

FCT

Fundação para a Ciência e a Tecnologia



Ciências
ULisboa



GreenFuel – Low-emissions system towards green fuels and high added-value bioactive compounds production based on

***Gordonia alkanivorans* strain 1B biorefinery**

[PTDC/EAM-AMB/30975/2017]



GreenFuel - Sistema de baixas emissões para a produção de combustíveis verdes e de compostos bioactivos de elevado valor comercial baseado na biorrefinaria de *Gordonia alkanivorans* estirpe 1B [PTDC/EAM-AMB/30975/2017]

IR: Luís Alves (LNEG); Co-IR: Susana Paixão Alves (LNEG)

(luis.alves@lneg.pt; susana.alves@lneg.pt)

Equipa:

Filomena Pinto (LNEG), Teresa Crujeira (LNEG), Rafal Lukasik (LNEG), João Tavares (LNEG),

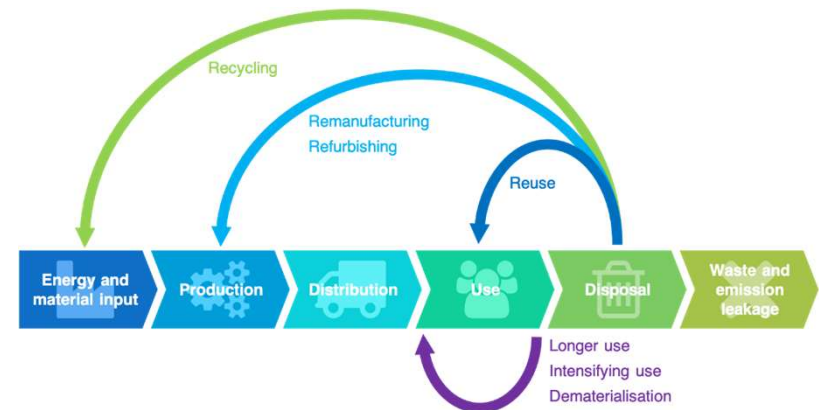
Tiago Silva (LNEG/IDL-FCUL), Carla Silva (IDL-FCUL)



O que distingue uma economia circular da economia convencional?

- Produzimos de forma mais eficiente e integramos várias vias de produção;
- Desenhamos os produtos para durar mais tempo, ser reparados mais facilmente ou planeamos a sua substituição;
- Reciclamos as matérias primas quando os produtos chegam ao fim da sua vida útil.

Tudo para evitar a formação de resíduos





Plásticos

- **Diferentes estatísticas apontam para que menos de 10% dos plásticos sejam reciclados a nível mundial:**
 - Há uma grande variedade de plásticos, com diferentes processos de reciclagem
 - Nem todos são recicláveis

- **A maioria acaba num de 3 fins:**
 - Aterro
 - Queimado
 - Libertado diretamente no meio ambiente

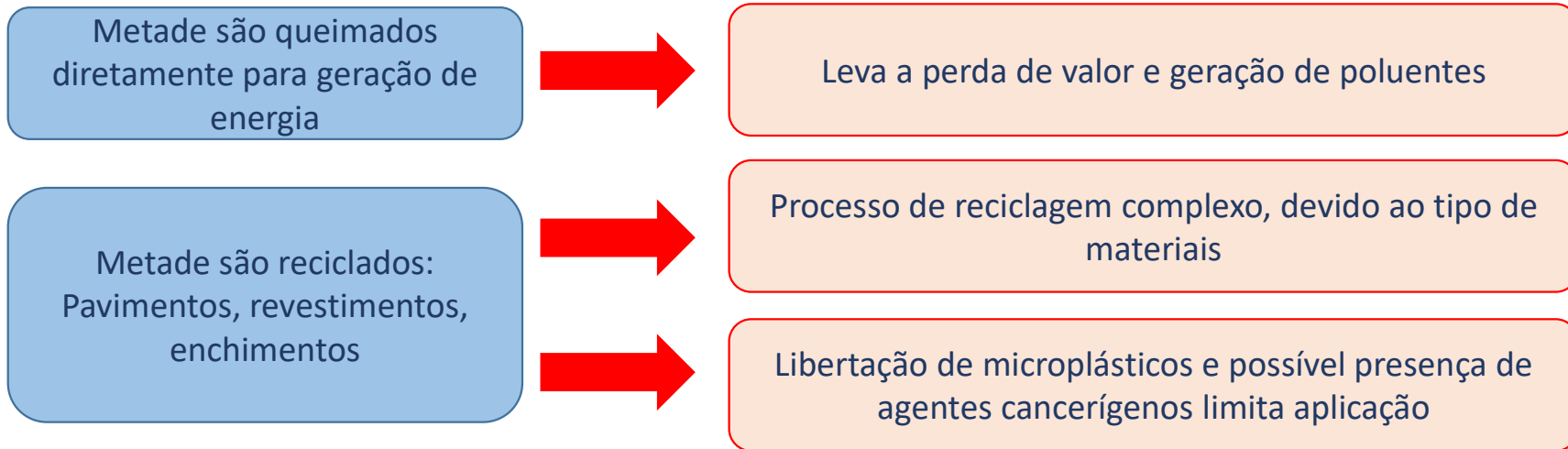


Isto conjugado com a presença dos plásticos em todos os sectores e atividades da sociedade atual faz com que sejam um dos rostos mais visíveis da poluição ambiental



Pneus

➤ Todos os anos, só na União europeia, **300 000 000** de pneus chegam ao fim da sua vida útil



❖ É difícil mudar os materiais de que são feitos e ao mesmo tempo manter as suas características
❖ É previsível que a sua produção aumente nas próximas décadas



