

AValiação DO SISTEMA COMBINADO DE TRATAMENTO DO HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR COM CARVÃO ATIVO E RESINAS DE TROCA IÔNICA PARA SUA UTILIZAÇÃO COMO MEIO DE FERMENTAÇÃO

Resumo

O bagaço de cana-de-açúcar, subproduto do setor sucroalcooleiro, embora utilizado na co-geração de energia nas usinas de açúcar e álcool, vem se destacando em várias pesquisas como matéria-prima em diferentes processos fermentativos por sua fração hemicelulósica ser formada na sua maior parte pelo açúcar D-xilose. As leveduras fermentadoras de D-xilose, como as do gênero *Candida*, destacam-se por excretarem xilitol no meio, um poliálcool de sabor doce produzido industrialmente por processo químico. O xilitol é bastante aplicado comercialmente nos seguimentos farmacêutico, odontológico e alimentício devido às suas propriedades peculiares como sua anticariogenicidade, metabolismo independente de insulina, indicado na prevenção de osteoporose e no tratamento de doenças respiratórias. Durante a hidrólise ácida do bagaço necessária para a liberação dos açúcares de sua fração hemicelulósica, são também liberados compostos tóxicos às leveduras como fenóis, ácido acético, furfural e 5-hidroximetilfurfural. A toxicidade destes compostos às leveduras, como a inibição da atividade fermentativa é atribuída principalmente à concentração de compostos tóxicos no meio de fermentação bem como a interação sinérgica entre eles quando presentes no meio mesmo em baixas concentrações. Desta forma, diferentes procedimentos de destoxificação dos hidrolisados hemicelulósicos têm sido propostos para minimizar a toxicidade dos mesmos às células. No presente trabalho o principal objetivo foi avaliar o sistema combinado de tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar com a utilização de colunas de vidro empacotadas com carvão ativo e resinas de troca iônica visando a destoxificação do hidrolisado e sua utilização na produção biotecnológica de xilitol por *Candida guilliermondii* FTI 20037. O tratamento consistiu na utilização de carvão ativo vegetal granular Alfa Lu e resinas trocadoras de íons (A-860S, A-500PS, C-150 e A-103S). O tratamento utilizando apenas carvão ativo foi também empregado. Os hidrolisados tratados foram suplementados com nutrientes para a fermentação com *C. guilliermondii* em frascos Erlenmeyer, pH inicial 5,5, temperatura de 30°C em incubadora de movimento rotatório a 200 rpm por 72 horas. A combinação do tratamento de carvão ativo com resinas proporcionou o máximo fator de conversão de D-xilose em xilitol (0,89 g/g) o que correspondeu a um aumento de 44% no valor deste parâmetro quando comparado aquele em que se utilizou apenas o carvão. Este favorecimento pode ser atribuído a maior remoção de fenóis (95%) nesta condição de tratamento. Por outro lado, observou-se nesta condição maior perda também de D-xilose (40%), o que é indesejável. A concentração de células não foi influenciada pelo tipo de tratamento empregado. A formação do glicerol como subproduto deste metabolismo foi também observado, sendo sua formação favorecida na fermentação do hidrolisado tratado somente com carvão ativo. Este comportamento é justificado pelo fato de ser o glicerol um soluto compatível e maior velocidade de sua formação já nas primeiras 48 horas coincidir com a condição de menor remoção (80 %) de compostos tóxicos do hidrolisado, principalmente fenóis.

Palavras-chave: hidrolisado de bagaço de cana, destoxificação, carvão ativo, resinas de troca iônica, D-xilose, xilitol

*Rimenys Junior Carvalho**,
José Marcelo Marton,
Felipe Silva e
Maria das Graças A.
Faculdade de Engenharia
Química de Lorena (Faenquil)
Departamento de
Biotecnologia

*Autor para correspondência:
Faculdade de Engenharia
Química de Lorena (Faenquil)
Departamento de
Biotecnologia
Rod. Itajubá-Lorena Km 74,5
Caixa Postal 116
CEP 12600-970. Lorena. SP
Fone: (12) 3159-5027
E-mail:
ridyjunior@yahoo.com.br

