

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

ANA LUÍSA FERREIRA MAGACHO

Avaliação de técnicas de separação combinadas para a purificação de xilose
visando a obtenção de bioprodutos

Lorena
2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ANA LUÍSA FERREIRA MAGACHO

**Avaliação de técnicas de separação combinadas para a purificação de xilose
visando a obtenção de bioprodutos**

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Área de Concentração: Processos Catalíticos e Biocatalíticos

Orientador: Dr. Luís Fernando Figueiredo Faria

Lorena
2009

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Biblioteca Universitária – Escola de Engenharia de Lorena

Magacho, Ana Luísa Ferreira.

Avaliação de técnicas de separação combinadas para a purificação de xilose, visando a obtenção de bioprodutos, / Ana Luísa Ferreira Magacho. – 2009.
149 f.: fig.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de Lorena. Departamento de Engenharia Química, 2009
Orientador: Luís Fernando Figueiredo Faria

1. Xilose 2. Hidrolisado hemicelulósico 3. Bagaço de cana-de-açúcar 4. Coagulação e precipitação 5. Processos de separação por membranas 6. Resinas de troca iônica 7. de Experimentos - planejamento. I. Título.

CDU: 66.066

DEDICATÓRIA

Primeiramente a Deus que me guiou durante a realização deste trabalho.

À Nossa Senhora que esteve presente e intercedeu em todas as dificuldades e alegrias ao longo do desenvolvimento desta dissertação.

Ao meu marido, Felipe, que me apoiou e encorajou para a realização deste projeto.

Aos meus familiares que estiveram presentes e possibilitaram a conclusão de meus estudos. Principalmente aqueles que cuidaram com tanto carinho e atenção do meu filho, Lucas.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luís Fernando Figueiredo Faria, pela confiança, orientação, apoio e sobretudo amizade que grandemente contribuíram em minha formação profissional.

Ao professor Dr. George Jackson do Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia de Lorena (EEL-USP) que possibilitou que as análises de HPLC fossem realizadas. Lembrando também da Jussara que foi a grande responsável pela execução destes procedimentos.

Ao professor Silvio Silvério do Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia de Lorena (EEL-USP) que disponibilizou a estrutura de seu laboratório para a realização dos processos fermentativos. Em especial ao seu aluno Ricardo, que possibilitou a concretização das bioconversões.

Ao Dr. Walter de Carvalho que orientou as bioconversões e as análises dos experimentos realizados durante a etapa de coagulação e precipitação seletiva.

Aos técnicos Cibele, Nicanor e Mariana.

Aos colegas e amigos com os quais compartilhei os dias de trabalho e construí uma grande amizade: Camila, Rodrigo, Vanessa e Gleydson.

Ao departamento de Engenharia Química da Escola de Engenharia de Lorena, pela oportunidade da realização do mestrado.

À CAPES pelo apoio financeiro.

“Devemos lutar para ser fiéis e perseverar na luta, porque só dos que se esforçam até o fim é a vitória. Já sabemos que custa muito à nossa natureza decaída esse constante lutar, já conhecemos a nossa debilidade e a nossa miséria e, talvez, isto possa fazer-nos crer que não vamos perseverar, mas quando vier este pensamento, meus amados filhos, recordai-vos de que não estamos sós, de que Jesus Cristo empenhou a sua palavra e de que a sua graça nos bastará para combater o bom combate sempre que nós fizermos a nossa parte. Não creiais que quando não sentis Jesus é porque Ele se distanciou e vos deixou sozinhos na luta; não, isto Ele jamais faz, mas sim, costuma com frequência, nos treinar um pouco e depois deixar-nos aparentemente sem a Sua dulcíssima companhia para ver se também, sem vê-Lo, nós podemos lutar por Ele.”

*Pe. Marcial Maciel
23 de março de 1947*

RESUMO

MAGACHO, A. L. F. **Avaliação de técnicas de separação combinadas para a purificação de xilose visando a obtenção de bioprodutos**. 2008. 180f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo. Lorena, São Paulo.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o uso combinado de processos de separação, visando a adequação do substrato rico em xilose (hidrolisado de bagaço de cana) para a obtenção de produtos por via fermentativa. Foram estudados processos como coagulação e precipitação seletiva de impurezas coloidais, separação com membranas de microfiltração e ultrafiltração e resinas de troca iônica, tendo como ponto de partida o hidrolisado concentrado 5,56 vezes (hidrolisado H1). Na avaliação dos ensaios de coagulação e precipitação foi utilizado planejamento fatorial fracionado, o qual auxiliou o estudo da performance de agentes coagulantes (policloreto de alumínio e polieletrólito aniônico), em diferentes concentrações, pHs e temperaturas. Como variável resposta foi determinado a redução de compostos fenólicos, resultando numa diminuição final de 32,67% e num modelo matemático que representa os parâmetros envolvidos no processo: $[C. \text{ Fenólicos}] = 13,82 + 4,54x\text{pH} + 0,03x\text{PAC} - 0,58x\text{pH}^2 + 0,19x\text{PAC}^2 - 0,25x\text{pH}x\text{PAC}$. Após a determinação das melhores condições experimentais desta etapa, aplicou-se este modelo numa escala 36 vezes maior, resultando em uma diminuição de 10,49% destes contaminantes, produzindo o hidrolisado H2. Este hidrolisado foi percolado por resinas, e assim, determinou-se a série de resinas de troca iônica mais eficiente (série I: Amberlyst 15Wet, Amberlite FPA98, Amberlite 252Na e Amberlite IRA96). Esta etapa proporcionou uma redução de 96,29% no índice de cor, 98,72% dos compostos fenólicos, 74,19% do hidroximetilfurfural, 55,56% de furfural e 52,03% de ácido acético, utilizando um volume de leito de 20 mL, por coluna de resina. O hidrolisado H2, também, foi utilizado para a determinação do melhor modo de permeação por membranas de separação. Neste caso, optou-se em utilizar somente a membrana de ultrafiltração. A permeação do hidrolisado H2 por esta membrana resultou no hidrolisado H3, e em reduções de 12,50% de ácido acético, 33,00% de compostos fenólicos e 54,29% no índice de cor. Assim, o hidrolisado H3 foi percolado pela série de resinas mais eficiente, obtendo ao final uma diminuição de 63,29% do ácido acético, 75,86% de furfural, 77,78% de hidroximetilfurfural e 88,09% dos compostos fenólicos, promovendo uma redução de 90,90% no índice de cor. A seguir, o hidrolisado purificado foi submetido a fermentações para a produção de xilitol e etanol. Essas bioconversões foram aptas a produzir 0,250g/L.h de xilitol e 0,265g/L.h de etanol além de apresentarem rendimentos de 0,68g/g de xilitol por xilose consumida e 0,30g/g de etanol por xilose consumida. Estes resultados indicam a boa fermentabilidade do hidrolisado tratado pelo processo combinado proposto.

Palavras chave: Xilose. Hidrolisado hemicelulósico. Bagaço de cana-de-açúcar. Coagulação e precipitação. Processos de separação por membranas. Resinas de troca iônica. Experimentos - planejamento.

ABSTRACT

MAGACHO, A. L. F. **Evaluation of combined separation techniques for the xylose purification aiming a production of bioproducts.** 2008. 180f. Dissertation (Master of Science in Chemical Engineering) Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo. Lorena, São Paulo.

This study evaluated the combined use of separation processes, seeking the adequacy of the substrate rich in xylose (hydrolysate of sugar cane bagasse) in the attainment of products from fermentative processes. During this research processes as coagulation and precipitation of selective colloidal impurities, microfiltration and ultrafiltration membranes separations and ion exchange resins were studied, taking as its starting point a hydrolysate concentrate 5.56 times (hydrolysate H1). During the tests of coagulation and precipitation a fraction factorial design was applied, which helped the study of coagulating agents performance (aluminum polychloride and anionic polyelectrolyte) in different concentrations, pH and temperatures. The response variable utilized was phenolic compounds reduction resulting in a drop of 32.67% and the mathematical model that represents the parameters involved in the process was: $[C. \text{ Fenólicos}] = 13.82 + 4.54 \times \text{pH} + 0.03 \times \text{PAC} - 0.58 \times \text{pH}^2 + 0.19 \times \text{PAC}^2 - 0.25 \times \text{pH} \times \text{PAC}$. After determining the best experimental conditions of this step, this model was applied on a scale 36 times greater resulting in a decrease of 10.49% on contaminants, producing the hydrolysate H2. This hydrolysate was percolated through resins and determined the sequence of ion exchange resins more efficient; Serie I (Amberlyst 15Wet, Amberlite FPA98, Amberlite 252Na and Amberlite IRA96). This step reduced 96.29% in the index of color, 98.72% of phenolic compounds, 74.19% of hydroxymethylfurfural, 55.56% of furfural and 52.03% acetic acid, using a bed volume of 20 mL for each resin column. The hydrolysate H2 also was used to determine the best way of membranes permeation. In this case, opted to use only the ultrafiltration membrane. The permeation of the hydrolysate H2 through membrane resulted the hydrolysate H3, and showed reductions of 12.50%, 33.00% and 54.29% in acetic acid, phenolic compounds and index of color, respectively. Thus, the hydrolysate H3 was percolated through the resins series more efficient, obtaining a decrease of 63.29% of acetic acid, 75.86% of furfural, 77.78% of hydroxymethylfurfural and 88.09% of phenolic compounds, promoting a reduction of 90.90% in the index of color on the finish treatment. So this hydrolysate purified was subjected to fermentations for the production of xylitol and ethanol. These bioconversions were able to produce 0.250 g/L.h of xylitol and 0.265g/L.h of ethanol and showed xylitol yield from xylose of 0.68g/g and ethanol yield from xilose of 0.30g/g in ethanol. Theses results indicate the good fermentability of the hydrolysate treated by proposed combined process.

Keywords: Xylose. Hemicellulosic hydrolyzate. Sugarcane bagasse. Coagulation and precipitation. Membrane separation process. Ion exchange resins. Experimental design.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Evolução da produção brasileira de álcool de 1970 até 2002.....	10
Figura 2 – Destino da cana-de-açúcar voltada para a produção de álcool e de açúcar.....	11
Figura 3 – Vendas e perspectivas de vendas de carros bicombustíveis.....	14
Figura 4 – Modos operacionais em membranas – Filtração convencional e tangencial....	37
Figura 5 – Modelo plano de uma resina de troca catiônica.....	40
Figura 6 – Possibilidade de conduzir experimentos para 2 variáveis estudadas. (a) Análise de uma variável por vez, (b) Matriz com todas as combinações possíveis e (c) Delineamento composto central rotacional (DCCR).....	46
Figura 7 – Reator de aço inoxidável AISI 316 utilizado para a obtenção do hidrolisado hemicelulósico a partir do bagaço de cana-de-açúcar.....	50
Figura 8 – Avaliação dos processos de separação por membranas.....	54
Figura 9 – Diagrama de Pareto em função dos efeitos das concentrações de compostos fenólicos para o planejamento fatorial fracionado.....	72
Figura 10 – Probabilidade normal em função dos efeitos das concentrações de compostos fenólicos para o planejamento fatorial fracionado.....	72
Figura 11 – Efeitos principais em função das concentrações de compostos fenólicos para o planejamento fatorial fracionado.....	73
Figura 12 – Curvas de contorno obtidas pelo modelo matemático do segundo tratamento estatístico.....	75
Figura 13 – Superfície de resposta obtida pelo modelo matemático do segundo tratamento estatístico.....	76
Figura 14 – Curvas de contorno obtidas pelo modelo matemático do terceiro tratamento estatístico.....	78
Figura 15 – Superfície de resposta obtida pelo modelo matemático do terceiro tratamento estatístico.....	79
Figura 16 – Variação do Brix durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas analisadas individualmente.....	84
Figura 17 – Variação do pH durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas analisadas individualmente.....	85

Figura 18 – Variação da condutividade durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas analisadas individualmente.....	86
Figura 19 – Variação do teor de compostos fenólicos durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas individualmente.....	87
Figura 20 – Variação de cor durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas individualmente.....	87
Figura 21 – Variação do pH durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série I.....	91
Figura 22 – Variação da condutividade durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série I.....	91
Figura 23 – Variação do Brix durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série I.....	92
Figura 24 – Variações de compostos fenólicos por BV durante o tratamento do hidrolisado H2 na série I.....	93
Figura 25 – Variação de compostos fenólicos por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série I.....	93
Figura 26 – Redução relativa de compostos fenólicos ao longo do tratamento da série I.....	94
Figura 27 – Variação do índice de cor por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série I.....	94
Figura 28 – Variação do pH durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série II.....	96
Figura 29 – Variação da condutividade durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série II.....	96
Figura 30 – Variação do Brix durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série II.....	97
Figura 31 – Variações de compostos fenólicos por BV durante o tratamento do hidrolisado H2 na série II.....	98
Figura 32 – Variação de compostos fenólicos por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série II.....	99
Figura 33 – Redução relativa de compostos fenólicos ao longo do tratamento da série II.....	99
Figura 34 – Variação do índice de cor por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série II.....	100

Figura 35 – Variação do pH durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série III.....	101
Figura 36 – Variação da condutividade durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série III.....	101
Figura 37 – Variação do Brix durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série III.....	102
Figura 38 – Variações de compostos fenólicos por BV durante o tratamento do hidrolisado H2 na série III.....	103
Figura 39 – Variação de compostos fenólicos por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série III.....	103
Figura 40 – Redução relativa de compostos fenólicos ao longo do tratamento da série III.....	104
Figura 41 – Variação do índice de cor por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série III.....	104
Figura 42 – Permeabilidade hidráulica e do hidrolisado H2 na membrana de microfiltração.....	106
Figura 43 – Permeabilidade hidráulica e do hidrolisado H2 na membrana de ultrafiltração.....	107
Figura 44 – Permeação do hidrolisado H2 pela membrana de microfiltração.....	108
Figura 45 – Representação do processo de separação por membranas e balanço de massa da membrana de microfiltração.....	108
Figura 46 – Comparação entre as permeações dos hidrolisados H2 e permeado 1 pelo módulo de membrana de ultrafiltração.....	109
Figura 47 – Representação do processo de separação por membranas e balanço de massa da membrana de ultrafiltração.....	109
Figura 48 – Variação do fluxo do permeado no processo de ultrafiltração do hidrolisado H2 após diversas etapas de lavagens.....	112
Figura 49 – Representação do processo de separação por membranas e balanço de massa da membrana de ultrafiltração.....	113
Figura 50 – Variação do pH durante o tratamento do hidrolisado H3 com as resinas combinadas na série I ampliada.....	115
Figura 51 – Variação da condutividade durante o tratamento do hidrolisado H3 com as resinas combinadas na série I ampliada.....	116

Figura 52 – Variação do Brix durante o tratamento do hidrolisado H3 com as resinas combinadas na série I ampliada.....	116
Figura 53 – Variações de compostos fenólicos por BV durante o tratamento do hidrolisado H3 na série I de resinas ampliada.....	117
Figura 54 – Variação de compostos fenólicos por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H1 em escala ampliada.....	118
Figura 55 – Redução relativa de compostos fenólicos ao longo do tratamento do hidrolisado H1 em escala ampliada.....	119
Figura 56 – Variação do índice de cor por etapa de trabalho ao longo do tratamento do hidrolisado H1 em escala ampliada.....	119
Figura 57 – Análise visual das variações de cor após cada percolação através das resinas de troca iônica em escala ampliada.....	120
Figura 58 – Análise visual da alteração de cor após o tratamento com a série de resinas de troca iônica em escala ampliada.....	120
Figura 59 - Consumo de xilose, formação de xilitol e crescimento celular em função do tempo.....	124
Figura 60 - Consumo de xilose e ácido acético, formação de etanol e crescimento celular em função do tempo no meio sintético.....	126
Figura 61 - Consumo de xilose, glicose e ácido acético, formação de etanol e crescimento celular em função do tempo no hidrolisado purificado sem a adição de extrato de levedura.....	127
Figura 62 - Consumo de xilose, glicose e ácido acético, formação de etanol e crescimento celular em função do tempo no hidrolisado purificado suplementado com extrato de levedura.....	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Evolução da produtividade da cana-de-açúcar no Brasil.....	5
Tabela 2 - Propriedades físico-químicas do xilitol.....	16
Tabela 3 – Utilização de hidrolisados hemicelulósicos de diferentes matérias primas para a produção biotecnológica de xilitol.....	21
Tabela 4 – Processos de separação por membranas.....	39
Tabela 5 – Classificação das resinas de troca iônica.....	41
Tabela 6 - Níveis e parâmetros que foram utilizados no primeiro tratamento estatístico.....	51
Tabela 7 - Níveis e parâmetros que foram utilizados no segundo tratamento estatístico.....	52
Tabela 8 - Níveis e parâmetros que foram utilizados no terceiro tratamento estatístico.....	52
Tabela 9 – Ensaios que foram realizados no primeiro tratamento estatístico.....	52
Tabela 10 – Ensaios que foram realizados no segundo tratamento estatístico.....	53
Tabela 11 – Ensaios que foram realizados no terceiro tratamento estatístico.....	53
Tabela 12 – Soluções utilizadas para regeneração das resinas de troca iônica.....	57
Tabela 13 - Composição bagaço de cana-de-açúcar.....	65
Tabela 14 - Composição e características físicas do hidrolisado original (H0).....	67
Tabela 15 – Comparação entre os hidrolisados H0 e H1.....	68
Tabela 16 – Condições experimentais do planejamento fatorial completo e teor de compostos fenólicos ao final de cada tratamento.....	70
Tabela 17 – Determinação dos valores de t e do p-valor de cada termo para a resposta teor de compostos fenólicos no primeiro tratamento estatístico.....	71
Tabela 18 – Condições experimentais que foram realizadas o segundo tratamento estatístico e teor de compostos fenólicos ao final de cada tratamento.....	74

Tabela 19 – Determinação dos valores de t e do p-valor de cada termo para a resposta teor de compostos fenólicos no segundo tratamento estatístico.....	75
Tabela 20 – Condições que foram realizadas o terceiro tratamento estatístico e teor de compostos fenólicos ao final de cada experimento.....	77
Tabela 21 – Determinação dos valores de t e do p-valor de cada termo para a resposta teor de compostos fenólicos no terceiro tratamento estatístico.....	77
Tabela 22 – Características químicas e físicas do hidrolisado concentrado (H1) e do hidrolisado após a etapa de coagulação e precipitação (H2).....	79
Tabela 23 – Massa específica das resinas de troca iônica avaliadas.....	81
Tabela 24 – Massa específica úmida das resinas de troca iônica avaliadas.....	81
Tabela 25 – Volume de inchamento das resinas de troca iônica avaliadas.....	82
Tabela 26 – Umidade original das resinas de troca iônica avaliadas.....	83
Tabela 27 – Volumes de leitos utilizados durante os tratamentos em séries.....	89
Tabela 28 – Características químicas e físicas dos hidrolisados H2 e percolado pela resina R4.....	89
Tabela 29 – Características químicas e físicas dos hidrolisados H2 e percolado pelas resina R4, R2, R1 e R3 (série I).....	90
Tabela 30 – Características químicas e físicas dos hidrolisados H2 e percolado pelas resina R4, R1, R3 e R2 (série II).....	95
Tabela 31 – Características químicas e físicas dos hidrolisados H2 e percolado pelas resina R4, R3, R1 e R2 (série III).....	101
Tabela 32 – Caracterização dos hidrolisados permeado e concentrado após o processo de microfiltração.....	108
Tabela 33 – Caracterização dos hidrolisados permeado e concentrado após o uso combinado da microfiltração e da ultrafiltração.....	110
Tabela 34 – Caracterização dos hidrolisados permeado e concentrado após o processo de ultrafiltração.....	111
Tabela 35 – Características de cada etapa da permeação do hidrolisado H2 pela membrana de ultrafiltração.....	113
Tabela 36 – Características químicas e físicas dos hidrolisados ao final de cada etapa de purificação com a ampliação de escala.....	114

Tabela 37 – Concentração dos metais presentes nos hidrolisados após o término de cada etapa de purificação.....	121
Tabela 38 – Remoções globais dos contaminantes presentes com a aplicação do processo de purificação proposto a partir do hidrolisado H1.....	123
Tabela 39 – Parâmetros fermentativos dos experimentos com meio sintético e hidrolisado purificado para a obtenção de xilitol.....	125
Tabela 40 – Parâmetros fermentativos dos experimentos com o meio sintético, com o hidrolisado purificado com e sem a suplementação.....	128

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
<i>2.1. Materiais Lignocelulósicos</i>	3
<i>2.1.1. O Bagaço de Cana-de-Açúcar: uma Biomassa Abundante no Brasil</i>	4
<i>2.2. Produtos da Bioconversão da Xilose: Etanol e Xilitol</i>	7
<i>2.2.1. O Etanol</i>	7
<i>2.2.2. Xilitol</i>	15
<i>2.3. Obtenção de Etanol e Xilitol através da Bioconversão da Xilose</i>	19
<i>2.4. Inibidores do Metabolismo Microbiano</i>	21
<i>2.5. Tratamentos dos Hidrolisados Hemicelulósicos</i>	27
<i>2.5.1. Evaporação</i>	28
<i>2.5.2. Coagulação e Precipitação Seletiva de Impurezas Coloidais</i>	29
<i>2.5.3. Processos de Separação por Membranas</i>	34
<i>2.5.4. Resinas de Troca Iônica</i>	39
<i>2.6. Planejamento Experimental e Otimização de Processos</i>	45
3. OBJETIVOS	48
<i>3.1. Objetivos Gerais</i>	48
<i>3.2. Objetivos Específicos</i>	48
4. MATERIAIS E MÉTODOS	49
<i>4.1. Materiais e Equipamentos</i>	49
<i>4.2. Preparo do Bagaço de Cana-de-Açúcar para a Hidrólise</i>	50
<i>4.3. Obtenção do Hidrolisado Hemicelulósico (H0)</i>	50
<i>4.4. Obtenção do Hidrolisado Hemicelulósico Concentrado (H1)</i>	51

<i>4.5. Coagulação e Precipitação Seletiva de Impurezas Coloidais</i>	51
<i>4.6. Tratamento do Hidrolisado H2 por Membranas</i>	53
<i>4.7. Caracterização das Resinas de Troca Iônica</i>	54
<i>4.7.1. Determinação da Massa Específica</i>	54
<i>4.7.2. Determinação da Massa Específica Úmida</i>	55
<i>4.7.3. Determinação do Volume de Inchamento</i>	55
<i>4.7.4. Determinação da Umidade Original</i>	55
<i>4.8. Tratamento do Hidrolisado H2 com Resinas de Troca Iônica</i>	55
<i>4.9. Testes de Bioconversão do Hidrolisado Purificado</i>	58
<i>4.10. Métodos Analíticos</i>	59
<i>4.10.1. Determinação do Teor de Carboidratos</i>	59
<i>4.10.2. Determinação de Lignina Insolúvel em Meio Ácido</i>	60
<i>4.10.3. Determinação de Lignina Solúvel</i>	61
<i>4.10.4. Determinação do Teor de Furfural e Hidroximetilfurfural</i>	61
<i>4.10.5. Determinação do Teor de Cinzas</i>	62
<i>4.10.6. Determinação do Índice de Cor</i>	62
<i>4.10.7. Determinação da Concentração de Metais</i>	63
<i>4.10.8. Determinação da Concentração Celular</i>	63
<i>4.10.9. Determinação dos Parâmetros Fermentativos</i>	64
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
<i>5.1. Caracterização do Bagaço de Cana-de-Açúcar</i>	65
<i>5.2. Obtenção do Hidrolisado Hemicelulósico</i>	66
<i>5.3. Concentração do Hidrolisado Hemicelulósico Homogeneizado</i>	68
<i>5.4. Coagulação e Precipitação Seletiva de Impurezas Coloidais</i>	69

5.5. Avaliação Individual e em Série do Comportamento das Resinas de Troca Iônica em Estudo	80
5.5.1. Determinação da Massa Específica	80
5.5.2. Determinação da Massa Específica Úmida	81
5.5.3. Determinação do Volume de Inchamento	82
5.5.4. Determinação da Umidade Original	82
5.6. Tratamento do Hidrolisado H2 com Resinas de Troca Iônica Individualmente	83
5.7. Tratamento do Hidrolisado H2 com Resinas de Troca Iônica em Série	88
5.7.1. Avaliação da Primeira Série de Resinas	90
5.7.2. Avaliação da Segunda Série de Resinas	95
5.7.3. Avaliação da Terceira Série de Resinas	100
5.8. Tratamento do Hidrolisado H2 por Membranas	105
5.9. Avaliação da Percolação do Hidrolisado H3 pela Série I Ampliada	113
5.10. Análise Global dos Processos de Purificação Combinados	117
5.11. Variação das Concentrações de Contaminantes Metálicos nas Diferentes Etapas dos Processos Combinados	121
5.12. Avaliação da Bioconversão da Xilose em Xilitol a partir do Hidrolisado Purificado	123
5.13. Avaliação da Bioconversão da Xilose em Etanol a partir do Hidrolisado Purificado	126
6. CONCLUSÃO	130
7. SEGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	132
REFERÊNCIAS	133

1. INTRODUÇÃO

A grande vocação do Brasil para a agricultura sucroalcooleira, aliada às suas dimensões continentais, faz dele o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo com uma produção em 2008 estimada entre 558,1 e 579,8 milhões de toneladas (CONAB, 2008). Embora transpareça progresso e divisas para o país, tais cifras trazem como consequência um grande problema, que é a geração de 160 milhões de toneladas de bagaço ao ano, que apesar da sua maior parte ser aproveitado pela própria indústria, ainda gera um excedente que preocupa os ambientalistas, principalmente devido ao risco de combustão espontânea (SUN et al., 2004).

Preocupados com esta parcela não utilizada do bagaço de cana-de-açúcar, diversos pesquisadores concluíram que ele apresenta grande potencial de aproveitamento devido a sua composição química (celulose, hemicelulose e lignina) uma vez que, através da hidrólise ácida é possível extrair até 80% das pentoses da fração hemicelulósica em forma de xilose (AGUILAR et al., 2002; MOSIER et al., 2005), um açúcar utilizado em processos de bioconversão, sendo que, através de sua fermentação obtêm-se produtos de alto valor agregado como o etanol e o xilitol (ARISTIDOU e PENTTILÄ, 2000).

Normalmente o etanol é produzido a partir da fermentação alcoólica do caldo de cana, mas diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de se avaliar a produção a partir do bagaço da cana utilizando processo de bioconversão da xilose, contida em diversos hidrolisados hemicelulósicos, através de leveduras, o que poderia aumentar em cerca de 30% a quantidade de etanol produzida, sem a expansão da área plantada (AMARTEY e JEFFRIES, 1996; SANCHEZ, et al., 2004). Diferentemente do etanol, o processo de obtenção do xilitol em larga escala apresenta algumas limitações. O xilitol industrialmente é obtido pela redução química da xilose utilizando-se um catalisador a base de níquel-Raney sob condições elevadas de temperatura e pressão, logo devido a presença deste catalisador, existe a necessidade de se

empregar intensivas etapas de purificação, as quais dão origem a um resíduo com alto nível de poluição (WIKELHAUSEN e KUZMANOVA, 1998; MIKKOLA et al., 1999). Estas dificuldades motivaram pesquisadores a procurar vias alternativas, sendo a microbiológica um dos processos mais atrativos e com potencial para superar estes problemas (WIKELHAUSEN e KUZMANOVA, 1998).

Embora promissor, os processos fermentativos de produção de xilitol e etanol a partir do hidrolisado hemicelulósico também apresentam limitações, principalmente quanto à produtividade, devido principalmente à presença de compostos inibidores do metabolismo microbiano. Entre estes contaminantes estão o ácido acético, os compostos fenólicos, o furfural, o hidroximetilfurfural e os metais pesados provenientes do solo utilizado para cultivo e dos equipamentos envolvidos no processamento da cana e do bagaço (LOHMEIER-VOGEL et al., 1998).

Com o objetivo de minimizar o efeito da toxicidade do hidrolisado de bagaço de cana sobre a fermentação, diversos tratamentos físico-químicos estão sendo empregados, tanto para a transformação de inibidores em compostos inativos como pela remoção destes, com a finalidade de dar a estes substratos condições de serem utilizados (SOLENZAL et al., 1998).

Colaborando com o objetivo acima, no presente trabalho foi estudado o uso combinado de três tratamentos distintos do hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar, sendo eles: a) coagulação e precipitação de impurezas coloidais; b) processos de separação por membranas; c) processos de separação com resinas de troca iônica.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Materiais Lignocelulósicos*

Os materiais lignocelulósicos como o bagaço de cana-de-açúcar, a palha de arroz, a palha de trigo, o sabugo de milho, a casca de aveia e as aparas de eucalipto, são oriundos de resíduos da agroindústria e de atividades da exploração florestal, e são também os recursos orgânicos renováveis mais abundantes da Terra, representando a maior porção do carbono total fixado por fotossíntese (ARISTIDOU e PENTTILÄ, 2000; CACCHIO et al., 2001). Além disso, possuem imenso potencial de uso como matérias-primas em processos industriais para produção de alimentos, biocombustíveis, insumos químicos, enzimas, biofertilizantes e bens de consumo diversos (WINKELHAUSEN e KUZMANOVA, 1998; KRISHNA et al., 2001; LATIF e RAJOCA, 2001; TENDERDY e SZAKACS, 2003).

Estes materiais são os compostos orgânicos de maior abundância na biosfera, representando mais de 60% da biomassa total, sendo estimada a produtividade de biomassa seca em 155 bilhões de toneladas ao ano (SINGH e MISHRA, 1995). Segundo Pimentel (2001), ao redor de 40,5 bilhões de toneladas de biomassa são produzidos no ecossistema terrestre e somente 50% é usada para a alimentação, construção civil ou como combustível, causando sérios problemas na biodiversidade.

O reconhecimento da natureza finita dos combustíveis energéticos convencionais, a necessidade de se controlar a poluição ambiental e a mudança dos valores sociais e culturais, tem incentivado a comunidade científica internacional a examinar fontes alternativas de materiais e energia (KUHAD e SINGH, 1993). Uma solução prática para estes problemas é o desenvolvimento de tecnologias que permitem o uso das fontes renováveis de energia existentes na natureza, como a biomassa lignocelulósica (EUREC, 1996).

O potencial de aproveitamento da biomassa lignocelulósica baseia-se em sua composição química; pois independente de sua origem, os materiais lignocelulósicos contêm celulose, hemicelulose e lignina como principais componentes, em proporções que variam de 40 a 50%, 25 a 35% e 15 a 25%, respectivamente (ARISTIDOU e PENTTILÄ, 2000).

A celulose, principal componente da parede celular da fibra vegetal, é um homopolissacarídeo linear constituído por unidades de D-glicose unidas por ligações $\beta(1-4)$, com grau de polimerização que varia de 1000 até 50000 unidades, dependendo da origem da planta (FENGEL e WEGENER, 1989). A hemicelulose, o segundo mais abundante polissacarídeo da natureza, é um polímero heterogêneo de pentoses (xilose e arabinose), hexoses (glicose, galactose e manose) e ácidos (acético, glicurônico e galacturônico) (SAHA, 2003), que age como substância de reserva e de sustentação, sendo, o seu grau de polimerização, geralmente inferior a 200 unidades. O terceiro principal componente citado, a lignina, é uma macromolécula polifenólica composta principalmente por unidades de fenilpropano, cuja estrutura provém da polimerização desidrogenativa de três precursores primários: álcool trans-coniferílico, álcool trans-sinapílico e álcool trans-*p*-cumarílico. Unida à hemicelulose e à pectina, a lignina preenche os espaços entre as fibrilas de celulose atuando, assim, como um material de ligação entre componentes da parede celular, sendo responsável pela rigidez e baixa reatividade dos materiais lignocelulósicos (FENGEL e WEGENER, 1989).

2.1.1. O Bagaço de Cana-de-Açúcar: uma Biomassa Abundante no Brasil

O Brasil é um país de dimensões continentais, logo apresenta grandes diversidades de clima e solo, e por conseqüência são obtidos os mais diversos subprodutos e resíduos agro-industriais. Um dos subprodutos mais abundante e proveniente de material renovável é o bagaço de cana-de-açúcar, uma vez que o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do

mundo. Esta produção vem crescendo e, a safra de 2008 deverá atingir um montante entre 558,1 e 579,8 milhões de toneladas. Este volume representa um aumento de 11,3% a 15,6% do obtido na safra passada, ou seja, uma quantidade de 56,6 a 78,2 milhões de toneladas adicionais do produto, de acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), numa pesquisa solicitada pela Secretaria de Produção e Agroenergia (SPA), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (CONAB, 2008). Este crescimento pode ser também confirmado na Tabela 1, a qual apresenta a evolução da produtividade deste produto agrícola num período de dez anos.

Tabela 1 - Evolução da produtividade da cana-de-açúcar no Brasil.

<i>Ano</i>	<i>Área (milhões de hectares)</i>		<i>Produção (milhões de toneladas)</i>	<i>Rendimento (t/ha)</i>
	<i>Área Plantada</i>	<i>Área Colhida</i>		
1996	4,90	4,83	325,93	67,52
1997	4,95	4,88	337,20	69,10
1998	5,00	4,97	338,97	68,18
1999	4,86	4,85	331,71	68,41
2000	4,82	4,82	325,33	67,51
2001	5,02	4,96	344,28	69,44
2002	5,21	5,10	363,72	71,31
2003	5,38	5,37	389,85	72,58
2004	5,57	5,63	416,26	73,88
2005	5,62	5,76	419,56	72,83
2006	7,04	6,19	457,98	74,05

Fonte: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (2008)

É importante notar que uma usina sucroalcooleira produz cerca de 280 kg de bagaço por tonelada de cana moída (SUN et al., 2004), desta forma a estimativa de produção de bagaço em 2008 será de aproximadamente 160 milhões de toneladas (CONAB, 2008). Grande parte deste subproduto (60% a 90%) é utilizada pela própria indústria como fonte de energia alternativa (geração de vapor e eletricidade), mas, ainda assim, há um grande excedente deste material capaz de gerar problemas ambientais, principalmente devido ao risco de combustão espontânea (SUN et al., 2004; VASCONCELOS, 2002).

Além da co-geração de energia, o bagaço pode ser aproveitado nas produções de etanol, hidroximetilfurfural, polpa e papel, revestimentos acústicos, madeira prensada, forragem para agricultura, alcalóides, aminoácidos, ácidos orgânicos, produção de ração para gado enriquecida em proteínas, enzimas e xilitol (PANDEY et al., 2000; SANTOS et al., 2005c). Deve-se também ressaltar sua potencial reserva de carboidratos, podendo assim ser utilizado como substrato em processos biotecnológicos (du TOIT et al., 1984). Neste contexto, a xilose presente na fração hemicelulósica do bagaço de cana-de-açúcar pode ser utilizada na produção de xilitol e etanol, uma vez que esta pentose pode perfazer até 80% dos carboidratos presentes nesta fração (ROBERTO et al., 1991; AGUILAR et al., 2002; MOISER et al., 2005).

Conforme relatado por Dekker (1985), os materiais lignocelulósicos não podem ser utilizados “in natura” na maioria dos processos de bioconversão, pois não podem ser diretamente utilizados pelos microrganismos produtores das substâncias de interesse industrial, sendo a separação das principais frações poliméricas um pré-requisito para a utilização integrada desses materiais. De acordo com Parajó et al. (1998c), a separação simultânea dos três principais grupos de polímeros da biomassa lignocelulósica em suas formas poliméricas não é possível com o uso de procedimentos de separações convencionais como a cristalização, precipitação ou extração, pois pelo menos um dos polímeros é degradado pelos tratamentos baseados nas diferenças entre suas propriedades químicas.

Segundo estes mesmos autores, celulose e hemicelulose são menos suscetíveis à oxidação do que a lignina, mas ambas podem ser hidrolisadas por ácidos ao contrário da fração fenólica (lignina) que permanece como um resíduo sólido no meio ácido. Estes autores concluem ainda que a hemicelulose é mais suscetível do que a celulose à ação hidrolítica de catalisadores, devido a sua estrutura ramificada e aberta, proporcionando um melhor

rendimento em condições mais amenas, tornando este constituinte da biomassa bastante atrativo para uso em processos fermentativos.

A hidrólise dos materiais lignocelulósicos pode ser efetuada por processos físicos, químicos ou biológicos e pela combinação destes. Dentre estes métodos estão incluídas: a hidrólise ácida (IRANMANHOOB et al., 2002; SUN e CHENG, 2002; MUSSATO e ROBERTO, 2004a; PURWADI et al., 2004; PALMAROLA-ANDRADOS et al., 2005), a hidrólise enzimática (PALMAROLA-ANDRADOS et al., 2005), a explosão a vapor (CONVERTI et al., 2000a; SUN et al., 2004, 2005) e a extração com soluções alcalinas (du TOIT et al., 1984).

É importante destacar que uma vez realizada a separação da fração hemicelulósica, a partir da biomassa lignocelulósica, esta pode ser bioconvertida em produtos de alto valor agregado como o etanol e o xilitol.

2.2. Produtos da Bioconversão da Xilose: Etanol e Xilitol

2.2.1. O Etanol

O etanol (C_2H_5OH) é originalmente obtido através da fermentação alcoólica do caldo de cana, sendo comumente utilizado em bebidas alcoólicas como cerveja, vinho e aguardente, bem como na indústria de perfumaria. No Brasil, o etanol é também muito utilizado como combustível para motores à explosão. Devido ao aumento da demanda de etanol no mercado mundial, observa-se a necessidade de se viabilizar a produção deste combustível a partir de outras matérias-primas, como o bagaço de cana-de-açúcar. O uso desta matéria-prima poderá elevar em 30% a produção de álcool combustível no Brasil, sem a necessidade da expansão da área de plantio (GUARANI, 2007).

O etanol é um produto de grande interesse para o mercado, tanto nacional quanto internacional e, como combustível, tem a vantagem de ser uma fonte de energia renovável, menos tóxico e menos poluidor que os derivados do petróleo (gasolina e diesel).

O Brasil produz álcool etílico ou etanol combustível de dois tipos: hidratado e anidro. O hidratado (com 4% em volume de água) é utilizado para mover veículos, por sua vez, o anidro ou absoluto (sem água) é utilizado como oxigenante da gasolina em diversos países, sendo uma alternativa a aditivos altamente poluentes como o chumbo tetraetila e o éter metil terbutílico (MTBE) originário do petróleo.

O álcool combustível tem características adequadas para alimentar motores à combustão interna que funcionam segundo o Ciclo Otto. Além do etanol, o metanol, a gasolina e o gás natural têm as mesmas características mencionadas. Entre os combustíveis líquidos citados, o etanol é o que melhor se mistura à gasolina (NEGRÃO e URBAN, 2007). Com relação à poluição, o etanol contribui para a redução do efeito estufa, pois cada tonelada de cana-de-açúcar cultivada para a fabricação de álcool hidratado combustível e álcool anidro, economiza respectivamente a emissão de 0,17 t e 0,25 t de CO₂ (dióxido de carbono, um dos gases responsáveis pelo efeito estufa). Isto porque na combustão da gasolina o CO₂ é um subproduto formado na reação química, já o álcool utiliza este gás presente na atmosfera, ou seja, a quantidade de carbono se mantém (GUARANI, 2007).

A introdução da mistura gasolina/álcool no Brasil teve um impacto imediato positivo na qualidade do ar das grandes cidades, particularmente em São Paulo. Inicialmente, em 1991, aditivos como o chumbo tiveram seu uso reduzido à medida que a quantidade de álcool na gasolina aumentava. Também os hidrocarbonetos aromáticos (tais como o benzeno), que são tóxicos, e o conteúdo de enxofre presentes na gasolina foram reduzidos. Contudo, diminuiu-se as emissões de dióxido de carbono na atmosfera, já que antes de 1980 quando a gasolina era o único combustível em uso, as emissões deste gás eram superiores a 50 g/km e em 2000,

chegaram a menos de 0,07 g/km. Conclui-se que, muito mais importante do que as discussões sobre a finitude do petróleo, a política dos países produtores e os interesses corporativos do poderio da indústria do petróleo no mundo, o uso do álcool vem se colocando como fator decisivo na redefinição da matriz energética no âmbito da perspectiva econômica dos combustíveis renováveis e ambientalmente limpos (NEGRÃO e URBAN, 2007).

No ano de 1973 os países da OPEP (Organização dos Países Produtores de Petróleo), atuando na forma de cartel, entraram em acordo para reduzir a produção de petróleo mundial, desencadeando o primeiro choque do petróleo. A redução desta produção provocou elevação dos preços no mercado internacional, afetando todos os países importadores deste produto, perdurando por toda década de 1970. Nesse período o Brasil importava mais de 80% do petróleo que consumia, logo suas despesas passaram de US\$6,2 bilhões, em 1973, para US\$12,6 bilhões, em 1974. O saldo da Balança Comercial passou de um leve superávit de US\$7 milhões em 1973, para um déficit de US\$4,7 bilhões em 1974 (BAER, 1996).

Neste contexto, em nove de outubro de 1975 o presidente Ernesto Geisel elaborou o Programa Nacional do Álcool (PROALCOOL), o qual propôs estímulos financeiros à expansão da lavoura canavieira e à montagem de destilarias anexas e autônomas, como uma das medidas para diminuir o déficit na Balança de Pagamentos. Assim, de 1975 a 1980 foi investido US\$1,019 bilhão no Programa Nacional do Álcool, sendo 75% desta quantia advinda de recursos públicos e 25% de recursos privados (MORAES, 1999).

Em relação ao processo de implantação do programa, devem ser destacadas duas fases: a primeira abrange de 1975 até 1978, que correspondeu ao uso da mistura álcool-gasolina, à implantação das destilarias anexas e ao envolvimento da indústria automotiva para produção de carros a álcool. Nesta fase ocorreu a modernização da produção do álcool (Figura 1).

A segunda fase, iniciada em 1979, é a da produção em larga escala do álcool hidratado, para ser usado em carros movidos exclusivamente com este combustível. Esta fase foi acelerada devido ao novo conflito no Oriente Médio, entre Irã e Iraque, que contribuiu para mais uma elevação dos preços do petróleo. Algumas medidas inovadoras de estímulo ao uso do veículo movido exclusivamente a álcool foram tomadas: redução da alíquota do imposto sobre produtos industrializados (IPI) e da taxa rodoviária única para veículos privados dessa natureza, isenção do IPI para táxis a álcool e o estabelecimento de um limite do preço ao consumidor de álcool hidratado de 65% em relação ao preço da gasolina. Foi também definida a obrigatoriedade de adição de 22% de álcool anidro à gasolina (SHIKIDA e BACHA, 1999).

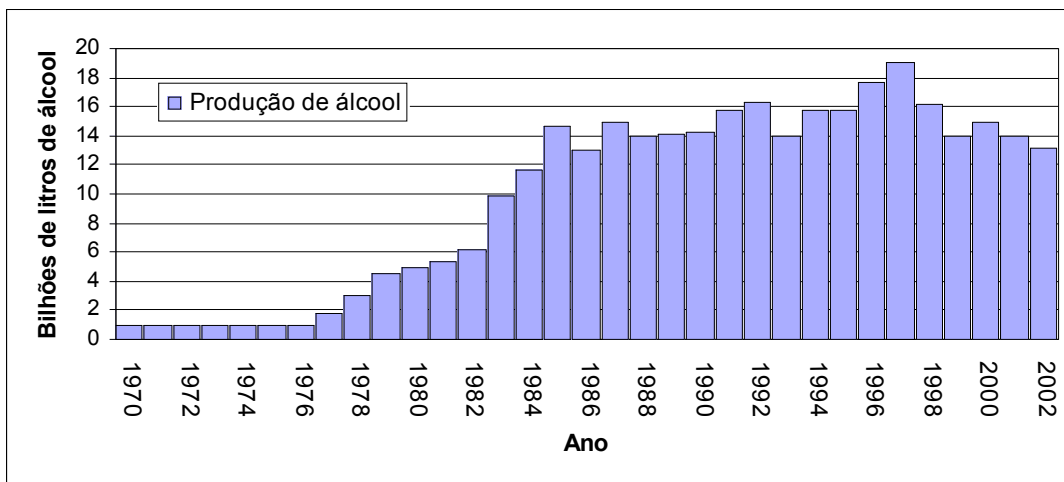


Figura 1 – Evolução da produção brasileira de álcool de 1970 até 2002.
Fonte: FIGUEIRA (2005)

O impulso dado ao Programa Nacional do Álcool a partir de 1979 desencadeou mudanças na utilização da cana-de-açúcar, com parcelas crescentes desse produto sendo utilizadas para a produção de álcool combustível, em detrimento do açúcar entre os anos de 1978 e 1990, como pode ser visualizado na Figura 2.