Óleo de Motor

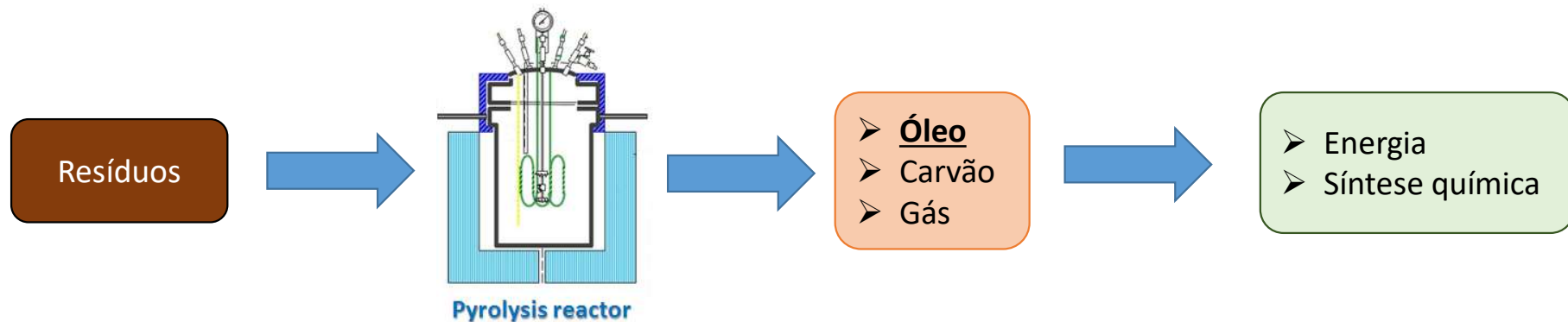
- Se libertado para o meio ambiente pode ter consequências graves para a saúde humana, bem como para o equilíbrio dos ecossistemas;
- O processo geralmente empregue na sua reciclagem passa pela sua “re-refinação”. No entanto este processo tem algumas limitações:
 - ❖ É muito exigente em termos energéticos;
 - ❖ É específico para diferentes tipos de óleo;
 - ❖ Resulta na produção de alguns poluentes não recicláveis.





Pirólise

- A solução pode passar pela valorização conjunta destes resíduos através de um processo de conversão termoquímica: **Pirólise**



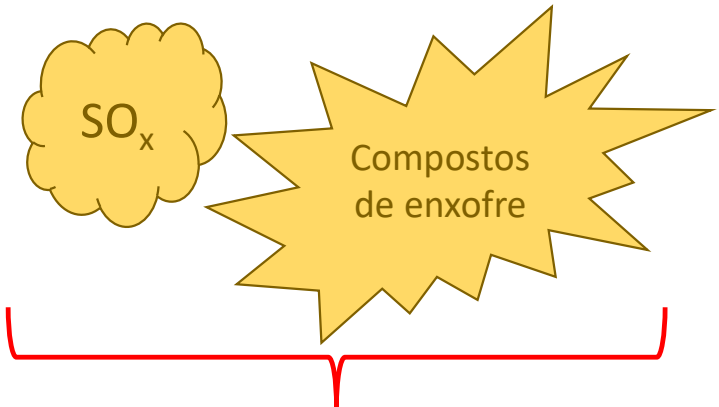
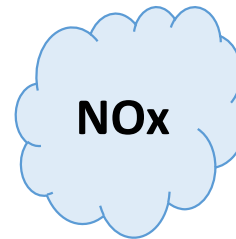
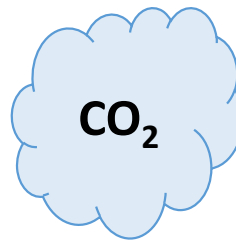
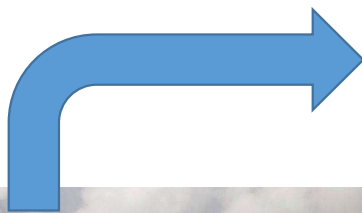
Esta forma de valorização tem várias potenciais vantagens:

- ✓ Produção de combustíveis para locomoção ou energia de forma sustentável, a partir de resíduos abundantes no espaço europeu
- ✓ Processamento simultâneo de resíduos provenientes de várias origens
- ✓ Potencial redução indireta das emissões de CO₂: ao substituírem novos combustíveis de origem fóssil e ao impedir que estes componentes vão para aterro/meio ambiente
- ✓ Redução direta de emissões se o carvão for incorporado no solo, garantindo uma fixação a longo prazo



Poluição

- No entanto, tal como acontece com os combustíveis fósseis, a queima destes combustíveis sustentáveis leva a emissão de poluentes:

