

## COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS DE DESTOXIFICAÇÃO DO HIDROLISADO DE BAGAÇO DE CANA PARA A PRODUÇÃO DE XILITOL POR VIA FERMENTATIVA

**Lilian Ramos Pivetta<sup>1</sup>, Priscila Vaz de Arruda<sup>2</sup> e Maria das Graças de Almeida Felipe<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Iniciação Científica, DEBIQ, EEL/USP. Estrada Municipal do Campinho s/n, CEP 12602-810, Lorena-SP. e-mail: [licapivetta@gmail.com](mailto:licapivetta@gmail.com)

<sup>2</sup> Doutoranda/CAPES, DEBIQ, EEL/USP. Estrada Municipal do Campinho s/n, CEP 12602-810, Lorena-SP. e-mail: [priscilavaz\\_eb@yahoo.com.br](mailto:priscilavaz_eb@yahoo.com.br)

<sup>3</sup> Professora orientadora, DEBIQ, EEL/USP. Estrada Municipal do Campinho s/n, CEP 12602-810, Lorena-SP. e-mail: [mgafelipe@debiq.faequil.br](mailto:mgafelipe@debiq.faequil.br)

**Resumo** – Atualmente grande parte do bagaço de cana-de-açúcar gerado no setor sucro-alcooleiro é aproveitado nas próprias usinas para a geração de energia, mas existe ainda um excedente considerável deste material, o qual pode ser empregado como matéria-prima para a produção de insumos diversos. Tal aproveitamento permitirá às usinas diversificar seus produtos contribuindo para o aproveitamento integrado desta biomassa vegetal. Dentre os diferentes insumos que podem ser obtidos a partir desta biomassa destaca-se o xilitol, um açúcar álcool de propriedades peculiares como metabolismo independente da insulina e de grande importância nos segmentos alimentício, farmacêutico e odontológico. O uso da biotecnologia para a obtenção de xilitol a partir de hidrolisados hemicelulósicos se apresenta como uma alternativa ao processo químico de sua obtenção, o qual é de custo elevado. Porém, estes hidrolisados contêm além dos açúcares, compostos tóxicos aos microrganismos, destacando-se o ácido acético e compostos fenólicos, pelas suas elevadas concentrações no meio. Desta forma o presente trabalho visa avaliar a bioconversão de xilose em xilitol em meios formulados à base de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado por diferentes procedimentos.

**Palavras-chave:** Hidrolisado hemicelulósico, bagaço de cana-de-açúcar, destoxificação, fermentação, xilitol.

**Área do Conhecimento:** Ciências Biológicas

### Introdução

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, tendo sido estimada uma produção entre 558,1 e 579,8 milhões de toneladas para a safra 2008/2009, superior em aproximadamente 11% à safra de 2007/2008 (CONAB, 2008). O bagaço, subproduto da indústria sucro-alcooleira, é aproveitado para diferentes finalidades como cogeração de energia mas ainda há um excedente considerável. Em termos de composição, o bagaço de cana é constituído por três frações principais (celulose, hemicelulose e lignina) que, juntas, perfazem mais de 90% da massa total. A xilose é o principal carboidrato encontrado na fração hemicelulósica do bagaço, representando cerca de 80% dos açúcares totais (RODRIGUES, et al 2001).

Há de se destacar que, para a liberação dos açúcares presentes na fração hemicelulósica de materiais lignocelulósicos é necessária a hidrólise desta biomassa. Além dos açúcares de interesse, durante a hidrólise, são gerados vários subprodutos como os compostos fenólicos e ácido acético, os quais afetam negativamente o metabolismo microbiano, prejudicando a

conversão dos açúcares presentes nos produtos de interesse (PALMQVIST; HAHN-HÄGERDAL, 2000).

Diversos métodos químicos e físicos têm sido empregados para a remoção de subprodutos presentes em hidrolisados hemicelulósicos, destacando-se a combinação de alteração de pH com adsorção em carvão vegetal ativado, adsorção em resinas de troca iônica e a utilização de polímeros vegetais. Segundo Marton, 2002, a adsorção em carvão vegetal ativado é um dos métodos mais econômicos e eficientes permitindo uma boa remoção de ácido acético e compostos fenólicos, enquanto as resinas de troca iônica também propiciam boa eficiência de remoção destes compostos, mas, são mais caras que o carvão (MARTON, 2005). Outra metodologia mais recentemente proposta para a destoxificação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar é a utilização de polímeros vegetais considerado, também, eficaz na remoção de compostos tóxicos, porém, menos eficiente em relação aos tratamentos com carvão e resina (SILVA, 2006). Resultados destas pesquisas revelaram que estes três métodos de destoxificação avaliados proporcionaram também

a perda de açúcares no hidrolisado de bagaço de cana, o que é indesejável, sendo a utilização do polímero o que resultou em menor perda, ao mesmo tempo em que todos estes métodos também propiciaram a clarificação do hidrolisado o que é desejável para a etapa de separação final do produto do meio fermentado.

