel.

c) Determinação do perfil de ácidos gordos

Para determinar o perfil de ácidos gordos presentes em cada fração lipídica, os extratos previamente secos foram ressuspensos em 5 ml de n-hexano. Esta solução foi depois transesterificada (quando ocorre uma reação entre um álcool e um éster, originando um novo álcool e novo éster) com 0,2 mL de solução metálica básica (KOH 2M). Após a transesterificação, o extrato foi transferido para vials de 2 mL e a sua composição em ácidos gordos foi determinada cromatografia gasosa (Finnigan Ultra Trace). O cromatógrafo estava equipado com uma coluna de capilaridade (60 m x 0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness, Thermo Tr-FAME), um auto-analisador AS 3000 (Thermo Electron Corporation) e um detetor FID. As temperaturas do detetor e do injetor (a operar no modo splitless) foram, respetivamente 250 e 280 °C. O programa de temperaturas selecionadas para o forno foi: 100 °C por 1 min, com aumento de 10 °C por min até atingir os 160 °C, segunda rampa com incrementos de 4 °C/min até atingir 235 °C com um patamar de 10 min. Ar e hidrogénio são fornecidos ao detetor á taxa de 350 3 35 mL/min, respetivamente.

3.2.3. Determinação de proteínas

O método descrito por Lowry et al. (1951) para determinar as proteínas solúveis foi otimizado para maximizar a solubilidade das proteínas no extrato. Foram pesadas 30 mg de amostra (4 réplicas) para tubos de vidro de 10 ml, adicionou-se 5 mL de NaOH 0,1N e foram homogeneizadas por sonicação (Digital Sonicator Branson 250). De seguida adicionaram-se mais 5 mL de NaOH 0,1N e permaneceram em repouso *overnight* a 4°C, para aumentar a solubilidade das proteínas. As amostras foram centrifugadas a 3000 g durante 10 min a temperatura ambiente (25 °C). Seguidamente, extraiu-se 0,5 mL do sobrenadante para um novo tubo de vidro, adicionou-se 9,5 mL NaOH 0,1 N para perfazer um total de 10 mL, e por fim agitou-se por inversão (5x).

Para a determinação de proteínas, retirou-se 0,3 mL das amostras para eppendorf. adicionou-se 1 ml da solução de Lowry de Sulfato de Cobre alcalina, e agitou-se ao vórtex. Esta solução foi incubada a 37 °C durante 5 minutos. Adicionou-se mais 0,1 mL da solução Folin-Ciocalteu 50 % e voltou a agitar no vórtex e novamente incubados nas mesmas condições. A concentração de proteína solúvel foi determinada através da leitura da absorvância das amostras num espectrofotómetro de placas, preenchidas com um volume de 0,2mL, a 750 nm contra o branco no espectrofotómetro (modo regressão linear). Os valores obtidos foram comparados com os valores de absorvância da curva das soluções padrão de albumina bovina (0 µg/mL; 33 µg/mL; 67 µg/mL; 167 µg/mL; 250 µg/mL; 333 µg/mL) e a percentagem de proteína solúvel foi calculada através da fórmula:

$$\% \text{ proteína} = \frac{\text{concentração da amostra} \times \text{volume de extração}}{\text{peso da amostra}} \times 100$$

3.2.4. Análise Estatística

Foi utilizado o teste estatístico da ANOVA para verificar a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as proteínas, os lípidos, a matéria seca e as cinzas da spirulina de produção artesanal e biológica, e entre os ácidos gordos identificados por cromatografia gasosa

4. Resultados

4.1. Avaliação do Ciclo de Vida

4.1.1. Avaliação de impactos ambientais da produção artesanal de spirulina

Na tabela 4.3 estão apresentados os valores absolutos das contribuições de cada fator de produção para cada categoria de impacto. Tal como mencionado na secção anterior, as categorias de impacto selecionadas foram: alterações climáticas, eutrofização de água doce, ecotoxicidade terrestre e de água doce, e consumo da água. Os dados do inventário foram agrupados em fatores da seguinte forma: infraestrutura, nutrientes, produtos de limpeza, água, embalagem, energia e água de limpeza.

Dentro da categoria das alterações climáticas, os fatores com as maiores contribuições foram a infraestrutura (8,78 kg CO₂ eq), energia, (5,96 kg CO₂ eq) e embalagem (2,99 kg CO₂ eq). Para a eutrofização de água doce, as maiores contribuições vieram novamente da infraestrutura (3,14×10⁻³ kg P eq), energia (2,18×10⁻³ kg P eq), e embalagem (1,19×10⁻³ kg P eq). Na categoria da ecotoxicidade terrestre, a maior contribuição foi da infraestrutura com 2,32×10² kg 1,4-DCB (diclorobenzeno), seguida da embalagem (6,74 kg 1,4-DCB) e energia (5,17 kg 1,4-DCB). As maiores contribuições da ecotoxicidade de água doce foram, mais uma vez, associadas à infraestrutura (8,17×10⁻¹ kg 1,4-DCB), energia (4,42×10⁻¹ kg 1,4-DCB) e embalagem (1,52×10⁻¹ kg 1,4-DCB). Por fim, o fator que mais contribuiu para a categoria do consumo de água foi a água de cultivo (3,66×10⁻¹ m³) e a menor contribuição foi da água de limpeza, apresentando um valor negativo (-3,12×10⁻² m³).

Tabela 4.3 – Contributos absolutos dos vários fatores de produção por categoria de impacto da produção artesanal de spirulina para a unidade funcional de 1kg de spirulina desidratada. U – Unidade.

Categorias de impacto	U	Infraestrutura	Nutrientes	Produtos de limpeza	Água	Embalagem	Energia	Água de limpeza	Total
Alterações climáticas	kg CO ₂ eq	8,78	9,12×10 ⁻¹	1,13	6,25×10 ⁻²	2,99	5,96	1,7×10 ⁻²	1,99×10 ¹
Eutrofização de água doce	kg P eq	3,14×10 ⁻³	2,47×10 ⁻⁴	6,67×10 ⁻⁴	6,03×10 ⁻⁵	1,19×10 ⁻³	2,18×10 ⁻³	3,91×10 ⁻⁵	7,53×10 ⁻³
Ecotoxicidade de terrestre	kg 1,4-DCB	2,32×10 ²	2,81	2,48	4,93×10 ⁻²	6,74	5,17	6,54×10 ⁻²	2,5×10 ²
Ecotoxicidade de água doce	kg 1,4-DCB	8,17×10 ⁻¹	4,42×10 ⁻²	8,42×10 ⁻²	2,81×10 ⁻³	1,52×10 ⁻¹	4,42×10 ⁻¹	1,64×10 ⁻³	1,54
Consumo da água	m ³	9,28×10 ⁻²	1,35×10 ⁻²	3,3×10 ⁻²	3,66×10 ⁻¹	2,1×10 ⁻²	3,02×10 ⁻²	-3,12×10 ⁻²	5,25×10 ⁻¹

A infraestrutura foi o fator que apresentou maior contribuição em todas as categorias de impacto selecionadas exceto no consumo de água. A contribuição foi relevante sobretudo na categoria da ecotoxicidade terrestre, representando 93% do impacto. A água do cultivo teve a maior contribuição na categoria de consumo da água, contribuindo com 70% do impacto. A energia foi o segundo fator com maior contribuição na maioria das categorias, nomeadamente nas alterações climáticas, onde representou 30% do impacto. A embalagem teve a sua maior contribuição relativa na eutrofização de água doce, associada a 16% do impacto (Figura 4.14). A água de limpeza teve a menor contribuição em todas as categorias, e atingiu um valor negativo (-6%) no consumo da água. O valor negativo significa que após um tratamento de águas residuais, que foi assumido acontecer depois da água ser enviada para a fossa, a água volta para o ecossistema. Contribuindo para uma entrada de água no sistema, e por isso essa categoria não atinge o limite máximo do gráfico (Figura 4.14).

