

CARACTERIZAÇÃO DO HIDROLISADO DE PALHA DE TRIGO VISANDO EXTRAÇÃO DA XILOSE PARA A BIOCONVERSÃO EM XILITOL

Larissa Canilha ¹, Walter Carvalho ² e João Batista de Almeida e Silva ³

¹Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Departamento de Biotecnologia, Rodovia Itajubá-Lorena, Km 74,5, Lorena, SP-Brasil CEP: 12600-970, tel: +(12)5533422; fax: +(12)5533133; e-mail: larissa@debiq.faelnquil.br

Palavras-chave: hidrolisado hemicelulósico, composição química, palha de trigo, xilose.

Área do Conhecimento: II Ciências Biológicas

Resumo - A palha de trigo é um dos resíduos lignocelulósicos mais abundantes no Brasil. Sua fração hemicelulósica, correspondente a 25-30% de sua composição, é composta basicamente de açúcares, principalmente xilose, o qual pode ser empregado no processo de bioconversão para a produção de xilitol. Foi realizada uma hidrólise ácida, com o objetivo de separar a fração hemicelulósica dos demais componentes (celulose e lignina), obtendo-se uma maior extração em xilose, de 18,11 g/L. O hidrolisado hemicelulósico obtido foi então concentrado, afim de aumentar o teor de xilose desejado (57,52 g/L), e tratado, para remover os compostos inibitórios. As concentrações dos açúcares e dos inibidores do hidrolisado de palha de trigo, após a hidrólise ácida, da concentração e do tratamento, foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência.

Introdução

Materiais lignocelulósicos são compostos principalmente de celulose, hemicelulose e lignina. A fração hemicelulósica é composta de heteropolímeros lineares de L-arabinose, D-galactose, D-glicose, D-manose and D-xilose. A composição da hemicelulose varia de acordo com as espécies de plantas, como palha de trigo (32%), palha de arroz (25%), espiga de milho (37%), bagaço de cana (22%) e madeira de eucalipto (15-22%) [1, 2]. A fração hemicelulósica dos resíduos agro-industriais pode ser hidrolisada usando-se ácidos minerais [3] e posteriormente, pode ser utilizada em processos biotecnológicos, como a produção de xilitol [4].

Xilitol é um poliálcool com alto interesse econômico, não somente por apresentar propriedades adoçantes e anticariogênicas, mas também pelo fato dele poder ser utilizado como açúcar substituto para diabéticos [5, 6]. Por estas e outras características, o xilitol passa a ser um produto de grande interesse para indústrias alimentícias, odontológicas e farmacêuticas.

Os materiais lignocelulósicos, como a palha de trigo, são fontes abundantes, renováveis e de baixo custo, com potenciais aplicações em diversos processos biotecnológicos.

O objetivo do presente trabalho foi de caracterizar a palha de trigo estudada, quanto à sua composição química, e de avaliar o hidrolisado hemicelulósico da palha de trigo obtido após a hidrólise ácida, após ser concentrado e tratado, quanto às concentrações de açúcares e inibidores.

Materiais e Métodos

Determinação da composição química da palha

de trigo: A análise da palha de trigo foi feita de acordo com o método de Browning [7]. A palha de trigo foi moída e seca em estufa a 60 °C, por 30 minutos. Após a redução da umidade do material (<10 %), foi feita a pesagem da palha moída (2 g). Esta massa foi transferida para um béquer com 10 mL de H₂SO₄ a 72 % (p/p). A mistura foi agitada continuamente por 7 minutos, em banho de água a 50 °C.

Ao completar o tempo de hidrólise, a reação foi interrompida com 275 mL de água destilada e o conteúdo foi transferido para um Erlenmeyer de 500 mL. A suspensão foi autoclavada, 121 °C por 45 minutos. Após resfriamento, a suspensão foi transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 500 mL. O volume foi completado com água, homogeneizado e filtrado.