Summary

The sugarcane bagasse has been stood out in several researches as raw material in different fermentative processes because its hemicellulosic fraction is mainly formed by D-xylose sugar. The D-xylose fermenting yeasts, like the *Candida* species, stand out by releasing xylitol in the medium, a polyol of sweet taste commercially produced by chemical process. The xylitol is widely applied in the pharmaceutical, odontological and food industries, due to its peculiar properties like its anticariogenicity, insulin-independent metabolism, prevention of osteoporosis and treatment of respiratory diseases. During the bagasse acid hydrolysis necessary to the sugars release from its hemicellulosic fraction, toxic compounds to the yeast are also released, such as phenols, acetic acid, furfural and 5-hydroxymethylfurfural. The toxicity of these compounds to the yeasts such as inhibition of fermentative activities is mainly attributed to their concentration in the fermentation medium, as well as to their synergistic attraction when present in the medium even in low concentrations. Thus, different procedures of detoxification of hemicellulosic hydrolysates have been proposed in order to minimize their toxicity to the cells. In the present work, the main objective was to evaluate the combined system of sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate treatment with active charcoal and ion exchange resins for its use in the biotechnological xylitol production by *Candida guilliermondii*. The treatment consisted of the use of vegetal active charcoal and resins (A-860S, A-500PS, C-150 and A-103S). The treatment using only active charcoal was also employed. The treated hydrolysates were supplemented with nutrients to fermentation by *C. guilliermondii* in Erlenmeyers flasks, at 5.5 initial pH, 30°C, in incubator of rotatory movement at 200 rpm for 72 hours. The combination of active charcoal with resins provided the maximum conversion factor of D-xylose into xylitol (0.89 g/g), which corresponds to an increase of 44% when compared to the treatment using only charcoal. This enhancement can be attributed to the highest phenol removal (95%) under this treatment condition. On the other hand, under this condition, there was a higher D-xylose removal (40%), which is desirable. The cells concentration was not influenced by the type of treatment employed. The glycerol formation as by-product of this metabolism was also observed, and it is favored in the fermentation of the hydrolysate treated with only active charcoal. This behavior is justified because the glycerol is a compatible solute and its higher formation rate at 48 h coincides with the lower removal (80 %) of toxic compounds (mainly phenols) from the hydrolysate.

Keywords: sugarcane bagasse hydrolysate, detoxification, active charcoal, ion exchange resins, D-xylose, xylitol

Introdução

A biomassa vegetal é considerada atualmente o maior recurso energético do mundo, além de outras finalidades atribuídas a ela. O bagaço de cana-de-açúcar vem se destacando entre essas biomassas devido a sua abundância e a diversos produtos que dele podem ser obtidos (1). Esse material lignocelulósico possui em sua constituição, aproximadamente, 50% de celulose, 25% de hemicelulose e 25% de lignina (2) e a partir de sua hidrólise ácida obtém-se um hidrolisado contendo açúcares pentoses como D-xilose e L-arabinose e hexoses como D-glicose além de compostos tóxicos como ácido acético, furfural, 5-hidroximetilfurfural, compostos fenólicos e íons metálicos (3). Devido ao alto teor de D-xilose em sua fração hemicelulósica e a capacidade de microrganismos fermentarem esta pentose, várias pesquisas vêm sendo feitas para o desenvolvimento de uma tecnologia de produção biotecnológica de xilitol a partir do bagaço de cana de açúcar.

O xilitol, um adoçante substituto de açúcar na dieta de diabéticos e obesos, possui propriedade anticariogênica (4) e

tem potencial aplicação na prevenção de osteoporose (5), no tratamento de fibrose cística (6) e de otite média (7). Além disso, possui elevado poder adoçante comparável ao da sacarose (8), e não participa das reações do tipo Maillard (9) que dão cor escura aos alimentos. Devido às suas propriedades peculiares, este álcool pentahidroxilado vem sendo utilizado nos diferentes segmentos industriais como alimentício, farmacêutico e odontológico. Sua produção comercial ocorre por processo químico a partir da hidrogenação catalítica da D-xilose obtida de materiais lignocelulósicos ricos em xilana (10). Por ser este um processo de elevado custo em função, principalmente, das necessárias etapas de purificação da solução inicial de D-xilose (11), pesquisas para o desenvolvimento de uma tecnologia alternativa para a sua obtenção biotecnológica a partir de hidrolisados hemicelulósicos obtidos de biomassa florestal e agroindustrial vêm crescendo a cada dia (12). Entretanto, para que o processo biotecnológico venha a ser competitivo ao químico

é necessário, além do estabelecimento das melhores condições de fermentação que propicie a máxima eficiência do processo, é necessário a condução das fermentações utilizando um hidrolisado hemicelulósico com baixos teores de compostos tóxicos à levedura, já que a remoção total destes não é necessária conforme já constatado nas fermentações de meio sintético (13), e de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar por *Candida guilliermondii* (14). No caso do ácido acético foi constatado que este ácido em baixa concentração (1,0g/L) favoreceu a produção de xilitol nos meios em que a concentração de D-xilose foi de 50,0g/L (13; 14), enquanto, para os fenóis foi constatado drástica redução da produção de xilitol concomitante à perda de viabilidade celular quando sua concentração no meio foi de 0,05 g/L (15). No entanto, é importante considerar não somente a concentração de um único composto, uma vez que a toxicidade do hidrolisado à levedura pode ser potencializada em função da atuação sinérgica entre os diferentes compostos presentes no meio (12). Neste sentido diferentes procedimentos de destoxificação dos hidrolisados têm sido propostos para minimizar a toxicidade dos mesmos às células (16; 17; 18; 19; 20). No caso da utilização de hidrolisados hemicelulósicos para a produção de xilitol vem sendo propostos a destoxificação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana pelo ajuste de pH com bases e álcalis (16), adsorção em carvão vegetal ativado (21), como também a utilização de resinas de troca iônica conforme trabalhos em hidrolisado hemicelulósico de eucalipto (19; 20).