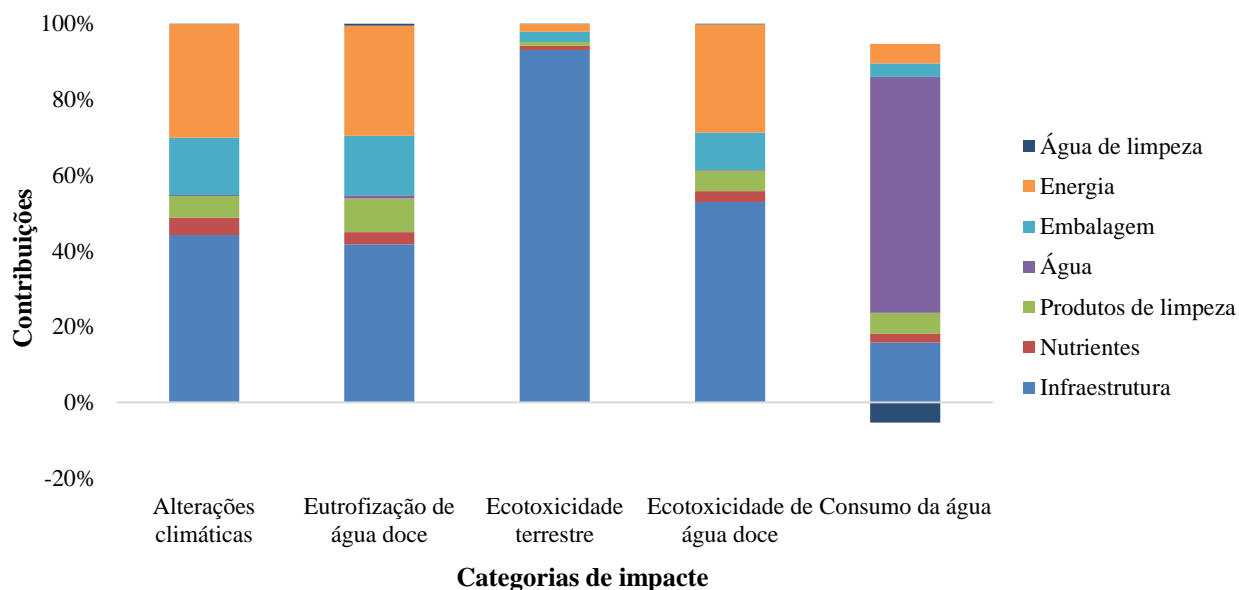


Figura 4.14 – Contribuições dos fatores de produção nas diferentes categorias de impacto da produção artesanal para UF de 1 kg de spirulina.

4.1.2. Avaliação de impactes ambientais no cenário de produção biológica

Em relação à produção biológica, que utiliza ureia como fonte de azoto, os valores absolutos das categorias de impacto do cenário criado estão representados na tabela 4.4. Os fatores mais impactantes para a categoria das alterações climáticas foram a energia ($1,79 \times 10^1$ kg CO₂ eq), a infraestrutura (8,78 kg CO₂ eq) e os produtos de limpeza (4,12 kg CO₂ eq). Dentro da eutrofização de água doce, as maiores contribuições estão associadas à energia ($6,55 \times 10^{-3}$ kg P eq), infraestrutura ($3,14 \times 10^{-3}$ kg P eq) e produtos de limpeza ($2,43 \times 10^{-3}$ kg P eq). A ecotoxicidade terrestre obteve maior impacto da infraestrutura ($2,32 \times 10^2$ kg 1,4-DCB), seguida da energia ($1,55 \times 10^1$ kg 1,4-DCB) e produtos de limpeza (9,03 kg 1,4-DCB). Na ecotoxicidade de água doce, o fator com maior impacto foi a energia (1,32 kg 1,4-DCB), seguido da infraestrutura ($8,17 \times 10^{-1}$ kg 1,4-DCB) e os produtos de limpeza ($3,07 \times 10^{-1}$ kg 1,4-DCB). Dentro da categoria de consumo da água, a maior contribuição foi da água de cultivo (1,46 m³) e a menor contribuição foi da água de limpeza ($-1,24 \times 10^{-1}$ m³) (Tabela 4.4).

Tabela 4.4 – Contributos absolutos dos vários fatores de produção por categoria de impacto no cenário da produção biológica para a unidade funcional de 1kg de spirulina desidratada. U – Unidade.

Categorias de impacto	U	Infraestrutura	Nutrientes	Produtos de limpeza	Água	Embalagem	Energia	Água de limpeza	Total
Alterações climáticas	kg CO ₂ eq	8,78	2,02	4,12	2,50×10 ⁻¹	2,99	1,79×10 ¹	6,78×10 ⁻²	3,61×10 ¹
Eutrofização de água doce	kg P eq	3,14×10 ⁻³	4,02×10 ⁻⁴	2,43×10 ⁻³	2,41×10 ⁻⁴	1,19×10 ⁻³	6,55×10 ⁻³	1,56×10 ⁻⁴	1,41×10 ⁻²
Ecotoxicidade terrestre	kg 1,4- DCB	2,32×10 ²	5,46	9,03	1,97×10 ⁻¹	6,74	1,55×10 ¹	2,60×10 ⁻¹	2,69×10 ²
Ecotoxicidade de água doce	kg 1,4- DCB	8,17×10 ⁻¹	1,17×10 ⁻¹	3,07×10 ⁻¹	1,12×10 ⁻²	1,52×10 ⁻¹	1,32	6,52×10 ⁻³	2,74
Consumo da água	m ³	9,28×10 ⁻²	1,06×10 ⁻¹	1,20×10 ⁻¹	1,46	2,1×10 ⁻²	9,05×10 ⁻²	-1,24×10 ⁻¹	1,77

No cenário da produção biológica, a energia foi o fator que mais contribuiu em três categorias, representando quase metade do impacto: alterações climáticas (49%), ecotoxicidade de água doce (48%) e eutrofização de água doce (46%). A infraestrutura foi o fator com maior impacto na ecotoxicidade terrestre (86%). A água de cultivo foi o fator com maior impacto no consumo da água (83%) (Figura 4.15).