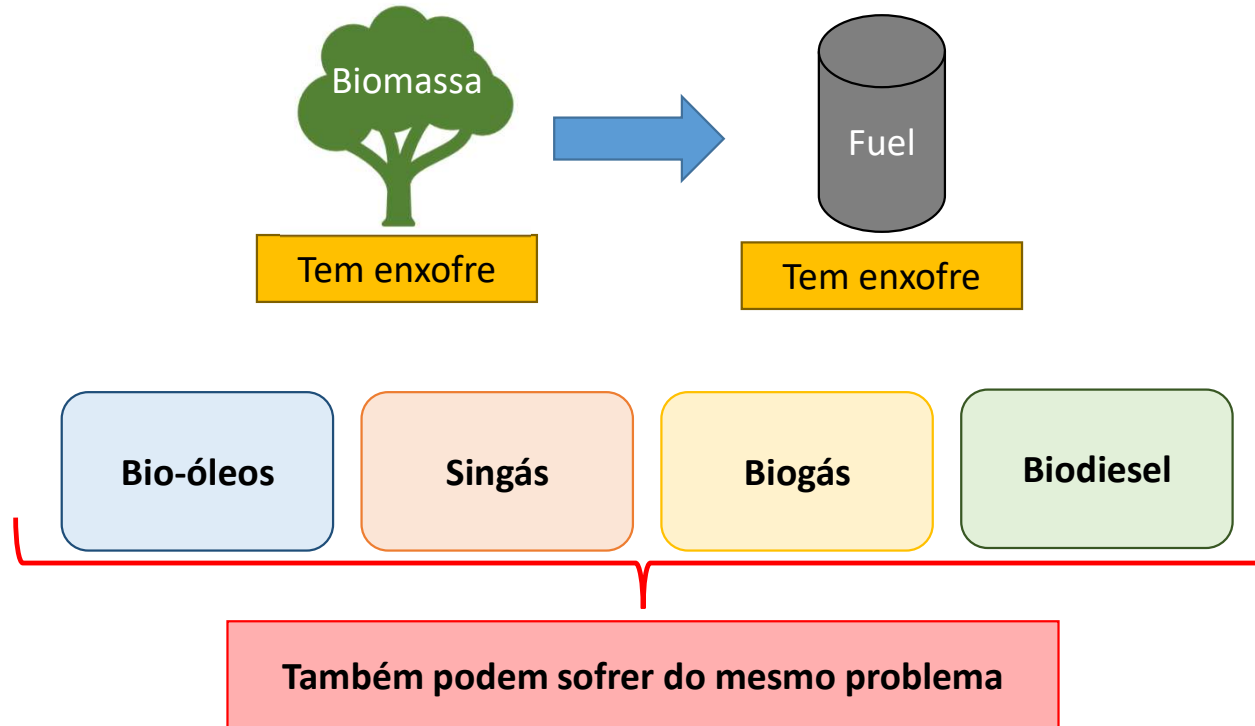


É aqui que centramos o
nosso trabalho



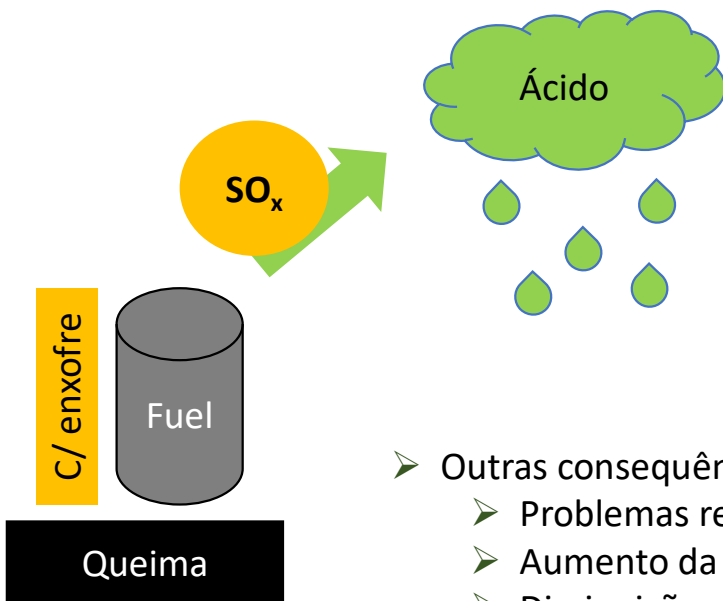
Poluição

➤ Este problema não exclusivo deste tipo de combustível!





O Problema do enxofre

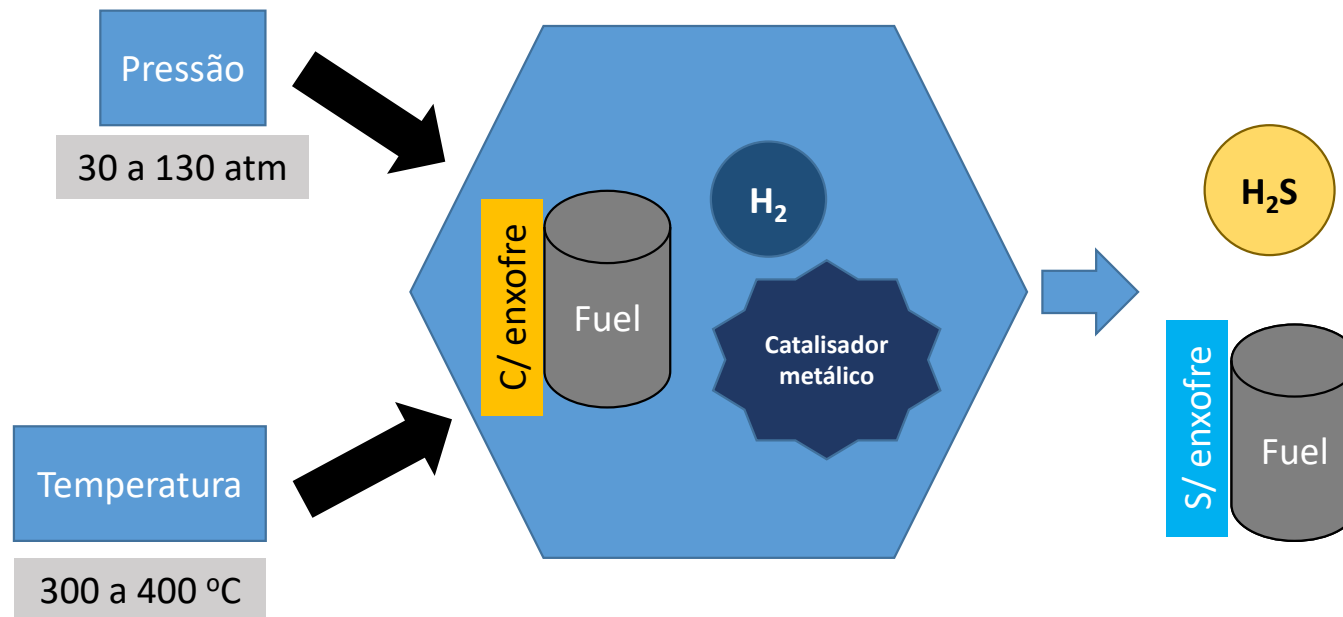


- A consequência mais conhecida da libertação de óxidos de enxofre para a atmosfera são as **Chuvas Ácidas**
 - Destruição de:
 - Culturas agrícolas
 - Infraestruturas
 - Habitats terrestres e aquáticos
 - Entre outros
- Outras consequências de elevadas concentrações de enxofre na atmosfera:
 - Problemas respiratórios e cardíacos
 - Aumento da incidência de alguns tipos de cancro
 - Diminuição do tempo de vida de sistemas de tratamento de ar
- A presença de enxofre nos combustíveis pode ainda:
 - Diminuir o tempo de vida e eficiência dos motores, ou sistemas de queima devido a fenómenos de corrosão



