

MARIA XIMENA VÁZQUEZ FERNÁNDEZ LIMA

**AVALIAÇÃO DE RESINAS DE TROCA IÔNICA PARA O TRATAMENTO DE
HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2001

MARIA XIMENA VÁZQUEZ FERNÁNDEZ LIMA

**AVALIAÇÃO DE RESINAS DE TROCA IÔNICA PARA O TRATAMENTO DE
HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de “*Magister Scientie*”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2001

MARIA XIMENA VÁZQUEZ FERNÁNDEZ LIMA

**AVALIAÇÃO DE RESINAS DE TROCA IÔNICA PARA O TRATAMENTO DE
HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de “*Magister Scientie*”.

APROVADA: 8 de junho de 2001.

Prof. José Antonio Marques Pereira
(Conselheiro)

Prof. Luis Antônio Minim
(Conselheiro)

Prof. Jane Sélia dos Reis Coimbra

Prof. Flávia Maria Lopes Passos

Prof. Ismael Maciel de Mancilha
(Orientador)

“Dedico este trabalho aos meus pais que, com Amor, esforço e coragem, sempre se mostraram guerreiros, e hoje são vitoriosos por garantir, através de seu incentivo, apoio e dedicação, que mais um de seus filhos chegue ao final de mais uma etapa de sua vida”.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida!

Ao M. Gabriel, pela Luz, Paz e Amor.

Ao Rafael, pelo amor, paciência, bom humor e companheirismo.

Aos meus irmãos e cunhados, pelo amor, incentivo, apoio e encorajamento, e aos meus sobrinhos, pela esperança de que “Renovar é florescer”.

À minha avó, pelos noventa anos de exemplo e disposição.

Aos meus amigos Hiran, Ivo e Madu, Cézane, Jhones, Raquel Borges, Cristiane, Raquel Ayres e Jaqueline, por que “sabem entender o silêncio e manter a presença mesmo quando ausentes!” E aos amigos do Recanto das Flores, que com sua presença e alegria sempre constantes, constroem o “abrigo seguro”.

À D. Divina, Fernanda, Renata, Carol e Marcelo, pela acolhida.

Ao Prof. Ismael Maciel de Mancilha, pela orientação.

Ao Prof. Luis Antônio Minim, pela colaboração para execução deste trabalho.

Ao Prof. José Antonio Marques Pereira, pelo importante apoio para conclusão deste trabalho.

Aos professores Jane Sélia dos Reis Coimbra e Flávia Maria Lopes Passos, pela participação na banca de defesa de tese.

Novamente, à Prof^a Flávia Maria Lopes Passos, e Edimar, pelos ensinamentos, sugestões e apoio nas análises, e ao Prof. Emílio Gomide, pelas boas risadas e oportunidade.

À Universidade Federal de Viçosa e CNPq, por viabilizarem a execução deste curso.

À Renata e Abraham, por me tirar do sufoco nas horas inesperadas. Ao Pedro, pelo desempenho em me auxiliar na conclusão dos experimentos e aos colegas do LPS, pela convivência.

A todos os funcionários do DTA que, quando precisei, foram atenciosos.

A todos que não citei, mas que em algum momento, foram importantes e especiais.

ÍNDICE

RESUMO	VIII
ABSTRACT	IX
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. RESÍDUOS AGRO-INDUSTRIAIS – CARACTERÍSTICAS E APROVEITAMENTO	3
2.2. XILITOL – O NOVO ADOÇANTE	7
2.3. PROCESSOS DE PRODUÇÃO DE XILITOL	11
2.3.1. Obtenção de xilitol por via química	12
2.3.2. Obtenção de xilitol por via fermentativa	13
2.4. INIBIDORES DA FERMENTAÇÃO E TRATAMENTO DO HIDROLISADO	17
2.5. A CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. HIDROLISADO HEMICELULÓSICO	25
3.2. ADSORVENTES	26
3.3. ADSORVATO	27
3.4. PREPARO DO HIDROLISADO	27
3.5. ENSAIOS DE ADSORÇÃO	28
3.5.1. Cinética de adsorção	29
3.5.2. Isotermas de adsorção	29
3.6. MÉTODOS ANALÍTICOS	30

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1. CINÉTICA DE ADSORÇÃO	32
4.1.1. Cinética de adsorção de ácido acético	32
4.1.2. Cinética de adsorção de furfural e hidróximetil furfural.....	34
4.2. ISOTERMAS DE ADSORÇÃO	39
4.2.1. Isotermas de adsorção de ácido acético	39
4.2.2. Isotermas de adsorção de furfural e hidróximetil furfural	41
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES	45
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

RESUMO

VÁZQUEZ LIMA, M^a Ximena, M. S., Universidade Federal de Viçosa, Junho, 2001.

Avaliação de resinas de troca iônica para o tratamento de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. Orientador: Ismael Maciel de Mancilha. Conselheiros: Luis Antônio Minim e José Antonio Marques Pereira.

No presente trabalho avaliou-se o emprego de resinas de troca iônica quanto a sua capacidade em adsorver ácido acético, furfural e hidróximetil furfural presentes no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar obtido por hidrólise ácida.

A metodologia empregada consistiu em determinar, inicialmente, as curvas cinéticas de adsorção para cada um destes compostos. Em seguida foram construídas as isotermas de adsorção, também para estes compostos. O mesmo procedimento foi utilizado para três diferentes tipos de resinas (A-500, A-103S e C-155S – PUROLITE[®]).

Nos experimentos de cinética de adsorção encontrou-se que dez minutos de contato, entre a resina e o hidrolisado hemicelulósico, foram suficientes para que o equilíbrio do processo de sorção fosse atingido. Observou-se também, nos testes referentes à determinação das isotermas, que a resina que apresentou uma melhor capacidade em adsorver os compostos foi a resina aniônica A-500, visto que esta apresentou um maior valor de q - quantidade de composto adsorvido (mg) por quantidade de resina (g), para ácido acético e para hidróximetil furfural. Estes valores foram, aproximadamente: $5,7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ para o ácido acético, $0,2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ para o furfural e $0,57 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ para o hidróximetil furfural.

Foi possível observar, nas condições estudadas, que a resina aniônica A-103S também adsorve ácido acético $3,9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, furfural $0,31 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ e hidróximetil furfural $0,3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, porém em menor quantidade que a resina A-500. No entanto, a resina catiônica C-155S, não apresentou bom desempenho para adsorver esses compostos. Os valores de q para esta resina foram, aproximadamente, $2,5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ para o ácido acético, $0,11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ para o furfural e $0,05 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ para o hidróximetil furfural.

ABSTRACT

VÁZQUEZ LIMA, M^a Ximena, M. S., Universidade Federal de Viçosa, June, 2001.

Evaluation of ionic exchange resins for the treatment of sugar cane bagasse hemicellulose hydrolysate. Advisor: Ismael Maciel de Mancilha. Committee members: Luis Antonio Minim and José Antonio Marques Pereira.

In this work, it was evaluated the use of ionic exchange resins in relation to its capacity to adsorb acetic acid, furfural and hydroxymethyl furfural present in sugar cane bagasse hemicellulose hydrolysate obtained through acidic hydrolysis.

The methodology employed consisted in determining, initially, the kinetic curves of adsorption for each one of these compounds as well as the adsorption isotherms. The same procedure was equally done for three different resins. (A- 500, A-103S, and C-155S - PUROLITE[®]).

In the experiments of kinetics of adsorption, it was found that ten minutes of contact between the resin and the hemicellulose hydrolysate, were enough to attain balance in the adsorption process. It was also observed, in the experiments of the determination of the isotherms, that the resin which presented a better capacity in adsorbing the compounds was the anionic resin A-500, because this one presented a higher q value- amount of adsorbed compound (mg) per quantity of resin (g), for acetic acid and for hydroxymethyl furfural. These values were approximately $5,7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ for the acetic acid, $0,2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ for the furfural and $0,57 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ for the hydroxymethyl furfural.

It was possible to observe, under the studied conditions, that the anionic resin A-103S, also adsorbs acetic acid $3,9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, furfural $0,31 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and hydroxymethyl furfural $0,3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, but in smaller quantity than the resin A-500. Nevertheless, the cationic resin C-155S did not present a good performance in adsorbing these compounds. The q values were, approximately, $2,5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ for the acetic acid, $0,11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ for the furfural, and $0,05 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ for the hydroxymethyl furfural

1. INTRODUÇÃO

O xilitol é um poliól de grande importância econômica e social devido às suas características físico-químicas. O xilitol é produzido atualmente através da hidrogenação catalítica de soluções puras de xilose, no entanto, nos últimos anos vários pesquisadores vêm estudando o processo biotecnológico tendo em vista a existência de microrganismos capazes de sintetizar o xilitol a partir da D-xilose, açúcar que se encontra, principalmente, na fração hemicelulósica de uma grande variedade de materiais lignocelulósicos. Este processo permite aproveitar resíduos agro-industriais, como o bagaço de cana-de-açúcar, ampliando seu aproveitamento econômico e minimizando seu impacto ambiental.

O xilitol apresenta várias aplicações principalmente na indústria de alimentos e farmacêutica. Na indústria farmacêutica como anticariogênico, o xilitol inibe o crescimento de bactérias da flora bucal, visto que estas não são capazes de metabolizá-lo, promove a remineralização das lesões de cáries, e também favorece o fluxo de saliva sem diminuir o pH da mesma. Para pessoas diabéticas a disponibilidade de um substituto natural da sacarose, que tenha um sabor agradável e possa ser usado de forma semelhante, é vantajoso. Ao contrário do açúcar, doses razoáveis de xilitol não estressam o organismo de indivíduos diabéticos.

Acrescenta-se ainda que o xilitol é utilizado como componente de formulações, juntamente com manitol, sorbitol e ácido cítrico, como espectorante ou para ser usado nas cavidades nasal e oral, seja na forma de gotas para a tosse ou em balas, que ao se dissolverem produzem uma sensação de vaporização ativa.

Produtos preparados com xilitol não apresentam diferenças quando comparados àqueles preparados com sacarose, portanto podem trazer um novo valor e conceito às preparações do tipo “sugar – free”, ou seja, produtos sem açúcar.

Desta forma, considerando as propriedades físico - químicas e aplicações do xilitol, assim como a necessidade de se encontrar formas alternativas para se aproveitar os resíduos agro-industriais, diversos grupos de pesquisas tem conduzido estudos

visando o desenvolvimento de uma tecnologia que congregue estes aspectos. Um dos problemas deparados neste desenvolvimento envolve a remoção de compostos inibidores do metabolismo microbiano que são formados durante o processo de hidrólise ácida para a obtenção do hidrolisado fermentescível a partir destes resíduos. Dentre estes inibidores merecem destaque os compostos provenientes da degradação da hemicelulose (ácido acético) e dos açúcares (furfural e hidróximetil furfural).

Portanto, para que haja um bom aproveitamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, é necessário que o mesmo seja submetido a um tratamento, visando a máxima redução destes compostos inibidores.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo remover alguns dos compostos inibidores (furfural, hidróximetil furfural e ácido acético) presentes no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, utilizando o tratamento do mesmo com resinas de troca iônica que vêm sendo empregadas em pesquisas que visam a purificação deste hidrolisado. Para isso, foi necessário construir as curvas cinéticas de adsorção, de cada um dos compostos, e também as isotermas de adsorção.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Resíduos agro-industriais – Características e Aproveitamento

O Brasil é conhecido pelo seu grande potencial em fontes renováveis, tais como explorações agrícolas e florestais e diferentes resíduos lignocelulósicos como bagaço de cana-de-açúcar, palha de arroz, sabugo de milho e restos florestais. Os resíduos representam uma fonte barata de material que pode ser convertido em vários insumos por via biotecnológica. A utilização adequada de resíduos agro-industriais ajuda a minimizar problemas ambientais e energéticos, além de ser uma alternativa para gerar produtos com aplicações relevantes nas indústrias farmacêuticas e alimentícias (ROBERTO et al., 1995a).

A importância tecnológica do desenvolvimento de processos fermentativos que otimizem o aproveitamento dos materiais lignocelulósicos, também denominados biomassa vegetal, advém do fato de que a produção anual destes materiais é estimada em 60 bilhões de toneladas (KUHAD e SINGH, 1993).

Biomassa na forma de resíduo acumula-se todo ano em grande quantidade, causando a deterioração do meio ambiente e a perda de fontes potencialmente valiosas. Os resíduos agrícolas e florestais, como palha de arroz, sabugo de milho, palha de trigo, bagaço de cana-de-açúcar e cavaco de eucalipto, são de interesse econômico porque, além da possibilidade de serem utilizados como substrato em processos fermentativos ou químicos, estão diretamente ligados à poluição do meio ambiente e são produzidos em grande quantidade (KUHAD e SINGH, 1993).

A produção brasileira de cana-de-açúcar em 1999 foi de 335,9 milhões de toneladas (AGRIANUAL, 2000). A produção de álcool e de açúcar gera, em média, para cada tonelada de cana-de-açúcar moída, 270 kg de bagaço. Portanto, considerando a produção anual de cana-de-açúcar, são gerados, aproximadamente, 94,1 milhões de toneladas de bagaço. Levando em consideração que, desse montante, de 15 % a 30 %

não são utilizados na produção de energia, tem-se, anualmente, um excedente estimado de 14 a 28 milhões de toneladas de bagaço de cana-de-açúcar.

Materiais lignocelulósicos são os compostos orgânicos mais abundantes na biosfera, contribuindo com, aproximadamente, 50 % da biomassa mundial, que na forma de celulose, hemicelulose e lignina fornece um meio para coletar e estocar energia solar, e então representa um importante recurso de material e energia (KUHAD E SINGH, 1993).

Segundo MELAJA e HÄMÄLÄINEN (1975), o aproveitamento destes resíduos por via biotecnológica tem sido considerado uma alternativa promissora e atrativa, devido ao fato de algumas espécies de microrganismos serem capazes de realizar a conversão dos açúcares, resultantes da hidrólise destes resíduos, em produtos de alto valor econômico e social.

Os materiais lignocelulósicos são compostos, basicamente, por celulose, hemicelulose, lignina e constituintes menores (D'ALMEIDA, 1988), em proporções que variam de acordo com a espécie, sendo a celulose o constituinte encontrado em maior proporção (BISARIA e GHOSE, 1981; KUHAD e SINGH, 1993), conforme demonstrado na TABELA 2.1., que apresenta a composição aproximada de alguns resíduos agro-florestais.

TABELA 2.1.: Composição média de alguns resíduos lignocelulósicos

Material	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)
Coníferas	40-50	20-30	25-30
Bagaço de Cana -de-açúcar	40	30	20
Sabugo de Milho	45	35	15
Talo de Milho	35	25	35
Palha de Trigo	30	50	15

A celulose, principal componente da parede celular da célula vegetal, é um polissacarídeo formado por unidades de D-glicose, que se ligam por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4), dando origem a um polímero linear. Na natureza, está associada a uma variedade de outros polissacarídeos, tais como amido, pectina, lignina e uma variedade de hemiceluloses (BISARIA e GHOSE, 1981; D'ALMEIDA, 1988).

