



**GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO**  
**SECRETARIA DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO**  
**ECONÔMICO**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA DE LORENA - FAENQUIL**  
**DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGIA**

**Tese de Doutorado**

**ESTUDO DO PROCESSO DE CRISTALIZAÇÃO DE XILITOL**  
**OBTIDO POR VIA FERMENTATIVA**

**Ernesto Acosta Martínez**

**Lorena – SP – Brasil**  
**2005**

## Ficha Catalográfica

Elaborada pela Biblioteca Universitária - FAENQUIL

Martínez, Ernesto Acosta  
M385e Estudo do processo de cristalização de xilitol obtido por  
via fermentativa./ Ernesto Acosta Martínez.--Lorena, 2005.

175f.

Tese (doutorado) – Faculdade de Engenharia Química  
de Lorena. Departamento de Biotecnologia.

Orientador: João Batista de Almeida e Silva, Co-orientador:  
Marco Giulietti

1. Biotecnologia. 2. Cristalização. 3. Hidrolisado  
hemicelulósico - bagaço de cana. 4. Xilitol. I. Almeida e Silva,  
João Batista de orient II Título

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA DE LORENA  
DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL

ESTUDO DO PROCESSO DE CRISTALIZAÇÃO DE XILITOL  
OBTIDO POR VIA FERMENTATIVA

Tese de Doutorado  
apresentada como parte das  
exigências para a obtenção  
do título de Doutor em  
Biotecnologia Industrial

**Banca Examinadora:**

Dr. João Batista de Almeida e Silva (Orientador)  
Dr. Marco Giulietti (Co-Orientador)  
Dr. Silas Derenzo  
Dra. Inês Conceição Roberto  
Dr. Ismael Maciel de Mancilha

**Estudante:**

Ernesto Acosta Martínez

**Lorena - SP - Brasil  
2005**

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA DE LORENA  
DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL

ESTUDO DO PROCESSO DE CRISTALIZAÇÃO DE XILITOL  
OBTIDO POR VIA FERMENTATIVA

Este exemplar corresponde a  
versão final da Tese de  
Doutorado aprovada pela  
banca examinadora

---

**Dr. João Batista de Almeida e Silva**  
Orientador e Presidente da Banca Examinadora

**Lorena - SP - Brasil**  
**2005**

## RESUMO

### **Estudo do processo de cristalização de xilitol obtido por via fermentativa.**

Ernesto Acosta Martínez. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial. Departamento de Biotecnologia. Faculdade de Engenharia Química de Lorena. Orientador: Dr. João Batista de Almeida e Silva, Co-orientador: Dr. Marco Giuliatti (FAENQUIL, C.P. 116, 12.600-970, Lorena, S.P, Brasil). Banca Examinadora: Dr. Silas Derenzo, Dr<sup>a</sup>. Inês Conceição Roberto, Dr. Ismael Maciel de Mancilha. Março de 2005.

O objetivo do presente trabalho é o desenvolvimento de uma tecnologia para a produção biotecnológica de xilitol utilizando o hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar com ênfase no estudo do processo de cristalização.

O hidrolisado hemicelulósico obtido por hidrólise ácida do bagaço, foi concentrado a vácuo e tratado com resinas de troca iônica, resultando num licor com 177,8 g/L de xilose.

As fermentações (88 g/L de xilose) de meio sintético (MS) e de hidrolisado (HB) foram realizadas nas condições de pH 5,0,  $k_{La}$  30 h<sup>-1</sup>, 300 rpm e 30 °C em fermentador de 15 L. Foram obtidos valores de produtividades volumétricas (0,665 e 0,478 g/L.h) e fatores de rendimentos em xilitol (0,7024 e 0,7502 g/g), respectivamente.

Após a centrifugação, tratamento e concentração dos licores fermentados a partir de MS e HB foram obtidos xaropes com 745,3 g/L de xilitol e com 935,4 g/L de xilitol e 13,1 g/L de arabinose, respectivamente.

O estudo cinético da cristalização do xilitol comercial utilizando *experimentos-modelo* permitiu obter os parâmetros cinéticos da cristalização do açúcar:  $B_N$  ( $4,76 \cdot 10^{-18}$ ),  $m$  (3,438),  $n$  (2,438) e  $g$  (2,438).

A cristalização dos xaropes de xilitol obtidos por via fermentativa nas condições  $T = 50$  °C e  $VR = 0,5$  °C/min proporcionaram cristais com 95 e 85 % de pureza, a partir de MS e HB, respectivamente. Os produtos foram filtrados a vácuo, lavados, secados e posteriormente peneirados. Na segunda etapa de cristalização do xilitol, foram obtidos cristais com 98-99 % e 92-94 % de pureza, a partir de MS e HB, respectivamente.

## ABSTRACT

**Study of the crystallization process of xylitol obtained by biotechnological routes.** Ernesto Acosta Martínez. Doctorate Thesis. Post-Graduation Program in Industrial Biotechnology. Department of Biotechnology. Chemical Engineering Faculty of Lorena. Supervisor: Dr. João Batista de Almeida e Silva Co-Supervisor: Dr. Marco Giulietti (FAENQUIL, C.P. 116, 12.600-970, Lorena, S.P., Brazil). Examining Board: Dr. Silas Derenzo, Dr. Inês Conceição Roberto, Dr. Ismael Maciel de Mancilha. March, 2005.