O resíduo (após várias lavagens) foi secado em estufa a 105 °C durante 2 horas, e pesado até se obter peso constante. A relação entre a massa do resíduo e a massa inicial da amostra foi utilizada para determinar a porcentagem de lignina presente na palha de trigo. A fração líquida obtida foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), para determinar as concentrações de glicose, xilose e arabinose, que depois, foram utilizadas para o cálculo da porcentagem de celulose e hemicelulose existente na palha de trigo.

Preparação do hidrolisado: A palha de trigo foi hidrolisada em um reator de 350 L à 121 °C por 30 minutos com 1% de ácido sulfúrico e uma relação sólido:líquido de 1:10. O hidrolisado obtido foi concentrado em evaporador a vácuo, a ±70 °C. O hidrolisado foi então tratado da seguinte maneira: O pH inicial foi aumentado para 7,0 com óxido de cálcio comercial, e

posteriormente reduzido para 5,5 com ácido fosfórico. Foi feita ainda a adição de carvão ativo (10 %) sob agitação de 200 rpm, por 1 hora, a 30 °C. Após cada etapa deste tratamento, o hidrolisado foi filtrado em papel de filtro qualitativo para a remoção do precipitado formado. O hidrolisado foi então autoclavado à 111 °C, por 15 minutos. O hidrolisado original, concentrado e tratado foi caracterizado quanto a pH, concentração de açúcares (glicose, xilose, arabinose), ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural (HMF).

Métodos analíticos: As concentrações dos açúcares e dos inibidores foram determinadas por HPLC.

O teor de lignina foi calculado pela fórmula abaixo, conforme descrita por Rocha [8].

$$\% \text{lignina} = \frac{\text{peso da lignina(g)} \times \text{fator de diluição}}{\text{peso amostra(g)} \times \text{peso seco amostra(g)}}$$

em que,

fator de diluição para lignina = 10000.

Os teores de celulose e hemicelulose foram calculados através das equações abaixo, conforme metodologia descrita por Irick [9].

$$\% \text{celulose} = \frac{\text{glicose (g/L)} \times 100 \times \text{FC} \times \text{FP}}{\text{peso amostra(g)} \times \text{peso seco amostra(g)}}$$

em que,

FC - fator de concentração para celulose = 0,9.

FP - fator de perda de hidrólise = 1,055.

$$\% \text{hemic} = \frac{(\text{xilose} \times 50 + \text{arabinose} \times 50) \times 100 \times \text{FC} \times \text{FP}}{\text{peso amostra(g)} \times \text{peso seco amostra(g)}}$$

em que,

hemic- hemicelulose

FC - fator de concentração para hemic. = 0,88.

FP - fator de perda de hidrólise = 1,155.

A determinação do teor de cinzas foi realizada de acordo com o método de Silva [10], que consiste em aquecer o material em altas temperaturas (500 à 600 °C), durante 4 horas ou até combustão total da matéria orgânica. O teor de cinzas foi calculado pela fórmula abaixo:

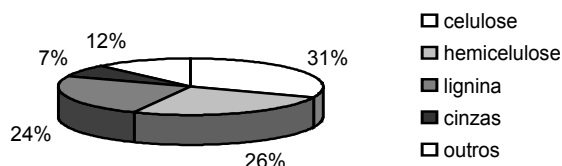
$$\% \text{cinzas} = \frac{\text{peso das cinzas (g)} \times 100}{\text{peso amostra(g)}}$$

Resultados

A Figura 1 mostra os resultados referentes à composição química da palha de trigo obtidos no presente trabalho.

Figura 1: Composição química da palha de trigo

A Tabela 1 mostra a composição original do hidrolisado de palha de trigo, após ser concentrado três vezes e tratado, quanto aos



açúcares e compostos inibitórios ao crescimento microbiano obtidos após a hidrólise ácida.