Remoção do enxofre

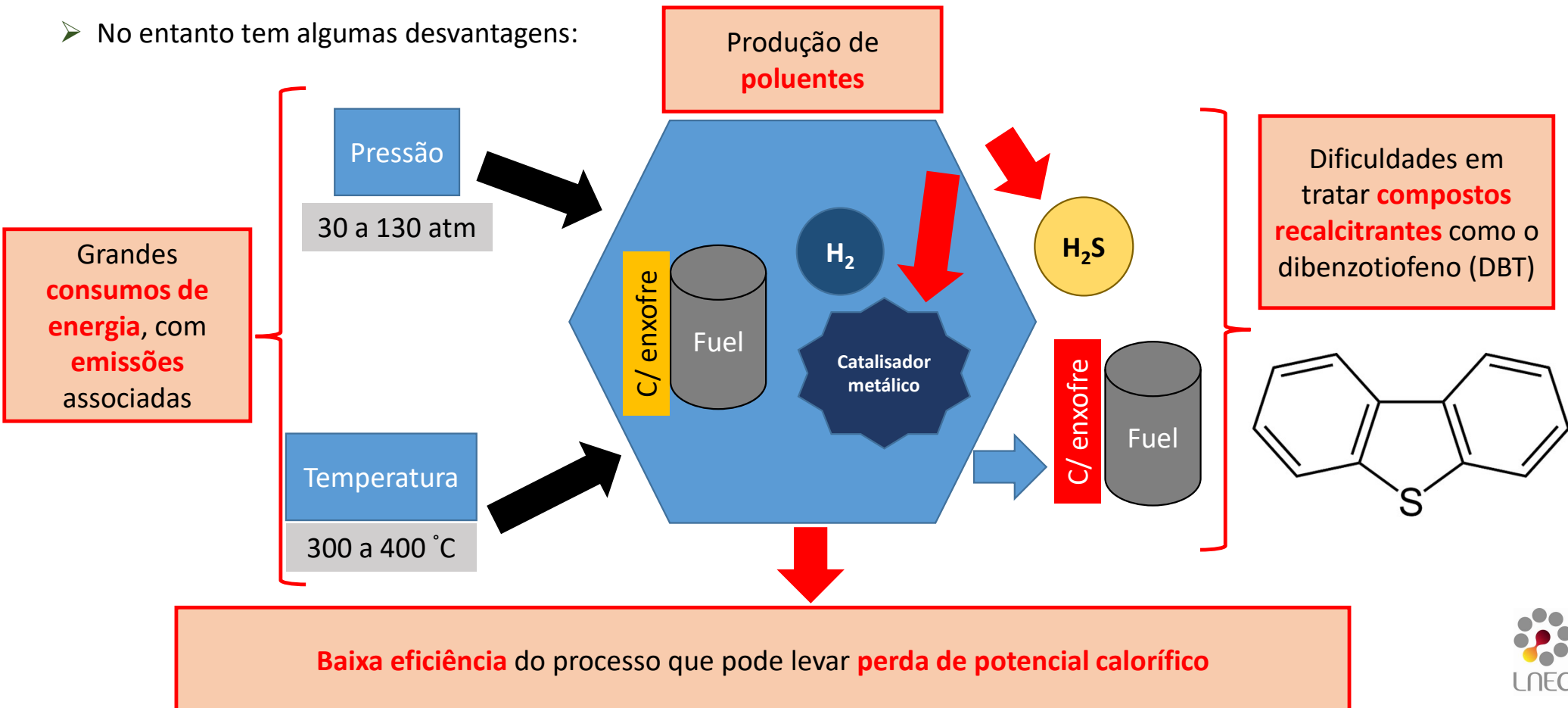
- Para remover o enxofre a técnica mais comum é a **Hidrodesulfurização**





Hidrodessulfurização

➤ No entanto tem algumas desvantagens:

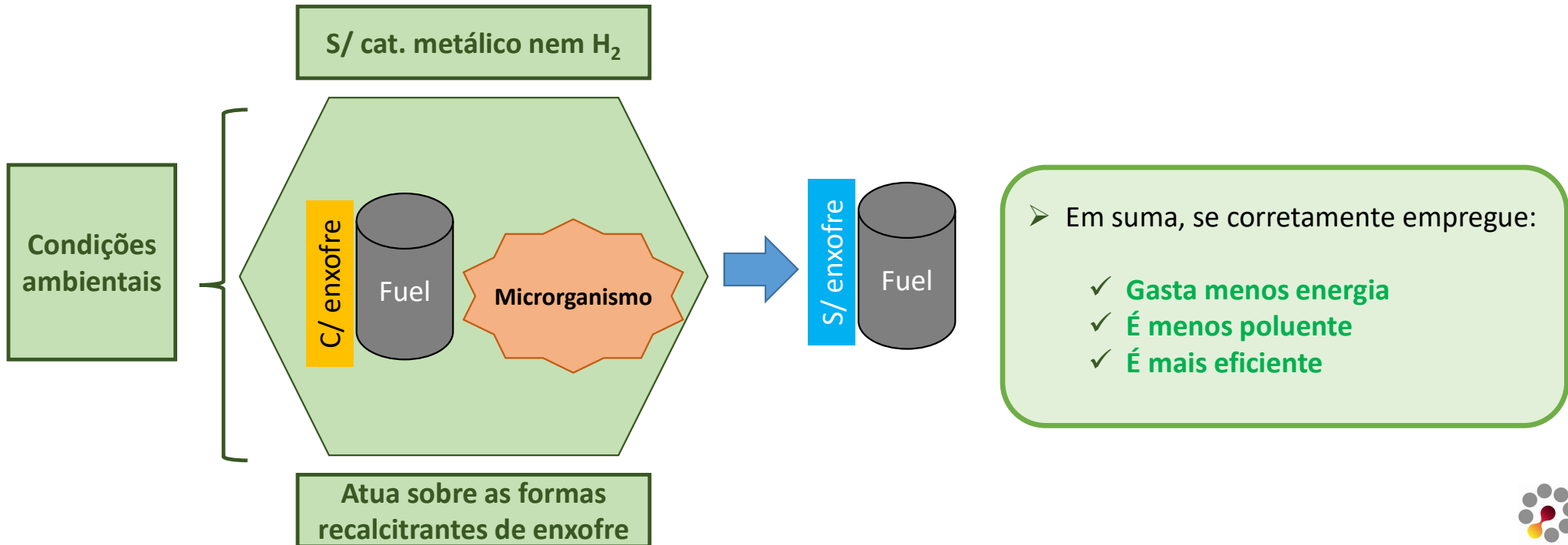




Alternativa

➤ Uma alternativa/complemento **Biodessulfurização**:

➤ Processo que emprega microrganismos para remover enxofre dos combustíveis.