Moraes (1999) descreve os acontecimentos que levaram a estagnação do Programa do Álcool na década de 1990 e 2000, repercutindo em queda nas vendas dos carros a álcool. A

partir de 1986 começa a ocorrer uma redução dos preços internacionais do petróleo. Nesse período, a expansão da produção brasileira de petróleo diminuía a dependência do país em relação ao petróleo importado. Além disto, os planos econômicos do governo priorizavam o controle inflacionário e do déficit público, suspendendo os financiamentos governamentais para a ampliação da capacidade instalada.

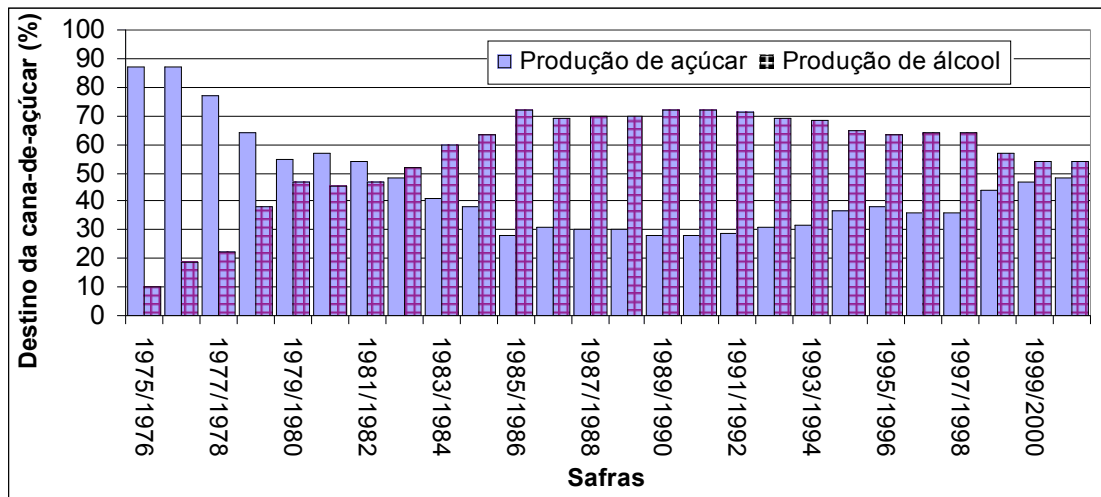


Figura 2 – Destino da cana-de-açúcar voltada para a produção de álcool e de açúcar.
Fonte: LEÃO (2002)

O fim dos incentivos fiscais para a produção de carro a álcool, e a crise de abastecimento de 1989, foi apontado como os principais responsáveis pela reversão na preferência do consumidor em adquirir carro a álcool em detrimento do carro a gasolina. Na década de 1990 e início da década de 2000 tornou-se praticamente irrelevante a venda de carros a álcool em comparação com a de carros a gasolina.

Com a redução gradativa da utilização do álcool como combustível na década de 1990, a produção de açúcar voltou a ocupar uma participação cada vez maior na utilização da cana-de-açúcar (Figura 2), e ocorreu também uma ampliação das exportações de etanol (BRASIL, 2007).

No campo internacional o etanol vem sendo utilizado na fabricação de bebidas alcoólicas, em cosméticos, tintas em geral, etc., e como combustível, misturado com a

gasolina ou individualmente (BERG, 2006). No entanto, desde a década de 1980 o álcool etílico é mais largamente produzido visando o mercado de combustíveis, correspondendo por dois terços de sua produção mundial.

A implantação dos programas de etanol como combustível em vários países, principalmente nos países desenvolvidos, é responsável pelo esperado crescimento deste produto no comércio internacional. Diferentes países contemplam a mistura do álcool à gasolina e/ou ao óleo diesel, como por exemplo, a Índia e a Tailândia, que estudam a alternativa da mistura álcool/gasolina. A Austrália pretende, de forma não obrigatória, permitir a adição de 2% a 10% de etanol na gasolina; cabe observar que esse país ainda não produz álcool para fins carburantes, apesar de ser o segundo maior produtor mundial de açúcar. Os EUA têm sua demanda de etanol em franco crescimento à medida que as proibições se sucedem na Califórnia e em outros estados com relação ao oxigenante éter metil terbutílico (MTBE), segundo a Renewable Fuels Association, com um consumo de três bilhões de litros/ano a partir de janeiro de 2003 na Califórnia, e mais três bilhões de litros na Costa Leste, num total de seis bilhões de litros, o que equivale à metade da produção brasileira. O Japão aprovou uma lei, a ser regulamentada, que permite a mistura do álcool à gasolina e ao diesel, com perspectiva do uso de etanol em termoelétricas e a China tem interesse na utilização do álcool etílico anidro carburante como substituto do aditivo antidetonante na gasolina. Há indícios de alteração na matriz de produção de álcool chinesa, atualmente baseada na produção de cereais, para a cana-de-açúcar ou outros insumos menos onerosos do que o milho, sendo ainda assim o 3º maior produtor mundial, com 3,1 bilhões de litros de álcool/ano (NEGRÃO e URBAN, 2007).

Embora não seja possível prever o tamanho e a velocidade de crescimento da demanda internacional por álcool combustível em futuro próximo, é possível avaliar, com base em números relativos, o aproveitamento potencial de expansão do uso do álcool que

requer esforços contínuos de reorganização da produção e a instituição de mecanismos eficazes de regulação (NEGRÃO e URBAN, 2007). Tendo em vista este crescimento espera-se que o Brasil exporte cerca de três bilhões de litros de álcool em 2006, volume que dobrará em 2010 e saltará para oito bilhões de litros em 2015 (CARNIER, 2007).

Em março de 2003, no Brasil, foram lançados os carros bicombustíveis, os quais podem ser abastecidos tanto com álcool como com gasolina. Devido às perspectivas de crescimento da venda destes carros para os próximos anos, passando de aproximadamente 48 mil unidades vendidas em 2003 para 1,3 milhões de unidades que se pretende vender em 2010 (Figura 3), espera-se a viabilização do crescimento das vendas do álcool hidratado no futuro (INFORMAÇÃO UNICA, 2006).

Com a aquisição de carros bicombustíveis, cabe ao consumidor a escolha entre abastecer o tanque de seu carro em álcool hidratado ou gasolina. Como se gasta mais álcool do que gasolina por quilômetro rodado, estima-se que o preço do álcool deva ser de aproximadamente 70% do preço da gasolina, para ser indiferente ao consumidor optar por abastecer o veículo com gasolina ou álcool hidratado.

Desta forma, caso se concretize as estimativas de venda de carros bicombustíveis para os próximos anos, o álcool hidratado pode voltar a ganhar participação nas vendas de combustíveis no Brasil. Para isto, o preço do álcool hidratado deve se manter competitivo em relação ao preço da gasolina (BUENO, 2004).

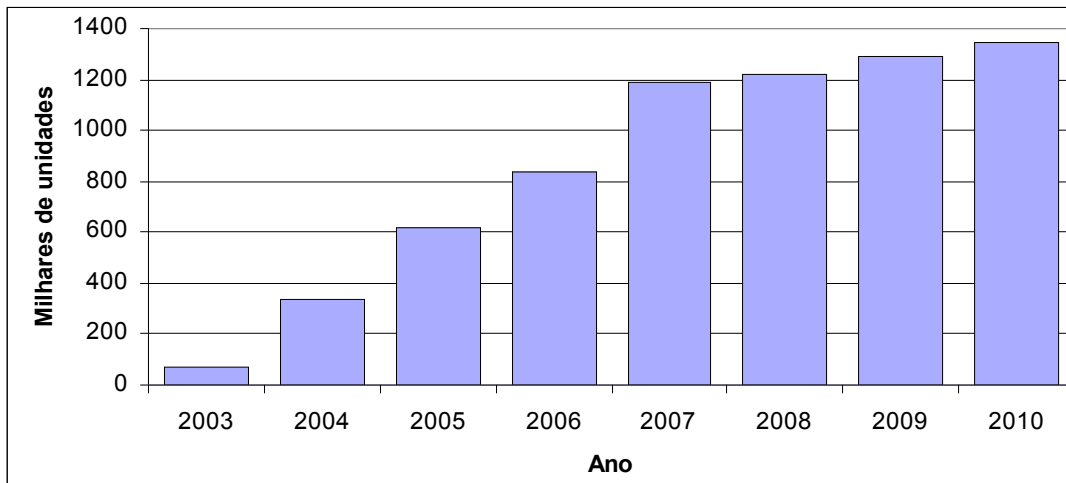


Figura 3 – Vendas e perspectivas de vendas de carros bicompostíveis.
Fonte: FIGUEIRA (2005)

Segundo Carnier (2007), a corrida pelo etanol fez com que a produção mundial somasse 46 bilhões de litros no ano de 2005, segundo a empresa especializada F.O.Licht. O crescimento foi de 12,8% em relação a 2004 e a previsão é que a demanda continue a aumentar em escala geométrica sob a liderança dos Estados Unidos (que obtêm o produto do milho) e do Brasil, responsáveis em conjunto por 70% da oferta global. Como a demanda está superaquecida, os dois países têm investido em novas fábricas. O Brasil está erguendo 90 novas usinas, ou 25% do total das unidades hoje instaladas. Desta forma, será mais fácil cumprir a previsão do Instituto de Economia Agrícola de que a produção chegará a 26 bilhões de litros, em dez anos.

O crescimento do mercado internacional de etanol para combustível seria importante tanto para países com programas de etanol em larga escala, como Brasil e EUA, como para estimular a utilização de etanol como combustível em outros países, como o Japão. No primeiro caso, desencadearia uma forma de balancear a oferta e a demanda doméstica e reduzir o risco resultante de falhas de safras que fornecem as matérias-primas para a produção de etanol e das oscilações de preços em outros mercados substitutos de oferta, como o açúcar. No segundo, a formação de um mercado internacional com a inclusão de outros países

ofertantes, como Índia e Malásia, seria importante para reduzir o risco de oscilações de oferta e preços de um único país ofertante (BERG, 2006).

2.2.2. Xilitol

O xilitol ($C_5H_{12}O_5$) é um poliálcool de cinco carbonos encontrado em muitas frutas e plantas como ameixa, morango, pêra, framboesa, couve-flor e endívia (MATILLA et al., 2005; MURPHY e McCARTHY, 2005), além de ser também produzido em pequena quantidade no organismo de mamíferos como um produto intermediário no metabolismo de carboidratos (MATILLA et al., 2005).

Foi descoberto em 1891 pelos químicos Emil Fisher e Gabriel Bertrand que o obtiveram na forma de um xarope, a partir da reação da xilose oriunda de madeira com amálgama sódica (liga de mercúrio e sódio) (LIMA e BERLINK, 2003). Em 1975 a Finnish Sugar Co. Ltd. (Helsinque, Finlândia), começou a primeira produção de xilitol em larga escala, produzindo acima de 3 mil toneladas por ano, neste mesmo ano foi lançado na Finlândia e depois nos Estados Unidos um chiclete a base de xilitol (HYVÖNEN et al., 1982).

A importância econômica e social do xilitol deve-se principalmente a seu potencial como substituto de açúcares convencionais, devido a seu poder adoçante (EMODI, 1978; HYVÖNEN et al., 1982), comparável ao da sacarose e superior ao do sorbitol e manitol (BÄR, 1991; WINKELHAUSEN e KUZMANOVA, 1998). Este poliálcool é classificado como um aditivo tipo GRAS (*Generally Recognised as Safe*) pela *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos (HAHN-HÄGERDAL et al., 1994) e no Brasil é classificado como aditivo alimentar do tipo umectante, empregado em balas, confeitos, gomas de mascar e produtos do gênero (ANVISA, 2007a; b). Algumas de suas propriedades físico-químicas estão apresentadas na Tabela 2.

O xilitol apresenta também propriedade anticariogênica, pelo fato de não ser utilizado pelos microrganismos da flora bucal, em particular pela bactéria *Streptococcus mutans*, e de conseqüentemente evitar a formação de ácidos que atacam o esmalte dos dentes (GALES e NGUYEN, 2000). Através do uso regular de gomas de mascar contendo este poliol observou-se uma considerável redução desta bactéria na flora bucal (AUTIO, 2002) constatou-se, também, uma redução de cáries através do uso de dentifrícios contendo xilitol e flúor já que ocorre uma redução na retenção de glicose na boca (IWATA et al., 2003). Além da redução de cáries dentárias, o xilitol induz a remineralização do esmalte do dentes, revertendo lesões recém-formadas, uma vez que a composição química da saliva parece ser favoravelmente afetada, apresentando um significativo aumento de íons cálcio e fosfato (MÄKINEN, 2000).

Tabela 2 - Propriedades físico-químicas do xilitol.

Propriedades	Características
Massa molar	152,15 g/mol
Sabor	Doce
Odor	Inodoro
Aparência	Pó cristalino branco
Ponto de fusão	92-96 °C
Ponto de ebulição	216 °C
pH (solução 5%)	5-7
Viscosidade (solução 10% à 20 °C)	1,03 cp
Solubilidade (30 °C)	68 g/100 g de solução*
Densidade (solução 10%)	1,03 g/cm ³
Calor de dissolução	-34,8 cal/g (efeito “refrescante”)
Valor calórico	4,06 kcal/g
Índice de refração (solução 10% à 25 °C)	1,3471
Estabilidade	Estável a 120 °C, a caramelização ocorre se aquecido por vários minutos próximo ao ponto de ebulição.
Higroscopicidade	Em umidade relativa alta o xilitol é mais higroscópico que a sacarose, mas menos que o sorbitol.

* Igual da sacarose, abaixo dessa temperatura o xilitol é menos solúvel, com o aumento da temperatura ele se torna significativamente mais solúvel que a sacarose.

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

Na indústria alimentícia o xilitol tem um grande potencial de aplicação devido à ausência de grupos aldeídicos e cetônicos em suas moléculas, este não provoca nos alimentos reações de escurecimento do tipo "Maillard", sendo assim apropriado para o processamento em temperaturas elevadas de alimentos nos quais estas reações são indesejáveis. Uma vez que o xilitol não é fermentado por leveduras, sua utilização no preparo de xaropes e refrescos é altamente vantajosa, eliminando a necessidade de pasteurização do produto e da adição de conservantes para estoque por quatro ou cinco meses em frascos fechados (MANZ et al., 1973).

O xilitol pode também ser empregado com segurança na área clínica já que é altamente tolerado pelo organismo humano (MÄKINEN, 2000). Tem sido também indicado para pacientes com doenças biliares e renais, como também para pessoas obesas, já que contribui muito pouco para a formação de tecidos gordurosos, quando comparado a outros açúcares (BÄR, 1991). Indicado eficazmente nos tratamentos de outras desordens metabólicas, como a deficiência da enzima glicose-6 fosfato desidrogenase (EMODI, 1978) e na dieta de diabéticos, por não requerer insulina para seu metabolismo (MANZ et al., 1973; LEATHERS, 2003; NYSSÖLÄ et al., 2005). Segundo Mäkinen (2000), os efeitos clínicos associados com a administração de xilitol podem ser explicados pela simples teoria pentiol-hexitol, a qual se baseia no fato de que o metabolismo dos carboidratos que apresentam seis átomos de carbono em sua estrutura é freqüentemente inibido pelo metabolismo de carboidratos com cinco átomos de carbono.

Nos últimos anos vários trabalhos têm ressaltado diversas propriedades farmacológicas do xilitol. Estudos de Uhari et al. (2000) demonstraram que o xilitol inibe o crescimento de *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans* e a aderência de *Pneumococci* e *Haemophilus influenzae* nas células nasofaríngeas, prevenindo a otite média aguda em crianças. Estudos de Biswas e Vashishtha (1998) constataram a ação do xilitol na

diminuição da pressão intraocular. Sajjan et al. (2004) destacam a ação benéfica do xilitol no tratamento da fibrose cística. Církva et al. (2004) mostraram a aplicação de xilitol na síntese de derivados fluoracilados para a produção de surfactantes biocompatíveis. Outras aplicações biomédicas do xilitol incluem seu uso na formulação de infusões pós-cirúrgicas para pacientes com dificuldades em metabolizar açúcares (MÄKINEN, 2000); na prevenção da osteoporose, logo previne a redução da densidade dos ossos, bem como seu conteúdo de minerais, cálcio e fósforo, melhorando consideravelmente as propriedades biomecânicas dos ossos (MATILLA et al., 2002) e no tratamento da dermatite atópica (MASAKO et al., 2005). Além destas aplicações este pode ser empregado na produção de poliésteres ramificados como o hidroxipropil-xilitol, usado para a imobilização de lesões traumatológicas, cujas propriedades mecânicas e termofísicas são semelhantes a das espumas de poliuretano, mas com as vantagens de não absorção de água e menor deformação (SANROMÁN et al., 1991).

No Japão, Alemanha e outros países da Europa, o xilitol foi aceito na nutrição parenteral (MÄKINEN, 2000) e no preparo de soluções parenterais contendo aminoácidos, pois, ao contrário do que ocorre com a glicose, não reage com aminoácidos (FÖRSTER, 1974).

Assim, este poliol conquistou muitos mercados nos últimos anos, havendo um crescente número de produtos sendo lançados nos mercados asiático, europeu e norte-americano.

O xilitol pode ser obtido por extração sólido-líquido (PARAJÓ et al., 1998a), por síntese química (MIKKOLA et al., 2000) ou por síntese microbiológica utilizando microrganismos como catalisadores, ou seja, através da fermentação por leveduras ou bactérias (FELIPE et al., 1997a; CARVALHO et al., 2003).

2.3. Obtenção de Etanol e Xilitol através da Bioconversão da Xilose

Tanto o etanol quanto o xilitol podem ser obtidos através do processo de fermentação da xilose. Em ambos os casos podem-se utilizar um substrato como o hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana-de-açúcar, no entanto, altera-se o catalisador, a levedura que metaboliza a xilose.

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de se avaliar a produção de etanol a partir da bioconversão da xilose por leveduras (*Pichia stipitis*, *Candida shehatae* e *Pachysolen tannophilus*) e bactérias. Dentre estes microorganismos destacam-se as leveduras *Pichia stipitis* e a *Candida shehatae* como maiores produtoras de etanol (AMARTEY e JEFFRIES, 1996; SANCHEZ, et al., 2004).

Segundo Pandey et al. (2000), o bagaço de cana-de-açúcar também poderia ser utilizado na produção de biocombustível (etanol), no entanto, os processos que envolvem a sua obtenção requerem uma quantidade substancial de matéria-prima, fato que comprometeria o fornecimento de energia para os moinhos de açúcar, através da queima do bagaço nas caldeiras. Deve-se lembrar também, que a produção de etanol a partir do bagaço baseia-se na hidrólise desse resíduo agroindustrial e, para a realização da hidrólise enzimática, necessita-se de grandes quantidades da enzima celulase (economicamente inviável) no processo de sacarificação. Tal projeto torna-se atraente em circunstâncias especiais como, por exemplo, no Brasil onde a sua posição geográfica favorece a plantação da cana-de-açúcar tornando o bagaço um material abundante, e também através de outro mecanismo de hidrólise que viabilize o fracionamento desta biomassa.

No processo de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar ocorre a quebra dos polissacarídeos presentes na matéria-prima, formando seus açúcares correspondentes. Este procedimento pode ser realizado através da hidrólise ácida (LEE et al., 1999) ou da enzimática como citado anteriormente (SUN e CHENG, 2002). Durante a hidrólise ácida,

utilizando um ácido diluído, primeiramente ocorre a despolimerização da fração hemicelulósica em temperaturas mais brandas, para em seguida realizar a despolimerização da fração de celulose em temperaturas mais elevadas. Ou seja, realiza-se uma hidrólise completa da biomassa em duas etapas. Temperaturas muito elevadas levam à degradação dos monossacarídeos obtidos a partir da hemicelulose (SANCHEZ et al., 2004).

Lavarack et al. (2002) observaram uma maior energia de ativação na quebra da xilose do que na degradação da hemicelulose, logo a utilização de uma temperatura mais amena (com maior tempo de hidrólise) será vantajosa para otimizar o rendimento deste monossacarídeo.

As pesquisas sobre o bioprocessamento de obtenção do xilitol estão sendo desenvolvidas utilizando diferentes matérias primas e concentram-se também nos diversos fatores que influenciam a bioconversão de xilose em xilitol (Tabela 3).

Fatores como a concentração inicial de xilose (NOLLEAU et al., 1993), a presença de glicose no meio de fermentação (GÍRIO et al., 2000; SILVA et al., 2004a), a presença de arabinose (KONDARZEWSKY et al., 2004), a fonte de nitrogênio (BARBOSA et al., 1988), o pH (FELIPE et al., 1997b; RODRIGUES et al., 2001), a temperatura (BARBOSA et al., 1988; CONVERTI et al., 2001) a disponibilidade de oxigênio (ACOSTA et al., 2000), a concentração de células no inóculo (PARAJÓ et al., 1996c; FELIPE et al., 1997a) e a presença de compostos tóxicos formados durante o processo de hidrólise dos materiais lignocelulósicos (CLARK e MACKIE, 1984; MUSSATO e ROBERTO, 2004a), podem influenciar fortemente na produção de xilitol.

Tabela 3 – Utilização de hidrolisados hemicelulósicos de diferentes matérias primas para a produção biotecnológica de xilitol.

Matéria Prima	Microrganismo	Biorreator	Modo de Operação	$Y_{P/S}$ (g/g)	Q_P (g/L.h)	Referência
Cavacos de eucalipto	<i>Candida guilliermondii</i> (FTI – 20037)	FE	Descontínuo	0,76	0,68	Canilha et al. (2004)
Bagaço de cana-de-açúcar	<i>Candida guilliermondii</i> (FTI – 20037)	STR*	Descontínuo	0,58	0,39	Carvalho et al. (2003)
Bagaço de cana-de-açúcar	<i>Candida guilliermondii</i> (FTI – 20037)	STR	Contínuo	0,70	0,70	Martínez et al. (2003)
Palha de arroz	<i>Debaryomyces hansenii</i> (NRRLY-7426)	STR	Descontínuo	0,73	0,70	Faveri et al. (2004)
Palha de arroz	<i>Candida guilliermondii</i> (FTI – 20037)	STR	Descontínuo	0,84	0,17	Mussato e Roberto (2003)
Palha de trigo	<i>Candida guilliermondii</i> (FTI – 20037)	STR	Descontínuo	0,90	0,50	Canilha et al. (2003)

$Y_{P/S}$: Fator de conversão de xilose em xilitol, Q_P : Produtividade volumétrica de xilitol, FE: Frascos de erlenmeyer, STR: Biorreator agitado mecanicamente, *: Célula imobilizada.

2.4. Inibidores do Metabolismo Microbiano

O processo fermentativo de produção de xilitol e etanol a partir de hidrolisados hemicelulósicos apresenta ainda algumas limitações quanto à produtividade devido, principalmente, à presença de compostos inibidores do metabolismo microbiano neste substrato. Logo, a principal dificuldade encontrada quando se realiza a hidrólise de materiais lignocelulósicos é que, além da fração hemicelulósica, podem ser encontrados compostos tais como o ácido acético, o furfural (produto da degradação da xilose), o hidroximetilfurfural (produtos da degradação da glicose), os metais pesados tais como, cromo, cobre, níquel e ferro provenientes do equipamento de hidrólise, assim como compostos aromáticos derivados da degradação da lignina e dos extrativos da madeira. Portanto, é necessária a remoção ou redução de suas concentrações para que os hidrolisados possam ser empregados efetivamente

nos processos de bioconversão (DUFF e MURRAY, 1996; PARAJÓ et al., 1998b; PALMQVIST e HAHN-HÄGERDAL, 2000; DUES et al., 2005).

Os efeitos destes compostos na formação de xilitol e etanol por leveduras estão relacionados com a sua concentração no meio e com os parâmetros fermentativos associados à obtenção destes produtos, principalmente o pH e a aeração.

De uma forma geral, não pode ser estabelecida a concentração máxima tolerada de cada inibidor presente no meio, uma vez que, esta variável depende fortemente de fatores como o microrganismo a ser utilizado e seu grau de adaptação, o processo fermentativo empregado e a presença simultânea de vários outros inibidores (LOHMEIER-VOGEL et al., 1998; PARAJÓ et al., 1998c).

Ácido Acético

O ácido acético é o principal derivado dos grupos acetila liberados das xilanas acetiladas nos hidrolisados hemicelulósicos. O modo de ação nas células de leveduras pode ser pela redução do pH intracelular, resultando em diminuição do crescimento e do metabolismo (LOHMEIER-VOGEL et al., 1998).

A toxicidade do ácido acético na conversão de xilose em xilitol tem sido constatada quando este está presente em concentrações apreciáveis (aproximadamente 3g/L) (FELIPE et al., 1995). O ácido acético é considerado como um potente inibidor do metabolismo da xilose em leveduras e seu efeito é função da sua concentração na forma não dissociada (pK_a 4,75) e, portanto, depende do pH do meio de fermentação. No pH ótimo para fermentação por leveduras (pH 4,00-5,00) este ácido encontra-se em maior proporção sob a forma não dissociada, difundindo-se livremente para dentro da célula (citoplasma), onde se dissocia causando um decréscimo no pH intracelular. As leveduras são capazes de regular seu pH interno por meio de bombas de prótons mediante a ATPase situada no plasma da membrana.

Quando o pH intracelular diminui, aumenta a atividade da ATPase resultando em uma prejudicial dissipação de ATP (KUSUMEGI et al., 1998). Acima de certa concentração (3 g/L) de ácido acético, o catabolismo celular não pode gerar ATPs suficiente, diminuindo o gradiente de prótons na membrana, desajustando a produção de energia e afetando o transporte de diversos nutrientes (HERRERO et al., 1985).

Em meio quimicamente definido (meio sintético) o ácido acético favorece a produção de biomassa (na levedura *Debaryomyces hansenii* CCMI 941) em concentrações inferiores a 6,0 g/L (GÍRIO et al., 2005). Diferentemente observado por Felipe (1994) em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar contendo ácido acético em concentrações maiores que 5,0 g/L e pH inferior a 4,5, nenhuma bioconversão xilose-xilitol ocorre na levedura *Candida guilliermondii*. Entretanto, Silva (1994) verificou que em meio sintético e na ausência de ácido acético, a um pH de 4,00 a conversão xilose-xilitol, por esta mesma cepa, ocorre com uma eficiência de 76,4%.

De acordo com Silva et al. (2004b), o efeito inibitório do ácido acético sobre a bioconversão de xilose por *C. guilliermondii* depende da fase de crescimento da levedura, sendo este mais marcante quando o ácido se encontrava em maior concentração no meio após 12 horas de fermentação e que este efeito à levedura pode ser potencializado pela presença de outros compostos tóxicos no hidrolisado, tais como furfural, hidroximetilfurfural e fenóis.

O conhecimento do efeito do pH sobre a produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar é importante pois, dependendo do pH de fermentação, o efeito tóxico do ácido acético é acentuado ou a solubilidade de alguns nutrientes no meio pode ser afetada, tornando impossível a sua assimilação (SANCHEZ et al., 1997; FELIPE et al., 1997b). Em geral, a levedura cresce melhor em meio ácido em valores de pH entre 3,5 e 3,8 sendo que, os limites de tolerância para várias espécies, variam entre 2,5 e 8,0 (SILVA et al., 1997). Estudos realizados por Felipe (1994) demonstraram que o pH

inicial para a produção de xilitol por *C. guilliermondii* está na faixa de 5,5 a 6,5. Em outros estudos realizados com essa mesma cepa verificou-se que durante uma fermentação de hidrolisado de bagaço de cana para a produção de xilitol, o pH aumentou constantemente atingindo valores finais da ordem de 8,0 (PFEIFER et al., 1996). Isto sugere que o microorganismo usa o ácido acético como fonte de carbono, o que reforça os resultados obtidos por Felipe et al. (1995) e Martínez et al. (1999). Felipe et al. (1997b) comprovaram que a *C. guilliermondii* crescendo em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana a um pH de fermentação inferior a 4,5 o consumo de glicose, xilose e arabinose, assim como a produção de xilitol e o crescimento celular foram inibidos. Entretanto, em pH superior a 5,5 o microrganismo produziu xilitol com rendimento e produtividade iguais a 0,75 g/g e 0,57 g/L.h, respectivamente.

Furfural e Hidroximetilfurfural

O furfural e o hidroximetilfurfural são os principais produtos formados pela desidratação das pentoses e hexoses, respectivamente. Em estudos realizados por Sanchez e Bautista (1988) o furfural e o hidroximetilfurfural provocaram retardamento no processo fermentativo no início da fermentação e inibiram o crescimento da levedura *C. guilliermondii*. Estes efeitos foram provavelmente causados pela ação destes compostos sobre as enzimas glicolíticas triose-fosfatodesidrogenase e a álcool desidrogenase. A inibição pelo furfural foi observada para concentrações maiores de 1 g/L e pelo hidroximetilfurfural para concentrações maiores de 1,5 g/L.

Em estudos realizados com *Pichia stipitis*, o efeito tóxico do furfural foi relacionado com a inibição na respiração e na fosforilação oxidativa (PARAJÓ et al., 1998). Weigert et al., (1988) atribuíram a inibição pelo furfural à sua interferência direta no transporte de

elétrons na cadeia de transporte na mitocôndria, além de constatar o efeito inibitório do furfural sobre a síntese de citocromos.

Converti et al. (2000b) evidenciaram o potencial inibitório do furfural sobre a bioconversão de xilose em xilitol por *C.guilliermondii* cultivada em meio sintético. Segundo estes autores a presença de 0,62 g/L de furfural foi suficiente para reduzir consideravelmente a produtividade em xilitol.

A influência do furfural na via metabólica de utilização de açúcares e no crescimento microbiano é dependente da concentração deste meio de cultivo. Na fermentação alcoólica empregando *Saccharomyces cerevisiae*, Azhar et al. (1981), verificaram a inibição da multiplicação da levedura, em presença de furfural, na concentração de 3,0 g/L.

Em estudos realizados por Gutiérrez et al. (2002), em grupos de bactérias etanologênicas cultivadas em agar, foi verificado que o furfural em concentrações superiores a 10 μ M (10 micromolar) diminui a velocidade de formação de etanol, mas não afeta a produção final deste álcool.

O hidroximetilfurfural por ser muito reativo está usualmente presente em hidrolisados hemicelulósicos em baixas concentrações. Chung e Lee (1985) relataram que uma concentração de hidroximetilfurfural de 0,11% e seu efeito interativo com o furfural (0,08%) e outras toxinas, podem, além de inibir o crescimento celular, causar a morte de células. Segundo Felipe et al. (1996a), o efeito inibitório desses compostos é mais acentuado quando se empregam baixos níveis de inóculo ($2,4 \times 10^6$ células/mL) durante a fermentação de hidrolisado hemicelulósico de eucalipto por *C. guilliermondii*. Nessa condição de inóculo observou-se uma diminuição de 46% da viabilidade celular, sendo que houve um incremento de 25% na quantidade de células quando se empregou maior nível de inóculo ($1,2 \times 10^8$ células/mL). Por outro lado, estudos realizados por Preziosi-Belloy et al. (1997),

mostram que concentrações de 1,5 g/L de hidroximetilfurfural tiveram um efeito ligeiramente estimulante sobre a produção de xilitol em meio sintético, pela levedura *C. parapsilosis*.

Compostos Fenólicos

Durante a hidrólise ácida uma pequena fração de lignina é degradada resultando na liberação de compostos aromáticos. Destes, os compostos fenólicos de baixa massa molecular têm sido considerados os de maior força inibitória (CLARK e MACKIE, 1984). Segundo Villa et al., (1998) os compostos fenólicos presentes no hidrolisado, embora em baixas concentrações, inibem a conversão de xilose em xilitol pela levedura *C. guilliermondii*. Concentrações maiores que 0,1 g/L mostraram efeito inibitório na velocidade de consumo da xilose, no crescimento celular e na produção de xilitol.

Foi comprovado por Jönsson et al. (1998) uma considerável diminuição dos efeitos inibitórios de hidrolisados hemicelulósicos a partir da remoção dos compostos fenólicos pela enzima lacase, o que comprova a elevada toxicidade destes compostos aos microorganismos fermentativos. Parajó et al. (1998a) também relataram que a maioria dos produtos da degradação da lignina são mais tóxicos que o furfural e o hidroximetilfurfural e apresentam uma alta potencialidade inibitória a baixas concentrações.

Gírio et al. (2005) testando vários compostos fenólicos constataram que, em meio sintético estes compostos diminuíram fortemente a velocidade específica de crescimento da levedura *Debaryomyces hansenii* CCMI 941.

Em estudos realizados por Felipe et al. (1999) sobre o efeito do fenol na bioconversão de xilose em xilitol por *C. guilliermondii* cultivada em meio sintético, foi constatado que a exposição da cultura ao fenol inibiu esta bioconversão. Em meio sem fenol 99% da xilose foi consumida pela levedura (com 48 h de fermentação) ao passo que, com 0,05 g/L de fenol, o consumo foi reduzido em 16%. Foram observadas no cultivo em presença de fenol, redução

na concentração celular, alterações morfológicas e perda da viabilidade celular. Estes autores concluíram que o máximo fator de rendimento em xilitol ocorreu no meio sem fenol e, no meio com fenol, houve redução deste fator de rendimento em 76%.

Íons Metálicos

Os cátions metálicos provenientes do equipamento da hidrólise, também influenciam a atividade das enzimas que participam do metabolismo da xilose (LOHMEIER-VOGEL et al., 1998). Estudos realizados indicam que Ca^{+2} , Mg^{+2} e Mn^{+2} não afetam a atividade da xilitol desidrogenase; no entanto, esta enzima pode ser fortemente inibida pelo Zn^{+2} , Cd^{+2} e Co^{+2} (PARAJÓ et al., 1998b).

Watson et al. (1984) estudaram os efeitos de íons sobre o crescimento celular de *Pachysolen tannophilus* para a produção de xilitol e constataram que os íons Cu^{+2} e Cr^{+3} nas concentrações de até 0,004 e 0,10 g/L, respectivamente, não afetaram significativamente a atividade máxima da enzima (velocidade específica máxima de crescimento), mas a presença de íons Ni^{+2} na concentração de 0,1 g/L resultou na redução de 60% no valor deste parâmetro.

2.5. Tratamentos dos Hidrolisados Hemicelulósicos

Vários tratamentos físico-químicos têm sido utilizados a fim de minimizar o efeito da toxicidade dos hidrolisados sobre a fermentação, tanto por transformação de inibidores em compostos inativos como pela remoção destes (PARAJÓ et al., 1998c; SOLENZAL et al., 1998).

A literatura especializada relata o uso de diferentes alternativas a estes tratamentos físico-químicos, dentre as quais podem ser citado o uso de cepas mutantes (MOHANDAS et al., 1995), adaptação das leveduras aos hidrolisados (SILVA e ROBERTO, 2001), reutilização de células (SENE et al., 1998), assim como o uso combinado dos tratamentos

físicos, químicos e biológicos, sendo a alteração de pH combinado com a adsorção em carvão ativo um dos procedimentos mais utilizados para destoxificar os hidrolisados (FRAZER e McCASKEY, 1989; NILVERBRANT et al., 2003; PURWADI et al., 2004; MUSSATO e ROBERTO, 2004a). No entanto, este procedimento pode ocasionar parcial degradação dos açúcares fermentescíveis (PARAJÓ et al., 1998c). Por outro lado, mediante o processo de adsorção com carvão ativo se remove principalmente compostos fenólicos, furânicos e baixa concentração de ácido acético, observando-se melhoras na bioconversão de xilose em xilitol quando comparados com os tratamentos anteriormente mencionados (MARTON, 2002; DIZ et al., 2002; MUSSATO et al., 2004). Mediante a concentração à vácuo, ou processo de evaporação, se remove principalmente compostos inibidores voláteis como ácido acético e furfural (PARAJÓ et al., 1998c; RODRIGUES et al., 2001).

2.5.1. Evaporação

A elevação da concentração de açúcar presente no hidrolisado pode ser realizada através do processo de evaporação que também oferece condições satisfatórias para a eliminação, principalmente, de compostos inibidores voláteis (PARAJÓ et al., 1998c). No processo de concentração à vácuo de hidrolisados de palha de arroz eliminou-se o furfural quase totalmente, e mais de 50% do ácido acético e outros compostos voláteis, permitindo melhoras na fermentação (ROBERTO et al., 1991).

Em trabalhos realizados por Rodrigues (1999) verificou-se a volatilização parcial do ácido acético ao concentrar o hidrolisado em pH 0,92, no entanto, ao efetuar este procedimento num pH próximo de 5,00 o teor desta substância aumentou nas mesmas proporções que o fator de concentração. Este fato pode ser explicado através do grau de dissociação do ácido acético, ou seja, num pH bem ácido (0,92) este ácido encontra-se quase

completamente dissociado, já num pH mais elevado (5,50) esta substância apresenta-se em forma de sais.

2.5.2. Coagulação e Precipitação Seletiva de Impurezas Coloidais

Este processo além de realizar um ajuste no pH do hidrolisado, proporciona a precipitação e coagulação de algumas impurezas com alto peso coloidal. Os colóides de uma forma geral podem ser classificados em hidrófilos e hidrófobos. Os hidrófilos possuem em torno de si uma camada de moléculas de água adsorvidas o que dificulta sua complexação. Já os hidrófobos se mantêm em suspensão devido aos choques entre suas moléculas e as da água e ao seu reduzido tamanho. Os colóides hidrófobos negativamente carregados possuem maior facilidade de complexação (CAMPOS e POVINELLI, 1974).

Partículas coloidais estão sujeitas a duas forças distintas: uma de repulsão devido às suas cargas semelhantes e outra de atração devido às forças de Van der Waals. Para que a força de atração seja maior que a de repulsão é necessário a introdução de íons que estabeleçam um elo entre partículas de cargas iguais; e uma energia para que haja maior número de colisões entre as moléculas. Para tanto, podem ser usados agentes coagulantes introduzidos ao meio sob agitação (BLOODWORTH et al., 1991; KOBLITZ, 1998).

As dispersões coloidais são misturas heterogêneas em que as partículas do disperso podem ser agregados de átomos, íons ou moléculas, macromoléculas ou macroíons; e o diâmetro das partículas do disperso estão entre 10 Å e 1000 Å. Assim, a alteração no pH, na força iônica da solução e nos tipos de íons presentes, influencia significativamente na floculação interferindo na agregação das partículas (SETA e KARATHANASIS, 1997).

Quando as partículas presentes numa dispersão coloidal apresentarem as mesmas cargas elétricas, esta se mantêm estável. No entanto, se essas partículas forem eliminadas pela

adição de um eletrólito ou por uma dispersão coloidal de carga oposta, elas precipitarão e a dispersão coloidal será destruída (BARROS-NETO et al., 1995).

A técnica de coagulação e precipitação juntamente com a cristalização de soluções é responsável por 70% dos materiais produzidos pela indústria química. Existem algumas vantagens neste procedimento já que este ocorre em temperaturas baixas, consome pouca energia e atinge elevados níveis de purificação em uma única etapa (GIULIETTI et al., 2001).

Os agentes coagulantes, em geral, são sais de cátions trivalentes (Al^{+3} , Fe^{+3}) cujo poder complexante é muitas vezes maior que de cátions bi- e monovalentes. Esses sais, ao reagirem com álcalis, produzem precipitados floculentos, cujos flocos apresentam grande superfície de adsorção de colóides e de material em suspensão. Desta forma, a coagulação além de um processo químico de complexação de moléculas, também é um processo físico de adsorção e arraste de partículas. As substâncias formadas pela reação destes sais com álcalis têm caráter anfótero. Isto implica na solubilização destas substâncias em valores de pH muito ácidos ou muito alcalinos restando apenas uma faixa de pH em que são ativas, isto é: formam precipitados floculentos. Esta faixa é variável para cada sal usado.

Entre os coagulantes mais utilizados em tratamento de águas, operação que os utiliza rotineiramente, o mais comum no Brasil é o sulfato de alumínio pois, além de atender as exigências básicas para este fim, é muito solúvel, de fácil armazenamento e transporte, e não oferece dificuldades para ser encontrado no mercado a preços relativamente baixos. O sulfato de alumínio é comercializado em três formas distintas: com alto grau de pureza, com óxidos de ferro (impureza que não interfere na ação coagulante) e com adição de carvão ativado (para remoção de colóides, pigmentos e aromas).

Ultimamente as estações de tratamento de água (ETAs) no estado de São Paulo estão utilizando um coagulante desenvolvido no Japão, o policloreto de alumínio (PAC), que contém em sua formação de 10 a 25% de Al_2O_3 , o ingrediente ativo. O PAC oferece algumas

vantagens técnicas sobre os coagulantes tradicionalmente usados: é capaz de flocular em qualquer faixa de pH, apresenta maior eficiência em comparação ao sulfato de alumínio na remoção de colóides com menor gasto de reagentes e gera menor resíduo de alumínio no produto final (KOBBLITZ, 1998). Segundo Quintaes et al. (2004), o alumínio é o terceiro elemento mais abundante encontrado na natureza da crosta terrestre, sendo precedido apenas pelo silício e pelo oxigênio. Estudos vêm sendo desenvolvidos relacionando o alumínio com a doença de Alzheimer, envolvendo riscos relativos para populações expostas a concentrações de alumínio em água potável superiores a 0,1 mg/L (FLATEN, 2001; LLOPIS e DIEZ, 2002; CAMPBELL, 2003).

Para que a coagulação aconteça é necessária a presença de um agente alcalinizante no meio reacional. Os reagentes mais utilizados são óxido de cálcio (cal virgem), hidróxido de cálcio (cal hidratada) ou carbonato de sódio, sendo este último mais indicado devido a sua maior solubilidade. Podem ainda ser aplicados auxiliares de floculação (sílica ativada, polieletrólitos, argila, betonita, etc.) cuja maior finalidade é tornar o floco mais denso, facilitando sua decantação (KOBBLITZ, 1998).

Segundo Hammer (1979) os coagulantes metálicos mais usados são aqueles cujo alumínio é a base, como sulfato de alumínio (mais utilizado) e aluminato de sódio, ou aqueles cuja base é o ferro, como sulfato férrico, sulfato ferroso e cloreto férrico.

Freqüentemente as dificuldades com a coagulação ocorrem devido aos precipitados de baixa decantabilidade, ou flocos frágeis que são facilmente fragmentados sob forças hidráulicas nos decantadores e filtros de areia. Os auxiliares de coagulação beneficiam a floculação, aumentando a decantabilidade e o enrijecimento dos flocos. Os materiais mais usados são os polieletrólitos, a sílica ativada, agentes absorventes de peso e oxidantes (MEIRA, 2003).

Os polieletrólitos sintéticos são substâncias químicas orgânicas de cadeia longa e alto peso molecular, disponível numa variedade de nomes comerciais. Os polieletrólitos são classificados de acordo com a carga elétrica na cadeia do polímero. Os que possuem carga negativa são chamados aniônicos, os carregados positivamente são chamados catiônicos, e os que não possuem carga elétrica são os não-iônicos. Os aniônicos e/ou não-iônicos são freqüentemente usados com coagulantes metálicos para promoverem a ligação entre os colóides, a fim de desenvolver flocos maiores e mais resistentes. Os polieletrólitos podem promover floculação satisfatória, com significativa redução de dosadores de sulfato de alumínio. As vantagens potenciais do uso de polímeros são a redução da quantidade de lodo e a sua maior amenidade à desidratação (HAMMER, 1979).

Uma das formas de tratamento do hidrolisado é através do ajuste de pH, que consiste na utilização de álcalis para a elevação deste, inicialmente ácido, a valores apropriados para a atividade microbiana. Foi constatado que a elevação do pH resulta na precipitação de componentes tóxicos como íons de metais pesados, acetatos, taninos, terpenos e compostos fenólicos (FRAZER e McCASKEY, 1989). Segundo Parajó et al. (1998b), os álcalis mais adequados para efetuar este tratamento são os hidróxidos de bário, cálcio, sódio e amônio. Entretanto, foram desenvolvidos vários trabalhos usando outros álcalis, dentre eles o óxido de cálcio (ROBERTO et al., 1991) e o carbonato de magnésio (PARAJÓ et al., 1996a).

A influência do tratamento do hidrolisado pela elevação do pH com diferentes álcalis sobre o consumo de xilose por *C. guilliermondii* foi verificada por Roberto et al. (1991). Esses autores constataram que, com a utilização de CaO e Ca(OH)₂, o consumo de xilose foi de 20% e 12%, respectivamente, enquanto que elevando o pH com KOH a levedura não foi capaz de assimilar essa pentose.

