

UTILIZAÇÃO DE POLÍMERO DE ORIGEM VEGETAL NA DESTOXIFICAÇÃO DO HIDROLISADO DE BAGAÇO DE CANA PARA A OBTENÇÃO DE XILITOL

Kátia Sayuri Nazima¹, Talita Ferreira Marques da Silva², Maria das Graças de Almeida Felipe³

^{1, 2, 3}Faculdade de Engenharia Química de Lorena/Departamento de Biotecnologia, Rod. Itajubá-Lorena Km 74,5 Campinho 12600-970 Cx. Postal 116

¹ebioquimica@yahoo.com.br, ²talitamarquess@hotmail.com, ³mgafelipe@debiq.faenquil.br

¹Aluna de Iniciação Científica, ²Aluna de Mestrado, ³Orientadora

Resumo - Pesquisas sobre a produção de xilitol, adoçante anticariogênico e de baixa caloria, tem demonstrado que sua obtenção a partir da bioconversão de D-xilose presente no hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar pela ação da levedura *Candida guilliermondii* é prejudicada pela presença de compostos tóxicos, como fenólicos, ácido acético, furfural, 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) e metais pesados originados do processo de hidrólise ácida do bagaço. Para contornar esse problema, várias técnicas de tratamento do hidrolisado estão sendo estudadas. Neste trabalho é proposto a utilização de um polímero à base de tanino vegetal, vendido comercialmente como Bioclin, com vistas a se obter maior rendimento e produtividade do xilitol. A eficiência deste polímero será avaliada pelo tratamento do hidrolisado de bagaço em função de sua concentração no meio (0,5 e 5,0 g/L) e comparado ao tratamento convencional (alteração de pH + carvão vegetal ativado). Os hidrolisados serão caracterizados quanto à clarificação, às concentrações dos compostos tóxicos e açúcares, principalmente D-xilose, uma vez que a perda desta pentose vem sendo constatada em diferentes tratamentos. A melhor condição de tratamento em que se obtiver melhor remoção de compostos tóxicos e menor perda de D-xilose, será utilizada no tratamento para obtenção de xilitol.

Palavras-chave: Polímero Vegetal, Destoxificação, Hidrolisado de bagaço de Cana-de-Açúcar, Xilitol

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Introdução

Os problemas de saúde associados ao açúcar comum vem provocando, há décadas, a busca por adoçantes substitutos. Um dos mais pesquisados atualmente é o xilitol, um adoçante anticariogênico, recomendado para diabéticos [1] e para obesos [2], pode ser utilizado na prevenção da osteoporose [3] e indicado no tratamento de fibrose cística [4]. A sua produção comercial ocorre a partir da catálise química de D-xilose presente em materiais lignocelulósicos [5]. Devido ao alto custo desse processo estão sendo conduzidas pesquisas alternativas para obtenção biotecnológica deste poliol. A utilização do bagaço de cana-de-açúcar, subproduto do setor sucroalcooleiro, se deve principalmente ao elevado teor D-xilose presente na sua fração hemicelulósica. Esta pentose é assimilada por microrganismos em particular pela levedura *Candida guilliermondii* FTI 20037.

Estudos quanto às condições de hidrólise ácida do bagaço [6] bem como a avaliação de parâmetros fermentativos e enzimáticos [7] [8] [9] [10] têm sido continuamente avaliados, o que resultou no estabelecimento de condições de fermentação deste hidrolisado a partir de seu tratamento e suplementação com nutrientes de baixo custo. No entanto, a produtividade do xilitol é ainda relativamente baixa ao se comparar com

outros processos biotecnológicos, o que poderá comprometer o oferecimento desta tecnologia ao setor sucroalcooleiro. Este fato deve-se a presença no hidrolisado, de compostos tóxicos aos microrganismos, como fenóis, ácido acético, furfural, 5-HMF e metais pesados oriundos da corrosão dos equipamentos [11], os quais se encontram presentes no meio mesmo após diferentes tratamentos como alteração de pH [12], adsorção em carvão ativo [13] e utilização de resinas de troca iônica [14].

Assim, o estudo de metodologias alternativas de tratamento do hidrolisado poderá permitir condições adequadas para maior eficiência de remoção de compostos tóxicos e conseqüentemente melhora deste bioprocessamento de forma a que este possa vir a ser competitivo ao processo químico.