A definição de um tratamento adequado para a remoção ou redução da concentração de compostos tóxicos aos microrganismos contribuirá para favorecer a fermentação do hidrolisado durante o processo de obtenção de xilitol por via biotecnológica, o qual é alvo de inúmeras pesquisas (FELIPE, 2004).

O xilitol é um açúcar-álcool e tem poder adoçante semelhante ao da sacarose e superior ao de polióis comuns, além de valor calórico reduzido. O xilitol também não participa de reações do tipo Maillard possibilitando o seu uso na indústria alimentícia no processamento de produtos em que estas reações não são desejáveis. Uma outra característica importante do xilitol é o seu metabolismo independente de insulina, tornando-o um substituto de outros açúcares na dieta de diabéticos. Este adoçante também pode ser empregado na dieta de obesos, devido ao seu baixo valor calórico. Outras aplicações clínicas do xilitol têm sido descritas como, por exemplo, sua utilização na prevenção de osteoporose, bem como no tratamento de doenças respiratórias (FELIPE, 2004).

O objetivo deste trabalho é avaliar comparativamente o efeito de diferentes metodologias de destoxificação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, para seu aproveitamento na formulação de meio para a produção biotecnológica de xilitol, tendo em vista que estes procedimentos quando avaliados foram realizados em separado, o que levou a utilização de hidrolisados de diferentes composições.

## Material e Métodos

### **Destoxificação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar**

O hidrolisado, obtido por hidrólise ácida, (RODRIGUES et al., 2001) foi tratado conforme metodologias descritas:

#### *Alteração de pH e adsorção em carvão vegetal ativado*

O pH inicial (0,70) do hidrolisado foi elevado para 7,0 com adição de CaO e reduzido para 5,5 com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. O hidrolisado foi então submetido à adsorção em carvão vegetal ativado (1,0%), mantendo-se a mistura sob agitação de 200rpm a 60°C por 30 min. A cada alteração de pH e

adição de carvão o precipitado formado foi removido por centrifugação (MARTON, 2002).

#### *Sistema de resinas de troca iônica*

Foi realizado em frascos Erlenmeyer mantendo-se o hidrolisado, de pH inicial (0,70), em contato com as resinas a 30°C e 200 rpm por 60 min. Foram utilizadas as seguintes resinas em série: 1) resina acrílica de troca aniônica A-860S, 2) resina macroporosa de troca aniônica A-500PS, e 3) resina macroporosa de troca catiônica C-150, respectivamente. Utilizou-se uma proporção de 1:2 entre volumes de resina e volume de hidrolisado. As resinas foram separadas do hidrolisado por.... As resinas foram regeneradas, utilizando-se solução de NaOH 10% para as aniônicas enquanto, para a catiônica foi solução de HCl 5%.

#### *Floculação por polímero de origem vegetal*

Primeiramente o hidrolisado teve seu pH inicial (0,70), ajustado para 8,0 com CaO. Em seguida foi deixado em contato com o polímero (15% v/v) a 25°C por 25 min, empregando-se frascos Erlenmeyer de 125mL agitados a 200 rpm. Para a remoção do precipitado formado o hidrolisado foi centrifugado a 4000 rpm por 10 min.

Foi estabelecido um controle, no qual o hidrolisado hemicelulósico de bagaço foi submetido apenas ao ajuste de pH para 5,5 com CaO, e posterior remoção do precipitado.

## **Fermentação**

### *Microorganismo e preparo do inóculo*

Os experimentos foram realizados com a levedura *Candida guilliermondii* FTI 20037 previamente selecionada, sendo o inóculo obtido a partir do cultivo da levedura em frascos Erlenmeyer 125mL contendo xilose (30g/L), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2g/L), CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (0,1g/L) e extrato de farelo de arroz (20g/L), incubados a 200rpm, 30°C por 24h. A concentração inicial de inóculo nas fermentações foi de 1,0g/L de células (RODRIGUES et al, 2006).