Van Zyl et al. (1988) comparou as bioconversões, de xilose em etanol, em hidrolisado hemicelulósico tratado com Ca(OH)₂ e com NaOH, ajustando o pH em 5,5. Foi constatado

que o hidrolisado tratado com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ apresentou melhores características físico-químicas para a produção de etanol. Confirmando este estudo, Palmqvist (1998) obteve maior produtividade e concentração de etanol fermentando um hidrolisado de madeira, onde o pH foi ajustado com hidróxido de cálcio, quando comparado com o ajuste realizado com o hidróxido de sódio. Foi observado também uma redução dos teores de furfural e hidroximetilfurfural em 20%, com os tratamentos citados acima (NILVEBRANT et al., 2003).

Vários estudos mostraram que o tratamento por elevação do pH resulta em hidrolisados pouco susceptíveis à fermentação, obtendo-se baixa ou nenhuma eficiência de bioconversão (FRAZER e McCASKEY, 1989; ROBERTO et al., 1991).

Alguns autores sugerem o tratamento baseado na alteração de pH com álcalis e ácidos consistindo na elevação do pH inicial do hidrolisado com o uso de um álcali seguido da redução deste pela adição de um ácido, até o pH ótimo de fermentação. A adição de óxido de cálcio ou hidróxido de cálcio para alcançar valores de pH entre 10,0 e 10,5; provoca a formação de um precipitado que é removido por filtração, e uma posterior diminuição do pH com ácido até uma condição de pH adequado para a atividade microbiana no processo de fermentação. Em seguida filtra-se o material para remover o precipitado formado. Este tratamento causa efeitos benéficos como uma parcial remoção de ácidos (acético e tânico) e compostos fenólicos, precipitação de íons metálicos pesados e conversão de furfural em ácido furfurílico, no entanto, os açúcares também podem ser parcialmente degradados (VAN ZYL et al., 1988; SILVA et al., 1991; ROBERTO et al., 1994). Amartey e Jeffries (1996), e Parajó et al. (1998c), observaram perdas de glicose (14%), xilose (4%) e arabinose (8%) após o tratamento de hidrolisados de sabugo de milho por este método.

Tratamento similar foi utilizado por Van Zyl, et al. (1988) em que o ajuste do pH à 10 foi realizado com KOH, o reajuste para 6,5 com HCl e adição de 1% de sulfato de sódio à

temperatura ambiente. Este procedimento mostrou-se mais eficiente nos hidrolisados hemicelulósicos de bagaço de cana para obtenção de etanol utilizando a *P. stipitis*.

Em estudos realizados por Felipe et al., (1993) com hidrolisados hemicelulósicos de bagaço de cana-de-açúcar tratados pelo método de alteração de pH observou-se uma eliminação total do furfural, no entanto, a redução do ácido acético no meio foi pequena, afetando o rendimento do processo.

2.5.3. Processos de Separação por Membranas

Os processos de separação desempenham um papel importante na indústria, incluindo a remoção de impurezas de matérias-primas, purificação de produtos, separação de correntes e remoção de contaminantes do ar e de águas residuais, etc. No geral, os processos de separação correspondem de 40 a 70%, tanto do custo capital como do custo de operação de uma indústria, e a sua correta aplicação pode reduzir significativamente os custos e aumentar os lucros (CARLSON, 2006).

A utilização comercial de sistemas de separação com membranas tem crescido a uma taxa de 8 a 10% ao ano, e o volume de vendas em 2001 ultrapassou o valor de US\$ 15 bilhões (STRATHMANN, 2001). Seguindo esta projeção, a previsão de vendas para 2008 deverá ficar em torno de US\$ 23 bilhões. O significativo crescimento da tecnologia de membranas sintéticas e processos envolvendo membranas como ferramenta eficiente para separações, tanto em escala laboratorial como industrial, está baseado em várias propriedades inerentes aos processos envolvidos que os tornam, em alguns casos, superiores a muitos métodos convencionais de separação. Na sua maioria, os processos com membranas transcorrem a temperatura ambiente, assim, os constituintes a serem separados não estão expostos a degradações térmicas ou alterações químicas. Isto é de particular importância em bioquímica e microbiologia onde, frequentemente, misturas de materiais biológicos termossensíveis

precisam ser separados. Além disso, processos com membranas são energeticamente eficientes e de simples operação em modo contínuo, ressaltando a grande facilidade de ampliação de escala, principalmente, em função de suas características modulares (MULDER, 1991).

Por definição, membrana é uma interface que separa duas fases e que restringe o transporte de diferentes componentes químicos de maneira parcial ou total. Uma das espécies da mistura permeia em direção a outra fase, evidenciando a característica seletiva da membrana em relação às espécies presentes. No decorrer do processo uma das fases é enriquecida com esta espécie enquanto que a outra sofre redução na quantidade desta.

Morfologicamente, as membranas podem ser porosas e não porosas (densas). As membranas porosas apresentam duas fases, uma sólida formada pelo polímero e os vazios que constituem seus poros. As membranas densas se caracterizam por apresentarem uma única fase constituída pelo polímero (HO e SIRKAR, 1992).

Em função da força motriz utilizada para transporte das espécies através da membrana e dos aspectos morfológicos desta é possível caracterizar os diferentes processos de separação. Em membranas porosas, onde as espécies conduzidas devem ser inertes ao material da membrana, o transporte ocorre tanto de maneira convectiva (fluxo viscoso) como difusiva em função do tipo de força motriz utilizada. Por exemplo, processos com membranas porosas onde a força motriz é unicamente a diferença de pressão, o transporte é especificamente convectivo, como a microfiltração, ultrafiltração e nanofiltração. Por outro lado, se a força motriz for a diferença de concentração (diálise) o transporte das espécies ocorre por difusão através dos poros (HABERT et al., 1997).

Já em membranas densas o transporte através desta depende da afinidade das diferentes espécies a serem separadas com o material da membrana (etapa termodinâmica) e da difusão das mesmas através do filme polimérico (etapa cinética). Exemplos de processos

em que a força motriz é caracterizada pela diferença de concentração em membranas densas podem ser citados: pervaporação e permeação de gases. Nestes casos, o fluxo permeado é sempre de natureza difusiva, uma vez que a membrana não apresenta poros na interface com a alimentação (HABERT et al., 1997).

A microfiltração é um processo que utiliza a diferença de pressão entre 0,5 e 2,0 bar, dependendo do produto a ser filtrado pela membrana, sendo este para separação ou concentração de partículas suspensas, de componentes coloidais, de microrganismos, de grandes moléculas e de emulsões (CHANG et al., 1996). Este processo está relacionado com partículas de tamanho entre 0,1 μm e 10 μm (MULDER, 1991).

Na ultrafiltração, os solutos de tamanho molecular variam de 0,1 μm e 0,001 μm , que correspondem a aproximadamente 500 a 300 000 Daltons que se acumulam sobre a superfície da membrana. O fluxo através da membrana é controlado mediante a pressão exercida sobre o líquido a ser filtrado, podendo variar de 1,0 e 7,0 bar (FELLOWS, 1994; MEMBRANE SEPARATIONS, 1999).

Uma das variáveis mais importantes nesta técnica de separação é o fluxo do filtrado, mais conhecido como fluxo permeado, definido como a velocidade de transporte através da membrana em unidades de massa ou volume por área de permeação por tempo (ROBERTO et al., 1995).

Para operações de filtração convencional (*dead-end*), o fluxo é perpendicular à superfície do filtro e todo o fluxo capaz de permear atravessa o meio filtrante. Já o fluxo tangencial (*crossflow*) a alimentação flui paralelamente à superfície da membrana enquanto o permeado é transportado transversalmente à mesma. Neste caso, nem todo o fluido que pode permear através da membrana o faz, as espécies que não permeiam são na sua maioria concentradas ao longo do fluxo retido. No primeiro caso, o material retido acumula-se sobre a superfície da membrana mais rapidamente que no segundo caso. Já que o fluxo cruzado sobre

a superfície da membrana arrasta as partículas deste material retido, permitindo a operação em processo contínuo com menores interrupções para limpeza. Assim, o fluxo do permeado demora mais para diminuir com o tempo de operação da membrana (Figura 4).

O desempenho da ultrafiltração ou da microfiltração em muitas aplicações é limitado devido a formação de incrustações, que acarreta um decréscimo no fluxo de filtrado. Este fenômeno ocorre quando as partículas carregadas pelo fluxo são depositadas na interface do filtro, ou movidas para o interior do mesmo, constituindo uma zona de menor permeabilidade que na região do fluxo livre anterior ao filtro (NOGUEIRA e VENTURINI FILHO, 2005).

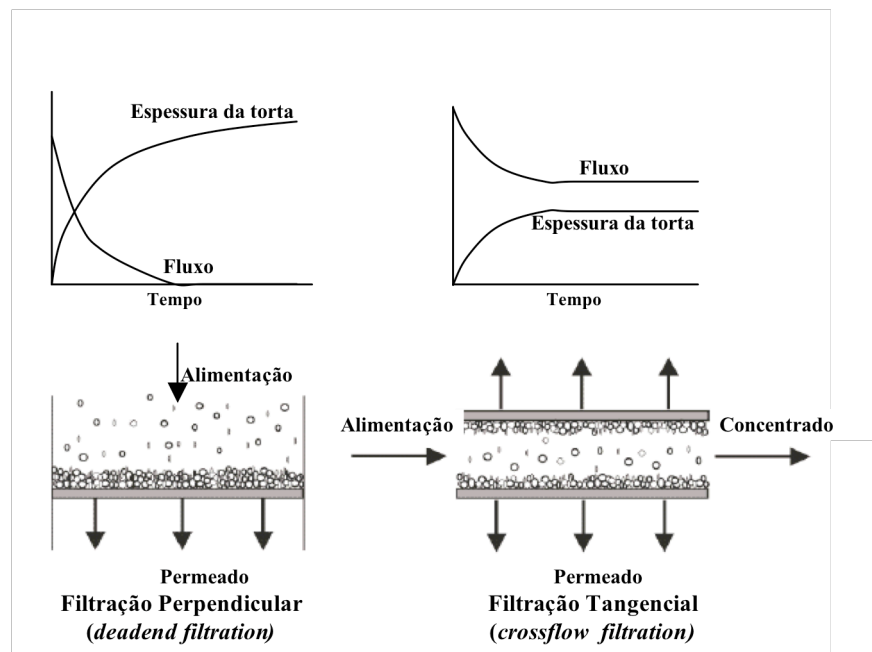


Figura 4 – Modos operacionais em membranas - Filtração convencional e tangencial.

Assim sendo, as perdas contínuas na capacidade do filtro são devidas à formação deste depósito, que surge naturalmente na superfície da membrana durante a ultra e a microfiltração, e que, em adição à queda do fluxo da membrana, age como uma membrana secundária reduzindo a seletividade da membrana original (BAI e LEOW, 2002a).

Logo, dois importantes fenômenos influenciam diretamente nas características do fluxo do permeado e no índice de retenção:

1. **Polarização de concentração:** este fenômeno ocorre devido ao aumento da concentração das espécies retidas próximo à superfície da membrana, ficando maior do que a concentração do soluto no seio da solução, provocando um movimento difusivo deste soluto no sentido de retornar ao seio da solução. Este fenômeno é reversível, a permeabilidade do solvente puro é recuperada após uma etapa de limpeza da membrana (NOGUEIRA e VENTURINI FILHO, 2005).
2. **Incrustações (ou *fouling* em inglês):** este fenômeno se caracteriza pela queda contínua total ou parcialmente irreversível do fluxo de permeado com o tempo, indicando que outros fenômenos, além da polarização de concentração, devem estar presentes durante o processo, causando alterações na membrana. Este fenômeno transiente normalmente é acompanhado por um decréscimo na rejeição do soluto. Os principais fenômenos que constituem a formação de incrustações são: adsorção das moléculas do soluto na superfície da membrana e/ou no interior dos poros, entupimento dos poros por moléculas ou partículas em suspensão e o depósito de material em suspensão sobre a superfície da membrana (BAI e LEOW, 2002a).

A classificação dos processos de separação com membranas é feita de acordo com o tamanho das partículas ou moléculas a serem separadas. Isto pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4 – Processos de separação por membranas.

<i>Processo</i>	<i>Força Motriz</i>	<i>Mat. Retido</i>	<i>Mat. Permeado</i>	<i>Aplicações</i>
Microfiltração	Diferença de pressão (0,5 - 2 bar)	Material em suspensão, bactérias (>500x10 ³ g/mol)	Água e sais dissolvidos	<ul style="list-style-type: none"> • Esterilização e clarificação de vinhos e cervejas • Concentração de células • Oxigenação de sangue
Ultrafiltração	Diferença de pressão (1 - 7 bar)	Colóides, Macromoléculas (> 5x10 ³ g/mol)	Água, sais solúveis de baixa massa molecular, açúcares	<ul style="list-style-type: none"> • Fracionamento e concentração de proteínas • Recuperação de pigmentos • Recuperação de óleos
Nanofiltração	Diferença de pressão (5 - 20 bar)	Moléculas entre 500 e 2x10 ³ g/mol	Água, sais e moléculas de baixa massa molecular	<ul style="list-style-type: none"> • Purificação de enzimas • Biorreatores a membrana
Osmose Inversa	Diferença de pressão (15 - 80 bar)	Todo material solúvel ou em suspensão	Água	<ul style="list-style-type: none"> • Dessalinização de águas • Concentração de suco de frutas • Desmineralização de águas
Diálise	Diferença de concentração	Moléculas maiores que 5x10 ³ g/mol	Íons e orgânicos de baixo peso molecular	<ul style="list-style-type: none"> • Hemodiálise – Rim Artificial • Recuperação de NaOH
Eletrodiálise	Diferença de potencial elétrico	Macromoléculas e compostos não iônicos	Íons	<ul style="list-style-type: none"> • Concentração de soluções salinas • Purificação de águas
Permeação de Gases	Diferença de Pressão e de concentração	Gás menos permeável	Gás mais permeável	<ul style="list-style-type: none"> • Recuperação de hidrogênio • Separação CO₂/CH₄ • Fracionamento do Ar
Pervaporação	Pressão de vapor	Líquido menos permeável	Líquido mais permeável	<ul style="list-style-type: none"> • Desidratação de álcoois • Eliminação de VOC da água

Fonte: adaptado de Habert et al. (1997).

2.5.4. Resinas de Troca Iônica

O tratamento do hidrolisado com resinas de troca iônica é um dos mais eficientes métodos de remoção de inibidores do metabolismo microbiano. Remove eficientemente o ácido acético, os compostos fenólicos e furânicos, e os metais pesados; propiciando aumentos no rendimento e na produtividade do processo fermentativo (SOLENZAL et al., 1998).

No processo de troca iônica, os íons de uma determinada carga (ânions ou cátions), presentes numa solução são adsorvidos sob um material sólido ou trocador iônicos sendo trocados por quantidades equivalentes de outros íons da mesma carga cedida pelo sólido. Um trocador de íons consiste em uma matriz polimérica insolúvel na qual são fixados covalentemente grupos de carga (íons fixos, grupo funcional ou ionogênico). Os grupos de carga estão associados a íons móveis (contra-íons), que podem ser trocados com outros íons

de mesma carga (co-íons) sem alterar a matriz, como pode ser observado na Figura 5 (MARTÍNEZ, 2005).

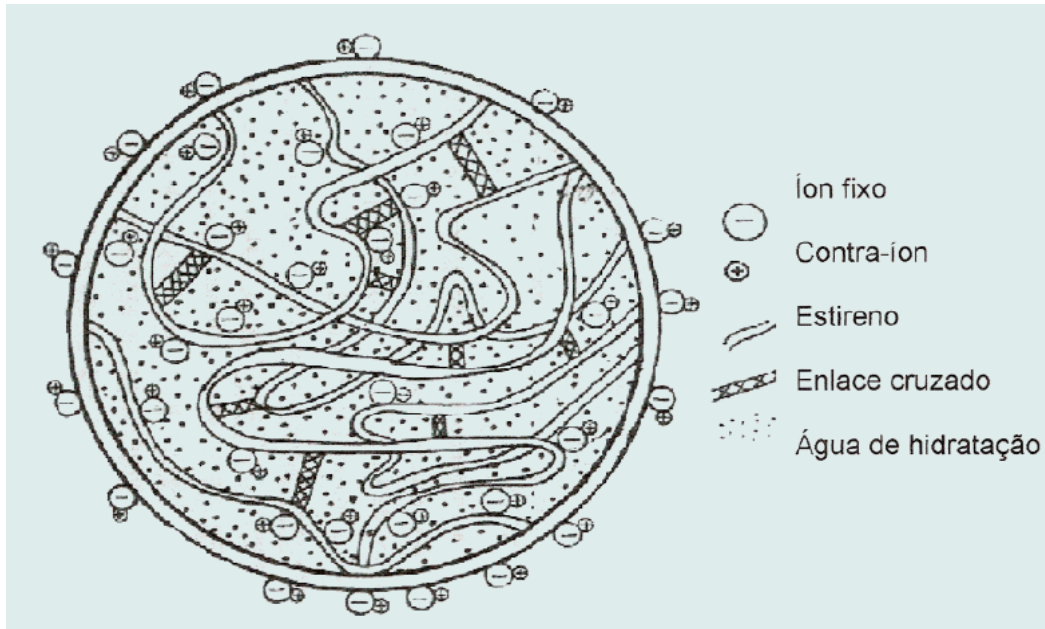


Figura 5 – Modelo plano de uma resina de troca catiônica.

Uma reação de troca iônica pode ser definida como uma troca reversível de íons entre uma fase sólida (matriz) e uma fase líquida (solução problema). Os trocadores carregados positivamente têm contra íons carregados negativamente (ânions) disponíveis para serem trocados, e são denominados trocadores aniônicos. Por sua vez, os trocadores carregados negativamente têm contra íons positivos (cátions) e são denominados de trocadores catiônicos. A matriz pode ser constituída por compostos inorgânicos, polissacarídeos ou resinas sintéticas. A natureza reversível da reação permite o repetido uso das resinas desde que estas não sofram mudanças substanciais da estrutura (HARLAND, 1994).

Características como insolubilidade em água e em solventes orgânicos, e existência de íons ativos ou contra-íons capazes de realizar trocas reversíveis com outros íons em solução, sem sofrer modificações físicas e mecânicas apreciáveis; possibilitam a aplicação das resinas em processos químicos. Estes trocadores iônicos são polímeros complexos cuja carga elétrica

é exatamente neutralizada pelas cargas dos contra-íons, os quais são cátions em um trocador de cátions e ânions em um trocador de ânions. Assim, um trocador de cátions é um poliânion polimérico com cátions ativos e um trocador de ânions é um polication polimérico com ânions ativos (MENDHAM et al., 2002).

De acordo com o processo de fabricação, as resinas podem ser classificadas em estirênicas (copolimerização de monômeros divinilbenzeno e de estireno) ou acrílicas (copolimerização de monômeros de divinilbenzeno e de ácido acrílico ou de ácido substituído). Elas são classificadas segundo os grupos ativos em catiônicas ácido forte (fortemente ácidas), catiônicas ácido fraco (fracamente ácidas), aniônicas base forte (fortemente básicas) e aniônicas base fraca (fracamente básica), conforme apresentado na Tabela 5. A definição de fraca ou forte não depende da resina mas da natureza do íon fixado a matriz polimérica (HARLAND, 1994).

Tabela 5 – Classificação das resinas de troca iônica.

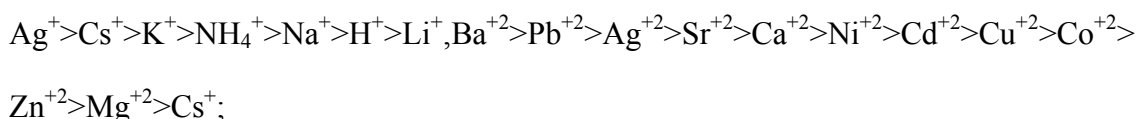
Classificação	Grupo Funcional	Forma Iônica
Catiônica ácido forte	$-\text{SO}^{-3}$	$-\text{SO}_3^- \text{H}^+$, $-\text{SO}_3^- \text{Na}^+$
Catiônica ácido fraco	$-\text{COO}^-$	$-\text{COO}^- \text{H}^+$
Aniônica base forte Tipo1	$-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$	$-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+ \text{Cl}^-$
Aniônica base forte Tipo2	$-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})^+$	$-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})^+ \text{Cl}^-$
Aniônica base fraca	$-\text{CH}_2\text{NH}(\text{CH}_3)_2^+$	$-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2^+$, $-\text{CH}_2\text{NH}(\text{CH}_3)_2^+ \text{Cl}^-$

A capacidade de troca máxima das resinas é um parâmetro importante no processo de troca iônica e varia segundo as características das resinas com o tamanho de poro e área superficial, e com as características das soluções a serem tratadas devido a sua densidade e viscosidade. Esta capacidade é influenciada também pelos canais preferenciais que podem formar-se no leito das resinas, pelo fluxo de trabalho e pelas obstruções da regeneração (SOLENZAL et al., 1998).

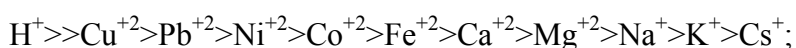
A seletividade das resinas depende de fatores como a valência e o tamanho do íon

trocado, a forma iônica da resina, a força iônica total da solução, empacotamento das resinas, o tipo de grupo funcional e a natureza dos íons não trocados. A seguinte seqüência representa a ordem de afinidade de diferentes resinas por íons que se encontram em soluções diluídas segundo HARLAND (1994).

- Resinas catiônicas, ácido forte (estirênica-sulfonato):



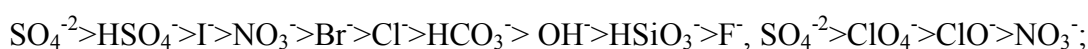
- Resinas catiônicas, ácido fraco (acrílica-carboxilato):



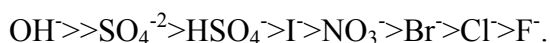
- Resinas aniônicas, base forte tipo 1 (estirênica-amônio quaternário):



- Resinas aniônicas, base forte tipo 2 (estirênica-amônio quaternário):



- Resinas aniônicas, base fraca (estirênicas-amina):



A troca iônica é aplicada em diferentes processos industriais como na indústria nuclear na produção de água ultra pura; purificação de solventes e remoção de íons metálicos; no tratamento de água para a eliminação de nitratos, silicatos e outros íons dissolvidos na solução e na produção de água desmineralizada (DYER et al., 1993); em processos de descoloração e desmineralização de xaropes açucarados de milho; e nas indústrias alimentícia e açucareira são usadas para descalcificar, descolorir, desmineralizar e separar os compostos por cromatografia, sendo aplicado em países como Estados Unidos, Canadá, França e Finlândia (GUZMAN, 1999).

Na área biotecnológica para a purificação de numerosos produtos, destacando-se a fermentação para o cultivo de células, imobilização de enzimas; na recuperação e purificação

de produtos biotecnológicos como o xilitol e de produtos biológicos como antibióticos e vitaminas, na purificação de aminoácidos e proteínas; na recuperação de substâncias farmacêuticas e orgânicas valiosas, na purificação de licores, sucos açucarados e vinhos para a sua descoloração (DECHOW, 1989).

O tratamento com resinas de troca iônica pode ser utilizado para a remoção de impurezas ácidas presentes no hidrolisado, principalmente o ácido mineral (H_2SO_4) usado na hidrólise. Ocorre também, através das resinas aniônicas de base fraca, a troca dos ânions Cl^- e SO_4^{2-} pelos OH^- , promovendo uma neutralização da solução e a remoção paralela de outros ânions orgânicos, como os compostos corantes, silicatos, taninos, os ácidos orgânicos e as cinzas. Já as resinas catiônicas removem impurezas nitrogenadas complexas, cinzas e corantes (PARAJÓ et al., 1998c; SOLENZAL et al., 1998).

Em estudos realizados por Canilha et al., (2004) no tratamento de hidrolisado hemicelulósico de eucalipto usando carvão ativo e resinas de troca iônica, verificou-se perdas de 14% de xilose para o hidrolisado tratado com carvão ativo e aumento nos valores dos parâmetros fermentativos em hidrolisado tratado com resinas de troca iônica, quando estes foram fermentados pela levedura *C. guilliermondii*. O hidrolisado tratado com carvão ativo obteve um rendimento de xilose em xilitol de 0,667 g/g com uma produtividade de 0,505 g/L.h, já o hidrolisado tratado com resinas de troca iônica apresentou um rendimento de xilose em xilitol de 0,759 g/g e uma produtividade de 0,681 g/L.h.

Confirmando a eficiência das resinas, Solenzal et al. (1998) ao comparar o carvão ativo com uma série de resinas de troca iônica (catiônicas e aniônicas) no tratamento de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana, obteve uma redução de ácido acético e fenóis de 15,2% e 54,7% usando carvão ativo, e 92,5% e 98,9% usando resinas de troca iônica, respectivamente. Com a utilização das resinas também se observou um aumento de 36,5% na conversão de xilose em xilitol e de 85,6% na produtividade de xilitol em relação ao

tratamento usando carvão ativo. Semelhante comportamento foi observado por Verde (2001), ao avaliar o tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana. Foi observado que a melhor condição de tratamento com resinas de troca iônica, proporcionou 0,679 g/L.h de produtividade volumétrica de xilitol 0,748 g/g de fator de rendimento de xilose em xilitol e 81,6% de eficiência, quando comparados com o tratamento utilizando carvão ativo (0,478 g/L.h, 0,595 g/g, respectivamente).

Segundo Nilverbrant et al. (2001), um dos métodos mais eficientes para a remoção de compostos inibitórios é o tratamento de hidrolisados hemicelulósicos com resinas de troca iônica. A maior produtividade volumétrica em etanol (1,71 g/L.h) foi obtida quando o hidrolisado hemicelulósico de abeto (uma espécie de pinheiro) foi tratado com resina aniônica (Dowex, AG 1-X8) e pH 10,0. Com a diminuição do pH a 5,5 ocorreu uma mudança significativa na produtividade, a qual reduziu para 0,49 g/L.h, mesmo tratando com as resinas.

Canilha et al. (2004) realizaram um estudo comparativo do efeito da detoxificação de hidrolisado hemicelulósico de madeira de eucalipto com carvão ativo combinado com ajuste de pH e com resinas de troca iônica (MN-150, A-860 e resinas catiônicas e aniônicas Applexion). No processo de produção de xilitol por *C. guilliermondii* os melhores resultados de rendimento e produtividade volumétrica em xilitol (0,76 g/g e 0,68 g/L.h) foram obtidos quando o hidrolisado foi tratado com resinas de troca iônica.

Segundo Carvalheiro et al. (2005), o tratamento de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de malte com resinas de troca iônica do tipo aniônica (Dowex-MWAI) sem ajuste prévio de pH foi o método mais promissor para a remoção de compostos inibitórios. Esse efeito foi avaliado através da fermentação dos hidrolisados por *Debaryomyces hansenii* CCMI 941 em frascos erlenmeyer de 1 L. O hidrolisado tratado somente com resina aniônica, quando suplementado com sais inorgânicos e vitaminas, forneceu um produto com menor

rendimento em biomassa e maior produtividade em xilitol (11%) quando comparada com o hidrolisado não tratado.

2.6. Planejamento Experimental e Otimização de Processos

A necessidade crescente da otimização de produtos e processos, minimizando custos e tempos, maximizando rendimento, produtividade e qualidade de produtos, dentre outros objetivos, tem levado profissionais de diferentes formações a buscarem técnicas sistemáticas de planejamento de experimentos (RODIGUES e IEMMA, 2005).

A metodologia de planejamento fatorial, associada à análise de superfície de respostas, é uma ferramenta fundamentada na teoria estatística, que fornece informações seguras sobre o processo, minimizando o empirismo que envolve técnicas de tentativa e erro (BOX et al., 1978).

Assim sendo, quando um pesquisador necessita desenvolver ou melhorar um processo, ou a formulação de um produto, ele precisa planejar um procedimento experimental para avaliar os efeitos que suas variáveis independentes ou fatores tem sobre a resposta. Parece inerente ao pesquisador, a opção por avaliar um fator por vez, mantendo as outras variáveis fixadas para “controlar” o processo. Ou seja, determinar as condições ótimas avaliando separadamente os fatores (RODIGUES e IEMMA, 2005).

Haaland (1989) apresenta de uma forma esclarecedora os três caminhos que seria possível adotar para resolução de um problema experimental.

O primeiro método é o procedimento experimental mais difundido e usual, “one-at-a-time”, estudo de uma variável por vez, onde é avaliada uma das variáveis estudadas a diferentes condições e as demais são fixadas. Posteriormente o melhor valor encontrado é fixado e as outras variáveis são alteradas até que todas elas sejam consideradas. Este método pode ser usado, mas é bastante ineficiente. Se existirem interações entre as variáveis, o

método pode não encontrar uma solução para o problema experimental por não explorar completamente o espaço de soluções (Figura 6a).

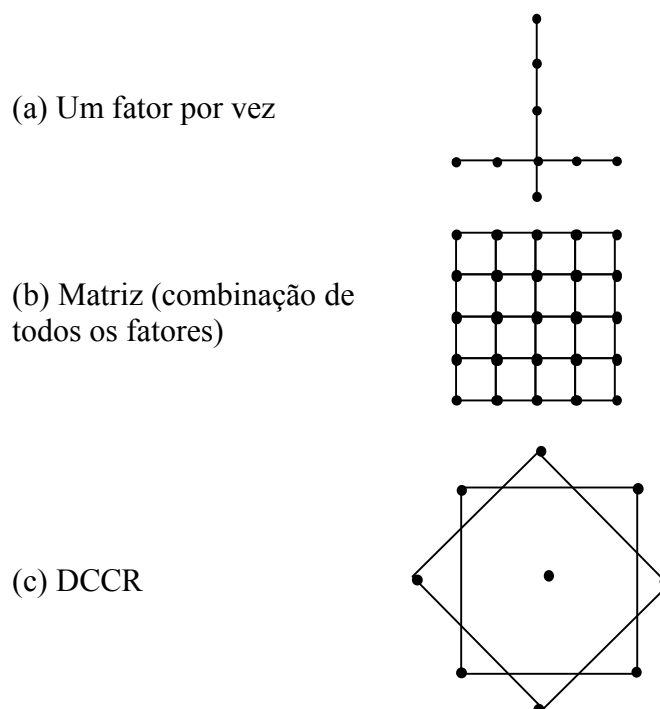


Figura 6 – Possibilidade de conduzir experimentos para 2 variáveis estudadas. (a) Análise de uma variável por vez, (b) Matriz com todas as combinações possíveis e (c) Delineamento composto central rotacional (DCCR).

O segundo método tradicional é a busca do resultado procurando através de uma matriz, onde todas as combinações são investigadas até obtenção de uma solução final. Este método tem a vantagem de explorar todo espaço experimental, porém tem a grande desvantagem de necessitar um número grande de medidas (Figura 6b).

Já a resolução do problema através de um planejamento estatístico conhecido como delineamento composto central rotacional (DCCR) pode ser feita usando um número menor de medidas e explorando todo espaço experimental (Figura 6c). Neste caso, a região de estudo é maior com um menor número de ensaios a serem realizados, podendo calcular o erro experimental quando se toma o cuidado de repetir pelo menos três vezes a condição do ponto central, indispensável para avaliar a reprodutibilidade do processo. É possível, ainda, elaborar

um modelo matemático, que se validado estatisticamente pode ser usado para obtenção da superfície de resposta e através desta análise determinar as condições otimizadas, conhecendo a significância estatística das respostas.

Neste sentido, o presente trabalho vislumbra minimizar os efeitos dos compostos inibitórios ao metabolismo microbiano, associando diferentes técnicas de separação (coagulação e precipitação de impurezas coloidais, processo de separação por membranas e resinas de troca iônica), as quais foram previamente apresentadas durante a revisão da literatura. Deve-se ressaltar que, foi utilizado a metodologia de planejamento fatorial associada à análise de superfície de respostas, visando a diminuição de esforços experimentais durante a etapa de coagulação e precipitação. Além disso, com este estudo pretende-se colaborar com a viabilização da obtenção de bioprodutos de alto valor agregado e/ou importantes no contexto atual.

3. OBJETIVOS

3.1. *Objetivos Gerais*

Avaliar o uso de processos de separação combinados, para purificação do hidrolisado ácido de bagaço de cana-de-açúcar, visando a obtenção de um substrato rico em xilose, isento de contaminantes e apto a ser fermentado.

3.2. *Objetivos Específicos*

- ✓ Estudar os efeitos das alterações do pH, temperatura e a presença de agentes flocculantes (policloreto de alumínio e polieletrólito) no hidrolisado hemicelulósico. Para esta etapa do trabalho foi empregado planejamento experimental fatorial completo e delineamento composto central rotacional, visando minimizar o esforço experimental considerando as variáveis iniciais pH, temperatura, concentrações de flocculante e polieletrólito;
- ✓ Estudar o uso de processos de separação por membranas de microfiltração, para a remoção de materiais em suspensão ainda presentes no hidrolisado e ultrafiltração, visando remover substâncias de alto peso molecular que estão presentes no hidrolisado;
- ✓ Estudar a eficiência de purificação de quatro resinas de troca iônica na remoção dos inibidores microbianos de baixo peso molecular, principalmente íons metálicos presentes no hidrolisado hemicelulósico, determinando o melhor ciclo de trabalho e seqüência de uso das resinas avaliadas;
- ✓ Conduzir fermentações em frascos agitados por *Candida guilliermondii* e *Pichia stipitis* no hidrolisado tratado neste trabalho, compará-las com dados da literatura, a fim de servir de indicativo para trabalhos futuros.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. *Materiais e Equipamentos*

Bagaço de cana-de-açúcar in natura recém processado proveniente da Usina Açucareira Furlan S/A (Santa Bárbara D'Oeste – SP).

Óxido de cálcio comercial gentilmente cedido pela Brasilminas.

Floculantes: -Policloreto de alumínio (PAC) gentilmente cedido pela Pan-Americana S/A;

-Polieletrólito aniônico (Magnafloc LT-27) gentilmente cedido pela Ciba Especialidades Químicas Ltda.

Reagentes P. A.

Membranas do tipo fibra oca, gentilmente cedidas pela Pam-Membranas:

-Microfiltração (0,45 μm) de Polietirimida (PEI);

-Ultrafiltração (100 kDaltons) de Polietersulfona (PES).

Resinas de troca iônica, gentilmente cedidas pela Rohm & Haas:

-Amberlyst 15 Wet – catiônica forte na forma H^+ ;

-Amberlite 252 Na – catiônica fraca na forma Na^+ ;

-Amberlite IRA 96 – aniônica fraca na forma OH^- ;

-Amberlite FPA 98 – aniônica forte na forma Cl^- .

Leveduras *C. guilliermondii* e *P. stipitis* provenientes do Laboratório do Grupo de Processos Fermentativos – DEBIQ/EEL/USP-Lorena.

Reator de aço inoxidável AISI 316.

Concentrador com capacidade de 30 L.

Espectrofotômetro de UV-visível FEMTON 700 e BECKMAN 640B.

Medidor de pH de bancada Quimis 400A.

Condutivímetro Digimed DM-32.

Cromatógrafo Shimadzu modelo CR 7A.

Refratômetro Atago modelo NAR 1T.

4.2. Preparo do Bagaço de Cana-de-Açúcar para a Hidrólise

O bagaço de cana-de-açúcar utilizado neste trabalho foi proveniente da Usina Açucareira Furlan S/A, localizada na cidade de Santa Bárbara D'Oeste - SP. Este material foi exposto ao sol durante três dias para secagem e quantificado o teor de umidade por gravimetria.

4.3. Obtenção do Hidrolisado Hemicelulósico (H0)

O hidrolisado foi obtido por hidrólise ácida do bagaço de cana em reator de aço inoxidável AISI 316 com volume útil de 250 L, equipado com camisa de óleo térmico para aquecimento indireto (Figura 7).

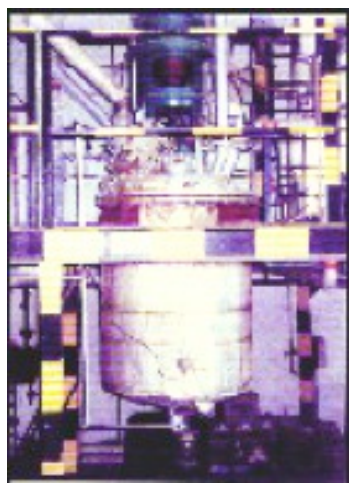


Figura 7 – Reator de aço inoxidável AISI 316 utilizado para a obtenção do hidrolisado hemicelulósico a partir do bagaço de cana-de-açúcar.

O reator foi operado em regime descontínuo empregando-se as seguintes condições de hidrólise: temperatura de 121 °C; tempo de reação de 10 minutos; 100 mg de ácido sulfúrico (98%) para 1 g de bagaço (matéria seca) e uma proporção entre massa seca de bagaço e

volume de solução ácida de 1:10. O hidrolisado obtido foi centrifugado em centrífuga semi-industrial.

4.4. Obtenção do Hidrolisado Hemicelulósico Concentrado (H1)

O hidrolisado obtido foi concentrado até atingir um teor de xilose aproximado de 100g/L. Este procedimento foi realizado sob pressão reduzida em concentrador com capacidade de 30 L a 70 °C.

4.5. Coagulação e Precipitação Seletiva de Impurezas Coloidais

Após a concentração, o hidrolisado de bagaço foi submetido a etapa de coagulação e precipitação das impurezas coloidais, com o objetivo de determinar a melhor condição experimental para maior remoção de impurezas e obter o hidrolisado H2 ao final deste procedimento. Nesta etapa foi utilizado planejamento de experimentos, dividida em duas fases. Primeiramente empregou-se um planejamento fatorial completo 2^4 com 3 experimentos no ponto central (Tabela 6). Em seguida aplicou-se duas seqüências de experimentos do tipo Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), ou seja, planejamento fatorial 2^2 , com 4 ensaios nos pontos axiais e 3 no ponto central (Tabelas 7 e 8).

Nos dois tratamentos DCCR aplicados foram fixadas a temperatura de reação em 50 °C e a concentração de polieletrólito em 4 mg/L. Todos os ajustes de pH foram realizados com óxido de cálcio e o tempo de agitação foi fixado em 15 segundos de agitação rápida e 15 minutos de agitação lenta (KOBBLITZ, 1998).

Tabela 6 - Níveis e parâmetros que foram utilizados no primeiro tratamento estatístico.

Fatores	Níveis		
	-1	0	+1
<i>pH</i>	5	7,5	10
<i>Temperatura (°C)</i>	30	50	70
<i>PAC (mg/L)</i>	0	25	50
<i>Polieletrólito (mg/L)</i>	0	2	4

Tabela 7 - Níveis e parâmetros que foram utilizados no segundo tratamento estatístico.

Fatores	Níveis				
	-1,41	-1	0	+1	+1,41
<i>pH</i>	2,5	3,5	5,5	7,5	8,5
<i>PAC (mg/L)</i>	15	25	50	75	85

Tabela 8 - Níveis e parâmetros que foram utilizados no terceiro tratamento estatístico.

Fatores	Níveis				
	-1,41	-1	0	+1	+1,41
<i>pH</i>	8,0	8,7	11,5	12,3	13,0
<i>PAC (mg/L)</i>	0	3,40	11,55	19,70	23,00

Os ensaios que foram realizados nos tratamentos estatísticos podem ser observados nas Tabelas 9 à 11.

A variável resposta utilizada para se determinar a melhor condição experimental foi a concentração de compostos fenólicos e as análises de cada tratamento estatístico foram realizadas com o auxílio do software MINITAB 14.0.

Tabela 9 – Ensaios que foram realizados no primeiro tratamento estatístico.

<i>Ensaios</i>	<i>pH</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>PAC (mg/L)</i>	<i>Polieletrólito (mg/L)</i>
1	5	30	0	0
2	10	30	0	0
3	5	70	0	0
4	10	70	0	0
5	5	30	50	0
6	10	30	50	0
7	5	70	50	0
8	10	70	50	0
9	5	30	0	4
10	10	30	0	4
11	5	70	0	4
12	10	70	0	4
13	5	30	50	4
14	10	30	50	4
15	5	70	50	4
16	10	70	50	4
17	7,5	50	25	2
18	7,5	50	25	2
19	7,5	50	25	2

Tabela 10 – Ensaaios que foram realizados no segundo tratamento estatístico.

<i>Ensaios</i>	<i>pH</i>	<i>PAC (mg/L)</i>
<i>1</i>	<i>3,5</i>	<i>25</i>
<i>2</i>	<i>7,5</i>	<i>25</i>
<i>3</i>	<i>3,5</i>	<i>75</i>
<i>4</i>	<i>7,5</i>	<i>75</i>
<i>5</i>	<i>5,5</i>	<i>50</i>
<i>6</i>	<i>5,5</i>	<i>50</i>
<i>7</i>	<i>5,5</i>	<i>50</i>
<i>8</i>	<i>2,5</i>	<i>50</i>
<i>9</i>	<i>8,5</i>	<i>50</i>
<i>10</i>	<i>5,5</i>	<i>15</i>
<i>11</i>	<i>5,5</i>	<i>85</i>

Tabela 11 – Ensaaios que foram realizados no terceiro tratamento estatístico.

<i>Ensaios</i>	<i>pH</i>	<i>PAC (mg/L)</i>
<i>1</i>	<i>8,7</i>	<i>3,40</i>
<i>2</i>	<i>12,3</i>	<i>3,40</i>
<i>3</i>	<i>8,7</i>	<i>19,70</i>
<i>4</i>	<i>12,3</i>	<i>19,70</i>
<i>5</i>	<i>10,5</i>	<i>11,55</i>
<i>6</i>	<i>10,5</i>	<i>11,55</i>
<i>7</i>	<i>10,5</i>	<i>11,55</i>
<i>8</i>	<i>8,0</i>	<i>11,55</i>
<i>9</i>	<i>13,0</i>	<i>11,55</i>
<i>10</i>	<i>10,5</i>	<i>0</i>
<i>11</i>	<i>10,5</i>	<i>23,00</i>

4.6. Tratamento do Hidrolisado H2 por Membranas

O hidrolisado previamente tratado na etapa anterior (hidrolisado H2) foi submetido a permeação por duas membranas diferentes de três maneiras distintas:

- membrana de microfiltração (MF);
- membrana de microfiltração + ultrafiltração (MF + UF);
- membrana de ultrafiltração (UF).

Os experimentos foram realizados visando determinar o melhor procedimento dos tratamentos por membranas em termos de fluxo de permeado e grau de purificação

(permeados 1, 2 e 3 – ver Figura 8). Após determinada a melhor condição experimental utilizando a permeação por membranas obteve-se o hidrolisado H3.

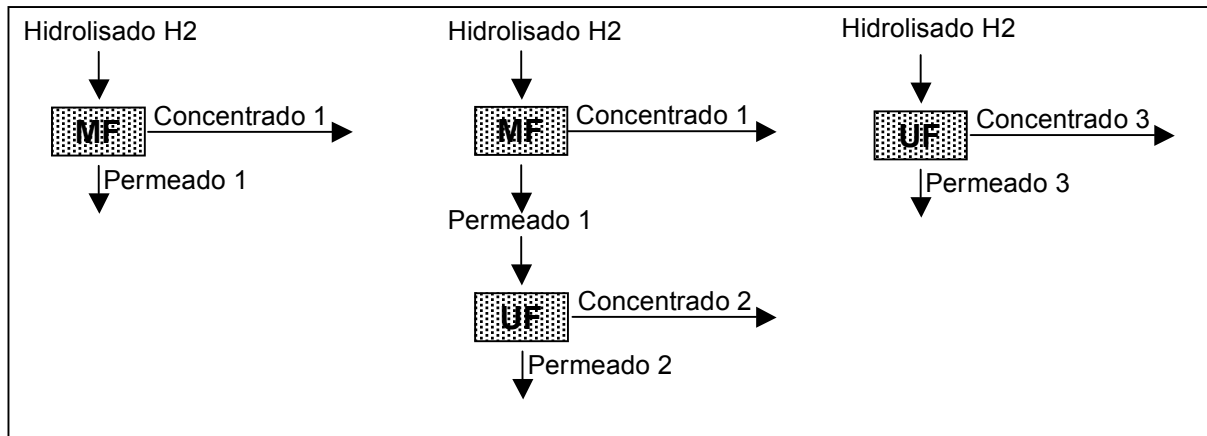


Figura 8 – Avaliação dos processos de separação por membranas.