A lignina é um polímero amorfo, de composição química complexa que confere rigidez à parede celular. Tecidos lignificados resistem ao ataque por

microrganismos, impedindo a ação de enzimas capazes de degradar a parede celular. A estrutura da lignina é complexa e não está completamente determinada. A lignina é uma macromolécula polifenólica formada pela polimerização desidrogenativa de três álcoois como precursores primários: trans-p-coumaril, trans-coniferil e trans-sinapil (FENGEL e WENEGER, 1989; KUHAD e SINGH, 1993). A sua função é dar sustentação às fibras das plantas, dificultando a degradação enzimática e as agressões ambientais (KUHAD e SINGH, 1993).

A hemicelulose é um heteropolímero formado de glicose, xilose, arabinose, outros açúcares e seus correspondentes ácidos urônicos (BISARIA e GHOSE, 1981; FENGEL e WENEGER, 1989; KUHAD e SINGH, 1993), representando de 20 % a 40 % do resíduo lignocelulósico (BISARIA e GHOSE, 1981). Em sua composição podem aparecer, condensados em proporções variadas, as seguintes unidades de açúcar: D-xilose, D-manose, D-glucose, L-arabinose, D-galactose, além de radicais acetis, sendo que o teor e a proporção dos diferentes componentes encontrados na hemicelulose variam com a espécie vegetal (D'ALMEIDA, 1988; KUHAD e SINGH, 1993).

Segundo JEFFRIES (1983) a estrutura aberta da hemicelulose favorece a difusão de ácidos na molécula, facilitando a hidrólise, necessitando de condições mais brandas para seu aproveitamento. A maioria dos agentes químicos atinge muito mais facilmente a hemicelulose do que a celulose, que possui regiões cristalinas (D'ALMEIDA, 1988).

Segundo NÁPOLES (1998), o Brasil é um dos maiores produtores mundiais de açúcar, e os resíduos gerados durante a moagem são enormes, principalmente o bagaço, que possui características vantajosas do ponto de vista técnico e econômico; seu caráter renovável, a qualidade de suas fibras, a sua composição na forma concentrada, dentre outras características, faz com que seja considerado a fibra não-lenhosa de maiores perspectivas atuais.

A utilização de resíduos lignocelulósicos como substrato em processos fermentativos, para a produção de xilitol, consiste, inicialmente, em liberar açúcares da porção hemicelulósica dessa biomassa através de um processo de hidrólise (MOLWITZ et al., 1996). A estrutura aberta da hemicelulose faz com que este seja o principal constituinte de interesse para os processos fermentativos, visto que esta estrutura pode ser facilmente hidrolisada a açúcares fermentescíveis, por processo físico, químico ou enzimático (GONG et al., 1983; JEFFRIES, 1983), ao contrário da celulose, que é impermeável, até mesmo, à água (JEFFRIES, 1983).

Diferentes processos são utilizados para hidrolisar os materiais lignocelulósicos, destacando-se: a hidrólise enzimática (BISARIA e GHOSE, 1981), o processo “steam-explosion” – explosão de vapor - (SILVA et al., 1990; ROBERTO et al., 1991), a hidrólise ácida (FENGEL e WENEGER, 1989; PESSOA JÚNIOR, 1991) e a alcalina (FENGEL e WENEGER, 1989). De acordo com FENGEL e WENEGER (1989) e PESSOA JÚNIOR (1991) para a obtenção de um hidrolisado fermentescível a hidrólise ácida é a mais eficiente, enquanto a hidrólise alcalina é mais utilizada para a produção de lignina. Segundo BISARIA e GHOSE (1981) a hidrólise enzimática apresenta elevado rendimento para a obtenção de substratos mais puros e com poucos inibidores, mas necessita desenvolvimento técnico e científico para sua aplicação em larga escala.

As condições de hidrólise ácida branda para o bagaço de cana-de-açúcar, segundo PESSOA JÚNIOR (1991), consistem no aquecimento a 140 °C, durante 20 minutos, com 100 mg de H₂SO₄ por grama de matéria seca, em reator (AISI319) de 32 L, onde a relação sólido:líquido é 1:10.

O produto da hidrólise da fração hemicelulósica de resíduos agro-industriais contém uma mistura de açúcares, sendo a xilose o componente principal (JEFFRIES, 1983; ROBERTO et al., 1994), que é importante substrato para vários processos de bioconversão (GONG et al., 1983; JEFFRIES e SREENATH, 1988; FRAZER e McCASKEY, 1989; SILVA et al., 1990; ROBERTO et al., 1991 e 1995b; VAN ZYL et al., 1991 e 1998; FELIPE et al., 1993). Com isso, inúmeras pesquisas vêm sendo desenvolvidas visando melhorar e desenvolver novas tecnologias alternativas para o melhor aproveitamento do bagaço de cana, e de outros resíduos, por meio de processos biotecnológicos. Normalmente, o hidrolisado hemicelulósico para ser utilizado como substrato nestes processos é suplementado com nutrientes empregados para compor o meio sintético (ROBERTO et al., 1995b).

Nos últimos anos diversos resíduos lignocelulósicos têm sido estudados em processos fermentativos para a obtenção de vários produtos, dentre os quais destacam-se: etanol, xilitol, 2,3 butanodiol e proteína microbiana (KUHAD e SINGH, 1993). O xilitol, devido ao seu elevado valor agregado, merece destaque (AMINOFF et al., 1978; EMODI, 1978; WANG e VAN EYS, 1981; HYVÖNEN et al., 1982).

2.2. Xilitol – O novo adoçante

O xilitol, um álcool pentahidroxilado (pentiol) de xilose, com característica adoçante, fórmula empírica $C_5H_{12}O_5$ e massa molar de 152,15 g/mol, é um produto intermediário do metabolismo de carboidratos em humanos e animais. A concentração de xilitol no sangue encontra-se na faixa de 0,03 mg a 0,06 mg em 100 mL (MANZ et al. 1973; AMINOFF et al., 1978; EMODI, 1978; WANG e VAN EYS, 1981; HYVÖNEN et al., 1982; PEPPER e OLINGER, 1988).

Este poliól apresenta-se como um pó branco e cristalino (MANZ et al., 1973), cujas características físicas e químicas são mostradas no TABELA 2.2.

Segundo Kratzl e Silbernagel (1963), citados por MANZ et al. (1973), o xilitol foi encontrado em cogumelos da espécie *Psalliota campestris*, em líquens, algas e leveduras. Em estudo realizado por WASHÜTTL et al., em 1973, por meio de cromatografia gasosa e de camada fina, foi constatada a presença do xilitol em diferentes variedades de frutas, verduras, cereais, cogumelos e microrganismos, em uma faixa de concentração que varia de 4,5 mg a 935 mg em 100 g de matéria seca. Portanto, a extração de xilitol a partir dessas fontes não é, todavia, economicamente viável, uma vez que este ocorre em baixas concentrações (EMODI, 1978; HYVÖNEN et al., 1982; HEIKKILÄ et al., 1990).

Os estudos com xilitol iniciaram-se em 1891 quando Fisher e Bertrand prepararam xilitol na forma de xarope pela redução da D-xilose com amálgama de sódio. A primeira cristalização foi conseguida por Wolfrom e Kohn, em 1942, que realizaram uma redução catalítica a alta pressão de uma solução de D-xilose altamente purificada. No ano seguinte, pelo mesmo processo, Carson et al. conseguiram obter o xilitol na sua forma estável e cristalina, com ponto de fusão entre 93 °C e 94,5 °C (MANZ et al., 1973).

A incorporação do xilitol em alimentos é permitida por ser este uma substância atóxica (MANZ et al., 1973; HYVÖNEN et al., 1982; PEPPER e OLINGER, 1988) e, portanto, reconhecido como um aditivo “Generally Regard as Safed” – GRAS – pela Food and Drug Administration – FDA dos Estados Unidos (MANZ et al., 1973). De acordo com o *Codex Alimentarius* o xilitol é também um adoçante permitido para ser utilizado na dieta para diabéticos (SILVA, 1994). O xilitol pode ser empregado na dieta normal e de diabéticos, e o seu uso como adoçante é baseado nas suas características anticariogênicas (YLIKAHRI, 1979). A não - cariogenicidade deste poliól está relacionada com o fato dele não ser metabolizado pelas bactérias cariogênicas e

produtoras de ácido da cavidade bucal, como o *Streptococcus mutants*, que não utiliza o xilitol como fonte de carbono. Dessa forma o pH da saliva não é abaixado, evitando que haja formação de cáries (AMINOFF et al. 1978; EMODI, 1978). A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, utilizada em produtos de panificação, também não é capaz de fermentar o xilitol (HYVÖNEN et al., 1982).

TABELA 2.2.: Propriedades físico - químicas do xilitol.

Propriedades físico - químicas	Característica ou valor
Fórmula	$C_5H_{12}O_5$ (massa molar, 152,15 g/g mol)
Aparência	Pó cristalino
Cor	Branca
Odor	Inodoro
Rotação específica	Óticamente inativo
Poder adoçante	Igual a sacarose, superior ao sorbitol e manitol
Valor calórico	4,0 kcal· g ⁻¹
Solubilidade a 20 °C	169g/100g H ₂ O; 63g/100g solução; levemente solúvel em etanol e metanol
Solubilidade a 30 °C	Igual à sacarose (68g/100g, em solução)
Densidade da solução	10 %, 1,03 g· mL ⁻¹ ; 60 %, 1,23g· mL ⁻¹
Viscosidade (20 °C)	10 %, 1,23 E-03 Pa· s; 60 %, 20,63 E-03 Pa· s
Ponto de fusão	92 °C a 96 °C
Ponto de ebulição	216 °C (760 mmHg)
pH em água (100g/litro)	5 a 7
Estabilidade	Estável a 120 °C, não carameliza; estável também sob condições usuais em processamento de alimentos; a caramelização ocorre se aquecido por vários minutos próximo ao ponto de ebulição

Fonte: (MANZ et al., 1973, HYVÖNEN et al., 1982; BÄR, 1991).

De acordo com o Código Americano de Regulamentos Federais, citado por EMODI (1978), o xilitol pode ser utilizado em produtos de padaria, confeitaria e sorveteria, derivados do leite, geléias e bebidas.

De acordo AMINOFF et al. (1978), o interesse no xilitol baseia-se em suas propriedades e o no seu potencial como substituto da sacarose. Seu poder adoçante é igual ao da sacarose; em temperatura ambiente é aproximadamente duas vezes mais doce que o sorbitol e próximo a três vezes mais que o manitol (AMINOFF et al., 1978; EMODI, 1978). O seu poder adoçante em relação à sacarose, pode variar de 0,85 a 1,35, dependendo do pH, concentração, temperatura, concentração de sal e outro fatores (EMODI, 1978). Na TABELA 2.3 está apresentado o poder adoçante de alguns adoçantes naturais.

TABELA 2.3.: Poder adoçante relativo de alguns adoçantes naturais.

Substância	Doçura relativa
Frutose	1.2
Xilitol	1.0
Sacarose	1.0
Dextrose	0.7
Sorbitol	0.5
Manitol	0.5
Maltose	0.4
Lactose	0.3

Fonte: (KRACHER, 1978).

Seu valor calórico é o mesmo da sacarose, que é, aproximadamente, 4,0 kcal/g ou 17,0 kJ/g (AMINOFF et al., 1978; EMODI, 1978; VOIROL, 1978; HYVÖNEN et al., 1982), apresentando, então, metade e um terço das calorias do sorbitol e manitol, respectivamente (AMINOFF et al., 1978).

Baseado nessas características, Voirol (1977) e Kracher (1977), citados por AMINOFF et al. (1978), afirmam que o xilitol pode ser vantajosamente substituído pela sacarose em gomas de mascar e confeitaria, utilizando as mesmas concentrações e métodos, obtendo produtos cuja qualidade é superior àqueles preparados com sacarose.

De acordo com HYVÖNEN et al. (1982), a quantidade de calor requerida para dissolver 1g de xilitol é maior do que aquela requerida por outros açúcares ou polióis. Esse valor é de 36,6 cal/g (153,0 J/g), significando que o xilitol, quando ingerido na sua forma sólida ou cristalina, proporciona uma agradável sensação refrescante semelhante a da menta (AMINOFF et al., 1978; EMODI, 1978; HYVÖNEN et al., 1982; PEPPER e

OLINGER, 1988), além de não apresentar sabor residual, típico de outros adoçantes (HEIKKILÄ, 1990).

O xilitol dissolve-se rapidamente na água, sendo mais solúvel e menos higroscópico que a frutose, sorbitol e amido de milho, numa umidade relativa do ar entre 60 % e 80 % (HYVÖNEN et al. 1982; EMODI 1978; PEPPER e OLINGER, 1988).

Segundo VOIROL (1978), dentre as aplicações tecnológicas na indústria de alimentos, incluem-se sua substituição pelo açúcar em produtos como catchup e leite condensado, devido à alta estabilidade química do xilitol, não permitindo que esses produtos sofram alteração de cor durante o preparo e armazenamento. O xilitol não apresenta grupos aldeído ou cetona e, dessa forma, ao contrário de outros açúcares, não participa de reações de escurecimento não enzimático do tipo Maillard (EMODI, 1978; VOIROL, 1978; HYVÖNEN et al., 1982) e a altas temperaturas, segundo EMODI (1978) e Kammerer (1971), citado por HYVÖNEN et al. (1982), também não sofre caramelização. Essa propriedade faz com que o uso do xilitol seja recomendado para produtos onde esta característica de escurecimento seja, definitivamente, indesejável (KRACHER, 1978).

Tanto o xilitol obtido pelo processo químico, quanto aquele obtido pelo processo microbiológico, encontra-se na forma orto-rômbica com ponto de fusão de, aproximadamente, 94 °C (HYVÖNEN et al., 1982). Após longo período de aquecimento e subsequente resfriamento à temperatura ambiente ele ainda permanece líquido (em recipientes fechados), de forma incolor e com viscosidade semelhante a do mel devido a sua capacidade de dissolução (EMODI, 1978; HYVÖNEN et al., 1982).

Este pentiol não permite o desenvolvimento de fungos, leveduras ou outros microrganismos, mesmo em baixas concentrações, servindo, principalmente em geléias, como adoçante e conservante e fazendo com que produtos que o contenham apresentem maior vida de prateleira (EMODI, 1978; VOIROL, 1978).

O xilitol apresenta propriedades laxativas, e grandes quantidades, normalmente, causam a diarreia osmótica, devido a sua lenta taxa de absorção no intestino que acontece por difusão passiva, limitando a quantidade que pode ser consumida via oral (BÄSSLER, 1978; EMODI, 1978; KRACHER, 1978; YLIKAHRI, 1979). O limiar para seu efeito laxativo e a taxa em que é metabolizado varia com o indivíduo e a forma e quantidade com que é consumido (KRACHER, 1978; YLIKAHRI, 1979). Seu nível de tolerância, segundo estudos realizados por EMODI (1978), é de 20 g a 30 g, numa dose única. No entanto, níveis de tolerância mais altos

podem ser conseguidos se o xilitol for ingerido em várias refeições ao dia. Mas, se ingerido de forma intravenosa, não apresenta nenhuma barreira natural (KRACHER, 1978).

