



Tendencias en el tratamiento  
Integral de Aguas Residuales

# Congreso Internacional Ambiental Manizales

**“Tendencias en el tratamiento integral  
de aguas residuales”**

**Manizales, septiembre 18 - 21 de 2017**



Instituto de Estudios Ambientales IDEA  
Sede Manizales



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DE COLOMBIA



Universidad®  
Católica  
de Manizales



UAM  
UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DE MANIZALES  
"Vigilate Renovad"



UNIVERSIDAD DE  
MANIZALES



UNIVERSIDAD DE CALDAS  
EQUINOXIO S.A.S.





# APROVECHAMIENTO DE BIOMASA PARA LA PRODUCCIÓN DE MOLÉCULAS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO

Jhon Fredy Betancur P.

Jorge William Arboleda V.

Ricardo Sposina Sobral Teixeira



UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO DE JANEIRO



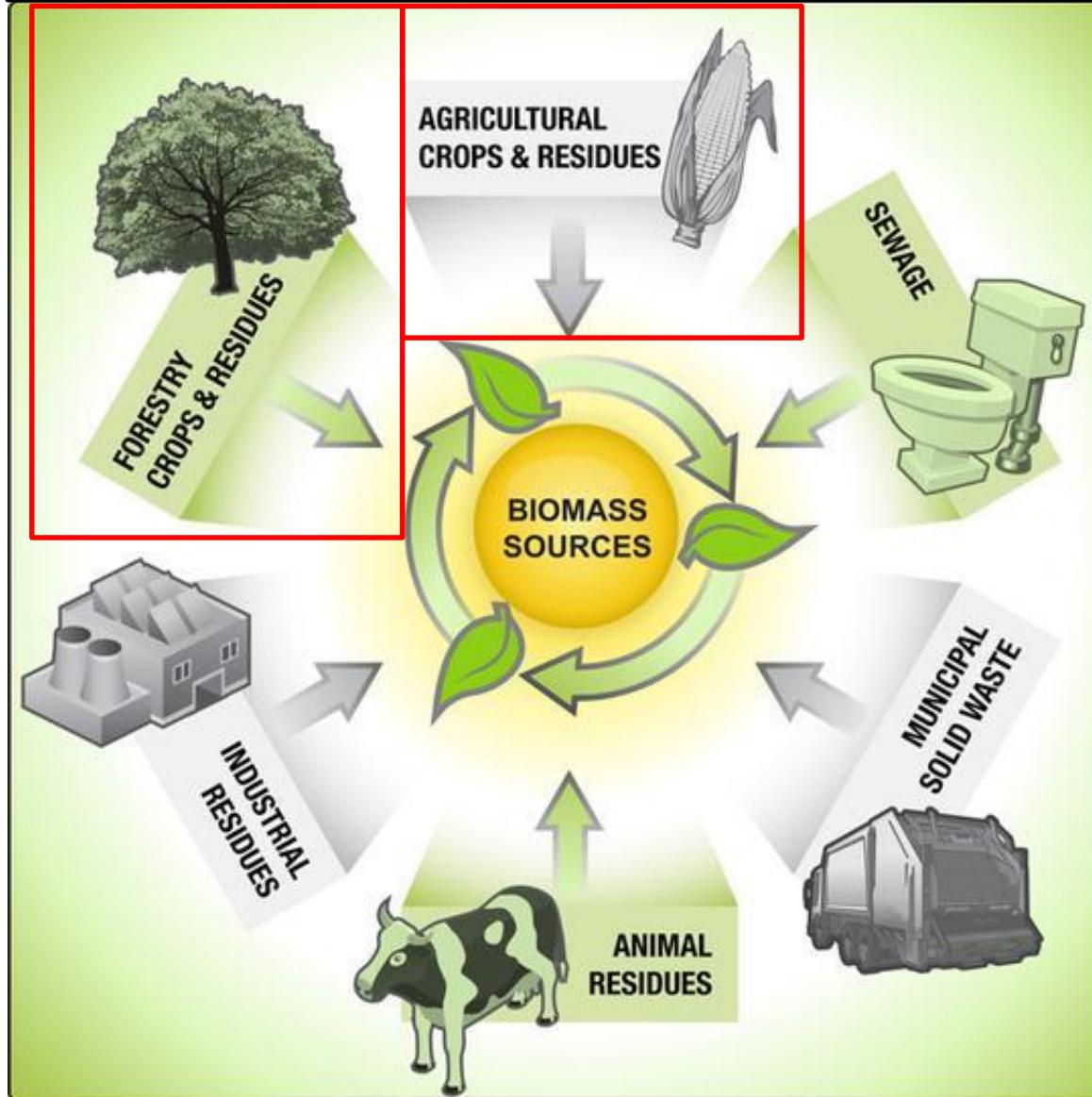
## **BIOMASSA → ENERGIA E BIOPRODUTOS**

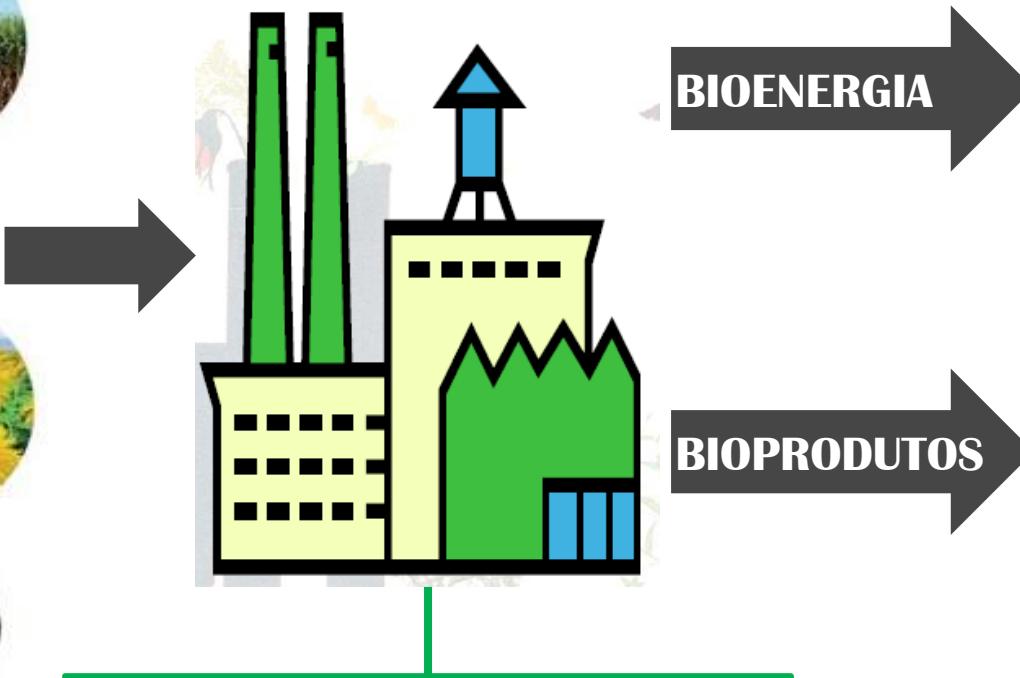
### **Processo Sustentável:**

- **Ecologicamente correto**
- **Economicamente viável**
- **Socialmente justo**



# Qual a origem da BIOMASSA?





## PROCESSOS DE CONVERSÃO

**Bioquímico  
Termoquímico  
Físico-químico  
Outros**

- Biocombustíveis líquidos/gasosos
  - Eletricidade
  - Calor
  - Combustíveis sólidos

- Intermediários químicos
  - Química fina
  - Nanopartículas
- Ração animal
- Alimentos
- Polpa e papel
- Polímeros
- Fertilizantes
- Gases
- ...