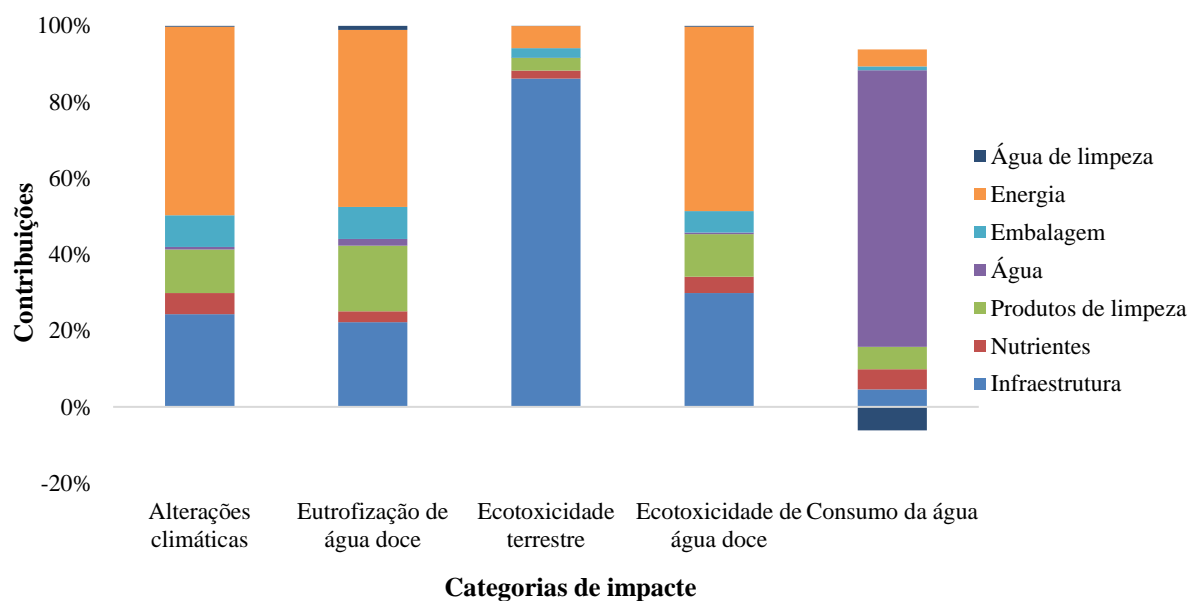


Figura 4.15 – Contribuições dos diferentes fatores usados para a produção de spirulina nas categorias de impacto selecionadas no cenário da produção biológica para UF de 1kg de spirulina.

4.1.3. Comparação da produção artesanal com o cenário de produção biológica

De forma geral, a produção biológica demonstrou ter maiores impactos para todas as categorias de impacto quando comparada com a produção artesanal. As maiores diferenças estão relacionadas com o consumo da água, eutrofização de água doce, alterações climáticas e ecotoxicidade de água doce (Tabela 4.5).

A diferença no consumo da água foi a mais elevada, representando um impacto 70% inferior no caso da produção artesanal, e a água do cultivo foi o fator que mais contribuiu para essa diferença. O impacto da produção biológica foi de $1,77 \text{ m}^3$ e da produção artesanal foi de $5,25 \times 10^{-1} \text{ m}^3$. A segunda maior diferença foi encontrada na categoria de eutrofização de água doce, com 47% menos impactos no caso da produção artesanal, e um valor total de $1,41 \times 10^{-2} \text{ kg P eq}$ para a produção biológica e de $7,53 \times 10^{-3} \text{ kg P eq}$ para a produção artesanal. A energia foi o fator com maior contribuição. Para as alterações climáticas, a diferença representa menos 45% de impacto para a produção artesanal, com um valor de $1,99 \times 10^1 \text{ kg CO}_2 \text{ eq}$ em comparação com $3,6 \times 10^1 \text{ kg CO}_2 \text{ eq}$ da produção biológica, sendo a energia o fator que mais contribuiu para esta diferença.

Para a categoria de ecotoxicidade de água doce, o impacto da produção biológica foi de 2,74 kg 1,4-DCB e da produção artesanal foi 1,54 kg 1,4-DCB. A diferença foi de 44% e a energia foi o fator com maior contribuição.

Tabela 4.5 – Comparação dos valores obtidos nas categorias de impacto para os modos de produção artesanal e biológico, com as diferenças em percentagem.

Categorias de impacto	Unidade	Modo de produção		Diferença (%)
		Biológico	Artesanal	
Alterações climáticas	kg CO ₂ eq	3,61×10 ¹	1,99×10 ¹	45
Eutrofização de água doce	kg P eq	1,41×10 ⁻²	7,53×10 ⁻³	47
Ecotoxicidade terrestre	kg 1,4-DCB	2,69×10 ²	2,5×10 ²	7
Ecotoxicidade de água doce	kg 1,4-DCB	2,74	1,54	44
Consumo da água	m ³	1,77	5,25×10 ⁻¹	70

4.2. Análise do perfil nutricional da spirulina da produção artesanal e biológica

As amostras de spirulina da Tomar Natural é proveniente da produção artesanal, e a spirulina biológica comercial provém de um modo de produção desconhecido.

A spirulina da produção biológica possui maior percentagem de matéria seca (93%), proteína (80%) e lípidos (10%), e uma menor percentagem cinza (6%) e hidratos de carbono (4%). Enquanto a spirulina artesanal apresentou menor percentagens de matéria seca (88%), proteína (44%) e lípidos (3%), e maior percentagem de hidratos de carbono (46%) e cinza (7%) (Tabela 4.6).

O teste estatístico ANOVA demonstrou que existem diferenças significativas entre as proteínas e os lípidos da spirulina biológica e artesanal (< 0,001). Ou seja, a spirulina da produção biológica possui maiores percentagens de proteína e lípidos. A matéria seca e a cinza não apresentaram diferenças significativas (> 0,001) (Tabela 4.6).

Tabela 4.6 – Perfil nutricional da spirulina da produção artesanal e da produção biológica. Valor médio e desvio-padrão, e resultados do teste ANOVA da análise de 3 réplicas das cinzas e da humidade, e de 4 réplicas das proteínas e da gordura total. * Os hidratos de carbono (HC) são estimados pela diferença: HC (% Matéria Seca MS = 100 – (cinzas + proteínas + lípidos). ^a e ^b indicam diferenças estatisticamente significativas entre amostras para nível de significância $p < 0,05$.

Perfil nutricional (% MS)	Modos de produção		ANOVA		
	Biológica	Artesanal	Z	df	p
Cinza	5,82 ± 0,03	7,02 ± 0,04	0,003	2	> 0,05
Matéria seca	93,41 ± 0,12	88,37 ± 0,06	0	2	> 0,05
Proteína	80,01 ± 2,76 ^a	44,13 ± 2,55 ^b	364,34	1	< 0,05
Lípidos	9,85 ± 0,15 ^a	3,21 ± 0,27 ^b	48,71	1	< 0,05
Hidratos de carbono*	4,32	45,64	-	-	-

O perfil de ácidos gordos identificado em cada uma das frações lipídicas é apresentado na tabela 4.7. Os ácidos gordos identificados e as percentagens determinadas são semelhantes entre as duas amostras. Na produção artesanal os ácidos gordos com maiores percentagens na amostra foram: ácido palmítico (C16), ácido linoleico (C18:2 n6, 9 cis) e ácido oleico (C18:1 n9 cis) para os triacilgliceróis; ácido palmítico (C16), ácido γ -linolenico (C18:3 n6 cis) e ácido linoleico (C18:2 n6, 9 cis) para os ácidos gordos livres; ácido palmítico (C16), ácido linoleico (C18:2 n6, 9 cis) e ácido γ -linolenico (C18:3 n6 cis) para os fosfolípidos (Tabela 4.7). Para a produção biológica, os ácidos gordos com maiores percentagens na amostra foram: ácido palmítico (C16), ácido linoleico (C18:2 n6, 9 cis) e ácido esteárico (C18) para os troacilgliceróis; ácido palmítico (C16), ácido γ -linolenico (C18:3 n6 cis) e ácido linoleico (C18:2 n6, 9 cis) para os ácidos gordos livres; ácido palmítico (C16), ácido γ -linolenico (C18:3 n6 cis) e ácido eicosadienóico (C20:2 n6) para os fosfolípidos (Tabela 4.7). A produção artesanal apresentou maior valor de PUFA n6 para a classe dos triacilgliceróis, enquanto que a produção biológica obteve maiores valores para os ácidos gordos livres e fosfolípidos.

Tabela 4.7 – Conteúdo médio \pm desvio padrão dos ácidos gordos identificados por cromatografia gasosa nas diferentes frações lipídicas.

