



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



**PRODUÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE EXTRATO DE XILITOL A PARTIR DE  
HIDROLISADO DE FOLHAS DE MACAMBIRA (*Bromélia laciniosa*)**

Mestrando: Clebson Sidney Sabino Lima

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Líbia de Souza Conrado Oliveira

CAMPINA GRANDE PB

2015

CLEBSON SIDNEY SABINO LIMA

PRODUÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE EXTRATO DE XILITOL A PARTIR DE  
HIDROLISADO DE FOLHAS DE MACAMBIRA (*Bromélia laciniosa*)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Líbia de Souza Conrado Oliveira

CAMPINA GRANDE PB

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

L732p Lima, Clebson Sidney Sabino.  
Produção biotecnológica de extrato de Xilitol a partir de Hidrolisado de Folhas de Macambira (*Bromélia laciniosa*) / Clebson Sidney Sabino Lima. – Campina Grande, 2015.  
43 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciência e Tecnologia, 2015.  
"Orientação: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Líbia de Souza Conrado Oliveira".  
Referências.

1. Macambira. 2. Hidrólise. 3. Fermentação. 4. Xilose. 5. Xilitol. I. Oliveira, Líbia de Souza Conrado. II. Título.

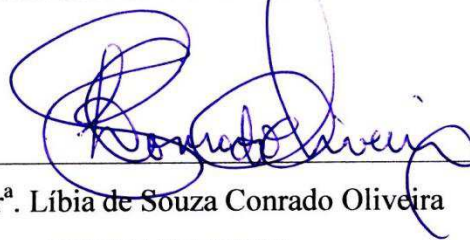
CDU 633 (043.3)

CLEBSON SIDNEY SABINO LIMA

PRODUÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE EXTRATO DE XILITOL A PARTIR DE  
HIDROLISADO DE FOLHAS DE MACAMBIRA (*Bromélia laciniosa*)

Dissertação apresentada e aprovada em 10/11/15 referente ao cumprimento das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química como requisito para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química, tendo como Banca Examinadora os seguintes membros:

BANCA EXAMINADORA

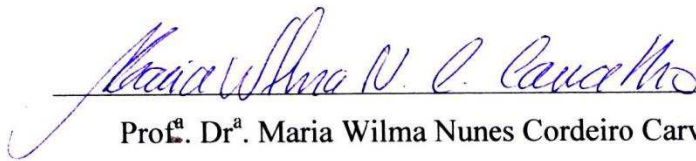


---

Prof.ª Dr.ª Líbia de Souza Conrado Oliveira

CCT/UAEQ/UFCG

(Orientadora)

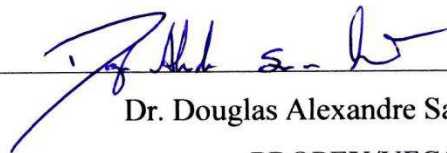


---

Prof.ª Dr.ª Maria Wilma Nunes Cordeiro Carvalho

CCT/UAEQ/UFCG

(Examinadora Interna)



---

Dr. Douglas Alexandre Saraiva Leão

PROPEX/UFCG

(Examinador Externo)

## Dedicatória

A minha família e a todos que contribuíram para a concretização deste trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por me abençoar todos os dias e me proteger e me dar forças e conhecimento necessário para a realização desse trabalho, aos meus pais, José Carlito Alves de Lima e Selma Aderita Sabino Lima pelo apoio, carinho e dedicação que me foi dado em todas as decisões que precisei tomar.

A minha orientadora Dr. Líbia de Sousa Conrado, pela paciência e principalmente pela orientação e ensinamentos. Ao meu co-orientador Douglas Alexandre Saraiva Leão pela parceria e a motivação. A professora Dr. Marta Maria da Conceição por ter me incentivado na pesquisa desde a minha graduação. A todos os colegas e amigos do laboratório de Engenharia Bioquímica, Renan César, Clotildes Alvino, Marcio Vasconcelos. Aos funcionários do departamento, Jardes Caiçaras, José Lopes, a todos que puderam de alguma forma contribuir para a realização deste trabalho.

A equipe do Laboratório de Bioengenharia da UFPB em especial ao professor Flávio Luiz Honorato da Silva pela parceria e pela contribuição na etapa de fermentação, a todos os Professores que eu tive na minha vida, que contribuíram para a construção do meu conhecimento em especial aos professores do Campus de Educação e Saúde (CES) da UFCG. E aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, que nos apoiam e auxiliam dividindo seus conhecimentos. A Universidade Federal de Campina Grande por me conceder a concretização deste projeto. A CAPES, pelo suporte financeiro concedido durante o período de mestrado.

“Não sei o que possa parecer aos olhos do mundo, mas aos meus pareço apenas ter sido como um menino brincando à beira-mar, divertindo-me com o fato de encontrar de vez em quando um seixo mais liso ou uma concha mais bonita que o normal, enquanto o grande oceano da verdade permanece completamente por descobrir à minha frente.”

(Isaac Newton)

## RESUMO

O nordeste brasileiro é composto por uma rica diversidade biológica, grande parte do seu patrimônio biológico não pode ser encontrada em nenhum outro lugar do planeta, são inúmeras espécies de plantas adaptadas a condições de estresse hídrico inerente ao semiárido. Dentre estas plantas encontra-se a Macambira (*Bromélia laciniosa*) espécie que é utilizada como ração animal em períodos de seca, possui em sua composição celulose (28,03%), hemicelulose (37,24%) e lignina (5,42%). A hemicelulose pode ser convertida em xilose por hidrólise ácida e posteriormente em xilitol por fermentação utilizando levedura *Candida guilliermondii*. Com a finalidade de avaliar a produção de xilitol utilizando folhas de macambira, realizou-se um acompanhamento cinético da hidrólise das folhas de macambira em 3 condições, variando a concentração de ácido em; 1, 3 e 5% (v/v) com temperaturas de 100, 120 e 140°C. A condição de maior extração de xilose foi com concentração de 3% e temperatura de 120°C onde por análises da composição química foi possível constatar que ocorreu um aumento na porcentagem de celulose e lignina de 28,03% para 44,48% e 5,42% para 23,13% respectivamente, confirmando que a celulose e a lignina ficaram mais expostas e que a hemicelulose foi hidrolisada pelo ácido, fato que foi comprovado pelas análises morfológicas e térmicas. Com a finalidade de avaliar o processo de fermentação do licor hidrolisado obtido nas melhores condições, foi realizada a fermentação utilizando a *Candida guilliermondii* CCT1516, onde a concentração de xilose ao início da fermentação era de 13,8 g/L e após 60 horas de fermentação este valor cai para zero, a concentração de xilitol produzida ao final da fermentação foi 5,4 g/L com eficiência de conversão de xilose em xilitol igual a 42,8% e produtividade volumétrica igual a 0,09 g/Lh. O fato da conversão de xilose em xilitol não ter sido eficiente pode ser devido à presença do ácido acético no hidrolisado, pois o mesmo pode inibir o crescimento celular e conseqüentemente a formação do xilitol. Os parâmetros cinéticos avaliados ainda são baixos e o procedimento de fermentação ainda necessita ser otimizado para obtenção de melhores rendimentos e produtividade.

Palavras chave: Macambira, Hidrólise, Fermentação, Xilose, Xilitol.



## ABSTRACT

The Brazilian northeast is composed of an abundant biological diversity, much of its biological patrimony can not be found anywhere else on the planet. There are countless species of plants adapted to conditions of water stress inherent in the semiarid region. Among these plants, the macambira (*Bromelia laciniosa*) is a species that is used as animal feed in times of drought; it has cellulose (28.03%), hemicellulose (37.24%) and lignin (5.42%) in its composition. Hemicellulose can be converted into xylose by acid hydrolysis and subsequently to xylitol by fermentation using the yeast *Candida guilliermondii*. In order to evaluate the production of xylitol using macambira sheets, it was performed a kinetic monitoring of the hydrolysis of macambira sheets by varying the acid concentration 1, 3 and 5% (v / v) and temperatures of 100, 120 and 140 °C. The condition of higher xylose extraction was with a concentration of 3% and a temperature of 120 ° C. For analysis of chemical composition, it was found that there was an increase in the percentage of cellulose and lignin from 28.03% to 44.48% and 5.42% to 23.13%, respectively, confirming that the cellulose and lignin were more exposed and hemicellulose was hydrolyzed by acid. This fact was confirmed by morphological and thermal analysis. In order to evaluate the fermentation of the hydrolyzate liquor obtained in optimum conditions, the fermentation was conducted using *Candida guilliermondii* CCT1516 and the concentration of xylose approximately 13.8 g / L at the beginning of the fermentation. After 60 hours of fermentation this value fell to zero, the concentration of xylitol produced at the end of fermentation was 5.4 g / L with an efficiency of xylose to xylitol conversion equal to 42.8%, and volumetric productivity of 0.09 g/Lh. The fact of xylitol to xylose conversion had not been efficient may be due to the presence of acetic acid in the hydrolyzate since it can inhibit cell growth and consequently the formation of xylitol. The kinetic parameters evaluated are still low and the fermentation procedure still needs to be optimized to obtain better yields and productivity.

Keywords: macambira, hydrolysis, fermentation, xylose, xylitol.

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 - Reação de hidrólise ácida da hemicelulose e celulose.....   | 8  |
| Figura 2 - Formação de produtos secundários da hidrólise de celulose e hemicelulose. ....  | 8  |
| Figura 3 - Aspecto das folhas da macambira ao serem coletadas (A) e após a etapa de moagem (B).....  | 13 |
| Figura 4 - Autoclave de politetrafluoretileno que foi usado na etapa de hidrólise.....   | 19 |
| Figura 5 - Distribuição granulométrica da farinha da folha da macambira.....   | 26 |
| Figura 6 - micrografias da macambira in natura aumentadas em 50 (A), 100 (B), 500 (C), e 3000 (D).....   | 27 |
| Figura 7 - micrografias da macambira hidrolisada aumentada em 50 (A), 100 (B), 500 (C), e 3000 (D).....  | 28 |
| Figura 8 - Curvas termogravimétricas (TG/DTG) da macambira in natura .....   | 29 |
| Figura 9 - Curvas termogravimétricas (TG/DTG) da macambira hidrolisada. ....   | 30 |
| Figura 10 - DRX da folha de macambira in natura e hidrolisada.....   | 31 |
| Figura 11- Aparência dos resíduos da hidrólise em diferentes concentrações, temperaturas e tempo. ....   | 32 |
| Figura 12 - Acompanhamento cinético da hidrólise a 100 °C e 1% de ácido sulfúrico.....   | 33 |
| Figura 13 - Acompanhamento cinético da hidrólise a 120°C e 3% de ácido sulfúrico.....  | 34 |
| Figura 14 - Acompanhamento cinético da hidrólise a 140°C e 5% de ácido sulfúrico.....  | 35 |
| Figura 15 - Acompanhamento cinético da fermentação para produção de xilitol.....   | 36 |
| Figura 16 - Perfil cinético da produção de xilitol e consumo de xilose e comportamento microbiano em função do tempo para fermentação do licor hidrolisado. .... | 37 |

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 - Meio de cultura YMA - “Yeast-Malte Extract Agar”(Agar Extrato de Malte-levedura).....  | 20 |
| Tabela 2 - Composição do meio de cultivo semissintético. ....                                     | 21 |
| Tabela 3 - Componentes lignocelulosicos da macambira ( <i>Bromélia laciniosa</i> ). ....          | 25 |
| Tabela 4 - Dados obtidos nas curvas TG/DTG da folha da macambira in natura e hidrolisada<br>..... | 30 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA= Análise de variância

C = Concentração de xilose após a hidrólise;

CLAE= Cromatografia líquida de alta eficiência

$d_i$  = Diâmetro médio de abertura das peneiras superior e inferior.

DRX= Difração de raios-X

DTG= Derivada da curva Termogravimétrica

HMF= Hidroximetilfurfural

MEV= Microscopia eletrônica de varredura

$M_f$ = Massa final da amostra

$M_H$ = Massa de Holocelulose

$M_i$ = Massa inicial da amostra

$P_f$  e  $P_i$  = Concentração final e inicial de xilitol (g/L).

$Q_p$  = Produtividade volumétrica em produto de xilitol ( $\text{g}_{\text{xilitol}}/\text{formato}/\text{L.h}$ )

$r_{\text{xilose}}(\%)$  = Rendimento da hidrólise em xilose

$S_f$  e  $S_i$  = Concentração final e inicial de xilose (g/L)

TA% = Teor de celulose alfa

TAC% = Teor de holocelulose corrigido

TC%=Teor de cinzas

TE%= Teor de Extrativos

TEC%=Teor de extrativos corrigido

$T_f$  e  $T_i$  = Equivalem ao tempo inicial e final (h).

TG= Caracterização Termogravimétrica

TH%=Teor de holocelulose

THC%=Teor de holocelulose corrigido

THE%= Teor de hemicelulose

THEC%= Teor de Hemicelulose corrigido

$t_i$  = Corresponde ao tempo inicial de fermentação (h)

$t_f$  = Corresponde ao tempo final de fermentação (h)

TLI%= Teor de Lignina

TLIC%= Teor de Lignina corrigido

TU%= Teor de Umidade

V = Volume no meio reacional;

W = Massa de hemicelulose presentes no material antes da hidrólise.

X<sub>i</sub> = A fração de mássica retida sobre cada peneira.