BIOCOMBUSTÍVEIS  
ETANOL 1G  
&  
ETANOL 2G

**ETANOL DE CANA-DE-AÇÚCAR =**

**ETANOL DE PRIMEIRA GERAÇÃO =**

**ETANOL 1G**

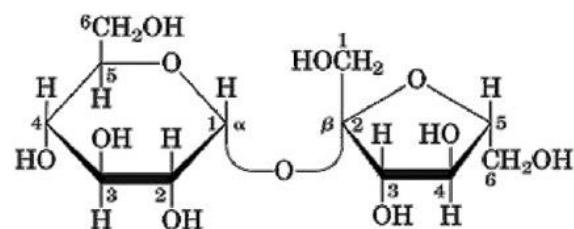


**ETANOL CELULÓSICO =**

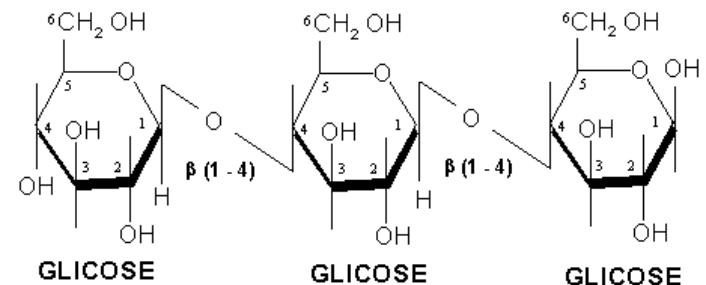
**ETANOL DE BIOMASSA =**

**ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO =**

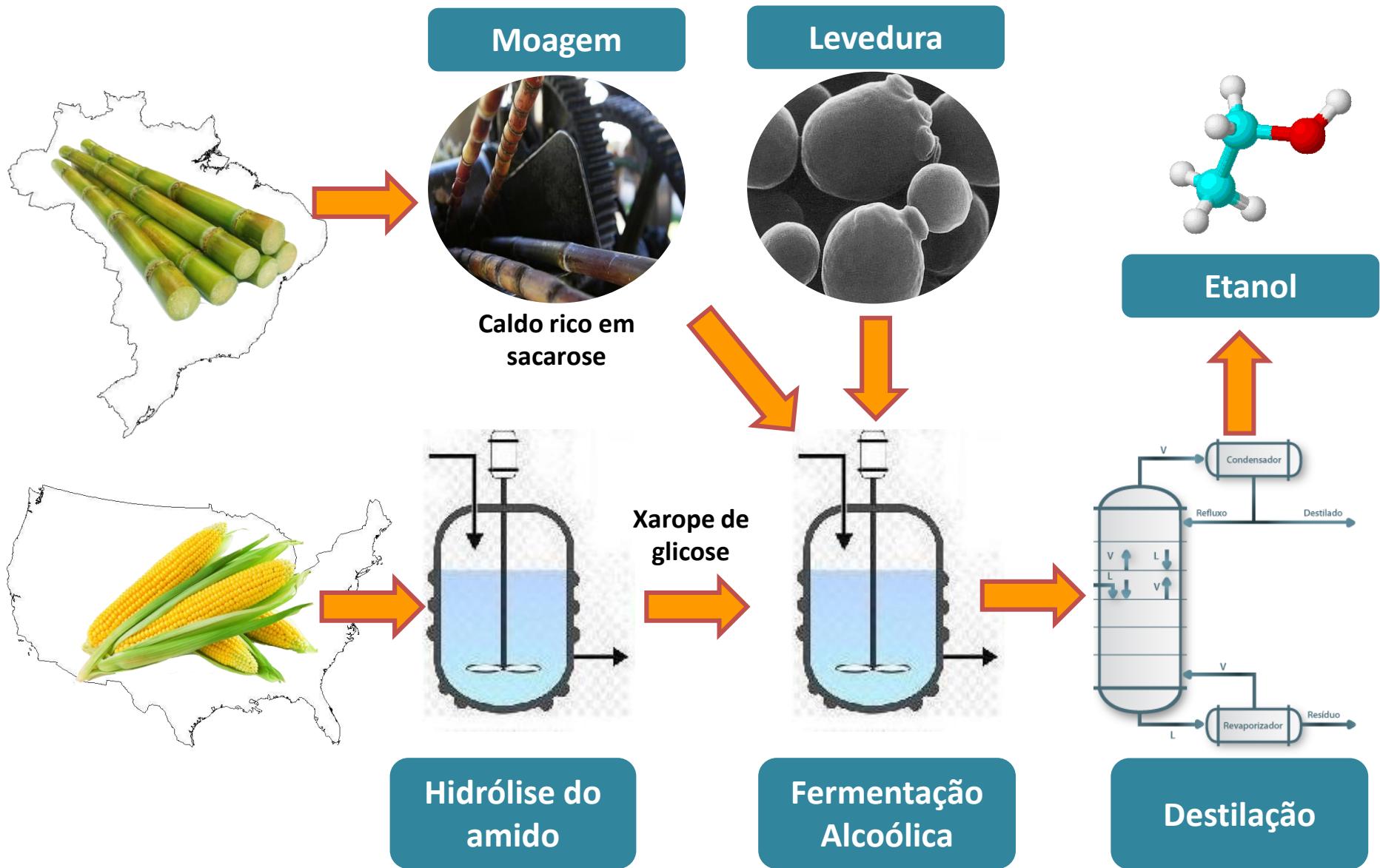
**ETANOL 2G**



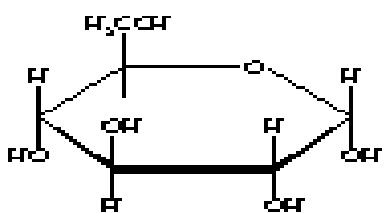
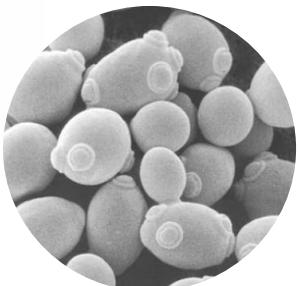
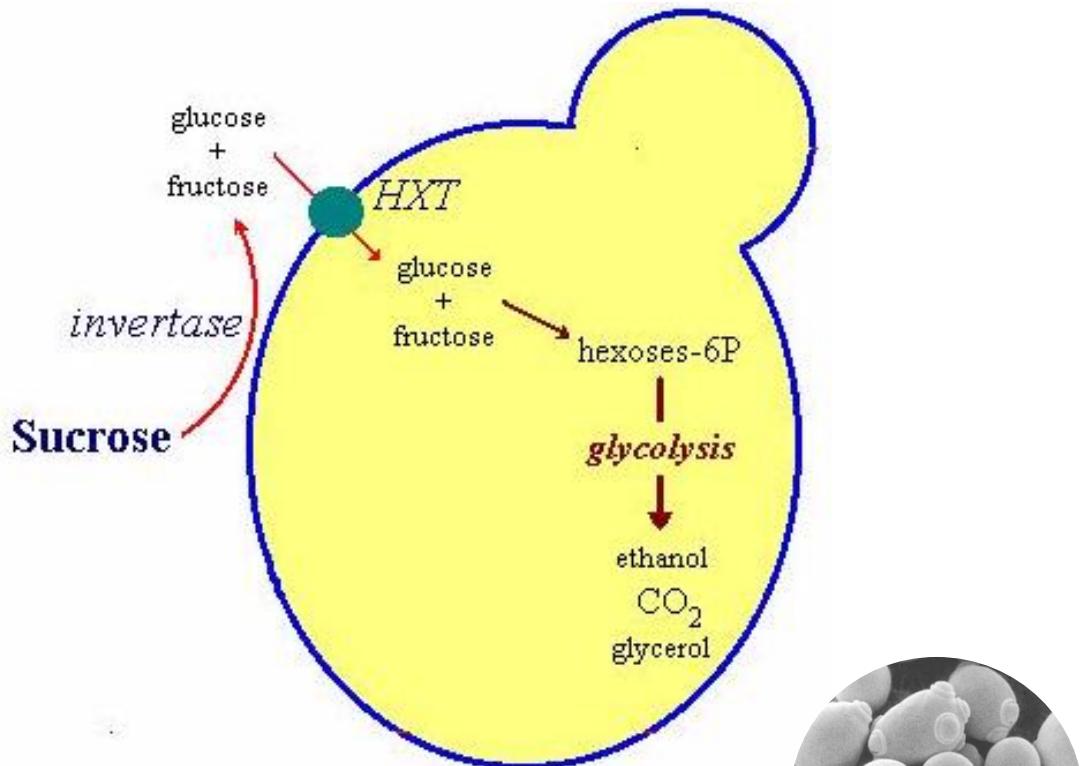
## **CELULOSE**



# PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ETANOL 1G

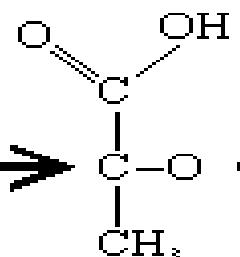


# Fermentação alcoólica

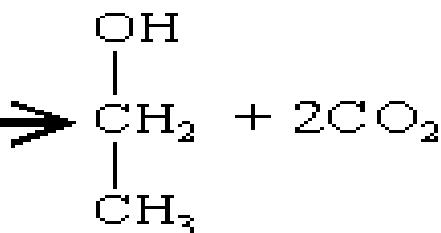


Glicose

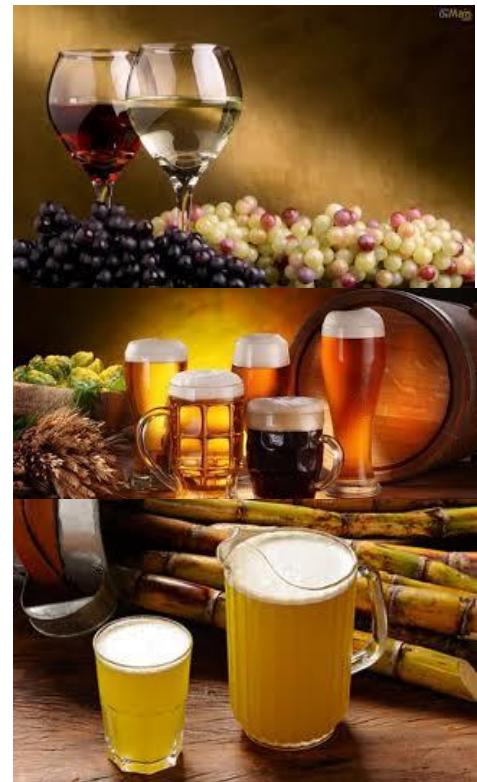
Levedura



2 Piruvato



2 Etanol



# USO DO ETANOL NO BRASIL

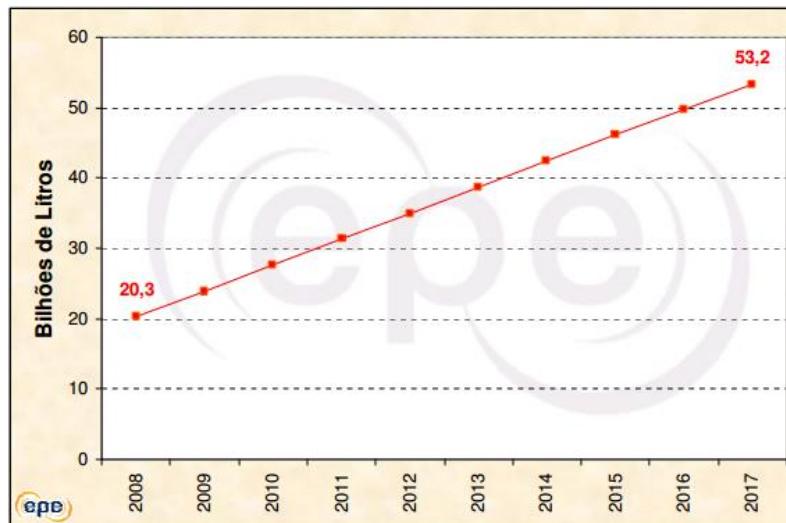
**MANDATÓRIO → 27% NA GASOLINA  
VEÍCULOS FLEX FUEL**



**VENDA DE CARROS NO  
Brasil (2015)**

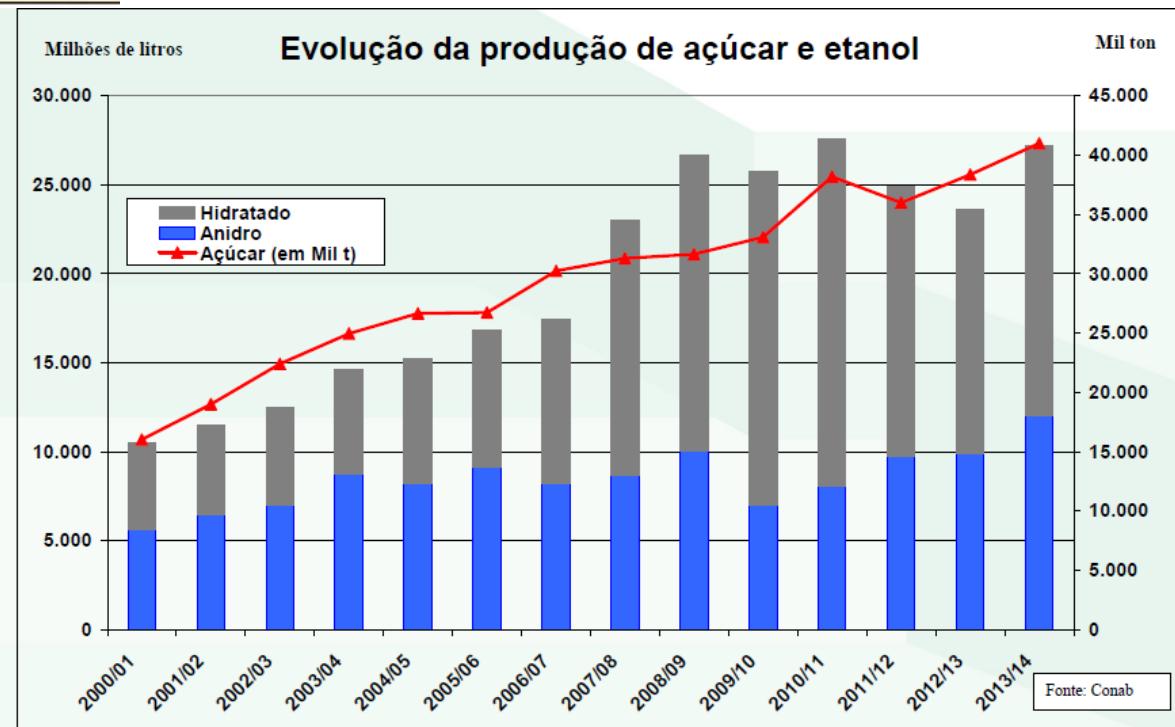
- ✓ 88.3% flex fuel
- ✓ 5.6% gasolina
- ✓ 6.1% diesel

# Existe uma demanda crescente por etanol!



Essa demanda é inferior a  
capacidade instalada nas usinas  
brasileiras

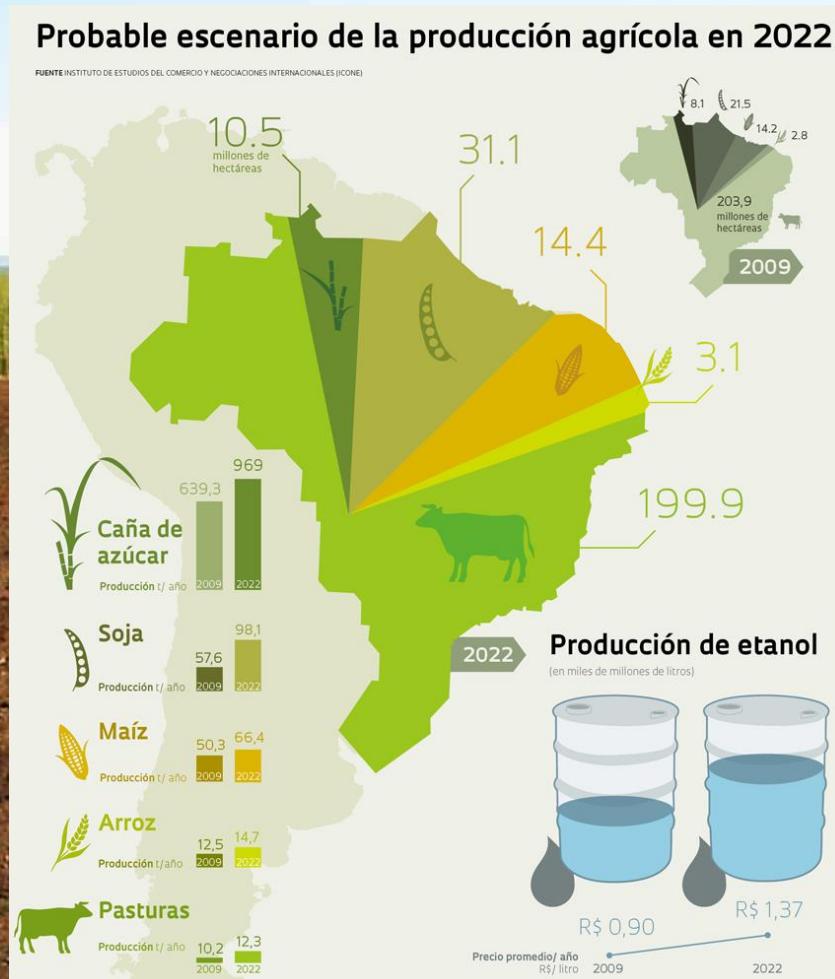
Fonte: EPE.