Tabela 1 - Composição do hidrolisado de palha de trigo original, concentrado e tratado.

Componentes	Concentração (g/L)		
	Original	FC=3	Tratado
Glicose	7,26	22,71	21,20
Xilose	18,11	57,52	49,77
Arabinose	2,23	9,00	8,28
Acético	1,95	3,09	3,04
furfural	0,26	0,04	0,00
HMF	0,18	0,49	0,01

FC= fator de concentração

Discussão

De acordo com os dados apresentados na Figura 1, a palha de trigo apresentou uma composição percentual de celulose, hemicelulose, lignina e cinzas igual a 31, 26, 24 e 7 %, respectivamente. Esta composição se aproximou das encontradas por outros autores, como Kuhad e Singh [3] (30, 24, 18 e 10 %) e Thygesen *et al.* [11] (35-40, 25-30, 10-15, - %).

A fração hemicelulósica encontrada para a palha de trigo (25 %) foi superior àquelas encontradas para outras matérias-primas, como o eucalipto, com 10,6 % [12] e a palha de arroz, com 22 % [13], e semelhante àquela encontrada para o bagaço de cana, com 25 % [14].

Após a hidrólise ácida, foi obtido um hidrolisado hemicelulósico de palha de trigo rico em açúcares fermentescíveis, sobretudo de xilose. Observa-se na Tabela 1 que a xilose (18,11 g/L) foi o açúcar predominante no hidrolisado. A glicose (7,26 g/L) e a arabinose (2,23 g/L) estão presentes em menores concentrações conforme já constatado nos hidrolisados hemicelulósicos de eucalipto [15], de bagaço de cana-de-açúcar [16] e de palha de arroz [17].

A presença de baixas concentrações de glicose é um ponto favorável ao processo fermentativo, o que indica também que as condições de hidrólise estão sendo adequadas para a extração da fração hemicelulósica, o que pode ser confirmado pelas pequenas concentrações de furfural e HMF (Tabela 1). Quando o teor desses inibidores estiver elevado, significa que a condição de hidrólise está sendo drástica, o que implica na decomposição da xilose e de glicose no meio [18].

Comparando-se a composição do hidrolisado de trigo original com demais trabalhos da literatura, observa-se que os resultados referentes a este trabalho foram superiores aos encontrados por Feliu *et al.* [19], também em hidrolisado de palha de trigo, que descreveram um teor de glicose, xilose e arabinose de 1,5-2,4; 6,5-8,3 e 1,5-1,8 g/L, respectivamente. Após este hidrolisado ter sido concentrado dez vezes, os valores encontrados para estes açúcares (9-10, 50-60 e 9-10 g/L, respectivamente) foram similares aos deste trabalho após concentrarmos três vezes apenas.

Em hidrolisado de eucalito, Canettieri *et al.* [15] encontraram valores para xilose, antes e após concentrarem três vezes, de 19,17 e 59,21 g/L, respectivamente, resultados muito semelhantes aos encontrados neste trabalho.

Marton *et al.* [16], caracterizando hidrolisado de bagaço de cana de açúcar, obtiveram 17,85 g/L de xilose, valor também muito próximo ao encontrado neste trabalho para a palha de trigo. Após o hidrolisado de cana ter sido concentrado quatro vezes, foi obtido 69,23 g/L deste açúcar.

Pela Tabela 1 verifica-se que, além dos açúcares, o hidrolisado apresenta um grupo de compostos apontados como inibidores potenciais do metabolismo de leveduras. Tem sido observado que a concentração desses compostos nos hidrolisados varia em função do tipo de material lignocelulósico e das condições hidrolíticas empregadas para a extração da fração hemicelulósica.

O teor de ácido acético encontrado (1,95 g/L) foi inferior aos valores obtidos por Canettieri *et al.* [17] (5,03 g/L), em hidrolisado de cavacos de eucalipto e por Marton *et al.* [18] (3,15 g/L), em hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar. Segundo Felipe *et al.* [20] o teor de ácido acético no hidrolisado foi abaixo do considerado inibitório, ou seja, quando for superior a 3,0 g/L.