Y<sub>P/S</sub> = Fator de conversão de xilose em xilitol (g xilitol formado/g xilose consumida g/g)

Y<sub>P/S(obtido)</sub> = Fator de conversão dos açúcares

Y<sub>P/S(teórico)</sub> = Fator 0,917 g xilitol/g ART, para xilitol

ΔP = Variação da concentração do produto (xilitol)

ΔS = Variação da concentração de xilose

Δt = Intervalo de tempo do processo fermentativo (h)

η = Eficiência de conversão (%)

## SUMÁRIO

|               |  |           |
|---------------|--|-----------|
| <b>1.</b>     | <b>INTRODUÇÃO .....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>2.</b>     | <b>OBJETIVO GERAL .....</b>  | <b>3</b>  |
| 2.1.          | Objetivos específicos .....  | 3         |
| <b>3.</b>     | <b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>  | <b>4</b>  |
| 3.1.          | Semiárido brasileiro e a caatinga.....   | 4         |
| 3.2.          | Macambira ( <i>Bromélia laciniosa</i> ).....   | 4         |
| 3.3.          | Materiais lignocelulósicos .....   | 5         |
| 3.4.          | Tratamentos dos materiais lignocelulósicos .....                                     | 7         |
| 3.5.          | Hidrólise ácida da biomassa .....  | 7         |
| 3.6.          | Xilitol.....   | 9         |
| 3.7.          | O Uso do xilitol .....   | 9         |
| 3.8.          | Produção do Xilitol em larga escala .....  | 10        |
| <b>4.</b>     | <b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>   | <b>13</b> |
| 4.1.          | Matéria prima .....  | 13        |
| 4.2.          | Caracterização química das folhas de macambira .....                                 | 13        |
| <b>4.2.1.</b> | <b>Determinação do teor de umidade .....</b>   | <b>14</b> |
| <b>4.2.2.</b> | <b>Determinação do teor de cinzas.....</b>   | <b>14</b> |
| <b>4.2.3.</b> | <b>Determinação do teor de extrativos .....</b>                                      | <b>15</b> |
| <b>4.2.4.</b> | <b>Determinação do teor lignina .....</b>  | <b>15</b> |
| <b>4.2.5.</b> | <b>Determinação do teor de holocelulose .....</b>                                    | <b>16</b> |
| <b>4.2.6.</b> | <b>Determinação do teor de celulose alfa .....</b>                                   | <b>17</b> |
| 4.3.          | Determinação granulométrica .....  | 18        |
| 4.4.          | Acompanhamento cinético da hidrólise ácida da folha de macambira .....               | 18        |
| 4.5.          | Obtenção do licor para a fermentação .....   | 19        |
| 4.6.          | Fermentação da Xilose para Obtenção do Xilitol.....                                  | 20        |
| <b>4.6.1.</b> | <b>Crescimento e Propagação das Células em Meio Sólido.....</b>                      | <b>20</b> |
| <b>4.6.2.</b> | <b>Preparo do Inóculo das Células de <i>Candida guilliermondii</i> CCT 1516.....</b> | <b>20</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>4.6.3. Contagem Celular em Câmara de Neubauer.....</b>                   | <b>21</b> |
| <b>4.6.4. Processo Fermentativo .....</b>                                   | <b>22</b> |
| 4.7. Determinação dos parâmetros fermentativos .....                        | 22        |
| <b>4.7.1. Rendimento teórico de conversão de xilose em xilitol.....</b>     | <b>22</b> |
| <b>4.7.2. Produtividade volumétrica em xilitol .....</b>                    | <b>23</b> |
| <b>4.7.3. Eficiência de Conversão de xilose em xilitol.....</b>             | <b>23</b> |
| <b>4.7.4. Velocidade volumétrica de consumo de substrato (xilose) .....</b> | <b>24</b> |
| 4.8. Análises morfológicas e térmicas .....                                 | 24        |
| <b>4.8.1. Microscopia eletrônica de varredura.....</b>                      | <b>24</b> |
| <b>4.8.2. Caracterização Termogravimétrica (TG/DTG) .....</b>               | <b>24</b> |
| <b>4.8.3. Caracterização por Difractometria de raios X (DRX).....</b>       | <b>25</b> |
| <b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                      | <b>25</b> |
| 5.1. Caracterização química das folhas da macambira .....                   | 25        |
| 5.2. Estudo da distribuição granulométrica .....                            | 26        |
| 5.3. Microscopia eletrônica de varredura .....                              | 27        |
| 5.4. Caracterização Termogravimétrica (TG/DTG) .....                        | 28        |
| 5.5. Caracterização por Difractometria de raios X (DRX).....                | 31        |
| 5.6. Acompanhamento cinético da hidrólise com ácido diluído.....            | 32        |
| 5.7. Fermentação da xilose .....  | 36        |
| <b>6. CONCLUSÃO.....</b>  | <b>38</b> |
| <b>7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>                            | <b>38</b> |
| <b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                                  | <b>39</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

O nordeste brasileiro é composto por uma rica diversidade biológica, sua vegetação é composta por inúmeras espécies de plantas adaptadas a condições de estresse hídrico inerente ao semiárido. Dentre estas plantas encontra-se a Macambira (*Bromélia laciniosa*) espécie que não tem nenhum valor comercial e tem poucas utilidades na agricultura, uma planta típica do semiárido que precisa ser estudada para um aproveitamento melhor.

Atualmente existe uma grande preocupação por parte da indústria alimentícia em substituir o açúcar por produtos menos prejudiciais aos dentes, e que possam ser consumidos por diabéticos, neste contexto existem diversos estudos em relação aos benefícios de se substituir o açúcar por edulcorantes, que são adoçantes naturais que se destacam por apresentar sabor mais doce que a sacarose, dentre estes edulcorantes o que vem ganhando lugar de destaque na indústria é o xilitol, que pode ser aproveitado para fins medicinais tratando alguns tipos de doenças inclusive agindo na prevenção de cáries, o xilitol não é prejudicial a diabéticos e gestantes.

O xilitol pode ser produzido utilizando-se materiais lignocelulosicos como matéria prima, os materiais lignocelulosicos são compostos basicamente de celulose, hemicelulose e lignina, atualmente existem diversos estudos de aplicação desses materiais na indústria, devido os mesmos serem geralmente resíduos agroindustriais. Uma das aplicações é a possibilidade de se produzir etanol de segunda geração utilizando-se as fibras de celulose, também sendo possível a produção de xilitol a partir da hemicelulose já que ela é composta majoritariamente por xilose que pode ser convertida em xilitol por via microbiana ou química (MENEZES et al., 2010).

Atualmente os processos produção do xilitol utilizam-se processos de hidrólise ácida e hidrogenação catalítica, porem tais processos ainda são caros o que encarece o preço do produto final, além do mais os meios utilizados para produção ainda são pouco eficientes. Visando um melhor rendimento na produção, existem diversos estudos na área de produção biotecnológica que utilizam enzimas e microrganismos para converter a biomassa em xilitol (ALBUQUERQUE et al., 2014).

A décadas vem-se estudando o aproveitamento de resíduos lignocelulósicos para produção de compostos de valor agregado, como a produção de xilitol. Em todo o



mundo, diversos autores buscam formas de desenvolver um processo economicamente viável e com bom rendimento já que no processo biotecnológico promove um aproveitamento completo dos resíduos. Assim, a otimização de processos de baixo custo para a produção de xilitol tornou-se um desafio e tem sido intensamente investigada, pois poderá contribuir para o fortalecimento de vários segmentos industriais, como o farmacêutico, odontológico e alimentício.

Neste sentido visando o aproveitamento desta planta que tem pouca utilidade na indústria e na agricultura, considerando que a macambira é uma planta adaptada às condições do clima e do solo da caatinga, este trabalho tem por objetivo encontrar um aproveitamento para a Macambira (*Bromélia laciniosa*) como fonte de produção para um produto de maior valor comercial e que traz inúmeros benefícios a saúde como é o Xilitol.

## 2. OBJETIVO GERAL

- Avaliar ao potencial de utilização da folha de macambira (*Bromelia laciniosa*) para a produção de extrato de xilitol.

### 2.1. Objetivos específicos

- Determinar a umidade, cinzas, extrativos, teor de celulose, hemicelulose e lignina por meio da caracterização química da folha da macambira seca e após hidrólise ácida.
- Avaliar por meio de DRX e MEV as características estruturais, morfológicas da folha da macambira seca e após hidrólise ácida, bem como, avaliar a decomposição térmica por meio da TGA e DTG.
- Determinar as condições favoráveis de hidrólise ácida da folha de macambira variando a temperatura, concentração do ácido por meio do acompanhamento da cinética de hidrólise.
- Realizar fermentação da xilose pela *Candida guilliermondii* para produção de xilitol do licor hidrolisado que fornecer maior concentração de xilose.

### **3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

#### **3.1. Semiárido brasileiro e a caatinga**

O semiárido caracteriza-se por possuir temperaturas predominantemente altas, também caracteriza-se por períodos chuvosos e períodos de seca. As secas ocorrem com uma drástica diminuição da precipitação pluviométrica anual e como consequência há a diminuição na produção agrícola e a pecuária. Nesse período as reservas de água da superfície se extinguem (TRAVASSOS, SOUZA e SILVA, 2013).

Nessas condições, as camadas mais pobres da população rural tornam-se inteiramente vulneráveis necessitando assim e uma cultura resistente às condições de seca, que possa contribuir com a renda do agricultor. O bioma predominante no semiárido brasileiro é a caatinga que ocupa 11% do território nacional. A palavra caatinga vem do tupi que significa mata branca, este nome decorre da paisagem esbranquiçada apresentada pela vegetação durante os períodos de seca porque a maioria das plantas perde as folhas e os troncos tornam-se esbranquiçados (MAGALHÃES, 2012).

A caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro e também o mais frágil, grande parte do seu patrimônio biológico não pode ser encontrada em nenhum outro lugar do planeta, possui uma biodiversidade significativa, que precisa ser mais estudada (MAGALHÃES, 2012).

#### **3.2. Macambira (*Bromélia laciniosa*)**

A Macambira é uma planta da família das bromeliáceas, do gênero *Bromélia*, que está presente na região Nordeste do Brasil, desde a Bahia até o Piauí, as folhas da macambira possuem espinhos nas extremidades, possuem raízes finas, caule de forma cilíndrica e folhas distribuídas em torno do caule, rizomas e raízes, muito ramificados, a macambira produz pequenos frutos amarelos que lembram cacho de bananas (PIMENTEL, 2012).

A macambira é uma planta típica do semiárido brasileiro suas folhas fornecem fibras e os rizomas contêm grandes reservas de água e possui amido em sua composição (FARIAS et al., 2011). A macambira cresce debaixo de árvores em matas fechadas, nas clareiras e até mesmo em lajedos, adapta-se facilmente ao ambiente, durante períodos de

seca ela é aproveitada na alimentação dos animais (ou até mesmo do homem) (ANGELIM et al., 2007).

### **3.3. Materiais lignocelulósicos**

A biomassa vegetal lignocelulósica é constituída por carboidratos como celulose e hemicelulose que tem potencial aplicação em processos industriais de conversão química ou microbiana em produtos de interesse. A maioria dos carboidratos encontrados na natureza ocorre como polissacarídeos, que são polímeros de média e até alta massa molar. (CUNHA; PAULA; FEITOSA, 2009, RAMBO, 2009)

Os polissacarídeos podem possuir milhares de monossacarídeos em sua cadeia e diferem entre si na identidade das suas unidades monossacarídicas, que podem ser compostos por um, dois ou vários tipos de monossacarídeos diferentes, nos tipos de ligação que os unem, no comprimento das suas cadeias e no grau de ramificação destas. (FRANCISCO JUNIOR, 2008).

Suas cadeias podem ser lineares ou ramificados de comprimento variado. Os polissacarídeos podem ser homopolissacarídeos, e heteropolissacarídeos, os homopolissacarídeos contêm apenas um único tipo de unidade monomérica; já heteropolissacarídeos como a xilana contêm dois ou mais tipos diferentes de unidades monoméricas um exemplo de homopolissacarídeo é a celulose que é utilizada como elemento estrutural das paredes celulares vegetais (CUNHA; PAULA; FEITOSA, 2009)

A celulose é o constituinte encontrado em maior percentual nas biomassas, correspondendo de 40 a 45% do peso seco das plantas. Geralmente, suas fibras encontram-se embebidas em uma matriz de hemicelulose (30-35 %) e lignina (20-23 %). A celulose é a substância que compõe a parede celular da planta, possui uma estrutura linear não ramificada constituindo em um polissacarídeo formado por unidades de glicose ( $C_6H_{12}O_6$ ) unidas através de ligações glicosídicas do tipo ( $\beta 1 \rightarrow 4$ ) (PASSARINHO, 2014).

Hemiceluloses são heteropoliméros constituídos por vários tipos de unidades de açúcares como; glicose, manose, galactose, e, em maior quantidade xilose e arabinose, podendo, ainda apresentar ácido 4-O-metilglucurônico e resíduos de ácido galacturônico. A hemicelulose possui alta massa molar, porém, menor do que a celulose; possui estrutura amorfa e ramificações (RAMBO, 2009; FONSECA, 2014).

A xilana é o principal polissacarídeo na hemicelulose e é o segundo mais abundante na natureza, sendo responsável por aproximadamente um terço de todo carbono orgânico na terra. O seu principal componente é a D-xilose, um açúcar de cinco átomos de carbonos, a cadeia principal da xilana é formada por unidades de 1,4-β-D-xilanopiranosil que podem ser substituídas em vários graus com ácido glucurônico, 4-O-metil-D-glucuronopiranosil, α-L-arabinofuranose e grupamento acetil. As cadeias laterais determinam a solubilidade, a conformação física e a reatividade da molécula de xilana com outros componentes hemicelulósicos (PASSARINHO, 2014).

A lignina é um polímero fenólico, derivado de álcoois aromáticos, que tem como função conferir rigidez, impermeabilidade à água e resistência mecânica e microbiológica ao tecido vegetal. É um heteropolímero tridimensional, reticular de base fenólica, composta de três tipos de unidades de fenilpropano interligadas via sete tipos de ligações C-C ou C-O-C e grupos metoxila (CARDOSO, 2008).

Os extrativos dos materiais lignocelulósicos são substâncias químicas de baixa massa molar que podem ser extraídos usando solventes orgânicos, geralmente são formados a partir de graxas, ácidos graxos, álcoois, fenóis, terpenos, esteróides, resinas, ceras e alguns outros tipos de compostos orgânicos (SANTOS, 2008).

Os constituintes majoritários das biomassas lignocelulósicas geralmente encontram-se associados, dificultando assim o ataque de agentes químicos, enzimáticos ou microbianos (RAMBO, 2014). Materiais lignocelulósicos como serragem de madeira, sabugo de milho entre outros podem ser utilizados como fontes promissoras de xilose.

A partir da xilose pode-se realizar a bioconversão de xilose a xilitol, um produto de elevado valor, obtido por processo de hidrogenação catalítica ou por via microbiana. O interesse crescente no uso de materiais lignocelulósicos para produção biotecnológica de produtos químicos especiais e na produção de biocombustíveis e a partir de resíduos lignocelulósicos está aumentando pelo fato dessas matérias-primas serem de baixo custo e fontes renováveis (PING et al., 2013). A xilose pode ser obtida por hidrólise ácida utilizando-se várias concentrações de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (entre 2% a 6%) e tempo de reação (de 0 a 120 min) obtendo-se hidrolisados hemicelulósicos ricos em xilose, glicose, furfural e ácido acético com rendimentos de até 89% (RAFIQUL e SAKINAH, 2012).