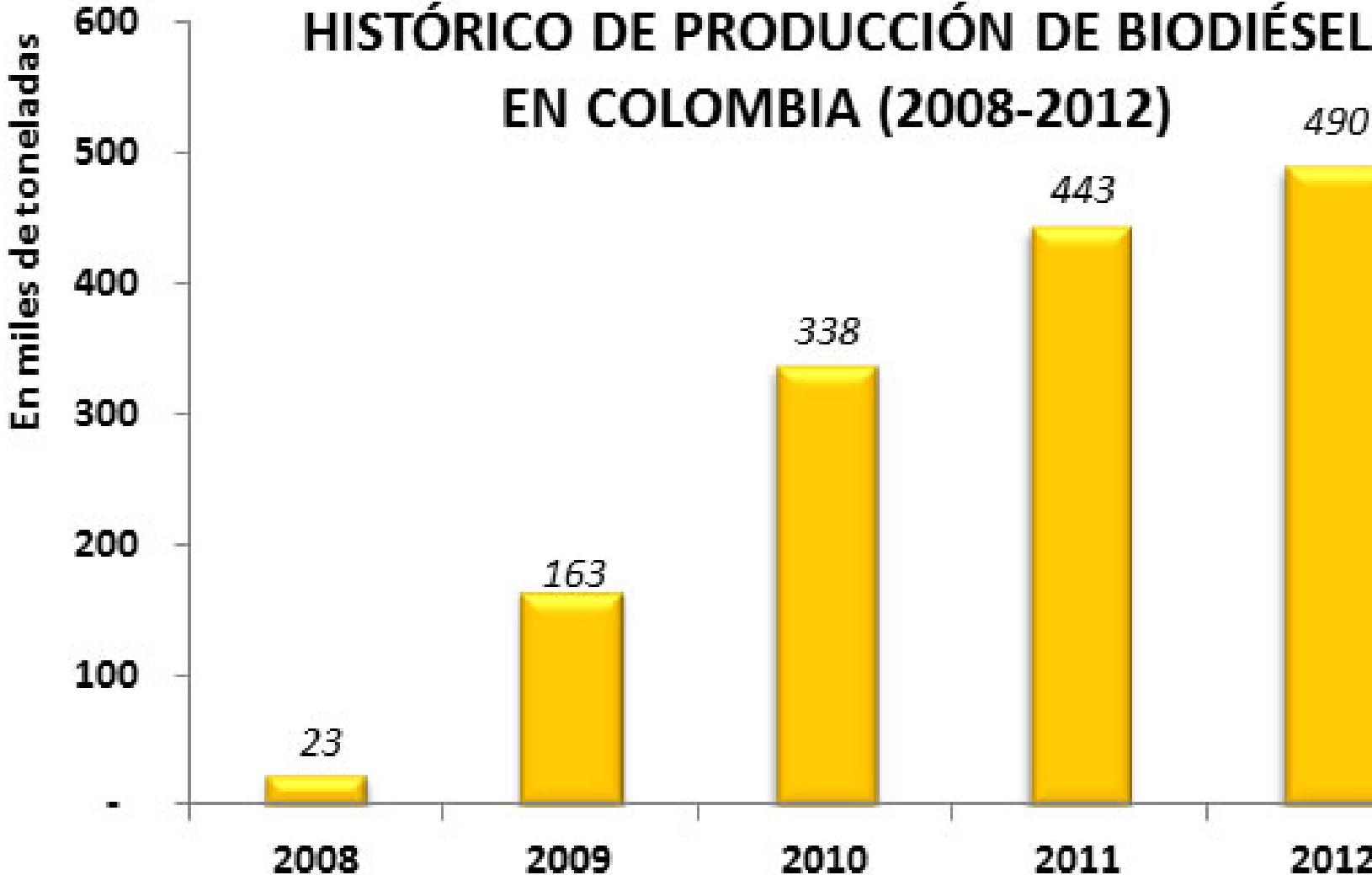


# DESAFIO DA PRODUÇÃO

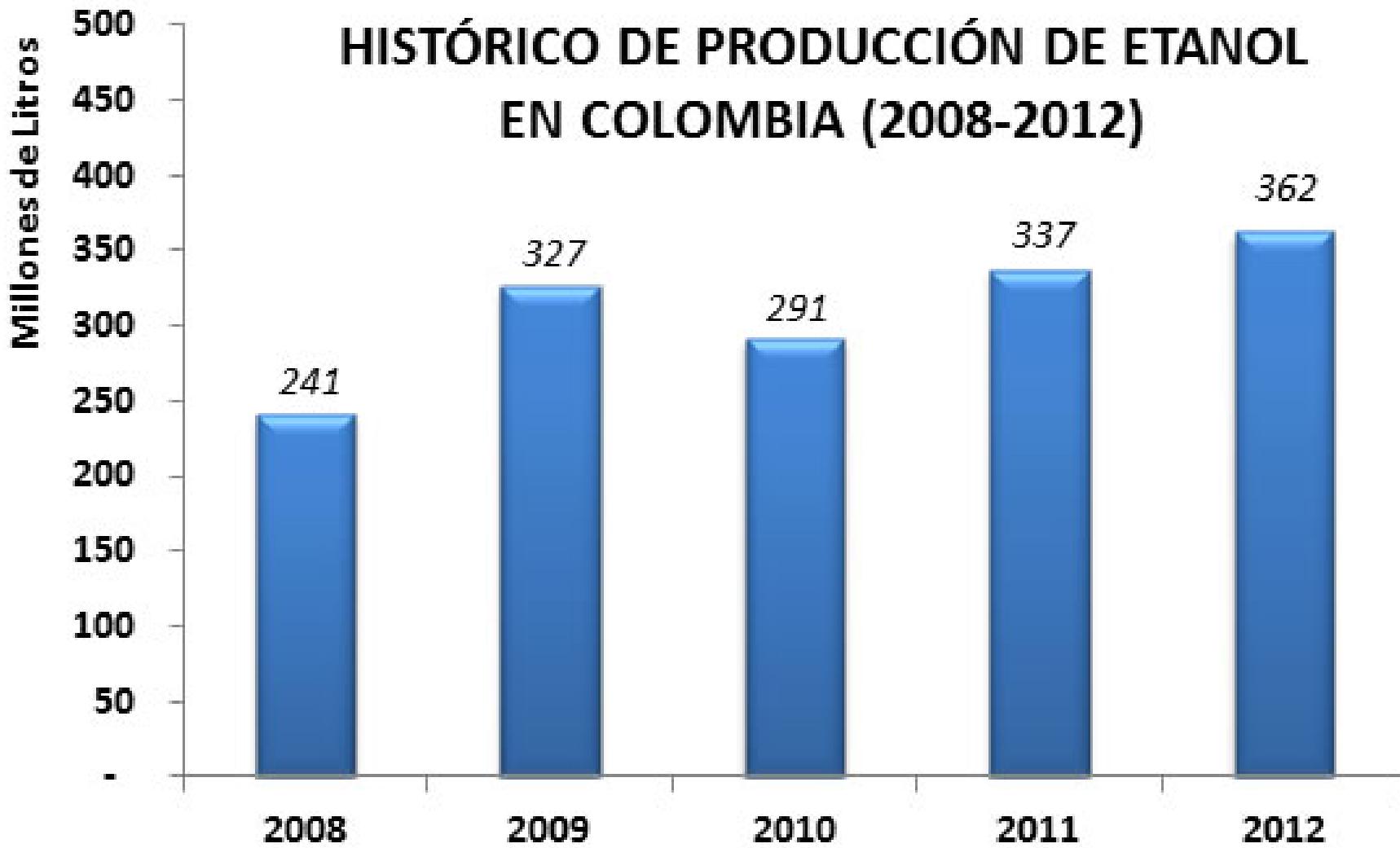
Crescimento da produção depende da área plantada

→ necessidade de terras agriculturáveis para produção de biocombustíveis.