4.7. Caracterização das Resinas de Troca Iônica

As resinas de troca iônica utilizadas apresentam estrutura macrorreticular e matriz de estireno-divenilbenzeno. A resina Amberlite 252 Na (catiônica fraca na forma Na^+), a Amberlite IRA 96 (aniônica fraca na forma OH^-), a Amberlite FPA 98 (aniônica forte na forma Cl^-) e a Amberlyst 15 Wet (catiônica forte na forma H^+) possuem capacidade de troca de $1,80 \text{ eq.L}^{-1}$, $1,25 \text{ eq.L}^{-1}$, $0,8 \text{ eq.L}^{-1}$ e $1,70 \text{ eq.L}^{-1}$, respectivamente, de acordo com o fabricante.

4.7.1. Determinação da Massa Específica

Foi primeiramente determinada a massa da proveta que foi utilizada, em seguida pesou-se 25 mL de cada resina determinando-se a massa específica de cada uma delas em Kg/L.

4.7.2. Determinação da Massa Específica Úmida

Após ter submetido as resinas por um processo de umidificação utilizou-se o mesmo procedimento aplicado no item 4.7.1.

4.7.3. Determinação do Volume de Inchamento

Em uma proveta de 250 mL foi adicionado 100 mL de resina original e 150 mL de água destilada. Após repouso de 24 horas verificou-se o volume final ocupado pela resina. Este valor indica a quantidade de água absorvida pela resina original e o respectivo volume de expansão.

4.7.4. Determinação da Umidade Original

Em recipiente previamente seco e tarado pesou-se aproximadamente 1,0 g da amostra. A seguir este recipiente foi encaminhado a estufa e mantido por 4 horas a uma temperatura de 100 °C. A seguir, as amostras foram armazenadas em dessecador até a temperatura ambiente e novamente pesadas.

4.8. Tratamento do Hidrolisado H2 com Resinas de Troca Iônica

O hidrolisado oriundo da etapa de coagulação e precipitação (hidrolisado H2) foi submetido ao tratamento com resinas (duas catiônicas e duas aniônicas) de maneira individual e em série, utilizando um volume de leito de 20 mL em uma coluna de 2 cm de diâmetro. Para as quatro resinas foi avaliado o perfil de purificação por volume de leito (BV), ou seja, coletou-se o hidrolisado percolado em porções de 20 mL, avaliando a condutividade, o pH, o Brix e a concentração de compostos fenólicos.

As resinas de troca iônica foram submetidas a um processo de intumescimento com água destilada, sendo mantidas nesta condição por 24 horas antes de serem usadas. As colunas foram alimentadas com as soluções regenerantes, água e hidrolisado de forma manual, tendo como força motriz a ação da gravidade (FERREIRA et al., 2005).

O ciclo de operação para o trabalho com resinas foi realizado a temperatura ambiente e compreendeu nos seguintes passos:

1. Lavagem Preliminar I (LavPI): Eliminação de partículas de impureza das resinas que foram utilizadas pela primeira vez, a uma vazão constante de 0,1 BV/min;
2. Regeneração Preliminar (RP): Vazão constante de 0,05 BV/min da solução regenerante (Tabela 12) através do leito de resinas;
3. Lavagem Preliminar II (LavPII): Eliminação do regenerante residual com água deionizada para não deixar carga adicional, a vazão constante de 0,1 BV/min;
4. Rinsagem: Após a lavagem percola-se o próprio hidrolisado na mesma vazão do tratamento numa quantidade tal que a concentração de xilose na saída fosse aproximadamente igual à concentração da solução de alimentação. Esta etapa tem como objetivo saturar a resina com o açúcar de interesse, a fim de manter aproximadamente constante a concentração do hidrolisado.
5. Tratamento: O hidrolisado a ser tratado foi alimentado manualmente através da coluna à vazão constante de 0,05 BV/min, até alcançar o estado de equilíbrio entre os íons trocados pela resina e a solução tratada (esgotamento da resina). Este ponto é determinado como sendo a capacidade de troca máxima da resina nas condições estudadas e é específico para cada resina.

6. Lavagem I (LavI): Este procedimento foi realizado com água deionizada para remover o material estranho acumulado na resina durante o esgotamento, a uma vazão constante de 0,1 BV/min e volume fixo;
7. Regeneração (Reg): Vazão constante de 0,05 BV/min da solução regenerante através do leito de resinas;
8. Lavagem II (LavII): Eliminação do regenerante residual com água deionizada para não deixar carga adicional, a vazão constante de 0,1 BV/min e volume fixo.

Tabela 12 – Soluções utilizadas para regeneração das resinas de troca iônica.

<i>Resinas</i>	<i>Regenerantes</i>
<i>Amberlyst 15 Wet</i>	<i>HCl a 5%</i>
<i>Amberlite 252 Na</i>	<i>NaCl a 10%</i>
<i>Amberlite IRA 96</i>	<i>NaOH a 5%</i>
<i>Amberlite FPA 98</i>	<i>NaCl a 10%</i>

O esgotamento da capacidade de troca da coluna foi determinado quando detectou-se mudanças significativas no pH do percolado.

A partir da determinação dos volumes de leito a serem utilizados em cada etapa do tratamento de cada resina e das características das resinas durante o tratamento, foram avaliadas três séries de trabalho, a saber:

Série I – Amberlyst 15 Wet, Amberlite FPA 98, Amberlite 252 Na e Amberlite IRA 96;

Série II – Amberlyst 15 Wet, Amberlite 252 Na, Amberlite IRA 96 e Amberlite FPA 98;

Série III – Amberlyst 15 Wet, Amberlite IRA 96, Amberlite 252 Na e Amberlite FPA 98.

Uma vez definida a melhor seqüência de purificação com o uso das resinas este sistema foi submetido a uma ampliação de escala a fim de utilizar um volume de leito final de

resinas de 500 mL. Neste caso utilizou-se o hidrolisado oriundo do processo de separação por membranas (hidrolisado H3).

4.9. Testes de Bioconversão do Hidrolisado Purificado

Os testes de bioconversão do hidrolisado tratado foram feitos de duas maneiras, ou seja, análise da obtenção de xilitol e etanol. Primeiramente foi realizada uma fermentação visando a bioconversão da xilose presente no hidrolisado em xilitol por *C. guilliermondii* FTI20037 cedida pelo laboratório de Processos Fermentativos. Preparou-se o inóculo a partir de uma alçada da cultura estoque em meio líquido contendo como nutrientes 30 g/L de xilose, 3 g/L de sulfato de amônio, 0,1 g/L de cloreto de cálcio e 20 g/L de extrato de farelo de arroz. O cultivo foi conduzido em frascos de erlenmeyer de 500 mL contendo 200 mL de meio, a 30°C, em incubadora de movimento rotatório a 200 rpm por 24 h (MARTÍNEZ, 2005).

Já a fermentação foi conduzida nas mesmas condições do preparo do inóculo, sendo que utilizou-se uma concentração de xilose de 35 g/L. A bioconversão foi realizada com o hidrolisado purificado e com o meio sintético (solução de xilose comercial a 35 g/L) por 96 h, coletando-se amostras de 24 em 24 h, para análise de pH, carboidratos e concentração celular. Estas fermentações foram realizadas em 10 erlenmeyers de 125 mL contendo 50 mL de meio (5 frascos para o hidrolisado e 5 para o meio sintético).

O segundo teste consistiu na bioconversão de xilose em etanol a partir do hidrolisado por *P. stipitis*, também cedida pelo laboratório de Processos Fermentativos. O inóculo foi preparado a partir de uma alçada da cultura estoque em meio. Neste caso, as fermentações foram conduzidas em 3 meios diferentes, sendo a primeira em meio sintético contendo 60 g/L de xilose, 3 g/L de extrato de levedura, 3 g/L de fosfato ácido de amônio e 1 g/L de sulfato de magnésio heptahidratado. A segunda fermentação foi conduzida apenas com o hidrolisado

tratado contendo 61,2 g/L de xilose e a terceira fermentação com o mesmo hidrolisado suplementado com extrato de levedura a uma concentração de 3 g/L. Estas fermentações foram realizadas em erlenmeyers de 250 mL, volume de meio de 100 mL, 200 rpm, pH inicial de 5,5, temperaturas de 30 °C e concentração de inóculo de 1 g/L.

4.10. Métodos Analíticos

4.10.1. Determinação do Teor de Carboidratos

A determinação do teor de carboidratos no hidrolisado foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Uma alíquota de 5 mL da solução foi filtrada em filtro Sepak C18 e analisada em um cromatógrafo Shimadzu modelo CR 7A, empregando um detector de índice de refração Shimadzu RID-6A e uma coluna Aminex HPX 87H (300 x 7,8 mm, BIO-RAD). Como fase móvel foi empregado H₂SO₄ 0,005 mol/L com fluxo de 0,6 mL/min a 45 °C.

As áreas médias dos cromatogramas para celobiose, ácido glucurônico, glicose, xilose, arabinose e ácido acético foram usadas, juntamente com as curvas de calibração, para calcular a concentração e massa de cada componente. Essas massas foram divididas pelo peso seco do material inicial e multiplicadas pelos fatores de hidrólise para serem convertidas em equivalentes de celulose, polioses e grupo acetil. Os fatores de conversão de glicose e celobiose para celulose são 0,9 e 0,95, respectivamente. De maneira similar, xilose, arabinose e ácido glucurônico foram convertidos a poliose usando-se os fatores de hidrólise 0,88; 0,88 e 0,957, respectivamente. O fator de conversão de ácido acético a grupo acetil é 0,72.

4.10.2. Determinação de Lignina Insolúvel em Meio Ácido

A quantidade de lignina insolúvel em meio ácido foi determinada de acordo com o método Klason modificado (ROCHA et al., 1997). Para tal, foram utilizadas frações previamente secas em estufa a 100 °C, com granulometria variando entre as malhas de 1,190 e 0,250 mm (16/60 mesh) para o bagaço bruto.

O bagaço bruto foi extraído em um sistema soxhlet. Foi empregado etanol hidratado a 92,8° INPM. O bagaço extraído foi seco em estufa a 105 °C até massa constante, determinada em balança analítica.

Uma amostra de aproximadamente 2,0 g de matéria-prima isenta de umidade, foi colocada em béquer de 150 mL, juntamente com 10 mL de H₂SO₄ 72%, e assim, submetido à hidrólise ácida em banho termostaticado a 45 °C. A mistura foi agitada com um bastão de vidro por 7 min. A reação foi interrompida com a adição de 50 mL de água destilada. Imediatamente a amostra foi transferida quantitativamente para um erlenmeyer de 500 mL elevando-se o volume de água a 275 mL. Para completa hidrólise dos oligômeros restantes, o erlenmeyer foi fechado com papel alumínio e autoclavado por 15 min a 1,05 atm. Após a descompressão, o frasco foi retirado da autoclave e resfriado até a temperatura ambiente (ROCHA, 2000).

O material hidrolisado foi separado dos sólidos por filtração, utilizando-se papel de filtro para sólidos gelatinosos, previamente tarado. O hidrolisado foi recolhido em balão volumétrico de 500 mL, e o sólido contido no papel de filtro lavado com porções de 50 mL de água destilada até atingir o volume do balão, o qual foi armazenado para análise posterior. A lignina retida no papel de filtro (lignina insolúvel) foi lavada com água até ficar isenta de sulfatos (aproximadamente 1500 mL) e seca em estufa de 105 °C até peso constante.

A solução foi armazenada para análises posteriores de lignina solúvel, carboidratos, furfural e hidroximetilfurfural.

4.10.3. Determinação de Lignina Solúvel

Para determinação de lignina solúvel (compostos fenólicos), uma alíquota de 5 mL do hidrolisado obtido foi alcalinizada com 1 mL de NaOH 6,5 mol/L até atingir pH 12,5 e diluída em balão volumétrico de 50 mL. Esta solução será analisada por espectroscopia de UV, determinando-se a absorvância da solução em comprimento de onda 280 nm, utilizando água destilada com pH 12,5 como referência. Determinando-se a concentração de lignina solúvel a partir da Equação 1.

$$C_{\text{lig}} = 4,187 \times 10^{-2} (A_{\text{lig}280} - A_{\text{pd}280}) - 3,279 \times 10^{-4} \quad (1)$$

Onde:

C_{lig} = concentração de lignina em g/L

$A_{\text{lig}280}$ = absorvância da solução de lignina, em 280 nm

$A_{\text{pd}280} = c_1 \varepsilon_1 + c_2 \varepsilon_2$: absorvância, em 280 nm, dos produtos de decomposição dos açúcares (furfural e hidroximetilfurfural), cujas concentrações c_1 e c_2 foram determinadas previamente por CLAE e ε_1 e ε_2 foram determinados por espectrometria de UV e valem, respectivamente, 146,85 e 114,00 L/(g.cm) (ROCHA, 2000).

4.10.4. Determinação do Teor de Furfural e Hidroximetilfurfural

Os produtos de decomposição dos açúcares (furfural e hidroximetilfurfural) presentes no hidrolisado ácido foram analisados por CLAE utilizando-se um cromatógrafo Shimadzu modelo CR 7A com detector de UV visível marca Shimadzu modelo SPD-10A empregando uma coluna RP-18 (C-18) de 125x4 mm (Hawlett-Packard), e como fase móvel, solução de acetonitrila/água 1:8 (v/v) com 1% de ácido acético, num fluxo de 0,8 mL/min a 25°C.

As áreas médias dos cromatogramas para furfural e hidroximetilfurfural foram convertidas em equivalentes de poliose e celulose sendo o fator de conversão de 1,3749 e

1,2857, respectivamente. As concentrações dos compostos foram obtidas a partir de curvas de calibração traçadas para cada componente (ROCHA, 2000).

4.10.5. Determinação do Teor de Cinzas

Para a determinação do teor de cinzas no bagaço bruto pesou-se em balança analítica, aproximadamente 2 g do material, com umidade conhecida, em três cadinhos de porcelana previamente tarados. Em seguida, foram inicialmente calcinados em uma mufla a 400 °C até a total digestão do material e depois à 800 °C por duas horas. Após a calcinação, os cadinhos foram resfriados em dessecador e a massa de cinzas determinada.

Para corrigir o teor de lignina insolúvel em meio ácido, o papel de filtro contendo a lignina isolada (item acima), foi transferido para cadinho de porcelana e seguiu-se o procedimento acima descrito.

O teor de cinzas foi calculado através da expressão (Equação 2):

$$\% R_c = m_c / m_{mp} \times 100 \quad (2)$$

Sendo:

$\% R_c$ = porcentagem em massa de cinzas

m_c = massa de cinzas (massa do cadinho com cinzas menos a massa do cadinho vazio)

m_{mp} = massa de matéria-prima seca (adaptação da Norma - ASTM,1966).

4.10.6. Determinação do Índice de Cor

A determinação do índice de cor do hidrolisado foi realizada segundo o método da Comissão Internacional para a Unificação dos Métodos de Análise Açucareira (ICUMSA) ajustado para o hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar por Solenzal et al. (1998). O pH das amostras foi ajustado entre $5,00 \pm 0,05$ e °Brix entre $1,25 \pm 0,25$ com água deionizada, e então filtrada em membrana de 0,45 µm (Milipore). Em seguida foi determinada a absorbância

(DO) em espectrofotômetro a 420 nm, usando água deionizada como referência e determinada a concentração de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}_f$) das amostras diluídas. A cor ICUMSA foi determinada pelas Equações 3 e 4:

$$\text{Cor}_{(\text{ICUMSA})} = \frac{(\text{DO} \times 1000)}{[\rho \times (^{\circ}\text{Brix}_f/100)]} \quad (3)$$

$$\rho = 1 + \frac{[^{\circ}\text{Brix} \times (200 + ^{\circ}\text{Brix})]}{54\,000} \times \frac{^{\circ}\text{Brix}_f}{^{\circ}\text{Brix}} \quad (4)$$

Onde: $^{\circ}\text{Brix}$ = concentração de sólidos solúveis na amostra original;

$^{\circ}\text{Brix}_f$ = concentração de sólidos solúveis na amostra diluída;

ρ = densidade da amostra.

4.10.7. Determinação da Concentração de Metais

As concentrações dos metais (Fe, Zn, Cd, Co, Ni, Cu e Cr) foram determinadas em espectrômetro de absorção atômica por chama.

4.10.8. Determinação da Concentração Celular

A concentração de células livre foi determinada por turbidimetria em espectrofotômetro (BECKMAN 640B), a 600 nm e correlacionada com o peso seco de células (g/L) através de uma curva de calibração correspondente. As medidas foram feitas em suspensões celulares devidamente diluídas, após centrifugação, lavagem e ressuspensão das células em água destilada.

4.10.9. Determinação dos Parâmetros Fermentativos

Os parâmetros fermentativos como os fatores de rendimento em xilitol, etanol e celular, a produtividade volumétrica e a eficiência de conversão de xilose em xilitol e etanol foram determinados como segue:

Fator de rendimento em produto » $Y_{p/s}$ = massa de xilitol ou etanol produzida / massa de xilose consumida (g/g)

Fator de rendimento celular » $Y_{x/s}$ = massa de células formadas / massa de xilose consumida (g/g)

Produtividade volumétrica » Q_p = concentração de xilitol ou etanol produzido / tempo (g/L.h)

Eficiência » $\eta = (Y_{p/s} / 0,917^*) \times 100$ (%)

* rendimento teórico em g xilitol/ g xilose (BARBOSA et al., 1988).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização do Bagaço de Cana-de-Açúcar

O bagaço de cana-de-açúcar adquirido foi caracterizado e sua composição pode ser observada na Tabela 13.

Tabela 13 - Composição bagaço de cana-de-açúcar.

<i>Componentes do bagaço</i>	<i>Concentração (%)</i>
Celulose	47,45
Hemicelulose	26,52
Lignina Insolúvel	20,40
Lignina Solúvel	1,24
Grupo Acetila	1,96
Cinzas Totais	1,16
Extrativos	1,15
Total	99,88

Segundo Aristidou e Penttilä (2000) os materiais lignocelulósicos são compostos de 40 a 50% de celulose, 25 a 35% de hemicelulose e 15 a 25% de lignina. Como pode ser observado na tabela acima as concentrações de hemicelulose (26,52%), de celulose (47,45%) e de lignina total (21,64%) correspondem a estes valores.

Quimicamente o bagaço contém em torno de 2,4% de cinzas (PANDEY et al., 2000) contudo, como pode ser observado na Tabela 13, o bagaço utilizado apresentou um nível ainda inferior. Este baixo nível de cinzas torna o bagaço de cana uma biomassa vantajosa em comparação a outros resíduos como a palha de arroz (17,5%) e de trigo (11,0%) quando utilizado em processos de bioconversão.

O processo de secagem do bagaço utilizado foi bastante eficiente, já que este apresentou uma umidade de 8,21% o que garante uma abrangência mais imediata da solução ácida no interior das fibras do bagaço, mantendo o teor do ácido mais uniforme.

5.2. Obtenção do Hidrolisado Hemicelulósico

Foram realizadas três bateladas de hidrólise, nas quais foram utilizados 18,36 kg de bagaço seco. Nas duas primeiras bateladas foram extraídos 105 L de hidrolisado hemicelulósico e na última obteve-se 100 L desta solução.

O ácido sulfúrico utilizado na hidrólise do bagaço de cana é responsável pela quebra das ligações entre os monômeros de açúcar da cadeia polimérica da hemicelulose e celulose e, assim, pela liberação de vários compostos como açúcares (xilose, glicose e arabinose), oligômeros, furfural, hidroximetilfurfural, ácido acético e ainda, íons de metais pesados provenientes da corrosão dos equipamentos e do solo. Desta forma, homogeneizou-se os volumes das três bateladas (volume final = 310 L) e a partir deste hidrolisado homogeneizado foi realizada a caracterização determinando os teores destes principais compostos (Tabela 14).

Nesta mesma tabela é possível observar o efeito de uma pós-hidrólise sob o hidrolisado H0, a qual consiste de uma elevação de temperatura à 121 °C e pressão à 1 atm de uma amostra deste hidrolisado. Este procedimento teve o objetivo a aferição das concentrações dos carboidratos presentes no hidrolisado em estudo, em especial a xilose e a glicose. Foi verificado que após este procedimento a concentração destes açúcares aumentaram 1,15 e 1,86 vezes, respectivamente. Estes aumentos significativos devem estar relacionados com o complemento da ação hidrolítica do processo sobre eventuais dímeros e oligômeros de carboidratos ainda presentes. Cabe ressaltar que a pós-hidrólise não foi aplicada em todo hidrolisado obtido, no entanto, toda pesquisa foi realizada a partir de um hidrolisado concentrado, ou seja, um hidrolisado previamente tratado a elevadas temperaturas.

Através da Tabela 14 pode-se confirmar que pela reação de hidrólise ácida obteve-se um hidrolisado com uma mistura de açúcares contendo 61,18% de xilose, 11,80% de glicose e 6,08% de arabinose em relação ao peso seco, logo, a xilose é o açúcar predominante conforme

observado em hidrolisados desta biomassa (VERDE, 2001) sendo esta uma característica desejável para as bioconversões a partir deste açúcar.

Tabela 14 - Composição e características físicas do hidrolisado original (H0).

<i>Parâmetros</i>	<i>Hidrolisado H0</i>	<i>Pós – Hidrólise do Hidrolisado H0</i>
pH	0,87	1,01
°Bx	4,50	4,50
Glicose (g/L)	2,17	4,03
Xilose (g/L)	19,37	22,34
Arabinose (g/L)	1,89	2,22
Acido Acético (g/L)	3,09	3,37
Furfural (g/L)	0,08	0,19
Hidroximetilfurfural (g/L)	0,03	0,05
Compostos Fenólicos (g/L)	4,31	4,31
Cor ICUMSA	128 845	135 258

Também é possível notar que a presença de compostos tóxicos inibitórios à atividade fermentativa estão em valores bastante significativos como os compostos fenólicos (11,80%), o ácido acético (9,23%), o furfural (0,52%) e o hidroximetilfurfural (0,14%). Tem sido apresentado na literatura que as concentrações desses compostos nos hidrolisados hemicelulósicos variam em função do tipo de material lignocelulósico e das condições hidrolíticas empregadas para a extração da fração hemicelulósica (SILVA et al., 1998). As concentrações de furfural e hidroximetilfurfural confirmam a degradação parcial das pentoses e hexoses presentes no hidrolisado hemicelulósico durante a hidrólise.

Nas condições de hidrólise utilizada foi possível recuperar 61,18% da xilose presente no bagaço, um valor inferior ao encontrado na literatura (aproximadamente 80%). Esta perda de rendimento está diretamente relacionada com problemas operacionais durante o descarregamento do hidrolisado do reator que, devido às limitações na abertura da válvula de descarga, impossibilita a retirada de parte do hidrolisado que fica impregnado (absorvido) na celulignina residual.

Ainda assim, a obtenção de um hidrolisado com 22,34 g/L de xilose representa uma hidrólise bem sucedida quando comparado com dados da literatura (CUNHA, 2006).

5.3. Concentração do Hidrolisado Hemicelulósico Homogeneizado

O hidrolisado hemicelulósico H0 foi concentrado a vácuo aproximadamente 4,5 vezes de seu volume inicial, este procedimento aumenta os teores dos compostos presentes neste meio, inclusive dos indesejáveis. O hidrolisado concentrado (H1) foi caracterizado e comparado com o hidrolisado submetido a pós-hidrólise (H0) como pode ser observado na Tabela 15.

Em análise aos resultados obtidos após a concentração, observa-se que a razão entre os teores xilose/glicose em H0 era de 5,5 enquanto que, em H1 esta relação aumentou para 7,9. Isto pode ser explicado devido a ocorrência de degradações parciais da xilose e glicose em intensidades diferenciadas, gerando mais furfural e hidroximetilfurfural, respectivamente. Este comportamento também foi observado por Carvalho (2005) ao concentrar um hidrolisado de eucalipto.

Tabela 15 – Comparação entre os hidrolisados H0 e H1.

<i>Parâmetros</i>	<i>Hidrolisado H0</i>	<i>Hidrolisado H1</i>
pH	1,01	0,67
°Bx	4,50	19,0
Glicose (g/L)	4,03	12,57
Xilose (g/L)	22,34	99,57
Arabinose (g/L)	2,22	12,71
Acido Acético (g/L)	3,37	6,85
Furfural (g/L)	0,19	0,10
Hidroximetilfurfural (g/L)	0,05	0,12
Compostos Fenólicos (g/L)	4,31	11,34
Cor ICUMSA	135 258	292 412

Comparando as concentrações dos contaminantes presentes nos hidrolisados H0 e H1 observa-se que, o processo de concentração a vácuo aumentou em 2,03 vezes o teor de ácido

acético, não seguindo o fator de concentração aplicado. Este fato ocorreu porque estando o hidrolisado hemicelulósico H0 a um pH igual 1,01 indica que o ácido acético está em sua forma não dissociada, o que favorece a evaporação deste composto durante o processo de concentração (RODRIGUES, 1999). No entanto, a quantidade deste contaminante presente em H1 (6,85 g/L) ainda é prejudicial à bioconversão da xilose em xilitol pela levedura *C. guilliermondii* já que, em concentrações acima de 3 g/L e em sua forma não dissociada, este ácido difunde-se livremente para dentro do citoplasma das células da levedura, onde causa um decréscimo no pH intracelular, o que é prejudicial ao metabolismo celular (KUSUMEGI et al., 1998).

A etapa de concentração do hidrolisado também mostra um efeito positivo quanto ao furfural presente que, por ser bastante volátil (ponto de ebulição de 54-55°C) não apresentou aumento apreciável em sua concentração, possibilitando até a remoção quase total nas condições de temperatura (~ 70 °C) e pressão utilizadas nesta etapa (PERRY, 1997).

Com relação aos compostos fenólicos o teor foi aumentado em aproximadamente três vezes, o que influenciou diretamente no aumento do índice de cor (ICUMSA). O hidrolisado concentrado sofreu uma elevação de 2,3 vezes no índice de cor.

Finalizando, é possível observar que o processo de concentração à vácuo provocou um decréscimo do pH original de 1,01 para 0,67 no hidrolisado concentrado H1. Essa redução certamente está relacionada com o aumento da concentração de íons H^+ provenientes do H_2SO_4 utilizado na hidrólise ácida e também de ácido acético presente no hidrolisado.

5.4. Coagulação e Precipitação Seletiva de Impurezas Coloidais

Uma vez concentrado e caracterizado o hidrolisado foi submetido à coagulação e precipitação seletiva de impurezas coloidais. Assim, esta etapa de purificação dividiu-se em três fases, a primeira em que se realizou um planejamento experimental fatorial completo 2^4 ,

com três ensaios no ponto central, totalizando 19 experimentos (Tabela 16); a segunda e a terceira constituíram-se de um delineamento composto central rotacional (DCCR), ou seja, um planejamento experimental fatorial completo 2^2 , com 3 ensaios no ponto central e 4 nos pontos axiais, totalizando 11 experimentos (Tabelas 18 e 20).

Dos 19 experimentos realizados aquele que obteve os melhores índices de remoção de compostos fenólicos foi o décimo quarto, representando uma redução de 43,68%. Já o ensaio que apresentou as piores remoções foi o terceiro (excluindo o décimo oitavo que faz parte do ponto central, utilizado para estimar erros), o qual representou uma redução de apenas 21,33%.

Tabela 16 – Condições experimentais do planejamento fatorial completo e teor de compostos fenólicos ao final de cada tratamento.

<i>Ensaio</i>	<i>pH</i>	<i>Temperatura</i> (°C)	<i>PAC</i> (mg/L)	<i>Polieletrólito</i> (mg/L)	<i>C. Fenólicos</i> (g/L)
1	5	30	0	0	7,91
2	10	30	0	0	7,66
3	5	70	0	0	8,92
4	10	70	0	0	8,02
5	5	30	50	0	8,52
6	10	30	50	0	6,53
7	5	70	50	0	8,40
8	10	70	50	0	7,24
9	5	30	0	4	8,40
10	10	30	0	4	7,35
11	5	70	0	4	8,81
12	10	70	0	4	7,16
13	5	30	50	4	7,35
14	10	30	50	4	6,30
15	5	70	50	4	8,33
16	10	70	50	4	7,06
17	7,5	50	25	2	8,61
18	7,5	50	25	2	9,37
19	7,5	50	25	2	9,28

Através dos resultados das concentrações de compostos fenólicos, para cada experimento foram calculados os coeficientes de cada termo, com os quais foi possível

estimar o p-valor, responsável pela determinação da significância de cada variável em análise (Tabela 17). Neste tratamento estatístico foi utilizado um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$), sendo assim, a única variável com significância estatística para a remoção de compostos fenólicos foi o pH.

Com o modelo avaliado foram também obtidos o coeficiente de determinação (R^2) de 92,11% e o coeficiente de correlação (r) de 95,97%. O coeficiente de determinação demonstra que os fatores escolhidos (pH, temperatura, concentrações de PAC e polieletrólito) para o estudo da variação de compostos fenólicos no hidrolisado hemicelulósico concentrado, foram responsáveis por 92,11% da variabilidade da resposta avaliada. Através do coeficiente de correlação obtido pode-se concluir que existe uma elevada relação entre os fatores avaliados e a resposta em estudo.

Tabela 17 – Determinação dos valores de t e do p-valor de cada termo para a resposta teor de compostos fenólicos no primeiro tratamento estatístico.

Fatores	Coefficientes	Erro Padrão	t	p -valor
<i>Média</i>	7,75	0,12	67,28	<0,0001
<i>pH</i>	-0,58	0,12	-5,01	0,002
<i>Temperatura</i>	0,24	0,12	2,08	0,083
<i>PAC</i>	-0,28	0,12	2,40	0,054
<i>Polieletrólito</i>	-0,15	0,12	-1,28	0,247
<i>pH x Temp.</i>	-0,05	0,12	-0,40	0,705
<i>pH x PAC</i>	-0,10	0,12	-0,83	0,439
<i>pH x Poliel.</i>	-0,04	0,12	-0,35	0,737
<i>Temp. x PAC</i>	0,04	0,12	0,35	0,736
<i>Temp. x Poliel.</i>	< 0,01	0,12	-0,04	0,973
<i>PAC x Poliel.</i>	-0,05	0,12	-0,42	0,690

Ainda com o auxílio dos valores de t (Tabela 17) foi estabelecido o diagrama de Pareto (Figura 9). Este diagrama confirma novamente a significância da variável pH, e que a variável teor de PAC (2,40) encontra-se muito próximo ao valor do t tabelado para um nível de significância de 95%. Na Figura 9 observa-se também que os efeitos principais

apresentaram maior significância que os secundários, ou seja, que as interações existentes nos tratamentos não interferem nas variáveis que foram avaliadas e nos níveis escolhidos.

Através dos valores obtidos para as concentrações de compostos fenólicos foi possível plotar a probabilidade normal (Figura 10). Pode ser observado que os termos que não apresentaram significância para o modelo avaliado encontram-se próximos à reta, e que a única variável identificada como significativa foi o pH, confirmando conclusões anteriores.

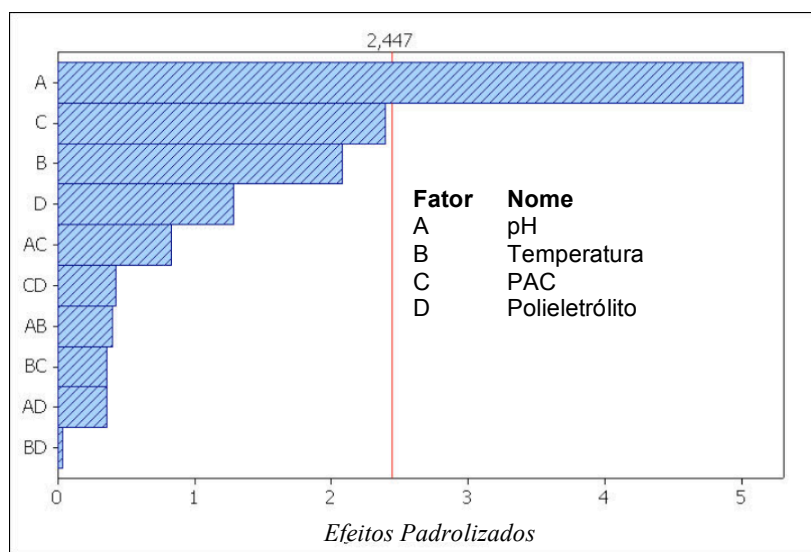


Figura 9 – Diagrama de Pareto em função dos efeitos das concentrações de compostos fenólicos para o planejamento fatorial fracionado.

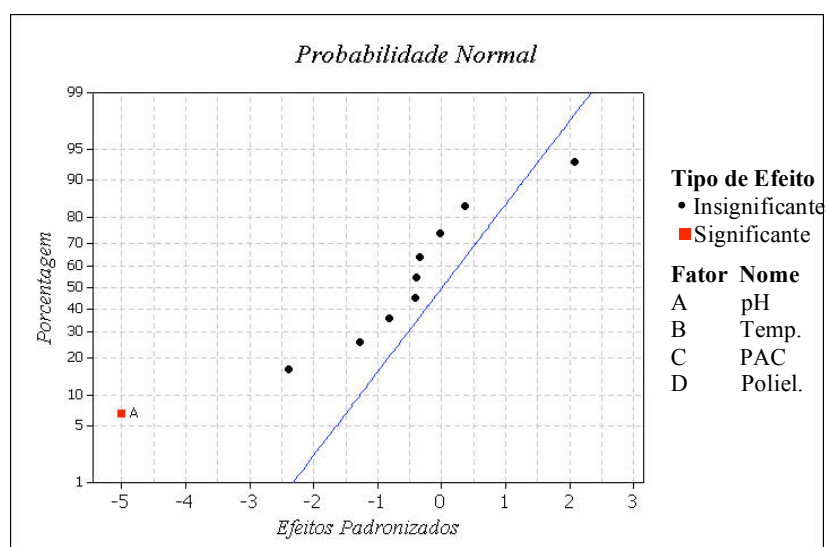


Figura 10 – Probabilidade normal em função dos efeitos das concentrações de compostos fenólicos para o planejamento fatorial fracionado.

Com base na análise dos efeitos principais individualizados (Figura 11) também pode-se avaliar, através das inclinações das retas obtidas, o quanto cada variável é significativa para o modelo em estudo. Neste contexto, o pH apresentou uma inclinação maior em relação as outras variáveis e, quando esta variável se encontra em seu maior nível, possibilita uma maior redução de compostos fenólicos. Com esta ferramenta de controle não é possível afirmar que a concentração de PAC é mais significativa que a temperatura, mas ambas influenciam mais no modelo avaliado que o teor de polieletrólito. Observa-se também que, quanto maiores os teores de PAC e de polieletrólito maior a redução de compostos fenólicos, diferente do comportamento da temperatura, cujo menor valor gera maior redução deste contaminante.

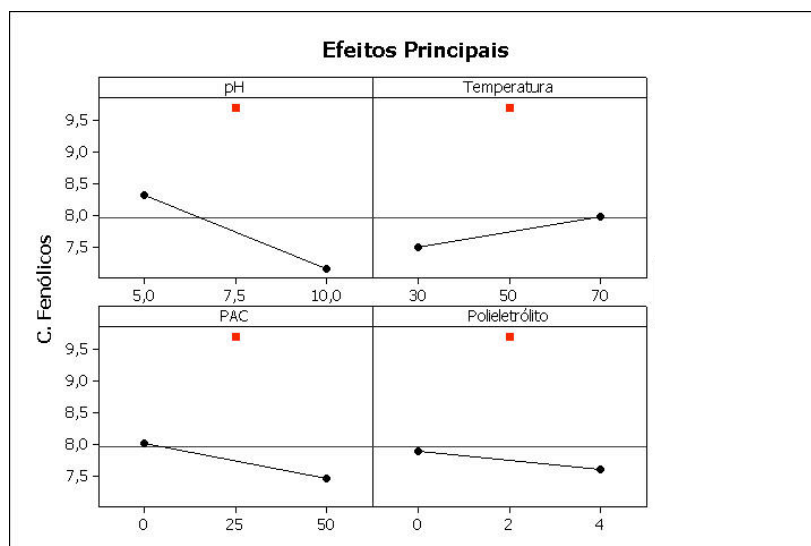


Figura 11 – Efeitos principais em função das concentrações de compostos fenólicos para o planejamento fatorial fracionado.

Em seguida, com base nos resultados do primeiro planejamento optou-se por realizar um delineamento composto central rotacional (DCCR) com níveis de pH que variaram de 2,5 até 8,5 e concentrações de PAC que variaram de 15 até 85 mg/L. Esta metodologia permite uma investigação mais precisa dos efeitos destas variáveis para a remoção de compostos fenólicos, logo abrange um maior número de pontos experimentais (Tabela 18). Foram realizados ensaios com menores níveis de pH em relação ao planejamento anterior devido a

maior facilidade de ajuste, considerando que o hidrolisado concentrado é naturalmente ácido devido às condições de hidrólise.

Tabela 18 – Condições experimentais que foram realizadas o segundo tratamento estatístico e teor de compostos fenólicos ao final de cada tratamento.

<i>Ensaio</i>	<i>pH</i>	<i>PAC (mg/L)</i>	<i>C. Fenolicos (g/L)</i>
1	3,5	25	12,697
2	7,5	25	10,268
3	3,5	75	11,608
4	7,5	75	10,959
5	5,5	50	14,319
6	5,5	50	16,720
7	5,5	50	14,215
8	2,5	50	13,618
9	8,5	50	8,290
10	5,5	15	15,523
11	5,5	85	15,460

Contudo, para os novos níveis de pH e PAC estudados, os resultados de remoção de compostos fenólicos a partir do hidrolisado H1 não foi positivo. Apenas para o ensaio 9 (pH a 8,5) a redução destes compostos foi importante (redução aproximada de 27%). O coeficiente de determinação (R^2) obtido foi de 93,80% e o coeficiente de correlação (r) foi de 96,85% comprovando, mais uma vez, a grande variabilidade e relação que os fatores avaliados (pH e a concentração de PAC) proporcionam à variação de compostos fenólicos.

Para este segundo tratamento estatístico calculou-se os coeficientes de cada termo e estimou-se o p-valor (Tabela 19) mantendo o mesmo nível de confiança de 95%. Ao se analisar os valores de p é possível observar que, somente o termo quadrático do pH apresentou significância, já que 0,018 é menor que 0,05. Pode-se também observar que através do teste t o termo pH^2 mostrou-se significativo, seguido do termo pH.

Tabela 19 – Determinação dos valores de t e do p-valor de cada termo para a resposta teor de compostos fenólicos no segundo tratamento estatístico.

Fatores	Coefficientes	Erro Padrão	t	p -valor
<i>Média</i>	13,00	1,01	11,48	0,001
<i>pH</i>	-0,92	0,45	-2,04	0,134
<i>PAC</i>	-0,11	0,45	-0,25	0,820
<i>pH²</i>	-3,05	0,64	-4,76	0,018
<i>PAC²</i>	0,51	0,64	-0,80	0,484
<i>pH x PAC</i>	0,98	0,64	1,54	0,222

Através da análise estatística, foi possível obter um modelo matemático que descreve as características de redução dos compostos fenólicos em função das alterações do pH e, das concentrações de PAC, o qual pode ser observado na Equação 5.

$$[\text{C. Fenólicos}] = 13,00 - 0,92\text{pH} - 0,11\text{PAC} - 3,05\text{pH}^2 + 0,51\text{PAC}^2 + 0,98\text{pH.PAC} \quad (5)$$

A partir deste modelo matemático obteve-se os gráficos de curvas de contorno e superfície de resposta, apresentados nas Figuras 12 e 13, respectivamente.

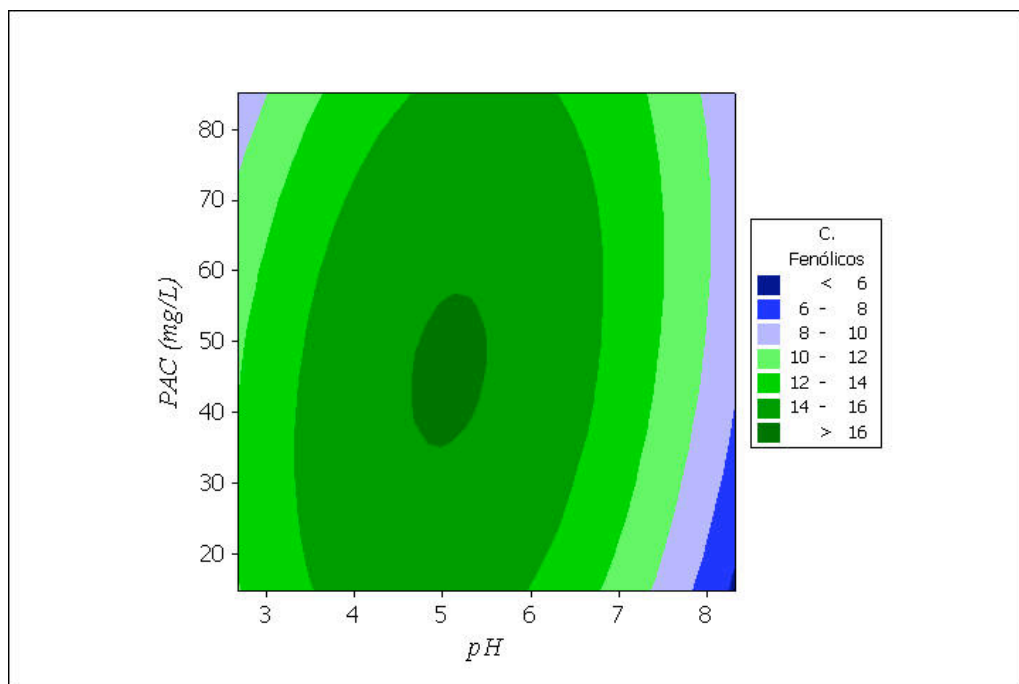


Figura 12 – Curvas de contorno obtidas pelo modelo matemático do segundo tratamento estatístico.

Analisando ambos os gráficos é possível observar que o maior teor de compostos fenólicos encontra-se na região central, onde a concentração de PAC apresenta-se na faixa de 35 mg/L a 55 mg/L e pH entre 4,5 e 5,5. Já a região que foi observado os menores teores de compostos fenólicos no hidrolisado encontra-se em concentrações de PAC inferior a 20 mg/L e pH superior a 8.

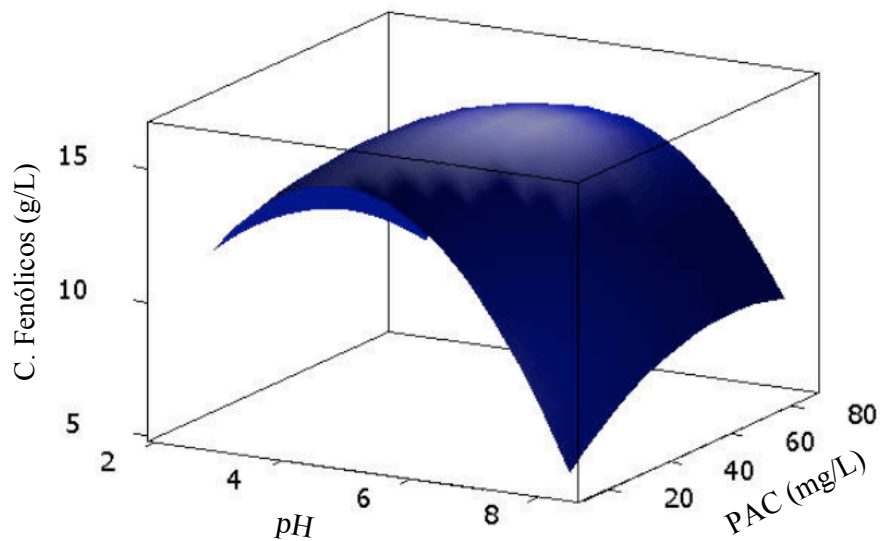


Figura 13 – Superfície de resposta obtida pelo modelo matemático do segundo tratamento estatístico.

A seguir, ainda em busca das melhores condições de remoções de compostos fenólicos, optou-se por realizar mais um DCCR com níveis de pH que variaram de 8,0 até 13,0 e concentrações de PAC entre 0 e 23 mg/L (Tabela 20).

Dentre estes experimentos realizados, o primeiro ensaio foi aquele que apresentou menores índices de compostos fenólicos em solução (7,034 g/L) correspondendo a uma remoção de 37,97% deste contaminante. Foram também obtidos um coeficiente de determinação (R^2) de 87,30% e um coeficiente de correlação (r) de 93,29% comprovando, mais uma vez, a grande variabilidade e relação que os fatores avaliados (pH e a concentração de PAC) proporcionam à variação dos teores de compostos fenólicos presentes.

Tabela 20 – Condições que foram realizadas o terceiro tratamento estatístico e teor de compostos fenólicos ao final de cada experimento.