Desta forma, este trabalho tem como objetivo principal avaliar o sistema combinado de tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana com resinas de troca iônica e adsorção em carvão vegetal ativado visando maior eficácia de remoção de compostos tóxicos e conseqüente favorecimento da bioconversão de D-xilose em xilitol por *Candida guilliermondii* FTI 20037.

Metodologia

Hidrólise ácida do bagaço de cana

A hidrólise ácida foi realizada na planta piloto do Departamento de Engenharia Química (DEQUI) da FAENQUIL em reator de aço inox AISI 316 com capacidade total de 350 litros, segundo as condições: temperatura de 121°C, por 10 minutos, empregando 100mg de H₂SO₄ concentrado por 1g de matéria seca e uma relação final matéria seca – solução ácida de 1:10. (21).

Concentração e neutralização do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana

A concentração do hidrolisado necessária para aumentar o teor inicial de D-xilose ocorreu a um fator de concentração de quatro vezes (FC=4) em evaporador a vácuo de 4 litros de capacidade útil, operando a 70 ± 5°C (3). Após a concentração, o hidrolisado foi neutralizado com NaOH micro-pérolas para pH 7,0, centrifugado a 2000xg por 30 minutos e filtrado a vácuo para eliminação do precipitado.

Tratamentos do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana

Sistema combinado com carvão ativo e resinas de troca-iônica (R)

Foi empregado um sistema de tratamento envolvendo a combinação de colunas compostas de carvão ativo e resinas de troca iônica (Figura 1). O sistema foi formado na seguinte seqüência: carvão ativo Alfa LU (10 x 30), resinas aniônicas A-860S e A-500PS na forma Cl⁻ e passando por uma catiônica, C-150 na forma H⁺, todas as resinas fabricadas pela PUROLITE. Para a confecção do sistema foi empregado colunas de vidro encamisadas, em sentido vertical, empregando para o carvão ativo e para as resinas o mesmo volume de leito (V_L = 400 mL). O sistema combinado foi alimentado com fluxo no sentido descendente de 3,5V_L/h, empregando controle de vazão por bomba dosadora digital e a temperatura de 34,5°C por banho termostático digital.

Alteração de pH e carvão ativo (C)

Este tratamento foi realizado empregando-se alteração de pH combinada à adsorção em carvão ativo Brasilac. A alteração de pH ocorreu pela elevação do pH inicial do hidrolisado para 7,0 com adição de CaO comercial, seguida da redução para 5,5 com H₃PO₄. O pH do hidrolisado foi novamente reduzido para 2,5 com H₂SO₄ (0,5N) e em seguida, adicionou-se 1% de carvão pulverizado e o hidrolisado foi colocado em frascos Erlenmeyer os quais foram incubados por 30 minutos em incubadora de movimento rotatório (Innova 4000) a 60°C e 100rpm. Após o tratamento foi feita uma filtração à vácuo para eliminação do precipitado formado.

Microorganismo e preparo do inóculo

Os cultivos foram realizados utilizando-se a levedura *Candida guilliermondii* FTI 20037 mantida em ágar extrato de malte a 4°C.

O inóculo foi preparado em meio contendo D-xilose (30g/L), solução de extrato de farelo de arroz (20g/L), (NH₄)₂SO₄ (2g/L) e CaCl₂·2H₂O (0,1g/L), em pH 5,5; a 30°C em frascos Erlenmeyer

Tabela 1. Caracterização dos hidrolisados de bagaço de cana anterior (A) e posterior (B) aos tratamentos

Componentes (g/L)		Tratamentos			
		Carvão Vegetal		Sistema Combinado	
		A	B	A	B
Açúcares	D-xilose	65,78	53,31	64,50	38,87
	D-glicose	2,93	1,702	3,31	1,968
	L-arabinose	4,44	2,814	4,35	1,446
Compostos Tóxicos	Fenóis	12,33	2,467	11,34	0,554
	Ácido acético	3,92	1,766	2,76	1,234
	Furfural	0,013	0,0	0,021	0,0
	5-HMF	0,019	0,0	0,021	0,0