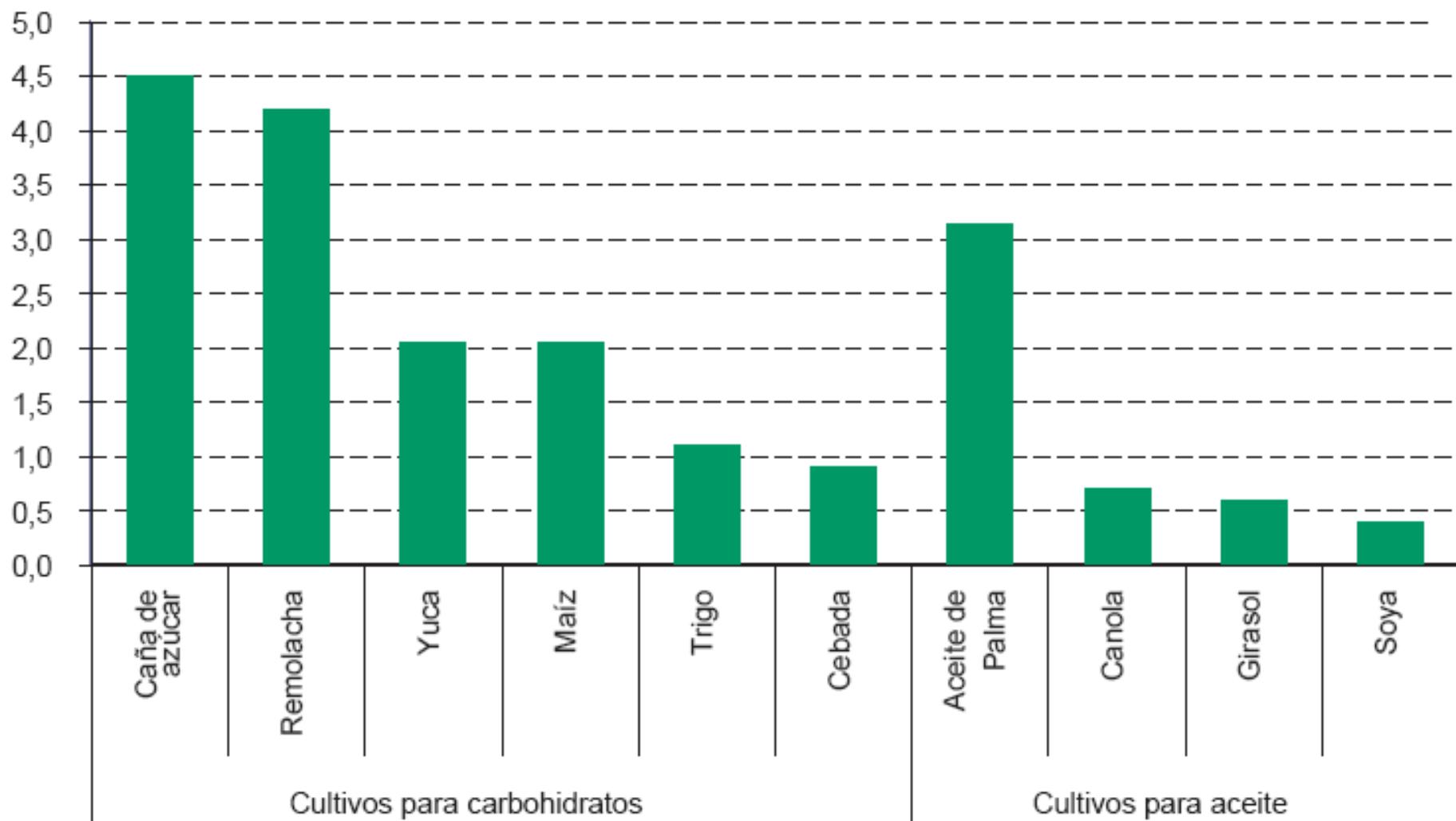




## HISTÓRICO DE PRODUCCIÓN DE ETANOL EN COLOMBIA (2008-2012)



**Gráfica 1. Productividad de diferentes cultivos**  
(toneladas de etanol por hectárea)

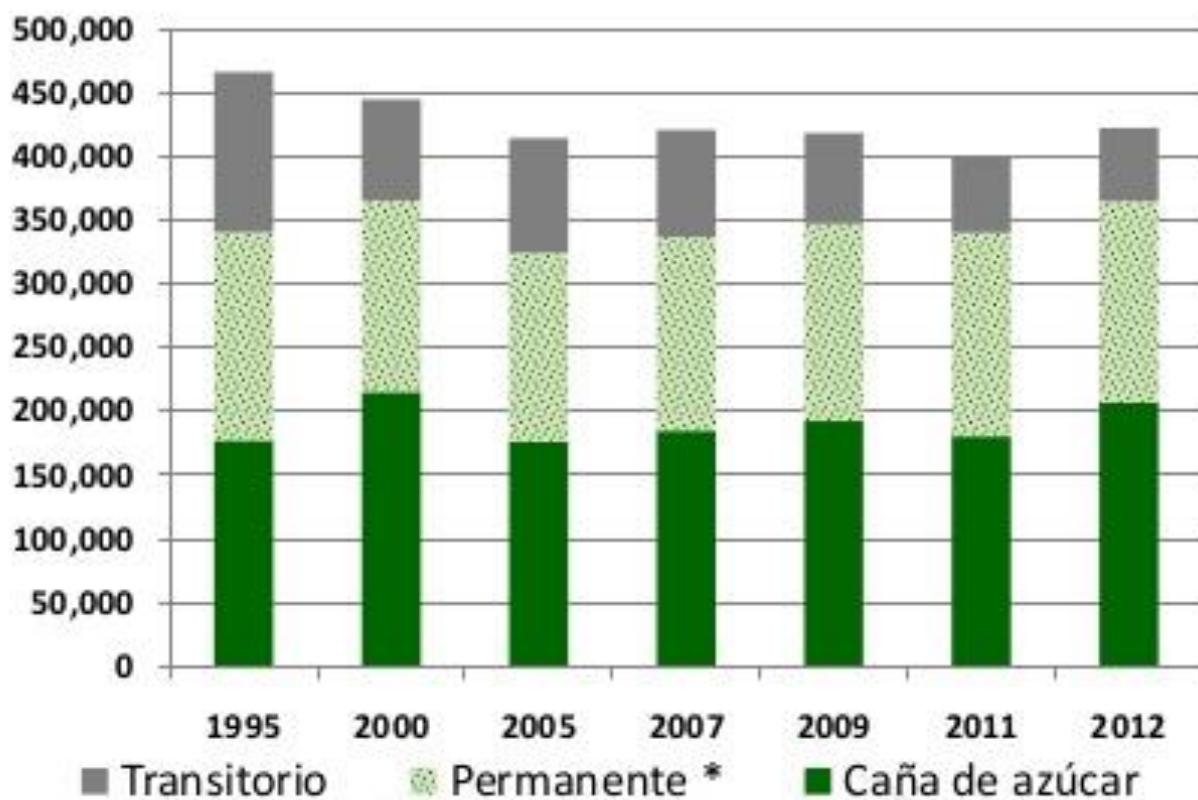


Fuente: LMC International, Sweetener Analysis, abril 2006.

<http://www.asocana.org/StaticContentFull.aspx?SCid=167>

# En Colombia no se ha incrementado el área en caña como consecuencia de la producción de etanol

Área cosechada en Valle, Cauca, Risaralda, Caldas y Quindío (ha)



La producción de etanol comenzó en 2005

El área cosechada en caña de azúcar no se ha incrementado durante los años posteriores a la producción de etanol

Entre 2005 y 2012 se cosechó un área similar a la que se cosechaba en el año 2000 cuando no había producción de etanol

\* No incluye Caña de Azúcar ni Café

# Capacidad productiva de etanol en Colombia

(en miles de litros por día)

Empresa	2011	2012	2013	2014	2015
Incauca	350	350	350	350	350
Providencia	300	300	350	350	350
Manuelita	250	250	250	250	250
Mayagüez	250	250	350	350	350
Risaralda	100	100	100	100	100
Riopaila-Castilla				400	400
Carmelita					100
Pichichí					100
Bioenergy			480	480	480
Total:	1.250.000	1.250.000	1.880.000	2.480.000	2.880.000



# Produção de *etanol* de biomassa vegetal (2<sup>a</sup> geração)



Bagaço



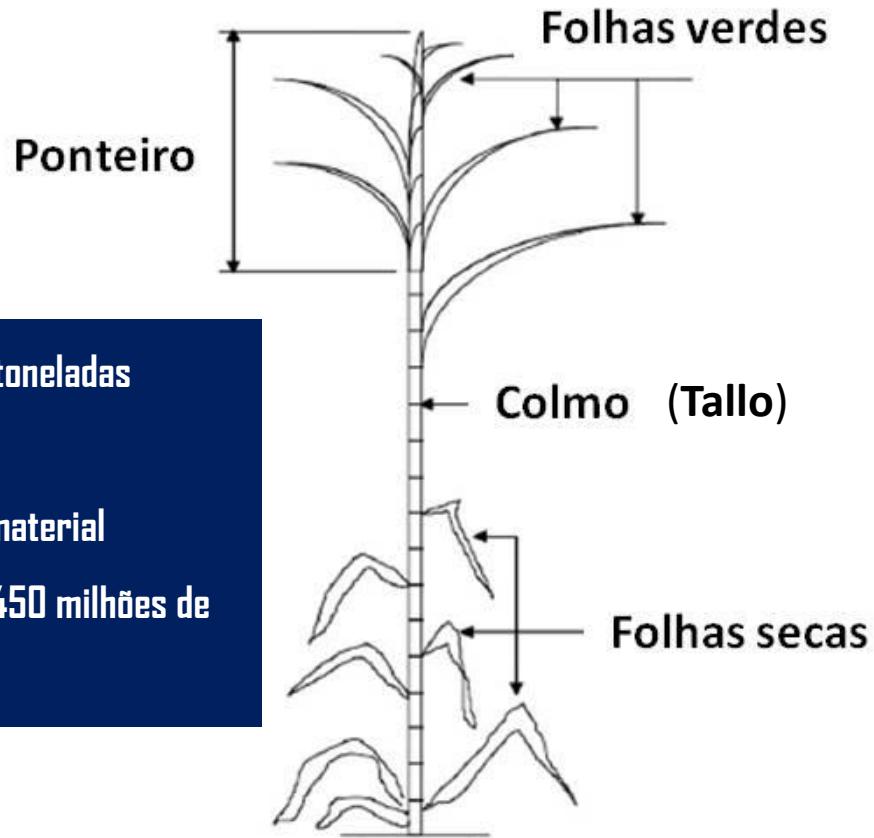
Madeira



Palha de milho



Gramíneas



- ✓ 671 milhões de toneladas  
2014/2015
- ✓ 2/3 da cana é material lignocelulósico – 450 milhões de toneladas

Para 1 tonelada de colmo (Tallo) processado

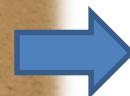
Açúcar	350 kg
Bagaço	300 kg
Palha	340 kg

2/3 dos sólidos  
da cana-de-açúcar

Seabra et al., 2010. Biomass and Bioenergy, v.  
34, p. 1065-1078.

# Biomassa da cana-de-açúcar

## Bagaço



## Palha

(A queima será eliminada até 2017)



# POTENCIAL PARA GERAÇÃO DE ETANOL DE BIOMASSA DA CANA-DE-AÇÚCAR

**1 ton of CANA**

{  
340 Kg de palha (10% umidade)  
300 Kg de bagaço (50% umidade)  
360 Kg caldo de cana

80L de etanol de caldo de cana (8%)