PEPPER e OLINGER (1988), Weickmann et al. (1969) e Yamaguchi et al. (1970), citados por HYVÖNEN et al. (1982), reportam o efeito sinérgico do xilitol com a sacarina e o ciclamato.

Estudos realizados por Touster (1960), citado por BÄSSLER (1978), levaram à descoberta do ciclo do ácido glucurônico-xilulose, que tem a função de reciclar ácido glucurônico não utilizado em reações sintéticas ou de biotransformação, para o metabolismo da glicose. Nessa via metabólica o xilitol é o intermediário na conversão de L-xilulose em D-xilulose, que ocorre na mitocôndria.

Segundo BÄSSLER (1978), para diabéticos, pessoas em situação de stress e de inanição, o xilitol apresenta efeito normalizador no metabolismo de gorduras, diminuindo o nível de ácidos graxos livres e a produção de cetona, melhorando a utilização da glicose sem a necessidade adicional de insulina.

2.3. Processos de produção de Xilitol

A obtenção de xilitol pode ser feita, basicamente, por três processos: por extração, por via química e por via fermentativa.

A sua extração pode ser realizada visto que o xilitol encontra-se largamente distribuído na natureza. No entanto, é um processo difícil e antieconômico (HYVÖNEN et al., 1982), visto que as concentrações encontradas são baixas.

Em escala comercial, o xilitol pode ser produzido por conversão química da xilana (BÄR, 1991). Convencionalmente, para a produção de xilitol por via química é necessário obter uma solução pura de xilose, por meio da hidrólise de materiais lignocelulósicos, seguida de processos de purificação e separação para remover os demais açúcares encontrados na matéria prima e de uma etapa de hidrogenação catalítica para formar o xilitol (HYVÖNEN et al., 1982; OJAMO, 1988), incluindo técnicas cromatográficas e de filtração, para que este seja de alta pureza (HEIKKILÄ et al., 1990). Entretanto, o xilitol pode conter resíduos tóxicos do catalisador e subprodutos ou impurezas originadas no processo de hidrogenação (OJAMO et al., 1988; HEIKKILÄ et al., 1990).

Uma alternativa à redução química é a bioconversão direta da xilose a xilitol, que pode ser realizada utilizando vários microrganismos, tais como os do gênero *Candida* (FELIPE et al., 1993; ROBERTO et al., 1995a). O processo microbiológico pode oferecer vantagens econômicas, visto que o catalisador usado na produção por via química é caro e consumido no processo, além de que o xilitol obtido por processo químico pode conter resíduos de catalisadores tóxicos (OJAMO et al., 1988). Em 1987 o Laboratório de Biotecnologia da FAENQUIL estabeleceu um programa de pesquisa para desenvolver uma tecnologia de baixo custo para a produção de xilitol pela rota biotecnológica usando resíduos agro-industriais como substratos (ROBERTO et al., 1995a).

Segundo HEIKKILÄ et al. (1990) o material inicial deve ser tratado antes da fermentação, se necessário, para remover qualquer constituinte que possa ser tóxico ou causar injúria à levedura. O pré-tratamento adequado da matéria prima inclui “pós-hidrólise” e/ou etapas de separação. A fermentação de uma solução rica em xilose pode ser feita em tanques de fermentação com aeração, agitação e controle de pH. Este processo permite converter até 90 % da xilose em xilitol.

Após a fermentação o xilitol pode ser recuperado em uma coluna empacotada com resina de poliestireno sulfonado ligado a divinilbenzeno com metal na forma alcalina, sendo esta uma separação cromatográfica. O xilitol proveniente deste processo de separação pode ser cristalizado utilizando-se técnicas convencionais de cristalização, incluindo cristalização por resfriamento e aquecimento (HEIKKILÄ et al., 1991).

2.3.1. Obtenção de xilitol por via química

Os processos industriais para a produção de xilitol são assegurados por patentes (MANZ et al., 1973). A matéria prima ideal para a produção em larga escala deve estar disponível em grandes quantidades e apresentar elevadas concentrações de xilana – polímero de xilose, particularmente hidrolisada, ou hemicelulose (HYVÖNEN et al., 1982; HEIKKILÄ et al., 1990).

De acordo com Carson et al. (1943), citado por BÄR (1991), e HYVÖNEN et al (1982) a síntese comercial do xilitol envolve quatro etapas. Inicialmente é feita a hidrólise (1) que consiste na desintegração da matéria-prima natural, rica em xilana, com uma solução ácida diluída sob calor e pressão, para hidrolisar a hemicelulose e

obter a xilose, assim como para precipitar a lignina; em seguida é feita a purificação (2) da xilose, o que permite obter uma solução pura de xilose. Esta purificação emprega diversos processos cromatográficos que removem substâncias indesejáveis, que fazem parte da hemicelulose e são solubilizadas durante a hidrólise. A hidrogenação (3) é a etapa em que a xilose é hidrogenada a xilitol, numa temperatura entre 80 °C e 140 °C e pressão máxima de 50 atm, na presença de um metal catalisador, geralmente níquel; e, finalmente, a purificação (4), etapa em que após a remoção do catalisador por filtração e troca – iônica, a solução hidrogenada é purificada, concentrada e cristalizada para obter o xilitol na sua forma orto - rômica.

Alternativamente, a hidrogenação da solução impura de xilose pode ser realizada primeiro, seguida pela purificação do xarope de xilitol (BÄR, 1991). A separação de outros polióis deve ser feita antes da cristalização do xilitol, por meio de cromatografia de troca iônica com resinas catiônicas (HYVÖNEN et al., 1982).

2.3.2. Obtenção de xilitol por via fermentativa

A produção de xilitol por via fermentativa utilizando leveduras foi descrita por ONISHI e SUZUKI (1966), que avaliaram a capacidade de diferentes espécies e gêneros quanto à produção de xilitol a partir de xilose. Estes mesmos autores em trabalho realizado com microrganismos em 1969 relataram que o xilitol pode ser produzido a partir de D-xilulose ou D-glicose.

As leveduras fermentadoras de xilose possuem a capacidade de fermentar esta pentose direto a etanol, entretanto a eficiência de algumas é muito baixa, enquanto que a produção de xilitol é boa (GONG et al., 1983). Este fato fez com que as pesquisas para obtenção de xilitol fossem retomadas a partir do início da década de 80. Para uma obtenção eficiente de xilitol a partir da D-xilose é desejável um microrganismo que seja capaz de produzir elevadas concentrações de xilitol (GONG et al., 1981), com altos rendimentos e taxa de produção rápida (BARBOSA et al., 1988). Sob condições aeróbias o microrganismo forma, principalmente, massa celular e sob condições semi-aeróbias ou anaeróbias são formados, principalmente, subprodutos (MOLWITZ et al., 1996).

Para MOLWITZ et al. (1996) a fermentação de hidrolisado de materiais lignocelulósicos é complexa e crítica, pois este contém vários compostos tóxicos ao

microrganismo. Portanto, o comportamento do crescimento celular no hidrolisado e a formação de xilitol dependerão do tratamento e das condições de fermentação empregadas.

A produção de xilitol é observada apenas na presença de xilose e como este açúcar dificilmente é obtido na sua forma pura em hidrolisados hemicelulósicos é interessante caracterizar a habilidade de microrganismos em utilizar glicose, xilose e outros açúcares presentes na fração hemicelulósica (JEFFRIES e SREENATH, 1988). Segundo GONG et al. (1981) várias leveduras que assimilam D-xilose aerobicamente, normalmente, produzem xilitol como metabólito quando crescem em meio contendo este açúcar como fonte de carbono e energia. Os resultados de estudos realizados por GONG et al. (1981) com uma levedura mutante, *Candida tropicalis* HXP2, indicaram que a xilose serve como fonte de energia tanto para o crescimento celular como para a produção de xilitol.

A produção de xilitol a partir de xilose varia conforme a espécie de microrganismo. GONG et al. (1983) estudaram a conversão de D-xilose por 22 espécies de leveduras dos gêneros *Candida*, *Saccharomyces* e *Schizosaccharomyces*. BARBOSA et al. (1988) avaliaram a produção de xilitol a partir de xilose por 44 cepas de leveduras, distribuídas em 12 espécies pertencentes a cinco gêneros. Estes autores identificaram, respectivamente, as leveduras *Candida tropicalis* e *Candida guilliermondii* como promissoras, registrando eficiência de conversão de 81 % após 48 horas de cultivo e pequena formação de subprodutos. De acordo com estudos realizados por PARAJÓ et al. (1996) com a levedura *Debaryomyces hansenii*, a concentração máxima de xilitol conseguida foi de 39 g·L⁻¹ após 34 horas de fermentação, com mais de 92 % da xilose consumida. Isso corresponde a uma produtividade de xilitol de 1,06 g·L⁻¹·h⁻¹ com um rendimento (Yp/s) de 0,68 g·g⁻¹ e 75 % de eficiência.

Segundo JEFFRIES (1983) e HEIKKILÄ et al. (1990), a obtenção de xilitol por via fermentativa, como alternativa, só é possível devido ao fato de alguns microrganismos sintetizarem a enzima xilose redutase, que catalisa a redução da xilose a xilitol, como primeiro passo no metabolismo da xilose. O transporte através da membrana celular é o primeiro passo no metabolismo da D-xilose e em leveduras a D-xilose pode ser transportada tanto por difusão facilitada quanto pelo transporte ativo. O transporte deste açúcar é, aparentemente, relacionado ao transporte da D-glicose por que na presença deste a entrada de D-xilose ou D-arabinose é mais rápida sob condições anaeróbias do que sob condições aeróbias. E na ausência de D-glicose a taxa de entrada desses dois açúcares é idêntica sob as mesmas condições (JEFFRIES, 1983).

Sob condições anaeróbias a xilose não é utilizada e não ocorre a formação de xilitol (GONG et al., 1981).

Dentre os fatores que interferem na bioconversão da xilose a xilitol, tem sido verificada uma relação da eficiência de fermentação com a concentração de xilose no meio (OJAMO et al., 1988; FELIPE et al., 1993; SILVA, 1994), com o pH inicial (SILVA, 1994), com a temperatura (BARBOSA et al., 1988), com a presença de glicose (SILVA, 1994) e com a taxa de aeração (BARBOSA et al., 1988; SILVA et al., 1990).

O pH extra celular representa um outro fator que exerce grande influência nas vias metabólicas e na formação de produtos por microrganismos (SILVA, 1994). Segundo PELCZAR et al. (1980), as leveduras têm seu pH ótimo de crescimento na faixa de 3,5 a 3,8. SILVA (1994), estudando o comportamento de *Candida guilliermondii*, em meio sintético, verificou que a faixa ótima de pH para a produção de xilitol está entre 4,0 e 5,0. Os valores máximos de produtividades volumétrica ($0,55 \text{ (g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}\text{)}$) e específica ($0,27 \text{ (g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}\text{)}$) em xilitol foram obtidos em sistema contínuo ($D = 0,053 \text{ h}^{-1}$), quando as células foram cultivadas em pH 5,0. Entretanto, o maior fator de rendimento em xilitol ($Y_{p/s} = 0,72 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$) foi encontrado em pH 4,0.

De acordo com FELIPE et al. (1997), o pH inicial dos hidrolisados para a fermentação por *Candida guilliermondii* encontra-se entre 5,5 e 6,5. Os melhores valores de pH para a bioconversão de xilose em xilitol em hidrolisados hemicelulósicos estão mais próximos do neutro, devido à presença de compostos inibidores do metabolismo microbiano, cujo fenômeno de intoxicação está diretamente relacionado com a presença de ácido acético no meio (TRAN e CHAMBERS, 1985; FRAZER e McCASKEY, 1989; VAN ZYL et al., 1991; ROBERTO et al., 1991; FELIPE et al., 1993). De acordo com estes autores o efeito inibitório do ácido acético deve-se ao fato de que em valores de pH ótimo para a fermentação por levedura (pH 4,0 a 5,0), o ácido acético ($pK_a = 4,75$) encontra-se, em sua maior parte, na forma não dissociada, o que permite a sua difusão para o citoplasma celular, onde se dissocia. Com isso ocorre a redução do pH intracelular, causando o desacoplamento da produção de energia e do transporte de nutrientes.

A temperatura também exerce efeito marcante no metabolismo das leveduras (SILVA, 1994). A faixa de temperatura ótima de crescimento das leveduras é de $20 \text{ }^\circ\text{C}$ a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, embora existam espécies que crescem na faixa mais ampla, de $0 \text{ }^\circ\text{C}$ a $47 \text{ }^\circ\text{C}$ (PELCZAR et al., 1980). Com relação a bioconversão de xilose a xilitol, observa-se que os ensaios fermentativos são conduzidos a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ (RAMOS, 1998). De acordo com BARBOSA et al. (1988) as concentrações máximas de xilitol acumulado foram

encontradas em experimentos conduzidos a temperaturas de 30 °C ou 35 °C. Nessas temperaturas as taxas de crescimento foram maiores e a xilose também foi consumida com mais rapidez. O xilitol produzido correspondeu a um rendimento (Y_p/s) de 0,74 g·g⁻¹.

A pressão osmótica exercida por altas concentrações de açúcar influencia a taxa de produção de xilitol. Quando elevadas concentrações são utilizadas como substrato, sob condições anaeróbias, ocorre a produção de etanol (GONG et al., 1981).

A presença de glicose e outras hexoses no meio de fermentação é também um fator crítico que interfere na fermentação da xilose a xilitol por leveduras (SILVA, 1994). Esse comportamento foi verificado por SILVA et al. (1990) e depois confirmado por SILVA (1994), em meio sintético, utilizando a levedura *Candida guilliermondii*, demonstrando que em cultivos realizados na ausência de glicose no meio de fermentação, ocorreu maior eficiência de conversão de xilose a xilitol correspondendo a valores de 66 % na ausência da glicose, contra 45 % na sua presença. Neste mesmo trabalho observou-se também que a concentração de 10 g·L⁻¹ de glicose no meio resultou em redução de 46 % na quantidade de xilitol produzido e aumento de 34 % no tempo de fermentação, quando comparados aos valores obtidos na ausência deste açúcar. O autor verificou ainda que a glicose estimulou o crescimento celular, possivelmente por ser este açúcar uma fonte de carbono preferencial e de fácil metabolismo para os microrganismos.