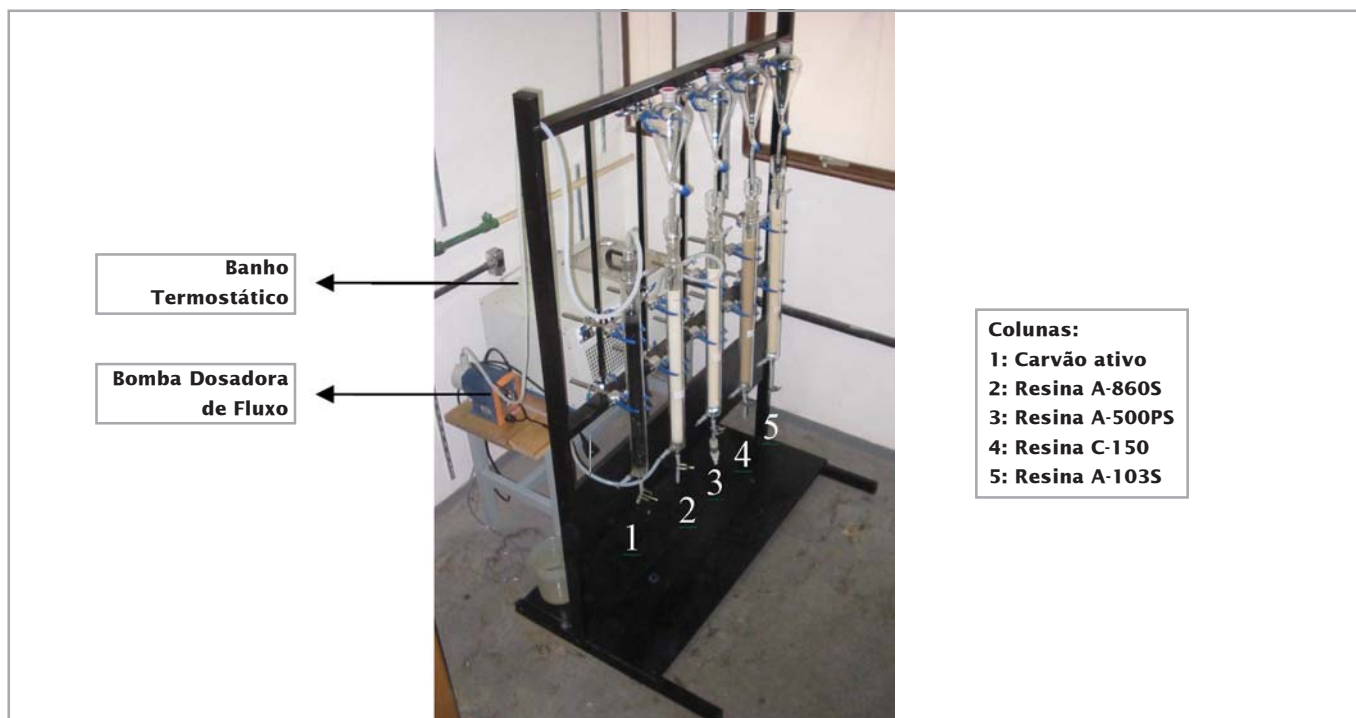


Figura 1. Sistema combinado de tratamento: colunas de vidro empacotadas com carvão ativo e resinas de troca iônica, bomba dosadora de fluxo e banho termostático

contendo 50mL de meiosob agitação de 200rpm em incubadora de movimento rotatório por 24 horas.

Fermentação

Os hidrolisados de bagaço de cana-de-açúcar já tratados pelo sistema combinado e carvão ativo foram autoclavados por 20 minutos a 0,5atm e, em seguida, suplementados com os mesmos nutrientes nas concentrações utilizadas para o cultivo do inóculo, com exceção da D-xilose. As fermentações foram realizadas em frascos Erlenmeyer nas mesmas condições que o preparo do inóculo por um período de 72 horas. Foram retiradas amostras a cada 24 horas de fermentação até o tempo final de 72 horas para avaliação da performance fermentativa.

Métodos analíticos

Determinação da concentração de açúcares e ácido acético

As concentrações dos açúcares glicose, xilose, arabinose e xilitol, bem como de ácido acético foram determinadas em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Shimadzu – LC-10 AD), empregando-se as seguintes condições: coluna Bio Rad Aminex HPX-87H(370 x 7,8mm); temperatura da coluna, 45°C; detector de índice de refração RID-6^A; eluente, solução de H₂SO₄ 0,01N; fluxo de 0,6mL/min; volume da amostra injetada.

Determinação da concentração de furfural e 5-Hidroximetilfurfural

As concentrações de furfural e hidroximetilfurfural nos

hidrolisados foram determinadas em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Shimadzu-LC-10 AD), empregando-se as seguintes condições: coluna Hewlett-Packard RP 18 (200mm); temperatura da coluna 25°C; detector de ultravioleta SPD-10^A UV-VIS; eluente, solução de acetonitrila/água (1:8) com 1% de ácido acético; volume da amostra injetada 20μL. Os hidrolisados foram devidamente diluídos e filtrados em filtros Swennex em membrana HA em éster de celulose, 0,45μm de poro e 13mm de diâmetro (Milipore). Na composição do eluente, a água bidestilada foi filtrada a vácuo empregando-se membrana HA em éster de celulose, 0,45μm de poro, 0,47mm de diâmetro (Milipore) e os outros componentes como ácido acético e acetonitrila foram, nas proporções adequadas, adicionados à água devidamente filtrada.

Determinação da concentração de fenóis

Os compostos fenólicos foram determinados pelo método de Singleton *et al.* (22). Esta metodologia consiste na adição de 0,2mL de reagente Folin-Ciocalteu em 3mL de amostra diluída, seguido de rápida agitação em vórtice e espera de 5 minutos, para posterior adição de 0,8mL de carbonato de sódio 15%. Após 30 minutos de reação na ausência de luz, o volume total foi transferido para uma cubeta de vidro de 1 cm de percurso ótico. A absorbância da solução resultante foi lida a 760nm em um espectrofotômetro computadorizado Beckman DU 640 B e comparada com uma curva de calibração feita usando vanilina como padrão. O branco foi obtido substituindo apenas o volume de amostra por igual volume de água destilada, seguida da adição dos mesmos reagentes em idêntico procedimento de análise.