Ácidos Gordos	Produção artesanal (%)	Produção biológica (%)	Total
Ácidos Gordos identificados na Fração Lipídica Neutra - Triacilgliceróis			
C13	0	7,68 \pm 3,71	7,68
C16	43,17 \pm 20,25	36,44 \pm 5,73	79,61
C16:1 n7	3,48 \pm 2,93	0	3,48
C17	2,32 \pm 2,04	6,53 \pm 4,20	8,85
C18	10,73 \pm 8,74	18,14 \pm 2,65	28,87
C18:1 n9 cis	12,31 \pm 9,06	5,60 \pm 0,86	17,92
C18:2 n6,9 cis	20,97 \pm 7,08	18,87 \pm 1,71	39,85
C18.3 n6 cis	7,01 \pm 2,57	6,73 \pm 2,27	13,74
Total PUFA n6	27,98	25,60	
Ácidos gordos livres			
C14	0,71 \pm 0,41	0,03 \pm 0,06	0,74
C15	0,17 \pm 0,15	0	0,17
C16	41,79 \pm 3,58	48,47 \pm 0,58	90,26
C16:1 n7	5,07 \pm 0,72	3,59 \pm 0,05	8,66
C17	0,4 \pm 0,46	0,07 \pm 0,06	0,47
C18	3,43 \pm 1,07	0,75 \pm 0,21	4,19
C18:1 n9 cis	6,61 \pm 2,6	1,11 \pm 0,09	7,72
C18:2 n6,9 cis	14,72 \pm 4,82	18,09 \pm 0,09	32,81
C18.3 n6 cis	26,75 \pm 3,62	27,90 \pm 0,17	54,65
C20:2 n6	0,19 \pm 0,33	0	0,19

c20:3 n6	0,16 ± 0,27	0	0,16
Total PUFA n-6	41,82	45,99	
Ácidos Gordos identificados na Fração Polar (fosfolípidos)			
C14	0,31 ± 0,29	0,32 ± 0,03	0,63
C15	0,18 ± 0,03	0	0,18
C16	55,34 ± 0,13	55,94 ± 0,38	111,29
C16:1 n7	5,33 ± 0,09	2,83 ± 0,02	8,16
C17	0,50 ± 0,14	0,32 ± 0,06	0,82
C18	1,09 ± 0,07	1,07 ± 0,02	2,16
C18:1 n9 cis	5,43 ± 0,12	0,03 ± 0,04	5,46
C18:2 n6,9 cis	19,66 ± 0,34	3,84 ± 0,03	23,50
C18.3 n6 cis	11,96 ± 0,34	26,97 ± 0,22	38,93
C20:2 n6	0,06 ± 0,11	8,67 ± 0,20	8,73
C20:3 n6	0,13 ± 0,23	0	0,13
Total PUFA n-6	31,81	39,48	

5. Discussão

5.1. Avaliação do Ciclo de Vida da produção artesanal

A spirulina é considerada um “superalimento” devido às suas propriedades, é consumida desde o século XVI, e a sua comercialização ocorreu pela primeira vez na década de 50 (Fernández-Ríoz et al., 2024). A produção industrial em larga escala é caracterizada pela elevada mecanização e pelo uso de secadores por pulverização, acelerando a produção e aumentando a produtividade. Apesar da spirulina resultante da produção industrial ser um produto acessível e com impactos ambientais comparáveis a outros produtos ricos em proteínas, esse tipo de produção pode utilizar recursos de forma excessiva e afetar a qualidade nutricional final (Fernández-Ríoz et al., 2024). Nesse sentido, surgem as técnicas de produção artesanal para amenizar custos associados à produção industrial, permitindo uma secagem mais lenta, feita a uma temperatura controlada, e evitando a desnaturação proteica. Apesar disso, os impactos ambientais como a degradação do solo, água e ar, e o consumo de recursos, associados à produção artesanal permanecem desconhecidos (Fernández-Ríoz et al., 2024).

De forma geral, a infraestrutura e a energia, foram os fatores com maior contribuição para a maioria das categorias de impacto na produção artesanal. E os menores impactos estão associados aos fatores da água de cultivo e limpeza. Na categoria de impacto das alterações climáticas o fator com maior contribuição foi a infraestrutura, que inclui os *raceways* e a estufa. A elevada contribuição da infraestrutura na produção artesanal está associada à produção dos materiais e todos os processos envolvidos nessa produção, bem como o tempo de vida de cada material. De forma a reduzir o impacto ambiental associado à infraestrutura, a Tomar Natural poderia ter em conta a utilização de materiais associados a menores emissões de GEE, a utilização eficiente dos recursos para garantir maior tempo de vida, e o potencial de reciclabilidade dos materiais. Outra hipótese que pode justificar a elevada contribuição da infraestrutura, é a baixa contribuição relativa dos restantes fatores tornando essa contribuição mais evidente. Essa diferença poderá estar associada ao tempo de vida útil dos materiais que compõem a infraestrutura. Ou pelo fato de haver a reciclagem da água e dos nutrientes reduzindo a frequência de reposição no cultivo.

No estudo de Fernández-Ríoz et al. (2024) foi realizada uma ACV para quantificar os impactos de suplementos da spirulina produzida em modo artesanal. As fases do cultivo e

do transporte de matérias-primas representaram o maior impacto para as alterações climáticas. A energia utilizada no estudo teve três origens: painéis solares, rede elétrica e fontes renováveis, apresentando menor contribuição., no entanto a infraestrutura foi excluída da ACV.

O consumo energético na produção artesanal está associado sobretudo ao bombeamento da água doce para o cultivo, a filtração, ao processamento e à limpeza. De acordo com Smetana et al. (2017) o elevado consumo de energia pode ser um indicador de “hotspot” ambiental a ser considerado durante o cultivo. Neste caso, para além da electricidade proveniente da rede eléctrica, são utilizados painéis solares como fonte de energia renovável, reduzindo ligeiramente os impactos ambientais desta produção. Tal como no estudo de Fernández-Ríos et al. (2024) em que o impacto causado pelo consumo energético proveniente de fontes renováveis, foi reduzido, demonstrando ter um impacto positivo. Reforçando a ideia de que, quantos mais painéis solares, maior é o consumo de energia renovável e menores são os impactos causados.

A pegada de carbono de comprimidos produzidos a partir de spirulina artesanal corresponde a 3,9 kg CO₂ eq./kg no estudo de Fernandez-Rios et al., 2024. Apesar do valor obtido neste trabalho ser superior, 19,9 kg CO₂ eq./kg de spirulina em pó, ao subtrair a contribuição do fator com maior impacto, no caso a infraestrutura, o total de emissões de GEE corresponde a 11,1 kg CO₂ / kg. Parte da diferença na pegada de carbono pode estar associada ao impacto positivo do uso de painéis solares. No caso de uma produção industrial, Ye et al. (2018) obteve valores da pegada de carbono de 7,7 kg CO₂ eq./kg. Também neste caso, os autores não consideraram a infraestrutura no inventário e se o consumo fosse feito em Portugal teríamos de acrescentar um transporte de longa distância. Por exemplo, se o consumo fosse feito em Espanha, a pegada de carbono seria de 14,8 kg CO₂ eq./kg considerando um transporte aéreo. Pois tanto o meio de transporte como a distancia influenciam o desempenho ambiental dos sistemas, as maiores emissões provêm de aviões e as menores são provenientes de navios (Fernandez-Rios et al., 2024).

A categoria de impacte de consumo da água apresentou maior contribuição para a água do cultivo associada ao cultivo nos *raceways*, filtração e processamento. No entanto, na Tomar Natural a água resultante da colheita é reaproveitada e volta para o cultivo, ou seja, a água circula num circuito fechado, tornando-se num sistema eficaz de reciclagem da água e dos nutrientes. A água de limpeza apresentou valor negativo para o consumo da água porque

apesar de existir uma fossa, assumiu-se que o tratamento de águas residuais é feito posteriormente quando houver necessidade de limpar a fossa.