### **3.4. Tratamentos dos materiais lignocelulósicos**

A moagem é um tipo de pré-tratamento cujo objetivo é diminuir o tamanho da partícula; reduzir o grau de polimerização e aumentar a superfície específica disponível ou superfície acessível; aumentar a capacidade de adsorção, acelerando o processo de hidrólise. Dependendo do tipo de material e do tipo de moagem pode aumentar o rendimento em 5 a 25% e reduzir o tempo de digestão entre 23 e 59% (COSTA et al., 2014).

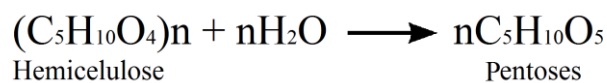
### **3.5. Hidrólise ácida da biomassa**

A matéria lignocelulósica é composta majoritariamente por celulose e hemicelulose e quando são submetidas à hidrólise ácida ocorre uma quebra na estrutura do polímero inicialmente ocorre a hidrólise da hemicelulose em condições brandas de temperatura e concentração de ácido, a hemicelulose é composta basicamente de  $\beta$ -D-xilose em hidrólise ácida as ligações  $\beta$  1,4 são quebradas liberando monômeros de xilose e xilo-oligossacarídeos, podendo também liberar diversos outros tipos de açúcares em menor quantidade como  $\alpha$ -L-arabinopiranosose,  $\alpha$ -L-arabinofuranose,  $\beta$ -D-glicose,  $\beta$ -D-manose,  $\beta$ -D-galactose, além de ácidos hexurônicos e Desxihexoses (CHRISTOFOLETTI, 2010, NUNES, 2015).

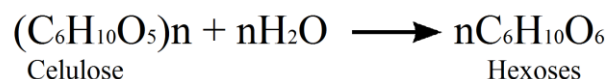
Em condições de temperaturas mais elevadas em meio ácido ocorre a hidrólise da celulose, onde são liberados monômeros de glicose e celobiose, a reação de hidrólise da celulose inicia com a protonação do oxigênio que liga consecutivos anéis de glicose, formando o ácido conjugado. A próxima etapa ocorre com a quebra da ligação C-O e a formação de um carbocátion cíclico. Após uma rápida adição de água, unidades de açúcares são formadas (De PAULA, M. P. *et al.* 2009).

**Figura 1** - Reação de hidrólise ácida da hemicelulose e celulose.

1ª Etapa de hidrólise.

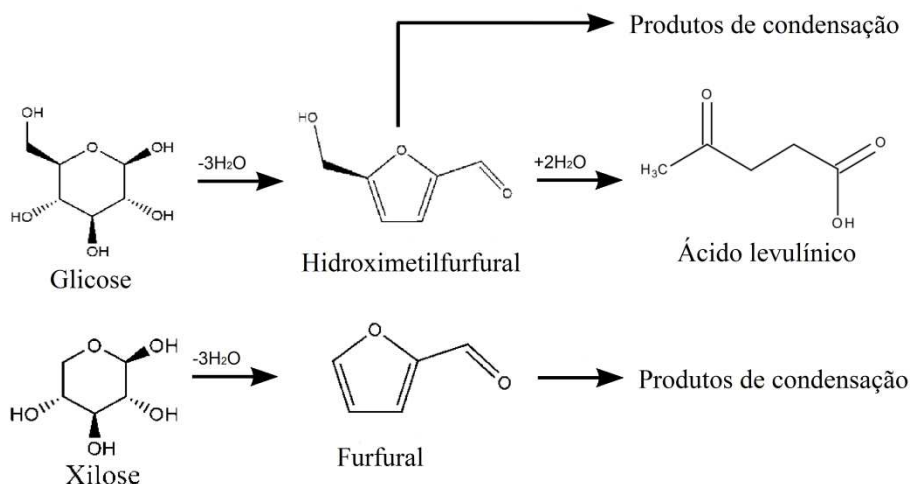


2ª Etapa de hidrólise.



A hidrólise ácida corresponde a etapa mais importante da conversão de hemicelulose em xilitol, porém em condições de elevadas pressões e temperaturas altas ocorrem a degradação dos açúcares em produtos que são inibidores da fermentação, pelas reações apresentadas na figura 2, onde é possível observar alguns dos principais produtos formados por reações de desidratação, hidratação e condensação das moléculas de glicose e xilose geradas no processo de hidrólise (De PAULA, M. P. *et al.* 2009).

**Figura 2** - Formação de produtos secundários da hidrólise de celulose e hemicelulose.



Fonte: (De PAULA, M. P. *et al.* 2009).

O ácido acético também pode ser formado em licores resultantes da hidrólise com ácido, sendo gerado pela hidrólise de grupos acetila ligados a açúcares das cadeias de hemiceluloses (De PAULA, 2009).

### **3.6. Xilitol**

O xilitol, também conhecido como pentinol um adoçante natural de cinco carbonos que se apresenta ligado a cada átomo de carbono de sua molécula, um grupo hidroxila. A fórmula química é  $C_5H_{12}O_5$  e pode ser encontrado em fungos, algas e vegetais, sendo também um intermediário do metabolismo de carboidratos no homem, apresenta-se como um pó branco, cristalino, inodoro e de sabor doce (PING et al., 2013). O xilitol já foi aprovado para consumo na dieta de muitos países. Atualmente é incorporado como um edulcorante em vários produtos: doces, gomas de mascar, produtos de higiene bucal, cosméticos e medicamentos. O xilitol já se revelou um agente eficaz na prevenção de cáries, tanto animais e seres humanos (ORTEGA; ESPINOZA; ARAIZA, 2013).

### **3.7. O Uso do xilitol**

Segundo Mussatto e Roberto (2002), ao empregar adoçantes na produção de bebidas e alimentos, as indústrias atualmente levam em conta a quantidade de calorias do edulcorante, a possibilidade de seu uso em dietas para redução ou controle de peso e o grau de semelhança entre o seu sabor e o do açúcar. Nesse sentido, um produto que vem atraindo a atenção dos fabricantes de bebidas e alimentos é o xilitol, adoçante que se destaca das demais substâncias do gênero, por possuir importantes propriedades físico-químicas e fisiológicas.

Graças a essas propriedades, o xilitol tem um grande potencial de aplicação nas áreas odontológica e médica, tendo-se mostrado eficaz no combate às cáries dentárias promovendo a remineração dos dentes, e no tratamento de outros males como infecções respiratórias, anemia hemolítica, otite média aguda, osteoporose, lesões renais, diabetes atuando no controle da taxa de glicose no sangue, evita desordem no metabolismo de lipídeos e lesões renais, além de poder ser usado na alimentação parenteral, e diferente de alguns adoçantes o xilitol pode ser consumido por mulheres gestantes. Por todas essas razões, a incorporação do xilitol em dietas alimentares representa benefício tanto



para os que necessitam de uma dieta controlada quanto para aqueles que, embora não tendo distúrbios metabólicos, preocupam-se com a saúde e com o bem-estar físico (MUSSATTO e ROBERTO, 2002).

O uso de xilitol em produtos industrializados já foi aprovado em mais de cinquenta países, e as indústrias que mais o utilizam são; as de alimentos, de fármacos e as de cosméticos. Em alguns países da Europa o xilitol vem sendo utilizado nesses três setores industriais há mais de 30 anos (ALBUQUERQUE et al., 2014).

O xilitol é um dos substitutos mais apropriados do açúcar que foi testado com a finalidade de prevenir as cáries, pois é tão doce quanto à sacarose e não pode ser metabolizado pela a maioria das bactérias orais. Recentemente, tem-se incorporado o xilitol em creme dental e enxaguantes bucais com fluor. Estudos in vitro sugerem que o xilitol em conjunto com flúor tem um efeito sobre o crescimento de microrganismos produtores de ácido cariogênico (ORTEGA; ESPINOZA e ARAIZA, 2013).

No Brasil, as indústrias ainda estão começando a incluir o xilitol na composição de produtos, atraídas pelo seu efeito refrescante e, sobretudo, pela sua ação anticariogênica. São diversos os produtos que possuem xilitol que já estão disponíveis no Brasil, na área de comestíveis como: as gomas de mascar, balas, confeitos, compotas, caramelos, chocolates, geléias, sobremesas e pudins, e na área odontológica são os cremes dentais e as soluções para lavagem bucal (MUSSATTO e ROBERTO, 2002).

### **3.8. Produção do Xilitol em larga escala**

Cada vez mais a produção de xilitol se expande a nível global. Atualmente existe uma forte demanda por este produto no mercado global, aproximadamente 125.000 toneladas por ano. O valor do xilitol é em torno de US \$ 4,50-5,50 por kg para vendas em grande quantidade por empresas alimentícias e farmacêuticas e US \$ 20,00 por kg nos supermercados. O mercado do xilitol representa 12% do total da produção de polióis com um crescimento em todo o mundo devido existirem consumidores cada vez mais conscientes dos benefícios que o xilitol traz a saúde (ALBUQUERQUE et al., 2014).

A produção de xilitol na China, que é o maior produtor mundial do composto, é de aproximadamente 35 mil toneladas por ano, com previsões de um aumento de 2,7%

ao ano da produção no país (ZANCANARI, 2012). As principais empresas que produzem o xilitol são Danisco A/S, no Reino Unido e na China, Xyrofin Company, na Finlândia, Towa Chemical Industry Co. Ltd., na Indonésia e Tailândia, Roquette Freres S. A., na França e Bolak Co. Ltd., na Coreia. (LIMA, 2006).

Atualmente são utilizados diversos tipos diferentes de matéria prima para a produção industrial de xilitol. Alguns dos processos de produção existentes vem utilizando subprodutos da agricultura temos por exemplo a casca de amêndoa na Itália e a casca de arroz e caroço de algodão na China (SILVA, 1994).

O segundo Mussatto e Roberto (2002), xilitol é produzido em escala comercial por processo de hidrogenação catalítica da xilose, este processo inclui quatro etapas básicas: inicialmente obtém-se a xilose por hidrólise ácida do material lignocelulósico rico em xilana, esta xilose passa por um processo de purificação. São necessárias operações de purificação com troca iônica, descoloração e fracionamento cromatográfico para obtenção de uma solução de xilose de elevada pureza, em seguida ocorre a etapa de hidrogenação catalítica da xilose formando que ocorre em reatores descontínuos a pressões em torno de 50 atm e temperatura entre 80 °C e 140 °C na presença do catalisador níquel para conversão de xilose em xilitol. Por fim ocorre a purificação do xilitol, a mistura contendo o xilitol é concentrada e sofre fracionamento cromatográfico, utilizando resinas catiônicas e é cristalizada para obtenção dos cristais de xilitol (MUSSATTO e ROBERTO, 2002).

Atualmente existem diversos estudos de caracterização química e hidrólise da biomassa visando a produção de xilitol e etanol. Lima (2013) realizando a caracterização química do bagaço do pedúnculo do caju obteve valores de hemicelulose e celulose iguais a 27,18 % e 18,31 % respectivamente, após a etapa de pré-hidrólise ocorre redução na percentagem de hemicelulose para 19,30 %, e aumento das porcentagens de celulose e lignina (31,50 % e 32,21 %), demonstrando a eficiência da pré-hidrólise e o potencial desta fibra para produção de licores ricos em açúcares.

Pimentel (2012) verificando a composição química da fibra da macambira encontrou 58,7% de celulose alfa, 19,3% de hemicelulose e 12,6% de lignina. Comparando-se a fibra da macambira com a fibra do sisal encontramos uma composição química bem próxima. Segundo Lima et al (2013) a fibra do sisal possui em sua composição 52,8% de celulose, 19,3% de hemicelulose e 13,5% de lignina.

Machado e Abreu (2007) afirmam que uma das vantagens da hidrólise ácida da biomassa é o pequeno tempo de reação comparando com a enzimática, porém tem como

desvantagens os problemas de corrosão dos equipamentos e a necessidade de neutralização da solução açucarada após a hidrólise, além de provocar degradação dos açúcares. O processo ácido é relativamente simples e pode ser realizado usando-se soluções diluídas ou concentradas de ácido sulfúrico ou clorídrico, nas hidrólises com Ácido diluído são usadas temperatura relativamente alta, geralmente são utilizadas soluções de ácido sulfúrico diluído entre 1% a 4% adicionado ao substrato e aquecido a temperaturas que podem chegar a 175 °C e pressão de 10 atm.

Com relação à hidrólise ácida da hemicelulose, Leão (2014) ao estudar a pré-hidrólise da fibra de sisal a 120 °C e concentração de ácido a 3% obteve maior concentração de xilose em torno de 14,3 g/L. Lima (2013) realizando hidrólise com ácido diluído nas mesmas condições obteve um licor com valores predominantes de pentoses: xilose (1,43 g/L) e arabinose (7,12 g/L), logo após a concentração do licor hidrolisado ocorreu um aumento significativo no teor desses açúcares, em torno de 2,5 vezes, chegando a valores de xilose e arabinose iguais a 3,9 g/L e 17,7 g/L respectivamente. No presente trabalho obteve-se concentrações próximas a 13,5 g/L sem que haja a necessidade de concentrar o licor.

Segundo Machado e Abreu (2007) utilizando-se temperaturas elevadas mesmo com concentrações de ácido baixas o tempo de reação diminui drasticamente temos como exemplo a hidrólise da celulose pura em um reator contínuo, com 1% de ácido sulfúrico e temperatura de 237 °C leva a uma conversão próxima de 50% em açúcares em um tempo de residência de 0,22 minutos. Já em processos que utilizam-se soluções de ácido muito concentradas acima de 10% utilizam-se temperaturas relativamente baixas chegando-se a temperaturas máximas de 100 °C e o tempo de reação aumenta podendo chegar de 2 a 6 horas. As baixas temperatura e pressão minimizam a degradação dos açúcares.