Determinação da concentração celular

A massa celular foi determinada em espectrofotômetro (Beckman-DU 640B) a 600nm. A concentração celular foi calculada por curva de calibração correlacionando-se a densidade óptica observada com a massa celular seca obtida do cultivo da levedura em meio sintético.

Tabela 2. Efeito dos tratamentos do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana sobre o rendimento e a produtividade de células e xilitol

Hidrolisado Utilizado	Parâmetros Fermentativos				
	Células		Xilitol		
	$Y_{x/s}$ (g/g)	Q (g/L.h)	$Y_{p/s}$ (g/g)	Q (g/L.h)	η (%)
Sistema Combinado	0,36	0,16	0,89	0,39	97
Carvão ativo	0,21	0,16	0,50	0,37	55

Parâmetros fermentativos

- Fator de rendimento de xilitol e células em relação à xilose consumida, respectivamente:

$$Y_{p/s} = \frac{\Delta P}{-\Delta S} \text{ [g/g]}, Y_{x/s} = \frac{\Delta X}{-\Delta S} \text{ [g/g];}$$

- Produtividade em xilitol e células, respectivamente:

$$Q_p = \frac{\Delta P}{\Delta t} \text{ [g/L.h]}, Q_x = \frac{\Delta X}{\Delta t} \text{ [g/L.h];}$$

- Eficiência de conversão η (%) calculada assumindo-se que o máximo rendimento teórico, $Y_{p/s} = 0,917\text{g/g}$ (23).

Resultados e Discussão

O hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar obtido por hidrólise ácida foi submetido ao tratamento com carvão ativo bem como a combinação deste com resinas trocadoras de íons visando a remoção de compostos tóxicos à levedura *Candida guilliermondii* e a utilização destes hidrolisados no processo de obtenção microbiológica de xilitol. Os resultados referentes à caracterização dos hidrolisados em função dos tratamentos empregados estão apresentados na Tabela 1. Observa-se nestes hidrolisados a predominância de D-xilose em relação aos outros açúcares além de compostos tóxicos à levedura como ácido acético, fenóis, furfural e 5-hidroximetilfurfural. As características apresentadas pelo hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana quanto à presença destes compostos tóxicos além dos açúcares são semelhantes às encontradas por outros autores quando da obtenção também por hidrólise ácida deste hidrolisado (3; 22).

Nota-se ainda na Tabela 1 e também na Figura 2, a influência

dos tratamentos sobre a remoção de compostos tóxicos do hidrolisado evidenciando o favorecimento da remoção de fenóis quando se utilizou resinas de troca iônica combinada com carvão ativo (sistema combinado). Neste caso (Figura 2), observa-se remoção de 95% de fenóis o que correspondeu a aumento de 16% em relação ao tratamento em que se utilizou somente carvão ativo. Por outro lado, a remoção do ácido acético (55%) foi semelhante nos dois tipos de tratamento avaliados. No caso do furfural e hidroximetilfurfural, presentes em baixíssimas concentrações, a remoção foi total e também para ambos os tratamentos. Entretanto, observa-se nesta Figura 2 que embora a utilização de resinas combinadas ao carvão tenha proporcionado maior remoção de fenóis em relação ao tratamento somente com carvão, a utilização do sistema combinado reduziu em 40% o teor de D-xilose, valor este superior ao encontrado para o tratamento com carvão (19%). Esta perda não é desejada já que a D-xilose é o açúcar precursor para a formação de xilitol e de acordo com ROSA et al. (24) a concentração desta pentose é um dos principais fatores que influenciam nos parâmetros fermentativos deste bioprocessos.

A avaliação do efeito dos tratamentos sobre as fermentações dos hidrolisados por *C. guilliermondii* foi também avaliada (Figura 3) observando-se o máximo consumo de D-xilose (99%) após 72 horas de fermentação com a utilização de carvão ativo, enquanto que no hidrolisado tratado pelo sistema combinado o consumo deste açúcar foi 80,7%. Verifica-se ainda que as concentrações finais de xilitol e células foram iguais para ambos os tratamentos (Figura 3). Tal comportamento sugere que não há uma correlação direta entre a condição de maior remoção de compostos tóxicos como no caso dos fenóis e maior assimilação de D-xilose. Este fato levou a diferenças nos valores dos parâmetros fermentativos encontrando-se o favorecimento do rendimento tanto do xilitol quanto da biomassa quando se utilizou o sistema combinado (Tabela 2). Verifica-se nesta tabela que o máximo valor de rendimento em xilitol ($Y_{p/s}=0,89\text{ g/g}$) foi observado com a utilização do sistema combinado (resinas e carvão), o que correspondeu ao aumento de 44% em relação ao tratamento somente com carvão ativado, resultando em uma eficiência de 97%. Quanto ao rendimento em células verificou-se que o sistema combinado também propiciou melhoria neste parâmetro encontrando-se máximo valor de rendimento ($Y_{x/s}=0,36\text{g/g}$), o que