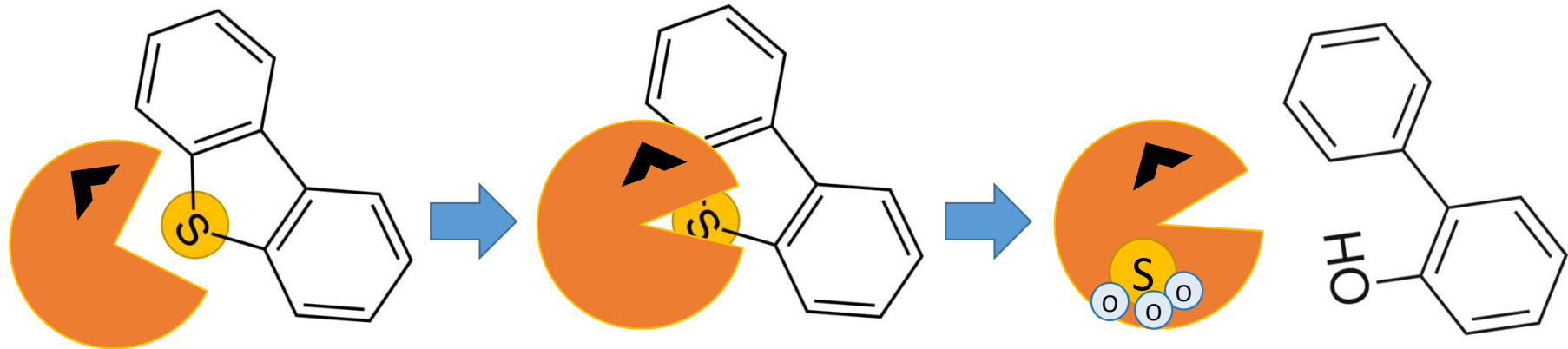
Biodessulfurização

Nem todos os microrganismos são ideais para a biodessulfurização:

- Devem ser resistentes aos compostos tóxicos presentes nos combustíveis
- Devem produzir substâncias que facilitem o contacto com o combustível

Mas mais importante:

- Devem possuir vias metabólicas específicas para isso (Ex: combustíveis líquidos-via **4S**)



Através desta via:

- O microrganismo **consome o enxofre** sem danificar a estrutura de carbono, **mantendo o potencial energético da molécula**
- Isto em condições ambientais de pressão e temperatura



Biodessulfurização

- A biodessulfurização pode dividir-se em 3 etapas:

Produção do microrganismo
(o nosso biocatalisador)

Biodessulfurização
(o bioprocesso)

Separação da mistura combustível/microrganismo
(downstream processing)

- De uma forma geral estas etapas são comuns a grande parte dos processos de biotecnologia microbiana
 - Com algumas variações dependendo do objetivo do processo.
 - Neste caso o foco é a produção do microrganismo que realizará a Biodessulfurização



Biodessulfurização

- A biodessulfurização pode dividir-se em 3 etapas:

Produção do microrganismo
(o nosso biocatalisador)

Biodessulfurização
(o bioprocesso)

- Estas duas etapas podem ocorrer em simultâneo dependendo da abordagem:

- Conjugando produção e bioprocesso

Pode também haver mais etapas *upstream*, em processos que dependam de pré-tratamentos

Separação da mistura combustível/microrganismo
(downstream processing)



- Varia bastante de acordo com processo e microrganismos usados.
- Noutros bioprocessos poderá também incluir **separação do produto de interesse**



Biodessulfurização

**Produção do
microrganismo**
(o nosso biocatalisador)

Os microrganismos usados são tipicamente bactérias encontradas em locais como:

- Solos contaminados com hidrocarbonetos (ex: perto de refinarias)
- Poços de petróleo
- Aterros

Os mais comuns são:

- *Rhodococcus erythropolis*
- *Gordonia alkanivorans*

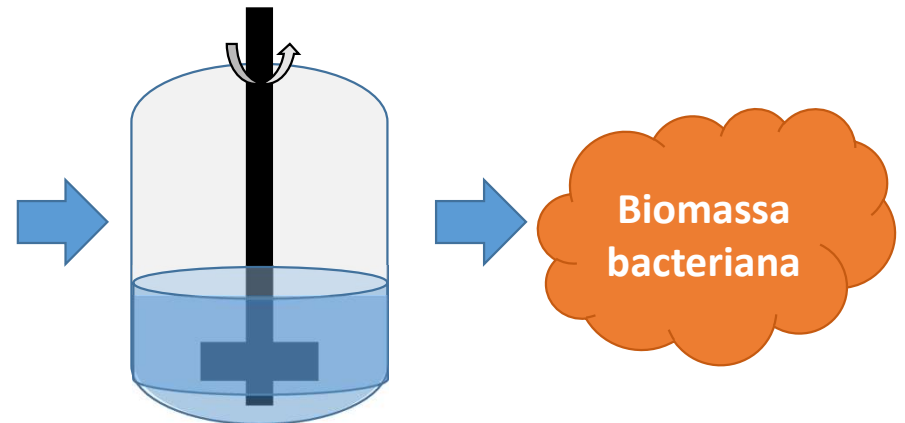
Nesta fase os microrganismos são cultivados num fermentador/biorreator, em condições ótimas, para **gerar biomassa microbiana com boa capacidade de dessulfurização.**

**As condições ótimas
variam dependendo do
microrganismo:**

- Temperatura (20-50°C)
- pH (5-10)
- Arejamento
- Agitação
- Taxa de diluição

Meio de Cultura
(a comida das bactérias)

Água + Nutrientes:
Carbono
Azoto
Fósforo
Potássio
Etc
...