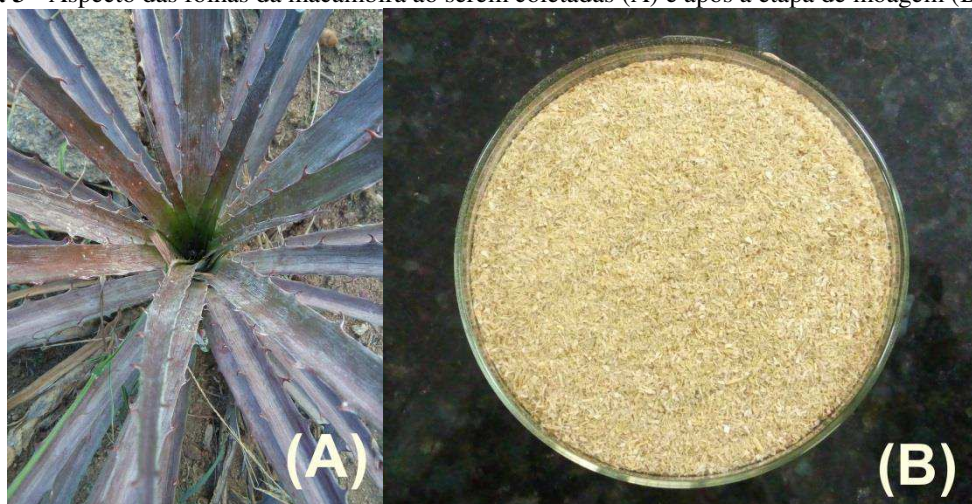
Lima (2013) realizou vários experimentos com a finalidade de otimização do processo de fermentação do licor hidrolisado para obtenção de xilitol, variando as concentrações de sulfato de amônio, extrato farelo de arroz, cloreto de cálcio e pH, onde ela obteve o maior rendimento de conversão de xilose em xilitol igual a 91,5% produzindo 2,95 g/L de xilitol com uma produtividade volumétrica de 0,118 g/L h, utilizando como suplementação para o licor 3,0 g/L de sulfato de amônio, 20,0 g/L de extrato farelo de arroz maiores concentrações de cloreto de cálcio (2,0 g/L) e pH (6,0) em 12 h de fermentação.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Matéria prima

A matéria prima estudada nesse trabalho foi a folha da macambira (*Bromélia laciniosa*). As folhas foram coletadas na zona rural do município de Nova Floresta no estado da Paraíba. As mesmas foram cortadas em pedaços pequenos, secas em estufa de circulação de ar até peso constante, e em seguida passaram por um processo de moagem em moinho de facas. Através da figura 3 é possível observar o aspecto das folhas da macambira antes de serem coletadas e após o processo de moagem.

**Figura 3** - Aspecto das folhas da macambira ao serem coletadas (A) e após a etapa de moagem (B).



Fonte: Registradas pelo autor (2015).

### 4.2. Caracterização química das folhas de macambira

Todos os procedimentos para determinação de holocelulose, celulose, hemicelulose, lignina, umidade, extrativos e cinzas foram determinados pela metodologia descrita por Morais *et al.* 2010, onde o mesmo seguiu os protocolos TAPPI.

#### 4.2.1. Determinação do teor de umidade

O teor de umidade foi determinado a partir da secagem de 10,000 g da amostra a 105 °C em estufa até massa constante, o teor de umidade foi calculado da seguinte forma:

$$TU\% = \frac{(M_i - M_f) 100\%}{M_i} \quad (1)$$

Em que;

$M_f$ = Massa final da amostra

$M_i$ =Massa inicial da amostra

TU%= Teor de Umidade

#### 4.2.2. Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas foi determinado a partir da calcinação de 2,000 g do material seco em forno mufla, a partir da temperatura ambiente utilizando-se uma rampa de aquecimento de aproximadamente 9°C/min por 60 min até o equipamento atingir a temperatura de 600 °C, essa temperatura foi mantida então por três horas, ao final desse tempo, foi diminuída para 200 °C em uma hora, em seguida esperou-se o resfriamento do equipamento e os cadinhos foram colocados em um dessecador por 30 min e pesados em balança analítica. O teor de cinzas foi determinado tomando-se a diferença entre a massa inicial e a final.

$$TC\% = \frac{M_f}{M_i} 100\% \quad (2)$$

Em que;

$M_f$ = Massa final da amostra

$M_i$ =Massa inicial da amostra

TC%=Teor de cinzas

### 4.2.3. Determinação do teor de extrativos

Do material livre de umidade 6,000 g foram submetidos à extração por Soxhlet utilizando-se 200 mL de uma mistura de uma mistura de ciclohexano e etanol na proporção de 1:1, utilizando-se cartuchos confeccionados com papel de filtro. O material foi submetido ao processo de extração por um período de 6 horas, em seguida por secagem em estufa a 105 °C por um período de 12 horas, e o teor de extrativos foi determinado pela diferença entre a massa inicial e final, fazendo-se uma correção com relação ao teor de umidade da seguinte forma:

$$TE\% = \frac{(M_i - M_f)100\%}{M_i} \quad (3)$$

$$TEC\% = \frac{TE\% (100 - TU\%)}{100} \quad (4)$$

Em que;

$M_f$ = Massa final da amostra

$M_i$ =Massa inicial da amostra

TE%= Teor de Extrativos

TEC%=Teor de extrativos corrigido

TU%= Teor de Umidade

### 4.2.4. Determinação do teor lignina

Para a determinação de lignina de Klason, utilizou-se cerca de 1,000 g de amostra livre de umidade e extrativos. Esse material foi colocado em um almofariz e adicionado 17,0 mL de ácido sulfúrico 72%, resfriado em geladeira de 10 °C a 15 °C, antes do uso. Após 15 minutos de agitação vigorosa com o pistilo, até não haver mais partículas visíveis não solubilizadas. A mistura permaneceu em repouso por um período de 24 horas. Depois de 24 horas de digestão, a mistura foi quantitativamente transferida para um balão de 1000 mL lavando-se o almofariz com 306 mL de água destilada para diluir a solução de ácido sulfúrico a 4%. O balão foi levado para uma manta aquecedora, conectado a um condensador, então o material ficou sob aquecimento e refluxo por 4 horas. Após o resfriamento o material foi filtrado e o teor de lignina foi quantificado pelo pelas Equações 5 e 6:

$$TLI\% = \left( \frac{M_f}{M_i} 100\% \right) - TC\%. \quad (5)$$

$$TLIC\% = \frac{TLI\% [100 - (TE\% + TU\%)]}{100}. \quad (6)$$

Em que;

$M_f$ = Massa final da amostra

$M_i$ =Massa inicial da amostra

TC%=Teor de cinzas

TE%= Teor de Extrativos

TLI%= Teor de Lignina

TLIC%= Teor de Lignina corrigido

TU%= Teor de Umidade

#### 4.2.5. Determinação do teor de holocelulose

Para a determinação do teor de holocelulose, em um Erlenmeyer de 500 mL foi adicionado 3,000 g de amostras, 120 mL de água destilada, 2,5 g de clorito de sódio ( $\text{NaClO}_2$ ) e 1 mL de ácido acético glacial, o Erlenmeyer foi então tampado com um Erlenmeyer pequeno de 25 mL para que não ocorresse a evaporação dos gases formados, e a mistura foi mantida sob agitação em agitador magnético à temperatura de 75 °C por 1 hora. A mesma quantidade de ácido acético foi adicionada ao Erlenmeyer a cada hora, totalizando um período de digestão de 3 horas. O sistema foi resfriado, depois filtrado por meio de filtração a vácuo. O resíduo foi lavado com água destilada, seco em um forno a 105 °C até massa constante, o resíduo foi pesado em balança analítica. O teor de holocelulose foi determinado por meio da diferença entre pelo método gravimétrico, pela equação 7;

$$TH\% = \frac{M_f}{M_i} 100\%. \quad (7)$$

Foi necessário realizar mais um cálculo, a partir da equação 8, a fim de corrigir os valores do material original.

$$\text{THC}(\%) \text{Corrigido} = \frac{\text{TH}(\%) \times [100 - (\text{TEC}(\%) + \text{TU}(\%)]}{100} \quad (8)$$

Em que;

$M_f$  = Massa final da amostra

$M_i$  = Massa inicial da amostra

TEC% = Teor de extrativos corrigido

TH% = Teor de holocelulose

TU% = Teor de Umidade

#### 4.2.6. Determinação do teor de celulose alfa

Em um almofariz foi adicionado 1,000 g de holocelulose seca; adicionou-se 15 mL de uma solução de NaOH a 17,5% e após dois minutos de contato entre a solução e a holocelulose na temperatura ambiente, iniciou-se a trituração do material por oito minutos, terminado esse tempo, adicionou-se 40 mL de água destilada no almofariz e então realizou-se a filtração do material. O teor de celulose alfa foi determinado por meio das Equações 9, 10. O teor de hemicelulose foi obtido a partir da diferença entre holocelulose e celulose alfa.

$$TA\% = \frac{M_f}{M_H} 100\%. \quad (9)$$

$$TAC\% = \frac{(\text{THC}\% \times TA\%)}{100}. \quad (10)$$

$$TheC\% = \text{THC}\% - TAC\% . \quad (11)$$

Em que;

$M_f$  = Massa final da amostra

$M_H$  = Massa de Holocelulose



TA% = Teor de celulose alfa

TAC% = Teor de holocelulose corrigido

THC%=Teor de holocelulose corrigido

THeC%= Teor de Hemicelulose corrigido

### 4.3. Determinação granulométrica

A determinação da distribuição granulométrica foi realizada com um conjunto de peneiras Tyler, com malhas de 20, 32, 42, 60, 80 e 115mesh. Após a adição de 100 g do resíduo na peneira superior, o conjunto de peneiras foi agitado por 30 minutos. O material retido em cada peneira teve sua massa determinada. O cálculo do diâmetro médio da partícula “*d*” foi obtido utilizando a equação de Sauter, Equação 12.

$$d_{ps} = \frac{1}{\sum \left( \frac{X_i}{d_i} \right)} \quad (12)$$

Em que;

$X_i$  = A fração de mássica retida sobre cada peneira.

$d_i$  = diâmetro médio de abertura das peneiras superior e inferior.

### 4.4. Acompanhamento cinético da hidrólise ácida da folha de macambira

A hidrólise com ácido diluído foi estudada em três condições com o intuito de encontrar as melhores condições de operação, foram realizados 3 experimentos com ácido H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> como catalisador diluído em água deionizada, com concentração 1% (v/v) e temperatura 100 °C, com concentração 3% (v/v) temperatura 120 °C e concentração de 5% (v/v) com temperatura de 140°C os ensaios foram conduzidos em autoclaves de politetrafluoretileno revestidas por peças de aço inox. A razão gramas de biomassa/mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluído foi de 1/10, ou seja, para cada 5g da biomassa eram adicionados 50 mL da solução, os reatores eram colocados em estufa FANEM modelo Orion-515. Em tempos pré-determinados de: 60, 90, 120, 150, 180 e 240 minutos, os reatores eram resfriados até temperatura ambiente e em seguida o licor era separado do sólido por

filtração a vácuo para serem realizadas análises de açúcares e inibidores por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O rendimento da hidrólise em xilose foi calculado utilizando-se a equação 13;

$$r_{xilose}(\%) = \frac{0,88.V.C}{W} \quad (13)$$

Em que;

V = volume no meio reacional;

C = concentração de xilose após a hidrólise;

W = massa de hemicelulose presentes no material antes da hidrólise.

#### 4.5. Obtenção do licor para a fermentação

O licor hidrolisado foi obtido na melhor condição de hidrólise encontrado seguindo o procedimento anterior. Cinco gramas da biomassa eram colocadas no reator e 50 mL de uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 3%, os reatores eram colocados na estufa a 120°C por um período de 3 horas. Após esse tempo os reatores eram resfriados e o licor era separado por filtração a vácuo para análise dos açúcares e inibidores. O resíduo sólido proveniente do processo de hidrólise era lavado com água destilada até que o °brix da água de lavagem atingisse o valor zero, em seguida o resíduo seco foi colocado em estufa de circulação de ar a 60°C por 12 horas, através do resíduo seco foram realizadas análises de MEV, TG, DRX e as caracterizações químicas.

**Figura 4** - Autoclave de politetrafluoretileno que foi usado na etapa de hidrólise



Fonte: Registrada pelo autor (2015).

#### 4.6. Fermentação da Xilose para Obtenção do Xilitol

A levedura utilizada na pesquisa para produção de xilitol foi a *Candida guilliermondii* CCT 1516 obtida na Fundação André Tosselo – FAT Coleção de Culturas Tropicais.

##### 4.6.1. Crescimento e Propagação das Células em Meio Sólido

O repique do microrganismo foi realizado seguindo a metodologia proposta por Lima (2013) em placa de Petri contendo o meio sólido recomendado na Tabela 1 e incubado a 28 °C por 48 horas. Após o crescimento as placas de Petri contendo as leveduras foram armazenadas sob refrigeração (8 °C).

**Tabela 1** - Meio de cultura YMA - “Yeast-Malte Extract Agar”(Agar Extrato de Malte-levedura).

|                     | Composição |
|---------------------|------------|
| Extrato de levedura | 3,0 g      |
| Extrato de malte    | 3,0 g      |
| Bacto peptona       | 5,0 g      |
| Dextrose            | 10,0 g     |
| Ágar                | 20,0 g     |

##### 4.6.2. Preparo do Inóculo das Células de *Candida guilliermondii* CCT 1516

As células de *Candida guilliermondii* CCT 1516 repicadas no meio sólido foram transferidas em condições assépticas, com auxílio de uma alça de platina, para tubos de ensaio contendo cerca de 5 mL de água destilada e esterilizada, em seguida foram transferidas para frascos Erlenmeyer de 500 mL contendo 250 mL do meio de cultivo semissintético, verificado na tabela 2;

**Tabela 2** - Composição do meio de cultivo semissintético.

| Composição (g/L)                      |     |
|---------------------------------------|-----|
| Xilose                                | 30  |
| Sulfato de amônio                     | 2   |
| Cloreto de Cálcio                     | 0,1 |
| Solução de extrato de farelo de arroz | 20  |

A solução de extrato de farelo de arroz foi preparada separadamente, em seguida foram adicionados os demais componentes do meio e o volume foi aferido. O meio foi então autoclavado a 111 °C, por 15 min, após resfriamento, a ele foi adicionado o microrganismo a uma concentração de  $1 \times 10^5$  células/mL os frascos de Erlenmeyer foram incubados em agitador rotatório tipo “shaker”, nas seguintes condições: agitação de 200 rpm, a 28 °C e pH 5,5 e o crescimento celular foi acompanhado a partir da análise de 1mL a cada 24 horas em câmara de Neubauer, após 60 horas o meio foi renovado e o crescimento das células foi acompanhado até atingir uma quantidade de  $10^7$  células/mL ou 3 g/L que corresponde a quantidade de células necessária para fermentar o licor, as células foram recuperadas ou separadas por centrifugação a 2000 rpm, lavadas com água destilada esterilizada.