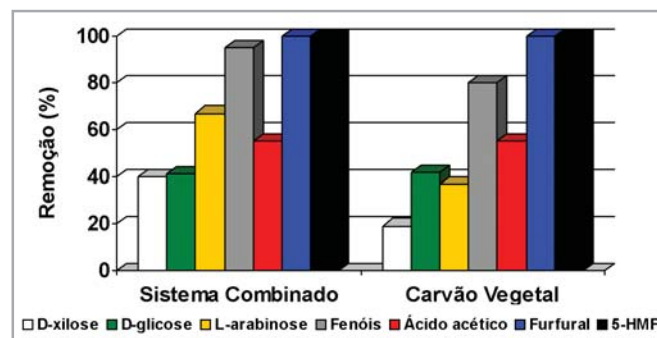


Figura 2. Remoção dos compostos presentes no hidrolisado de bagaço de cana após os tratamentos

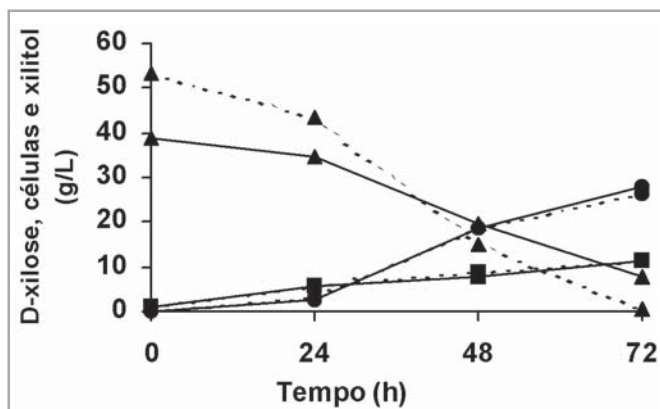


Figura 3. Efeito dos tratamentos do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana pelo sistema combinado (—) e adsorção em carvão ativo (---) sobre o consumo de D-xilose (-▲-), crescimento celular (-■-), e produção de xilitol (-●-) por *C. guilliermondii*.

correspondeu a um valor 42% maior ao observado na fermentação com hidrolisado tratado somente com carvão ativo. Por outro lado, os valores de produtividade volumétrica para a formação de células foram idênticos nos dois tratamentos, enquanto que para o xilitol observou-se pouca influência.

Conforme os resultados obtidos neste trabalho, o valor de rendimento de xilitol obtido nas fermentações em que o hidrolisado foi tratado pelo sistema combinado (resinas trocadoras de íons e carvão vegetal ativado) é superior ao encontrado por Marton et al. (25) durante avaliação de três marcas de carvão ativado (Synth, CDA e CDG), visando a destoxificação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana e sua fermentação por *C. guilliermondii*. Segundo estes autores a marca Synth resultou em mais efetiva destoxificação obtendo-se 97% de remoção de compostos fenólicos, entretanto, a marca CDA foi a que favoreceu a fermentação resultando em melhores valores de rendimento ($Y_{P/S}=0,552$ g/g) e produtividade ($Q_p=0,465$ g/L.h) de xilitol. Mussato et al. (17) utilizaram hidrolisado de palha de arroz tratado por ajuste de pH com NaOH e H_2SO_4 seguido de adsorção em diferentes concentrações de carvão ativo. Estes autores encontraram o máximo valor de rendimento de xilitol ($Y_{P/S}=0,71$ g/g) por *C. guilliermondii* na condição de maior remoção de compostos fenólicos. Canilha et al. (19) também avaliaram a utilização de resinas ou carvão ativo separadamente no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de eucalipto e posterior fermentação empregando-se *C. guilliermondii*. O máximo rendimento de xilitol foi 0,76 g/g obtido quando utilizado as resinas. Durante o tratamento do hidrolisado hemicelulósico de cavaco de eucalipto também com resinas de troca iônica foi encontrado, após 48 horas de fermentação com *C. guilliermondii*, rendimento de 0,57 g/g e uma produtividade volumétrica de xilitol igual a 0,65 g/L.h (20).