Segundo GONG et al. (1983), JEFFRIES (1983) e MOLWITZ et al. (1996) o suprimento de oxigênio é o parâmetro mais importante que afeta a fermentação da xilose, melhorando a sua taxa de metabolismo, sendo seus aspectos bioquímicos e fisiológicos não totalmente elucidados. Em estudos realizados por MOLWITZ et al. (1996) foi observado que a levedura *Candida guilliermondii* é capaz de crescer, consumir os açúcares presentes no hidrolisado e excretar xilitol com diferentes performances, dependendo das condições de oxigênio empregadas. A concentração de biomassa final mais elevada (24,4 g·L⁻¹) foi formada quando a taxa de aeração era de 1,0 vvm (volume de ar por volume de meio por minuto), enquanto o menor crescimento ocorreu em condições onde a taxa de aeração era de 0,5 vvm. De acordo com BARBOSA et al. (1988), para as leveduras *C. tropicalis* 1004 e *C. guilliermondii* FTI 20037, uma diminuição na taxa de aeração aumentou o rendimento de xilitol, enquanto a concentração de etanol e a taxa de consumo de D-xilose diminuíram. Este fato reflete a importância do O₂ na utilização da xilose por microrganismos, principalmente

leveduras, indicando que condições limitadas de aeração proporcionam melhores rendimentos de fermentação (BARBOSA et al., 1988; SILVA et al., 1990).

2.4. Inibidores da fermentação e tratamento do hidrolisado

O metabolismo de xilose pelos microrganismos envolve a ação das enzimas xilose redutase e xilitol desidrogenase. Sabe-se que o processo fermentativo de produção de xilitol a partir de hidrolisados de bagaço de cana e outros materiais lignocelulósicos apresenta algumas limitações. Estas estão relacionadas, principalmente, com as taxas de produtividade resultantes do modo de condução do processo e da presença de compostos inibidores do metabolismo microbiano nos hidrolisados hemicelulósicos (JAFFE et al., 1974; HEIKKILÄ et al., 1990).

De acordo com HAVING (1981), o processo de hidrólise ácida utilizado para a obtenção do hidrolisado é acompanhado pela formação de produtos de decomposição da hemicelulose, dentre os quais pode-se citar o furfural, hidróximetil furfural (HMF) e ácido acético. O efeito destes compostos tóxicos sobre o metabolismo da xilose é bastante discutido e complexo, havendo algumas evidências de que a inibição da atividade fermentativa é causada pelo efeito sinérgico entre eles (VOGEL et al., 1998). Segundo Harris (1975), citado por RAMOS (1998), as hexoses são degradadas a HMF e as pentoses a furfural. A liberação do ácido acético ocorre porque a estrutura molecular da fração hemicelulósica contém radicais acetis (BISARIA e GHOSE, 1981; FRAZER e McCASKEY, 1989).

Segundo NÁPOLES (1998) o ácido acético e o furfural são os principais inibidores da fermentação dos hidrolisados de bagaço de cana-de-açúcar a xilitol. Foi constatado por VAN ZYL et al. (1991) que a fermentação de xilose por *Pichia stipitis* foi inibida pela presença de ácido acético. Concentrações de ácido de 0,8 g·L⁻¹ a 13 g·L⁻¹, pH entre 5,1 e 6,5 e condições anaeróbias, reduziram a produtividade de xilitol a 50 %. FELIPE et al. (1997) realizaram estudos sobre o efeito da toxicidade do ácido acético e do furfural e relataram que concentrações maiores que 4,5 g·L⁻¹ de ácido acético e 1,09 g·L⁻¹ de furfural, afetam a conversão de xilose a xilitol. Entretanto, OJAMO et al. (1988) verificaram que a adição de furfural afetou, favoravelmente o rendimento de xilitol, embora tenha sido demonstrado que a presença deste composto em processos microbiológicos pode inibir o crescimento da levedura. Segundo Benerjee et al. (1981),

citado por OJAMO et al. (1988), o furfural usualmente afeta o crescimento do microrganismo e o processo fermentativo.

Em estudos realizados por NÁPOLES et al. (1997) efeito do pH no processo de conversão de xilose a xilitol é significativo pois é determinante para a atividade metabólica das células, uma vez que a toxidez do ácido acético depende deste parâmetro. Estudos realizados por FELIPE et al. (1997) demonstram que o pH inicial do hidrolisado para a fermentação pela levedura *Candida guilliermondii* encontra-se entre 5,5 e 6,5.

A ação destes compostos na formação de xilitol por leveduras está relacionada com sua concentração no meio e com os parâmetros fermentativos, principalmente ao pH e à aeração (NÁPOLES et al., 1997). Portanto, é necessário purificar o hidrolisado, visto que essas substâncias inibem o processo de bioconversão da xilose a xilitol (NÁPOLES, 1998). CHEN e GONG (1985) afirmam que uma fermentação bem sucedida não depende, apenas, de selecionar uma linhagem de levedura que seja capaz de produzir xilitol com alto rendimento, mas também de eliminar o efeito inibitório do hidrolisado hemicelulósico. Com o objetivo de minimizar este problema tem-se estudado vários tratamentos do hidrolisado, e os mais utilizados têm sido o tratamento com carvão ativo (FRAZER e McCASKEY, 1989; GONG et al., 1993), extração por solventes (FRAZER e McCASKEY, 1989), purificação com resinas de troca iônica (MADDOX e MURRAY, 1983; NÁPOLES et al., 1997), precipitação de impurezas com variação do pH (TRAN e CHAMBERS, 1985; VAN ZYL et al., 1988; ROBERTO et al., 1991; FELIPE et al., 1993; GONG et al. 1993) e, em alguns casos, a combinação destes tratamentos.

A remoção dos inibidores por solventes foi avaliada por FRAZER e McCASKEY (1989), que utilizaram uma combinação de solventes e variação de pH com hidróxido de cálcio. Em todos os tratamentos com os solventes orgânicos clorofórmio, acetato de etila, tricloroetileno, hexano e benzeno observou-se a redução das concentrações de compostos fenólicos, de ácido acético e de furfural. Essa redução esta relacionada com a solubilidade de cada um destes compostos no solvente, com suas características físico-químicas e com o pH do tratamento.

Vários autores (TRAN e CHAMBERS, 1985; VAN ZYL et al., 1988; FELIPE et al., 1993; GONG et al., 1993) estudaram o tratamento do hidrolisado pela variação de pH. Este processo consiste em elevar o pH do hidrolisado com diferentes tipos de bases ou óxidos até, aproximadamente, 10,0. Em seguida faz-se uma centrifugação que

permite retirar os compostos precipitados, seguida de redução do pH com diferentes ácidos até atingir o valor adequado para a fermentação, e nova centrifugação.

Este processo foi utilizado por GONG et al. (1993) para a produção de etanol utilizando hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar. O pH do hidrolisado foi elevado para 8,5, seguido de filtração e novo ajuste do pH para 7,0 com ácido fosfórico concentrado. A fermentação foi realizada por *Candida* sp. Os resultados de produção de etanol, entretanto, foram inferiores àqueles conseguidos em hidrolisados tratados com carvão ativo ou resinas de troca iônica.

FRAZER e McCASKEY (1989) também avaliaram este tratamento e encontraram que a variação de pH não exerce efeito sobre as concentrações de ácido acético, furfural e íons sulfato. O pH foi elevado para 10,0 e 11,0 seguido de centrifugação, em seguida foi ajustado para 6,0 com ácido clorídrico concentrado e novamente centrifugado. Observou-se uma redução média de 26 % de compostos fenólicos quando o óxido de cálcio foi usado para elevar o pH, e a produção de 2,3 butanodiol, por *Klebsiella pneumoniae* foi o dobro quando comparada ao hidrolisado não-tratado.

A obtenção de xilitol por *Candida guilliermondii* a partir de hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana-de-açúcar tratado com a técnica de variação de pH foi estudada por FELIPE et al. (1993). A correção do pH para 10,0 foi feita com óxido de cálcio, seguida de uma centrifugação e posterior redução do pH para 6,5. Estes autores encontraram uma eficiência de bioconversão de xilose em xilitol igual a 55,6 %.

De acordo com ROBERTO et al. (1991) o melhor tratamento para a obtenção de xilitol, a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar por *Candida guilliermondii* consiste na correção do pH para 10,0 com hidróxido de cálcio, seguida de centrifugação e redução para 6,5 com ácido sulfúrico.

FRAZER e McCASKEY (1989) e GONG et al. (1993) estudaram a utilização de carvão ativo para a remoção de compostos inibidores do metabolismo microbiano combinando a variação de pH com carvão ativo. GONG et al. (1993) utilizaram uma coluna de 1,5 cm x 25 cm com carvão ativado e observaram um aumento de 50 % no rendimento da fermentação e na produção de etanol. FRAZER e McCASKEY agitaram, por uma hora, hidrolisado e carvão ativo (4:1 v/p), e observaram uma redução tanto no rendimento quanto na produção de 2,3 butanodiol devido, principalmente, à redução de carboidratos que foram adsorvidos pelo carvão. De acordo com estes autores, nos tratamentos com e sem variação de pH, houve uma redução média de 27 % de ácido acético, 4,5 % de furfural, 90 % de íons sulfato e 78 % de compostos fenólicos. No

entanto, pesquisas realizadas por PARAJO et al. (1996) comprovaram o tratamento apenas com carvão ativo não é suficiente para converter o hidrolisado num meio de fermentação favorável.

Em estudos realizados por NÁPOLES et al. (1997), utilizando resinas de troca iônica, para a purificação dos hidrolisados hemicelulósicos de bagaço de cana-de-açúcar, observou-se resultados satisfatórios na conversão da xilose a xilitol por via química e fermentativa.

As resinas de troca iônica foram estudadas no tratamento de hidrolisado na obtenção de etanol (TRAN e CHAMBERS, 1985; VAN ZYL et al., 1991; GONG et al., 1993), 2,3 butanodiol (FRAZER e McCASKEY, 1989) e para a produção de xilitol (NÁPOLES, 1998). Nestes trabalhos utilizou-se a variação do pH com os diferentes tipos de resinas.

Os processos de troca iônica podem ser empregados para a remoção das impurezas ácidas presentes nos hidrolisados (NÁPOLES et al., 1997). Existem diferentes tipos de resinas de troca iônica, que são utilizadas para diferentes fins. Entre elas as resinas adsorventes que por suas propriedades e características substituem o carvão ativo, resinas catiônicas fortes e fracas e resinas aniônicas fortes e fracas.

GONG et al. (1993) avaliaram a resina aniônica Dowex 50W-X4, no tratamento de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar e TRAN e CHAMBERS (1985) analisaram o leito misto AG-501-X8 (BIORAD®) em hidrolisado de carvalho. Os autores verificaram que a utilização das resinas proporcionou a obtenção de um hidrolisado fermentescível para as fermentações conduzidas com *Pichia stipitis* e *Candida* sp. GONG et al. (1993) observaram o aumento de aproximadamente 100 % na produtividade de etanol quando comparado ao tratamento com variação de pH.

No trabalho realizado por FRAZER e McCASKEY (1989) com hidrolisado de carvalho tratado com resina fortemente catiônica Amberlite IR-120 Plus, fortemente aniônica Amberlite IRA-400 e a resina não-iônica XAD-4 para a produção de 2,3 butanodiol pela levedura *Klebsiella pneumoniae* foi observado o mesmo comportamento. Das resinas utilizadas a Amberlite IRA-400 apresentou melhor resultado na remoção dos inibidores, apresentando redução de 27 % de ácido acético, 42 % de furfural, 80 % de íons sulfato e 57 % de compostos fenólicos.

NÁPOLES (1998) realizou um trabalho de purificação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar comparando tratamento com resinas Amberlite, neutralização com CaO, utilização de carvão ativado e de resinas de troca iônica. O tratamento realizado com as resinas de troca iônica foi o que apresentou

melhor resultado na obtenção de um meio fermentescível a partir do hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar, possibilitando obter uma maior eficiência de processo (84,44 %), um maior rendimento ($Y_{p/s}=0,774 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$) e também uma maior produtividade ($0,711 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

VAN ZYL et al. (1991), estudando a inibição pelo ácido acético da fermentação de xilose a etanol por *Pichia stipitis*, observaram que quando o hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar era tratado com uma resina de troca iônica aniônica, 84 % do ácido acético presente no meio foi removido e a subsequente fermentação resultou numa produtividade de etanol de $0,56 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ e num rendimento ($Y_{p/s}$) de $0,37 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, similar àqueles obtidos num meio contendo xilose, glicose e arabinose sem a presença de ácido acético.

2.5. A cromatografia de troca iônica

Segundo SPADARO (1987) as primeiras observações registradas na literatura, referentes à troca iônica, foram feitas por Way e Thompson em 1850, que descobriram a capacidade do solo em remover íons NH_4^+ de soluções que o atravessam, substituindo-os por quantidade equivalente de íons Ca_2^+ . A partir destas observações, várias tentativas foram realizadas no sentido de produzir trocadores inorgânicos. Em 1917, Folin e Bell fizeram uma tentativa do emprego da troca iônica para determinar o teor de amônio na urina. Por volta de 1935 começaram a ser produzidas resinas de troca iônica orgânicas, muito mais eficientes. Os trabalhos na separação de aminoácidos, peptídeos, ácidos nucleicos e derivados mostraram o valor da técnica de troca iônica no campo bioquímico, tendo iniciado uma era neste campo.

A separação de materiais por cromatografia de adsorção está baseada na adsorção reversível e diferencial de moléculas de soluto carregadas pelo grupo trocador imobilizado covalentemente numa matriz cromatográfica e depende de diferentes tipos de interação entre as moléculas (SPADARO, 1987; PHARMACIA, 199-).

As razões que fazem da cromatografia de troca iônica uma técnica de separação eficiente são sua ampla aplicabilidade, seu alto poder de resolução, sua alta capacidade e a simplicidade e facilidade de controlar o método (PHARMACIA, 199-).

A separação é obtida já que diversas substâncias apresentam diferentes graus de interação com o trocador iônico devido às suas diferenças de cargas, densidades de

carga e distribuição de cargas em suas superfícies. Essas interações podem ser controladas variando-se condições como força iônica e pH. As variações nas propriedades de carga de compostos biológicos são, freqüentemente, consideráveis, e desde que a cromatografia de troca iônica é capaz de separar espécies com pequenas diferenças em suas propriedades, apresenta-se, então, como uma técnica bem eficiente (PHARMACIA, 199-).

Um trocador iônico consiste em uma matriz de material poroso, natural ou sintético, inerte, insolúvel em água e em solventes orgânicos, na qual grupos carregados ligam-se covalentemente. A matriz pode ser composta de substâncias inorgânicas, resinas sintéticas ou polissacarídeos. As características da matriz determinam suas propriedades cromatográficas tais como eficiência, capacidade e recuperação, bem como sua estabilidade química, força mecânica e propriedades de escoamento (SPADARO, 1987; PHARMACIA, 199-).

Os grupos carregados estão associados a contra-íons móveis. Esses contra-íons podem ser trocados reversivelmente com outros íons de mesma carga sem que a matriz seja alterada. Dependendo do grupo trocador ligado covalentemente à matriz, os trocadores iônicos são classificados em aniônicos e catiônicos. Trocadores carregados positivamente têm contra-íons negativos (ânions) disponíveis para trocar e são chamados de trocadores aniônicos. Trocadores carregados negativamente têm contra-íons positivos (cátions) e são chamados de trocadores catiônicos. Os tipos de grupos ligados à matriz classificam os trocadores iônicos em fortes e fracos, referindo-se à extensão da variação da ionização em relação ao pH e não à força da ligação. Ou seja, trocadores iônicos fortes são completamente ionizados em grande faixa de pH, enquanto nos trocadores iônicos fracos o seu grau de dissociação, portanto sua capacidade de troca, é mais sensível às variações de pH (SPADARO, 1987; PHARMACIA, 199-). As resinas de troca iônica apresentam certas limitações de estabilidade inerentes à sua estrutura química. A estabilidade física de uma resina de troca catiônica ou aniônica feita corretamente é adequada para qualquer das condições típicas de operação (DECHOW, 1983).