No presente trabalho será avaliada como alternativa a utilização do Bioclin, polímero natural, a base de tanino vegetal, de caráter catiônico e completamente seguro sob o ponto de vista ecológico, não deixando nenhum resíduo químico indesejável após sua ação floculante.

Materiais e Métodos

- Hidrólise Ácida do Bagaço de Cana-de-Açúcar

O bagaço de cana, após determinado seu teor de umidade será hidrolisado em reator de aço inox

equipado com camisa de óleo térmico para aquecimento indireto por resistência elétrica.

O hidrolisado obtido será filtrado, para remoção de massa residual de sólidos (celulose, lignina e cinzas), e armazenado em câmara fria a 5°C para posterior caracterização, concentração, tratamento e fermentação.

- Caracterização do Hidrolisado

O hidrolisado será caracterizado quanto ao pH, °Brix, concentração de açúcares como D-xilose, D-glicose, L-Arabinose e tóxicos como ácido acético, furfural, 5-HMF, fenóis totais e elementos metálicos.

- Concentração do Hidrolisado

A concentração do hidrolisado será efetuada em concentrador a vácuo a 70°C, com a finalidade de aumentar 3 vezes o teor de D-xilose e diminuir a concentração dos compostos tóxicos voláteis. O hidrolisado concentrado será caracterizado quanto ao pH, °Brix, concentração de açúcares e compostos tóxicos.

- Tratamento do Hidrolisado com Bioclin

O hidrolisado concentrado terá seu pH inicial elevado até 8,0 com CaO e será filtrado à vácuo para posterior tratamento com Bioclin, nas concentrações de 0,5 e 5,0 (%v/v) utilizando frascos agitados a 200 rpm por 45 minutos a uma temperatura de 45°C. Os hidrolisados serão centrifugados a 4000 rpm por 10 minutos para remoção do precipitado. Em seguida o pH será ajustado para 5,5 com NaOH (micropérolas) e o hidrolisado filtrado novamente. Os hidrolisados tratados serão caracterizados quanto ao pH, °Brix, concentração de açúcares e compostos tóxicos.

- Tratamento Convencional do Hidrolisado

O tratamento será feito a partir do ajuste de pH do hidrolisado concentrado até 7,0 com CaO, seguido da redução de pH até 5,5 com H₃PO₄. Depois, será adicionado carvão vegetal ativado até 2,4% (p/v), sob agitação de 200 rpm por 1 hora a 30°C [12]. A cada alteração de pH e após o tratamento com carvão, o hidrolisado será centrifugado e filtrado a vácuo em filtro de porcelana, descartando o precipitado. O hidrolisado tratado também será caracterizado quanto ao pH, °Brix, concentração de açúcares e compostos tóxicos.

- Microrganismo e manutenção da cultura

Será utilizada a levedura selecionada *Candida guilliermondii* FTI 20037 mantida a 4°C em tubos inclinados com ágar extrato de malte.

- Preparo do Inóculo

O inóculo será obtido a partir do cultivo da levedura em frascos Erlenmeyer de 125 mL

contendo 50 mL de meio semi definido composto por D-xilose (30g/L) como fonte de carbono, suplementado com (NH₄)₂SO₄ (2,0 g/L), CaCl₂·2H₂O (0,1 g/L) e extrato de farelo de arroz *in natura* (20,0 g/L) em incubadora de movimento rotatório a 200 rpm por 24 horas a 30°C. Após este período a suspensão contendo células será centrifugada a 2000 rpm por 15 minutos. As células serão resuspensas em água estéril e centrifugadas novamente para então serem utilizadas como inóculo inicial na concentração de 1g/L.

- Preparo do Hidrolisado e Condições de Fermentação

O hidrolisado tratado será primeiramente autoclavado a 111°C por 15 minutos e em seguida será suplementado com as mesmas soluções utilizadas no preparo do inóculo, exceto a D-xilose. As fermentações serão conduzidas em frascos Erlenmeyer de 125 mL contendo 50 mL do meio de fermentação (hidrolisado suplementado) em incubadora de movimento rotatório a 200 rpm e 30°C até o consumo de mais de 80% da D-xilose.

- Métodos Analíticos

As concentrações de D-xilose, D-glicose, L-arabinose, xilitol, ácido acético, furfural e 5-HMF serão determinadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência [11].