### *Condições de fermentação*

As fermentações foram realizadas em frascos Erlenmeyer com 50mL de meio contendo os hidrolisados tratados sob as condições estabelecidas, suplementados com os mesmos nutrientes empregados durante o preparo do inóculo, exceto a xilose. O pH inicial foi 5,5 e os frascos foram incubados a 200rpm, 30°C por 72 horas.

## **Métodos Analíticos**

### Determinação da concentração de xilose, xilitol e ácido acético

Foram determinadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), em condições previamente estabelecidas (RODRIGUES et al, 2006).

### Determinação da concentração de compostos fenólicos

Utilizou-se o método colorimétrico de Folin Ciocalteu, descrito por Singleton et al. (1999).

### Resultados

A tabela 1 apresenta os resultados obtidos a partir dos diferentes tratamentos do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar quanto aos teores de xilose e compostos tóxicos.

Tabela 1 – Concentração (g/L) de xilose e compostos tóxicos no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana em função dos procedimentos de destoxificação.

Tratamento	Xilose	Ac. Acético	Compostos Fenólicos
Ajuste de pH	56,97	3,26	9,60
Carvão	43,35	3,06	1,81
Resina	39,24	0,00	0,56
Polímero	51,45	2,09	3,36

O desempenho fermentativo durante o cultivo da levedura nos hidrolisados tratados pode ser verificado pelo o consumo de xilose (Figura 1).

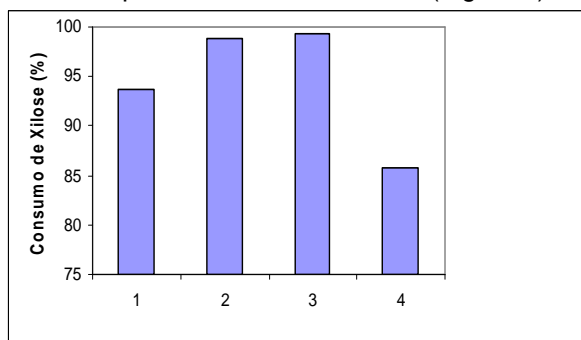


Figura 1: Efeito dos diferentes procedimentos de destoxificação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana sobre o consumo de xilose por *C. guilliermondii*: (1) Ajuste de pH para 5,5; (2) carvão vegetal ativado; (3) resinas de troca iônica; (4) polímero vegetal.

Verifica-se nesta figura que ambos os tratamentos, resinas de troca iônica e carvão ativado resultaram em elevados valores de consumo de xilose (98,9% e 93,65%, respectivamente) correspondendo a um aumento de 20% em relação à condição utilizando-se hidrolisado tratado com polímero vegetal.

Já com relação à produção de xilitol (Figura 2), percebe-se que o tratamento com carvão foi o mais eficiente, seguido do polímero, ajuste de pH e resinas de troca iônica.

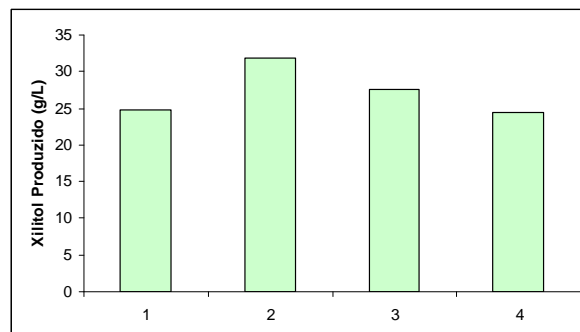


Figura 2: Produção de Xilitol por *C. guilliermondii* cultivada em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana submetido aos diferentes tratamentos: (1) Ajuste de pH para 5,5; (2) carvão vegetal ativado; (3) resinas de troca iônica; (4) polímero vegetal.

A análise dos parâmetros fermentativos rendimento ( $Y_{p/s}$ ) e produtividade volumétrica de xilitol ( $Q_p$ ) permite melhor avaliação da influência destas metodologias sobre esta bioconversão verificando pouca diferença entre os tratamentos com carvão e polímero (Figura 3).

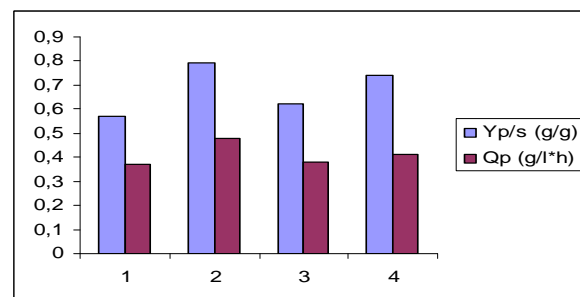


Figura 3: Rendimento ( $Y_{p/s}$ ) e Produtividade volumétrica ( $Q_p$ ) de xilitol após cultivo de *C. guilliermondii* em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana submetido aos diferentes tratamentos: (1) Ajuste de pH para 5,5; (2) carvão vegetal ativado; (3) resinas de troca iônica; (4) polímero vegetal.