5.2. Comparação da produção artesanal com o cenário biológico

As diferenças existentes em ambos os modos de produção estão associados ao menor uso dos recursos (água, energia e nutrientes) no caso da produção artesanal. Na produção artesanal a produção ocorre em modo contínuo, há reciclagem do meio de cultivo e maior eficiência no uso dos produtos químicos e dos nutrientes (Fernández-Ríos et al., 2024). Na produção biológica a cada 3 meses é feita a renovação da água do cultivo, bem como dos nutrientes, devido ao uso da ureia. O uso de ureia na produção biológica gera muitos resíduos, afetando de forma negativa o cultivo devido a acumulação de matéria orgânica. Isso faz com que haja um aumento no consumo da água, o que torna a produção menos sustentável e mais onerosa. Essa diferença é facilmente verificada nos resultados das alterações climáticas, do consumo da água e da ecotoxicidade de água doce. Na produção biológica a energia apresentou maior impacto para a maioria das categorias de impacto, principalmente nas alterações climáticas, e este aumento da energia está associado sobretudo à extração da água doce do furo que ocorre com maior frequência devido ao uso da ureia. É importante realçar que a contribuição da infraestrutura para as categorias de maior impacto, alterações climáticas e ecotoxicidade terrestre, foi igual tanto na produção artesanal (Tabela 4.3) como na biológica (Tabela 4.4).

Na Tomar Natural faz-se a reciclagem da água de cultivo e dos nutrientes resultantes da filtragem e, tal como neste caso, existem explorações de spirulina biológica em que o uso da água dá-se em circuito fechado, com a reciclagem dos nutrientes, minimizando as descargas para o meio ambiente¹⁰.

Existem fatores específicos que diferenciam o cultivo biológico do não biológico, o que influencia diretamente a qualidade e o custo económico do produto final. De forma geral, os produtos biológicos quando comparados com os produtos convencionais possuem maior qualidade, mas em termos económicos o valor é mais elevado. A certificação biológica é definida como qualquer alegação que rotula um produto ou os recursos utilizados para a sua

¹⁰ <https://www.earthrise.com/ecofriendly-farm>. Acedido em setembro de 2024.

produção como biológico¹¹. Portanto, é essencial que todas as empresas que rotulam os produtos como biológicos estejam aptos a justificar essa certificação, através, por exemplo dos nutrientes utilizados no cultivo. No caso da Tomar Natural, o objetivo era perceber se a produção biológica é mais vantajosa a nível ambiental do que a produção artesanal. Os resultados mostram que a produção biológica tem maiores impactos ambientais e maiores custos de produção em relação à produção artesanal. A produção biológica apresentou maior impacto em todas as categorias de impacto ambiental, apresentando maiores diferenças no consumo da água, eutrofização de água doce e alterações climáticas. Assim sendo, de acordo com o sistema estudado, a produção biológica não será ambientalmente mais vantajosa. Até porque, a principal diferença entre os dois modos de produção é a origem dos nutrientes utilizados no cultivo.

A produção biológica é definida como um sistema de gestão de explorações agrícolas e de produção de géneros alimentícios que combina as melhores práticas a nível ambiental e climático, utilizando substâncias e processos naturais¹². O foco da produção biológica é estabelecer um sistema agrícola sustentável que reduza o uso de pesticidas, a erosão do solo e a emissão de gases de efeito estufa, e que melhore o ambiente. Por outro lado, a produção biológica é uma atividade árdua e dispendiosa, tornando os produtos menos acessíveis, a sua implementação exige mais planeamento e operações mais eficientes, e os biofertilizantes utilizados podem conter patógenos humanos, necessitando de regulamentação (BKT Growing together, 2022). Como resultado, o grande desafio é promover, de forma eficaz, a produção de alimentos de alta qualidade, com preços acessíveis, e reduzir o impacto associado à produção, com maior foco nos resíduos decorrentes da produção e do consumo (Ruiz-Salmón et al., 2021). A utilização da ACV permite a quantificação de pegadas (carbono, água e energia) e do impacto ao longo do ciclo de vida dos produtos, ajudando a quantificar e a comparar os custos ambientais, que podem nem sempre estar associados aos produtos com certificação ambiental (Ruiz-Salmón et al., 2021).

¹¹ <https://www.taau.com.au/spirulina/No%20more%20organic%20spirulina.htm>. Acedido em setembro de 2024.

¹² <https://mpb.dgadr.gov.pt/index.php>. Acedido em setembro de 2024.

5.3. Análise nutricional

A spirulina é constituída por 55 –70% de proteína, 15 –25% de hidratos de carbono, 5 – 10% de lípidos totais, 6 –13% de minerais/cinza, 3 – 7% de humidade (microalga seca) e 8 – 10% de fibras alimentares (AlFadhly et al., 2022; Koli et al., 2022; Zrimec et al., 2024). É rica em ácidos gordos essenciais, como o ácido 3,6 γ -linolenico, ácido α -linolenico, ácido estearidónico, ácido eicosapentaenóico, ácido docosahexaenóico e ácido araquidónico, que são essenciais para uma dieta saudável e equilibrada (Koli et al., 2022).

Os resultados obtidos a partir do peso seco, mostram que a spirulina de produção artesanal possui menor conteúdo proteico (44 % DM) e lipídico (3 % DM) que a spirulina de produção biológica (proteína: 80 % DM; lípidos: 10 % DM). O teor lipídico da *L. platensis* varia de 5 a 10% DM, estando os resultados deste estudo dentro desse intervalo de valores. No entanto, pode atingir valores superiores a 11%, dependendo da eficácia dos métodos de extração (AlFadhly et al., 2022). A amostra biológica apresenta maior percentagem de matéria seca e a amostra artesanal tem maior percentagem de cinza, no entanto não houve diferenças estatísticas. Os resultados percentuais das cinzas estão de acordo com a bibliografia consultada (6 – 13%).

As diferenças observadas no perfil nutricional da spirulina, nomeadamente no conteúdo proteico e lipídico podem ser causadas pelas condições de cultivo nomeadamente a temperatura, pela intensidade da luz, pelos nutrientes do meio de cultivo, modo de produção, fase de crescimento da cianobactéria no momento da colheita e pelo processo de secagem utilizado (AlFadhly et al., 2022; Prihanto et al., 2022). No entanto, a temperatura e a luz são consideradas os fatores mais importantes. No cultivo em sistemas abertos ocorre a exposição direta à luz solar e variações diárias e sazonais da temperatura. E, eventuais exposições a altas temperaturas, induz a degradação da estrutura das proteínas e interrompe a regulação enzimática, resultando na diminuição do conteúdo proteico (Prihanto et al., 2022). O valor de proteína obtida da amostra artesanal não se enquadra nos valores encontrados na literatura, que pode ser justificado pela fase de crescimento em que a biomassa é recolhida. Segundo H Wu et al., (2021) a deficiência do azoto e do tempo de cultivo resulta na diminuição de proteínas e lípidos, e no aumento dos hidratos de carbono. Convém realçar que o tempo de cultivo utilizado nesse estudo foi cerca de 26 dias, e após esse período que as análises foram realizadas.

No entanto, não se sabe informação sobre o modo de produção e tratamento da biomassa da spirulina de produção biológica. A secagem da spirulina artesanal é feita num desidratador elétrico a 35 – 40°C, enquanto que para a spirulina biológica as condições de cultivo e de secagem são desconhecidas. A secagem tem muita influência na qualidade nutricional do produto final, por ser um processo que requer o uso intensivo de energia, tem um impacto significativo nas propriedades estruturais e nutricionais do mesmo (Zrimec et al., 2024).