<i>Ensaíos</i>	<i>pH</i>	<i>PAC (mg/L)</i>	<i>C. Fenólicos (g/L)</i>
1	8,7	3,40	7,034
2	12,3	3,40	20,076
3	8,7	19,70	7,285
4	12,3	19,70	19,344
5	10,5	11,55	13,482
6	10,5	11,55	14,403
7	10,5	11,55	13,566
8	8,0	11,55	7,850
9	13,0	11,55	15,743
10	10,5	0	13,859
11	10,5	23,00	13,566

Para este terceiro tratamento estatístico foram calculados os coeficientes de cada termo e estimados o p-valor (Tabela 21) mantendo-se um nível de confiança de 95%. Ao analisar os valores de p é possível observar que somente o termo linear do pH apresentou significância estatística.

Tabela 21 – Determinação dos valores de t e do p-valor de cada termo para a resposta teor de compostos fenólicos no terceiro tratamento estatístico.

Fatores	Coeficientes	Erro Padrão	t	p -valor
<i>Média</i>	13,82	1,69	7,96	0,001
<i>pH</i>	4,54	0,88	5,15	0,007
<i>PAC</i>	0,03	0,88	0,03	0,979
<i>pH²</i>	-0,58	1,14	-0,51	0,640
<i>PAC²</i>	0,19	1,14	0,17	0,874
<i>pH x PAC</i>	-0,25	1,24	-0,20	0,853

Através da análise estatística, foi possível obter um novo modelo matemático que descreve as características de redução dos compostos fenólicos, em função das alterações do pH e das concentrações de PAC, apresentado na Equação 6. Esta equação mostra também a grande influência que o termo pH tem sobre a resposta, logo seu coeficiente (4,54) é muito maior que os demais coeficientes obtidos.

$$[C. \text{ Fenólicos}] = 13,82 + 4,54\text{pH} + 0,03\text{PAC} - 0,58\text{pH}^2 + 0,19\text{PAC}^2 - 0,25\text{pH.PAC} \quad (6)$$

A partir deste modelo matemático foram constituídos os gráficos de curvas de contorno e superfície de resposta, os quais podem ser observados nas Figuras 14 e 15, respectivamente. Verifica-se em ambos os gráficos que a região que indica menores teores de compostos fenólicos encontra-se em concentrações de PAC inferior a 12 mg/L e pH até 8,5. Tais resultados confirmam os dados adquiridos no segundo tratamento estatístico, logo, foi estabelecido como ponto ótimo de remoção de compostos fenólicos o pH de 8,5 a uma concentração de PAC de 12 mg/L, mantendo-se constante a concentração de polieletrólito em 4 mg/L e temperatura de 50 °C. Tais condições quando aplicadas permitiram obter um teor de 7,61 g/L de compostos fenólicos em solução, correspondendo uma redução de 32,67% destes contaminantes.

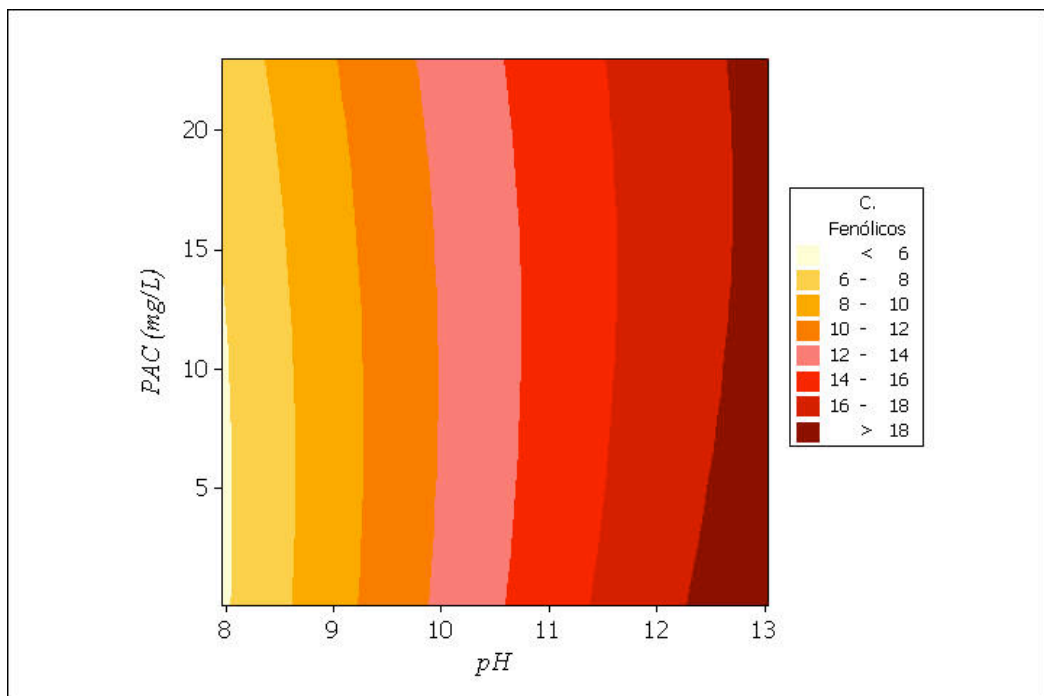


Figura 14 – Curvas de contorno obtidas pelo modelo matemático do terceiro tratamento estatístico.

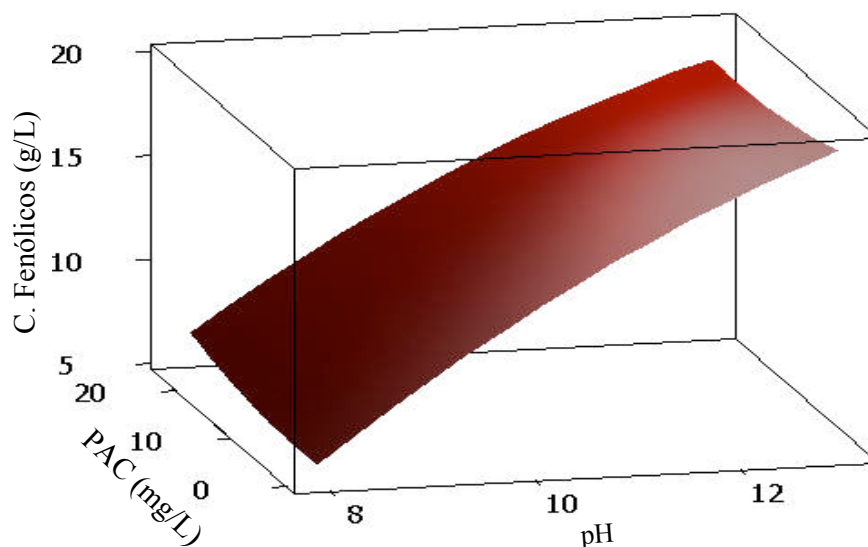


Figura 15 – Superfície de resposta obtida pelo modelo matemático do terceiro tratamento estatístico.

Após a avaliação do processo de coagulação e precipitação, aumentou-se a escala de trabalho de 50 mL para 1800 mL (36 vezes) visando obter maior volume de hidrolisado a ser utilizado nas etapas subsequentes. Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 22.

Tabela 22 – Características químicas e físicas do hidrolisado concentrado (H1) e do hidrolisado após a etapa de coagulação e precipitação (H2).

<i>Parâmetros</i>	<i>Hidrolisado H1</i>	<i>Hidrolisado H2</i>
pH	0,67	8,07
°Bx	19,0	15,00
Glicose (g/L)	12,57	12,55
Xilose (g/L)	99,57	79,45
Arabinose (g/L)	12,71	11,80
Acido Acético (g/L)	6,85	6,88
Furfural (g/L)	0,10	0,027
Hidroximetilfurfural (g/L)	0,12	0,031
Compostos Fenólicos (g/L)	11,34	10,15
Cor ICUMSA	292 412	2 842 254

Pode-se observar na Tabela 22 que, com o aumento de escala, não foram obtidas as mesmas reduções de compostos fenólicos constatadas na escala reduzida, alcançando apenas uma diminuição de 10,49% destes contaminantes. Observa-se também que, o óxido de cálcio

utilizado para ajustar o pH, promove redução nas concentrações dos açúcares, diminuindo 20,21% de xilose e 7,16% de arabinose. Foi observado que a elevação no pH do hidrolisado concentrado provocou a formação de compostos cromóforos ou a diminuição da solubilidade destes compostos, permanecendo mais ainda em suspensão e aumentando assim o índice de cor em 9,7 vezes.

Dando seqüência aos trabalhos propostos, a partir deste momento iniciou-se as investigações preliminares do uso das resinas de troca iônica. Foram testadas quatro diferentes resinas individualmente e em série. Estas resinas também foram caracterizadas fisicamente, onde foram determinadas a massa específica, a massa específica úmida, o volume de inchamento e a umidade original.

5.5. Avaliação Individual e em Série do Comportamento das Resinas de Troca Iônica em Estudo

As resinas individualmente foram caracterizadas e avaliadas segundo a ação do hidrolisado. Com base nos resultados obtidos foram propostas três seqüências de purificação distintas, e a série que obteve a melhor eficiência de purificação foi utilizada em escala ampliada como tratamento final do hidrolisado hemicelulósico.

5.5.1. Determinação da Massa Específica

As resinas foram submetidas a alguns testes de caracterização importantes para obter o domínio e conhecimento sobre a manipulação destes materiais. Na Tabela 23 são apresentadas as quantidades de resinas utilizadas no teste com suas respectivas massas específicas originais. A partir do resultado obtido foi observado que a Amberlite IRA 96 possui a menor massa específica em comparação com as demais. Este fato também foi observado quando esta

resina foi inserida na proveta com água destilada para a determinação de seu volume de inchamento. Em função de sua reduzida massa específica foi preciso um tempo maior de repouso a fim de garantir a completa deposição das partículas de resina junto a seu leito já que estas flutuam com facilidade em água.

Tabela 23 – Massa específica das resinas de troca iônica avaliadas.

Resinas de Troca Iônica	Massa (Kg)	Massa Específica (Kg/L)
Amberlite 252 Na (R1)	0,01828	0,7312
Amberlite FPA 98 (R2)	0,01728	0,6913
Amberlite IRA 96 (R3)	0,01471	0,5884
Amberlyst 15 Wet (R4)	0,01690	0,6760

5.5.2. *Determinação da Massa Específica Úmida*

Na Tabela 24 são apresentados os resultados obtidos relativos à massa específica úmida das resinas avaliadas. Esta grandeza possibilita avaliar indiretamente o grau de retenção de água na estrutura polimérica da resina. Observa-se que a resina Amberlite IRA 96 apesar de apresentar a menor massa específica seca foi a que apresentou o maior grau de absorção de água em sua matriz polimérica.

Tabela 24 – Massa específica úmida das resinas de troca iônica avaliadas.

Resinas de Troca Iônica	Massa Utilizada (Kg)	Massa Específica Úmida (Kg/L)	Aumento em relação a Massa Esp. original
Amberlite 252 Na (R1)	0,02963	1,1852	62,09%
Amberlite FPA 98 (R2)	0,02568	1,0272	48,59%
Amberlite IRA 96 (R3)	0,02612	1,0448	77,57%
Amberlyst 15 Wet (R4)	0,02914	1,1656	72,43%

As quatro resinas de troca iônica utilizadas neste trabalho apresentam matriz de estireno-divinilbenzeno (estireno-DVB), e quanto menor for a porcentagem de DVB na resina mais água ela é capaz de absorver (HARLAND, 1994). Assim pode-se concluir que a resina

Amberlite IRA 96 apresenta menor porcentagem de DVB em comparação com as outras resinas testadas. Observa-se também que a resina Amberlite FPA 98 apresentou a menor massa específica úmida e um aumento de apenas 48,59% em sua massa específica original, confirmando a alta porcentagem de DVB em sua estrutura.

5.5.3. *Determinação do Volume de Inchamento*

Através desta caracterização é possível observar que a Amberlite IRA 96 apresenta maior capacidade de inchamento em comparação com as demais (Tabela 25), como já era esperado uma vez que a capacidade de retenção de água foi superior. Esta característica também possibilita concluir que a Amberlite IRA 96 possui um caráter hidrofílico mais acentuado em relação s demais.

Tabela 25 – Volume de inchamento das resinas de troca iônica avaliadas.

Resinas de Troca Iônica	Volume Inicial (mL)	Volume Final (mL)	Inchamento (%)
Amberlite 252 Na (R1)	100	102	2,00
Amberlite FPA 98 (R2)	100	100	0,00
Amberlite IRA 96 (R3)	100	103	3,00
Amberlyst 15 Wet (R4)	100	102	2,00

5.5.4. *Determinação da Umidade Original*

Este item tem como objetivo a determinação do grau de umidade que as resinas saem de fábrica. Este parâmetro serve como orientação em relação às condições ideais de armazenagem após cada ciclo de utilização. Na Tabela 26 encontram-se os resultados em relação ao grau de umidade de cada resina estudada.

Tabela 26 – Umidade original das resinas de troca iônica avaliadas.

Resinas de Troca Iônica	Massa Inicial (g)	Massa de H₂O (g)	Umidade(%)
Amberlite 252 Na (R1)	1,033	0,458	44,34
Amberlite FPA 98 (R2)	1,015	0,664	65,42
Amberlite IRA 96 (R3)	1,003	0,592	59,02
Amberlyst 15 Wet (R4)	1,059	0,495	46,74

5.6. Tratamento do Hidrolisado H2 com Resinas de Troca Iônica Individualmente

Primeiramente foi realizada uma avaliação das resinas de troca iônica conforme descrito no item 4.8, a fim de se nortear as condições operacionais ideais de trabalho para cada resina, determinando os possíveis volumes de leito de percolação a serem utilizados.

Antes de percolar o hidrolisado através das resinas estas devem inicialmente ser estabilizadas (rinsadas) com uma solução de xilose pura e de mesmo Brix do hidrolisado a ser tratado. Isto tem como objetivo evitar a “diluição” de xilose do hidrolisado e de certificar que as resinas iniciem a troca iônica somente com as impurezas deste hidrolisado a ser tratado, aumentando o tempo de trabalho destas.

No entanto, como o custo da xilose pura é elevado, optou-se em utilizar o próprio hidrolisado como solução de rinsagem. A quantidade de hidrolisado a ser utilizada foi determinada experimentalmente (Figura 16) com a realização do mapeamento do Brix da solução percolada por volume de leito. Esta etapa se completa quando a solução de saída se aproxima ao Brix do hidrolisado H2. A partir das indicações de Brix, observa-se que no terceiro BV, esta variável passa a ter um valor bem próximo ao do hidrolisado inicial (15°) sendo assim, estipulou-se como rinsagem padrão para todas as resinas a quantia de dois BV.

Além do Brix, também foram quantificados o pH, a condutividade, a concentração de compostos fenólicos e o índice de cor, estes valores podem ser observados nas Figuras 17 à 20, respectivamente. Tanto na Figura 17 como na 18 o ponto de origem (0;0) é indicado pelo

valor do pH (6,83) e da condutividade (3,407 mS/cm) da água deionizada utilizada para realizar a lavagem preliminar II.

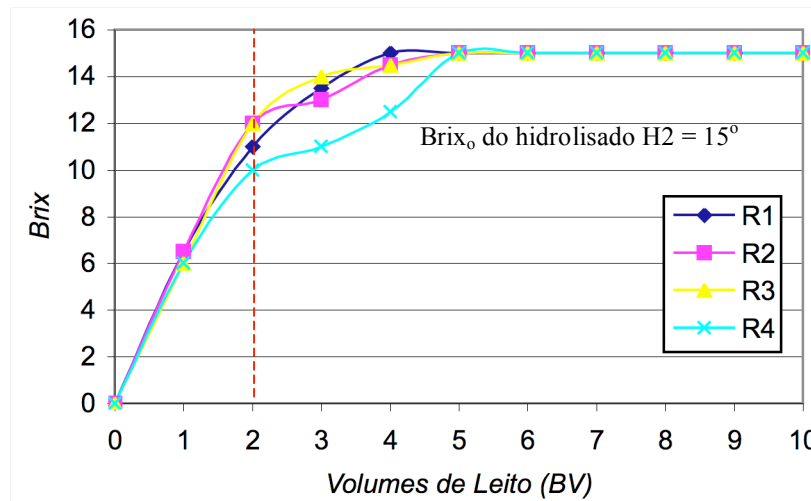


Figura 16 – Variação do Brix durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas analisadas individualmente.

A condutividade, assim como o pH, é um parâmetro de avaliação da atuação das resinas de troca iônica, logo, as alterações observadas são indícios que as resinas estão realizando troca iônica com a solução percolada. Assim, a medida que estes valores se aproximam dos valores originais do hidrolisado H2, determina-se a perda de capacidade de troca iônica da resina, devendo esta então, ser regenerada.

Observa-se na Figura 17 que o comportamento das resinas R1 e R3 foram bem semelhantes. No entanto, a resina R3 deveria trabalhar em um pH mais elevado, já que além de ser aniônica, trabalha na forma OH^- , realizando a troca deste íon por impurezas aniônicas. Então, como foi observado, esta resina não foi eficiente na purificação do hidrolisado H2. Já a resina R1, por ser catiônica fraca e trabalhar na forma Na^+ , apresentou resultados aceitáveis na percolação do hidrolisado H2, mantendo o pH da solução de saída constante.

Observa-se também, que a resina R2 mantém o pH da solução percolada constante, logo troca impurezas aniônica pelo íon Cl^- . Já a resina R4, foi aquela que proporcionou

maiores modificações no pH do hidrolisado percolado, por ser uma resina que trabalha na forma H^+ , provoca diminuição do pH da solução de saída. Através da Figura 17, foi confirmado uma grande diminuição no pH de saída até aproximadamente o sétimo BV, instante em que este parâmetro se eleva mais rapidamente, passando de 4,9 para 6,4.

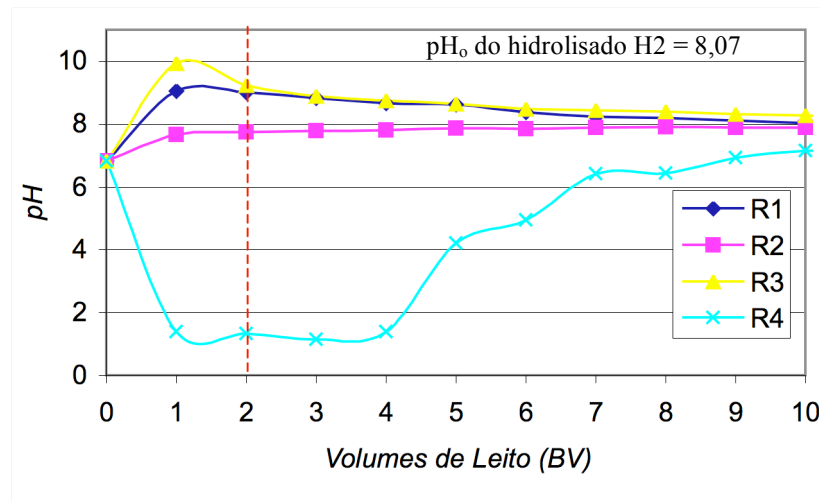


Figura 17 – Variação do pH durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas analisadas individualmente.

Com relação a condutividade observa-se na Figura 18, que as resinas R1 e R2 proporcionam um aumento na condutividade do hidrolisado percolado ocorrendo, gradualmente, uma leve diminuição até o décimo BV, instante em que esta variável aproxima-se da condutividade do hidrolisado H2. Observa-se também que a resina R3 após a rinsagem, mantém esta variável constante durante a percolação, fato que sugere a pouca troca iônica desta resina com o hidrolisado H2. Com relação ao comportamento da resina R4 observa-se a ocorrência de uma troca iônica efetiva no início da percolação mas, diferentemente de R1 e R2, apresenta uma redução rápida e acentuada da condutividade, a qual se iguala ao hidrolisado H2 já no terceiro volume de leito.

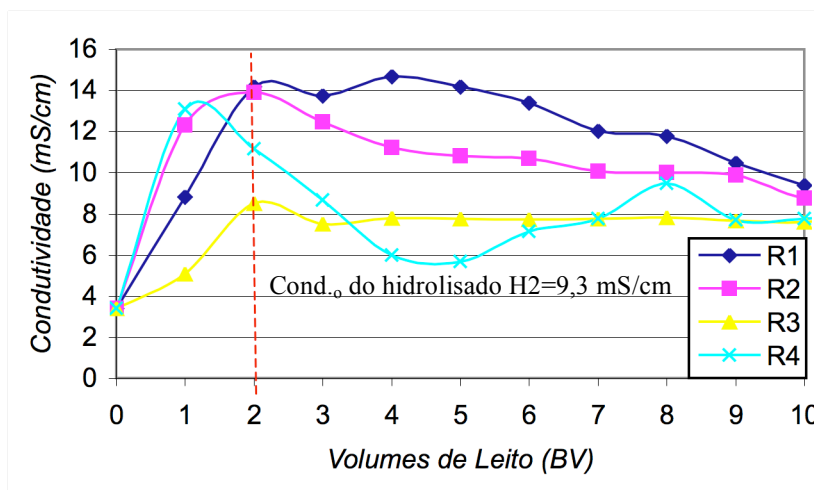


Figura 18 – Variação da condutividade durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas analisadas individualmente.

As remoções dos compostos fenólicos ao longo das percolações também foram determinadas e são apresentadas na Figura 19. Em relação a estes contaminantes, a resina que apresentou os resultados mais satisfatórios foi a R2 (aniônica forte) a qual proporcionou uma redução de 54,21% destes contaminantes até o quinto BV de trabalho. Resultados também interessantes foram apresentados pela resina R3 que conseguiu remover 62,88% de compostos fenólicos, contudo no quinto BV já havia perdido sua capacidade de remoção. Já a resina R4 promoveu a remoção de 46,69% no terceiro BV, mas esta força de remoção foi reduzida já a partir do quarto BV. Finalmente, a resina R1, foi a única que praticamente não alterou o teor de compostos fenólicos presentes no hidrolisado H2, provavelmente devido ao caráter catiônico desta resina, sendo capaz de remover outras impurezas como íons metálicos.

Para concluir, a avaliação desta primeira etapa de trabalho com as resinas de troca iônica, analisou-se a variação do índice de cor do hidrolisado percolado por volume de leito tratado (Tabela 20). As quatro resinas utilizadas a partir do sétimo BV apresentaram uma redução bem satisfatória no índice de cor, proporcionando diminuições de 92,18%, 94,04%, 88,62% e 93,94%, respectivamente.

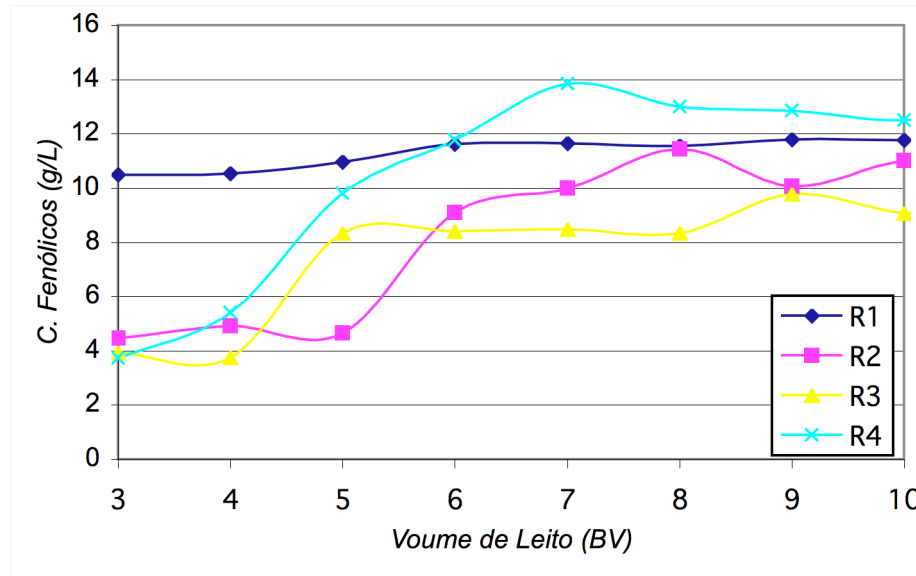


Figura 19 – Variação do teor de compostos fenólicos durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas individualmente.

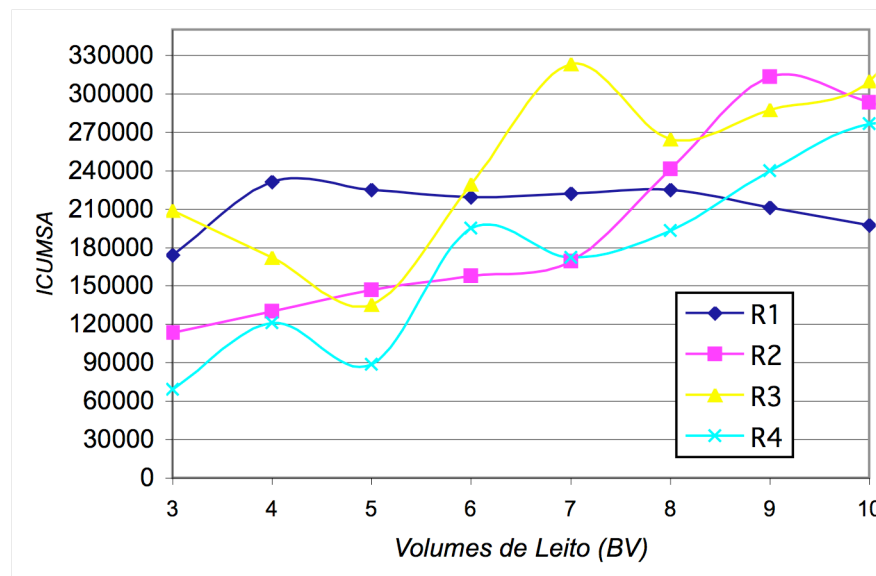


Figura 20 – Variação de cor durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas individualmente.

Após a realização dos testes com as resinas de forma individual e com base nos comportamentos observados, foi iniciada a avaliação do uso seriado das resinas. Cabe ressaltar que a finalidade de investigar o uso das resinas em série é obter um hidrolisado hemicelulósico o mais puro possível e, aproveitar ao máximo a capacidade de trabalho de cada resina de troca iônica.

5.7. Tratamento do Hidrolisado H2 com Resinas de Troca Iônica em Série

Para realizar este item, três combinações distintas das quatro resinas em série foram avaliadas, sendo elas:

Série I – Amberlyst 15 Wet (R4), Amberlite FPA 98 (R2), Amberlite 252 Na (R1) e Amberlite IRA 96 (R3);

Série II – Amberlyst 15 Wet (R4), Amberlite 252 Na (R1), Amberlite IRA 96 (R3) e Amberlite FPA 98 (R2);

Série III – Amberlyst 15 Wet (R4), Amberlite IRA 96 (R3), Amberlite 252 Na (R1) e Amberlite FPA 98 (R2).

A opção em utilizar primeiro a resina R4 (catiônica forte), foi baseada na alta capacidade de troca iônica entre esta resina e o hidrolisado H2, comprovado através da análise das variações de pH por volume de leite (Figura 17). É possível considerar que a capacidade de troca iônica de uma resina finaliza quando o pH da solução percolada se aproxima, ou até se iguala, ao pH da solução de alimentação. Desta forma, a resina R4 apresentou-se mais efetiva na troca iônica, pois foi capaz de atuar significativamente por mais de oito BV. Neste BV o pH aproximou-se a 7,0 valor bastante próximo ao encontrado em H2. Logo, acredita-se que esta resina promoveu uma boa remoção de contaminantes catiônicos presentes em um hidrolisado bastante impuro, o que certamente preservará as demais resinas, aumentando o volume de percolação em geral. Uma vez definido que em todas as séries testadas a primeira resina seria a catiônica forte, e que seu uso reduz o valor do pH do hidrolisado, foi estabelecido que sempre a última resina das séries testadas seria do tipo aniônica. Baseado nestas diretrizes foram definidas as três séries. Na Tabela 27 pode ser observado os volumes de leite que foram utilizados nos tratamentos em série.

Tabela 27 – Volumes de leitos utilizados durante os tratamentos em séries.

Resinas de Troca Iônica	Rinsagem	Tratamento
Amberlite 252 Na (R1)	2 BV	5 BV
Amberlite FPA 98 (R2)	2 BV	5 BV
Amberlite IRA 96 (R3)	2 BV	5 BV
Amberlyst 15 Wet (R4)	2 BV	5 BV

Iniciando os testes em série com a resina R4 foram percolados cinco volumes de leite do hidrolisado H2 comum a todas as séries. Ao final da percolação por esta resina o hidrolisado foi homogeneizado e caracterizado (Tabela 28).

Tabela 28 – Características químicas e físicas dos hidrolisados H2 e percolado pela resina R4.

Parâmetros	Hidrolisado H2	Percolado pela R4
pH	8,07	3,71
Condutividade (mS/cm)	9,28	5,91
°Bx	15,00	14,50
Glicose (g/L)	12,55	12,51
Xilose (g/L)	79,45	78,23
Arabinose (g/L)	11,80	7,02
Acido Acético (g/L)	6,88	3,44
Furfural (g/L)	0,027	0,026
Hidroximetilfurfural (g/L)	0,031	0,030
Compostos Fenólicos (g/L)	10,15	9,57
Cor ICUMSA	2 842 254	1 697 143

Observa-se que, após o quinto BV de tratamento, o hidrolisado passou a possuir um caráter ácido e, tanto o pH quanto a condutividade, demonstraram que esta resina ainda estava realizando troca iônica com a solução de alimentação nos limites escolhidos. Não foram observadas grandes alterações nas concentrações dos açúcares (xilose, glicose e arabinose), confirmando que a etapa de rinsagem foi realizada com eficiência. Contudo, independentemente do caráter ácido da solução final, foi constatado uma redução de 50% do ácido acético do hidrolisado H2 e foi observado também, uma redução no teor de compostos fenólicos e no índice de cor de 5,71% e 40,29%, respectivamente. No entanto, em relação às

concentrações do furfural e do hidroximetilfurfural não foram observadas reduções consideráveis. Com o hidrolisado percolado pela resina R4, deu-se seqüência aos tratamentos com as três combinações das resinas de troca iônica.

5.7.1. Avaliação da Primeira Série de Resinas

Prosseguindo a avaliação do tratamento seqüencial foi dado seguimento à série I percolando o hidrolisado tratado com a resina R4 (catiônica forte) através da resina R2 (aniônica forte), seguindo para a resina R1 (catiônica fraca) e finalizando com a resina R3 (aniônica fraca). Pode-se observar na Tabela 29, as características dos hidrolisado após a percolação por cada resina da série em estudo.

Tabela 29 – Características químicas e físicas dos hidrolisados H2 e percolado pelas resina R4, R2, R1 e R3 (série I).

<i>Parâmetros</i>	<i>Hidrolisado H2</i>	<i>Percolado pela R4</i>	<i>Percolado pela R2</i>	<i>Percolado pela R1</i>	<i>Percolado pela R3</i>
pH	8,07	3,61	3,73	3,83	7,27
Condutividade (mS/cm)	9,28	5,99	8,41	11,18	10,44
°Bx	15,00	14,50	14,00	13,00	12,00
Glicose (g/L)	12,55	12,51	9,21	10,11	10,08
Xilose (g/L)	79,45	78,23	79,35	76,08	78,25
Arabinose (g/L)	11,80	7,02	7,67	6,71	7,31
Acido Acético (g/L)	6,88	3,44	3,56	3,27	3,35
Furfural (g/L)	0,027	0,026	0,025	0,019	0,012
HMF (g/L)	0,031	0,030	0,020	0,017	0,008
C. Fenólicos (g/L)	10,15	9,57	7,26	3,64	0,13
Cor ICUMSA	2 842 254	1 697 143	986 595	630 309	105 338

Observa-se na Tabela 29, que novamente as resinas pouco interagiram com os açúcares presentes no hidrolisado de bagaço de cana, logo não ocorreram alterações significativas nos teores destas substâncias. Pode-se constatar que as resinas R2 e R1 não provocaram alterações bruscas no pH, pois são resinas que trabalham na forma Cl^- e Na^+ , respectivamente, não provocando grandes modificações na energia iônica das soluções. Por outro lado, mudanças importantes foram observadas nos valores das condutividade das

soluções de saída comprovando, assim, a contínua troca iônica destas resinas com as soluções de alimentação. Já a resina R3 promoveu a elevação do pH da solução de alimentação, já que esta resina trabalha na forma OH^- . Nas Figuras 21 à 23 pode ser observadas as variações do pH, condutividade e Brix durante a percolação do hidrolisado em cada resina por volume de leito.

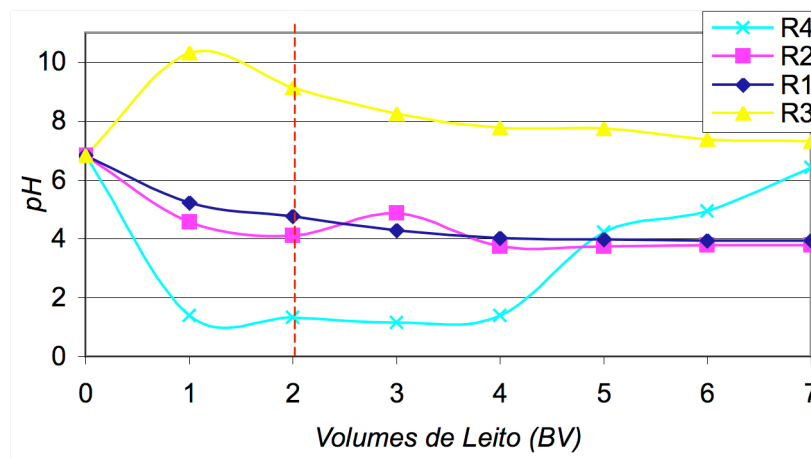


Figura 21 – Variação do pH durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série I.

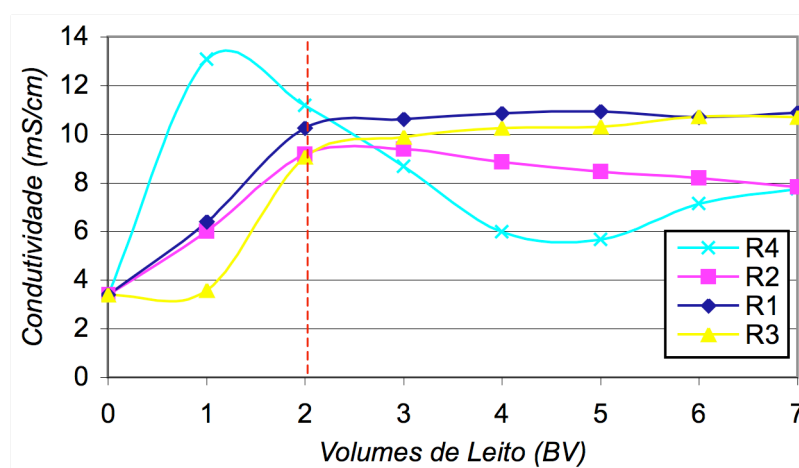


Figura 22 – Variação da condutividade durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série I.

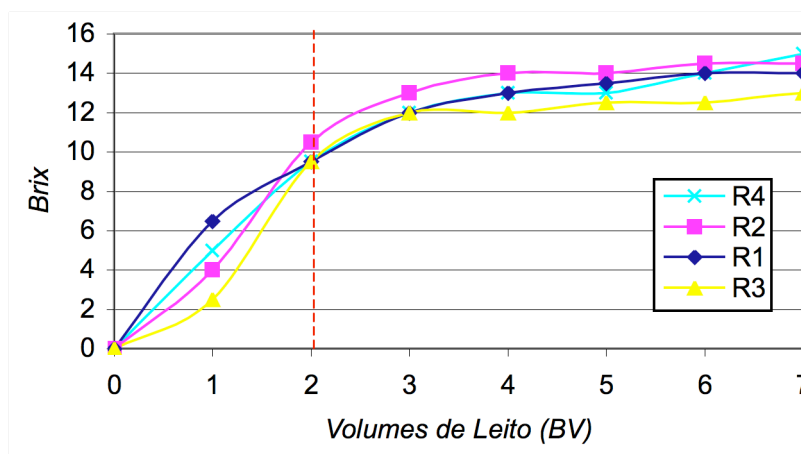


Figura 23 – Variação do Brix durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série I.

Ainda analisando os resultados apresentados na Tabela 29 é possível observar que esta série de tratamento por resinas foi responsável por uma redução significativa nas concentrações de furfural e hidroximetilfurfural, finalizando o tratamento do hidrolisado com 0,012 g/L e 0,008 g/L, respectivamente, representando remoção de 55,56% em furfural e 74,19% em hidroximetilfurfural. Foram também observadas diminuições significativas nos teores de compostos fenólicos (98,72%) e no índice de cor (96,29%). Os valores de compostos fenólicos por volume de leite para cada resina são apresentados na Figura 24.

Observa-se que as concentrações de compostos fenólicos ao longo dos tratamentos por cada resina mantiveram-se numa faixa estreita de variação, exceto durante a percolação pela resina R4. De todas as resinas estudadas, tanto a R1 quanto a R3, mostraram-se as mais eficientes na redução destes contaminantes, sendo capazes de remover 35,67% e 34,58% destes compostos oriundo da resina anterior, respectivamente, fornecendo ao final um hidrolisado com 0,13 g/L em compostos fenólicos.

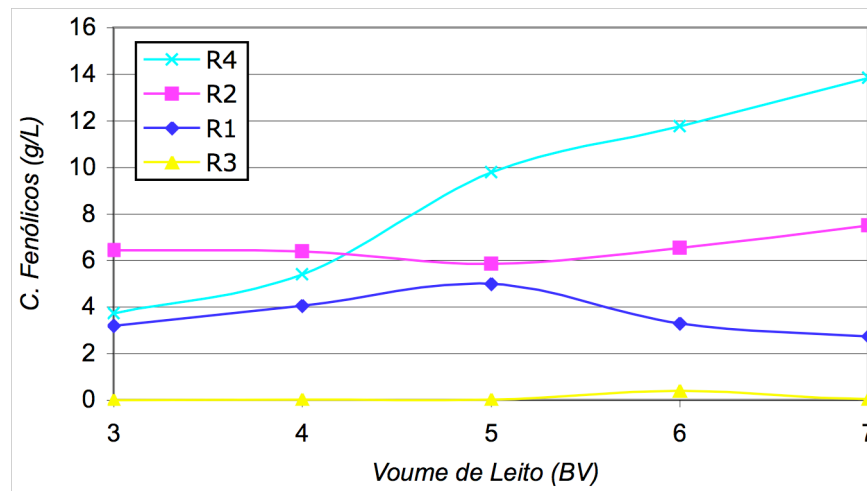


Figura 24 – Variações de compostos fenólicos por BV durante o tratamento do hidrolisado H2 na série I.

Na Figura 25 é possível observar as reduções promovidas nos teores de compostos fenólicos ao final das percolações do hidrolisado pelas resinas em estudo, comparados com o valor inicial do hidrolisado H2 cuja concentração de compostos fenólicos é igual a 10,15 g/L.

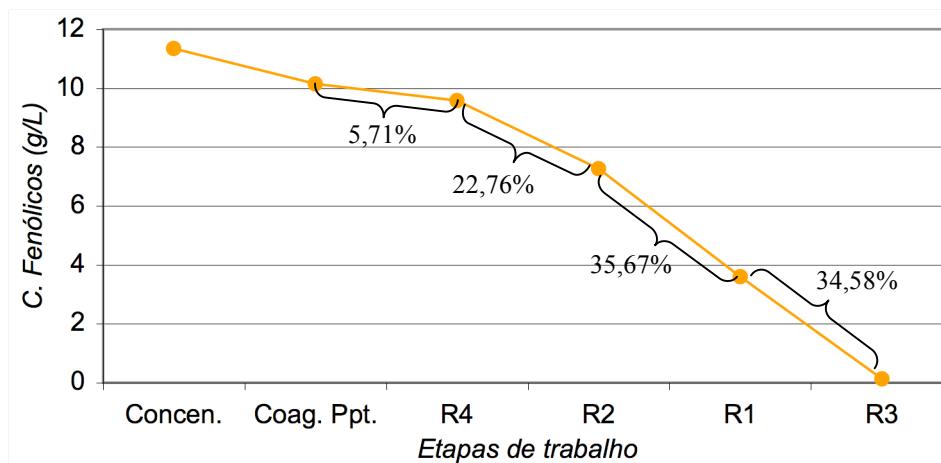


Figura 25 – Variação de compostos fenólicos por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série I.

Na Figura 26, é possível observar as reduções relativas de compostos fenólicos em cada etapa de tratamento pela série I. Comparou-se também neste caso o hidrolisado obtido ao final de cada etapa como o hidrolisado concentrado (hidrolisado H1). Com a etapa de

coagulação e precipitação estes contaminantes foram reduzidos modestamente, resultando ao final em um hidrolisado com 92,33% destes compostos. A seguir estes contaminantes foram reduzidos para 84,39% ao se utilizar a resina R4, 64,02% ao percolar pela R2, 32,10% após a resina R1 e, finalmente com a percolação pela resina R3, estes contaminantes diminuíram a 1,15% do valor original.

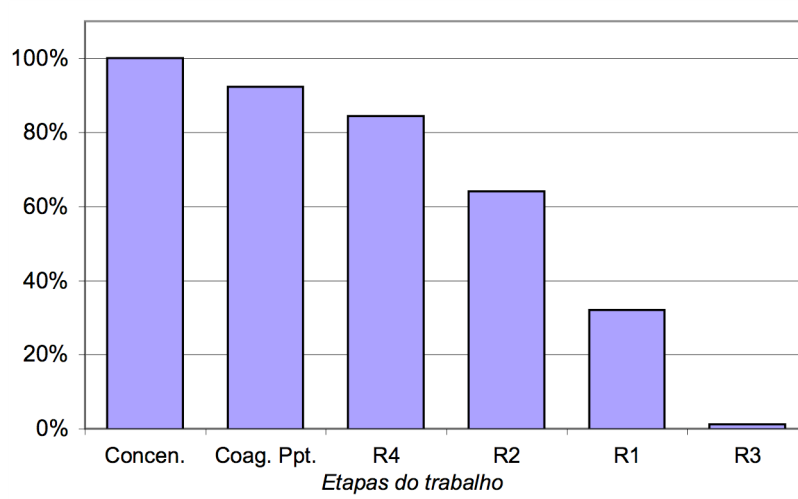


Figura 26 – Redução relativa de compostos fenólicos ao longo do tratamento da série I.

Com relação ao índice de cor, foi possível observar uma grande diminuição ao final da série em análise (Figura 27).

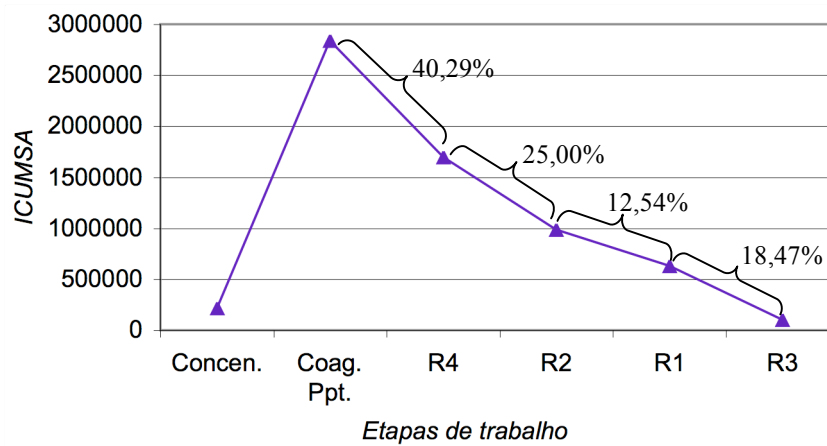


Figura 27 – Variação do índice de cor por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série I.

Inicialmente, apenas com a percolação do hidrolisado H2 pela primeira resina (R4), observou-se uma diminuição significativa de 40,29% na cor, sendo esta resina responsável pela maior remoção relativa deste índice. Todas as demais resinas que foram utilizadas também promoveram reduções na cor de maneira bem acentuada, e a percolação do hidrolisado pelas resinas R2, R1 e R3 promoveram reduções de 25,00%, 12,54% e 18,47% respectivamente.

5.7.2. Avaliação da Segunda Série de Resinas

De maneira semelhante ao desenvolvido na série I, para a série II a seqüência de tratamento foi iniciada por percolação do hidrolisado através da resina R4 (catiônica forte). A seguir o hidrolisado foi tratado por uma resina catiônica fraca (R1), seguindo para resina R3 (aniônica fraca) e finalizando com a resina R2 (aniônica forte). Os resultados obtidos com o uso da série II são mostrados na Tabela 30.

Tabela 30 – Características químicas e físicas dos hidrolisados H2 e percolado pelas resina R4, R1, R3 e R2 (série II).