Em função dos resultados apresentados no presente trabalho (Tabela 2), nota-se que o fator de rendimento de xilitol encontrado é superior aos observados nos trabalhos desses pesquisadores, embora os valores de produtividade volumétrica de xilitol tenham sido superiores aos do presente trabalho tanto no caso do

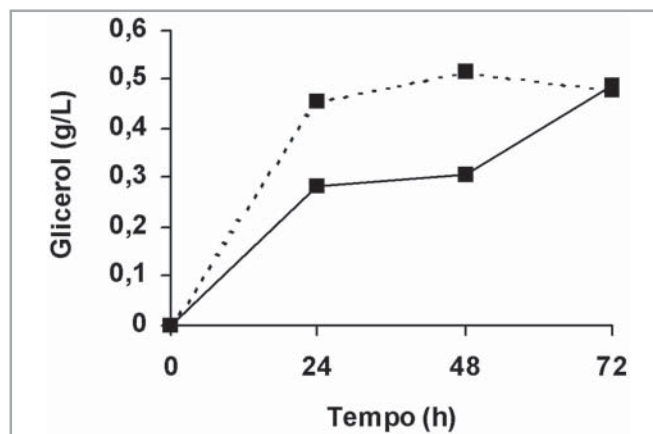


Figura 4. Efeito dos tratamentos do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana pelo sistema combinado (—) e adsorção em carvão ativo (---) sobre a produção de glicerol por *C. guilliermondii*.

hidrolisado de palha de arroz (17) quanto de cavacos de eucalipto (19; 20). Vários fatores podem estar relacionados a estes resultados como as diferenças nos teores iniciais de D-xilose presentes nestes hidrolisados e principalmente de compostos tóxicos, embora estas fermentações tenham ocorrido com a mesma levedura, *Candida guilliermondii* FTI 20037.

Semelhante ao observado para a remoção de fenóis, a utilização do sistema combinado de tratamento (resinas e carvão), propiciou também maior assimilação de ácido acético (100%) já que somente 78% foi consumido pelo hidrolisado tratado somente com carvão. Em ambos os tratamentos o consumo deste ácido ocasionou aumento do pH durante o processo (dados não apresentados). A capacidade da levedura *C. guilliermondii* em assimilar este ácido já foi constatada em diferentes fermentações tanto de meio sintético (13) quanto de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana (26). Esta capacidade da levedura em assimilar o ácido também contribui para a destoxificação do meio e pode ter sido também um fator positivo para o favorecimento do rendimento do xilitol já que o maior valor deste parâmetro fermentativo ($Y_{P/S}=0,89$ g/g) coincidiu com a maior assimilação deste ácido (100%). Durante as fermentações verificou-se ainda a formação de glicerol (Figura 4), um subproduto do metabolismo da D-xilose, ao longo do processo sendo sua máxima concentração cerca de 0,50 g/g, após 72 horas, independente do tratamento utilizado, embora seja nítida a maior formação deste subproduto em 24 e 48 horas no hidrolisado tratado somente com carvão ativo, condição esta que resultou em menor remoção de fenóis (Tabela 1). A formação deste subproduto já foi constatada por outros autores quando utilizado a levedura *C. guilliermondii* em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana tratado com carvão ativo (27) e em meio sintético (28) e, segundo Arruda et al. (28), a maior formação de glicerol está relacionada à condição de maior teor de tóxicos presentes no meio fermentativo sendo que sua produção está relacionada a um provável mecanismo de defesa da levedura, em função da toxicidade do hidrolisado já que o glicerol é considerado um soluto compatível formado em condição de estresse celular.

Conclusões

O tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana pelo sistema combinado, formado por carvão ativo e resinas de troca iônica, resultou em maior remoção de fenóis com conseqüente favorecimento da fermentabilidade do hidrolisado e aumento do fator de rendimento de D-xilose em xilitol empregando-se *C. guilliermondii*. Entretanto, este sistema proporcionou perda de D-xilose o que é indesejável neste bioprocessos. Assim, é importante a continuidade das pesquisas

de forma a se adequar a melhor condição do sistema combinado de tratamento que proporcione máxima remoção de compostos tóxicos sem perda considerável de D-xilose uma vez que o valor de rendimento encontrado no presente trabalho é superior aos de outros trabalhos, nos quais se empregaram resinas e carvão, porém, em tratamentos individualizados.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP e ao CNPq pelos apoios financeiros recebidos.