É ainda importante salvaguardar que as amostras foram apresentadas de formas diferentes. Enquanto que a amostra de spirulina de certificação biológica foi adquirida já pulverizada de forma industrial, a amostra de spirulina produzida na Tomar Natural foi moída no laboratório de forma manual. Essa diferença na obtenção do pó pode afetar a eficiência do rompimento das paredes celulares da cianobactéria e reduzir a eficiência do método de determinação do conteúdo proteico. O processo de transformação da spirulina de produção biológica num pó muito fino poderá ter facilitado a quebra das paredes celulares de forma a facilitar o processo de extração das proteínas e lípidos.

De forma geral, os ácidos gordos mais comuns nas duas amostras foram: o ácido palmítico (C16), o ácido linoleico (C18:2 n6) e o ácido γ -linoleico (C18:3 n6 cis), sendo o primeiro um ácido gordo saturado e os restantes são ácidos gordos polinsaturados (PUFA n6). Os valores totais de ácido palmítico obtidos estiveram entre 36 – 56%, o ácido linoleico esteve entre 14 – 21% e os valores de ácido γ -linoleico foram de 12 – 28%. Apesar desses valores serem elevados, Koli et al. (2022) obteve 41,10% do ácido palmítico, 5,88% do ácido linoleico e 9,24% ácido γ -linoleico. Somente os valores médios do ácido palmítico que foram semelhantes aos resultados relatados por Koli et al. (2022). Os ácidos gordos ómega 6 (ácido linoleico e ácido γ -linoleico) constituem a maioria dos lípidos totais, o que demonstra que as duas spirulinas são excelentes fontes de ácidos gordos (AlFadhly et al., 2022). O ácido palmítico (C16) foi o ácido gordo saturado que apresentou maior percentagem (36 – 56%) para ambas as spirulinas. De acordo com AlFadhly et al. (2022), o C16 pode ser considerado um suplemento dietético para o déficite de ácidos gordos essenciais.

6. Conclusão

Os principais impactos ambientais associados à produção artesanal da *L. platensis* estão relacionados com a infraestrutura e energia. Para justificar o impacto da infraestrutura foram levantadas três hipóteses, o processo de produção dos materiais que constituem a infraestrutura, o tempo de vida útil, e a baixa contribuição dos restantes fatores de produção. Como medida de mitigação dos impactos, foi sugerida a utilização de materiais com menor emissão de GEE e uso mais eficiente dos recursos garantindo maior tempo de vida. Para reduzir os impactos relacionados com a energia, sugere-se aumentar o uso de fontes renováveis para produzir a energia necessária para toda a produção.

Na produção estudada dá-se a reciclagem da água de cultivo e dos nutrientes após a fase da colheita, tornando a produção bastante eficiente em relação ao consumo da água. No cenário da produção biológica estudado, que requer o uso de ureia de origem orgânica, são produzidos muitos resíduos no cultivo. Estes resíduos têm de ser removidos de forma a evitar a acumulação de matéria orgânica, aumentando o consumo de água e de energia para bombear esta água para os tanques de produção. Este aumento em factores de produção específicos, aumenta os impactos associados à produção de spirulina e foi por isso demonstrado que a produção biológica não é vantajosa e nem sempre é a solução com menor impacto ambiental. Se a empresa Tomar Natural estiver interessada na obtenção da certificação biológica, o uso de nutrientes biológicos é um dos principais fatores a ter em conta. Apesar dos produtos biológicos serem mais dispendiosos, é importante avaliar também a produtividade e o retorno financeiro.

A spirulina é a cianobactéria considerada como um “superalimento” devido ao alto teor nutricional, principalmente proteínas e lípidos. As spirulinas de origem artesanal e biológica mostraram ter teores proteicos e lipídicos distintos, apesar de perfis de ácidos semelhantes, podendo indicar que a fonte de azoto poderá influenciar a eficiência produtiva. Porém, teríamos de caracterizar o modo de produção da spirulina biológica antes de confirmar esta vantagem nutricional. Outros factores podem ainda afectar a avaliação nutricional, incluindo, a deficiência de azoto no cultivo, o processo de secagem, a metodologia usada para determinar o conteúdo proteico. Neste último ponto, importa referir que os métodos de avaliação nutricional devem ser otimizados para avaliar esta biomassa em particular.

7. Referências bibliográficas

- AlFadhly, N. K. Z., Alhelfi, N., Altemimi, A. B., Verma, D. K., Cacciola, F., & Narayanankutty, A. (2022). *Trends and Technological Advancements in the Possible Food Applications of Spirulina and Their Health Benefits: A Review*. *Molecules*, 27(17). <https://doi.org/10.3390/molecules27175584>
- Amorim, G. de A. M. S. (2019). Mestrado integrado em engenharia do ambiente. Avaliação comparativa do ciclo de vida da rolha de cortiça natural e de uma técnica produzidas na empresa cork supply Portugal. <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/119229/2/319104.pdf>
- Arashiro, L. T., Josa, I., Ferrer, I., Van Hulle, S. W. H., Rousseau, D. P. L., & Garfí, M. (2022). *Life cycle assessment of microalgae systems for wastewater treatment and bioproducts recovery: Natural pigments, biofertilizer and biogas*. *Science of the Total Environment*, 847. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157615>
- Bare, J. C., Hofstetter, P., Pennington, D. W., & Udo De Haes, H. A. (2000). *Life Cycle Impact Assessment Workshop Summary Midpoints versus Endpoints: The Sacrifices and Benefits*. *Life Cycle Impact Assessment*, 6. https://www.researchgate.net/publication/226154653_Midpoints_Versus_Endpoints_The_Sacrifices_and_Benefits
- BKT Growing together. (19 de 07 de 2022). Obtido de <https://www.bkt-tires.com/pt/pt/blog/agriculture-blog/a-escolha-da-agricultura-biologica-vantagens-e-desvantagens>
- Bohnes, F. A., Hauschild, M. Z., Schlundt, J., & Laurent, A. (2019). *Life cycle assessments of aquaculture systems: a critical review of reported findings with recommendations for policy and system development*. *Reviews in Aquaculture*, 11(4), 1061–1079. <https://doi.org/10.1111/raq.12280>
- Cardoso, V. R. F. (2022). Otimização de crescimento e fotofisiologia de duas estirpes de *Arthrospira platensis*. Optimization of growth and photophysiology of two *Arthrospira platensis* strains. https://ria.ua.pt/bitstream/10773/36499/1/Documento_Vera_Cardoso.pdf
- Casazza, A. A., Oliveira, R. P. de S., da Silva, M. F., Solisio, C., Farias, C. B. B., Sarubbo, L. A., & Converti, A. (2022). *Arthrospira platensis Cultivation in a Bench-Scale Helical Tubular Photobioreactor*. *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/app12031311>
- Dolganyuk, V., Belova, D., Babich, O., Prosekov, A., Ivanova, S., Katserov, D., Patyukov, N., & Sukhikh, S. (2020). *Microalgae: A promising source of valuable bioproducts*. *Biomolecules*, 10(8), 1–24. <https://doi.org/10.3390/biom10081153>
- EC, E. C. (2010). *Making sustainable consumption and production a reality: a guide for business and policy makers to Life Cycle Thinking and Assessment*. Publications Office of the European Union. <https://eplca.jrc.ec.europa.eu/uploads/LCT-Making-sustainable-consumption-and-production-a-reality-A-guide-for-business-and-policy-makers-to-Life-Cycle-Thinking-and-Assessment.pdf>