Segundo NÁPOLES (1998), as resinas catiônicas fortes são estáveis aos ácidos, bases, hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos e outros compostos orgânicos. Aplicam-se, fundamentalmente, na desmineralização total, na dissociação de sais complexos, separação de eletrólitos moleculares e colóides, purificação de corantes e dissociação de enzimas. As resinas catiônicas levemente ácidas são estáveis aos ácidos, solventes alifáticos e aromáticos, assim como a substâncias redutoras. Aplicam-se na

determinação de cátion divalentes ou polivalentes, na adsorção de corantes, purificação de enzimas e dissociação de vitamina B₁. As resinas aniônicas fortemente alcalinas são resistentes aos ácidos e álcalis concentrados, solventes alifáticos e aromáticos e a substâncias redutoras e oxidantes, podendo ser empregadas no isolamento e determinação de alcalóides, determinação de substâncias pécnicas em polpas de frutas e separação de aldeídos e cetonas. As resinas aniônicas levemente básicas são estáveis aos ácidos, bases, solventes alifáticos e aromáticos, são sensíveis ao ácido nítrico e soluções oxidantes, e podem ser aplicadas na separação de ácidos fortes e fracos, de aminoácidos, no isolamento e determinação de alclóides e na adsorção de corantes básicos em meio alcalino.

A presença de grupos carregados é uma propriedade fundamental para um trocador iônico. O tipo de grupo determina o tipo e a força do trocador iônico; e sua quantidade e disponibilidade determinam a capacidade do trocador (PHARMACIA, 199-).

Segundo DECHOW (1983) e SPADARO (1987), a capacidade total de uma resina é o número de grupos iônicos contidos por unidade de massa ou unidade de volume da resina, representando uma medida da quantidade de troca de íons que pode ocorrer entre a matriz e os íons presentes no soluto. Essa capacidade pode ser expressa em miliequivalentes (meq) por grama (g) ou por mililitro (mL). A capacidade disponível é a capacidade real de um trocador sob determinadas condições, e depende de vários fatores, dentre os quais tem-se a força iônica, o pH e a temperatura.

A adsorção é definida como o enriquecimento de um ou mais componentes em uma região interfacial, embora seja empregada para denominar o fenômeno conjunto de adsorção e condensação capilar nos poros de um sólido. O correto seria empregar, nesses casos, o termo sorção (ADAMSON, 1990).

Segundo Anônimo (1989), citado por CRUZ (1997), a adsorção é um fenômeno no qual o adsorvato concentra-se sobre a superfície do adsorvente sem uma mudança química. As principais forças que governam a adsorção física são as forças de van der Waals e de polaridade. Em resinas trocadoras de íons, a interação eletrostática entre uma molécula com carga e uma carga oposta sobre o adsorvente é o que provoca esta disposição. Esse fenômeno, proveniente do contato entre adsorvato e adsorvente, envolve um número de etapas distintas que contribuem para a resistência à transferência de massa, incluindo a transferência de massa externamente da solução de adsorvato para a superfície externa da partícula de adsorvente, difusão dentro de poros da partícula e

reação química na superfície da partícula de adsorvente (HORSTMANN e CHASE, 1989).

De acordo com CRUZ (1997), as resinas adsorventes são estruturas altamente porosas com uma grande área superficial capaz de adsorver e dessorver uma larga variedade de substâncias, normalmente de uma maneira seletiva. Uma resina de troca iônica pode ser caracterizada através de sua composição, porosidade e área superficial, hidrofobicidade, ligantes e grupos funcionais ligados a ela e estabilidade química e mecânica.

A análise da adsorção é baseada no equilíbrio entre as fases envolvidas e nos balanços de massa, onde o equilíbrio é representado na forma de gráficos, chamados de isotermas de adsorção (CRUZ, 1997). A isoterma de adsorção é a relação de equilíbrio entre a concentração de adsorvato na fase fluida e nas partículas adsorventes a uma dada temperatura. A concentração de adsorvato no sólido é dada como a massa adsorvida por unidade de massa do adsorvente original (McCABE et al., 1993).

No estudo do equilíbrio e para a adsorção de um componente, o modelo matemático mais difundido é a isoterma de Langmuir (CRUZ, 1997), que se baseia nas hipóteses de que a adsorção é limitada a uma monocamada, a superfície interna do adsorvente é homogênea e apresenta um número de sítios finito, as moléculas adsorvidas não interagem entre si e no caso de adsorção de compostos diversos, a entalpia de adsorção é a mesma para todos os materiais (LANGMUIR, 1916).

Na adsorção em tanques agitados, ou seja, em batelada, o contato entre as fases é realizado de modo a se ter um estágio de equilíbrio, permitindo a obtenção das curvas cinéticas de adsorção. As curvas cinéticas de adsorção permitem obter dados da concentração de soluto na fase líquida em função do tempo. Com os valores de concentração de soluto na fase líquida em equilíbrio (C^*), obtidos para cada concentração inicial de soluto (C_0), e com o auxílio de um balanço de massa no adsorvente, determina-se a isoterma de adsorção (CRUZ, 1997).

Segundo PEREIRA e SANTANA (1998), em sistemas com apenas uma espécie química, e mesmo em sistemas multicomponentes, com várias espécies químicas conhecidas, em que há ou não competição entre as espécies na adsorção, é possível a modelagem do processo com relativa facilidade, desde que a concentração de cada um dos componentes do sistema seja conhecida. Entretanto, em misturas multicomponentes, tais como caldos brutos obtidos através de fermentação, é muito difícil a modelagem, visto que é praticamente impossível determinar a concentração de cada uma das espécies químicas presentes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Processos de Separação (LPS) do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa – MG.

3.1. Hidrolisado hemicelulósico

Utilizou-se o hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar fornecido pelo Departamento de Biotecnologia (DEBIQ) da Faculdade de Engenharia Química de Lorena (FAENQUIL), Lorena – SP.

O hidrolisado hemicelulósico foi obtido pelo processo de hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar, a 121 °C durante 10 minutos, em reator de aço inoxidável (AISI 316) de volume útil igual a 200 L. Utilizou-se como catalisador o ácido sulfúrico na proporção de 100 miligramas por grama de matéria seca, isto é, uma relação sólido:líquido de 1:10, conforme estabelecido por PESSOA JÚNIOR (1991). As características do hidrolisado original estão apresentadas na TABELA 3.1.

TABELA 3.1.: Características do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar obtido por hidrólise ácida.

Características	Valores
pH	1,05
°Brix	4,00
Glicose (g/L)	2,10
Xilose (g/L)	15,7
Arabinose (g/L)	2,00
Ácido Acético (g/L)	3,50
Furfural (g/L)	0,16
Hidróximetil furfural (g/L)	0,05
Compostos fenólicos (g/L)	0,05

Fonte: (ALVES, 1997 e NÁPOLES, 1998).

3.2. Adsorventes

Nos experimentos foram utilizadas três resinas adsorventes de troca iônica A-500, A-103S e C-155S da PUROLITE®.

A resina A-500 é uma resina aniônica forte, macroporosa, de poliestireno reticulado com divinilbenzeno, tendo amina quaternária como grupo funcional. A resina A-103S é uma resina aniônica fraca, macroporosa, de estireno reticulado com divinilbenzeno, tendo amina terciária como grupo funcional. A resina C-155S é uma resina catiônica forte, macroporosa, de estireno reticulado com divinilbenzeno, tendo poliestireno sulfonado como grupo funcional. Todas estas resinas são fornecidas na forma de partículas esféricas. Outras características destes adsorventes estão apresentadas na TABELA 3.2.

TABELA 3.2.: Características físico-químicas das resinas de troca iônica utilizadas nos experimentos de adsorção.

	A-500	A-103S	C-155S
Estrutura polimérica	Poliestireno-divinilbenzeno	Estireno-divinilbenzo	Estireno-divinilbenzo
Grupo funcional	Amina quaternária	Amina Terciária	Poli (estireno sulfonado)
Aparência e forma física das partículas	Esféricas, esbranquiçadas	Esféricas, esbranquiçadas	Esféricas, acinzentadas
Tamanho de peneira (mesh)	16-40	16-44	16-44
Massa específica (g· L ⁻¹)	690	650	830
Faixa de pH de operação	0 a 14	0 a 8	0 a 14
Capacidade de troca (meq· mL ⁻¹)	1,15	1,6	2,1

Fonte: Informe Técnico PUROLITE® (199-).

3.3. Adsorvato

Como adsorvato foi empregado o hidrolisado hemicelulósico obtido por hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar que contém inibidores do metabolismo microbiano, tais como ácido acético, furfural e hidróximetil furfural, conforme demonstrado na TABELA 3.1.

3.4. Preparo do hidrolisado

O pH do hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar foi ajustado para 5,0 por meio de adição lenta de NaOH 1N sob agitação. Após a neutralização o hidrolisado foi deixado em repouso e o precipitado formado foi removido por centrifugação a, aproximadamente, 7000 x g por 10 minutos. Em seguida o material foi filtrado a vácuo utilizando-se membrana de acetato de celulose de 0,45µm (MILLIPORE – HAWP).

3.5. Ensaios de adsorção

Nos experimentos de adsorção, tanto para a obtenção de curvas cinéticas como para a construção de isotermas, utilizou-se colunas de 3 mL em plástico, descartáveis, equipadas com filtro, fornecidas pela J. T. BAKER[®]. A coluna é provida de um êmbolo de seringa de injeção. Em cada uma das colunas colocou-se aproximadamente 50 mg de uma das resinas. A resina foi condicionada, na coluna, com 1 mL de água deionizada durante 60 minutos, mantendo-se a agitação da mesma através do dispositivo mostrado na FIGURA 3.1.

O dispositivo usado para manter as colunas sob agitação consiste de um cilindro construído em acrílico (12 cm de diâmetro e 16 orifícios para suportar as colunas descartáveis) acoplado a uma bomba peristáltica através de um eixo, conforme mostrado na FIGURA 3.1. O movimento de revolução do cilindro (10 rpm) manteve o contato permanente da resina com a água de condicionamento, auxiliado por uma bolha de ar de 0,5 mL. Após essa etapa, a água foi retirada pressionando-se o êmbolo da coluna. Esse procedimento foi repetido por três vezes consecutivas. Este procedimento foi repetido empregando-se o hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar.

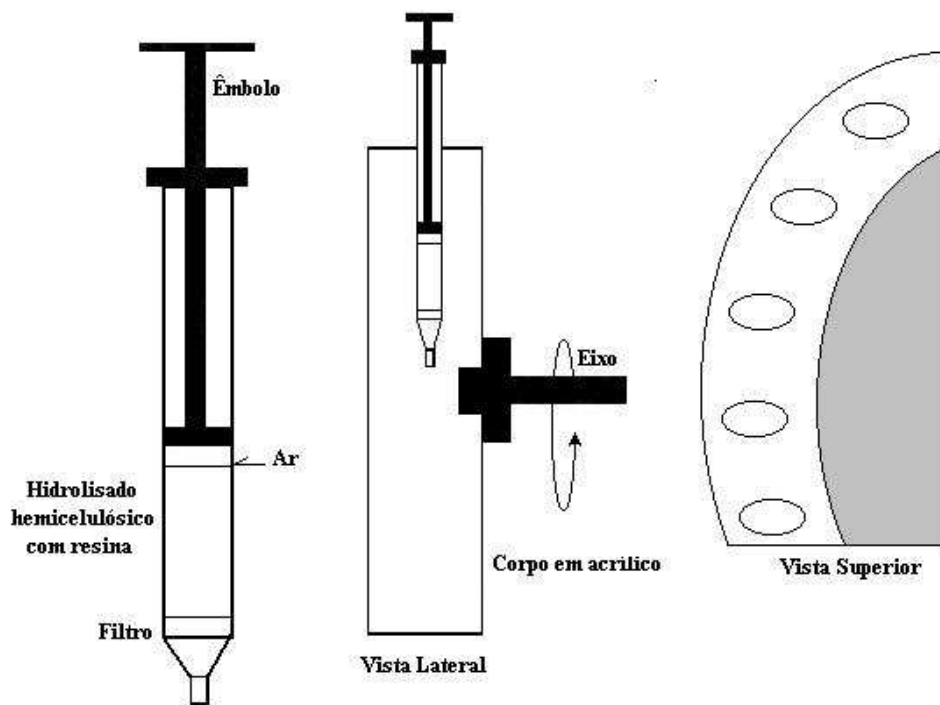


FIGURA 3.1: Esquema do equipamento utilizado para manter as colunas sob agitação (PEREIRA, 1999).

Após os experimentos de adsorção foram analisadas as concentrações de ácido acético, furfural e hidróximetil furfural no sobrenadante do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, visando a obtenção de isothermas e curvas cinéticas de adsorção. Os experimentos foram realizados em triplicata, para cada uma das resinas.

3.5.1. Cinética de adsorção

Para a construção das curvas cinéticas, para cada um dos inibidores avaliados, 42 colunas descartáveis com resina foram preparadas, e a resina condicionada. Uma amostra de 1 mL de hidrolisado foi colocada em cada uma das colunas juntamente com a massa de resina já condicionada. O sistema permaneceu sob agitação por períodos de tempo pré – determinados (20, 40, 60, 90) segundos e (2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 60) minutos. Decorrido o tempo estabelecido para cada uma das colunas com amostra, removeu-se o hidrolisado pressionando-se o êmbolo da coluna. Os filtrados foram recolhidos para posterior determinação da concentração de ácido acético, furfural e hidróximetil furfural. Este procedimento foi repetido para as resinas A-500, A-103S e C-155S.

3.5.2. Isothermas de adsorção

Para a determinação das isothermas de adsorção do ácido acético, furfural e hidróximetil furfural presentes no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar utilizou-se soluções em diferentes concentrações iniciais C_0 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), preparadas a partir do hidrolisado e água deionizada. Na TABELA 3.3. são apresentados os valores das concentrações iniciais de ácido acético, furfural e hidróximetil furfural nas soluções.

TABELA 3.3.: Valores de C_0 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) das soluções de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar utilizadas na obtenção das isotermas de adsorção.

	Diluições					
	0	1:1	1:2	1:3	1:4	1:5
Ácido acético	2,285	1,144	0,760	0,569	0,458	0,379
Furfural	0,169	0,086	0,060	0,042	0,035	0,028
Hidróximetil furfural	0,077	0,040	0,025	0,019	0,015	0,013

Nestes experimentos removeu-se a água de condicionamento da resina contida na coluna e colocou-se a solução de hidrolisado. As colunas foram levadas ao dispositivo de agitação por três horas. Após esse período, determinou-se a concentração de cada um dos compostos inibidores no sobrenadante. Por meio de um balanço de massa calculou-se a massa de cada um dos três compostos que foi adsorvido nas resinas.