<i>Parâmetros</i>	<i>Hidrolisado H2</i>	<i>Percolado pela R4</i>	<i>Percolado pela R1</i>	<i>Percolado pela R3</i>	<i>Percolado pela R2</i>
pH	8,07	3,61	4,02	7,28	6,76
Condutividade (mS/cm)	9,28	5,99	9,70	9,43	10,70
°Bx	15,00	14,50	13,50	13,00	12,00
Glicose (g/L)	12,55	12,51	12,06	11,34	11,04
Xilose (g/L)	79,45	78,23	79,43	75,75	73,1
Arabinose (g/L)	11,80	7,02	6,98	6,77	6,56
Acido Acético (g/L)	6,88	3,44	3,64	3,32	3,52
Furfural (g/L)	0,027	0,026	0,030	0,020	0,019
Hidroximetilfurfural (g/L)	0,031	0,030	0,012	0,010	0,005
C. Fenólicos (g/L)	10,15	9,57	6,55	1,30	0,88
Cor ICUMSA	2 842 254	1 697 143	1142 422	215 436	112 530

As alterações tanto no pH, na condutividade, quanto no Brix por resina e por BV podem ser observadas nas Figuras 28 à 30.

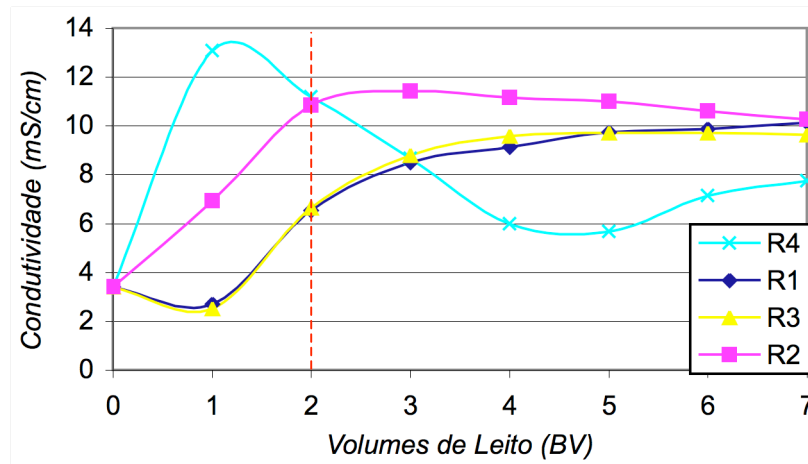


Figura 28 – Variação do pH durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série II.

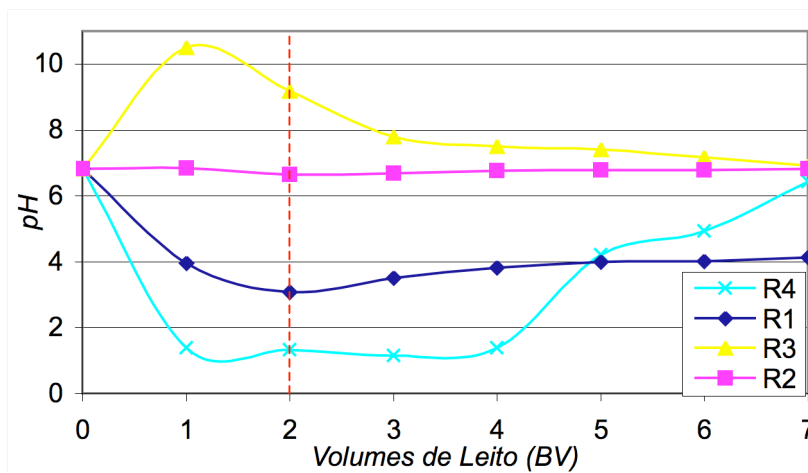


Figura 29 – Variação da condutividade durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série II.

Como ocorrido na série I, não foram observadas interações entre as resinas e os açúcares presentes no hidrolisado, pois não ocorreram alterações significativas nas concentrações destas substâncias. Pequenas variações do Brix são explicadas devido a remoção de parte das impurezas solúveis. Observa-se também que as resinas R1 e R2 não provocaram alterações bruscas no pH, no entanto, assim como foi observado na série I,

promoveram variações nas condutividades das soluções de saída, certamente devido a ocorrência de trocas iônicas destas resinas com as soluções de alimentação. Novamente, o uso de uma resina aniônica ao final da série mostrou-se interessante, pois esta promoveu a elevação do pH final da solução de alimentação aproximando da idealidade.

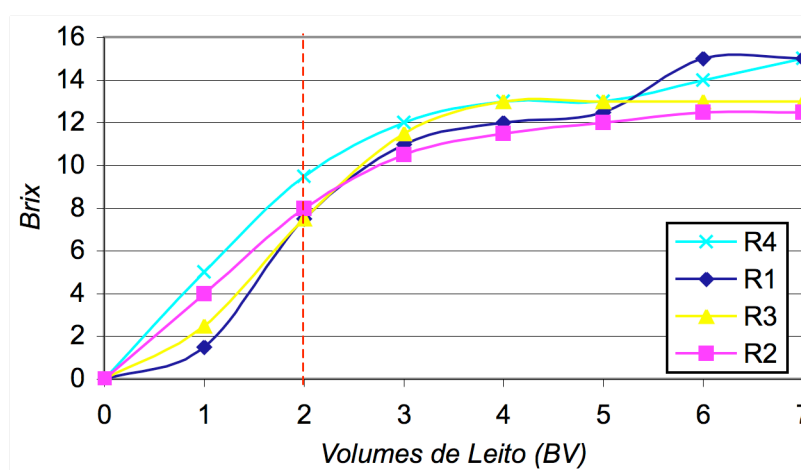


Figura 30 – Variação do Brix durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série II.

Assim como na série I, foram constatadas reduções nos teores de furfural e hidroximetilfurfural apresentando teores finais de 0,019 g/L e 0,005 g/L, respectivamente. Tais reduções obedeceram as mesmas variações observadas na série anterior. Constatou-se também reduções importantes nas concentrações de compostos fenólicos e do índice de cor de 91,33% e 96,04%, respectivamente, e as variações destas grandezas podem ser observadas nas Figuras 31 a 34.

Comportamentos similares foram observadas com relação as variações na concentrações de compostos fenólicos entre as séries I e II, durante a percolação do hidrolisado por BV em cada resina (Figura 31). Através deste gráfico é possível observar que as três resinas utilizadas reduziram os teores destes compostos após a percolação, e mantiveram estas concentrações numa faixa estreita de variação durante a corrida por cada resina, com exceção da resina R4, como foi verificado anteriormente. Fica evidente também a eficiência da resina R3 em remover compostos fenólicos, no entanto, como esta resina foi a

terceira a ser utilizada (e não a última, como na série I), esta forneceu um hidrolisado com um teor de 1,30 g/L partindo de um hidrolisado menos purificado com 6,55 g/L de compostos fenólicos.

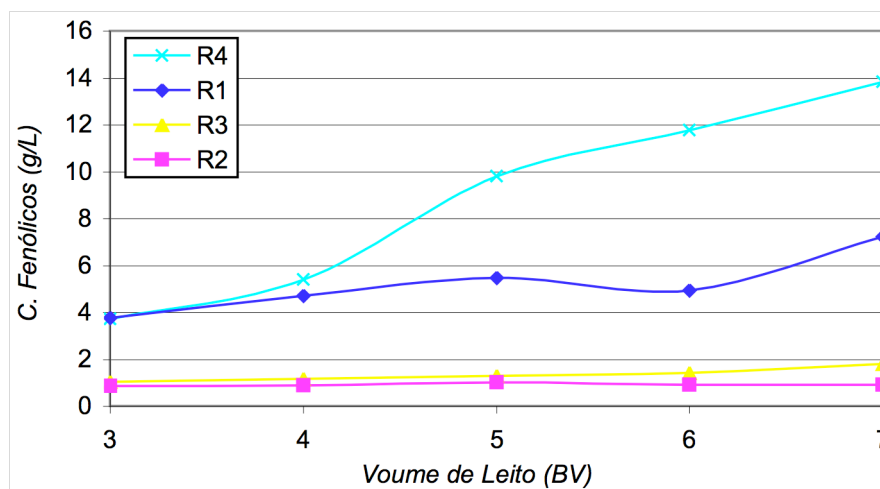


Figura 31 – Variações de compostos fenólicos por BV durante o tratamento do hidrolisado H2 na série II.

Através da Figura 32, pode-se observar os efetivos percentuais de redução dos compostos fenólicos em cada etapa de tratamento da série II, tendo como ponto de partida o hidrolisado H2 com uma concentração de 10,15 g/L deste contaminante. Neste caso, observa-se que a resina R3 é a maior responsável pela redução destes contaminantes, removendo 51,72% dos compostos fenólicos, no entanto, foi constatado um menor nível de remoção destas substâncias ao final do tratamento, em comparação com a série I. Foi possível observar também, que nesta série de tratamento a resina R2 apresentou reduzida eficiência na remoção de compostos fenólicos, sendo capaz de remover apenas 4,14% destes contaminantes na última etapa.

Assim ao comparar a redução relativa dos compostos fenólicos entre as séries I e II (Figuras 26 e 33, respectivamente) fica claro que, apesar da R3 na série II ter sido responsável pela remoção de 51,72% dos compostos fenólicos, enquanto que na série I removeu 34,58%

(50% mais eficiente), no resultado global a série I foi mais efetiva, fornecendo um hidrolisado com apenas 0,13 g/L em compostos fenólicos.

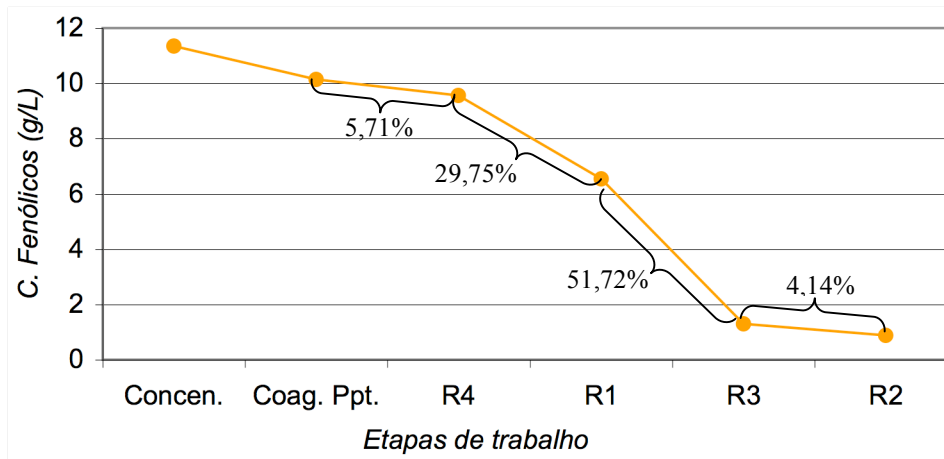


Figura 32 – Variação de compostos fenólicos por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série II.

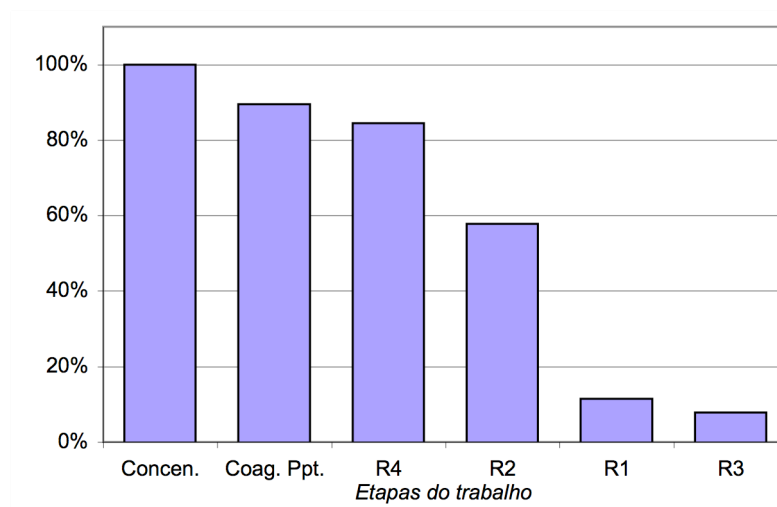


Figura 33 – Redução relativa de compostos fenólicos ao longo do tratamento da série II.

Comparando os resultados da variação do índice de cor entre as séries I (Figura 27) e II (Figura 34), verificou-se que a resina R4 em ambos os casos foi mais efetiva quanto a redução deste índice. A seguir, na série II a resina R3 a mais atuante na remoção de compostos fenólicos, também foi muito significativa na diminuição do índice de cor, sendo responsável em reduzir 32,61% desta grandeza, valor bem superior ao alcançado por esta

mesma resina na série I (18,47%). Contudo, em uma análise global em relação ao índice de cor ambas as séries foram muito efetivas na redução deste índice, conseguindo reduzir em 96,04% e 96,20%, respectivamente.

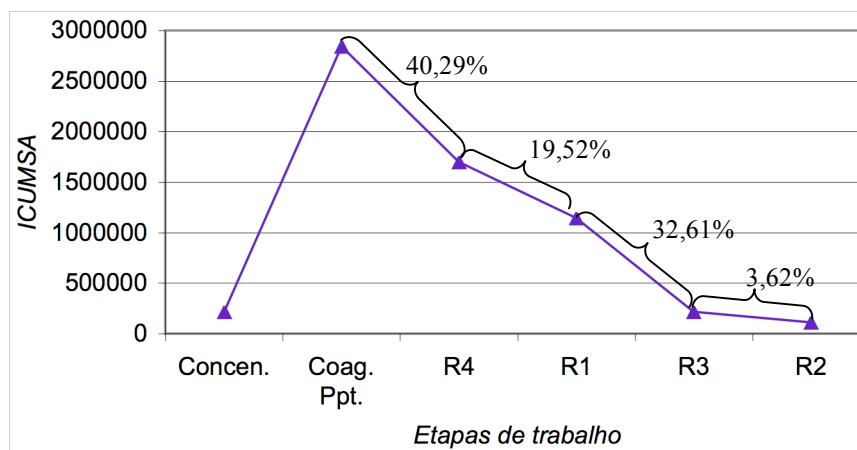


Figura 34 – Variação do índice de cor por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série II.

5.7.3. Avaliação da Terceira Série de Resinas

Como nas demais séries avaliadas, a continuidade do tratamento com a série III ocorreu a partir do hidrolisado concentrado, que foi percolado pela resina R4 (catiônica forte), seguindo para a resina R3 (aniônica fraca), desta para R1 (catiônica fraca) e finalizando com a resina R2 (aniônica forte). As características destes hidrolisados após o término de cada percolação podem ser observados na Tabela 31.

Semelhante às séries anteriormente avaliadas, não foram observadas grandes variações nas concentrações dos açúcares presentes no hidrolisado hemicelulósico. Observa-se também na Tabela 31 que as resinas R1 e R2 não provocaram variações bruscas no pH como nas séries anteriores, fornecendo ao final da série um hidrolisado com pH levemente ácido. No entanto, estas resinas promoveram modificações nas condutividades das soluções de saída. As alterações tanto no pH, na condutividade, quanto no Brix em cada resina por volume de leite podem ser observadas nas Figuras 35 à 37.

Tabela 31 – Características químicas e físicas dos hidrolisados H2 e percolado pelas resina R4, R3, R1 e R2 (série III).

<i>Parâmetros</i>	<i>Hidrolisado H2</i>	<i>Percolado pela R4</i>	<i>Percolado pela R3</i>	<i>Percolado pela R1</i>	<i>Percolado pela R2</i>
pH	8,07	3,61	6,37	6,82	6,39
Condutividade (mS/cm)	9,28	5,99	5,05	7,73	8,97
°Bx	15,00	14,50	13,50	13,00	11,50
Glicose (g/L)	12,55	12,51	12,74	11,86	11,18
Xilose (g/L)	79,45	78,23	77,20	76,83	72,30
Arabinose (g/L)	11,80	7,02	7,07	7,23	7,41
Acido Acético (g/L)	6,88	3,44	3,56	3,32	3,07
Furfural (g/L)	0,027	0,026	0,026	0,022	0,016
Hidroximetilfurfural (g/L)	0,031	0,030	0,013	0,011	0,008
C. Fenólicos (g/L)	10,15	9,57	4,04	2,40	1,21
Cor ICUMSA	2 842 254	1 697 143	948 786	632 211	175 101

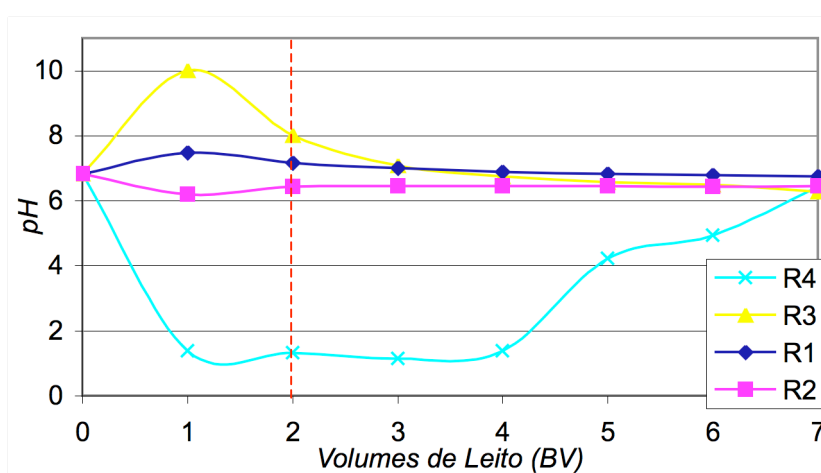


Figura 35 – Variação do pH durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série III.

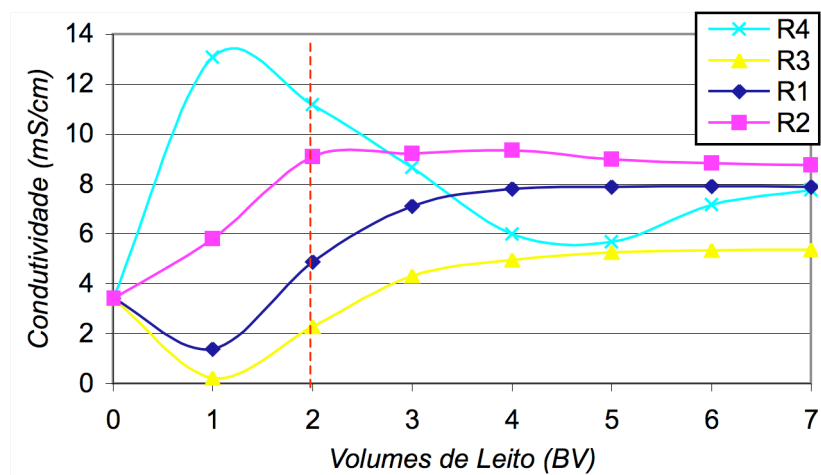


Figura 36 – Variação da condutividade durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série III.

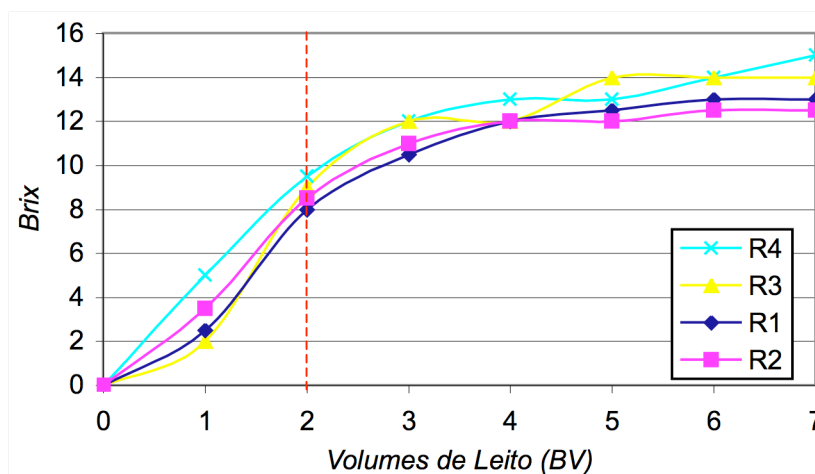


Figura 37 – Variação do Brix durante o tratamento do hidrolisado H2 com as resinas combinadas na série III.

De maneira semelhante às séries I e II, a série III também apresentou diminuições nos teores de furfural (0,016 g/L) e hidroximetilfurfural (0,008 g/L). Tais reduções seguiram o mesmo comportamento observados nas séries anteriores. Para a série III foram constatadas diminuições totais nas concentrações de compostos fenólicos e no índice de cor de 88,08% e 93,84%, respectivamente, valores inferiores aos apresentados pelas séries I e II.

Através da análise da percolação por cada resina e por cada volume de leito (Figura 38) pode-se observar que, como nas séries anteriores, as concentrações dos compostos fenólicos mantiveram-se numa faixa estreita de variação.

Verifica-se também nesta série a redução mais significativa dos compostos fenólicos promovida pela percolação do hidrolisado através da resina R3, que sozinha foi responsável em reduzir 54,48% dos compostos fenólicos presentes, como pode ser observado nas Figuras 39 e 40, que apresenta os percentuais de remoção destes compostos, tendo como ponto de partida o hidrolisado concentrado H2. Contudo, a resina R1 mesmo iniciando com hidrolisado menos contaminado, não foi efetiva para superar sua atuação nas séries I e II. Já a resina R2 como última da série atuou melhor que na série II, mas não o suficiente para fornecer um hidrolisado final mais purificado. Nas Figuras 39 e 40 são apresentadas os percentuais de reduções dos teores de compostos fenólicos ao final de cada tratamento durante a série III.

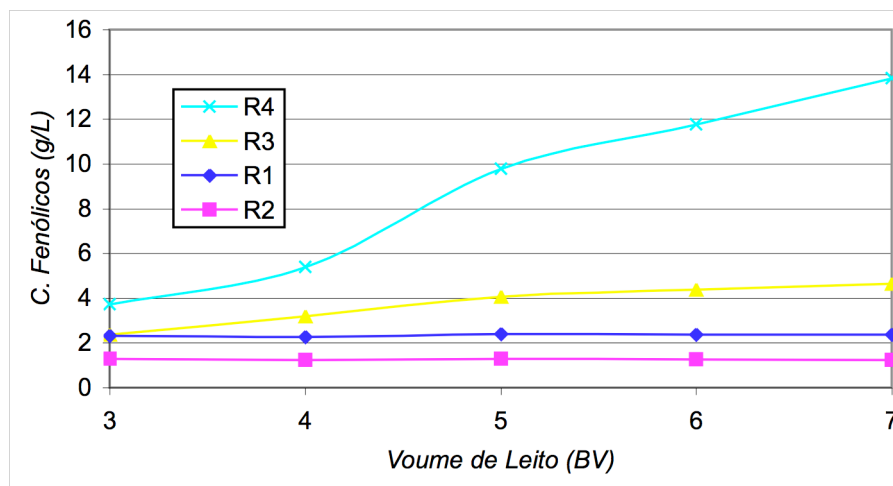


Figura 38 – Variações de compostos fenólicos por BV durante o tratamento do hidrolisado H2 na série III.

Em resumo, considerando a remoção de compostos fenólicos, a série mais eficiente foi a I, o que permite afirmar que as resinas catiônicas em seqüência foram menos eficientes (série II) do que quando usadas após as remoções maiores de ânions promovida pelas resinas aniônicas, e que o uso da resina R3 (aniônica na forma OH⁻) ao final da purificação possibilita uma redução maior destes contaminantes, como pôde ser observado na série I (98,72%).

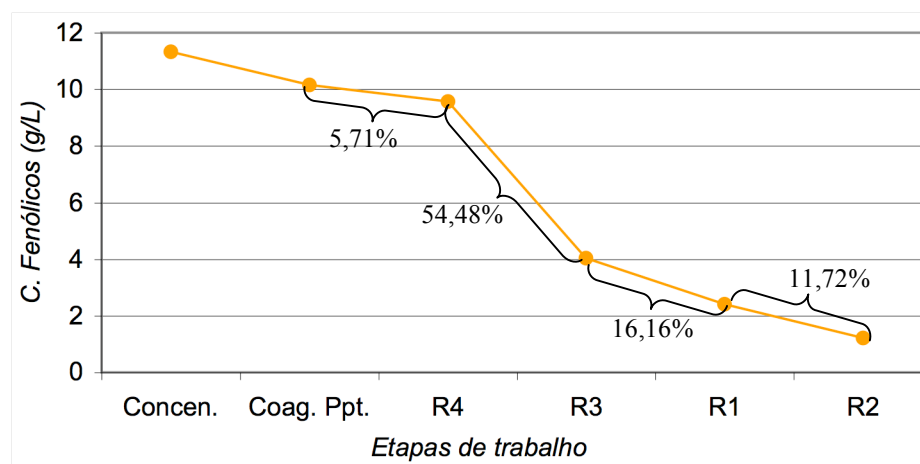


Figura 39 – Variação de compostos fenólicos por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série III.

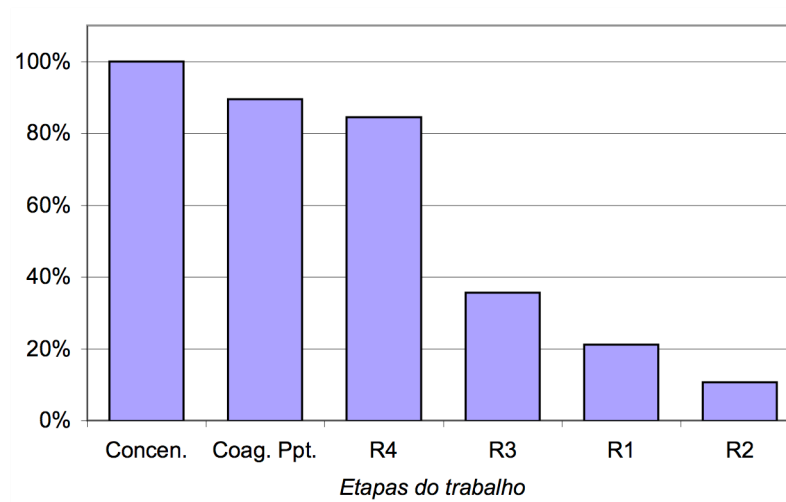


Figura 40 – Redução relativa de compostos fenólicos ao longo do tratamento da série III.

As variações no índice de cor em cada etapa de tratamento da série III podem ser observadas na Figura 41. A resina R3 (aniônica fraca) foi aquela que obteve os maiores índices de redução de cor (26,32% nesta série). No entanto, estes níveis ainda são inferiores aos obtidos por esta mesma resina na série II (32,61%). Com estes resultados apresentados pela série I e III, pode-se concluir que os compostos cromóforos responsáveis pela elevação do índice de cor são em sua maioria aniônicos, já que as duas resinas aniônicas apresentaram elevados índices de redução de cor. Conclui-se também que a série I, em relação a redução do índice de cor, apresentou-se mais eficiente em comparação as séries II e III atingindo uma redução de 96,28%.

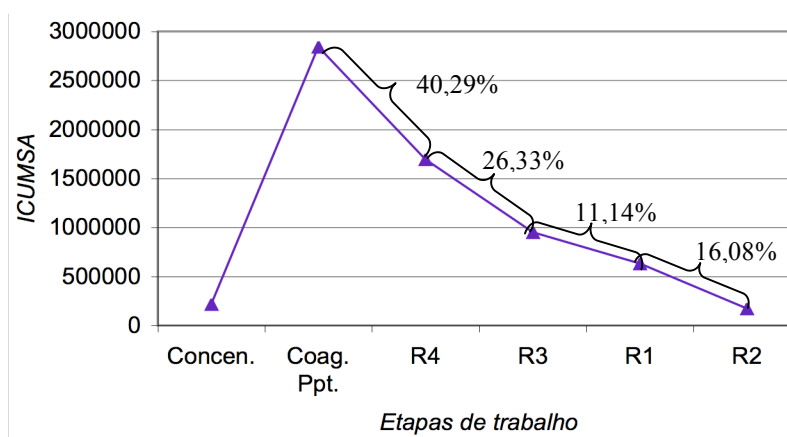


Figura 41 – Variação do índice de cor por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H2 na série III.

Após o término das três avaliações, é possível afirmar que a série I forneceu os resultados mais satisfatórios na remoção de impurezas do hidrolisado H2, definindo a melhor seqüência em relação a eficiência de trabalho de cada resina.

5.8. Tratamento do Hidrolisado H2 por Membranas

Dentro do contexto inicialmente previsto, o hidrolisado tratado pelo processo de coagulação e precipitação foi submetido ao processo de separação por membranas. Foram avaliadas dois tipos de membranas, uma de microfiltração e outra de ultrafiltração, de três maneiras distintas, como descrito no item 4.6 (Figura 8). Ambas as membranas são do tipo fibra oca, sendo a microfiltração de 0,45 μm em polieteremida (PEI) e a de ultrafiltração de 100 kDaltons em polietersulfona (PES).

Como parte importante da caracterização de membranas a permeabilidades hidráulica destas foram determinadas antes da realização dos experimentos de permeação do hidrolisado. Neste procedimento foi utilizado água destilada e microfiltrada, a diferentes pressões de trabalho, sendo que, primeiramente as membranas foram compactadas por 15 minutos a pressão de 1 bar. Em seguida, a permeabilidade do hidrolisado H2 foi determinada segundo a mesma metodologia anterior, exceto a compactação, a fim de se identificar o valor do fluxo limite. Este fluxo é caracterizado pelo valor de pressão ideal (ΔP) para condução das filtrações. Este valor indica o limite a partir do qual o aumento da pressão tende a promover a perda de proporcionalidade entre ΔP e o fluxo permeado. Os resultados de tais ensaios podem ser observados nas Figuras 42 e 43.

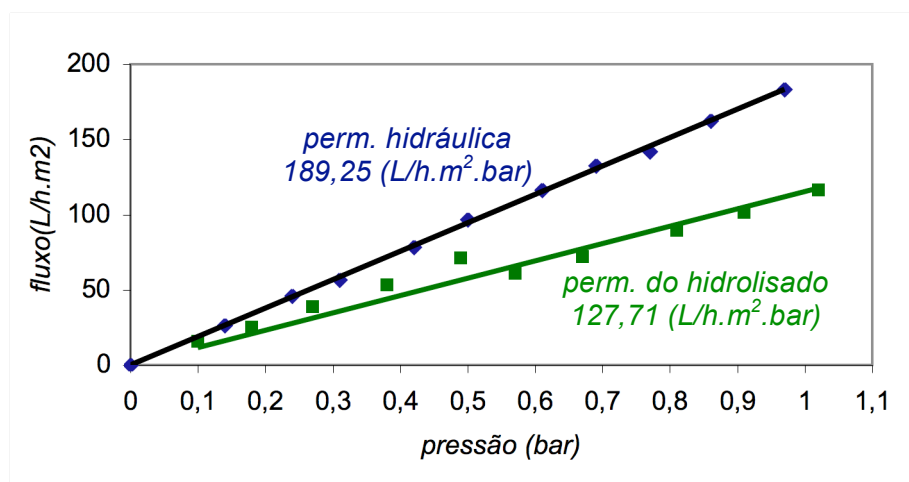


Figura 42 – Permeabilidade hidráulica e do hidrolisado H2 na membrana de microfiltração.

Através da análise da Figura 42 observa-se que a permeabilidade do hidrolisado em comparação com a permeabilidade hidráulica para a membrana de microfiltração, apresentou uma redução de 32,52%. Observa-se nos resultados de permeação do hidrolisado que o valor do fluxo limite está próximo a 60 L/h.m² pois, a partir deste, observa-se mais claramente a perda de proporcionalidade entre pressão e fluxo permeado. Com isso estabeleceu-se como pressão de trabalho ideal o valor de 0,5 bar que foi utilizada nos experimentos subsequentes.

Para a membrana de ultrafiltração as permeabilidades podem ser observadas na Figura 43. É possível notar que nesta membrana a diferença entre a permeabilidade hidráulica e a permeabilidade do hidrolisado foi muito mais acentuada apresentando uma redução de 67,77%. Isto ocorre provavelmente devido a característica da membrana de ultrafiltração em reter impurezas contidas no hidrolisado H2 em maior quantidade e de tamanho próximo às dimensões de seus poros, caracterizando uma incrustação (*fouling*) bastante acentuada. Além disso, visando padronizar uma condição operacional para este processo, adotou-se como fluxo limite o valor de 14,70 L/h.m² estabelecendo uma pressão de trabalho de 1,5 bar.

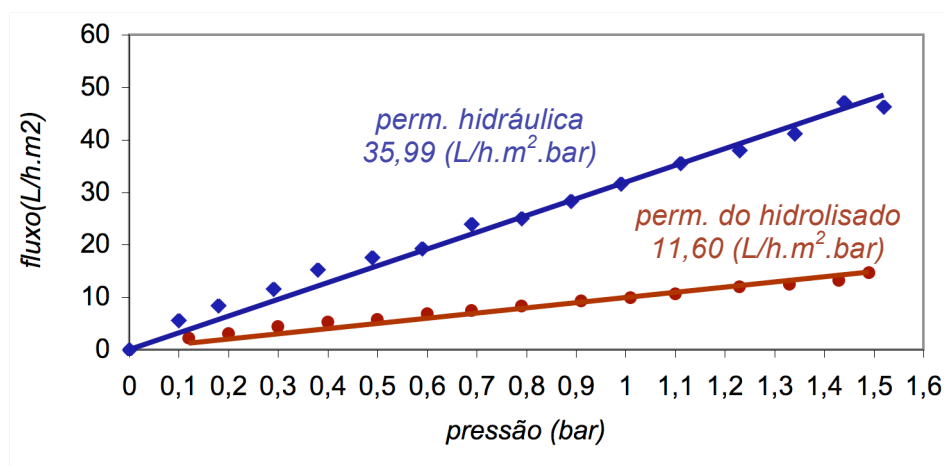


Figura 43 – Permeabilidade hidráulica e do hidrolisado H2 na membrana de ultrafiltração.

Após a realização dos experimentos acima, e definidas as condições operacionais, iniciaram-se os testes de permeação do hidrolisado visando determinar as características das frações envolvidas. Conforme programado permeou-se pela membrana de microfiltração aproximadamente dois litros de hidrolisado H2 acompanhando as eventuais perdas de fluxos (Figura 44). Esta quantidade foi estabelecida afim de obter um volume satisfatório de hidrolisado permeado possibilitando a realização das análises e, também, a permeação deste hidrolisado pela membrana de ultrafiltração, viabilizando o segundo teste com membranas (MF + UF).

Como pode ser observado na Figura 44, o fluxo de permeação do hidrolisado H2 pela membrana de microfiltração foi muito rápido, apresentando um fluxo médio de permeado de 125,41 L/h.m².

As características do permeado e do concentrado após a microfiltração podem ser observadas na Tabela 32. Pode-se constatar também que o processo de microfiltração não foi capaz de promover alterações significativas nas características do hidrolisado H2. Como destaque, observa-se que a microfiltração removeu apenas 13,69% dos compostos fenólicos e 20,19% de compostos cromóforos.

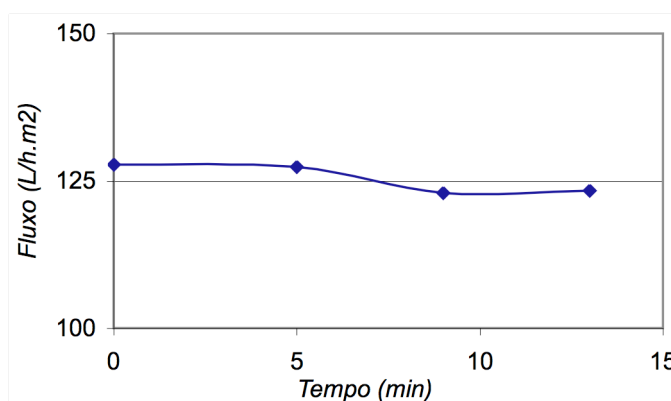


Figura 44 – Permeação do hidrolisado H2 pela membrana de microfiltração.

Tabela 32 – Caracterização dos hidrolisados permeado e concentrado após o processo de microfiltração.

<i>Parâmetros</i>	<i>Hidr. H2</i>	<i>Permeado 1</i>	<i>Concentrado 1</i>
<i>Glicose (g/L)</i>	12,55	12,48	13,78
<i>Xilose (g/L)</i>	79,45	77,20	82,91
<i>Arab. (g/L)</i>	11,80	9,28	9,85
<i>Ac. Acético (g/L)</i>	6,88	5,98	6,28
<i>Furfural (g/L)</i>	0,027	0,031	0,048
<i>HMF (g/L)</i>	0,031	0,032	0,098
<i>C.Fenólicos (g/L)</i>	10,15	8,76	8,86
<i>Cor ICUMSA</i>	2 842 254	2 268 507	2 559 793

O balanço de massa desta etapa do tratamento com membranas indicou a recuperação de 98,82% da alimentação no permeado (Figura 45).

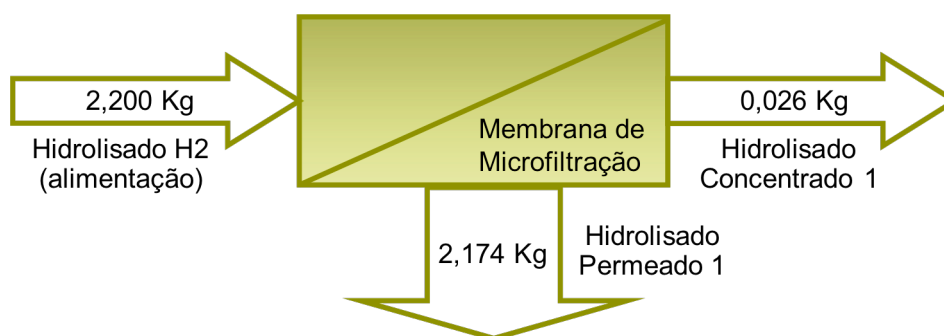


Figura 45 – Representação do processo de separação por membranas e balanço de massa da membrana de microfiltração.

Dando continuidade aos testes com membranas utilizou-se o hidrolisado permeado 1 como alimentação do módulo de ultrafiltração e o perfil temporal desta permeação é mostrado na Figura 46. Neste caso, após 2 horas de permeação a perda de fluxo foi de 53,75%.

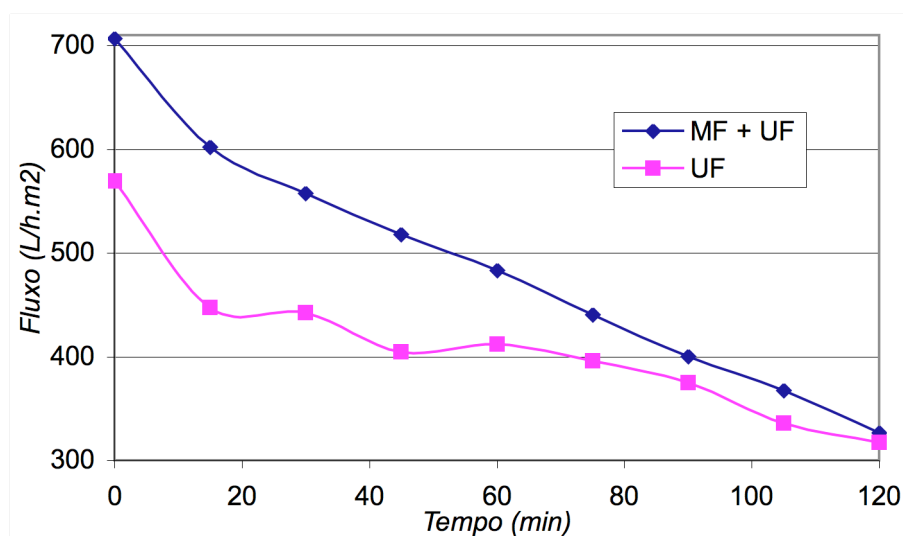


Figura 46 – Comparação entre as permeações dos hidrolisados H2 e permeado 1 pelo módulo de membrana de ultrafiltração.

O balanço de massa do uso combinado de microfiltração e ultrafiltração indicou uma recuperação final de 89,01% (Figura 47).

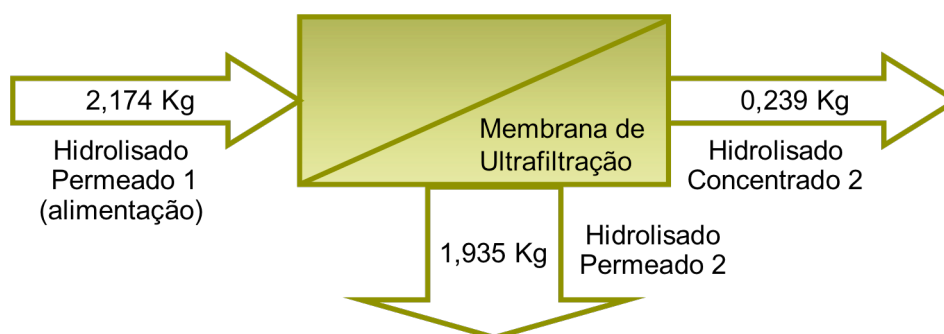


Figura 47 – Representação do processo de separação por membranas e balanço de massa da membrana de ultrafiltração.

Com relação a composição do permeado 2, merece destaque os valores de compostos fenólicos e cromóforos (Tabela 33) os demais constituintes analisado não apresentaram mudanças significantes, como era de se esperar pois, por definição, ultrafiltração remove partículas de diferentes tamanhos e não solúveis. Comparando ao permeado 1 esta etapa de

ultrafiltração reduziu em 22,60% os compostos fenólicos e a combinação total (MF + UF) foi responsável pela redução de 33,20% destes contaminantes. A redução da cor, considerando apenas a ultrafiltração, foi de 43,19% aumentando para 54,66% pelo uso combinado da microfiltração e a ultrafiltração.

Tabela 33 – Caracterização dos hidrolisados permeado e concentrado após o uso combinado da microfiltração e da ultrafiltração.

Parâmetros	Hidr. H2	Permeado 2	Concentrado 2
Glicose (g/L)	12,55	11,62	13,56
Xilose (g/L)	79,45	78,23	83,38
Arab. (g/L)	11,80	8,71	9,94
Ac. Acético (g/L)	6,88	5,87	6,27
Furfural (g/L)	0,027	0,032	0,044
HMF (g/L)	0,031	0,029	0,087
C.Fenólicos (g/L)	10,15	6,78	24,31
Cor ICUMSA	2 842 254	1 288 724	5 808 084

Os testes com os módulos de membrana deram seqüência com a permeação do hidrolisado H2 somente pela membrana de ultrafiltração, sem o uso da microfiltração. Como pode ser observado na Figura 46, para esta configuração o fluxo do permeado em função do tempo indicou um valor inicial 19,45% inferior em comparação ao uso da ultrafiltração logo após a microfiltração. Isto ocorreu provavelmente devido a dois fatores. Um desses fatores está relacionado com a formação de incrustações (“*fouling*”) de maior extensão, já que permeou-se por esta membrana de ultrafiltração um hidrolisado com maior carga de impurezas particuladas. O segundo fator pode estar condicionado a existência de um “*fouling*” residual oriundo de testes anteriores, uma vez que o módulo de ultrafiltração é o mesmo, e que apenas foi submetido a um processo de limpeza com água microfiltrada. No entanto, observa-se que ao longo do tempo os fluxos de permeado concorrem a um mesmo valor, o que ocorreu após 120 minutos de operação.

Com relação a qualidade do permeado 3, o uso da ultrafiltração direta foi tão significativa quanto ao método anterior. Apenas com o uso direto de um sistema com estas

membranas foi possível obter uma redução de 33,00% de compostos fenólicos e 54,29% no índice de cor (Tabela 34).

Tabela 34 – Caracterização dos hidrolisados permeado e concentrado após o processo de ultrafiltração.

<i>Parâmetros</i>	<i>Hidr. H2</i>	<i>Permeado 3</i>	<i>Concentrado 3</i>
<i>Glicose (g/L)</i>	12,55	12,21	13,98
<i>Xilose (g/L)</i>	79,45	78,89	83,43
<i>Arab. (g/L)</i>	11,80	9,37	10,06
<i>Ac. Acético (g/L)</i>	6,88	6,02	6,21
<i>Furfural (g/L)</i>	0,027	0,029	0,042
<i>HMF (g/L)</i>	0,031	0,027	0,084
<i>C.Fenólicos (g/L)</i>	10,15	6,80	24,38
<i>Cor ICUMSA</i>	2 842 254	1 299 059	5 797 748

Desta forma, como o processo de microfiltração não forneceu resultados satisfatórios, e o processo de micro e ultrafiltração consecutivos não apresentou diferenças significativas em relação ao uso isolado da ultrafiltração, definiu-se como condição ótima dos processos com membranas o uso individualizado da ultrafiltração. Com esta escolha é possível explorar os benefícios de purificação por esta membrana em uma única etapa com um fluxo permeado mínimo de 317 L/h.m² mesmo após 120 minutos de operação.