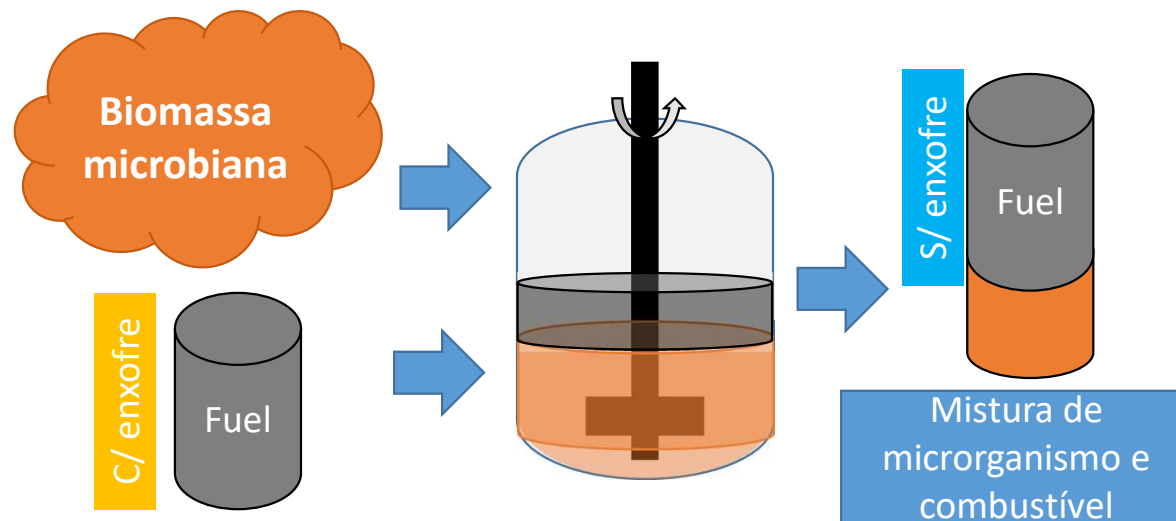
Biodessulfurização

Biodessulfurização (o bioprocesso)

Nesta fase os microrganismos são misturados/expostos ao combustível a dessulfurizar.

O modelo proposto varia, mas regra geral depende do **uso de microrganismos vivos**.

- Isto significa que as **condições gerais** devem ser **semelhantes às de produção**.



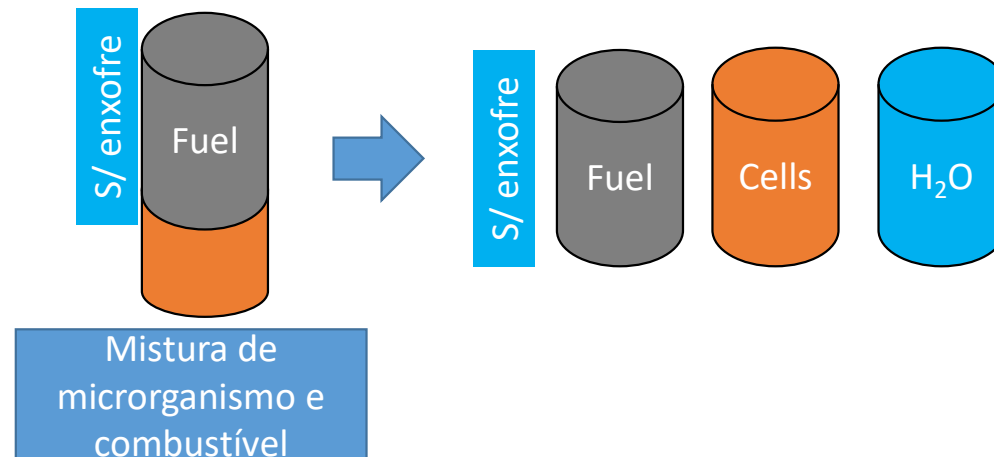


Biodessulfurização

Separação da mistura
combustível/microrganismo
(downstream processing)

Etapa final que consiste na separação do combustível dessulfurizado, das células exaustas e da água, tipicamente através de:

- Decantação
- Centrifugação
- Filtração
- Ação química





Limitações

➤ A biodessulfurização apresenta limitações nas 3 etapas:

Produção do microrganismo (o nosso biocatalisador)

Elevados custos de produção, devido aos nutrientes usados no meio de cultura.

- ❖ Em especial a fonte carbono, tipicamente um açúcar simples

Biodessulfurização (o bioprocesso)

Os microrganismos têm baixas taxas de biodessulfurização.

- ❖ Ou seja, o processo ou é muito lento ou necessita de muito biocatalisador.

Separação da mistura combustível/microrganismo (downstream processing)

Processo de separação difícil.

- ❖ Devido às fortes misturas que se formam entre células combustível e água.

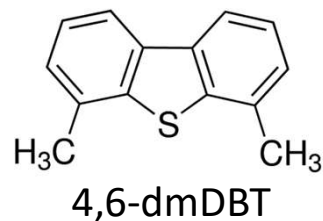
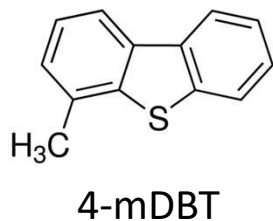
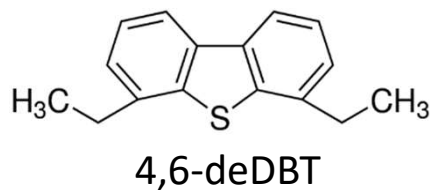
- ❖ A atividade microbiana liberta CO₂ biogénico
- ❖ A maioria da investigação está a ser feita a uma escala demasiado baixa. Não havendo modelos consensuais para as diferentes etapas.



Gordonia alkanivorans estirpe 1B

- Trabalhamos com uma bactéria: ***Gordonia alkanivorans* estirpe 1B**
- Isolada de amostras de solos contaminados com hidrocarbonetos, onde atualmente é o Parque das Nações.

- ✓ Como seria de esperar, tem capacidade realizar biodessulfurização
- ✓ Mas parece **dessulfurizar preferencialmente compostos mais complexos**, mais difíceis de tratar.
 - ✓ Como os derivados do dibenzotiofeno (DBT).