#### **4.6.3. Contagem Celular em Câmara de Neubauer**

O acompanhamento do crescimento celular (células/mL) nos experimentos de propagação de células e no processo fermentativo foi realizado segundo a metodologia proposta por LEE et al. (1981), através de contagem de células em Câmara de Neubauer ( $1/400 \text{ mm}^2 \times 1/10 \text{ mm}$ ); onde era coletado 1mL da amostra de suspensão celular, então adicionava-se 3 gotas de uma solução de Tween 80 a 0,3 % (v/v) para não ocorrer aglomeração de células, em seguida realizava-se a diluição de 1/50, a suspensão era agitada e uma pequena quantidade era depositada sobre a Câmara de Neubauer, a contagem feita em microscópio e o número de células era calculado pela formula 14;

$$C. \text{ de células } \left( \frac{\text{células}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{média de células contadas}}{\text{N}^\circ \text{ de quadrantes contados}} \times \text{fator de diluição} \times 10000 \quad (14)$$

#### 4.6.4. Processo Fermentativo

O processo fermentativo foi realizado em frasco de Erlenmeyer com capacidade de 500 mL contendo 250 mL do licor hidrolisado. Ao hidrolisado foi adicionado concentração inicial de células de  $10^7$  células/mL, 0,3g/L de NPK, 0,1 g/L de cloreto de cálcio e 0,3 mL de tetraciclina de concentração igual a 10 mg/ml preparada em solução alcoólica a 70%. O mosto foi incubado em um agitador rotatório (SHAKE – Tecnal TE-420) a 200 rpm e temperatura de 28°C. Alíquotas de 1mL eram retiradas em intervalos de tempo de 0, 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas e submetidas à análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

#### 4.7. Determinação dos parâmetros fermentativos

Com a finalidade de avaliar o processo de fermentação do licor hidrolisado das folhas de macambira com *Candida guilliermondii* CCT 1516 Foram calculados os parâmetros da fermentação como o fator de conversão de xilose em xilitol ( $Y_{P/S}$ ), produtividade volumétrica ( $Q_P$ ), eficiência de conversão ( $\eta$ ), porcentagem de consumo de xilose ( $Y\%$ ).

##### 4.7.1. Rendimento teórico de conversão de xilose em xilitol

Para o cálculo do rendimento teórico de conversão de xilose em xilitol foi utilizada a equação 15;

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{\Delta S} = \frac{P_f - P_i}{S_i - S_f} \quad (15)$$

Em que;

$P_f$  e  $P_i$  = Concentração final e inicial de xilitol (g/L).

$S_f$  e  $S_i$  = Concentração final e inicial de xilose (g/L)

$Y_{P/S}$  = Fator de conversão de xilose em xilitol (g xilitol formado/g xilose consumida g/g)

$\Delta P$  = Variação da concentração do produto (xilitol)

$\Delta S$  = Variação da concentração de xilose

#### 4.7.2. Produtividade volumétrica em xilitol

Para o cálculo da produtividade volumétrica em xilitol foi utilizada a equação 16;

$$Q_P = \frac{\Delta P}{\Delta t} = \frac{P_f - P_i}{t_i - t_f} \quad (16)$$

Em que;

$P_f$  e  $P_i$  = Concentração final e inicial de xilitol (g/L)

$t_i$  e  $t_f$  = Concentração final e inicial de xilitol (g/L).

$Q_P$  = Produtividade volumétrica em produto de xilitol ( $\text{g}_{\text{xilitol}}/\text{formato}/\text{L.h}$ )

$t_i$  e  $t_f$  = correspondem aos tempos inicial e final de fermentação (h)

$\Delta t$  = Intervalo de tempo do processo fermentativo (h)

$\Delta P$  = Variação da concentração do produto (xilitol)

#### 4.7.3. Eficiência de Conversão de xilose em xilitol

A eficiência de fermentação em porcentagem foi calculada relacionando o rendimento de xilitol através da fermentação com o rendimento teórico  $0,917 \text{ g}_{\text{xilitol}} \cdot \text{g}_{\text{xilose}}^{-1}$  calculado por Barbosa, *et al.* (1988).

$$\eta = \frac{Y_{P/S(\text{obtido})}}{Y_{P/S(\text{teórico})}} \times 100 \quad (17)$$

Em que;

$Y_{P/S(\text{obtido})}$  = Fator de conversão dos açúcares

$Y_{P/S(\text{teórico})}$  = Fator  $0,917 \text{ g}_{\text{xilitol}} \cdot \text{g}_{\text{xilose}}^{-1}$ , para xilitol

$\eta$  = Eficiência de conversão (%)

#### 4.7.4. Velocidade volumétrica de consumo de substrato (xilose)

A velocidade volumétrica de consumo de substrato fundamenta-se no decréscimo de açúcar no decorrer do tempo, de acordo com a Equação 18.

$$r_s = \frac{\Delta S}{\Delta t} = \frac{P_f - P_i}{t_i - t_f} \quad (18)$$

Em que;

$S_f$  e  $S_i$  = Concentração final e inicial de xilose (g/L)

$T_i$  e  $T_f$  = correspondem aos tempos inicial e final de fermentação (h)

$\Delta T$  = Intervalo de tempo do processo fermentativo (h)

$\Delta S$  = Variação da concentração de xilose

### 4.8. Análises morfológicas e térmicas

#### 4.8.1. Microscopia eletrônica de varredura

As microfotografias foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura (Superscan SSX-550, Shimadzu) com detector OXFORD (elétron secundário) a uma potência do feixe de elétrons de 20 kV (equipamento disponível na Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – Laboratório de Caracterização Microestrutural, utilizando-se o software LEO, versão 3.01. As amostras foram dispostas de forma que fosse possível observar as modificações superficiais das fibras dos materiais. As microscopias foram realizadas com ampliação de faixa de 50 a 3.000 vezes, Foram realizadas análises de MEV com a folha de macambira in natura e com o resíduo da hidrólise na melhor condição.

#### 4.8.2. Caracterização Termogravimétrica (TG/DTG)

As análises termogravimétricas (TG/DTG) das folhas de macambira foram obtidas em analisador térmico Shimadzu DTG-60H, em atmosfera de ar sintético, massa de até 10, razão de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup> da temperatura ambiente até 1000 °C. Foram realizadas análises de TG com a folha de macambira in natura e com o resíduo da hidrólise na melhor condição.

### 4.8.3. Caracterização por Difractometria de raios X (DRX)

As análises de DRX foram realizadas utilizando um difratômetro Shimadzu modelo XD3A com varredura entre 5° e 70° (2θ) e velocidade de 0,033°/s. Foram realizadas análises de DRX com a folha de macambira in natura e com o resíduo da hidrólise na melhor condição.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Caracterização química das folhas da macambira

A partir da tabela 3 é possível observar os valores encontrados para a caracterização química das folhas da macambira antes de depois da hidrólise onde foram analisados os teores de umidade, extrativos, cinzas, lignina, celulose e hemicelulose. Todas as análises foram feitas em triplicata.

**Tabela 3** - Componentes lignocelulosicos da macambira (*Bromélia laciniosa*).

| COMPONENTE    | ANTES DA HIDRÓLISE | DEPOIS DA HIDRÓLISE |
|---------------|--------------------|---------------------|
| Umidade       | 8,14±0,08          | 4,30±0,24           |
| Extrativos    | 7,49±0,79          | 8,68±0,38           |
| Cinzas        | 3,62±0,10          | 0,63±0,02           |
| Lignina       | 5,42±0,42          | 23,13±1,06          |
| Holocelulose  | 64,37±0,87         | 60,66±0,95          |
| Celulose alfa | 28,03±1,27         | 44,48±1,25          |
| Hemicelulose  | 37,24±1,12         | 16,17±2,08          |

Por meio dos resultados observa-se que a macambira (*Bromélia laciniosa*) apresentou teores de celulose, hemicelulose e lignina em torno de 28,03±1,27%; 37,24±1,12% e 5,42±0,42% respectivamente. Uma vez que o teor de hemicelulose, do total de fibras contidas na folha de macambira, foi de aproximadamente 53%, pode-se dizer que a macambira apresenta potencial de obtenção de pentoses, entre elas a xilose.

Na Tabela 3 observa-se que após o processo de hidrólise a concentração de hemicelulose diminui de 37,24% para 16,17% confirmando a extração de pentoses, já os teores de celulose alfa e lignina ocorre um aumento de 28,03% para 44,48% e 5,42%



para 23,13%, respectivamente, confirmando que a celulose e a lignina ficaram mais expostas após a retirada da hemicelulose.

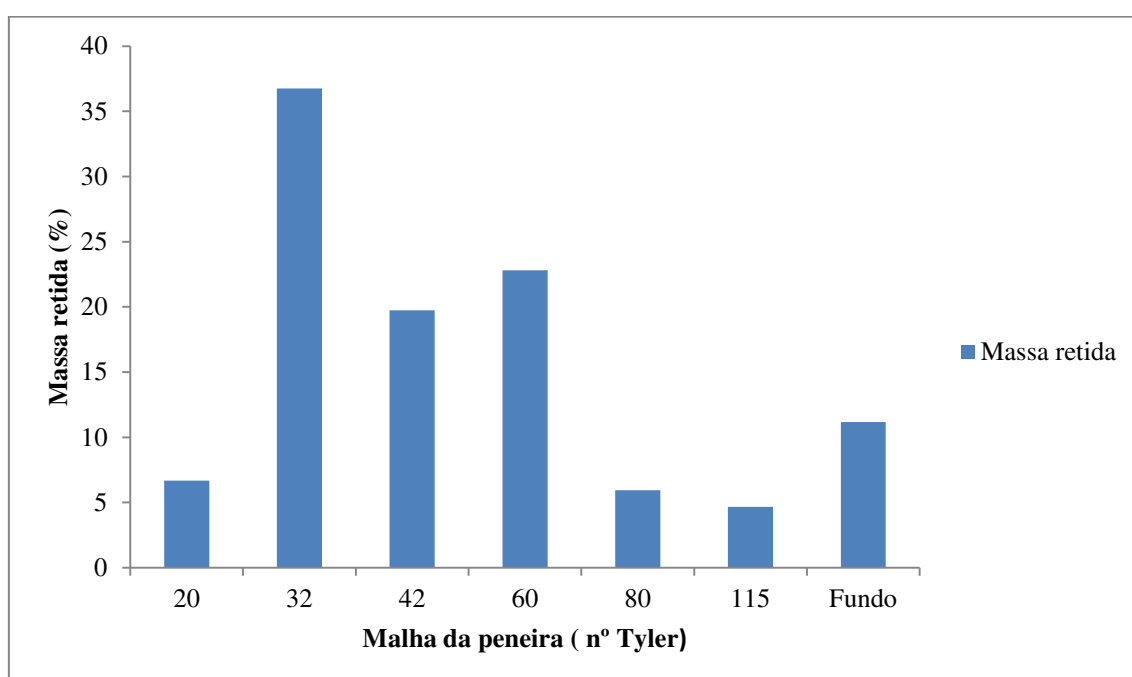
Pimentel (2012) verificando a composição química da fibra da macambira encontrou 58,7% de celulose alfa, 19,3% de hemicelulose e 12,6% de lignina. Verificando os dados da Tabela 3 pode-se concluir que a folha da macambira possui mais hemicelulose que a fibra sendo assim mais promissora que a fibra da macambira para extração de xilose.

Após a etapa de hidrólise observou-se um aumento no percentual de celulose e lignina, tal aumento também é reportado por diversos autores. Lima (2013) realizando a caracterização química do bagaço do pedúnculo do caju obteve valores de hemicelulose de 18,31 % e após a etapa de hidrólise ocorreu a redução na percentagem de hemicelulose para 19,30 % demonstrando a eficiência da hidrólise ácida na solubilização da xilose.

## 5.2. Estudo da distribuição granulométrica

Com o intuito de verificar o tamanho médio das partículas das folhas da macambira após a etapa de moagem realizou-se o estudo da distribuição granulométrica. Na Figura 5 é possível observar a distribuição granulométrica da farinha da folha da macambira pelas da massa retida nas peneiras analisadas.

**Figura 5** - Distribuição granulométrica da farinha da folha da macambira.

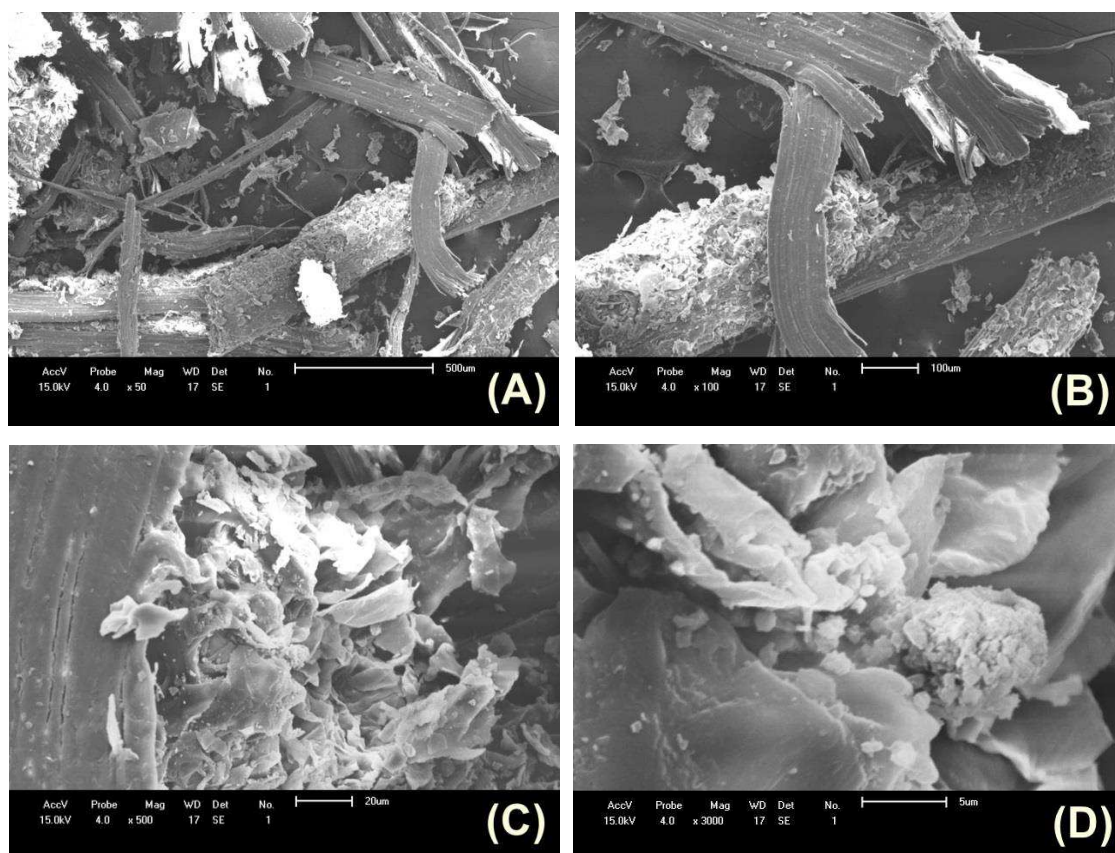


Aplicando a equação de Saute para determinação do diâmetro médio das partículas por meio das massas de folhas de macambira retidas e das malhas das peneiras, obteve-se diâmetro médio das partículas de 0,26 mm. As folhas de macambira com esse diâmetro foram as utilizadas para o processo de hidrólise ácida.