- Entrena-Barbero, E., Ceballos, S., Cortés, A., Esteve-Llorens, X., Moreira, M. T., Villanueva-Rey, P., Quiñoy, D., Almeida, C., Marques, A., Quinteiro, P., Dias, A. C., Laso, J., Margallo, M., Aldaco, R., & Feijoo, G. (2023). *Methodological guidelines for the calculation of a Water-Energy-Food nexus index for seafood products*. *Science of the Total Environment*, 877. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162845>
- Fédération des Spiruliniers de France, FSF. (2009). Obtido em 2024, de <https://www.spiruliniersdefrance.fr/spiruline-bio/>
- Fernández-Ríos, A., Butnar, I., Margallo, M., Laso, J., Borrión, A., & Aldaco, R. (2023). *Carbon accounting of negative emissions technologies integrated in the life cycle of spirulina supplements*. *Science of the Total Environment*, 890. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164362>
- Fernández-Ríos, A., Laso, J., Aldaco, R., & Margallo, M. (2024). *Environmental implications and hidden costs of artisanal spirulina (Arthrospira platensis) production and consumption*. *Environmental Impact Assessment Review*, 108. <https://doi.org/10.1016/j.eiar.2024.107579>
- Finnveden, G., Hauschild, M. Z., Ekvall, T., Guinée, J., Heijungs, R., Hellweg, S., Koehler, A., Pennington, D., & Suh, S. (2009). *Recent developments in Life Cycle Assessment*. *Journal of Environmental Management*, 91(1), 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2009.06.018>
- Folch, J., Lees, M., & Sloane, G. H. (1956). *A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues**. *The Journal of Biological Chemistry*. https://www.researchgate.net/publication/10137262_A_Simple_Method_for_the_Isolation_and_Purification_of_Total_Lipides_from_Animal_Tissues
- Guinée, J. B., Gorrée, M., Heijungs, R., Huppes, G., Kleijn, R., Koning, A., Oers, L. van, Sleeswijk, A. W., Suh, S., Haes, H. A. U., Brujin, H. de, Duin, R. van, & Huijbregts, M. A. J. (2002). *Handbook on Life Cycle Assessment : Operational Guide to the ISO Standards (Vol. 7)*. Kluwer Academic Publishers. https://www.researchgate.net/profile/Nick_Gatheru/post/How-to-conduct-Life-Cycle-Assessment-of-BIPVs/attachment/5fb29866543da600017f5fd3/AS%3A958518140080161%401605539941835/download/Handbook_on_Life_Cycle_Assessment.pdf
- Hauschild, M. Z., Rosenbaum, R. K., & Olsen, S. I. (2018). *Life Cycle Assessment: Theory and Practice*. https://www.researchgate.net/publication/322030573_Life_Cycle_Assessment_Theory_and_Practice
- Heijungs, R., Guinée, J. B., Huppes, G., Lankreijer, H. A., & Sleeswijk. (1992). *Environmental life cycle assessment of products*. *Centre of Environmental Science*. https://www.researchgate.net/profile/Jeroen-Guinee/publication/28645164_Environmental_life_cycle_assessment_of_products_guide_and_backgrounds_Part_1/links/60b73201299bf106f6f1e126/Environmental-life-cycle-assessment-of-products-guide-and-backgrounds-Part-1.pdf
- Heimann, K., & Huerlimann, R. (2015). *Microalgal Classification: Major Classes and Genera of Commercial Microalgal Species*. *Major Classes and Genera of*

- Commercial Microalgal Species*. In Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances (pp. 25–41). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00003-0>
- Henriksson, P. J. G., Guinée, J. B., Kleijn, R., & De Snoo, G. R. (2012). *Life cycle assessment of aquaculture systems-A review of methodologies*. International Journal of Life Cycle Assessment, 17(3), 304–313. <https://doi.org/10.1007/s11367-011-0369-4>
- Henriksson, P. J. G., Troell, M., Banks, L. K., Belton, B., Beveridge, M. C. M., Klinger, D. H., Pelletier, N., Phillips, M. J., & Tran, N. (2021). *Interventions for improving the productivity and environmental performance of global aquaculture for future food security*. One Earth, 4(9), 1220–1232. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2021.08.009>
- Jornal Oficial da União Europeia. (2021). Regulamento de execução (UE) 2021/1165 da comissão de 15 de julho de 2021 que autoriza a utilização de determinados produtos e substâncias na produção biológica e que estabelece as listas respetivas. <https://op.europa.eu/pt/publication-detail/-/publication/9ccc3922-e5d0-11eb-a1a5-01aa75ed71a1>
- Jung, C. H. G., Braune, S., Waldeck, P., Küpper, J. H., Petrick, I., & Jung, F. (2021). *Morphology and growth of Arthrospira platensis during cultivation in a flat-type bioreactor*. Life, 11(6). <https://doi.org/10.3390/life11060536>
- Kholssi, R., Lougraimzi, H., & Moreno-Garrido, I. (2023). *Effects of global environmental change on microalgal photosynthesis, growth and their distribution*. Marine Environmental Research, 184. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.105877>
- Koli, D. K., Rudra, S. G., Bhowmik, A., & Pabbi, S. (2022). *Nutritional, Functional, Textural and Sensory Evaluation of Spirulina Enriched Green Pasta: A Potential Dietary and Health Supplement*. Foods, 11(7). <https://doi.org/10.3390/foods11070979>
- Lafarga, T., Sánchez-Zurano, A., Villaró, S., Morillas-España, A., & Acién, G. (2021). *Industrial production of spirulina as a protein source for bioactive peptide generation*. Trends in Food Science and Technology, 116, 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.018>
- Lupatini, A. L., Colla, L. M., Canan, C., & Colla, E. (2017). *Potential application of microalga Spirulina platensis as a protein source*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 97(3), 724–732. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7987>
- Macome, M. C. Z. (2022). Life Cycle Assessment (LCA): *Environmental impacts of wine production in a company in the Vinho Verde Region in Portugal*. <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/25850>
- Medeiros de, V. P. B., Souza de, E. L., Albuquerque de, T. M. R., Costa Sassi da, C. F., Santos Lima dos, M., Sivieri, K., Pimentel, T. C., & Magnani, M. (2021). *Freshwater microalgae biomasses exert a prebiotic effect on human colonic microbiota*. Algal Research, 60. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102547>
- Menoufi, K. A. I. (2011). *Life Cycle Analysis and Life Cycle Impact Assessment methodologies: A state of the art*. <https://repositori.udl.cat/items/19cf81ab-6334-4505-9072-ca8dcef31fe5/full>