Referências

1. Ripoli CC, Ripoli MLC. *Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente*. 1. ed. Barros & Marques, Piracicaba, p. 1, 11, 57e 61, 2004.
2. Pandey A, Soccol CR, Nigam P, Soccol VT. *Biotechnological potencial of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse*. **Bioresource Technology** v. 74, p. 69-80, 2000.
3. Rodrigues RCLB, Felipe MGA, Almeida e Silva JB, Vitolo M, Gómez PV. *The Influence of pH, Temperature and Hydrolysate Concentration on the Removal of Volatile and Non-Volatile Compounds from Sugarcane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate Treated With Activated Charcoal Before or After Vacuum Evaporation*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 18, n. 03, p. 299-311, 2001.
4. Assev S, Waler SM, Rölla G. *Further studies on the growth inhibition of some oral bacteria by xylitol*. **Acta Pathologica Microbiologica Immunologica Scandinavica**. Section B, Kobenhavn, v. 91, p. 261-265, 1983.
5. Mattila PT, Knuutila MLE, Svanberg MJ. *Dietary xylitol supplementation prevents osteoporotic changes in streptozotocin – diabetic rats*. **Metabolism**, 47: 578-583, 1998.
6. Zabner J, Michael PS, Launspach JL, Karp PH, Kearney WR. *The osmolyte xylitol reduces the salt concentration of airway surface liquid and may enhance bacterial killing*. **PNAS**. V.97. n.21, p.1164-1169, 2000.
7. Tapiainen T, Luotonen L, Kontiokari T, Renko M, Uhari M. *Xylitol administered only during respiratory infections failed to prevent acute otitis media*. **PEDIATRICS**, v. 109, n. 2, p. 19, 2002.
8. Hyvönen L, Koivistoinen P, Voirol F. *Food technological evaluation of xylitol*. **Advances in Food Research**, New York, v.27, p. 373-403, 1982.
9. Manz U, Vanninen E. and Voirol F. *Xylitol - its properties and use as a sugar substitute in foods*. In: **Food Symposium on Sugar And Sugar Replacements**, London, 10 October 1973.
10. Melaja AJ, Hämäläinen L. **Process for making xylitol**. U S N. 4.008.285, 18 jun. 1975. 15 fev., 1977.
11. De Faveri D, Perego P, Converti A, Borghi M. *Xylitol recovery by crystallization from synthetic solutions and fermented hemicellulose hydrolysates*. **Chemical Engineering Journal**, v. 90, p. 291-298, 2002.
12. Felipe MGA. *Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic materials*. **Lignocellulose biodegradation**. American Chemical Society, Washington, DC, cap. 18, p. 300-315, 2004.
13. Felipe MGA, Vieira DC, Vitolo M, Silva SS, Roberto IC, Mancilha IM. *Effect of acetic acid on xylose fermentation to xylitol by *Candida guilliermondii**. **Journal of Basic Microbiology**, Berlin 35: 171-177, 1995.
14. Silva DDV, Felipe MGA, Mancilha IM, Paula FP. *Biotechnological Production of Xylitol from Lignocellulosic Materials*. **Bioforum Europe**, v.8, n. 3, p. 56-57, 2004.
15. Felipe MGA, Silva SS, Rodrigues RCLB, Vitolo M, Pillar MV. *Effect of phenol concentration on the xylose-xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii**. **Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals**, Program and Abstracts, p. 2-22, Colorado, USA, 1999.
16. Alves LA, Felipe MGA, Almeida e Silva JB, Silva SS, Prata AMR. *Pretreatment of sugar cane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii**. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.70/2, p.89-98, 1998.
17. Mussato SI, Roberto IC. *Hydrolysate detoxification with activated charcoal for xylitol production by *Candida guilliermondii**. **Biotechnology Letters**. v. 23, p. 1681-1684, 2001.
18. Marton JM, Felipe MGA, Silva JBA, Pessoa Jr A. *Avaliação de carvões ativos e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana empregando planejamento de experimentos*. **Revista Analytica**, 03:45-53, 2003.
19. Canilha L, Silva JBA, Solenzal AIN. *Eucalyptus hydrolysate detoxification with activated charcoal adsorption or ion-exchange resins for xylitol production*. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 1909-1912, 2004.
20. Vilarreal MLM, Prata AMR, Felipe MGA, Almeida e Silva JB. *Detoxification procedures of eucalyptus hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii**. **Internacional Conference on Environmental and Applied Microbiology (BioMicroWorld-2005)**. Book of Abstracts, p. 759, 2005.
21. Marton JM. *Avaliação de diferentes carvões ativos e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana para obtenção biotecnológica de xilitol*. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Engenharia Química de Lorena. Departamento de Biotecnologia. Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial. Lorena. São Paulo, 2002.
22. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent*. **Methods in enzymology**, v.299, p. 152-178, 1999.
23. Barbosa MFS, Medeiros MB, Mancilha IM, Shneider H, Lee H. *Screening of yeast for production of xylitol from D-xylose and some factors which affect xylitol yield in *Candida guilliermondii**. **Journal of Industrial Microbiology**, v.3, p.241- 251, 1988.
24. Rosa SMA, Felipe MGA, Silva SS, Viltolo M. *Xylose reductase production by *Candida guilliermondii**. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.70-72, p.127-135, 1998.
25. Marton JM, Felipe MGA, Almeida e Silva JB, Silva SS. *Importance of pretreating sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate with activated charcoal for xylitol production*. In: **III BRAZILIAN MEETING ON CHEMISTRY OF FOODS AND BEVERAGES**, São Carlos, SP, 1-3 dec., Anais de Resumos, p.13, 2000.
26. Silva DDV, Felipe MGA, Mancilha IM, Luchese RH, Silva SS. *Inhibitory effect of acetic acid on bioconversion of xylose in xylitol by *Candida guilliermondii* in sugarcane bagasse hydrolysate*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 248-254, 2005.
27. Matos GS, Felipe MGA, Silva SS. *Formação de xilitol, etanol, glicerol por *Candida guilliermondii* FTI 20037 durante a fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar*. **SINAFERM**, Anais de Trabalhos Completos, 2003.
28. Arruda et al. *Evaluación del efecto de la relación glicerol/xilose en el crecimiento celular de la levadura *Candida guilliermondii**. **SIPAL**, Programa y libro de resúmenes, p. 43, Campos do Jordão, 2005.