Como relatado por Ojamo *et al.* [21], o furfural e o HMF não foram considerados tóxicos para *Candida guilliermondii* quando presente em concentrações de 0,2 a 1,0 g/L e que estas concentrações, inclusive, favorecem a conversão de xilose em xilitol por estas leveduras.

Nota-se na Tabela 1 que o processo de concentração a vácuo causou uma redução da concentração de furfural em 85 % em relação a sua concentração no hidrolisado original. Esse comportamento pode ser atribuído às características físico-químicas deste composto que, em condições de pressão reduzida apresenta ponto de ebulição de 54-55 °C [22] o que possibilita a sua remoção quase total nas condições de temperatura e pressão utilizadas neste trabalho. Uma redução considerável do teor deste composto foi também observada por

Canettieri *et al.* [15] após concentrar o hidrolisado de eucalipto 3 vezes da sua concentração inicial.

Foi possível reduzir as concentrações dos compostos tóxicos presentes (ácido acético, furfural e HMF), quando o hidrolisado de palha de trigo foi tratado conforme metodologia descrita. Após o tratamento, observou-se também um decréscimo na concentração dos açúcares, principalmente da xilose (13,5 %), fato também observado por Canettieri *et al.* [15] (24 %), em hidrolisado de eucalipto e por Rodrigues *et al.* [23], em hidrolisado de bagaço de cana.

Conclusão

Os resultados deste trabalho demonstraram o grande potencial do hidrolisado hemicelulósico de palha de trigo como fonte de carboidratos para processos biotecnológicos, quando concentrado e tratado. Foi possível obter um hidrolisado com alto teor de xilose, substrato primordial à produção de xilitol, e com baixos teores de inibidores do crescimento microbiano. Futuros ensaios serão realizados com o hidrolisado obtido, afim de aumentar o rendimento de bioconversão de xilose à xilitol.

Agradecimentos: Os autores agradecem os apoios financeiros: FAPESP e Cnpq.

Referências

- [1] VITAL, B.R.; DELLA LUCIA, R.M. Propriedades físicas e mecânicas do eucalipto. Reportagem do Informe Agropecuário, v.12, p.71-74, 1986.
- [2] SUN, R.C. Extraction, fraction, isolation and structural characterization of polysaccharides and lignin from wheat straw. 1996. (Ph.D. thesis)–Bangor: University of Wales, 1996.
- [3] KHUAD, R.C.; SINGH, A. Lignocellulosic biotechnology: current and future prospects. **Crit.Rev.Biotechnol.** V.13, p.151-172, 1993.
- [4] CANILHA, L.; ALMEIDA e SILVA, J.B.; FELIPE, M.G.A.; CARVALHO, W. Batch xylitol production from wheat straw hemicellulosic hydrolysate using *Candida guilliermondii* in a stirred tank reactor. **Biotechnol.Lett.** V.25, p.1811-1814, 2003.
- [5] PARAJO, J.C.; DOMINGUEZ, H.; DOMINGUEZ, J.M. Biotechnological production of xylitol. Part 1: Interest of xylitol and fundamentals of its biosynthesis. **BioresourceTechnol.** V.65, p.191-201, 1998.