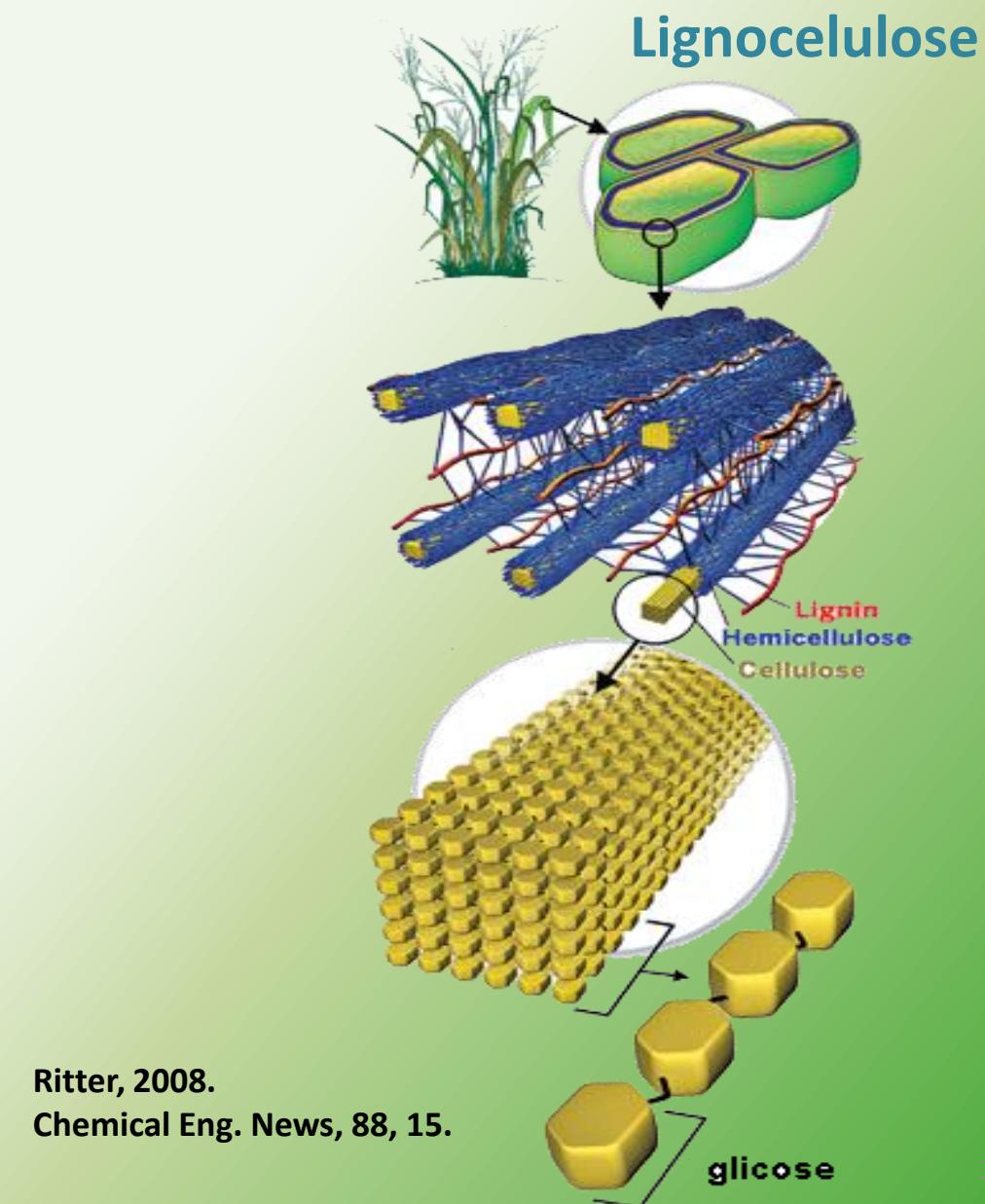
88% bagaço → cogeração de energia

50% da palha de permanecer no solo

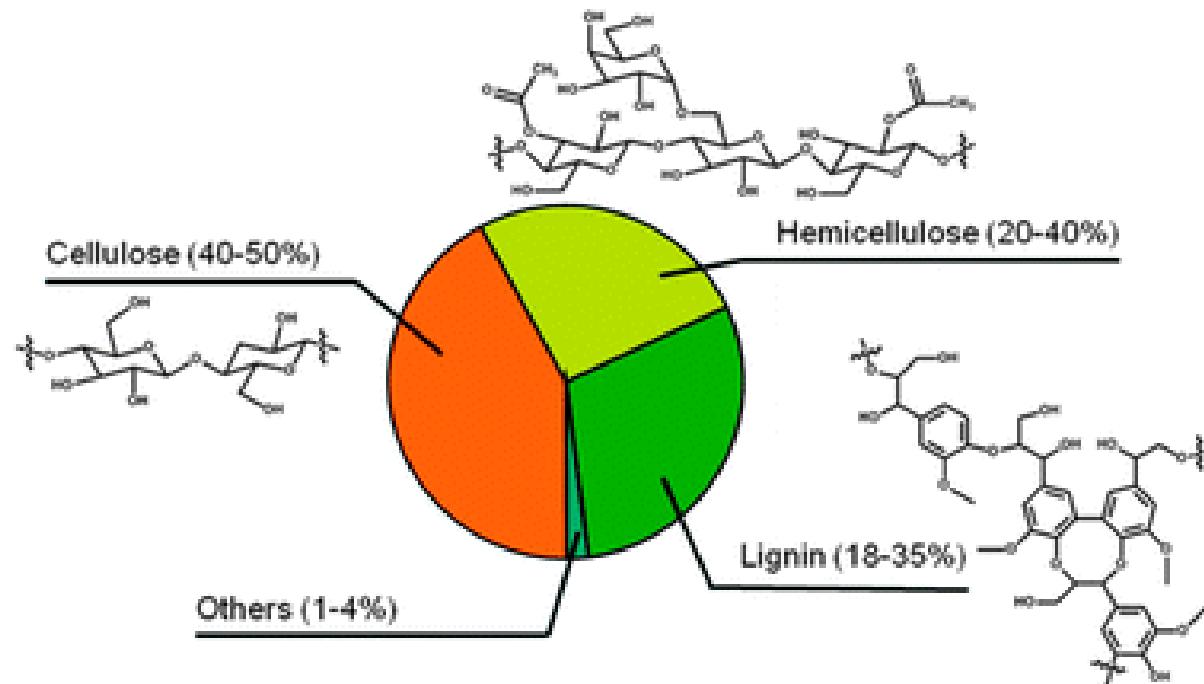
Disponibilidade de biomassa: 12% bagaço (18 Kg) + 50% palha (153 Kg)

36,5L de etanol originado de celulose  
(assumindo 30% de celulose e 0.79 g/cm<sup>3</sup> de densidade de etanol)

# BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA



# Biomassa lignocelulósica



Biomassas Herbáceas  
Madeiras folhosas  
(*Hardwood*)  
Madeiras coníferas  
(*Softwood*)

*Chem. Commun.*, 2011, 47, 1405-1421

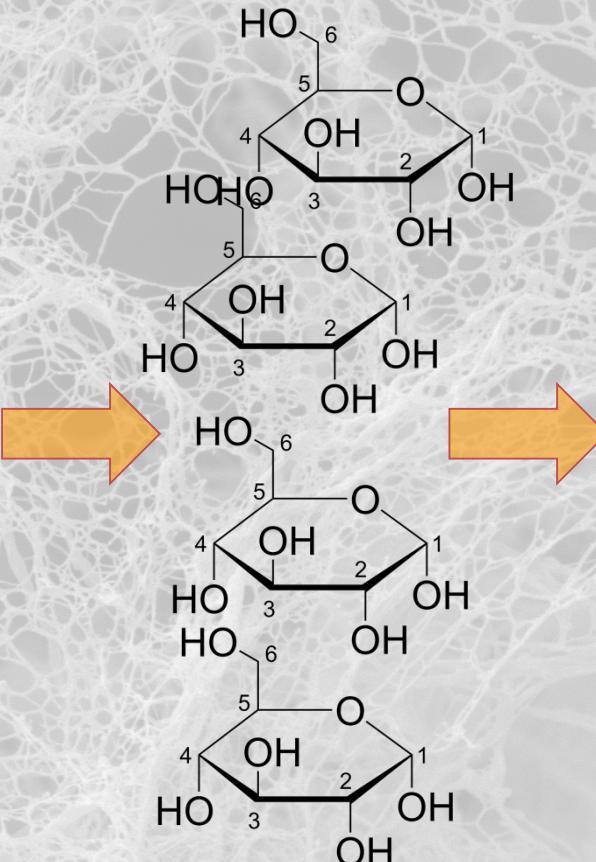
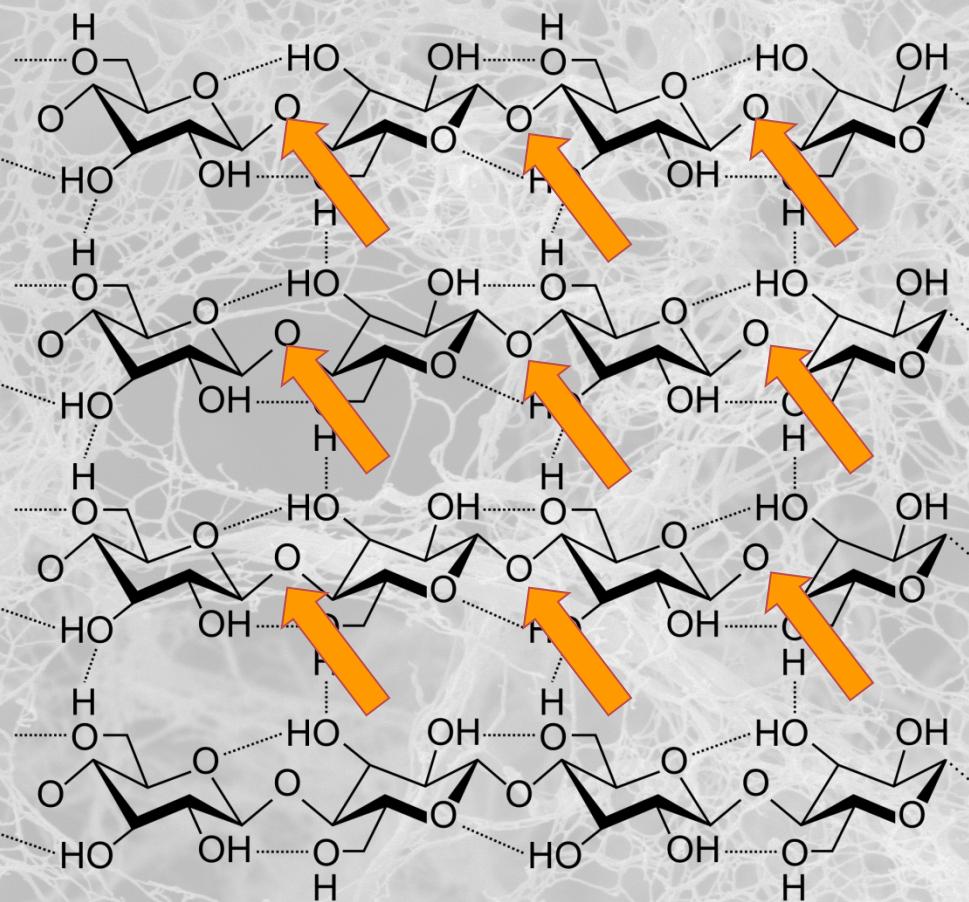
Feedstock	Cellulose (%)	Hemicellulose (%)	Lignin (%)
Hardwood	40-50	25-40	18-25
Softwood	45-50	25-35	23-35
Grasses	25-40	35-50	10-30