Contudo, visando ainda avaliar a capacidade operacional da membrana de ultrafiltração em uso, testes de recuperação de fluxo após repetidas lavagens foram realizados em 17 horas de operação (Figura 48). As linhas vermelhas representam as lavagens realizadas com água microfiltrada no mesmo sentido da alimentação.

Ao todo foram realizadas 10 ciclos de lavagens durante toda a permeação do hidrolisado H2 pela membrana de ultrafiltração, com a finalidade de avaliar melhor a performance deste módulo de membranas. O final de cada ciclo era definido a partir do momento em que o fluxo permeado atingia um valor inferior a 300 L/h.m². A partir da 7^a lavagem a recuperação do fluxo foi bastante reduzida, o que levou a alteração do ponto final para valores próximos a 150 L/h.m². No décimo ciclo de lavagem a recuperação de fluxo foi

significativamente reduzida mesmo com o aumento da pressão de permeação. A partir deste momento, optou-se em continuar a permeação numa pressão de 1,70 bar para completar o volume de hidrolisado necessário para o tratamento com as resinas de troca iônica em escala ampliada.

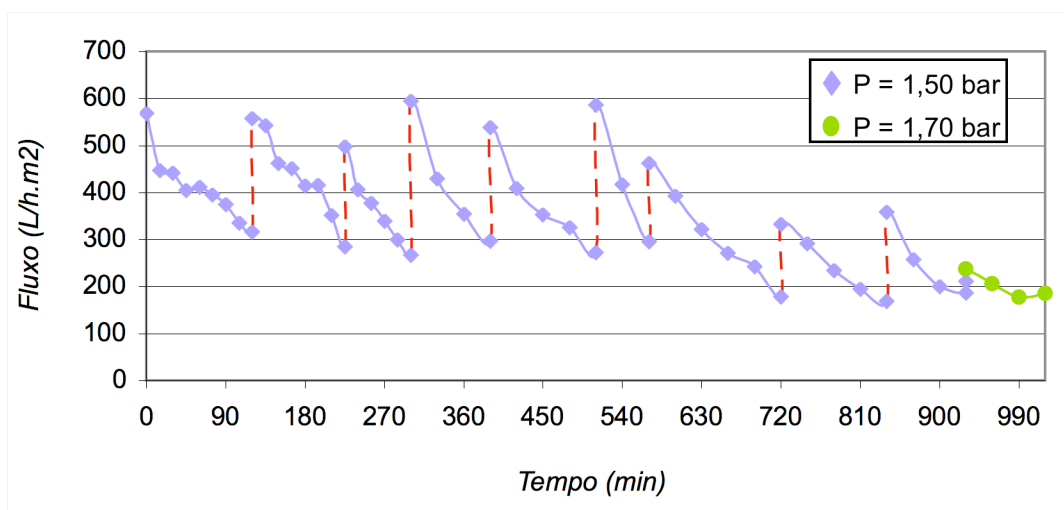


Figura 48 – Variação do fluxo do permeado no processo de ultrafiltração do hidrolisado H2 após diversas etapas de lavagens.

Como pode ser constatado na Tabela 35, com a 1ª lavagem a recuperação do fluxo foi bastante significativa alcançando um valor de 80,55%. Nas lavagens subseqüentes tal fenômeno também foi observado até o 7º ciclo. A partir da 8ª lavagem esta recuperação foi reduzida a 47,14%, diminuindo ainda mais nas lavagens subseqüentes, sendo que a última recuperou apenas 33,63% do fluxo original. Esta redução na recuperação do fluxo ao longo do tempo está diretamente relacionada ao aumento da concentração de contaminantes macromoleculares e particulados na alimentação, o que afeta diretamente a formação de depósitos superficiais na membrana e em seus poros, bem como intensificando o fenômeno da polarização de concentração.

O balanço de massa do processo de ultrafiltração com todas as etapas de lavagem pode ser observado na Figura 49, onde partindo de 10,550 Kg de hidrolisado H2 na alimentação foram obtidas 9,330 Kg de hidrolisado permeado e 1,220 Kg de hidrolisado concentrado. A

partir desta quantidade de hidrolisado permeado (hidrolisado H3), pôde-se dar continuidade aos experimentos subseqüentes, que consistiram no tratamento com resinas de troca iônica segundo a série I (melhor série), desta vez com um volume de leito de resinas elevado para 500 mL .

Tabela 35 – Características de cada etapa da permeação do hidrolisado H2 pela membrana de ultrafiltração.

<i>Etapas de Lavagem</i>	<i>Tempo de Permeação (min)</i>	<i>Fluxo Inicial (L/h.m²)</i>	<i>Fluxo Final (L/h.m²)</i>	<i>Perda de Fluxo (%)</i>	<i>Recuperação do Fluxo (%) *</i>
<i>1</i>	120	569,38	317,04	44,32	80,55
<i>2</i>	105	558,23	285,46	48,86	78,97
<i>3</i>	75	497,67	267,22	46,31	70,40
<i>4</i>	90	594,90	297,84	49,93	84,16
<i>5</i>	120	538,44	272,60	49,37	76,17
<i>6</i>	60	587,24	296,97	49,43	83,08
<i>7</i>	150	463,11	178,10	61,54	65,52
<i>8</i>	120	333,19	169,87	49,02	47,14
<i>9</i>	90	359,19	186,89	47,97	50,81
<i>10</i>	--	211,75	--	100,00	29,96
<i>11</i>	90	237,71	185,67	21,89	33,63

* Recuperação em relação ao 1º fluxo medido nesta membrana (706,87 L/h.m²).

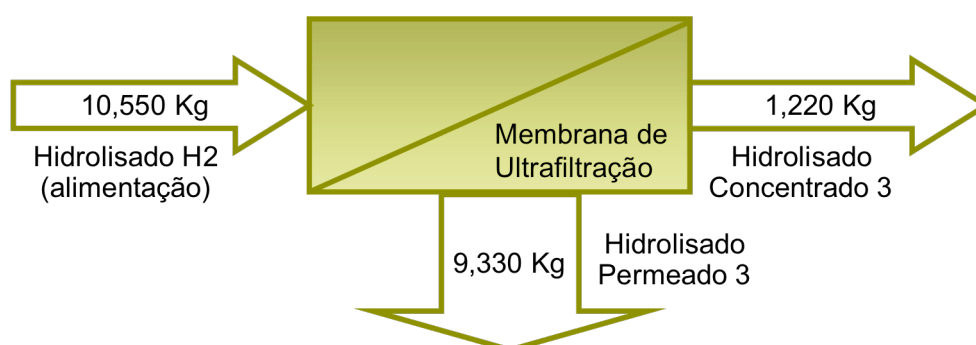


Figura 49 – Representação do processo de separação por membranas e balanço de massa da membrana de ultrafiltração.

5.9. Avaliação da Percolação do Hidrolisado H3 pela Série I Ampliada

Como visto anteriormente a série I de resinas de troca iônica foi a seqüência que forneceu os resultados mais satisfatórios de redução de contaminantes e preservação dos teores originais de açúcares do hidrolisado hemicelulósico. Assim sendo, após a permeação

do hidrolisado H2 pelo módulo de membranas de ultrafiltração, percolou-se este hidrolisado permeado (hidrolisado H3) pelas resinas de troca iônica. As características dos hidrolisados após cada etapa de purificação podem ser observadas a seguir na Tabela 36.

Tabela 36 – Características químicas e físicas dos hidrolisados ao final de cada etapa de purificação com a ampliação de escala.

<i>Parâmetros</i>	<i>Hidr. H1</i>	<i>Hidr. H2</i>	<i>Hidr. H3</i>	<i>R4</i>	<i>R2</i>	<i>R1</i>	<i>R3</i>
<i>pH</i>	0,67	8,07	8,32	3,07	3,42	3,53	7,90
<i>Cond. (mS/cm)</i>	1,28	9,28	10,18	5,40	8,48	10,37	8,04
<i>°Bx</i>	19,00	15,00	14,00	13,00	13,00	12,50	12,50
<i>Glicose (g/L)</i>	12,57	12,55	12,21	11,96	12,01	11,78	10,75
<i>Xilose (g/L)</i>	99,57	79,45	78,89	71,60	67,30	67,38	66,18
<i>Arab. (g/L)</i>	12,71	11,80	9,37	6,29	6,87	6,48	6,37
<i>Ac. Acético (g/L)</i>	6,85	6,88	6,02	3,46	3,44	2,65	2,21
<i>Furfural (g/L)</i>	0,10	0,027	0,029	0,026	0,019	0,016	0,007
<i>HMF (g/L)</i>	0,12	0,031	0,027	0,028	0,022	0,016	0,006
<i>C. Fenólicos (g/L)</i>	11,34	10,15	6,80	6,09	4,86	2,52	0,81
<i>Cor ICUMSA</i>	292 412	2 842 254	1 299 059	605 654	484 075	335 919	118 191

Observa-se na Tabela 36 que os valores de pH dos hidrolisados, ao final de cada percolação, variaram de acordo com cada resina que estava atuando, ou seja, as alterações observadas foram semelhantes àquelas constatadas na série I. Pode-se afirmar que, tais variações também ocorreram de maneira semelhante em relação à condutividade e ao Brix. Com relação aos açúcares observa-se que os mesmos apresentaram pequenas modificações em seus teores, havendo uma redução mais acentuada na concentração de xilose. Ao comparar estes resultados com aqueles obtidos na série I, foi constatado uma redução de 16,70% deste açúcar, sendo que, somente a resina R2 foi responsável por uma diminuição de 15,29%. Tal fato pode estar relacionado com a baixa massa específica úmida desta resina, que proporciona a esta maior leveza em meio aquoso. Assim, ao ser alimentada com hidrolisado esta é facilmente agitada, misturando a água deionizada com os açúcares presentes no hidrolisado. Logo, observa-se uma diminuição da concentração dos açúcares, em especial a xilose, o qual apresentou-se em níveis mais elevados. Tal fato também dificulta a etapa de rinsagem, que é

responsável pela estabilização da concentração de xilose no interior da coluna das resinas. As variações tanto no pH, na condutividade, quanto no Brix por resina e por volume de leite são mostradas nas Figuras 50 à 52.

Independentemente do caráter ácido da solução de saída da resina R4, foi observado uma redução de 42,53% do ácido acético no hidrolisado H3. Esta resina, também na ampliação de escala, foi a maior responsável pela redução desta impureza. Foi observado uma diminuição total de 67,88% deste ácido ao final de todas as etapas de tratamento aplicado no hidrolisado H2, e a etapa das resinas de troca iônica foi sozinha responsável por 63,29% desta remoção (correspondendo 93,24% do total removido). O hidrolisado purificado apresentou em sua composição 2,21 g/L de ácido acético sendo esta concentração, segundo Felipe et al. (1995), um valor aceitável para a bioconversão da xilose em xilitol, considerando as conclusões destes autores que comprovaram a toxicidade do ácido acético apenas em concentrações superiores a 3 g/L.

Observou-se também diminuições de 77,78% e 75,86% de hidroximetilfurfural e furfural, respectivamente, com o tratamento do hidrolisado H3 através do uso das resinas na série ampliada. Verifica-se que a resina R3 foi a maior responsável pela remoção destas toxinas, reduzindo em 37,04% de hidroximetilfurfural e 31,03% de furfural.

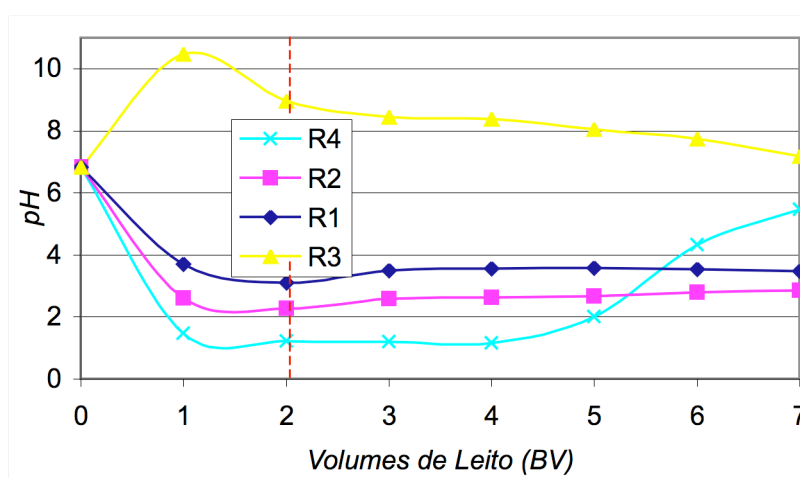


Figura 50 – Variação do pH durante o tratamento do hidrolisado H3 com as resinas combinadas na série I ampliada.

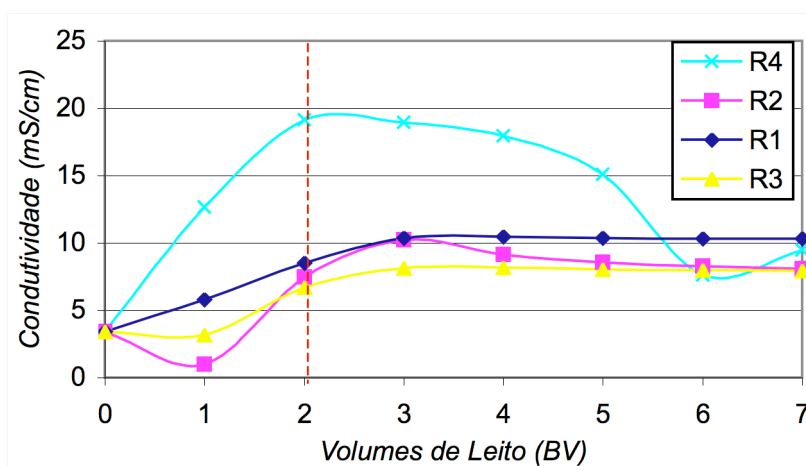


Figura 51 – Variação da condutividade durante o tratamento do hidrolisado H3 com as resinas combinadas na série I ampliada.

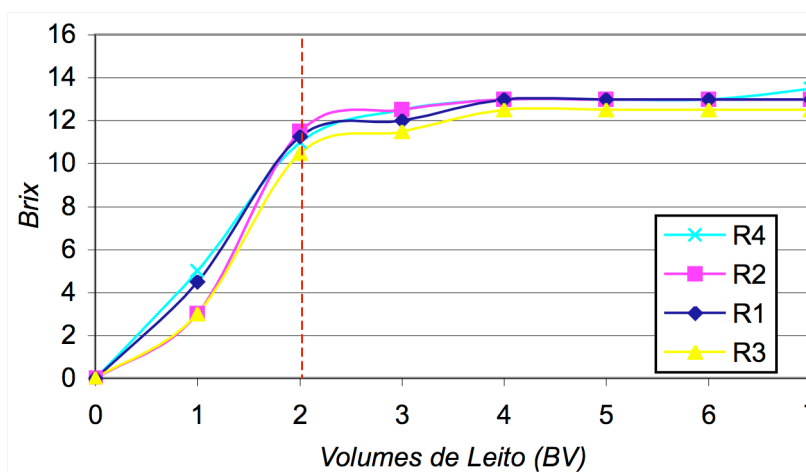


Figura 52 – Variação do Brix durante o tratamento do hidrolisado H3 com as resinas combinadas na série I ampliada.

Com relação aos compostos fenólicos variações importantes também foram observadas. Com a série de resinas ampliada foi obtida uma redução significativa de 88,09% nestes contaminantes. No entanto, esta remoção foi inferior àquela observada na série I anteriormente avaliada, que apresentou uma diminuição de 98,76%, fornecendo ao final um hidrolisado com 0,13 g/L de compostos fenólicos. As variações dos compostos fenólicos por resina e por volume de leito são mostradas na Figura 53. Observa-se que, ao longo dos tratamentos estes compostos mantiveram-se numa faixa estreita de variação, com exceção da percolação pela resina R4. Esta resina não foi capaz de manter os teores destes contaminantes

num nível baixo, sendo responsável apenas por uma diminuição de 10,44%. Comprova-se também que a resina R3 mostrou-se bastante eficiente na redução dos compostos fenólicos, sendo capaz de fornecer concentrações inferiores a 1,50 g/L.

Finalmente, observou-se também diminuições no índice de cor da ordem de 90,90%. Apesar desta redução ser inferior àquelas observadas anteriormente na série I das resinas com volume de leito de 20 mL (96,26%), os valores absolutos finais do índice de cor são muito próximos (118 191 na série de resinas ampliada contra 105 338 na série de resinas reduzida). Assim sendo, quando observados os valores do índice de cor a partir do hidrolisado H2, constata-se reduções de 95,84% e 96,29%, para a série final ampliada e para a série reduzida, respectivamente.

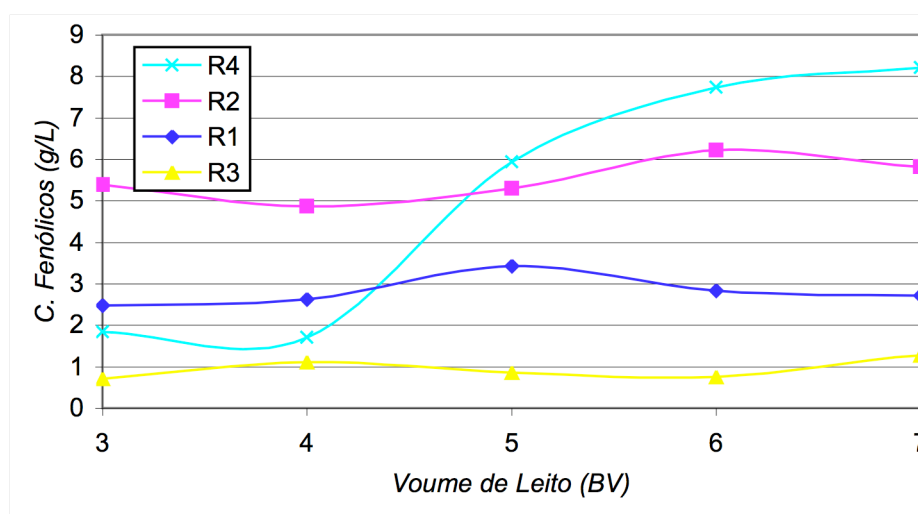


Figura 53 – Variações de compostos fenólicos por BV durante o tratamento do hidrolisado H3 na série I de resinas ampliada.

5.10. Análise Global dos Processos de Purificação Combinados

Os benefícios do uso combinado dos processos de purificação investigados foram evidentes e, estas alterações na concentração de compostos fenólicos e no índice de cor nas diferentes etapas de tratamento do hidrolisado concentrado podem ser observadas nas Figuras 54 à 56.

O uso da coagulação e precipitação foi importante e fundamental para o sucesso de todo tratamento considerando que, em sendo uma técnica de custo relativamente reduzido quando comparado com as demais, possibilitou a remoção direta de 10,49% dos compostos fenólicos, 73,00% de furfural e 74,17% de hidroximetilfurfural. Contudo, 20,21% da xilose presente foi perdida com a mudança do pH e com a coagulação, necessitando de maiores investigações sobre a origem e redução desta perda.

Na seqüência, o processo com membranas foi extremamente atuante nas remoções dos compostos fenólicos e no índice de cor, sendo capaz de reduzir em 29,54% e 54,29%, respectivamente, em apenas uma etapa (ultrafiltração). Além disso, a membrana usada mostrou elevado potencial de reutilização em função de diversas lavagens simples, com recuperação significativa do fluxo original, aumentando a vida útil. O uso da ultrafiltração reduziu o impacto das impurezas diretamente sobre as resinas, possibilitando o prolongamento do ciclo de uso de cada resina antes de cada regeneração que eventualmente estas resinas tenham que sofrer quando em operação real.

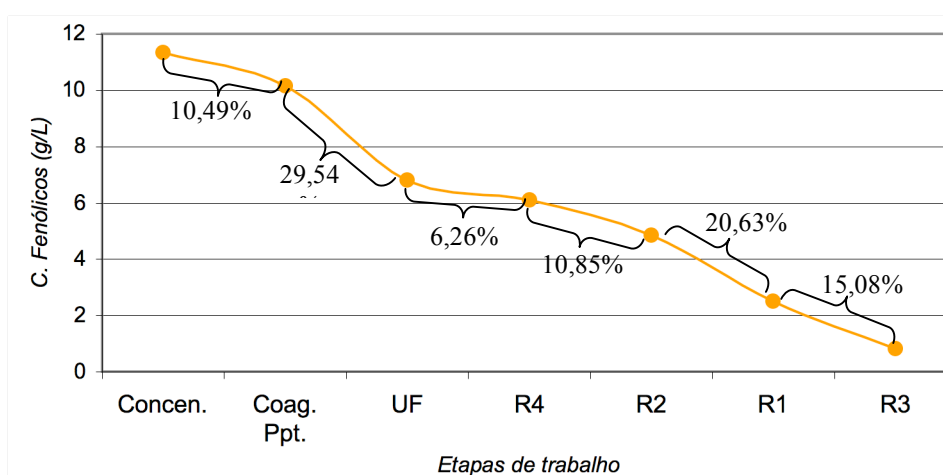


Figura 54 – Variação de compostos fenólicos por etapa de trabalho durante o tratamento do hidrolisado H1 em escala ampliada.

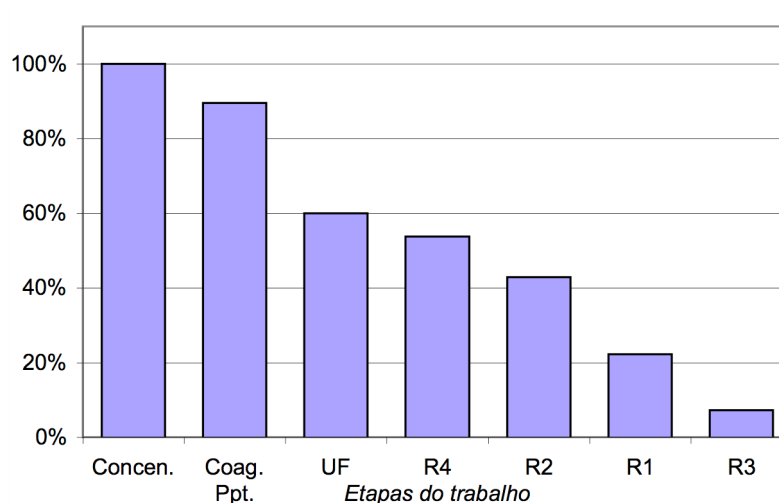


Figura 55 – Redução relativa de compostos fenólicos ao longo do tratamento do hidrolisado H1 em escala ampliada.

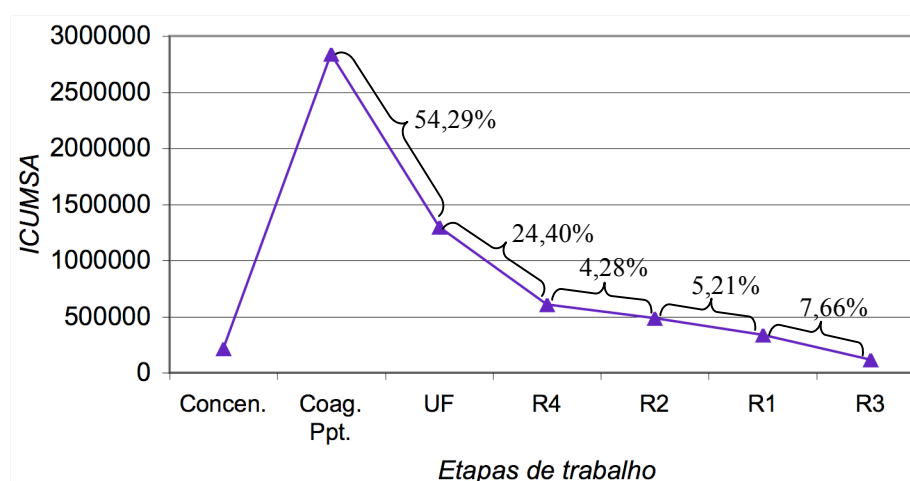


Figura 56 – Variação do índice de cor por etapa de trabalho ao longo do tratamento do hidrolisado H1 em escala ampliada.

Finalmente, a última etapa do tratamento que fez uso da tecnologia das resinas de troca iônica mostrou-se altamente capaz de atingir níveis de purificação elevados, principalmente com o auxílio dos tratamentos precedentes. Em destaque, foi observado uma remoção de 52,82% dos compostos fenólicos juntamente com uma diminuição de 41,55% no índice de cor. As diminuições na intensidade da cor promovido pelas percolações através das resinas de troca iônica podem ser visualizadas nas Figuras 57 e 58. Observa-se na Figura 57

(inspeção visual) as reduções que cada resina promoveu no hidrolisado e, na Figura 58 o que a série de resinas removeu de cor do hidrolisado H3 (ultrafiltrado). Ainda nesta análise, as resinas foram capazes de remover 22,00% e 17,50% de furfural e hidroximetilfurfural, respectivamente, presentes no hidrolisado concentrado.

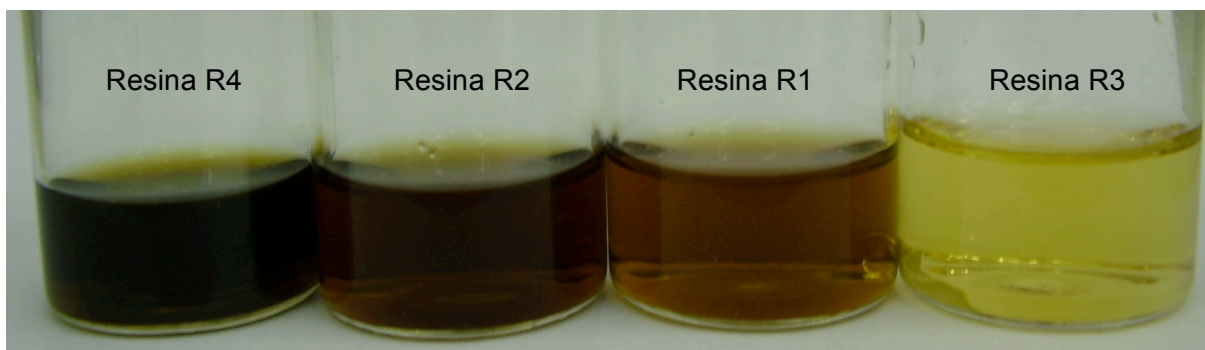


Figura 57 – Análise visual das variações de cor após cada percolação através das resinas de troca iônica em escala ampliada.

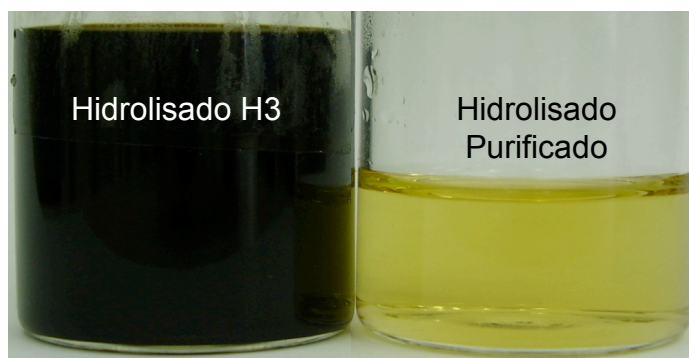


Figura 58 – Análise visual da alteração de cor após o tratamento com a série de resinas de troca iônica em escala ampliada.

Não obstante, perdas de 12,77% de xilose foram detectadas com o tratamento com as resinas. Parte desta perda provavelmente ocorreu em função de efeitos adsortivos inerentes ao uso de resinas e ao processo de rinsagem das mesmas.

5.11. Variação das Concentrações de Contaminantes Metálicos nas Diferentes Etapas dos Processos Combinados

Avaliando ainda a melhor seqüência de purificação do hidrolisado hemicelulósico proposta foram realizadas análises de alguns metais contaminantes, como bário, enxofre, ferro, cálcio, potássio, zinco, cádmio, cobalto, níquel, cromo e sódio nas diferentes fases do tratamento. Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 37.

Inicialmente, com a coagulação e precipitação observa-se que a maioria dos metais analisados apresentaram elevação de seus teores, no entanto, esta etapa proporcionou uma redução de 61,99% do enxofre, 33,33% do zinco e 13,51% de cromo. A elevação de 21,22% na concentração do cálcio, pode ser justificada devido a utilização do óxido de cálcio, que foi aplicado nos ajustes do pH realizados durante esta etapa. Os aumentos nos demais metais devem estar relacionados a contaminantes presentes nos agentes coagulantes usados, e que foram solubilizados no hidrolisado em uso.

Tabela 37 – Concentração dos metais presentes nos hidrolisados após o termino de cada etapa de purificação.

Metais (mg/L)	Concentrado	Coag./Ppt.	Ultrafiltração	R4 (H⁺)	R2 (Cl)	R1 (Na⁺)	R3 (OH)
<i>Cálcio</i>	4 040	5 128	1 520	304	280	3,4	3,4
<i>Potássio</i>	429	621	511	98	10	1,9	4,5
<i>Sódio</i>	69	90	75	85	15	2 120	2 103
<i>Ferro</i>	1 876	2 340	1985	1 090	157	194	19
<i>Enxofre</i>	2 736	1 040	730	1 245	6,2	33	10
<i>Níquel</i>	500	840	567	597	82	2,9	0,7
<i>Cromo</i>	74	64	25	29	18	3,8	3,1
<i>Cádmio</i>	30	35	15	15	1,8	2,4	0,1
<i>Zinco</i>	18	12	10	5,1	1,6	2,1	0,9
<i>Cobalto</i>	3,1	5,2	3,6	3,2	0,4	0,3	0,1
<i>Bário</i>	2,1	7,1	4,9	1,5	0,9	1,6	1,8

Através da permeação do hidrolisado H2 pelo módulo de ultrafiltração, é possível observar que todos os metais presentes apresentaram diminuição em suas concentrações, destacando-se aqueles que tiveram uma redução acima de 50%, como o cálcio (70,36%) o

cromo (60,94%) e o cádmio (57,14%). Assim, pode-se afirmar que, todas estas substâncias metálicas estão parcialmente complexadas como macromoléculas no hidrolisado hemicelulósico, ou se adsorvam no depósito (na camada gel) que se forma na superfície da membrana ao longo do processo e são, por consequência, parcialmente removidos do meio com facilidade.

A percolação do hidrolisado pela resina R4 (catiônica forte) permitiu a redução de potássio (80,82%), cálcio (80,00%), bário (69,39%) e zinco (49,00%) do hidrolisado H3. Tais resultados confirmam a interação existente entre esta resina com estes metais. Já a resina R2 (aniônica forte) foi capaz de reduzir, significativamente, todos os teores destes metais em estudo, destacando-se aqueles que apresentaram diminuições acima de 80% como potássio (89,80%), cádmio (88,00%), cobalto (87,50%), níquel (86,26%) e sódio (82,35%). Em relação a resina R1 (catiônica fraca), pôde-se observar diminuições de alguns metais como, cálcio (98,79%), níquel (96,46%), potássio (81,00%), cromo (78,89%) e cobalto (25,00%), entretanto, esta resina trabalha na forma Na^+ ocorrendo, então, a adição deste íon no hidrolisado hemicelulósico. Tal fato pode ser observado na Tabela 37 onde o teor deste metal passa de 15 para 2120 mg/L, ocorrendo um aumento de 141 vezes. E, finalmente, a resina R3 removeu 95,83% de cádmio, 90,21% de ferro, 75,86% de níquel, 69,70% de enxofre, 66,67% de cobalto e 57,14% de zinco.

Com exceção do sódio, todos os metais apresentaram significativas reduções em seus teores, sendo que cada etapa da purificação do hidrolisado H1 foi responsável por uma parcela destas remoções. Com exceção do bário (remoção total de 74%) os demais metais foram removidos em mais de 90%.

Por fim, após as etapas de purificação (coagulação e precipitação, processo de separação por membranas e resinas de troca iônica), foi obtido um hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana purificado, com uma concentração de 66,18 g/L de xilose, 2,21 g/L de

ácido acético, 0,007 g/L de furfural, 0,006 g/L de hidroximetilfurfural, 0,81 g/L de compostos fenólicos, 118 191 de índice de cor ICUMSA, 1,8 mg/L de bário, 10 mg/L de enxofre, 19 mg/L de ferro, 3,4 mg/L de cálcio, 4,5 mg/L de potássio, 0,9 mg/L de zinco, 0,1 mg/L de cádmio, 0,1 mg/L de cobalto, 0,7 mg/L de níquel, 3,1 mg/L de cromo e 2 103 mg/L de sódio, com remoções globais conforme mostradas na Tabela 38.

Tabela 38 – Remoções globais dos contaminantes presentes com a aplicação do processo de purificação proposto a partir do hidrolisado H1.

Metais (mg/L)	% de Remoção
C. Fenólicos	92,86
Índice de Cor	45,34
Ácido Acético	67,74
Furfural	93,00
HMF	95,00
Cálcio	99,92
Potássio	98,95
Sódio	0,00
Ferro	98,99
Enxofre	99,63
Níquel	99,86
Cromo	95,81
Cádmio	99,67
Zinco	95,00
Cobalto	96,77
Bário	14,29

Estes resultados foram favoráveis para a realização da bioconversão da xilose em xilitol e em etanol, e as características dos bioprocessos utilizados e dos meios fermentados obtidos podem ser conferidos através das análises apresentadas a seguir.

5.12. Avaliação da Bioconversão de Xilose em Xilitol a partir do Hidrolisado Purificado

O hidrolisado hemicelulósico purificado foi submetido à uma bioconversão em paralelo com um meio sintético (solução de xilose comercial). O microrganismo utilizado foi a levedura *C. guilliermondii*, a qual é capaz de converter a xilose em xilitol. As fermentações foram realizadas em frascos agitados de 500 mL com células livres em suspensão. O volume

de meio utilizado foi de 200 mL e a agitação foi do tipo orbital realizada por shaker. O pH inicial foi de 5,5 e as concentrações iniciais de xilose de 35 a 37 g/L para o hidrolisado e para o meio sintético, respectivamente. O meio sintético foi suplementado com 3 g/L de sulfato de amônio, 0,1 g/L de cloreto de cálcio e 20 g/L de extrato de farelo de arroz. Perfis cinéticos de consumo de substrato, formação de produto e crescimento celular podem ser observados na Figura 59.

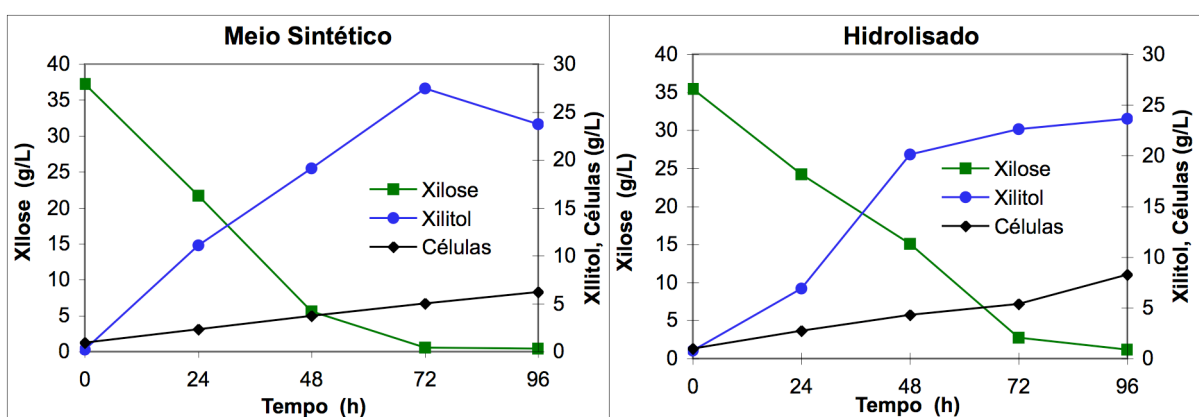


Figura 59- Consumo de xilose, formação de xilitol e crescimento celular em função do tempo.

Na Figura acima, constata-se que nas duas fermentações, o consumo de xilose, a produção de xilitol, a formação de células e seus respectivos rendimentos, apresentaram comportamentos semelhantes (Tabela 39), o que leva a concluir que o hidrolisado purificado é altamente fermentecível por este microorganismo. As conversões de xilose em xilitol e células, para ambos os substratos apresentaram diferenças não superiores a 7,00% a favor do meio sintético, contudo, a produtividade específica foi 10,00% superior com o uso do hidrolisado purificado. Cabe ressaltar que, a produtividade apresentou-se superior na bioconversão que utilizou o meio sintético como substrato, como era de se esperar.

Foi avaliado também o comportamento do pH durante as fermentações. Em ambos os casos o pH inicial foi de aproximadamente 5,5, sendo que em nenhuma delas foi realizado um ajuste nesta variável. Na fermentação do hidrolisado purificado não foram observadas grandes

variações do pH, este se manteve entre 5,3 e 6,0. Neste caso, o hidrolisado hemicelulósico comportou-se como um tampão, impedindo o declínio de pH com o tempo de fermentação. Tal fato não foi observado para o meio sintético onde o pH variou de 5,4 até 2,1 apresentando um declínio com o aumento do tempo de fermentação. Esta alteração pode ser explicada através da análise do metabolismo celular. O microrganismo durante a bioconversão de xilose a xilitol produz íons H^+ e os libera para o meio, o que promove esta diminuição do pH (WINKELHAUSEN e KUZMANOVA, 1998).

Tabela 39 – Parâmetros fermentativos dos experimentos com meio sintético e hidrolisado purificado para a obtenção de xilitol.

Variáveis do Processo	Meio Sintético	Hidrolisado Purificado
Rendimento em xilitol (g/g)	0,73	0,68
Rendimento em células (g/g)	0,27	0,29
Rendimento xilitol/células (g/g)	2,7	3,0
Produtividade volumétrica (g/L.h)	0,375	0,250
Produtividade específica (g/g.h)	0,038	0,031
Xilose consumida (g/L)	37	34
Tempo de fermentação (h)	72	96

Possivelmente, as diferenças observadas nos parâmetros fermentativos, no consumo de substrato e na formação de xilitol, durante as duas bioconversões realizadas, foram devido a estabilidade do pH apresentada durante a fermentação no hidrolisado, em contrapartida com a grande variação desta variável ao longo da fermentação no meio sintético.

Por fim, através da bioconversão da xilose contida no hidrolisado purificado em xilitol, foi possível confirmar a boa fermentabilidade deste meio, comprovando assim, a eficiência do processo de purificação aplicado.

5.13. Avaliação da Bioconversão de Xilose em Etanol a partir do Hidrolisado Purificado

Similarmente ao item anterior, amostras do hidrolisado purificado pelo processo proposto foram submetidas a outra bioconversão, desta vez avaliando-se a fermentabilidade deste substrato à etanol.

Nesta seqüência foram conduzidas três fermentações simultâneas em frascos agitados de 200 mL com células livres em suspensão. A primeira utilizou-se um meio sintético suplementado com extrato de levedura (3 g/L), fosfato ácido de amônio (3 g/L) e sulfato de magnésio heptahidratado (1 g/L). As outras duas foram realizadas a partir do hidrolisado purificado, sendo uma delas suplementada com extrato de levedura (3 g/L). O microorganismo utilizado foi a levedura *Pichia stipitis* NRRL-Y 7124, e a concentração do inóculo usada nas três fermentações foi de 1 g/L. O volume de meio foi de 100 mL e a agitação aplicada foi do tipo orbital. A temperatura foi mantida em 30 °C com um pH inicial de 5,5.

Os perfis cinéticos dos consumos de xilose, glicose e ácido acético, de produção de etanol e crescimento celular são apresentados nas Figuras 60 à 62.

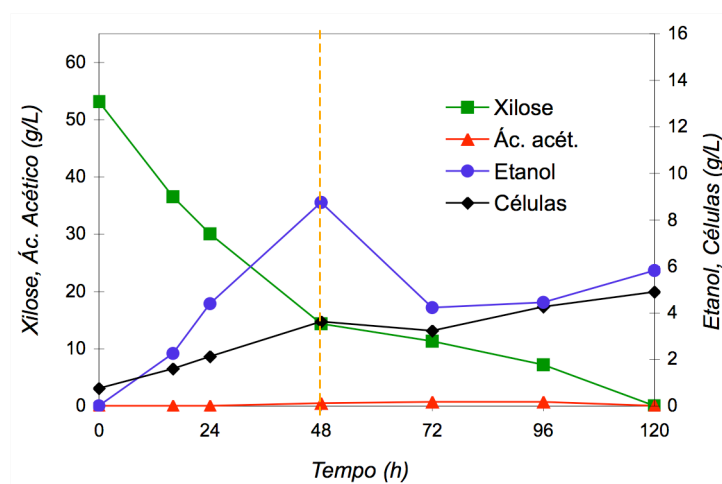


Figura 60 - Consumo de xilose e ácido acético, formação de etanol e crescimento celular em função do tempo no meio sintético.

Durante a realização destas fermentações, após 48 horas da inoculação, ocorreu um problema experimental provocado por uma queda de energia elétrica, o que provocou uma interrupção na agitação e no controle da temperatura por um período de 6 a 8 horas. Após este intervalo a fermentação foi retomada e conduzida até 120 horas.

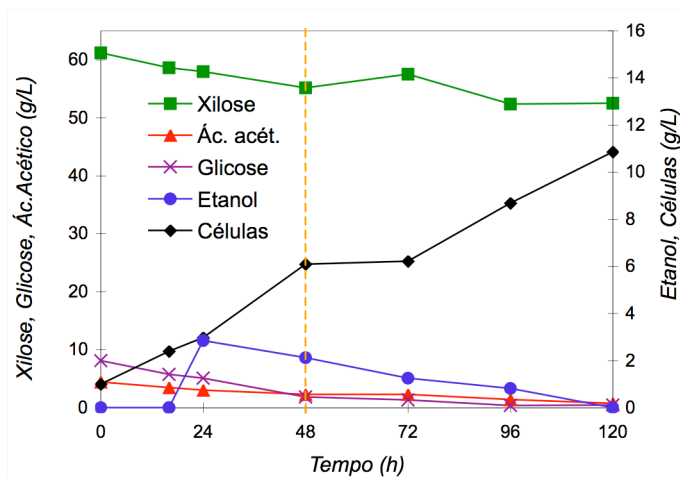


Figura 61 - Consumo de xilose, glicose e ácido acético, formação de etanol e crescimento celular em função do tempo no hidrolisado purificado sem a adição de extrato de levedura.

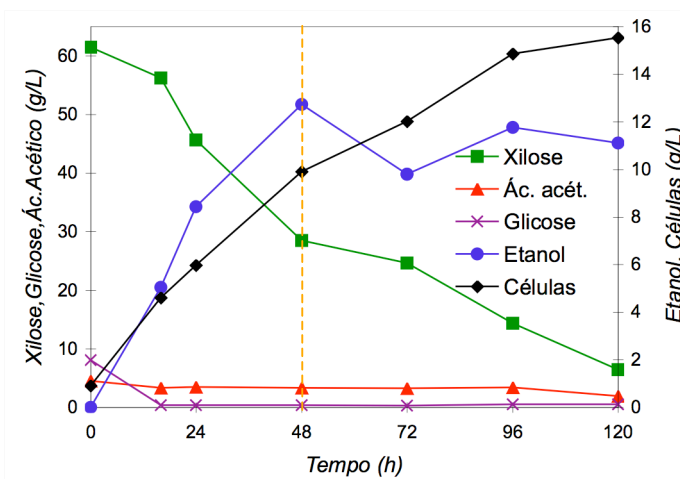


Figura 62 - Consumo de xilose, glicose e ácido acético, formação de etanol e crescimento celular em função do tempo no hidrolisado purificado suplementado com extrato de levedura.

Em todos os três testes fica evidente a interferência desta paralisação, principalmente nos teores de etanol produzido e no crescimento celular. Contudo, observações importantes podem ser feitas analisando as primeiras 48 horas. Neste período, comparando o uso do meio

sintético com o hidrolisado sem suplemento, observa-se um rendimento em etanol 46,67% superior para o primeiro ensaio (Tabela 40). Maiores diferenças ainda foram obtidas comparando as produtividades volumétricas e específicas, as quais foram superiores em 4,1 vezes e 7,1 vezes, respectivamente, a favor do meio sintético. Ainda nesta comparação, é possível observar comportamento contrário em relação ao crescimento celular que foi 4,7 vezes maior com o uso do hidrolisado não suplementado.