- [6] GALES, M.A.; NGUYEN, T.M. Sorbitol compared with xylitol in prevention of dental caries. **Ann.Pharmac.** V.34, n.1, p.98-100, 2000.
- [7] BROWNING, B.L. Method of wood chemistry, John Wiley & Sons, New York, 882p., 1967.
- [8] ROCHA, G.J.M. Deslignificação de bagaço decana de açúcar assistida por oxigênio. 2000. Tese (Doutorado) - São Carlos: IQSC/USP, 2000.
- [9] IRICK, T.J.; WEST, K.; BROWNELL, H.H.; SCHWALD, W.; SADDLER, J.N. Comparison of colorimetric and HPLC techniques for quantitating the carbohydrate components of steam-treated wood. Scientific note. **Appl.Biochem.Biotech.** V.17, p.137-149, 1988.
- [10] SILVA, D.J. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, p.165, 1990.
- [11] THYGESEN, A.; THOMSEN, A.B.; SCHMIDT, A.S.; JORGENSEN, H.; AHRING, B.K.; OLSSON, L. Production of cellulose and hemicellulose-degrading enzymes by filamentous fungi cultivated on wet-oxidized wheat straw. **EnzymeMicrob.Tech.** V.6266, p.1-10, 2003.
- [12] ALMEIDA e SILVA, J.B. Aplicação de modelagem matemática na produção de proteína microbiana por *Paecilomyces variotii*, em hidrolisado hemicelulósico de eucalipto. 1996. 160p. Tese (Doutorado)-São Paulo: FCF-USP, 1996.
- [13] MUSSATO, S.I.; ROBERTO, I.C. Hydrolysate detoxification with activated charcoal for xylitol production by *Candida guilliermondii*. **Biotechnol.Lett.** V.23, p.1681-1684, 2001.
- [14] PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V.T. Biotechnological potential of agro-industrial residues: Sugarcane bagasse. **BioresourceTechnol.** V.74, p.69-80, 2000.
- [15] CANETTIERI, E.V.; ALMEIDA e SILVA, J.B.; FELIPE, M.G.A. Application of factorial design to the study of xylitol production from eucalyptus hemicellulosic hydrolysate. **Appl.Biochem.Biotech.** V.24, p.159-168, 2001.
- [16] MARTON, J.M.; FELIPE, M.G.A.; ALMEIDA e SILVA, J.B. Avaliação de carvões ativos e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana empregando planejamento de experimentos. **Rev. Analítica.** n.3, p.45-53, 2003.
- [17] ROBERTO, I.C.; MANCILHA, I.M.; SOUZA, C.M.A.; FELIPE, M.G.A.; SATO, S.; CASTRO, H.F. Evaluation of rice straw hemicellulose hydrolysate in the production of xylitol by *Candida guilliermondii*. **Biotechnol.Lett.** V.16, p.1211-1216, 1994.
- [18] CANILHA, L. Aproveitamento do hidrolisado de palha de trigo para obtenção de xilitol por via microbiana. 2002. 79p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) - Lorena, São Paulo: DEBIQ/FAENQUIL, 2002
- [19] FELIU, J.A.; GONZALEZ, G.; MAS, C. SCP production by *Hansenula polymorpha* from xylose. **ProcessBiochem.** p.136-140, 1990.
- [20] FELIPE, M.G.A.; VIEIRA, D.C.; VITOLO, M.; SILVA, S.S.; ROBERTO, I.C.; MANCILHA, I.M. Effect of acetic acid on xylose fermentation to xilitol by *Candida guilliermondii*. **J.BasicMicrob.** V.35, n.3, p.171-177, 1995.
- [21] OJAMO, H.; YLINEN, L.; LINKO, M. Process for the preparation of xylitol from xylose by cultivation *Candida guilliermondii*. WO 88/ 05467. Dep. 08.12.87. Publ. 28.07.88.
- [22] PERRY, R.H. e GREEN, D.W. Perry's Chemical Engineering Handbook. Seven edition, Mcgraw-Hill, New York, USA, 1997.
- [23] RODRIGUES, R.C.L.B.; FELIPE, M.G.A.; ALMEIDA e SILVA, J.B.; VITOLO, M.; GÓMEZ, P.V. The influence of pH, temperature and hydrolysate concentration on the removal of volatile and compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate treated with activated charcoal before or after vacuum evaporation. **Braz.J.Chem.Eng.** V.18, p.299-311, 2001.