O cálculo de q foi feito da seguinte forma:

$$q = \frac{(C_0 - C) \times v}{m_r},$$

em que,

q ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) é a quantidade de inibidor adsorvida na resina

C_0 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) é a concentração inicial do inibidor no hidrolisado

C ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) é a concentração final do inibidor no hidrolisado

v (mL) é o volume de hidrolisado contido na coluna

m_r (g) é a massa de resina contida na coluna

3.6. Métodos analíticos

As amostras para determinação de ácido acético, furfural e hidróximetil furfural no hidrolisado foram previamente centrifugadas por 10 minutos a 7000 x g, retirou-se o sobrenadante e foram novamente centrifugadas por mais 5 minutos a , aproximadamente, 7000 x g.

A determinação das concentrações de ácido acético foi realizada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), em um cromatógrafo WATERS, equipado com uma coluna Aminex HPX – 87H 300 mm de comprimento por 7,8 mm de diâmetro (BIO RAD), detector de índice de refração Waters 410. A fase móvel foi ácido

sulfúrico 0,01N, com vazão de 0,6 mL/min, temperatura da coluna de 45 °C e volume da amostra de 20 µL. O eluente antes de ser utilizado, foi filtrado à vácuo em membrana HAWP 0,45 µm (MILLIPORE) e degaseificado em banho de ultra-som (Microsonic SX – 50) por 15 minutos.

A determinação das concentrações de furfural e hidróximetil furfural foi realizada por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), em cromatógrafo SHIMADZU, equipado com uma coluna de fase reversa CLC – ODSM/C – 18 250 mm, comprimento de onda de 276 nm, detector de feixe de diodos. A fase móvel foi acetonitrila e água na proporção de 1:8 com 1 % de ácido acético, vazão de 0,8 mL/min, temperatura da coluna de 25 °C e volume da amostra de 20 µL. O eluente antes de ser utilizado, foi filtrado à vácuo em membrana GSWP 0,22 µm (MILLIPORE) e degaseificado em banho de ultra-som (Microsonic SX – 50) por 15 minutos.

As concentrações de ácido acético, furfural e hidróximetil furfural foram determinadas a partir de uma curva de calibração, construída para esta finalidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, o hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar obtido por hidrólise ácida foi tratado com diferentes resinas de troca iônica com o objetivo de avaliar a capacidade das mesmas em remover ácido acético, furfural e hidróximetil furfural (compostos inibidores do metabolismo de leveduras que fermentam a xilose presente no hidrolisado), bem como determinar a cinética do processo de adsorção. Foram avaliadas três resinas trocadoras de íons, A-500, A-103S e C-155S (PUROLITE®).

4.1. Cinética de adsorção

4.1.1. Cinética de adsorção de ácido acético

As curvas cinéticas de adsorção de ácido acético obtidas para as resinas A-500, A-103S e C-155S são mostradas nas FIGURAS 4.1. – (A), (B) e (C), respectivamente, onde C ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) representa a concentração de ácido acético no hidrolisado em um tempo t qualquer, para $t \neq 0$, e C_0 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) a concentração inicial do mesmo. A curva traçada no gráfico representa o comportamento da curva cinética.

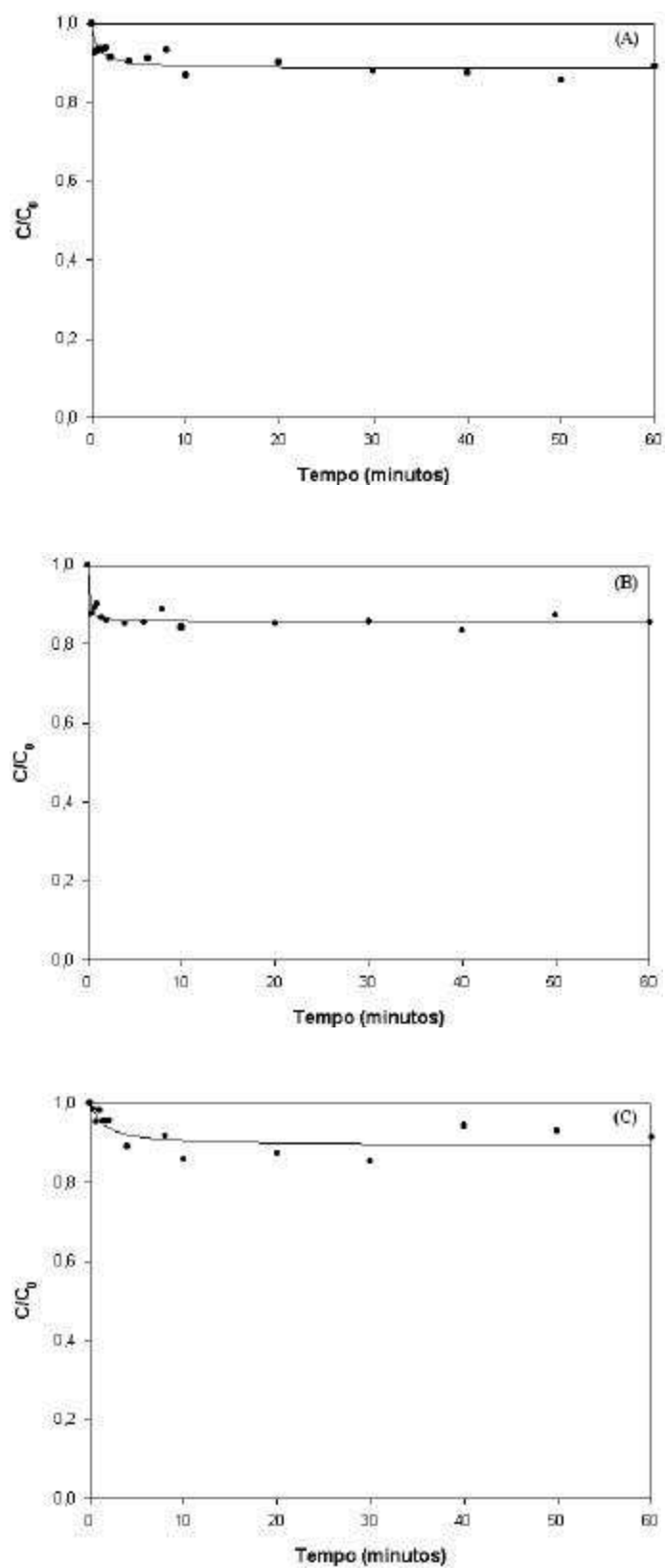


FIGURA 4.1.: Curva cinética de adsorção de ácido acético nas resinas: **(A)** aniônica A-500; **(B)** aniônica A-103S e **(C)** catiônica C-155S.

Observa-se que a concentração de ácido acético no hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar, após o tratamento, praticamente não varia com o tempo, e após 10 minutos o sistema entra em equilíbrio.

No final do processo de adsorção realizado com cada uma das três resinas, a concentração de ácido acético presente no hidrolisado corresponde a, aproximadamente, 88 % da concentração inicial.

Observa-se também que a resina C-155S apresenta, nos primeiros instantes, menor velocidade de adsorção do ácido acético quando comparada com as outras duas resinas. No entanto, após 10 minutos, a concentração de ácido acético no hidrolisado é, praticamente, a mesma para as três resinas.

A baixa adsorção de ácido acético pode ser devido ao fato de que o pH do hidrolisado encontrava-se bem próximo ao valor do pK_a do ácido acético, que é 4,76. Em pH igual ao seu pK_a , ou próximo a este, o ácido acético encontra-se com, aproximadamente, 50 % de suas moléculas em sua forma dissociada e, aproximadamente, 50 % em sua forma não dissociada. A adsorção é maior quando uma maior quantidade de moléculas encontra-se na forma não dissociada.

4.1.2. Cinética de adsorção de furfural e hidróximetil furfural

As curvas cinéticas de adsorção de furfural obtidas para as resinas A-500, A-103S e C-155S são mostradas nas FIGURAS 4.2. – (A), (B) e (C), respectivamente. As curvas cinéticas de adsorção de HMF para as mesmas resinas são mostradas nas FIGURAS 4.3. – (A), (B) e (C). onde C ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) é a concentração de furfural e HMF no hidrolisado em um tempo t qualquer, para $t \neq 0$, e C_0 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) a concentração inicial do mesmo. A curva traçada no gráfico representa o comportamento da curva cinética.

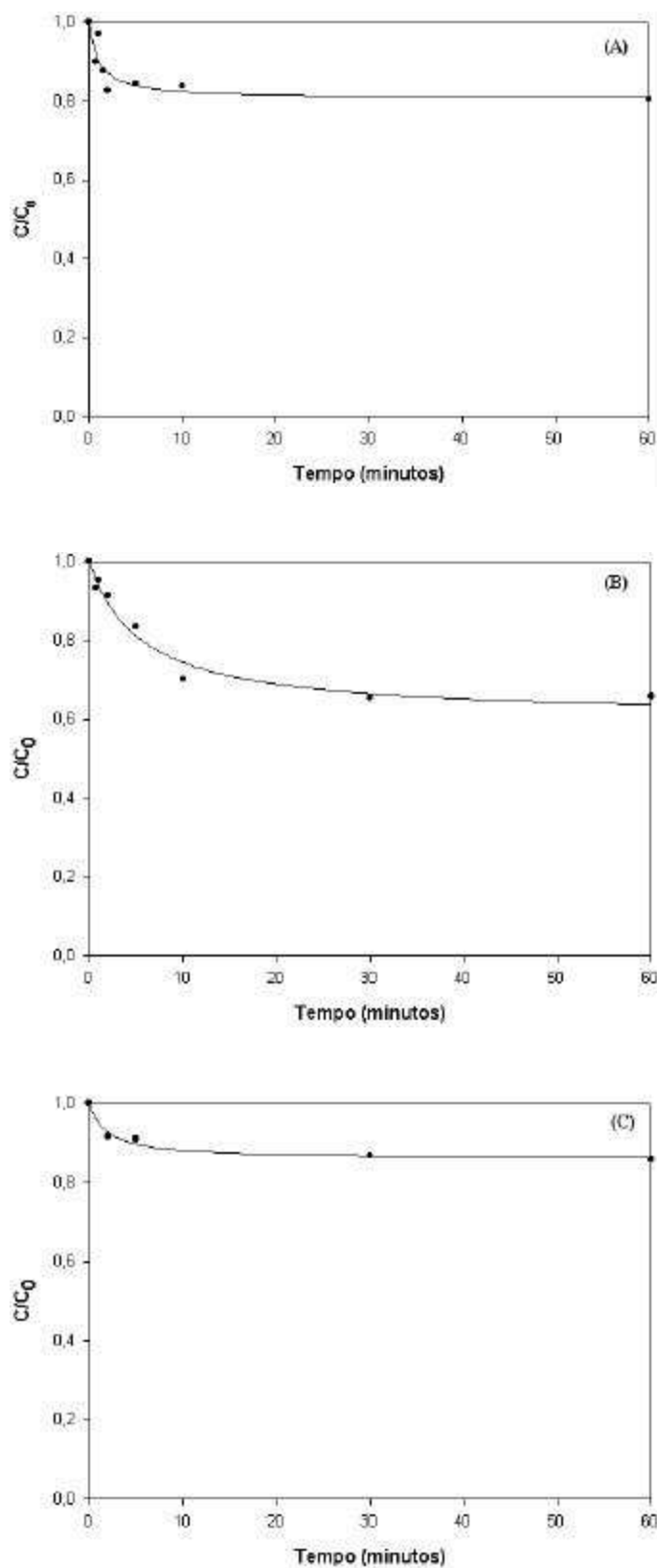


FIGURA 4.2.: Curva cinética de adsorção de furfural nas resinas: (A) aniônica A-500; (B) aniônica A-103S e (C) catiônica C-155S.

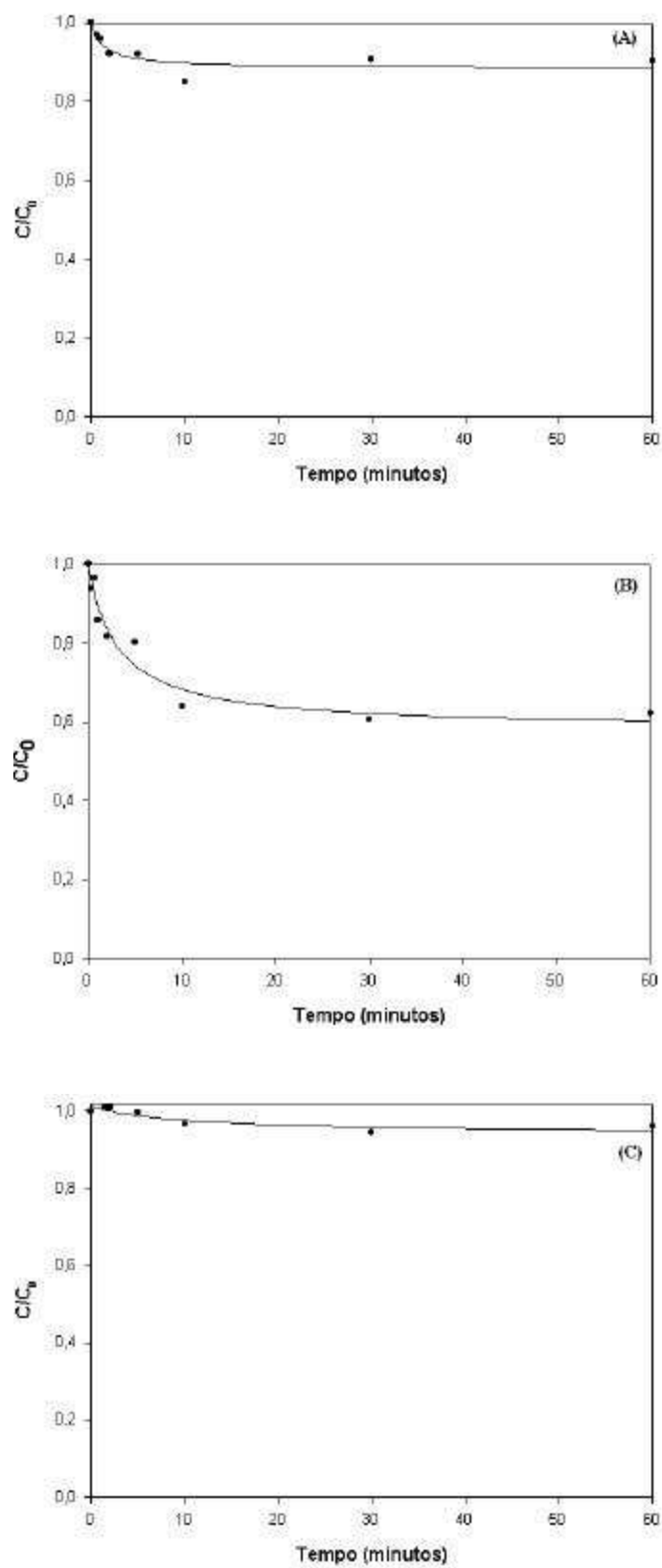


FIGURA 4.3.: Curva cinética de adsorção de hidróximetil furfural nas resinas: **(A)** aniônica A-500; **(B)** aniônica A-103S e **(C)** catiônica C-155S.