*Bioresource Technology*, 2002, 83, 1-11

# Celulose

$1.5 \times 10^{12}$  tons/ano

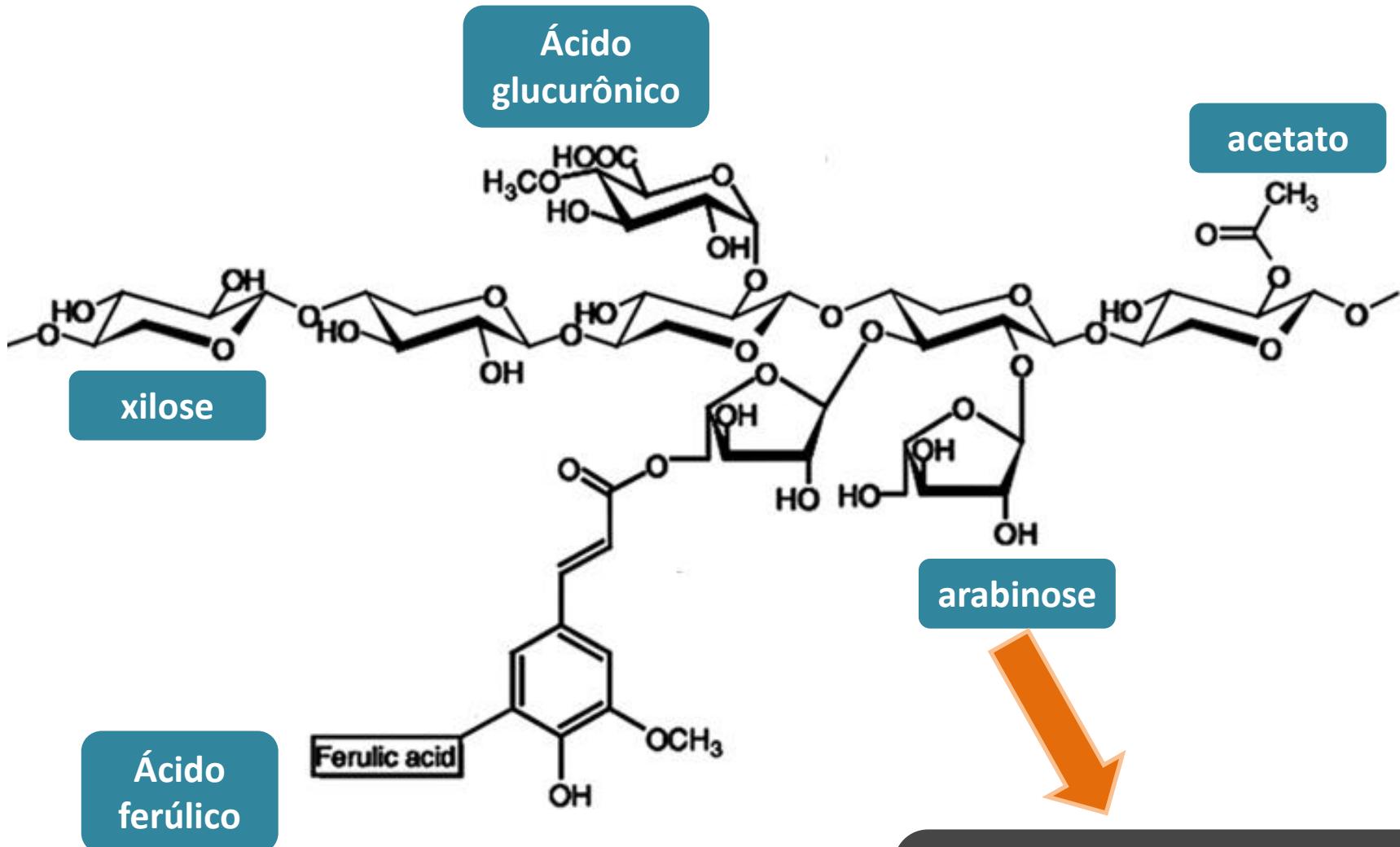
36,5L de etanol originado de celulose



B  
I  
O  
P  
R  
O  
D  
U  
C  
T  
S

B  
I  
O  
F  
U  
E  
L  
S

# A hemicelulose

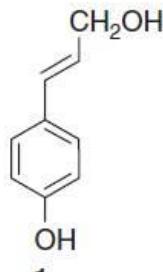


(Sun et al., 2012, Eukaryotic Cell, 11:482-493)

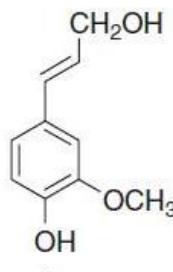
**Açúcares C5:**  
Fermentação não  
convencional

# A Lignina

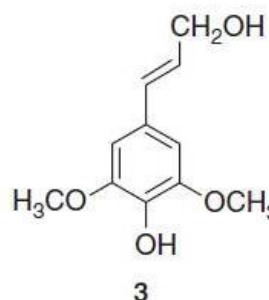
Macromolécula de natureza  
aromática



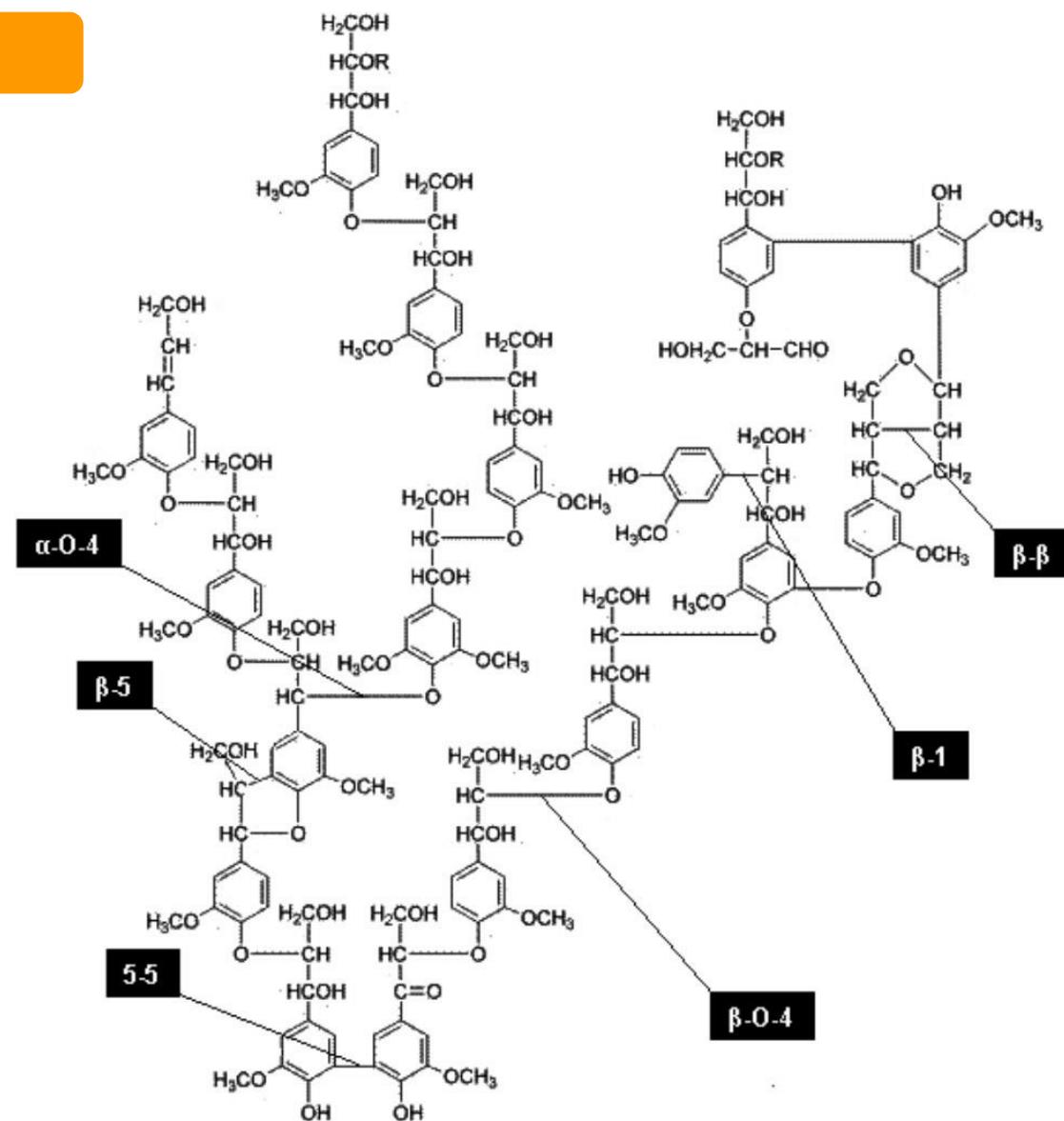
Álcool  
*p*-coumarílico



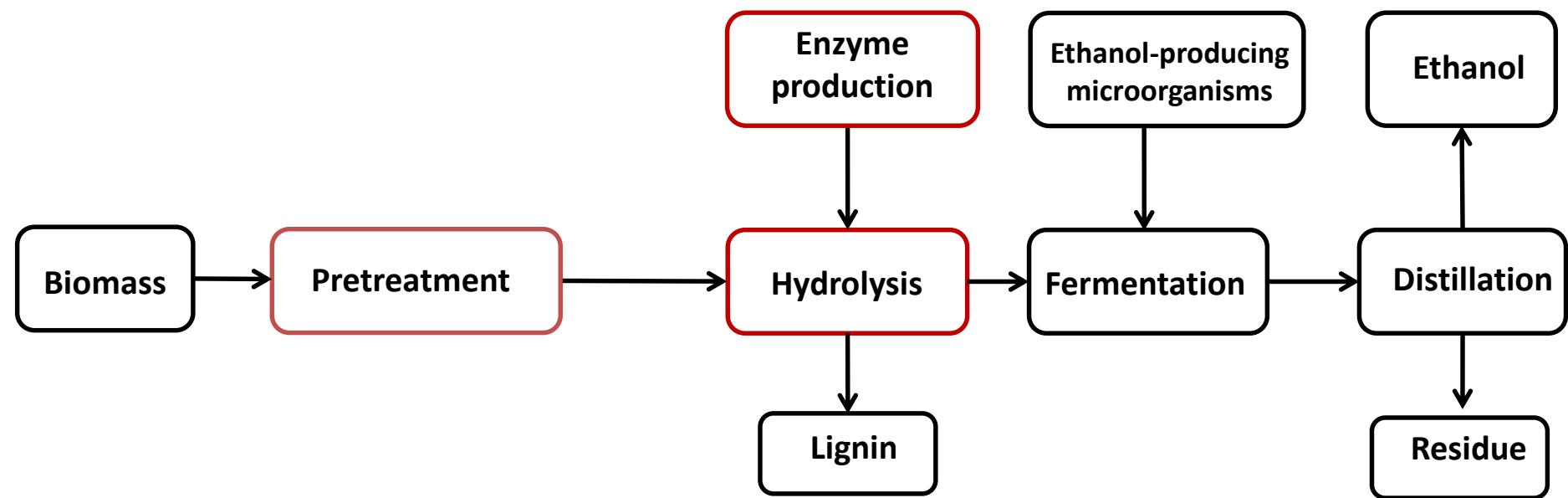
Álcool  
coniferílico



Álcool  
sinapílico



# ETANOL CELULÓSICO



**EM VERMELHO: DESAFÍOS  
TECNOLÓGICOS**

# Desafío: Vencer la recalcitrancia de la pared celular

Celulosa ~37-40%

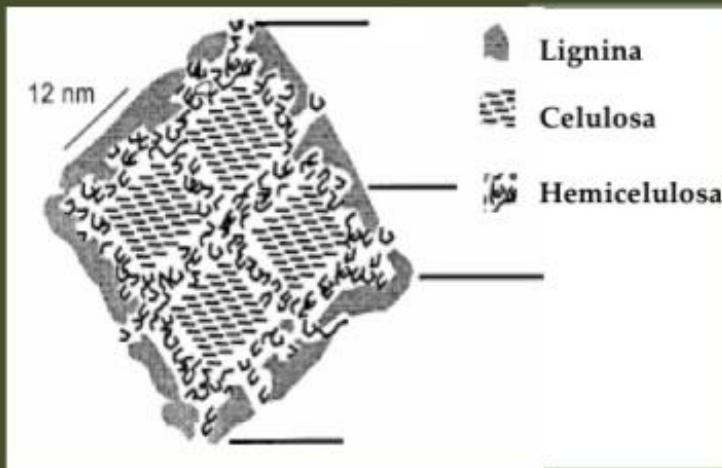
Hemicelulosa ~28-35%

Lignina ~21%

Glucosa

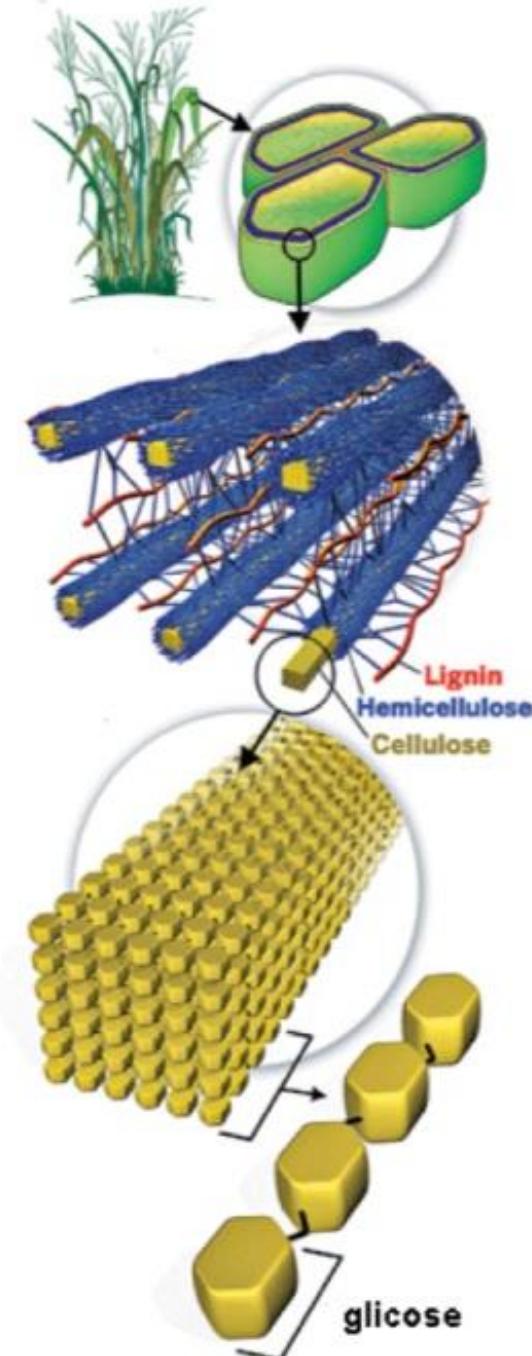
Xilosa, arabinosa  
(pentosas), galactosa