Tabela 40 – Parâmetros fermentativos dos experimentos com o meio sintético, com o hidrolisado purificado com e sem suplementação.

Variáveis do processo	Meio sintético		Hidrolisado sem extrato de levedura		Hidrolisado com extrato de levedura	
	48 horas	120 horas	48 horas	120 horas	48 horas	120 horas
Rendimento em etanol (g/g)	0,22	0,11	0,15	---	0,30	0,17
Rendimento em células (g/g)	0,09	0,09	0,42	0,54	0,24	0,24
Rendimento etanol/células (g/g)	2,41	1,19	0,34	0	1,28	0,72
Produtividade volumétrica (g/L.h)	0,181	0,041	0,044	0	0,265	0,093
Produtividade específica (g/g.h)	0,050	0,009	0,007	0	0,027	0,006
Xilose consumida (g/L)	38,8	53,1	6,00	8,70	32,9	55,0
Glicose consumida (g/L)	---	---	6,30	7,60	7,7	7,7
Ác. Acético consumido (g/L)	---	---	2,10	3,60	1,2	2,6

Com estas observações pode-se afirmar, primeiramente, que o uso do hidrolisado não apresentou efeito inibitório as funções celulares e, também, que a presença da glicose no meio favoreceu a rota enzimática intracelular responsável pelo aumento proporcional desta levedura. Por outro lado, o uso do hidrolisado purificado suplementado com extrato de levedura apresentou resultados bem superiores (Tabela 40). Nesta condição o rendimento em

etanol passou a ser superior em 36,36% quando comparado com o meio sintético. O crescimento celular também se manteve elevado sendo 2,7 vezes maior.

Com a suplementação do hidrolisado, a produtividade volumétrica passou a ser superior em 46,41% no entanto, a produtividade específica continuou sendo inferior em 46,00% em relação ao uso do meio sintético.

Mais uma vez estes resultados indicaram a não existência de efeitos inibitórios ao crescimento celular e, neste último caso, a produção de etanol. Cabe ressaltar ainda que, em ambos os casos que foram usados o hidrolisado purificado como substrato, ocorreu um consumo sensível do ácido acético presente.

Por fim, tanto a fermentação do hidrolisado purificado por *C. guilliermondii*, quanto a fermentação por *Pichia stipitis*, deixaram evidentes que o nível de remoção dos principais contaminantes inibitórios foram altamente satisfatórios.

6. CONCLUSÃO

Através do desenvolvimento deste trabalho foi possível avaliar uma sequência de purificação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana, objetivando a produção de bioprodutos, como o xilitol e o etanol, a partir da bioconversão da xilose. Assim, com a definição da rota mais eficiente concluiu-se que:

- ✓ Com o auxílio de planejamento fatorial foi possível delinear estatisticamente a melhor condição de remoção de compostos fenólicos do hidrolisado concentrado (H1). A técnica mais eficiente de coagulação e precipitação reduziu 32,67% destes compostos em um volume reacional de 50 mL, mas este valor passou para 10,49% quando foi utilizado um volume reacional de 1800 mL.
- ✓ A investigação do comportamento das resinas de troca iônica individualmente e em diferentes séries de tratamento, utilizando o hidrolisado previamente purificado pela etapa de coagulação e precipitação (hidrolisado H2), possibilitou a determinação da melhor seqüência de uso num volume de leito de 20 mL. A série de resinas que promoveu reduções mais significativas das impurezas foi a série I (R4 – R2 – R1 – R3). Esta foi capaz de reduzir 96,29% do índice de cor, 98,72% dos compostos fenólicos, 74,19% do hidroximetilfurfural, 55,56% de furfural e 51,31% de ácido acético; não alterando significativamente a concentração da xilose.
- ✓ Após a determinação da melhor série de resinas de troca iônica, o hidrolisado H2 foi submetido a um processo de separação por membranas. Dentre as três maneiras que foram avaliadas, aquela que apresentou melhores resultados de purificação foi a utilização da ultrafiltração sem a etapa previa de microfiltração, a qual possibilitou uma diminuição de 12,50% de ácido acético, 33,00% de compostos fenólicos, reduzindo o índice de cor em 54,29%.

✓ O hidrolisado previamente permeado pela membrana de ultrafiltração (H3) foi percolado pela série de resinas de troca iônica mais eficiente, utilizando um volume de leito de 500 mL. Este procedimento promoveu, novamente, remoções significativas dos inibidores do metabolismo microbiano, sendo capaz de reduzir 63,29% do ácido acético, 75,86% de furfural, 77,78% de hidroximetilfurfural, 88,09% dos compostos fenólicos e 90,90% no índice de cor. Assim, mesmo com uma ampliação de escala de 25 vezes, pode-se concluir que as remoções de contaminantes observadas foram significativas, produzindo ao final da purificação um hidrolisado hemicelulósico com 2,21 g/L de ácido acético, 0,007 g/L de furfural, 0,006 g/L de hidroximetilfrufural, 0,81 g/L de compostos fenólicos, 118 191 de índice de cor e 66,18 g/L de xilose.

✓ Por fim, os testes de bioconversão da xilose proveniente do hidrolisado hemicelulósico purificado em etanol e xilitol, comprovaram a fermentabilidade deste substrato. Tanto a *Candida guilliermondii* quanto a *Pichia stipitis* foram capazes de assimilar a xilose presente e adaptarem-se ao meio confirmando, assim, que o nível de purificação alcançado com o tratamento proposto foi favorável a produção deste bioprodutos, a partir destes microorganismos.

7. SEGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com a finalidade de se continuar os estudos de purificação do hidrolisado de bagaço de cana, recomenda-se:

- Realizar a etapa de coagulação e precipitação do hidrolisado hemicelulósico, antes da etapa de concentração. Neste caso, as impurezas estão menos concentradas e mais susceptíveis a serem removidas do hidrolisado;
- Avaliar esta etapa de purificação utilizando-se um volume maior de hidrolisado inicial, já que a fase de ampliação de escala não acompanhou os resultados obtidos na escala de bancada;
- Promover um bioprocessamento de produção de xilitol em três hidrolisados distintos, cada um proveniente de uma etapa de purificação, com o objetivo de diminuir gastos;
- Avaliar diferentes séries de resinas de troca iônica com o hidrolisado H3 e estas mesmas seqüências que foram estudadas com o hidrolisado somente concentrado.

REFERÊNCIAS

ACOSTA, E.M.; SILVA, S.S.; FELIPE, M.G.A. Effect of the oxygen transfer coefficient on xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate by continuous stirred-tank reactor fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.84-6, p.633-7, 2000.

AGUILAR, R.; RAMIREZ, J.A.; GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. **Journal of Food Engineering**, v.55, p.309-318, 2002.

ANVISA. Resolução RDC nº 3, de 2 de janeiro de 2001. **Aprova o regulamento técnico que aprova o uso de aditivos edulcorantes, estabelecendo seus limites máximos para os alimentos.** Disponível em: <www.anvisa.gov.Br/legis/resol/2001/02.rdc.htm>. Acesso em: 29 mar. 2007a.

ANVISA. Resolução RDC nº 386, de 5 de agosto de 1999. **Aprova o regulamento técnico sobre aditivos utilizados segundo as boas práticas de fabricação e suas funções, contendo os procedimentos para consulta da tabela e a tabela de aditivos utilizados segundo as boas práticas de fabricação.** Disponível em: <www.anvisa.gov.Br/legis/resol/38699.htm>. Acesso em: 29 mar. 2007b.

AMARTEY, S.; JEFFRIES, T. An improvement in *Pichia stipitis* fermentation of acid-hydrolysed hemicellulose achieved by overliming (calcium hydroxide treatment) and strain adaption. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.12, p.281-3, 1996.

ARISTIDOU, A.; PENTTILÄ, M. Metabolic engineering applications to renewable resource utilization. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 11, p. 187-98, 2000.

AUTIO, J.T. Effect of xylitol chewing gum on salivary *Streptococcus mutans* in preschool children. **ASDC Journal of Dentistry for Children**, v. 69, n. 1, p. 81-6, 2002.

AZHAR, A.F.; BERY, M.K.; COLCORD, A.R. Factors affectinh alcohol fermentation of wood acid hydrolysate. **Biotechnology and Bioengineering**, v.11, p.293-300, 1981.

BAER, W. **A economia brasileira**. 4. ed. São Paulo: Livraria Nobel, 1996, p. 391.

BAI, R.B.; LEOW, H.F. Microfiltration of Activated Sludge Wastewater—The Effect of System Operation Parameters, **Sep. Purif. Technol.**, v.29, p.189, 2002a.

BÄR, A. Xylitol. In: O'BREEN NABORS, L.; GELARDI, R. C. **Alternative sweeteners**. New York: Marcel Dekker, 1991, p. 349-79.

BARBOSA, M.F.S.; MEDEIROS, M.B.; MANCILHA, I.M.; SCHNEIDER, H.; LEE, H. Screening of yeasts for production of xylitol from D-xylose and some factors with affect xylitol yield in *Candida guilliermondii*. **Journal of Industrial Microbiology**, v.3, p.241-51, 1988.

BARROS-NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas: UNICAMP, 1995, p.299.

BERG, C. **World ethanol production 2001**. July 2001. Disponível em: <http://www.distill.com/world_ethanol_production.html> Acesso em: 28 nov. 2006.

BISWAS, S.; VASHISHTHA, N. Xylitol: Technology and business opportunities. **Chemical Engineering World**, v.33, n.1, p.103-8, 1998

BLOODWORTH, B.C.; HOCK, C.T.; BOON, T.O. Aluminium Content in Milk Powders by Inductively-Coupled Argon Plasma-Optical Emission Spectrometry. **Food Additive and Contaminants**, v.8, p.749-54, 1991.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for experimenters. An introduction to design, data analysis, and model building**. New York: John Wiley, 1978, p.653.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. **ALICE**. Disponível em: <<http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/alice.asp>> Acesso em 4 mar. 2007.

BUENO, L. Usinas criticam incentivo ao uso do GNV em automóveis. **Valor Econômico**, São Paulo, p. 27, mar. 2004.

CACCHIO, P.; ERCOLE, C.; VEGLIO, F.; LEPIDI, A. Cellulose enzymatic hydrolysis of wheat straw after solid-state pre-treatment by *Trametes trogii* a factorial study. **Annals of Microbiology**, v. 51, p. 215-24, 2001.

CAMPBELL, A. The potential role of aluminium in Alzheimer's disease. **J. Alzheimer's Disease**, v.5, n.1, p.31-8, 2003.

CAMPOS, J.R.; POVINELLI, J. **Coagulação, técnica de abastecimento e tratamento de água**. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública - USP, 1974, v.2, cap. 21.

CANILHA, L.; SILVA, J.B.A.; SOLENZAL, A.I.N. Eucalyptus hydrolysate detoxification with activated charcoal adsorption or ion-exchange resins for xylitol production. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 1909-1912, 2004.

CANILHA, L.; SILVA, J.B.A.; FELIPE, M.G.A.; CARVALHO, W. Batch xylitol production from wheat straw hemicellulosic hydrolysate using *Candida guilliermondii* in a stirred tank reactor. **Biotechnology Letters**, v.25, p.1811-4, 2003.

CARLSON, L. H. C. **Otimização de um sistema de separação da mistura CO₂ supercrítico/limoneno com membranas de osmose inversa**. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2006.

CARNIER, T. **Opção pelo mercado reforça o etanol**. Dezembro 2006. Disponível em: <<http://www.bovespa.com.br/InstSites/RevistaBovespa/100/EmFoco.shtml>> Acesso em: 1 Fev. 2007.

CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L. C.; LOPES, S.; PARAJÓ, J. C.; PEREIRA, H.; GIRIO, F. M. Evaluation of the detoxification of brewery's spent grain hydrolysate for xylitol production by *Debaryomyces hansenii* CCM 941. **Process Biochemistry**, v.40, p.1215-23, 2005.

CARVALHO, G. B. M. **Utilização de carvão ativo, resinas e terra diatomácea para o tratamento de hidrolisado de eucalipto na produção biotecnológica de xilitol**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) - Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2005.

CARVALHO, W.; SILVA, S.S.; SANTOS, J.C.; CONVERTI, A. Xylitol production by Ca-alginate entrapped cells: comparison of different fermentation systems. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 32, p. 553-9, 2003.

CHANG, J.S.; TSAI, L.J.; VIGNESWARAN, S. Experimental investigation of the effect of particle size distribution of suspended particles on microfiltration. **Water Science and Technology**, v. 34, n. 9, p. 133-140, 1996.

CHUNG, I. S.; LEE, Y.Y. Ethanol fermentation of crude acid hydrolysate of cellulose using high-level yeast inocula. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 27, p. 308-15, 1985.

CÍRKVA, V.; POLÁK, R.; PALETA, O.; KEFURT, K.; MORACOVÁ, J.; KODÍCEK, M.; FORMMAN, S. Novel perfluoroalkylated derivatives of D-galactopyranose and xylitol for biochemical uses. Hemocompatibility and effect on perfluorocarbon emulsion. **Carbohydrate Research**, v. 339, p. 2177-85, 2004.

CLARK, T.A.; MACKIE, K.L. Fermentation inhibitors in wood hidrolisates derived from the softwood *Pinus radiata*, **Chemical Technology and Biotechnology**, v.34, p.101-10, 1984.

CONAB, **Acompanhamento da safra brasileira cana-de-açúcar, safra de 2008, primeiro levantamento**. Abril 2007. Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: Conab, 2008, p.5. Disponível em <<http://www.conab.gov.br/conaweb/download/safra/cana.pdf>> Acesso em: 06 ago. 2008.

CONVERTI, A.; DOMÍNGUEZ, J.M.; PEREGO, P.; SILVA, S.S. Effect of temperature on the microaerophilic metabolism of *Pachysolen tannophilus*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.28, n.45, p. 339-345, 2001.

CONVERTI, A.; DOMÍNGUEZ, J.M.; PEREGO, P.; SILVA, S. S.; ZILLI, M. Wood hydrolysis and hydrolysate detoxification for subsequent xylitol production. **Chemical Engineering and Technology**, v.23, n. 11, p. 1013-20, 2000a.

CONVERTI, A, PEREGO, P., TORRE, P., SILVA, S. S. Mixed inhibitions by methanol, furfural and acetic acid on xylitol production by *Candida guilliermondii*. **Biotechnology Letters**, v.22, n.23, p.1861-5, 2000b.

CUNHA, M.A.A. **Bioprodução de xilitol a partir de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar em sistemas com células de *Candida guilliermondii* imobilizadas em hidrogéis de álcool polivinílico**. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2006.

DEKKER, R.F.H. **The enzymatic hydrolysis of biomass**. Maringá: Universidade de Maringá, 1985, p.11-3.

DECHOW, F.J. **Separation and purification techniques in biotechnology**. New Jersey: Noyes Publications, 1989, p.490.

DIZ, J.; CRUZ, J. M.; DOMINGUEZ, H.; PARAJO, J. C. Eucalyptus. **Food Technology Siotecnology**, v.40, n.3, p.191-7, 2002.

DUES, A.; MULLATI, R.; EOBO, L.; TAHERZADEH, M. J. Ethanol production from hexoses, pentoses and dilute-acid hydrolysates by *Mucor indicus*. **FEMS Yeast Research**, v.5, p.669-76, 2005.

DUFF, S.J.B.; MURRAY, W.D. Bioconversion of forest products industry waste celluloses to fuel ethanol: a review. **Bioresource Technology**, v.55, p. 1-33, 1996.

du TOIT, P. T.; OLIVIER, S. P.; van BILTON, P. L. Sugar cane bagasse as a possible source of fermentable carbohydrates. I. Characterization of bagasse with regard to monosaccharide. Hemicellulose and amino acid composition. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 26, p.1071-8, 1984.

DYER, M.J.; HUDSON M.J.; WILLIAMS P.A. **Ion exchange processes: advances and applications**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1993, p.371.

EMODI, A. Xylitol: its properties and food applications. **Food Technology**, p.28-32, 1978.

EUREC. **Agency the future for Renewable Energy**. London: James & James, 1996, cap. 1, p. 209.

FAVERI, D.D.; TORRE, P.; PEREGO, P.; CONVERTI, A. Statistical investigation on the effects of starting xylose concentration and oxygen mass flowrate on xylitol production from rice straw hydrolysate by response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v.65, n.3, p.383-9, 2004.

FELIPE, M.G.A. **Obtenção de xilitol por fermentação de hidrolisado Hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar**. 141f. Tese (Doutorado em Tecnologia Bioquímicofarmacêutica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

FELIPE, M.G.A.; SILVA, S.S.; RODRIGUES, R.C.L.B.; VITOLO, M.; PELLAR, M.V. Effect of phenol concentration on xylose-xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii*. In: XXI SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY FOR FUELS AND CHEMICALS, 2-6 may, 1999, Colorado USA.

FELIPE, M.G.A.; VITOLO, M.; MANCILHA, I.M.; SILVA, S.S. Environmental parameters affecting xylitol production from sugarcane bagasse hemicellulosic by *Candida guilliermondii*. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 18, p. 251-4, 1997a.

FELIPE, M.G.A.; VITOLO, M.; MANCILHA, I.M.; SILVA, S.S. Fermentation of sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate for xylitol production: Effect of pH. **Biomass and Bioenergy**, v. 13, p. 11-4, 1997b.

FELIPE, M. G. A; ALVES, L. A; SILVA, S. S.; ROBERTO, I. C.; MANCILHA, I. M.; SILVA, J. B. A., Fermentation of eucalyptus hemicellulosic hydrolysate to xylitol by *Candida guilliermondii*. **Bioresource Technology**, v.56, p.281-3, 1996a.

FELIPE, M.G.A.; VIEIRA, D.C.; VITOLO, M., SILVA, S.S; ROBERTO, I.C.; MANCILHA, I.M. Effect of acetic acid on xylose fermentation to xylitol by *Candida guilliermondii*. **Journal of Basic Microbiology**, v. 35 p. 171-7, 1995.

FELIPE, M.G.A.; MANCILHA, I.M.; VITOLO, M.; ROBERTO, I.C.; SILVA, S.S.; ROSA, S.A.M. Preparação de xilitol por fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. **Arquivos em Biologia e Tecnologia**, v. 36, p. 103-14, 1993.

FELLOWS, P. Concentración por membranas. In: **TECNOLOGÍA DEL PROCESADO DE LOS ALIMENTOS: PRINCIPIOS Y PRÁCTICAS**. 1994. Zaragoza - **Libro de Resumen**. Zaragoza; Acribia, 1994, p. 141-52.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood chemistry ultrastructure reactions**, Berlin: Walter de Gruyter, 613, 1989.

FERREIRA, A.L.B.; FARIA, L.F.F.; SILVA, J.B.A. Avaliação do uso de Resinas de Troca Iônica na Purificação de Hidrolisado de Bagaço de Cana. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUCCION DE ALCOHOLS Y LEVEDURAS (SIPAL)**, 5., 2005, Campos do Jordão. **Programa e Livro de Resumos**. Lorena: FAENQUIL, v.5, p.292, 2005.

FIGUEIRA, S.R. **Os programas de álcool como combustíveis nos EUA, no Japão e na União Européia e as possibilidades de exportação do Brasil**. Tese (Doutorado em Ciências, Área de Concentração: Economia Aplicado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

FLATEN, T. P. Aluminum as a risk factor in Alzheimer’s disease, with emphasis on drinking water. **Brain Research Bulletin**, v.55, n.2, p.187-96, 2001.

FÖRSTER, H. Comparative metabolism of xylitol, sorbitol and fructose. In: SIPPLLE, H.L.; McNUTT, K.W. eds. **Sugar in Nutrition**. New York: Academic Press, 1974, p.259.

FRAZER, F. R.; McCASKEY, T. A. Wood hydrolysate treatments for improved fermentation of wood sugarsto 2,3-butanediol. **Biomass**, v.18, p.31-42, 1989.

GALES, M. A.; NGUYEN, T. M. Sorbitol compared with xilitol in prevention of dental caries. **Annals of Pharmacotherapy**, v.34, n.1, p.98-100, 2000.

GÍRIO, F.M.; DUARTE, L.C.; CARVALHEIRO, F.; NEVES, I. Effects of acids, furfural and phenolic compounds on *Debaryomyces hansenii* CCM1 941. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 121-124, p. 413-25, 2005.

GÍRIO, F.M.; AMARO, C.; AZINHEIRA, H.; PELICA, F.; AMARAL-COLLAÇO, M.T. Polyols production during single and mixed substrate fermentations by *Debaryomyces hansenii*. **Bioresource Technology**, v. 71, p. 245-51, 2000.

GIULIETTI, M.; SECKLER, M.; DERENZO, S.; RÉ, M.I.; CESINSKI, E. Industrial Crystalization and Precipitation from Solutions: State of the Technique. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. v.18, n.4, p.423-40, 2001.

GUARANI. **Etanol, o combustível ecológico**. Disponível em: <<http://www.acucarguarani.com.br/responsabilidade/ambiental/ambiental.php>> Acesso em: 5 Mar. 2007.

GUTIÉRREZ, T.; BUSZKO, M.L.; INGRAM, L.O.; PRESTON, J.F. Reduction of furfural to furfuryl alcohol by ethanologenic strains of bacteria and its effect on ethanol production from xilose. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.98-100, p.237-40, 2002.

GUZMAN, P. Especialista San Marco Corporation, Cuba. Información Personal, 1999.

HAALAND, P. D. **Experimental design in biotechnology**. New York: Marcel Dekker, 1989.

HABERT, A.C.; BORGES, C.P.; NÓBREGA, R. **Processos de separação por membranas**, Escala Piloto em Engenharia Química. Rio de Janeiro: COPPE/UFRJ, 1997.

HAHN-HÅGERDAL, B.; JEPSSON, H.; SKOOG, K.; PRIOR, B.A. Biochemistry and physiology of xylose fermentation by yeasts. **Enzyme and Microbial Technology**, v.16, 1994.

HAMMER, M. J. **Sistema de abastecimento de água e esgoto**. Rio de Janeiro: Livro técnico e Científico, 1979.

HARLAND, C.E. **Ion exchange: theory and practice**. 2nd ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1994, p.285.

HERRERO, A.A.; GOMES, R.F.; SNEDECOR, B.; TOLMAN, C.J.; ROBERTS, M.F. Growth Inhibition of *Clostridium thermocellum* by weak acids. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 22 p. 53-62, 1985.

HO, W.S.W; SIRKAR, K.K. **Membrane handbook**. New York, USA: Van Nostrand Reinhold, 1992.

HYVÖNEN, L.; KOIVISTOINEN, P.; VOIROL, F. Food technological evaluation of xylitol. **Advances in Food Research**, v.28, p.373-403, 1982.

INFORMAÇÃO UNICA. São Paulo, v.7, n.59, 2004. Disponível em: <http://www.portalunica.com.br/files/inf_unica/fil1833.pdf>. Acesso em: 10 out. 2006.

IRANMANHOOB, J.; NADIM, F.; MONEMI, S. Optimization acid-hidrolisis: A critical step for production of ethanol from mixed wood chips. **Biomass and Bioengineering**, v.22, p.401-4, 2002.

IWATA, C.; NAKAGAKI, H.; MORITA, I.; SEKIYA, T.; GOSHIMA, M., ABE, T.; ISOGAI, A.; HANAKI, M.; KUWAHARA, M.; TATEMATSU, M.; ROBINSON, C. Daily use of dentifrice with and without xylitol and fluoride: effect on glucose retention in humans in vivo. **Archives of Oral Biology**, v. 48, p. 389-395, 2003.

JÖNSSON, L.J.; PALMQVIST, E.; NILVEBRANT, N.O.; HAHN-HÄGERDAL, B. Detoxification of wood hydrolysates with laccase and peroxidase from the white-rot fungus *Trametes versicolor*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.49, p.691-7, 1998.

KOBLITZ, M. G. B. **Estudo de método para remoção de polissacarídeos que precipitam em cachaça**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade de Campinas, Campinas, 1998.

KONDARZEWSKY, M.; FELIPE, M.G.A.; MATGOS, G.S.; BERNARDI, F.P.; RODRIGUES, R.C.L.B. Atividade das enzimas xilose redutase e xilitol desidrogenase de *Cândida guilliermondii* em fermentações contendo xilose ou arabinose como fontes de carbono.

In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA, 6., 05-07 abril 2004, Rio de Janeiro - **Livro de Resumos**, p. 151.

KRISHNA, S.H.; REDDY, T.J.; CHOWDARY, G.V. Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic wastes to ethanol using a thermotolerant yeast. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 193-6, 2001.

KUHAD, R. C.; SINGH, A. Lignocellulose biotechnology: current and future prospects. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.13, n.2, p.151-72, 1993.

KUSUMEGI, K.; YOSHIDA, H.; TOMIYAMA, S. Inhibitory effects of acetic acid on respiration and growth of *Zygosaccharomyces rouxii*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 85, p. 213-217, 1998.

LATIF, F.; RAJOCA, M.I. Production of ethanol and xylitol from corn cobs by yeasts. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 57-63, 2001.

LAVARACK, B.P.; GRIFFIN, G.J.; RODMAN, D. The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products. **Biomass Bioenergy** v.23, p.367-80, 2002.

LEÃO, R.M. **Álcool, energia verde**. São Paulo: Iqual Editora, 2002, p.250.

LEE, Y.Y.; IYER, P.; TORGET, R.W. Dilute-acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Advanced Biochemistry Engineering**, v. 65, p.95-115, 1999.

LEATHERS, T.D. Bioconversion of maize residues to value-added coproducts using yeastlike fungi. **FEMS Yeast Research**, v. 3, p. 133-140, 2003.

LIMA, L.H.A.; BERLINK, C.N. Xilitol, o adoçante do futuro. **Ciência Hoje**, v. 33, n. 195, p.66-71, 2003.

LLOPIS, L. S.; DIEZ, F. B. Review of studies on exposure to aluminium and Alzheimer's disease. **Rev. Esp. Salud Publica**. v.76, n.6, p.645-58, 2002.

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

MÄKINEN, K.K. The rocky road of xylitol to its clinical application. **Journal of Dental Research**. v.79, p.1352–1355, 2000.

MANZ, U.; VANNINEN, E.; VOIROL, F. Xylitol-its properties and use as a sugar substitute in foods. In: FOOD, R. A. In: SYMPOSIUM SUGAR AND SUGAR REPLACEMENTS, 1973.

MARTÍNEZ, E. A. **Estudo do processo de cristalização de xilitol obtido por via fermentativa**. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2005.

MARTÍNEZ, E. A.; SILVA, S.S.; SILVA, J.B.A.; SOLENZAL, A.I.N.; FELIPE, M.G.A. The influence of pH and dilution rate on continuous production of xylitol from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate by *C. guilliermondii*. **Process Biochemistry**, v. 38, p.1677-83, 2003.

MARTÍNEZ, E. A; SILVA, S. S, FELIPE, M. G. A. Aspects of xylitol formation in sugarcane bagasse hydrolysate by *Candida guilliermondii* in the presence of tetracycline. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v. 77-79, p.347-354, 1999.

MARTON, J. M. **Avaliação de diferentes carvões ativos e das condições de adsorção no tratamento de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar para obtenção biotecnológica de xilitol**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) - Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2002.

MASAKO, K.; HIDEYUKI, I.; SHIGEYUKI, O.; ZENRO, I. A novel method to control the balance of skin microflora. Part 1. Attack on biofilm of *Staphylococcus aureus* without antibiotics. **Journal of Dermatological Science**, v. 38, n. 3, p. 197-205, 2005.

MATILLA, P.T.; KANGASMA, H.; KNUUTTILA, M.L. E. The effect of a simultaneous dietary administration of xylitol and ethanol on bone resorption. **Metabolism**, v. 54, p. 548-51, 2005.

MATILLA, P.T.; SVANBERG, M.J.; JAMÁS, T.; KNUUTTILA, M.L.E. Improved bone biomechanical properties in xylitol-fed aged rats. **Metabolism**, v. 51, p. 92-6, 2002.

MEIRA, J.C.R. **Chorume do aterro sanitário de Goiânia: tratamento por fluculação /coagulação /degradação fotoquímica e custos operacionais**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, p.74-7, 2003.

MEMBRANE SEPARATIONS. In: ENCYCLOPEDIA of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation. Canada: Editorial Board, 1999, v. 3, p. 1695-705.

MENDHAM, J.; DENNEY, R.C.; BARNES, J.D.; THOMAS, M. **Vogel – Análise Química Qnativa**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2002, p.139.

MIKKOLA, J.; VAINIO, H.; SALMI, T.; SJÖHOLM, R.; OLLONQVIST, T.; VÄYRINEM, J. Detactivation kinetics of mo-supported Raney Ni catalyst in the hydrogenation of xilose to xilitol. **Applied Catalysis A: general**, v. 196, p. 143-55, 2000.

MIKKOLA, J.P.; SALMI, T.; SJÖHOLM, R. Kinetics and Mass Transfer Effects in the Hydrogenation of Xylose to Xylitol. In: SYMPOSIUM OF REACTION KINETICS AND THE DEVELOPMENT OF CATALYTIC PROCESSES, 1999, Bruges, Belgium.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Cana de Açúcar – Brasil. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/ESTATISTICAS/PRODUCAO/AREA_PLANTADA.PDF> Acesso em 6 Ago. 2008.

MOHANDAS, D.C.; WHELAN, D.R.; PANCHAL, C.J. Development of xylose-fermenting yeast for ethanol production at high acetic acid concentrations. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.51/52, p.307-18, 1995.

MOSIER, N.; WYMAN, C.; DALE, B.; ELANDER, R.; LEE, Y.Y.; LADISCH, M. Features of promising technologies for treatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v.96, p.673-86, 2005.

MORAES, M.A.F.D. **A desregulamentação do setor sucroalcooleiro brasileiro**. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” USP, Piracicaba, p.284, 1999.

MULDER, M. **Basic principles of membrane technology**. Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 1991.

MURPHY, J.D.; McCARTHY, K. Ethanol production from energy crops and wastes for use as a transport fuel in Ireland. **Applied Energy**, v. 82, p. 148-66, 2005.

MUSSATO, S.I.; ROBERTO, I. C. Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocelluloisc hydrolysates for use in fermentative process: a review. **Bioresource Technology**, v.93, p.1-10, 2004a.

MUSSATO, S. I.; SANTOS, J. C.; ROBERTO, I. C. Effect of the pH and activated charcoal adsorption on hemicellulosic hydrolysate detoxification for xylitol production. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v.79, n.6, p.590-6, 2004.

MUSSATO, S.I.; ROBERTO, I. C. Xylitol production from high xilose concentration: evaluation of the fermentation in bioreactor under different stirring rates. **Journal of Applied Microbiology**, v.95, p.331-7, 2003.

NEGRÃO, L.C.P.; URBAN, M.L.P. **Álcool como “commodity” internacional**. Janeiro 2005, n. 47. Disponível em: < http://ecen.com/eee47/eee47p/alcool_commodity.htm > Acesso em: 1 Fev. 2007.

NILVERBRANT, N. O.; PERSSON, P.; REIMANN, A.; De SOUSA, F.; GORTON, L.; JÖNSSON, L. J. Limits for alkaline detoxification of dilute-acid lignocellulose hydrolysates. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.107, n.1-3, p.615-28, 2003.

NILVERBRANT, N. O.; REIMANN, A.; LARSSON, S.; JÖNSSON, L. J. Detoxification of lignocellulosic hydrolysates with ion-exchange resins. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.91-93, p.35-49, 2001.

NOGUEIRA, A.M.P.; VENTURINI FILHO, W. G. Ultra e Microfiltração de Licor de Acerola. **Brazil Journal of Food Technology**, v.8, n.4, p. 305-311, 2005.

NOLLEAU, V.; PREZIOSI-BELLOU, L.; DELGENES, J.P.; DELGENES, J.M. Xylitol production from xilitol by two yeast strains: sugar tolerance. **Current Microbiology**, v. 27, p.191-7, 1993.

NYSSÖLÄ, A.; PIHLAJANIEMI, A.; PALVA, A.; VON WEYMARN, N.; LEISOLA, M. Production of xylitol from D-xylose by recombinant *Lactococcus lactis*. **Journal of Biotechnology**, v. 118, p. 55-66, 2005.

PALMAROLA-ANDRADOS, B.; CHOTEBORSKÁ, P.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Ethanol production from non-starch carbohydrates of wheat bran. **Bioresource Technology**, v.96, p.843-50, 2005.

PALMQVIST, E. **Fermentation of lignocellulosic hydrolysates: inhibition and detoxification**. Ph.D. Thesis, Lund University, Sweden, 1998.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolydates. In: inhibition and detoxification. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 17-24, 2000.

PANDEY, A.; SOCOOL, C.R.; NIGAM, P.; SOCOOL, V. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 69-80, 2000.

PARAJÓ, J.C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J.M. Biotechnological production of xylitol. Part 1: Interest of xilitol and fundamentals of its biosynthesis. **Bioresource Technology**, v. 65, p. 191-201, 1998a.

PARAJÓ, J.C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J.M. Biotechnological production of xylitol. Part 2: Operation in culture media made with commercial sugars. **Bioresource Technology**, v. 65, p. 203-212, 1998b.

PARAJÓ, J.C.; DOMINGUEZ, H.D.; DOMINGUEZ, J.M. Biotechnological Production of Xylitol. Part 3: Operation in Culture Media Made from Lignocellulose Hydrolysates. **Bioresource Technology**. v.66, p. 25-40,1998c.

PARAJÓ, J.C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J.M. Charcoal Adsorption of Wood Hydrolysate for Improving their Fermentability: Influence of the Operational Conditions. **Bioresource Technology**, v.57, p. 179-185, 1996a.

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**, v.18, n.5, p.593-8, 1996c.

PERRY, R.H., GREEN, D.W. **Perry's chemical engineering handbook**. 7th ed. New York: McGraw-Hill, 1997.

PFEIFER M. J.; SILVA, S.S.; FELIPE, M.G.A.; ROBERTO I.C.; MANCILHA, I.M. Effect of culture conditions on xylitol production by *Candida guilliermondii* FTI 20037. **Applied Biochemistry**, v. 57/58, p.423-30, 1996.

PIMENTEL, D. Limits of Biomass Utilization. **Encyclopedia of Physical Science and Technology**, v.2, p.1-3, 2001.

PREZIOSI-BELLOY, L.; NOLLEAU, V.; NAVARRO, J. M. Fermentation of hemicellulosic sugars and sugar mixtures to xylitol by *Candida parapsilosis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 21, p.124-9, 1997.

PURWADI, R.; NIKLASSON; TAHERZADEH, M. J. Kinetic study of detoxification of dilute-acid hydrolysates by $\text{Ca}(\text{OH})_2$. **Journal of Biotechnology**, v.114, p.187-98,2004.

QUINTAES, K.D.; AMAYA-FARFAN, J.; TOMAZINI, F.M.; MORGANO, M.A.; MONTOVANI, D.M.B. Migração de minerais de panelas brasileiras de aço inoxidável, ferro fundido e pedra-sabão (esteatito) para simulantes de alimentos. **Ciênc. Tecnol. Alimentos**, v.24, n.3, p.397-402, 2004.

ROBERTO, I.C.; de MANCILHA, I.M.; SATO, S.; TAQUEDA, M.E.S. Influence of media composition on xylitol fermentation by *Candida guilliermondii* using response surface methodology. **Biotechnology Letters**, v.17, p.1223-1228, 1995.

ROBERTO, I.C.; MANCILHA, I.M.; SOUZA, C.A.; FELIPE, M.G.A.; SATO, S.; CASTRO, H.F. Evolution of rice straw hemicellulosic hydrolysate in the production of xylitol by *C. guilliermondii*. **Biotechnology Letter**, v.16, n.11, p.1211-6, 1994.

ROBERTO, I. C.; FELIPE, M. G. A.; LACIS, L. S.; SILVA, S. S.; MANCILHA, I. M. Utilization of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate by *Candida guilliermondii* for xylitol production. **Bioresource Technology**, v.36, n.3, p.2715, 1991.

ROCHA, G.J.M. **Deslignificação de bagaço de cana de açúcar assistida por oxigênio**. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química de São Carlos USP, São Carlos, p.136, 2000.

ROCHA, G.J.M., SILVA, F. T., ARAÚJO, G.T., CURVELO, A.A.S. A Fast and Accurate Method for Detemination of Cellulose and Polyoses by HPLC. In : BRAZILIAN SYMPOSIUM ON THE CHEMISTRY OF LIGNIN AND OTHER WOOD COMPONENTS, 5, 31 August-10 September., 1997. Curitiba - **Proceeding**, 1997, p. 113.

RODRIGUES, R.C.L.B. **Avaliação das condições de concentração a vácuo do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar para a produção de xilitol**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, p.112, 1999.

RODRIGUES, R.C.L.B.; FELIPE, M.G.A.; SILVA, J.B.A; VITOLO, M.; GÓMEZ, P.V. The influence of pH, temperature and hydrolysate concentration on the removal of volatile and non volatile compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate treated with activated charcoal before or after vacuum evaporation. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 18, p. 299-311, 2001.

SAHA, B.C. Hemicellulose bioconversion. **Journal of Industrial Microbiology and Biotecnology**, v. 30, p. 279-91, 2003.

SAJJAN, U.; MOREIRA, J.; LIU, M.; HUMAR, A.; CHAPARRO, C.; FORSTNER, J.; KESHAVJEE, S. A novel model to study bacterial adherence to the transplanted airway:

Inhibition of *Burkholderia cepacia* adherence to human airway by dextran and xylitol. **The Journal of Heart and Lung Transplantation**, v. 23, n. 12, p. 1382-1391, 2004.

SANCHEZ, S.; BRAVO, V.; CASTRO, E.; MOYA, A.J.; CAMACHO, F. Influence of temperature on the fermentation of D-xylose by *Pachysolen tannophilus* to produce ethanol and xylitol. **Process Biochemistry**, v.39, p.673-9, 2004.

SANCHEZ, S.; BRAVO, V.; CASTRO, E.; MOYA, A.J.; CAMACHO, F. The influence of pH and aeration rate on the fermentation of D-xylose by *Candida shehatae*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 21, p. 355-60, 1997.

SANCHEZ, B.; BAUTISTA, S. Effects of furfural and 5-hidroximethylfurfural on the fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* and biomass production from *Candida guilliermondii*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 10, p. 315-8, 1988.

SANROMÁN, M.A.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M.J.; LEMA, J.M. Xilitol: un alcohol con futuro. **Afinidad**, v.343, p. 215-434, 1991.

SANTOS, J.C.; PINTO, I.R.G.; CARVALHO, W.; MANCILHA, I.M.; FELIPE, M.G.A.; SILVA, S.S. Sugarcane bagasse as raw material and immobilization support for xylitol production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.122, p. 673-84, 2005c.

SENE, L.; FELIPE M.G.A.; VITOLO, M.; SILVA, S.S.; MANCILHA, I.M. Adaptation and reutilization of *Candida guilliermondii* cells for xylitol production in sugar cane bagasse hydrolysate. **Journal Basic Microbiology**, v. 38, p. 61-9, 1998.

SETA, A.K.; KARATHANASIS, A.D. Water Dispersible Colloids and Factors Influencing their Dispersibility from Soil Aggregates. **Geoderma**, v.74, p.255-66, 1997.

SHIKIDA, P.F.A.; BACHA, C.J.C. Evolução da agroindústria canavieira brasileira de 1975 a 1995. **Revista Brasileira de Economia**, Rio de Janeiro, v.53, n.1, p.69-89, 1999.

SILVA, D.D.V.; FELIPE, M.G.A., RORIGUES, R.C.L.B. Influência da realação glicose/xilose nas atividades das enzimas xilose redutase e xilitol desidrogenase de *Cândida guilliermondii* cultivada em hidrolisado de bagaço de cana. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA, 4., 05-07 abril 2004, Rio de Janeiro, 2004a, p. 155.

SILVA, D.D.V.; FELIPE, M.G.A.; MANCILHA, I.M.; LUCHESE, R.H.; SILVA, S.S. Inhibitory effect of acetic acid on bioconversion of xylose in xylitol by *Cândida*

guilliermondii in sugar cane bagasse hydrolysate. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.35, n.3, p.248-254, 2004b.

SILVA, C. J. S. M.; ROBERTO, I. C. Improvement of xylitol production by *Candida guilliermondii* previously adapted to rice straw hemicellulosic hydrolysate. **Letters Applied Microbiology**, v.32, p.248-252, 2001.

SILVA, S.S.; FELIPE, M.G.A.; SILVA, J.B.A.; PRATA, A.M.R. Acid hydrolysis of *Eucalyptus gaudii* chips for microbial production of xylitol. **Process Biochemistry**, v.33, n.1, p.63-7, 1998.

SILVA, S.S.; QUESADA-CHANTO, A.; VITOLO, M. Upstream parameters affecting the cell growth and xylitol production by *Candida guilliermondii* FTI 20037. **Z. Naturforsch.**, v.52c, p.359-363, 1997.

SILVA, S. S. **Produção de xilitol por via biotecnológica: Estudo de sistema de bioreatores e parâmetros fermentativos.** Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 219, 1994.

SILVA, S.S., QUEIROZ, M.A., FELIPE, M.G.A., ROBERTO, I.C., VITOLO, M., MANCILHA, I.M., Detoxification methods of hemicellulosic of eucalyptus for xylitol production by *C. guilliermondii*. In: SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY FOR FUELS AND CHEMICALS, 13., 06-10 maio 1991. Colorado - **Programs and Abstracts**, 1991, p.44.

SINGH, A.; MISHRA, P. Microbial pentose utilization current applications in biotechnology, progress in industrial microbiology. **Elsevier Science**, v.33, p.401, 1995.

SOLENZAL, A.I.N.; SILVA, J.B.A.; MANCILHA, I.M.; FELIPE, M.G.A.; ACOSTA, E., VILLA, P. Application of Ion-Exchange Resins to Upstream Processing of Sugar Cane Bagasse Hydrolysate for its Utilization in Bioprocesses. In: PROCEEDINGS OF THE 2ND EUROPEAN SYMPOSIUM ON BIOCHEMICAL ENGINEERING SCIENCE, 1998, Porto.

STRATHMANN, H. Membrane separation processes: Current relevance and future opportunities. **AIChE Journal**, v. 47, n. 5, p. 1077-87, 2001.

SUN, J.X.; SUN, R.; SUN, X-F.; SU, Y. Fractional and physico-chemical characterization of hemicelluloses from ultrasonic irradiated sugarcane bagasse. **Carbohydrate Research**, v. 39, p. 291-300, 2004.

SUN, X. F.; XU, F.; SUN, R. C.; FOWLER, P.; BAIRD, M. S. Characteristics of degraded cellulose obtained from steam exploded wheat straw. **Carbohydrate Research**, v.340, p.97-106, 2005.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. **Bioresource Technology**, v.83, p.1-11, 2002.

TENGERDY, R.P.; SZAKACS. Bioconversion of lignocellulose in solid substrate fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, p. 169-79, 2003.

UHARI M,T.; APIAINEN, T.; KONTIOKARI, T. Xylitol in preventing acute otitis media. **Vaccine**, v. 19 Suppl.1, p. S144-7, 2000.

VAN ZYL, C.; PRIOR, B.A.; DU PREEZ, J.C. Production of ethanol from sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 17, p. 357-69, 1988.

VASCONCELOS, Y. Não sobra nem bagaço. **Pesquisa Fapesp**, n. 77, julho 2002.

VERDE, M.V. **Aplicações de resinas de troca iônica no tratamento de hidrolisado hemicelulósico para processos fermentativos**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Faculdade de Engenharia Química de Lorena, p.79, 2001.

VILLA, P., FELIPE, M.G.A., RODRIGUEZ, R.C.L.B., VITOLO, M., BEIS, E.L., SILVA, S.S., NAPOLES, A.I., MANCILHA, I.M., Influence of phenolic compounds on bioprocess of xylitol production by *C. guilliermondii*. In: 2nd EUROPEAN SYMPOSIUM ON BIOCHEMICAL ENGINEERING SCIENCE, 2., september 1998. Porto.

WATSON, N.E., PRIOR, B.A., du PREEZ J.C., LATEGAN, P.M., Oxygen requirement for the xylose fermentation to ethanol and polyols by *P. tannophilus*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.6, p.447-50, 1984.

WEIGERT, B.; KLEIN, C.; RISIL, M.; LAUTERBACH, C.; DELLWEG, H. Xylitol fermentation by yeast, influence of furfural on the aerobic growth of the yeast *P. stipitis*. **Biotechnology Letters**, v.10, n.12, p.895-900, 1988.

WINKELHAUSEN, E.; KUZMANOVA, S. Microbial Conversion of D-Xylose to Xylitol. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. v. 86, n.1, p.1-4, 1998.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)