### Discussão

De acordo com os resultados do presente trabalho os diferentes procedimentos de destoxificação resultaram na emoção de compostos tóxicos sendo que para os fenólicos o tratamento com resinas de troca iônica foi o mais eficiente (94,2%), seguido da adsorção em carvão vegetal (81,1%) e floculação por polímeros de

origem vegetal (65%). Quanto ao ácido acético, este foi 100% removido com a utilização de resinas enquanto 36% foi encontrado para a utilização de polímero e no caso do carvão, somente 6% deste ácido foi reduzido. Também foi constatada a perda de xilose para os três métodos empregados sendo a menor (9,67%) ocorrida quando se utilizou o polímero vegetal, seguido da adsorção em carvão vegetal (23,9%) e resinas de troca iônica (31,1%). Com relação às fermentações, o ajuste de pH combinado à adsorção em carvão vegetal resultou em maiores valores de produtividade (0,48g/l.h) e rendimento (0,79g/g) de xilitol em relação aos demais tratamentos o que indica que nas condições empregadas a condição de maior fermentabilidade do hidrolisado não coincidiu com a condição de maior remoção de ácido e compostos fenólicos. É importante considerar que além do favorecimento da fermentabilidade do hidrolisado pelo procedimento de destoxificação utilizado este não deve propiciar a perda de xilose já que esta é substrato para a produção de xilitol. Além disto, a metodologia empregada deve ser de baixo custo e não causar impacto negativo ao ambiente.

### Conclusão

De acordo com os resultados tanto a utilização de carvão, quanto resinas de troca iônica e polímero vegetal propiciaram a remoção de ácido acético e fenólicos do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, contudo, verificou-se perda de xilose. Embora, a maior eficiência de remoção tanto para o ácido acético quanto fenólicos ter ocorrido com o uso de resinas, coincidente com o maior consumo de xilose, o máximo rendimento e produtividade de xilitol ocorreu com a utilização de carvão ativo. Por outro lado, a utilização de polímero é promissora uma vez que, embora não tenha propiciado eficiência de destoxificação os parâmetros fermentativos foram próximos ao encontrado com a utilização de resinas, o que direciona as pesquisas para a utilização deste agente destoxicante em função de seu baixo custo e biodegradabilidade.

**Agradecimentos:** FAPESP, CNPq e bolsa IC CNPq-PIBIC.

### Referências

- CONAB. **Companhia nacional de abastecimento.** Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safr/a/cana.pdf> Acesso em: 11 de junho de 2008.

- FELIPE, M.G.A. Biotechnological Production of Xylitol from Lignocellulosic Materials. **Lignocellulose Biodegradation**, American Chemical Society, p.300-315, 2004.

- MARTON, J.M. Avaliação de diferentes carvões ativados e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana de açúcar para a obtenção biotecnológica de xilitol. Lorena: FAENQUIL/DEBIQ, 2002. 105p. (Dissertação de Mestrado).

- MARTON, J.M. **Avaliação da performance de carvão ativo e resinas de troca iônica no desenvolvimento de um sistema de tratamento que minimize a toxicidade do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana à obtenção de xilitol.** 2005. 131p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2005.

- PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource Technology**, v.74, p.25-33, 2000.

- RODRIGUES, R.C.L.B.; SENE, L.; MATOS, G.S; ROBERTO, I.C.; PESSOA JÚNIOR, A.; FELIPE, M.G.A. Enhanced xykitol production by precultivation of *Candida guilliermondii* cells in sugarcane bagasse hemicellulosic. **Current Microbiology**, v.53, p.53-59, 2006.

- 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 nonvolatile compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate treated with activated charcoal before or after vacuum evaporation. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.18, p.299-311, 2001.

- SILVA, T.F.M.; NAZIMA, K.S.; ARRUDA, P.V.; FELIPE, M.G.A. Xylitol production by *Candida guilliermondii* from sugarcane bagasse hydrolysate treated with polymer of vegetable origin. In: VI Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages. **Book of Abstracts**, p.153, 2006.

- SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p.152-179, 1999.