Compuestos aromáticos

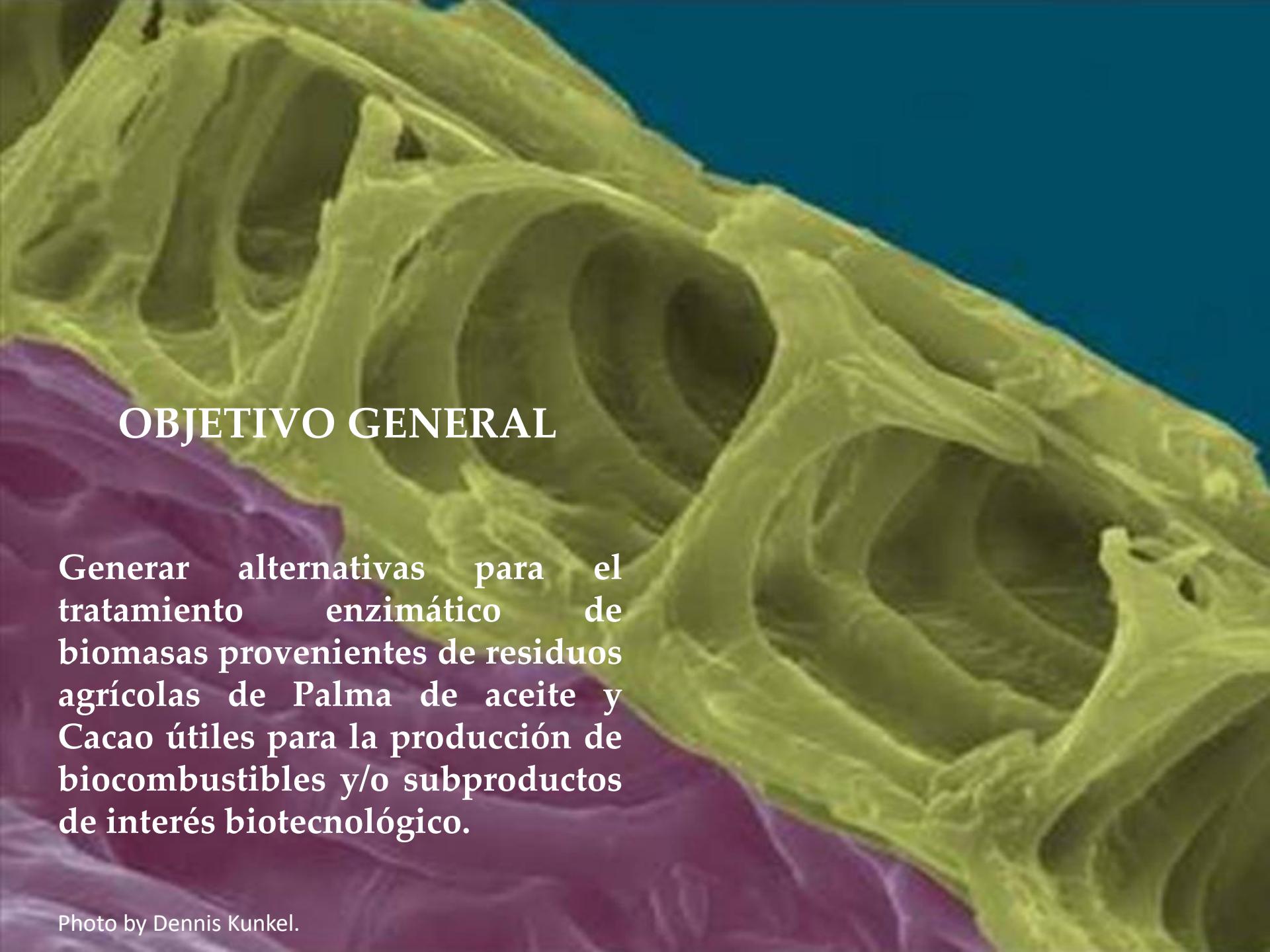


Estructura de la pared celular (Ramos, 2003)

- La hemicelulosa forma ligaciones covalentes cruzadas con la lignina y con microfibras de celulosa.



# HIDRÓLISE ENZIMÁTICA



## OBJETIVO GENERAL

Generar alternativas para el tratamiento enzimático de biomasas provenientes de residuos agrícolas de Palma de aceite y Cacao útiles para la producción de biocombustibles y/o subproductos de interés biotecnológico.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

---

- Aislar de madera en descomposición presente en el bioma bosque muy húmedo subtropical (bmh-st) y en residuos agrícolas propuestos, hongos filamentosos con potencial para la degradación de biomasa generada en procesos agroindustriales.
  - Identificar mediante taxonomía clásica y herramientas de biología molecular los microorganismos recolectados.
  - Evaluar la actividad holocelulasa de los hongos seleccionados, en medios supplementados con biomasa lignocelulósica como fuente de carbono.
  - Caracterizar los extractos enzimáticos por el efecto de pH, temperatura y termoestabilidad.
  - Comparar la eficiencia en la liberación de azúcares en el proceso de pretratamiento con enzimas de basidiomicetos seleccionados, enzimas comerciales, tratamientos químicos, físicos y/o combinaciones de ellos.
-

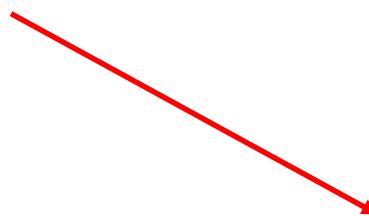
# Microrganismos produtores de celulases

Bactérias aeróbicas



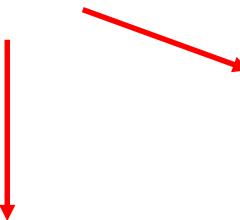
*Actinomycetes*

Bactérias anaeróbicas



*Clostridium* (celulossomos)

Fungos filamentosos



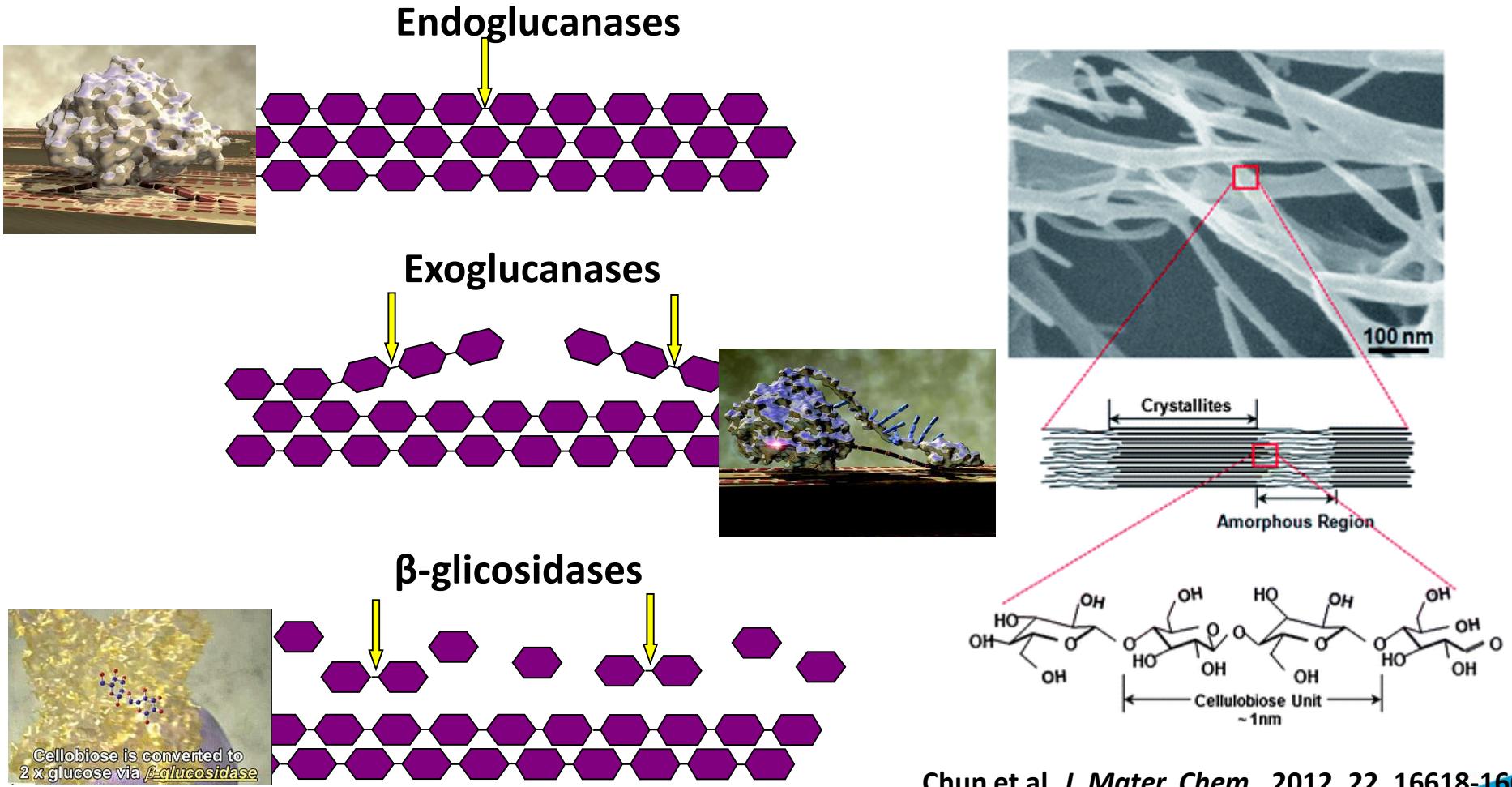
*Aspergillus*



*Trichoderma*



# Hidrólise enzimática da celulose



Chun et al. J. Mater. Chem., 2012, 22, 16618-16626

# Patente em formulação enzimática

## FORMULAÇÃO ENZIMÁTICA



*Trichoderma sp.*



*Aspergillus sp.*

  
República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI0705744-0 A2

(22) Data de Depósito: 19/11/2007  
(43) Data da Publicação: 21/07/2009  
(RPI 2011)

(51) Int.Cl.:  
C12P 1/02 (2009.01)  
C12P 7/06 (2009.01)

**(54) Título: COMPOSIÇÃO DE ENZIMAS, USO DA COMPOSIÇÃO NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE MATERIAL LIGNOCELULÓSICO, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ENZIMAS QUE DEGRADAM A FRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS DA BIOMASSA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ÁLCOOL UTILIZANDO A COMPOSIÇÃO DE ENZIMA**

**(73) Titular(es):** Fundação Universidade de Brasília, Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Universidade Federal do Rio de Janeiro

**(72) Inventor(es):** Ayla Sant'Ana da Silva, Colin Webb, Edivaldo Ximenes Ferreira Filho, Elba P. da S. Bon, Elis Cristina Araújo Eleutherio, Leda Maria Fortes Gottschalk, Leonora Rios de Souza Moreira, Marcos Dias Pereira, Maria Antonieta Ferrara, Ricardo Sposina Sobral Teixeira