### 5.3. Microscopia eletrônica de varredura

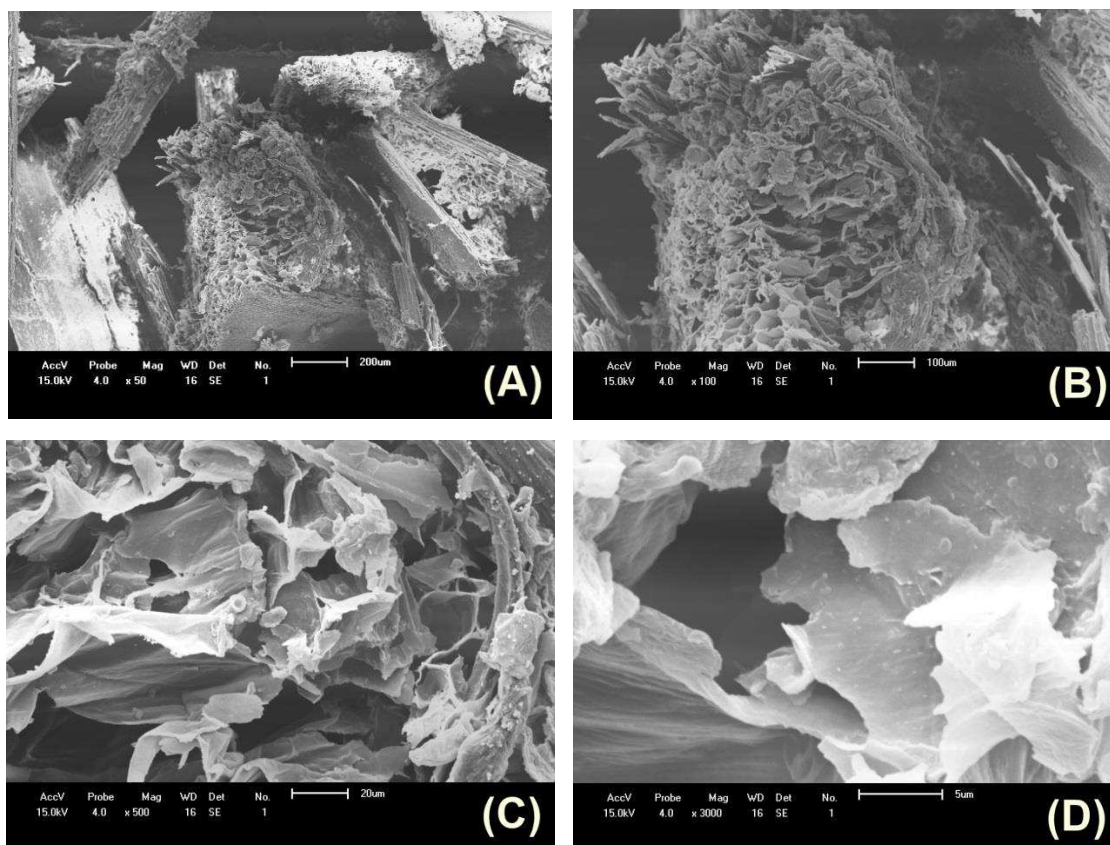
Com o intuito de verificar as modificações na estrutura lignocelulósica da macambira, foram realizadas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) na biomassa antes e depois da hidrólise com ácido diluído. As imagens obtidas da folha da macambira in natura podem ser observadas nas imagens 6A, 6B, 6C e 6D aumentada em 50, 100, 500 e 3000 vezes.

**Figura 6** - micrografias da macambira in natura aumentadas em 50 (A), 100 (B), 500 (C), e 3000 (D).



Na figura 7 observa-se as micrografias da folha da macambira após a etapa de hidrólise com ácido diluído com um aumento de 50, 100, 500, e 3000 vezes.

**Figura 7** - micrografias da macambira hidrolisada aumentada em 50 (A), 100 (B), 500 (C), e 3000 (D).



Nas Figuras 6 e 7 é possível observar as micrografias da folha de macambira antes e depois da hidrólise. Nas imagens 6A, 6B, 6C e 6D a estrutura da fibra apresenta-se mais compacta, com estrutura organizada e fibras mais agregadas.

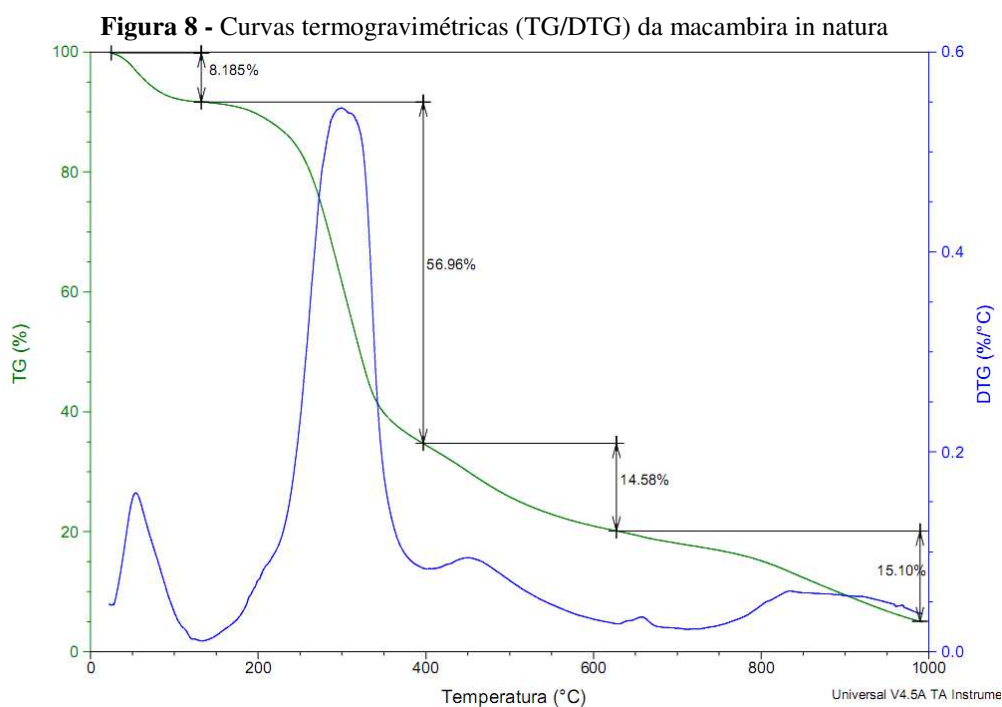
Comparando as imagens 6 e 7, observa-se que, após a etapa de hidrólise com ácido diluído, ocorrem alterações significativas na morfologia do material.

Na Figura 7 observa-se que ocorreu uma mudança na estrutura fibrosa do material tornando a fibra mais aberta após a hidrólise com ácido diluído confirmando que parte da hemicelulose foi retirada.

#### **5.4. Caracterização Termogravimétrica (TG/DTG)**

As análises termogravimétricas da macambira foram realizadas nas amostras in natura e após a etapa de hidrólise com a finalidade de avaliar a modificação do material.

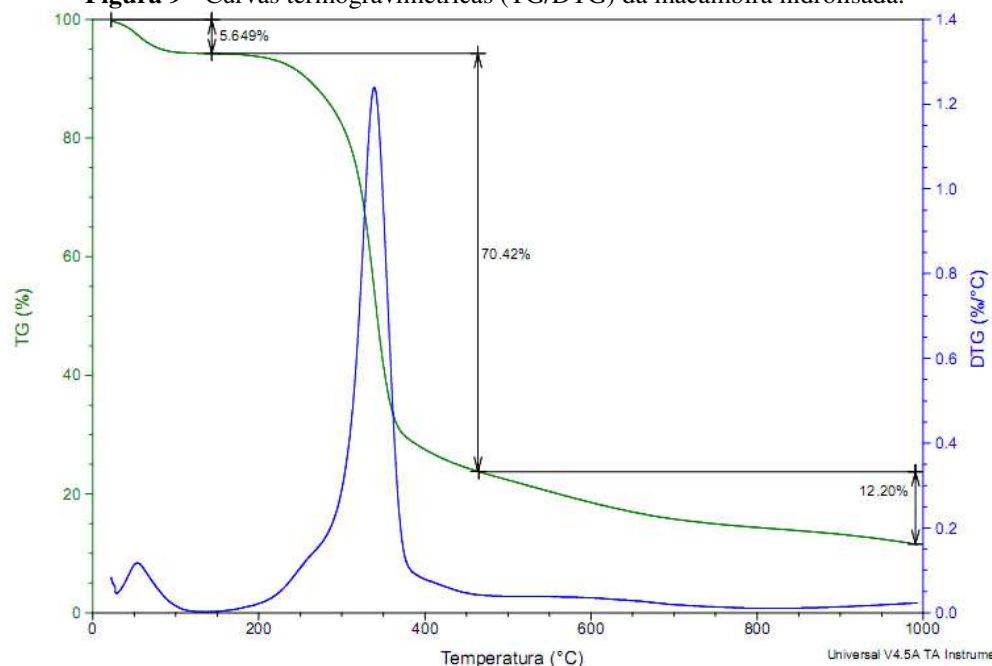
Nas Figuras 8 e 9 é possível observar as curvas termogravimétricas da macambira in natura (8) e da macambira hidrolisada a 120 °C e concentração de ácido 3% na Figura 9.



As curvas termogravimétricas (TG/DTG) da macambira in natura (Figura 8) apresentaram quatro etapas de perda de massa, restando 5,1% de cinzas. A primeira etapa de perda de massa pode ser atribuída à desidratação e ocorreu no intervalo de temperatura de 25 a 150 °C indicando 8,1 % de perda de massa. A segunda etapa, atribuída à decomposição da hemicelulose e celulose, ocorreu no intervalo de temperatura de 190 a 400 °C indicando 56,9% de perda de massa. A terceira e quarta etapas, podem ser atribuídas à decomposição da celulose e lignina, ocorreram nos intervalos de temperatura de 401 a 600 °C e 600 a 1000 °C indicando 14,58 e 15,1% de perdas de massa, respectivamente.

Na Figura 9 é possível observar as curvas termogravimétricas da macambira hidrolisada a 120 °C e concentração de ácido 3%.

**Figura 9** - Curvas termogravimétricas (TG/DTG) da macambira hidrolisada.



As curvas termogravimétricas (TG/DTG) da macambira hidrolisada (Figura 9) apresentaram três etapas de perda de massa, a primeira etapa, atribuída à perda de umidade, ocorreu no intervalo de temperatura de 25 a 100 °C indicando 5,6% de perda de massa. A segunda etapa, atribuída à decomposição da hemicelulose e celulose, ocorreu no intervalo de temperatura de 200 a 450 °C indicando 70,4% de perda de massa. A terceira etapa, atribuída à decomposição da celulose e lignina, ocorreu no intervalo de temperatura de 450 a 1000 °C indicando 12,2% de perda de massa.

A partir das curvas obtidas foi possível determinar o número de etapas de perda de massa, o intervalo de temperatura em que elas aconteceram e a porcentagem de massa perdida associada a cada uma delas. Os dados obtidos se encontram disponíveis na Tabela 4.

**Tabela 4** - Dados obtidos nas curvas TG/DTG da folha da macambira in natura e hidrolisada

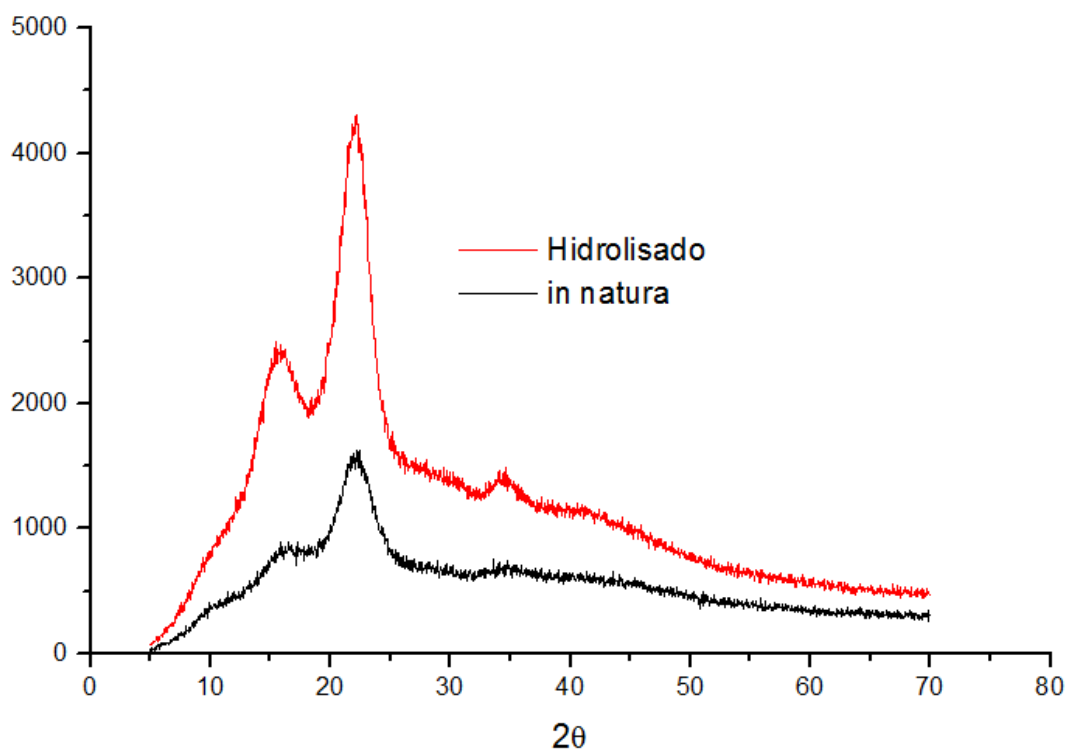
| Amostra     | Etapas | Temperatura (°C) | Atribuições             | Perda de Massa (%) |
|-------------|--------|------------------|-------------------------|--------------------|
| In natura   | 1      | 25 - 150         | Umidade                 | 8,1                |
|             | 2      | 190 - 400        | Hemicelulose e Celulose | 56,9               |
|             | 3      | 401 - 600        | Celulose e Lignina      | 14,58              |
|             | 4      | 600 - 1000       | Lignina                 | 15,1               |
| Hidrolisada | 1      | 25 - 100         | Umidade                 | 5,6                |
|             | 2      | 200 - 450        | Hemicelulose e Celulose | 70,4               |
|             | 3      | 450 - 1000       | Celulose e Lignina      | 12,2               |

Observando-se o perfil da curva TG da folha da macambira hidrolisada que foi obtido, nota-se que foi parecido com o da fibra da macambira relatado por Pimentel (2012) que ao analisar a fibra da macambira por TG, constatou que no intervalo de 0 a 150 °C ocorre uma etapa de perda de massa atribuída a umidade, a fibra começa a sofrer degradação a 210 °C, a 340 °C a fibra perde grande parcela de sua composição orgânica e a 400 °C 65% de material foi degradado.