Observa-se que para as resinas A-500 e C-155S a adsorção de furfural e hidróximetil furfural, após 60 minutos, é inferior quando comparada com a resina A-103S. No entanto, apesar desta resina apresentar uma maior capacidade em adsorver estes inibidores, ela apresenta uma menor velocidade de adsorção.

Pode-se observar que após 10 minutos o sistema entra em equilíbrio e que a resina A-103S adsorve, aproximadamente, 40 % de furfural e de hidróximetil furfural presentes no hidrolisado, mostrando-se, então, a mais adequada para adsorção destes inibidores.

Quanto à adsorção de furfural as resinas A-500 e C-155S praticamente não apresentaram diferença em relação a sua capacidade em adsorver este composto, visto que a quantidade adsorvida foi praticamente a mesma. A adsorção de furfural pela resina A-500 corresponde, no final do processo a, praticamente, 20 %, enquanto para a resina C-155S essa quantidade corresponde a 15 %.

Na adsorção de hidróximetil furfural pode-se observar que a resina C-155S foi a que adsorveu uma menor quantidade do inibidor. No final do processo de adsorção a concentração de hidróximetil furfural no hidrolisado tratado com esta resina corresponde à cerca de 95 % da concentração inicial, enquanto no hidrolisado tratado com a resina A-500 essa quantidade corresponde a 85 %.

As três resinas apresentam um comportamento semelhante tanto na adsorção de furfural quanto na adsorção de hidróximetil furfural. Em relação a velocidade de adsorção elas também apresentam comportamento semelhante para quaisquer dos compostos inibidores avaliados.

As resinas A-103S e A-500 são aniônicas, no entanto, diferem entre si em suas aplicações específicas. A resina A-103S apresenta basicidade relativamente alta, o que permite a adsorção de ácidos orgânicos com valores de pK_a até 5,0 (PUROLITE®), que é o caso do ácido acético que apresenta um pK_a de 4,76. Esta resina também é aplicada na remoção de substâncias de elevada massa molecular no processo de remoção de cor em açúcar obtido a partir da beterraba e da cana-de-açúcar, e também em sucos de frutas. Apresenta também uma elevada capacidade na remoção de minerais nestes mesmos processos. A resina A-500 também é usada na remoção de substâncias orgânicas de elevada massa molecular (PUROLITE®).

Em estudo realizado por NÁPOLES (1998) as resinas A-500, A-103S e C-155S foram utilizadas na purificação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar para a obtenção de xilitol. Neste trabalho foram realizados diferentes processos para tratamento do hidrolisado: 1) com resinas Amberlite; 2) neutralização

com CaO; 3) purificação com carvão ativado e 4) tratamento com resinas de troca iônica. Neste último tratamento foi removida a cor do hidrolisado com a resina aniônica A-860S (PUROLITE®), e, posteriormente, fez-se a purificação com as resinas C-155S e A-500, respectivamente. Finalmente corrigiu-se o pH para 5,4 com a resina A-103S. Os tratamentos avaliados com as resinas de troca iônica foram mais eficazes obtendo-se uma remoção de praticamente todos os inibidores. O autor avaliou os hidrolisados tratados através da fermentação e concluiu que a purificação com as resinas de troca iônica A-500, A-103S e C-155S proporcionou a obtenção de um hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar livre de impurezas, maior eficiência de fermentação (84,44 %), maior rendimento ($Y_p/s=0,7743 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$) e maior produtividade ($0,7107 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

NILVEBRANT et al. (2001), estudando a purificação de hidrolisados lignocelulósicos com resinas de troca iônica, observaram que tanto o tratamento com a resina aniônica, quanto com a catiônica, ou até mesmo com a resina não carregada XAD-8, causou uma diminuição na concentração de furfural e HMF. O método que removeu estes inibidores com maior eficiência foi aquele que utilizou 8 g de resina aniônica em 50 ml de hidrolisado lignocelulósico em pH 10,0. Em experimentos utilizando soluções modelo a resina não carregada removeu praticamente todo o HMF e dois terços do furfural, apresentando maior eficiência também em pH 10,0. Quando utilizaram uma maior quantidade de resina a remoção destes inibidores foi significativamente maior.

Estes autores concluíram que o furfural e o HMF foram removidos pelas matrizes das resinas por outro mecanismo que não a troca iônica. Os grupos carregados das resinas aniônica e catiônica fazem com que as mesmas se tornem mais hidrofílicas que a resina não carregada. Consequentemente apresentam menor afinidade pelos inibidores, furfural e HMF, do que a resina XAD-8. Nos experimentos realizados com o hidrolisado a pH 10,0, observou-se maior eficiência na remoção desses inibidores, ao menos com a resina não carregada. A conclusão a que chegaram estes autores é que em pH 10,0 a força iônica é mais elevada. Também concluíram que a remoção dos inibidores, em experimentos realizados com o hidrolisado, foi maior quando utilizaram uma maior quantidade das resinas.

4.2. Isotermas de adsorção

4.2.1. Isotermas de adsorção de ácido acético

Nas FIGURAS 4.4. – (A), (B) e (C) são apresentadas as isotermas de adsorção de ácido acético, utilizando-se como adsorvente as resinas A-500, A-103S e C-155S, respectivamente.

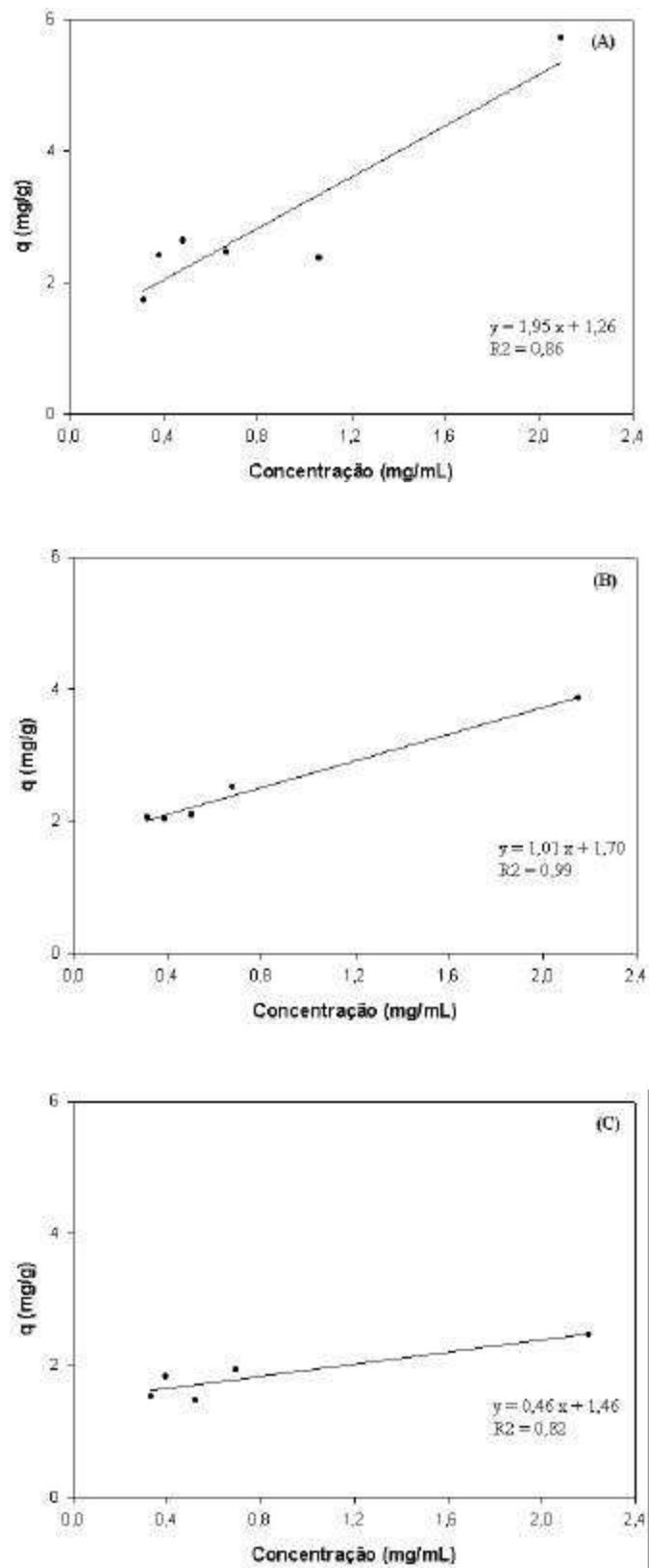


FIGURA 4.4.: Isoterma de adsorção de ácido acético nas resinas: **(A)** aniônica A-500; **(B)** aniônica A-103S e **(C)** catiônica C-155S.

Observa-se que as isotermas de adsorção para ácido acético têm comportamento linear na região das concentrações de equilíbrio estudadas, permitindo o ajuste de uma reta dos dados experimentais.

O experimento para a determinação das isotermas não foi realizado para concentrações de equilíbrio de ácido acético maiores porque estas estariam fora da região de interesse da situação encontrada, normalmente, no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar empregado para a obtenção de xilitol por via fermentativa. O comportamento para as regiões de concentrações mais elevadas não pode ser extrapolado, pois não seria representativo.

De acordo com os resultados representados nas FIGURAS 4.4. – (A), (B) e (C) observa-se que a resina A-500 apresentou a maior quantidade de ácido acético adsorvida por grama de resina (q), enquanto a resina C-155S foi a que apresentou um menor valor para este parâmetro. No entanto, é possível observar que a adsorção de ácido acético por quaisquer das três resinas não é elevada, devido, provavelmente, às condições de pH utilizadas no experimento.

4.2.2. Isotermas de adsorção de furfural e hidróximetil furfural

Na FIGURA 4.5. é apresentada a isoterma de adsorção de furfural utilizando-se como adsorvente a resina A-103S. E na FIGURA 4.6. é apresentada a isoterma de adsorção de HMF utilizando-se como adsorvente a resina C-155S.

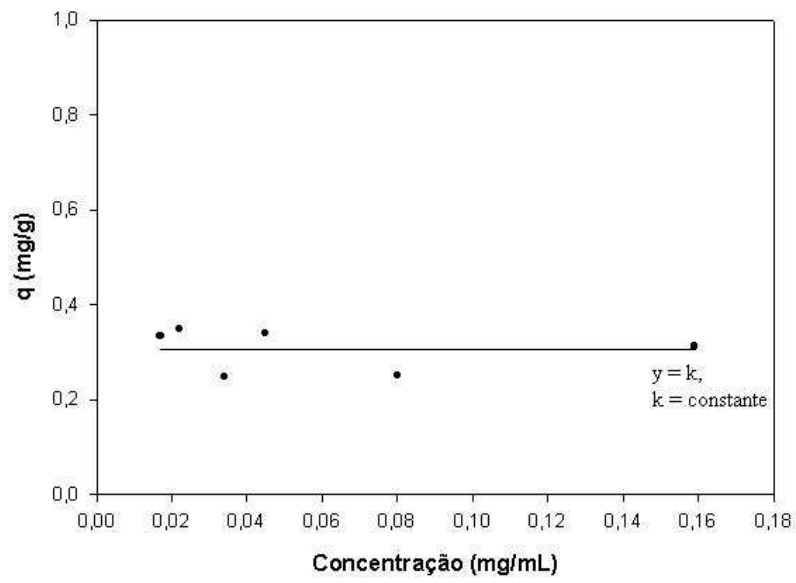


FIGURA 4.5.: Isoterma de adsorção de furfural na resina aniônica A-103S

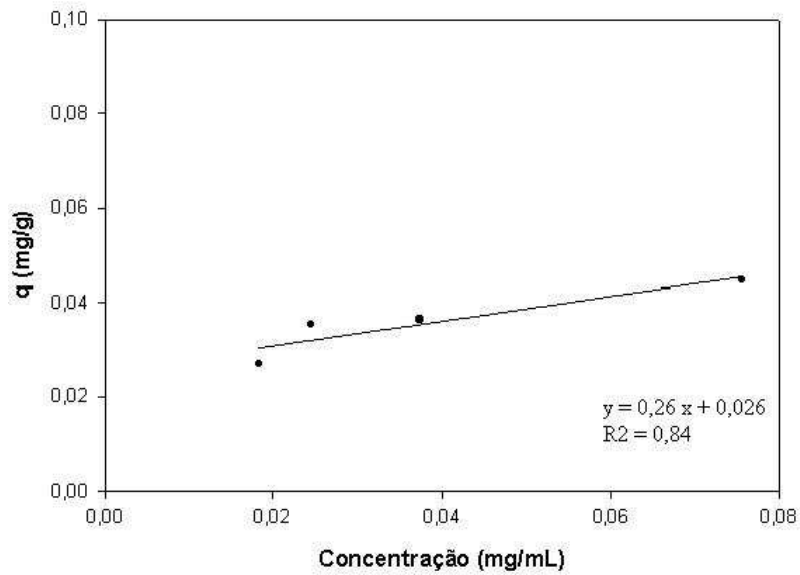


FIGURA 4.6.: Isoterma de adsorção de hidróximetil furfural na resina catiônica C-155S.

Devido às pequenas concentrações iniciais de furfural no hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar não foi possível construir as isotermas de adsorção para este composto inibidor nas resinas A-500 e C-155S. Para o hidróximetil furfural ocorreu o mesmo com as resinas A-500 e A-103S.

Na FIGURA 4.5. é possível o ajuste de uma reta aos dados experimentais obtidos, pressupondo um processo de adsorção irreversível. Na FIGURA 4.6. também é possível o ajuste dos dados experimentais a uma reta, mas a adsorção é bem pequena.

Para a adsorção de furfural, a resina A-103S foi a única das três resinas que apresentou comportamento que permite sua representação gráfica. Para as demais resinas os dados experimentais obtidos não permitiram esse ajuste, uma vez que as concentrações muito baixas de furfural acarretam em erros experimentais, dificultando a análise dos resultados. Também para o furfural, assim como para o ácido acético, não foi possível extrapolar o resultado para concentrações de equilíbrio maiores, pois não representaria a situação encontrada no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar.

Nos experimentos para a construção das isotermas de adsorção de hidróximetil furfural nas resinas A-500 e A-103S, devido às baixas concentrações em que este composto se encontra no hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar, também não foi possível representar os resultados graficamente.

Tanto para o hidróximetil furfural, como para o furfural, o erro experimental é um fator que deve ser levado em consideração, pois dificulta a determinação do comportamento das isotermas em relação a adsorção destes inibidores.

As três resinas utilizadas, A-500, A-103S e C-155S apresentam um tamanho de partícula relativamente grande, por isso não foi possível, nos experimentos, pesar uma quantidade de resina exatamente igual a 50 mg. Este fato acarretou um erro no cálculo de q , fazendo com que a adsorção fosse grandemente afetada em cada uma das colunas, pela diferente quantidade de resina e pelas baixas concentrações dos compostos. Essa baixa concentração dos compostos também pode ser refletida em erros experimentais no momento de preparo das soluções com diferentes concentrações de equilíbrio.

O hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar é um sistema multicomponente, onde muitos compostos estão presentes na solução. Isso faz com que a quantidade adsorvida de cada um destes, no equilíbrio, seja menor quando comparado com os mesmos em solução pura, pois outros elementos interferem na sua adsorção. Portanto, o estudo de isotermas para o hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-

açúcar in natura torna-se difícil, uma vez que os compostos inibidores, principalmente o furfural e o hidróximetil furfural, encontram-se em baixas concentrações.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Os resultados experimentais do presente trabalho permitem concluir que:

- o tempo de contato necessário entre as resinas, A-500, A-103S e C-155S, e o hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, para que o sistema de adsorção entre em equilíbrio, é de 10 minutos;
- os melhores resultados no processo de adsorção foram obtidos com a resina aniônica A-103S, que adsorveu a maior quantidade de furfural e de hidróximetil furfural;
- em relação ao ácido acético nenhuma das três resinas de troca iônica adsorveu quantidade expressiva deste composto inibidor;
- a resina aniônica A 103S é a que apresenta uma maior velocidade de adsorção de ácido acético no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, seguida pelas resinas aniônica A-500 e catiônica C-155S, respectivamente;
- no processo de adsorção de furfural e de hidróximetil furfural a resina A-500 apresentou uma maior velocidade de adsorção destes compostos, seguida pelas resinas C-155S e A-103S;
- nos experimentos de isotermas de adsorção de ácido acético foi possível observar um comportamento linear na região de concentrações de equilíbrio estudadas para as resinas avaliadas;
- nos experimentos de isotermas de adsorção de hidróximetil furfural na resina catiônica C-155S foi possível ajustar os dados obtidos a uma reta. No entanto, para as

resinas aniônica A-500 e catiônica C-155S não foi possível obter resultados experimentais representativos;

- na construção das isotermas de adsorção para furfural apenas para a resina A-103S foi possível uma representação gráfica dos dados obtidos, pressupondo uma isoterma irreversível;

- a caracterização prévia do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar pode facilitar a execução dos experimentos, auxiliando na escolha adequada das variáveis a serem utilizadas;

- Novos trabalhos devem ser realizados no sentido de se avaliar o pH do hidrolisado e a massa de resina utilizada;

- estudos com diferentes tipos de resinas de troca iônica, inclusive não carregadas, permitirão a obtenção de resultados que possibilitarão melhores avaliações.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMSON, A.W. **Physical chemistry of surfaces**. New York : John Wiley & Sons, 1990. 5. ed. 537p.

AGRIANUAL. São Paulo : FNP Consultoria & Comércio, 2000-anual.

ALVES, L. A. **Avaliação do tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar para produção biotecnológica de xilitol**. 1997. 92 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Faculdade de Engenharia Química de Lorena.

AMINOFF, C., VANNINEN, E., DOTY, T.E. The occurrence manufacture and properties of xylitol. In: COUNSELL, J.N. **Xylitol**. London : Applied Science, 1978. p. 1-9.

BÄR, A. Xylitol. In: LYN O'BRIEN NABORS, ROBERT C. GERALDI **Alternative sweeteners**, 2. ed. rev. exp. New York : Marcel Dekker, INC., 1991. p. 349-379.

BARBOSA, M. F. et al. Screening of yeasts for production of xylitol from D-xilose and some factors wich affect xylitol yield in *Candida guilliermondii*. **Journal of Industrial Microbiology**, Amsterdan, v. 3, n. 4, p. 241-251, 1988.

BÄSSLER, K. H. Biochemistry of xylitol. In: COUNSELL, J.N. **Xylitol**. London : Applied Science, 1978. p. 35-41.

BISARIA, V.S., GHOSE, T.K. Biodegradation of cellulosic materials : substrates, microorganisms, enzymes and products. **Enzyme and Microbial Technology**, Surrey, v. 3, n. 2, p. 90-104, 1981.

CHEN, L.F., GONG, C.S. Fermentation of sugar cane bagasse hemicelulose hidrolysate to xylitol by a hidrolysate acclimatized yeast. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n. 3, p. 226-228, 1985.

CRUZ, J.M. **Adsorção de insulina em resina trocadora de íon utilizando leitos fixos e expandidos**. 1997. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas.

D'ALMEIDA, M.L.O. Composição química dos materiais lignocelulósicos. In: **Celulose e papel – tecnologia de fabricação da pasta celulósica**. 2. ed. São Paulo : Escola SENAI “Theobaldo De Nigris”, 1988. p. 47-80.

DECHOW, F.J. Ion exchange. In: VOGEL, H. **Fermentation and biochemical engineering handbook**. USA : Noyes Publication, 1983. p. 207-225.

EMODI, A. Xylitol - its properties and food applications. **Food Technology**, Chicago, v. 28, n. 1, p. 28-32, 1978.

FELIPE, M. G. A. et al. Preparation of xylitol by fermentation of a hydrolysate of hemicellulose obtained from sugar cane bagasse. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 36, n. 1, p.103-114, 1993.

_____. Fermentation of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate for xylitol production: effect of pH. **Biomass and Bioenergy**, Great Britain, v. 13, n. 1/2, p. 11-14, 1997.

FENGEL, D., WENGER, G. **Wood** : chemistry, ultrastructure, reacctions. Berlim : Walter de Cruyter, 1989. 613 p.

FRAZER, F. R., McCASKEY, T. A. Wood hydrolysate treatments fermentation of sugar to 2,3-butanediol. **Biomass**, London, v. 18, n. 1, p. 31-42, 1989.

GONG, C., CHEN, L.F., TSAO, G.T. Quantitative production of xylitol from D-xylose by a high xylitol producing yeast mutant *Candida tropicalis* HXP2. **Biotachnology Letters**, Middlesex, v. 3, n. 3, p. 125-130, 1981.

___, et al. Conversion of pentoses by yeasts. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 25, p. 85-102, 1983.

___, CHEN, C. S., CHEN, L. F. Pretreatment of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolyzate for ethanol production by yeast. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Totowa, v. 39/40, p. 83-89, 1993.

HAVING, G. J. **Biological utilization of wood for production of chemicals and foodstuffs**. US. Dept. Agric. For. Serv. Prod. Lab. Madison. WI. Research paper FPL 385. 1981.

HEIKKILÄ, H. et al. **Method for the production of xylitol from mixture containing xylose**. US Patent WO n. 90/08193, 26 jul. 1990, 15 jan. 1990.

HORSTMANN, B.J., CHASE, H.A. Modelling the affinity adsorption of immunoglobulin G to protein A immobilised to agarose matrices. **Chemical Engineering Research Development**, v. 67, n. 3, p. 243-254. 1989.

HYVÖNEN, L., KOIVISYOINEN, P., VOIROL, F. Food technological evaluation of xylitol. **Advances in Food Research**, New York, v. 28, n. 4, p. 373-403, 1982.

JAFFE, G.M., SZKRYBALO, W., WEINERT, P.H. **Process producing xylose**. United States Patent Office, n. 3.784.408, 10 set. 1970, 08 nov. 1974.

JEFFRIES, T.W. Utilization of xylose by bacteria, yeasts and fungi. **Advances in Biochemical Engineering**, New York, v. 27, n. 1, p. 132, 1983.

_____, SREENATH, H.K. Fermentation of hemicellulosic sugar and sugar mixtures by *Candida shehatae*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 31, p. 502-506, 1988.

KRACHER, F. Some aspects of food technology. In: COUNSELL, J.N. **Xylitol**. London : Applied Science, 1978. p. 21-24.

KUHAD, R.C., SINGH, A. Lignocellulose biotechnology: current and future prospects. **Critical reviews in biotechnology**, Cleveland, v. 13, n. 2, p. 151-172, 1993.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **J. Am. Chemical Soc.**, 30, p.2263-2295, 1916.

McCABE, W. I., SMITH, J. C., HARRIOTT, P. **Unit operations of chemical engineering**, 5. ed. McGraw-Hill Book Co., 1993, 1130p.

MADDOX, I. S., MURRAY, A. E. Production of n-butanol by fermentation of wood hydrolysate. **Biotechnology Letters**, Middlesex, v. 5, n. 3, p. 175-178, 1983.

MANZ, U., VANNINEN, E., VOIROL, F. Xylitol - its properties and use as a sugar substitute in foods. **Food R. A. Symp. Sugar and Sugar Replacements**, London, October, 1973.

MELAJA, A. J., HÄMÄLÄINEN, L. **Process for making xylitol** US Patent WO n. 4.008.285, 15 fev. 1977, 15 jun. 1975.

MOLWITZ, M. et al. Aspects of the cell growth of *Candida guilliermondii* in sugar cane bagasse hydrolysate. **Z. Naturforsch**, v. 51c, p. 404-408, 1996.

NÁPOLES, A.I. et al. **Obtención de xilitol a partir de bagazo de la caña de azúcar.** In: V Congreso Iberoamericano de Desechos y Tecnologías limpias y IV Taller Iberoamericano de la red de Aprovechamiento de desechos industriales, 1997, Costa Rica.

____. **Tratamento de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar mediante resinas de troca iônica.** Lorena : FAENQUIL, 1998. (Relatório de pesquisador visitante processo FAPESP Nº: 97/5379-3).

NILVEBRANT, N. et al. Detoxification of lignocellulose hydrolysates with ion-exchange resins. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Sweden, v. 91-93, p. 35-49, 2001.

OJAMO, H., YLINEN, L, LINKO, M. **Process for the preparation of xylitol from xylose by cultivating *Candida guilliermondii*.** US Patent WO 88/05467, 28 jul 1988, 08 dez 1987.

ONISHI, H., SUZUKI, T. The production of xylitol, L-arabitol and ribitol by yeasts. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 30, n. 11, p. 1139 -1144, 1966.

PARAJÓ, J. C., DOMINGUEZ, H., DOMINGUEZ, J. M., Production of xylitol from concentrated wood hydrolysates by *Debaryomyces hansenii*: Effect of the initial cell concentration. **Biotechnology Letters**, New York, v. 18, n.5, p. 593-598, 1996.

PELCZAR, M., REID, R., CHAN, E.C.S. **Microbiologia.** São Paulo . Mc. Graw Hill, 1980. v. 1. 566 p.

PEPPER, T., OLINGER, P. M. Xylitol in sugar free confections. **Food Technogy**, Chicago, v. 42, n. 10, p.100-101, 1988.

PESSOA JÚNIOR, A. **Produção de biomassa microbiana a partir de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar.** 1991. 187 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo.

PEREIRA, J.A.M. **Adsorção de beta-galactosidase de *Scopulariopsis sp* em resina trocadora de íons objetivando a purificação e a ampliação de escala.** 1999. Dissertação (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.

____, SANTANA, C.C.P. Adsorção de beta-galactosidase a partir de caldo bruto de fermentação em resina trocadora de íons. In: II ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE ADSORÇÃO, 2, 1998, Florianópolis. **Anais do II Encontro Brasileiro sobre Adsorção.** Florianópolis : Universidade Federal de Santa Catarina, 1998. v. 1, p. 30-40.

PHARMACIA BIOTECH®. **Ion exchange chromatography – principles and methods.** Edition AA. 157p. 199-.

PUROLITE®. **Macroporous weak-base anion-exchange resin.** [Pennsylvania], [199-]. Não paginado. (Technical Data. Ion Exchange Resins-A-103S)

____. **Anion exchange resin type I strong-base macroporous.** [Pennsylvania], [199-]. Não paginado. (Technical Data. Ion Exchange Resins-C-155S)

____. **Macroporous strong acid cation-exchange resin.** [Pennsylvania], [199-]. Não paginado. (Technical Data. Ion Exchange Resins-A-103S)

RAMOS, R. M. **Tratamento de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar com sais de alumínio para a obtenção de xilitol por via fermentativa.** 1998. 116p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa.

ROBERTO, I.C. et al. Utilization of sugar cane bagasse hemicelulosic hydrolysate by *Candida guilliermondii* for xylitol production. **Bioresource Technology**,_New York, v.36, n.3, p.271-275, 1991.

____, et al. Evaluation of rice straw hemicellulosic hydrolysate in the production of xylitol by *Candida guilliermondii*. **Biotechnology Letters**, Middlesex, v. 16, n. 11, p. 1211-1216, 1994.

____, et al. Xylitol production by *Candida guilliermondii* as an approach for the utilization of agroindustrial residues. **Bioresource Technology**, New York, v.51, n.2/3, p. 255-257, 1995a .

____, et al. Influence of media composition on xylitol fermentation by *Candida guilliermondii* using response surface methodology. **Biotechnology Letters**, Middlesex, v. 17, n. 11, p. 1223-1228, 1995b.

SILVA, S.S. et al. Use of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate for lactic acid production. In: **Internacional Conference on Biomass for Energy and Industry**, 5, 1989, Lisboa. Proceedings, London : Elsevier, 1990. v. 2, p.2.1005-2.1009.

____. **Produção de xilitol por via biotecnológica: estudo de sistemas de biorreatores e parâmetros fermentativos**. 1994. 183p. Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo.

SPADARO, A.C.C. Cromatografia por troca iônica. In: COLLINS, C.H. & BRAGA, G.L. **Introdução a métodos cromatográficos**. Campinas : Editora da UNICAMP, 1987. p. 89-105.

TRAN, A. V., CHAMBERS, R. P. Red oak wood derived inhibitors in the ethanol fermentation of xylose by *Pichia stipitis* CBS 5776. **Biotechnology Letters**, Middlesex, v. 7, n. 11, p. 841-846, 1985.

VAN ZYL, C., PRIOR, B. A., DU PREEZ, J. C. Acetic acid inhibition of D-xylose fermentation by *Pichia stipitis*. **Enzyme and Microbial Technology**, Surrey, v. 13, n. 1, p. 82-86, 1991.

____, _____. Production of ethanol from sugar cane bagasse hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 17, p. 357-369, 1988.

VOGEL-LOHMEIER, E. M.; SOPHER, C. R.; LEE, H. Intracellular acidification as a mechanism for the inhibition by acid hydrolysis-derived inhibitors of xylose fermentation by yeast. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 20, p. 75-81, 1998.

VOIROL, F. The Value of Xylitol as an ingredient in confectionery. In: COUNSELL, J.N. **Xylitol**. London : Applied Science, 1978. p. 11-20.

WANG, M.Y., VAN EYS, J. Nutritional significance of fructose and sugar alcohols. **Annual Review of Nutrition**. Palo Alto, v. 1, p. 437-475, 1981.

WASHÜTTL, J., RIEDERE, P., BANCHER, E. A qualitative and quantitative study of sugar-alcohols in several foods. **Journal of Food Science**, v. 38, n. 7, p. 1262-1263, 1973.

YLIKAHRI, R., Metabolic and nutritional aspects of xylitol. **Advances in Food Research**, n. 25. p. 159-180, 1979.