Gordonia alkanivorans estirpe 1B

➤ É uma bactéria frutofílica:

- Cresce preferencialmente com frutose como fonte de carbono
- A maioria das bactérias prefere outro açúcar, glucose, isto permite explorar fontes alternativas

Tem um apetite voraz

Consegue usar uma grande variedade de outros compostos com fonte de carbono

Culturas sustentáveis

(Ricas em frutose)

- ✓ Tupinambo
- ✓ Medronho

Subprodutos agroindustriais

(Ricos em açúcar)

- ✓ Polpa de alfarroba
- ✓ Melaço de cana
- ✓ Lamas de papel reciclado

Subprodutos agroindustriais

(Sem açúcar)

- ✓ Glicerol
- ✓ Óleos alimentares usados



Gordonia alkanivorans estirpe 1B

➤ Produz compostos de elevado valor acrescentado:

Carotenoides

- Corantes naturais tradicionalmente encontrados nas plantas:
 - Apresentam uma cores variadas **Amarelo**, **Laranja**, **Vermelho** ou **Rosa**
 - Contribuem para as cores características de alguns alimentos



➤ Têm propriedades vantajosas:

- ✓ Proteção contra a luz
- ✓ Antioxidantes
- ✓ Anticancerígenas
- ✓ Antienvhecimento
- ✓ Antimicrobianas
- ✓ Sendo ainda precursores de vitaminas



Estas propriedades geraram o interesse de muitas indústrias dando origem a um mercado que em 2019 era de **1.800 milhões de dólares**, com muitos carotenoides a valer **milhares de €/kg**



Gordonia alkanivorans estirpe 1B

➤ Produz compostos de elevado valor acrescentado:

Carotenoides

- Dependendo das condições em que é cultivada, produz colorações diferentes
- Resultam da produção de vários carotenoides, entre os quais:

Astaxantina

Cantaxantina

Luteína





Gordonia alkanivorans estirpe 1B

➤ Produz compostos de elevado valor acrescentado:

Biossurfactantes

- Moléculas com propriedades simultaneamente hidrofóbicas e hidrofílicas
 - Permitem reduzir a tensão superficial, facilitando a mistura de 2 líquidos imiscíveis
 - Ex: Água e óleo
- São conhecidos como detergentes naturais

➤ Na natureza ajudam os microrganismos a sobreviver em ambientes hidrofóbicos, ajudando a aceder a nutrientes e águas nesse ambientes

➤ Têm propriedades vantajosas:

- ✓ Antioxidantes
- ✓ Anticancerígenas
- ✓ Antienvelhecimento
- ✓ Antimicrobianas
- ✓ Antivirais

➤ Comparados com os detergentes convencionais têm vantagens:

- São biodegradáveis
- Menos tóxicos/irritantes
- Funcionam em concentrações mais reduzidas
- Formam emulsões estáveis durante dias/semanas/meses
- Toleram condições de pH/temperatura/concentração de sais extremas

➤ Estas propriedades atraíram o interesse das indústrias: química, farmacêutica, cosmética, alimentar, etc.

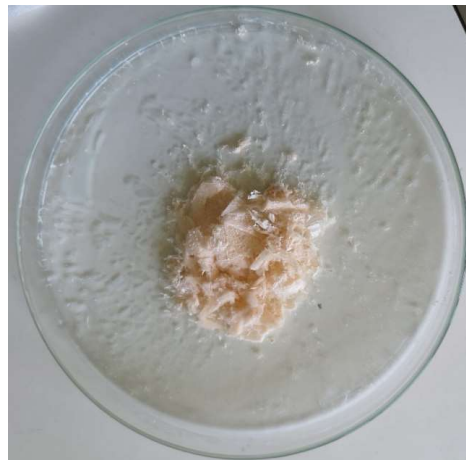
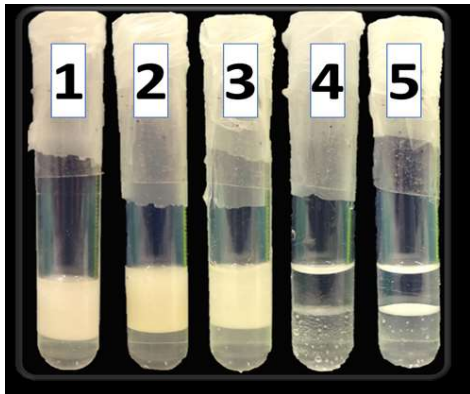


Gordonia alkanivorans estirpe 1B

- Produz compostos de elevado valor acrescentado:

Biossurfactantes

- *Gordonia alkanivorans* estirpe 1B demonstrou ser capaz de produzir e libertar para o meio de cultura compostos com propriedades de biossurfactante
- Mesmo não purificados demonstraram-se comparáveis a alguns detergentes comerciais





Haematococcus pluvialis

➤ Também trabalhamos com uma microalga: ***Haematococcus pluvialis***

➤ **As microalgas, tal como as plantas, conseguem realizar fotossíntese:**

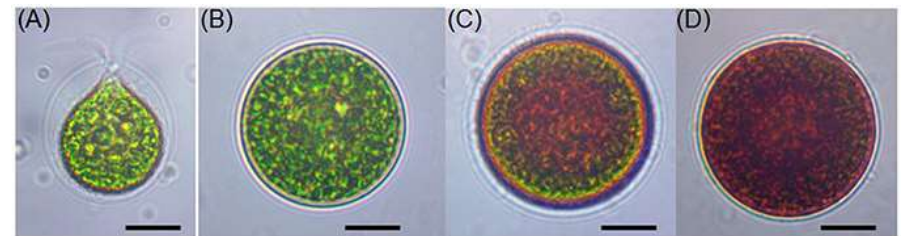
➤ Na presença de luz conseguem fixar CO₂ atmosférico e usá-lo para o seu crescimento.