### 5.5. Caracterização por Difractometria de raios X (DRX)

Na figura 10 observa-se os difratogramas que foram obtidos das folhas da macambira in natura e após a etapa de hidrólise com ácido diluído.

Figura 10 - DRX da folha de macambira in natura e hidrolisada.



Os difratogramas das folhas da macambira (Figura 10) indicam os picos referentes aos planos cristalinos, que característicos dos materiais lignocelulósicos: 15° (plano 101), 23° (plano 002) e 34° (plano 040) Os materiais lignocelulosicos como é o caso das folhas da macambira, são constituídos basicamente de lignina, hemicelulose e celulose, sendo que a lignina e a hemicelulose são macromoléculas amorfas, a remoção da hemicelulose tende a expor a cristalinidade da celulose, neste caso observa-se que no material hidrolisado com uma solução de ácido 3% e temperatura de 120 °C, a parte



crystalina do material se torna mais exposta, fenômeno este que foi observado nos trabalhos de Leão (2014).

### 5.6. Acompanhamento cinético da hidrólise com ácido diluído

Com a finalidade de encontrar o tempo de maior hidrólise da hemicelulose da folha de macambira, realizou-se um acompanhamento cinético do processo conduzidas a 100 °C, 120 °C e 140 °C. Alíquotas do hidrolisado foram coletados nos tempos de 60 min, 90 min, 120 min, 150 min, 180 min e 240 min.

Na figura 11 podemos observar os resíduos das folhas de macambira após a hidrólise ácida. Observa-se por meio dessa figura mudança de cor do material fibroso, essa mudança está associada à degradação do material lignocelulósico, ou seja, quanto mais escuro mais degradado está a biomassa. A cor pode variar da cor natural até a cor preta que representa a presença da lignina residual.

**Figura 11-** Aparência dos resíduos da hidrólise em diferentes concentrações, temperaturas e tempo.



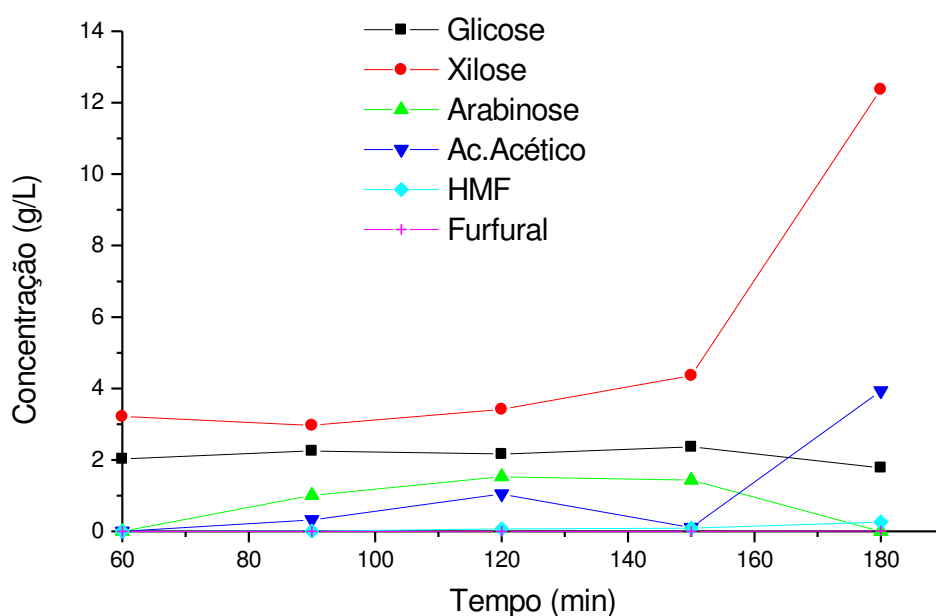
Fonte: Registrada pelo auto (2015).

Na temperatura de 100 °C e concentração do ácido sulfúrico de 1% quase não ocorre modificação de cor do material, Na temperatura de 120 °C e concentração de 3% após 240 min de reação ocorre o escurecimento do material indicando que provavelmente o material já apresenta lignina residual. Na temperatura de 140 °C e 5% após 120 min de reação começa a ocorrer a degradação do material.

Esse comportamento visual pode ser correlacionado com as medidas das concentrações de hexoses (glicose) ou das pentoses (xilose e arabinose) formadas, bem como, de substâncias de condensação ou inibidoras. Sendo assim, pode-se concluir que na temperatura de 120 °C e concentração de ácido de 3% e 140 °C e concentração de ácido de 5% essa degradação ocorre dos tempos de 4h e 2h respectivamente.

Na Figura 12 verifica-se o comportamento da hidrólise da folha de macambira na temperatura de 100 °C e concentração de ácido sulfúrico de 1%.

**Figura 12** - Acompanhamento cinético da hidrólise a 100 °C e 1% de ácido sulfúrico.

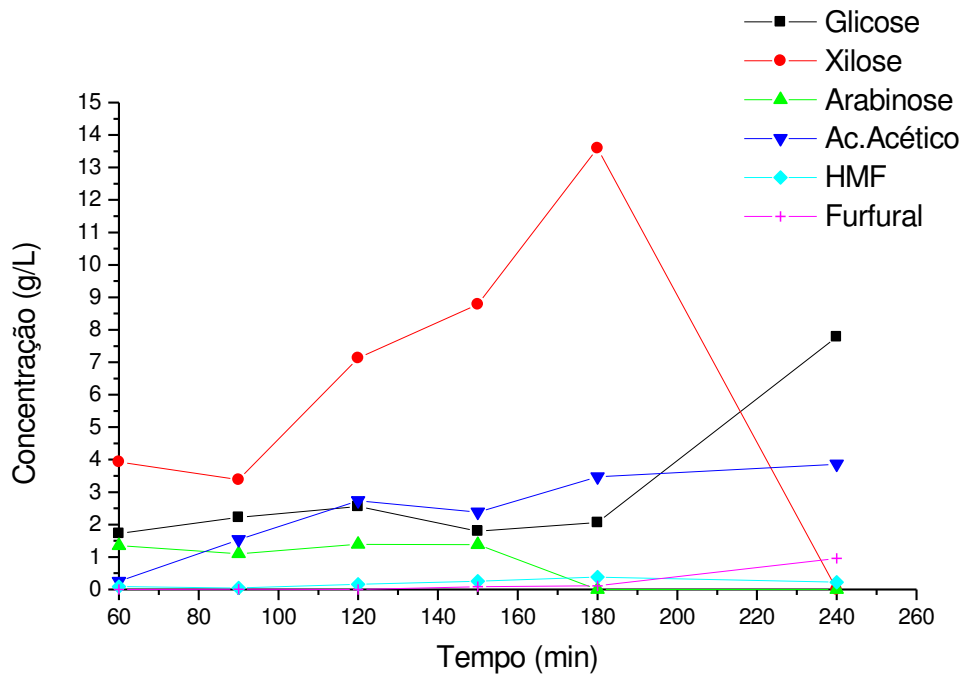


A hemicelulose, como esperado, foi hidrolisada em xilose e arabinose. A concentração máxima da xilose obtidas nas condições estudadas foi de 12 g/L e 180 minutos de reação, tempo máximo do monitoramento cinético. A formação máxima de glicose ocorreu em 60 min e permaneceu constante em 2 g/L até o tempo final estudado no presente trabalho, verifica-se que não houve degradação dessa glicose em HMF. É relevante mencionar que houve formação do ácido acético e que com o aumento da concentração da xilose ocorreu o aumento da concentração desse ácido.

Na Figura 13 observa-se o acompanhamento cinético da hidrólise a uma temperatura de 120 °C e concentração de ácido 3%.



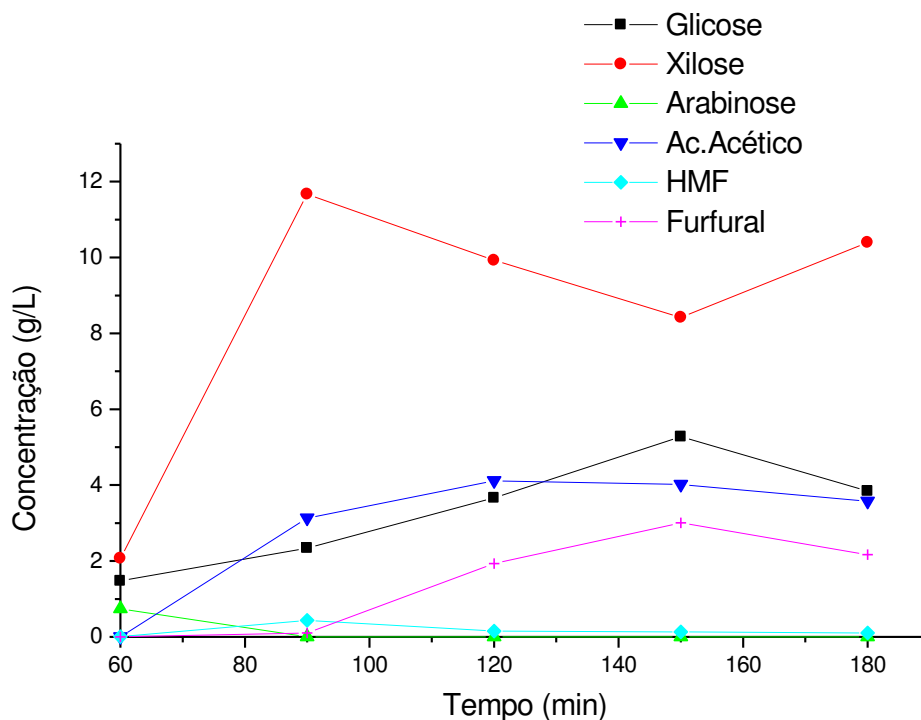
**Figura 13** - Acompanhamento cinético da hidrólise a 120°C e 3% de ácido sulfúrico.



Na temperatura de 120 °C e concentração de 3% de ácido obteve-se a concentração máxima de xilose igual a 13,5 g/L em 180 minutos. Esse valor é aproximadamente 12% maior do que o obtido nas condições de temperatura e concentração de 100 °C e 1% de ácido. Após esse tempo a xilose começa a ser degradada chegando a concentração de 0 g/L em 240 minutos, e a glicose passa de 2 g/L a 7,7 g/L, também ocorre a formação de HMF e furfural como pode ser verificado na figura 13.

Na Figura 14 observa-se o acompanhamento cinético da hidrólise a uma temperatura de 140 °C e concentração de ácido 5%.

**Figura 14** - Acompanhamento cinético da hidrólise a 140°C e 5% de ácido sulfúrico.



Na temperatura de 140°C e concentração de ácido 5%, a concentração máxima de xilose é obtida em 90 minutos chegando a 11,6 g/L, em seguida ocorre um decaimento da concentração indicando que ocorre a degradação da xilose, devido as condições de temperatura elevada. Ocorre um aumento na concentração da glicose até o tempo de 150 minutos e em seguida uma diminuição na concentração, como é possível observar na figura 14.

A partir dos melhores resultados de concentração de xilose obtidos nos ensaios de hidrólise com ácido diluído, foi possível calcular os rendimentos em xilose onde observou-se que para as temperaturas de 100; 120 e 140 °C os rendimentos foram 28,3%; 31,9% e 27,41% respectivamente, observa-se que a temperatura de 120 °C e 3% de ácido se obtém um rendimento maior, com uma concentração de 13,5 g/L de xilose em um tempo maior comparando com o resultado obtido na temperatura de 140 °C, porém a temperatura de 120 °C e concentração de 3% foi a escolhida para a etapa de fermentação, por serem utilizadas condições mais brandas de temperatura e concentração de ácido e por apresentar melhor rendimento.

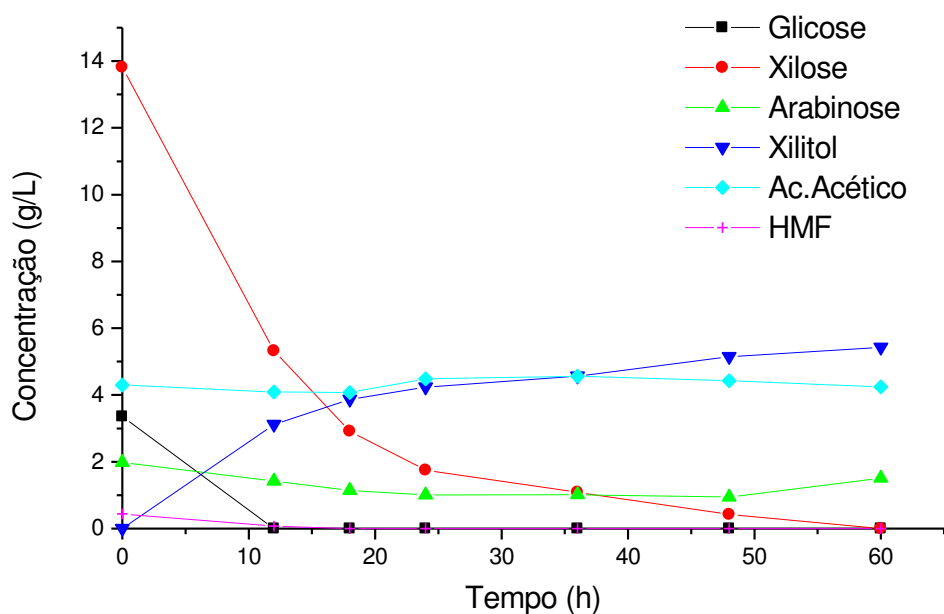
Os comportamentos cinéticos obtidos corroboram com os mencionados na literatura, pois segundo Machado e Abreu (2007) utilizando-se temperaturas elevadas

mesmo com concentrações de ácido baixas o tempo de reação diminui drasticamente. Já em processos que se utilizam temperaturas baixas mesmo com concentrações elevadas de ácido o tempo de reação aumenta podendo chegar de 2 a 6 horas. Processo fermentativo

### 5.7. Fermentação da xilose

Com a finalidade de avaliar o potencial de produção de xilitol obtido da xilose da hidrólise da folha macambira foi realizada a fermentação utilizando a *Candida guilliermondii* CCT1516 inoculado no licor hidrolisado. A Figura 15 apresenta o comportamento da cinética da fermentação.