**(57) Resumo:** COMPOSIÇÃO DE ENZIMAS, USO DA COMPOSIÇÃO NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE MATERIAL LIGNOCELULÓSICO, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ENZIMAS QUE DEGRADAM A FRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS DA BIOMASSA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ÁLCOOL UTILIZANDO A COMPOSIÇÃO DE ENZIMAS. A presente invenção se refere a uma composição de enzimas compreendendo: (a) enzimas celulolíticas obtidas por fermentação com *Trichoderma reesei*; (b) enzimas celulolíticas, hemicelulolíticas,  $\beta$ -glicosidase e enzimas acessórias obtidas por fermentação com *Aspergillus awamori*; (c) adicionamente, pelo menos uma espécie molecular selecionada do grupo de enzimas e/ou pepídeos com atividade CMCase, ditas espécies moleculares estando presentes nos sobrenadantes do cultivo de *T. reesei* e/ou *A. awamori* como apresentado no zinograma da Figura 6; e (d) opcionalmente, um veículo compatível com ditas enzimas, sendo que ditas enzimas (a) e (b) interagem de modo a resultar em efeito sinérgico dado pela ação das enzimas acessórias que, entre outras atividades, rompem as ligações entre a lignina e os polissacarídeos da biomassa, notadamente a hemicelulose. A presente invenção compreende, ainda, uma composição de enzimas compreendendo: (a) enzimas celulolíticas obtidas por fermentação com *Trichoderma reesei*; (b) enzimas celulolíticas, hemicelulolíticas,  $\beta$ -glicosidase e



  
REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL  
MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS  
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

## CARTA PATENTE Nº PI 0705744-0

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: PI 0705744-0

(22) Data do Depósito: 19/11/2007

(43) Data da Publicação do Pedido: 21/07/2009

(51) Classificação Internacional: C12P 1/02; C12P 7/06

**(54) Título: COMPOSIÇÃO DE ENZIMAS, USO DA COMPOSIÇÃO NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE MATERIAL LIGNOCELULÓSICO, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ENZIMAS QUE DEGRADAM A FRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS DA BIOMASSA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ÁLCOOL UTILIZANDO A COMPOSIÇÃO DE ENZIMA**

# ESTUDOS DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

Escala de laboratório

Shaker



Reator



Xarope de  
Glicose

Fermentação  
alcoólica



Lignina

Sólido que pode ser  
utilizado como  
combustível



# Pré-tratamento

# TIPOS DE PRE-TRATAMIENTO

Físicos →

Mecánicos  
Térmicos

+

→ Físico - químicos

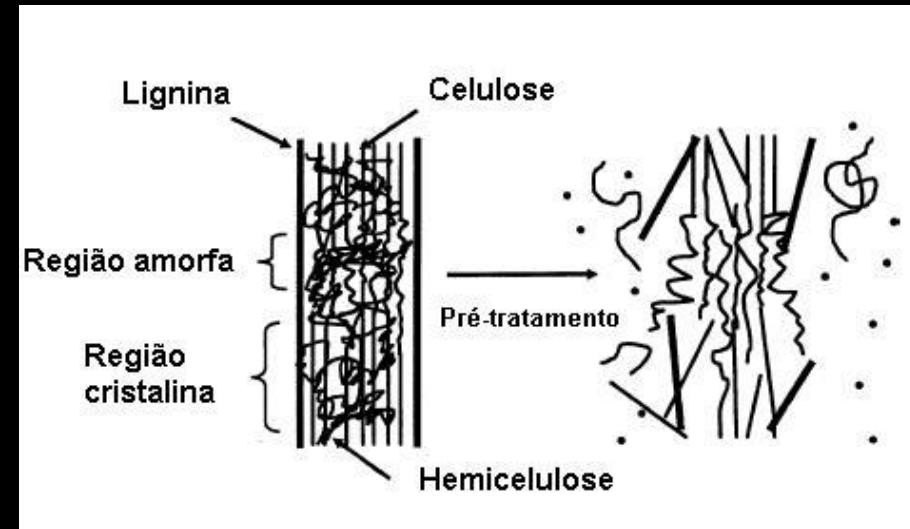
Fraccionamiento con solventes

Pre-tratamientos

ácidos

Pre-tratamientos agentes  
alcalinos

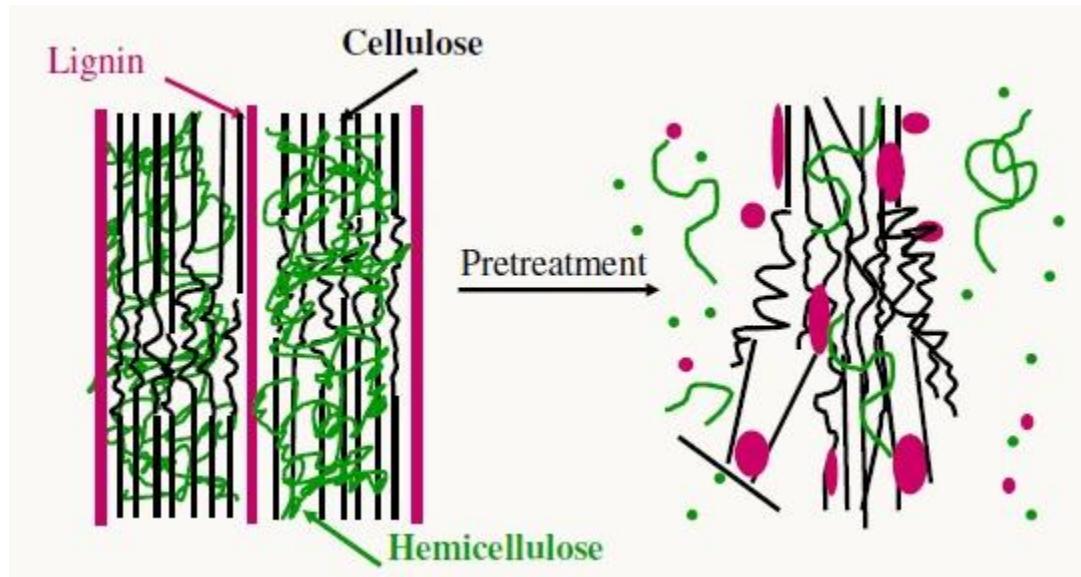
Agentes oxidantes



Químicos →

**No existe técnica de pre-tratamiento universal !**

# Etapa de pré-tratamento



Mosier et al., 2005. Biores. Technol., 96, 673-686.

Physical	Chemical	Physicochemical	Biologic
Milling Extrusion	Solvents Acids Alkalies Oxidant agents	Hydrothermal AFEX	Fungi Degradation

NÃO EXISTE TÉCNICA DE PRÉ-TRATAMENTO UNIVERSAL

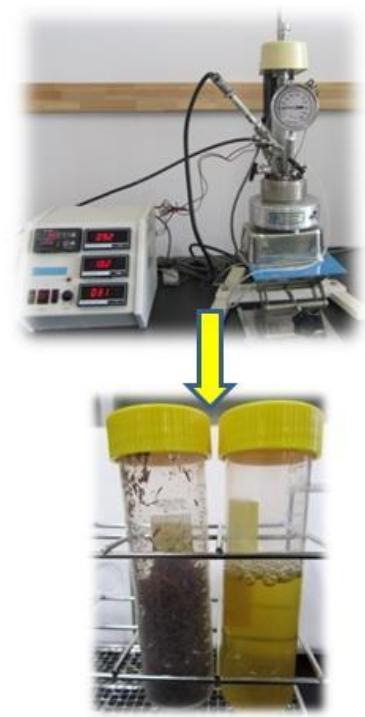
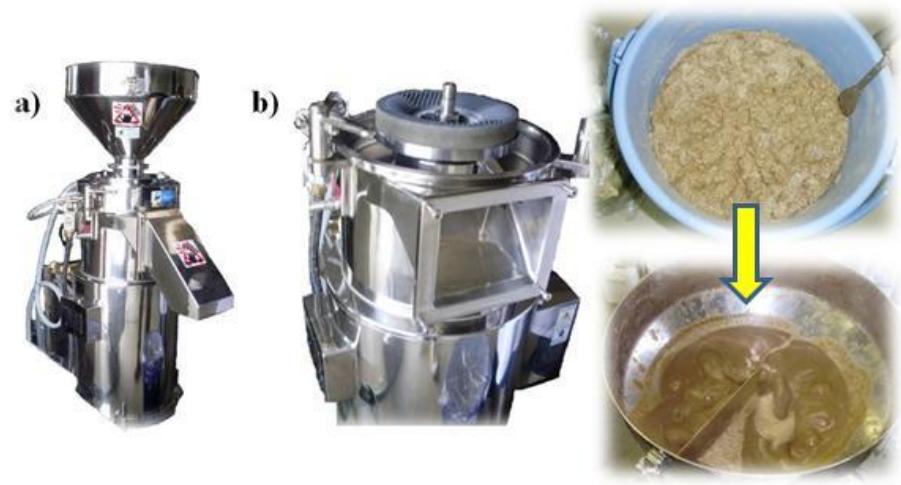
# Qual o objetivo principal do pré-tratamento?

**Aumentar a acessibilidade das celulases à celulose**

**Efeitos desejáveis do pré-tratamento:**

- ✓ Aumento da área de superfície – desfibrilação
- ✓ Diminuição do grau de cristalinidade da celulose
- ✓ Solubilização da fração de hemicelulose e/ou lignina
- ✓ Alterar a estrutura da lignina

# PRÉ-TRATAMENTO DE BIOMASSA DA CANA-DE-AÇÚCAR



# Panorama Mundial

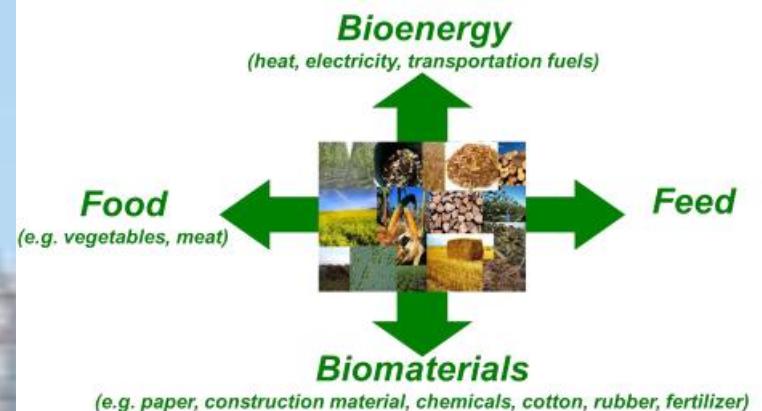
-

## Produção de etanol 2G

# PLANTAS COMERCIAIS NO MUNDO

PLANT	LOCATION	CAPACITY
Beta Renewables (2013)	Crescentino - Italy	75 million liters
Granbio (2014)	São Miguel dos Campos, AL - Brazil	82 million liters
Raízen (2014)	Piracicaba, SP - Brazil	40 million liters
Poet-DSM (2014)	Iowa - USA	95 million liters
Abengoa (2014)	Kansas - USA	95 million liters
Dupont (2015)	Iowa - USA	113 million liters

# O conceito de BIORREFINARIA



Uma **BIORREFINARIA** é uma unidade que integra processos de **conversão de biomassa** e equipamentos para a produção de **alimentos, combustíveis, eletricidade e produtos químicos com valor agregado**

\*NREL – National Renewable Laboratory - USA

**A biorrefinaria é o processamento sustentável da biomassa em um espectro de produtos comercializáveis e bioenergia**



**A necessidade de  
aumentar a produção de  
etanol pode alavancar  
biorrefinarias a partir da  
biomassa lignocelulósica**

# AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Dirección de Investigaciones  
de la Universidad de Manizales



UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO DE JANEIRO

Laboratorio Bioetanol  
<http://bioetanol-ufrj.com.br/>



Gracias