➤ **Comparativamente às plantas têm vantagens para aplicação biotecnológica**

- Dimensões reduzidas
- Crescimento mais rápido
- Elevada densidade populacional

➤ *Haematococcus pluvialis* apresenta outra característica:

- *Produz elevadas concentrações de carotenoides*
- *Astaxantina*





Limitações

➤ A biodessulfurização tem limitações nas 3 etapas:

Produção do microrganismo (o nosso biocatalisador)

Elevados custos de produção, devido aos nutrientes usados no meio de cultura.

- ❖ Em especial a **fonte carbono**, tipicamente um açúcar simples

Biodessulfurização (o bioprocesso)

Os microrganismos têm **baixas taxas de biodessulfurização**.

- ❖ Ou seja, o processo ou é **muito lento** ou necessita de **muito biocatalisador** .

Separação da mistura combustível/microrganismo (downstream processing)

Processo de separação difícil.

- ❖ Devido às fortes misturas que se formam entre células combustível e água.

- ❖ A atividade microbiana liberta **CO₂ biogénico**
- ❖ A maioria da investigação está a ser feita a uma **escala demasiado baixa**. Não havendo modelos consensuais para as diferentes etapas.



Soluções

➤ Explorando todas estas propriedades, numa visão integrada é possível mitigar/superar algumas das limitações

- ✓ Substituição da fonte de carbono comercial, por um subproduto agroindustrial, ou fonte sustentável.
- ✓ Minimização/otimização do meio de cultura

Reduz custos de produção

- ✓ Valorização dos carotenoides e biossurfactantes

Aumenta as fontes de rendimento, diversificando os outputs

- ✓ Optimização das condições de dessulfurização

Aumenta eficiência, facilita separação

- ✓ Utilização de microalgas para fixar CO₂ biogénico e produção carotenoides

Reduz emissões diretas e aumenta fontes de rendimento



Objetivos

- Exploração da biorrefinaria de *G. alkanivorans* estirpe 1B de modo a produzir combustíveis verdes, a partir da dessulfurização de óleos pirolíticos produzidos através da pirólise de misturas de resíduos de pneus/plásticos e óleos usados, e produtos de elevado valor comercial, tais como carotenoides, biossurfactantes.



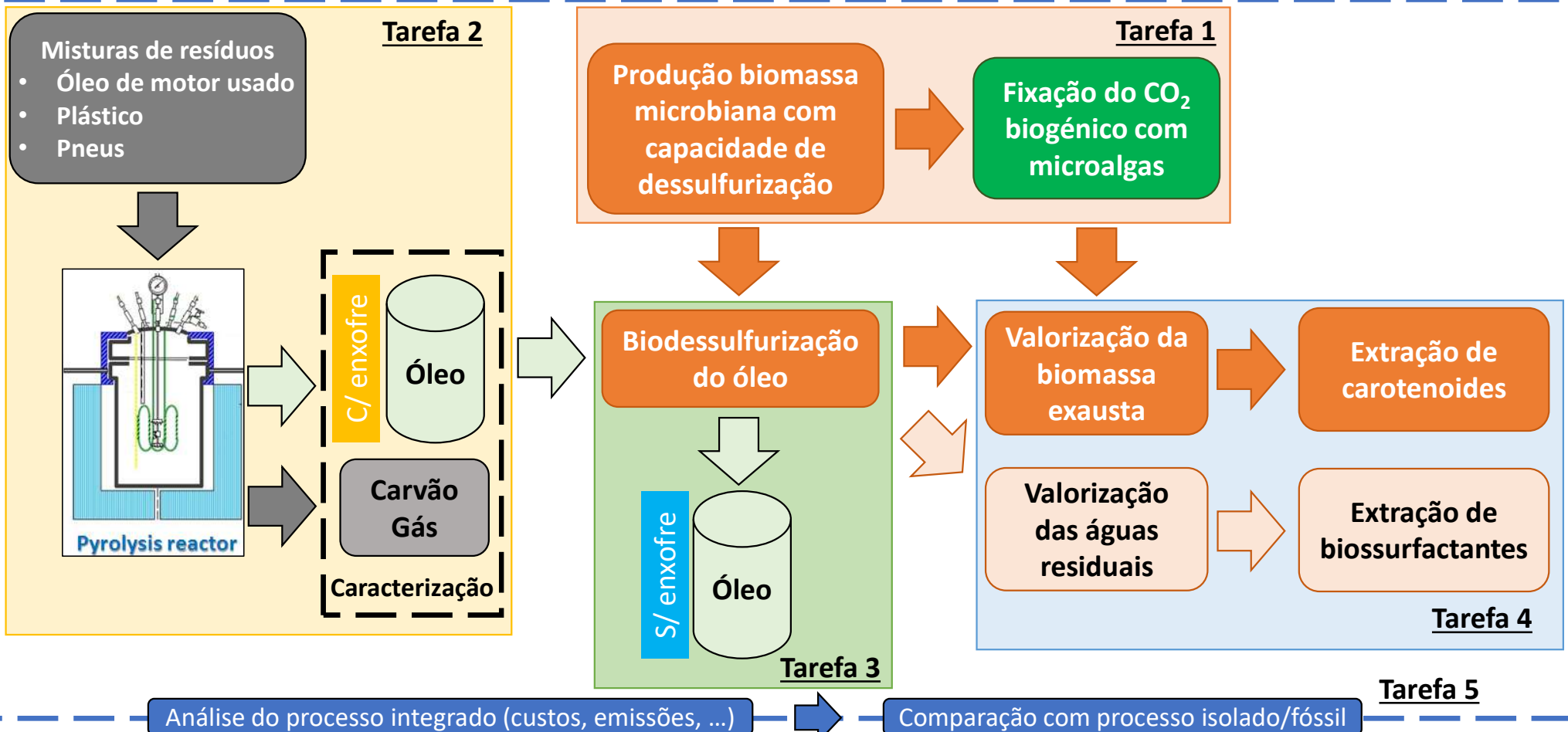
Baixas emissões (gases)
Valorização/Minimização de resíduos



Este projeto aborda uma falha na atual cadeia de valor de resíduos, propondo um método de valorização de resíduos sólidos urbanos, integrando a valorização energética com as biorrefinarias não energéticas.



Resumo das tarefas do projeto





Obrigado pela
vossa atenção!