**Figura 15** - Acompanhamento cinético da fermentação para produção de xilitol



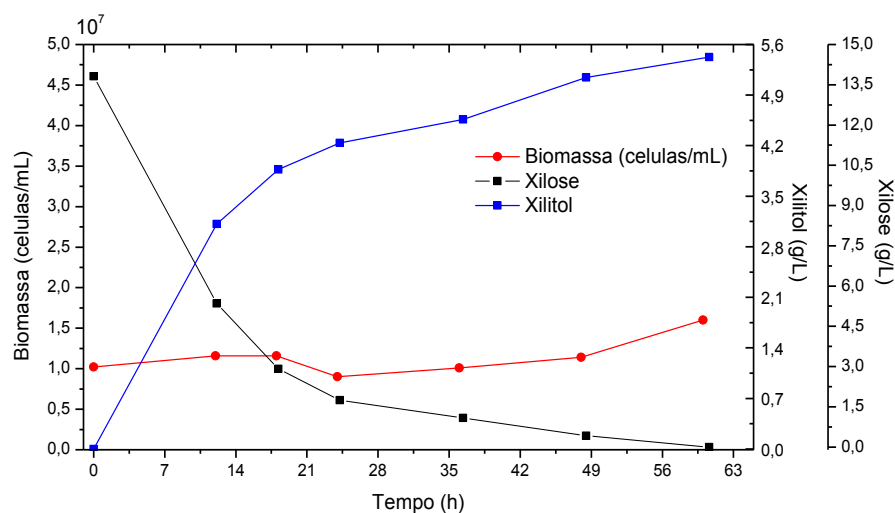
Nota-se que a concentração de xilose ao início da fermentação era de 13,8 g/L e após 60 horas de fermentação este valor cai para zero. Nesse mesmo período a *Candida guilliermondii* metaboliza a xilose e a transforma em xilitol produzindo ao final da fermentação 5,4 g/L.

A conversão de xilose em xilitol foi igual a 42,8% e produtividade volumétrica igual a 0,09 g/Lh, porém se analisarmos o tempo de 24 horas a produtividade volumétrica é mais alta e em torno de 0,17 g/Lh com uma pequena diferença na eficiência de conversão de xilose em xilitol igual 38,2 %.

Os parâmetros cinéticos avaliados ainda são baixos e o procedimento de fermentação ainda necessita ser otimizado para obtenção de melhores rendimentos.

Pela Figura 16 pode-se observar os perfis cinéticos de conversão de xilose em xilitol, consumo de xilose (substrato limitante) e crescimento microbiano referente ao ensaio fermentativo utilizando o licor hidrolisado.

**Figura 16** - Perfil cinético da produção de xilitol e consumo de xilose e comportamento microbiano em função do tempo para fermentação do licor hidrolisado.



Apesar de ter ocorrido a produção de xilitol em torno de 5,4 g/L no tempo de 60 horas com rendimentos baixos de conversão de xilose em xilitol, observa-se pelo gráfico que não ocorreu crescimento do microrganismo, ficando quase estável em  $1 \times 10^7$  células/mL. A *Candida guilliermondii* utilizou toda a fonte de carbono para produção de xilitol. O crescimento desse microrganismo durante o processo fermentativo pode ter sido inibido devido quantidade de ácido acético presente no licor hidrolisado, em torno de 4,3 g/L, comprometendo assim a formação de xilitol.

## 6. CONCLUSÃO

Por meio da composição química das folhas de macambira foi possível verificar que as folhas de macambira possuem em sua composição um baixo percentual de lignina, o que favorece a hidrólise da biomassa lignocelulósica, também possui quantidades consideráveis de hemicelulose que podem ser utilizados para a produção de xilitol a partir da xilose.

O acompanhamento cinético da hidrólise da folha da macambira em diferentes condições permitiu observar a melhor condição de operação da hidrólise ocorrendo a temperatura de 120 °C e concentração de ácido 3%, por um período de 3 horas de reação, onde observa-se a condição de maior extração de xilose.

Em condições de temperaturas iguais a 120 °C, e 140 °C e concentração de ácido de 3% e 5% há formação do ácido acético inibidor da *Candida guilliermondii*.

Na fermentação foi possível constatar que toda a xilose foi consumida e o xilitol foi produzido em concentração de 5,4 g/L.

A eficiência de conversão de xilose em xilitol foi igual a 42,8% e produtividade volumétrica igual a 0,09 g/Lh.

## 7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros pode-se realizar a otimização da hidrólise com a finalidade de obtenção de melhores rendimentos. Eliminação do ácido acético por processo de evaporação. Utilização de enzimas xilanases para a hidrólise enzimática da hemicelulose pelo fato da hidrólise enzimática ser mais seletiva e com maiores taxas de conversão sem a formação de inibidores já que não se utiliza temperaturas elevadas.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, T. L.; JUNIOR, I. J. da S.; MACEDO, G. R. DE.; ROCHA, M. V. P. Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: A review. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 49, n. 11, p.1779-1789, nov. 2014.

ANGELIM, A. E. S.; MORAES, J. P. S. DE.; SILVA, J. A. B. DA.; GERVÁSIO, R. C. R. G. Germinação e Aspectos Morfológicos de Plantas de Macambira (*Bromelia laciniosa*), encontradas na Região do Vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p.1065-1067, jul. 2007.

BARBOSA, M. F. S. , M. B. DE MEDEIROS; I.M. DE MANCILHA; H. SCHNEIDER; H. LEE. Screening of yeasts for production of xylitol from D-xylose and some factors which affect xylitol yield in *Candida guilliermondii*. **Journal of Industrial Microbiology**, San Diego, v3, p.241-251, 1988.

CAMPOS, D. B. da C. **Hidrólise enzimática do bagaço deslignificado do pedúnculo do caju (*anarcadium occidentale lineu*) para produção de bioetanol**. 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Pós- Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2011.

CARDOSO, V. M. **Aplicação da radiação de feixe de elétrons como pré-tratamento do bagaço da cana-de-açúcar para hidrólise enzimática da celulose**. Dissertação (mestrado) curso de mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear, SÃO PAULO 2008.

CHRISTOFOLETTI, G. B. **Estudo dos efeitos de etapas de pré-tratamento na hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar**, Dissertação de Mestrado, USP, São Carlos-SP, 2010.

COSTA, A. G.; PINHEIRO, F. G. C.; PINHEIRO, G. C.; SANTOS, A. B. DOS.; SANTAELLA, S. T.; LEITÃO, R. C. Geração de metano a partir de resíduos

lignocelulósicos oriundos da produção do biocombustível: revisão. **Revista DAE**, [s.l.], v. 62, n. 194, p.36-51, 2014.

CUNHA, Pablyana Leila R. da; PAULA, Regina Célia M. de; FEITOSA, Judith P. A.. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, [s.l.], v. 32, n. 3, p.649-660, 2009.

FARIAS, N. S. de. Cavalcanti, M. T.; Eller; S. C. W. de S.; Feitosa, V. A.; Florentino, E. R. ELABORAÇÃO DE BISCOITOS TIPO COOKIE ENRIQUECIDO COM MACAMBIRA (Bromélia laciniosa). **Revista Verde**, Mossoró, v. 6, n. 4, p.50-57, 2011.

FONSECA, M. J. de O. **Estudo da hidrólise ácida com ácido clorídrico em água e etanol na qualidade da polpa de eucalyptus spp. e pinus spp. para aplicação na produção de papel de impressão e carboximetilcelulose (CMC)**. 2014. 131 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Industrial, Centro Universitário do Leste de Minas Gerais, Unileste, Coronel Fabriciano, 2014.

FRANCISCO JUNIOR, W. E.. Carboidratos: estrutura, propriedades e funções. **Química Nova na Escola**, v. 29, p. 8-13, 2008.

LEÃO, D. A. S. **Potencialidade de obtenção de etanol a partir da fibra do sisal**. 2014. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Processos, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2014.

LEE, S. S.; ROBINSON, F. M.; WONG, H. Y. Rapid determination of yeast viability. **Biotechnology Bioengineering Symposium**, n.11, 1981.

LIMA, C. S.S.; CONCEIÇÃO, M. M.; SILVA, F. L.H.; LIMA, E. E.; CONRADO, L. S.; LEÃO, D. A. S. Characterization of acid hydrolysis of sisal. **Applied Energy**, [s.l.], v. 102, p.254-259, fev. 2013.

LIMA, F. C. dos S. **Produção de xilitol utilizando licor da pré-hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo do caju**. 2013. 157 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia

de Processos, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2013.

LIMA, L. H. A. **Estudos dos genes XYL1 e XYL2 de candida tropicalis visando a produção de xilitol.** 2006. 177 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Biologia Molecular, Biologia Molecular, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

MACHADO, C. M. M.; ABREU, F. R. . Produção de álcool combustível a partir de carboidratos. **Revista de Política Agrícola**, v. 15, p. 64-82, 2007.

MAGALHÃES, T. Caatinga: um bioma exclusiva- mente brasileiro... e o mais frágil. **Revista do Instituto Humanitas Unisinos**, São Leopoldo, v. 1, n. 389, p.6-8, 23 abr. 2012.

MENEZES, C. R. DE.; SILVA, Í. S.; PAVARINA, É. C.; FARIA, A. F. DE.; FRANCISCON E.; DURRANT L. R. Production of xylooligosacharides from enzymatic hydrolysis of xylan by White-rot fungi *Pleurotus*. **Acta Scientiarum. Technology**. Maringá, v. 32, n. 1, p. 37-42, 2010.

MORAIS, J. P. S; ROSA, J. M; MARCONCINI, M. F. Procedimentos para análise lignocelulósica. - Campina Grande: Embrapa Algodão, Documentos, 236, 54 p, 2010.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas: Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 38, n. 4, p.401-413, 2002.

NUNES, B. R. P. **Avaliação do uso da argila vermiculita como catalisador no processo de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar.** 2015.120 f. Tese (Doutorado)-Curso de em Engenharia Química, Universidade Federal de Campina Grande, CAMPINA GRANDE. 2015.

ORTEGA, C. C.; E, E. V.; ARAIZA, M. Á. Influencia de un enjuague a base de fluoruro y xilitol en la remineralización in vitro del esmalte en dientes temporales. **Revista Odontológica Mexicana**, Cidade Universitária, v. 17, n. 4, p.204-209, dez. 2013.



PASSARINHO, A. T. P. **Produção e caracterização de xilanases derivadas do gene XynA de *Orpinomyces* PC-2 e avaliação da eficiência para hidrólise de farinha e clarificação de sucos.** 2014. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia, Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2014.

DE PAULA, M. P.; LACERDA, T. M.; ZAMBON, M. D.; FROLLINI, E. Hidrólise ácida de celulose de sisal: estudos visando obtenção de nanofibras e de bioetanol. Congresso Brasileiro de Polímeros, 10., 2009. Foz do Iguaçu. *Anais...Foz do Iguaçu*, 2009.

De PAULA, M. P. **Hidrólise ácida de polpa de sisal: características do processo heterogêneo e estudo das reações correlatas.** 2009. 143 f. Dissertação (Mestrado em Ciências)-Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, São Carlos. 2009.

PIMENTEL, J. R. de M.. **Caracterização e análise das propriedades da fibra de Macambira (*Bromelia Laciniosa*).** 2012. 54 f. Dissertação (Mestrado) – curso de engenharia mecânica, Centro de Tecnologia; curso de Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

PING, Y.; Ling, H.; Song, G.; Ge, J. Xylitol production from non-detoxified corncob hemicellulose acid hydrolysate by *Candida tropicalis*. **Biochemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 75, p.86-91, jun. 2013.

RAFIQUL, I. S. M.; SAKINAH, A. m. Mimi. Kinetic studies on acid hydrolysis of Meranti wood sawdust for xylose production. **Chemical Engineering Science**, [s.l.], v. 71, p.431-437, mar. 2012.

RAMBO, M. K. D. **Aproveitamento da casca de arroz para produção de xilitol e sílica serogel.** 2009. 117 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

SANTOS, I. D. **Influência dos teores de lignina, holocelulose e extrativos na densidade básica, contração da madeira e nos rendimentos e densidade do carvão vegetal de cinco espécies lenhosas do cerrado.** Dissertação (Mestrado) – curso de Engenharia Florestal, Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília. Brasília. Distrito Federal, 2008.

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 *Candida guilliermondii* in sugarcane bagasse hydrolysate. **Brazilian Journal Of Microbiology**, [s.l.], v. 35, n. 3, p.248-254, 2004.

SILVA, O. G. **Produção de Etanol com a Utilização do Bagaço de Cana-de-Açúcar,** Trabalho de Graduação, Faculdade de Tecnologia de Araçatuba, Araçatuba – SP, 2010.

SILVA, S. S.; VITOLO, M.; MANCILHA, I. M.; ROBERTO, I. C.; FELIPE, M. G. A.; Xilitol: um adoçante alternativo para a indústria de alimentos. **Alim. Nutr.**, v. 5: p.109-117, São Paulo. 1994.

TRAVASSOS, Ibrahim Soares; SOUZA, Bartolomeu Israel de; SILVA, Anieres Barbosa da. SECAS, DESERTIFICAÇÃO E POLÍTICAS PÚBLICAS NO SEMIÁRIDO NORDESTINO BRASILEIRO. **Revista Okara: Geografia em debate**, João Pessoa, v. 7, n. 1, p.147-164, 2013.

ZANCANARI, J S. **Produção de xilitol: Revisão das pesquisas relacionadas à sua produção nos últimos anos e principais aplicações.** 2012. 35 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Bioquímica, Engenharia Bioquímica da Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2012.