Os compostos fenólicos serão determinados utilizando o método colorimétrico de Folin Ciocalteu, [15].

A determinação da concentração celular para o preparo do inóculo e avaliação do crescimento celular será feita por microscopia a partir da contagem direta de células em Câmara de Neubauer.

Perspectivas

A realização deste trabalho visa aumentar a remoção de compostos considerados tóxicos (fenóis, ácido acético, furfural, 5-HMF e metais pesados) à levedura *Candida guilliermondii*, diminuir o custo da etapa de tratamento do hidrolisado e a poluição ambiental causada pelo descarte do carvão ativo utilizado no tratamento convencional. Espera-se, portanto, o aumento do rendimento e da produtividade de xilitol obtido a partir do bagaço de cana-de-açúcar.

Agradecimentos

À Capes e ao CNPq pelo apoio financeiro e à Aquaquímica por fornecer o polímero para o estudo.

Referências

- [1] MAKINEN, K. K. Xylitol: The sugar that prevents tooth decay. **The Futurist**, Washington, June, p. 135-139, 1976.
- [2] YLIKAHRI, R. Metabolic and nutritional aspects of xylitol. **Advances in Food Research**, New York, V. 25, p. 159-180, 1979.
- [3] MATILLA, P. T., SVANBERG, M. J., PÖKKÄ P., KNUUTTILA, M. L. E. Dietary xylitol protects against weakening of bone biomechanical properties in ovariectomized rats. **The Journal of Nutrition**, v. 128, n. 10, p. 1811-1814, 1998.
- [4] ZABNER, J. et al. The Osmolyte Xylitol Reduces the Salt Concentration of Airway Surface Liquid and May Enhance Bacterial Killing. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 97, n. 21, p. 11614-11619, 2000.
- [5] MELAJA, A. J. HÄMÄLÄINEN, L.. **Process for Making Xylitol**. US Patent 4.008.285. Dep 18 jun., 1975. Publ. 15 fev., 1977.
- [6] PESSOA JÚNIOR, A., MANCILHA, I. M., SATO, S. Acid hydrolysis of hemicellulose from sugarcane bagasse. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 14, n. 3, p. 291-297, 1997.
- [7] FELIPE, M. G. A., VITOLO, M., MANCILHA, I.M., SILVA, S. S. Fermentation of Sugar Cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate for Xylitol Production: Effect of pH. **Biomass and Bioenergy**, v. 13, p. 11-14, 1997.
- [8] FELIPE, M. G. A., VITOLO, M., MANCILHA, I.M., SILVA, S. S. Environmental Parameters Affecting Xylitol Production from Sugar Cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate by *Candida guilliermondii*. **Journal of Industrial Microbiology**, v.18, p.251-254, 1997.
- [9] ROSA, S. M. A., FELIPE, M. G. A., SILVA, S. S., VITOLO, M. Xylose Reductase Production by *Candida guilliermondii*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 70-72, p. 127-135, 1998.
- [10] SENE, L., FELIPE, M. G. A., SILVA, S. S. Effects of enviromental conditions on xylose reductase and xylitol dehydrogenase production by *Candida guilliermondii*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. v. 84-86, p. 371-379, 2000.
- [11] 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 Non-Volatile Compounds from Sugarcane Bagasse Hemicellulosic Hydrolyzate Treated With Activated Charcoal Before or After Vacuum Evaporation. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 18, n. 03, p. 299-311, 2001.
- [12] ALVES, L. A., FELIPE, M. G. A., ALMEIDA e SILVA, J. B., SILVA, S. S., PRATA, A. M. R. Pretreatment of sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 70-72, p. 89-98, 1998.
- [13] MARTON, J. M., FELIPE, M. G. A., SILVA, J. B. A., PESSOA JUNIOR, A. Avaliação de carvões ativos e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana empregando planejamento de experimentos. **Revista Analytica**, ano 2, n.3, p.45-53, fevereiro/março. 2003.
- [14] CARVALHO R. J., MARTON, J. M., SILVA, D. D. V., FELIPE, M. G. A. Evaluation of the *Candida guilliermondii* cell growth in cane bagasse hemicellulosic hydrolysate treated with active charcoal and this combination with ion exchange resins, **5º Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y Levaduras**, Campos do Jordão, março, Libro de Resúmenes, p. 77, 2005.
- [15] 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.