- Nunes, Ó. S. (2018). Análise do Ciclo de Vida de Produtos Lácteos - Caso de Estudo do Queijo da Beira Baixa. <https://ubibliorum.ubi.pt/handle/10400.6/10006>
- Olabi, A. G., Shehata, N., Sayed, E. T., Rodriguez, C., Anyanwu, R. C., Russell, C., & Abdelkareem, M. A. (2023). *Role of microalgae in achieving sustainable development goals and circular economy*. *Science of the Total Environment*, 854. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158689>
- Papadaki, S., Kyriakopoulou, K., Tzovenis, I., & Krokida, M. (2017). *Environmental impact of phycocyanin recovery from Spirulina platensis cyanobacterium*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 44, 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.02.014>
- Prihanto, A. A., Jatmiko, Y. D., Nurdiani, R., Miftachurrochmah, A., & Wakayama, M. (2022). *Freshwater Microalgae as Promising Food Sources: Nutritional and Functional Properties*. *The Open Microbiology Journal*, 16(1). <https://doi.org/10.2174/18742858-v16-e2206200>
- Quintero, C. D., Ventura, A., Lépine, O., & Pruvost, J. (2021). *Eco-design of spirulina solar cultivation: Key aspects to reduce environmental impacts using Life Cycle Assessment*. *Journal of Cleaner Production*, 299. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126741>
- Ragaza, J. A., Hossain, M. S., Meiler, K. A., Velasquez, S. F., & Kumar, V. (2020). *A review on Spirulina: alternative media for cultivation and nutritive value as an aquafeed*. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2371–2395. <https://doi.org/10.1111/raq.12439>
- Razman, K. K., Hanafiah, M. M., & Mohammad, A. W. (2022). *An overview of LCA applied to various membrane technologies: Progress, challenges, and harmonization*. *Environmental Technology and Innovation*, 27. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102803>
- Regulamento. (2018). Regulamento (UE) 2018/848 do parlamento europeu e do conselho de 30 de maio de 2018 relativo à produção biológica e à rotulagem dos produtos biológicos e que revoga o Regulamento (CE) n. o 834/2007 do Conselho. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02018R0848-20220101&from=EN>
- Reisoglu, Ş., & Aydin, S. (2023). *Microalgae as a promising candidate for fighting climate change and biodiversity loss*. In *Microalgae - Current and Potential Applications*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1002414>
- Rodríguez, R., Espada, J. J., Moreno, J., Vicente, G., Bautista, L. F., Morales, V., Sánchez-Bayo, A., & Dufour, J. (2018). *Environmental analysis of Spirulina cultivation and biogas production using experimental and simulation approach*. *Renewable Energy*, 129, 724–732. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.05.076>
- Ruiz-Salmón, I., Laso, J., Margallo, M., Villanueva-Rey, P., Rodríguez, E., Quinteiro, P., Dias, A. C., Almeida, C., Nunes, M. L., Marques, A., Cortés, A., Moreira, M. T., Feijoo, G., Loubet, P., Sonnemann, G., Morse, A. P., Cooney, R., Clifford, E., Rigueiro, L., ... Aldaco, R. (2021). *Life cycle assessment of fish and seafood processed products – A review of methodologies and new challenges*. *Science of the Total Environment*, 761. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144094>

- Smetana, S., Sandmann, M., Rohn, S., Pleissner, D., & Heinz, V. (2017). *Autotrophic and heterotrophic microalgae and cyanobacteria cultivation for food and feed: life cycle assessment*. *Bioresource Technology*, 245, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.113>
- Soni, R. A., Sudhakar, K., & Rana, R. S. (2017). *Spirulina – From growth to nutritional product: A review*. *Trends in Food Science and Technology*, 69, 157–171. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>
- Tzachor, A., Smidt-Jensen, A., Ramel, A., & Geirsdóttir, M. (2022). *Environmental Impacts of Large-Scale Spirulina (Arthrospira platensis) Production in Hellisheidi Geothermal Park Iceland: Life Cycle Assessment*. *Marine Biotechnology*, 24(5), 991–1001. <https://doi.org/10.1007/s10126-022-10162-8>
- Wu, H., Li, T., Lv, J., Chen, Z., Wu, J., Wang, N., Wu, H., & Xiang, W. (2021). *Growth and biochemical composition characteristics of Arthrospira platensis induced by simultaneous nitrogen deficiency and seawater-supplemented medium in an outdoor raceway pond in winter*. *Foods*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/foods10122974>
- Wu, J., Gu, X., Yang, D., Xu, S., Wang, S., Chen, X., & Wang, Z. (2021). *Bioactive substances and potentiality of marine microalgae*. *Food Science and Nutrition*, 9(9), 5279–5292. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2471>
- Ye, C., Mu, D., Horowitz, N., Xue, Z., Chen, J., Xue, M., Zhou, Y., Klutts, M., & Zhou, W. (2018). *Life cycle assessment of industrial scale production of spirulina tablets*. *Algal Research*, 34, 154–163. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.013>
- Zrimec, M. B., Sforza, E., Pattaro, L., Carecci, D., Ficara, E., Idà, A., Ferrer-Ledo, N., Canziani, S., Mangini, S., Lazar, B., Papadaki, S., Markou, G., Tzovenis, I., & Reinhardt, R. (2024). *Advances in Spirulina Cultivation: Techniques, Challenges, and Applications*. In *New Insights Into Cyanobacteria - Fundamentals, Culture Techniques, Tools and Biotechnological Uses*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1005474>

Anexo

Anexo 1 – Inventário da produção biológica. *A embalagem aparece duas vezes com os mesmos valores, no entanto os processos utilizados no SimaPro foram diferentes.

Cenário 1: Produção biológica

Unidade Funcional (UF)	1 Kg de Spirulina seca						
Período	1 ano						
Fases	Unidade	Valor	Marca/fonte/tipo de material	Unidade/ano	Valor (quantidade por 1 ciclo de produção)	Unidade	Valor para a UF (1 kg Sprirulina)
Inputs							
<i>Raceways (4 unidades)</i>							
Madeira (pinho com tratamento)	m3	5	J. Primitivo Madeiras SA, Leiria	m3/ano	0,5	m3	0,002
Borracha EPDM (tela)	kg	1000	EPDM GISCOLENE	kg/ano	100,	kg	0,38
Aço (tubos)	kg	53,25	Marante	kg/ano	1,8	kg	0,01
Inox alimentar (separadores)	kg	13032		kg/ano	434,4	kg	1,65
<i>Estufa (1 unidade)</i>							

Poliétileno (cobertura)	kg	499,5	Plástico termico 200 micras	kg/ano	99,9	kg	0,38
Alumínio (tubos)	kg	34	HELIFLEX	kg/ano	3,4	kg	0,01
Consumíveis							
Nutrientes							
Ureia	kg/kg spirulina	76,12		kg/ano	304,5	kg	1,16
Fosfato monoamónico	kg/ciclo de água	10,42		kg/ano	41,7	kg	0,16
Sulfato dipotássico (= Sulfato de potássio)	kg/ciclo de água	14,81		kg/ano	59,3	kg	0,23
Ferfol (equivalente ao EDTA)	kg/ciclo de água	1,05		kg/ano	4,2	kg	0,02
<i>Oligoelementos (P/V;P/P): zinco (1,020%; 0,962%), cobre (0,1%; 0,094%), manganês (0,448%; 0,422%), boro (0,799%; 0,753%), molibdênio (0,108%; 0,101%), cobalto (0,022%; 0,02%)</i>	L/ciclo de água	0,69	Gilles Planchon - Spiruline Le Vert Luisant	L/ano	2,8	litros	0,01
Outros consumíveis							
Eletricidade (da rede)	kW/ano	3001,5		kW/ano	9004,5	kW	34,24
Água doce	m ³ /ciclo de água	96	Furo da quinta	L/ano	384000	litros	1460,08
Produtos de limpeza (exemplos)							
Hipoclorito de sódio (ou lixívia)	L/ciclo de água	120		L/ciclo de água	480	litros	1,83
Produto de limpeza multiuso	L/ciclo de água	2	Amway home	L/ciclo de água	8	litros	0,03
Embalagem*							

Papel reciclado (tubo) + plástico origem vegetal, mix de biopolimeros e farinhas de cereais - VEGEMAT (tampa)	kg/ano	300	Vegeplast	kg/ano	300	kg	1,14
Papel reciclado (tubo) + plástico origem vegetal, mix de biopolimeros e farinhas de cereais - VEGEMAT (tampa)	kg/ano	300	Vegeplast	kg/ano	300	kg	1,14
Outputs							
Água por evaporação	L/ano	0,72		L/ano	0,7	litros	0,003
Água de limpeza raceways	L/ciclo de água	9120		L/ciclo de água	36480	litros	138,71
Água de limpeza equipamentos	L/ano	48		L/ano	48	litros	0,18
Spirulina em palhinhas (desidratada)	kg/ano	263		kg/ano	263	kg	1