This work deals with the development of a technology for xylitol production from sugarcane hemicellulosic hydrolysate by biotechnological routes with emphasis in the study of the crystallization process.

The hemicellulosic hydrolysate obtained by acid hydrolysis of sugarcane bagasse, concentrated and treated with ion-exchange resins resulted in a liquor with 177.8 g/L of xylose.

The fermentations (88 g/L of xylose, pH 5.0,  $k_L a$  30 h<sup>-1</sup>, 30 °C and 300 rpm) of synthetic medium (SM) and of hydrolysate (H) were carried out in a 15-L Bioengineering fermentator. Xylitol volumetric productivities of 0.665 and 0.478 g/L.h and yields of 0.7024 and 0.7502 g/g were obtained from SM and H fermentation processes, respectively.

The fermented broths were centrifugated, treated and concentrated. Syrups were obtained with 745.3 g/L of xylitol from SM and with 935.4 g/L of xylitol and 13.1 g/L of arabinose from H.

The kinetics of commercial xylitol crystallization was studied using *model-experiments*. Kinetics parameters such as  $B_N$  ( $4.76 \cdot 10^{-8}$ ),  $m$  (3.438),  $n$  (2.438) and  $g$  (2.438) were obtained from sugar crystallization.

Xylitol syrups from SM and H fermentation process were crystallized at 50 °C (saturation temperature) and 0.5 °C/min (linear cooling rate) and crystals were obtained with 95 and 85 % of purity, respectively. At the end of each experiment the product was filtered, washed, dried and subsequently sieved. Xylitol crystals with 98-99 % (MS) and 92-94 % (H) of purity were obtained as a result of the second step of xylitol crystallization.

*Às minhas filhas Airis e Arlet, por suportarem estes momentos de distanciamento.*

*Aos meus pais Cristóbal e Dolores, meus irmãos e amigos Tania, Rodolfo e Edson, pelo carinho, incentivo e por me darem forças para terminar meus estudos.*

*Ao meu irmão Alexei ("in memoriam"), por sempre estar ao meu lado.*

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro.

Ao Departamento de Biotecnologia da Faculdade de Engenharia Química de Lorena (FAENQUIL) pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Agrupamento de Processos Químicos do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT) pelo apoio e suporte, sem o qual parte desta tese não teria sido realizada.

Ao Departamento de Ingeniería Química do Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), ao Ministério del Azúcar (MINAZ) e ao Ministério de Educación Superior (MES) da República de Cuba pelo respeito e confiança depositada em mim.

Ao meu amigo, irmão e orientador, Dr. João Batista de Almeida e Silva, pela confiança depositada em mim, pelas sugestões fornecidas para a realização deste trabalho e pelo respeito. A Marta pela amizade e carinho.

Ao meu amigo e orientador, Dr. Marco Giulietti pelas sugestões e confiança depositada em mim.

A minha amiga e orientadora, Ing. Ana Irene Nápoles Solenzal pelas idéias, sugestões, incentivo, carinho, confiança e amizade incondicional.

Aos pesquisadores e amigos Maria das Graças Almeida e Felipe, Inês Conceição Roberto, Arnaldo Marcio, Silas Derenzo, Wander Aldeia, Roberto Guardani Adalberto Pessoa Junior, Mariana Inês Rê, Marisa Zuccolo, Ismael Maciel de Mancilha e Modesto Danese pelas sugestões e apoio recebido.

Aos amigos Rita, Walter, Larissa, Tihany, Anderson, Andréa, Eliana, Paulinho, Solange, Giuliano, Giovanni, Martica, Lourdes, Daniel, Denise, Rose, Leysi, Pierre, Ju, Priscila, Klaus, Maria Helena, André, Ângela, Daniele, Eduardo, Leonardo, Mauricio, Teo, Rafael, Tama, Manganelly, Mercedes, Mabel, Yaremis, Tânia, Adolfo, Ivis, Antonio Bell, Pilar, Rosita, Maybis, Rafael Rivacoba, Irmã Ramos, Jussara, Líli, Francislene, Valkíria, Talita, Cristina, Ludmila, Terezinha, Ivani, Silvinho, Selma, Lílian, Tina e Gilda pelos ensinamentos de vida, momentos de alegria e de tristeza compartilhados e pelo apoio e amizade incondicional.

À Danisco Sweetener de Brasil pela doação do xilitol para os estudos iniciais de cristalização.



# ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE SIMBOLOS

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1. Biomassa Lignocelulósica.....	3
2.2. Xilitol .....	8
2.2.1. Propriedades e aplicações.....	8
2.3. Métodos de Obtenção do Xilitol .....	11
2.3.1. Obtenção de xilitol por via química .....	12
2.3.2. Obtenção de xilitol por via microbiológica .....	13
2.4. Purificação de hidrolisado hemicelulósico com resinas de troca iônica .....	24
2.5. Processo de cristalização .....	32
2.5.1. Cristalização de xilitol.....	54
3. OBJETIVOS .....	64
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	65
4.1. Obtenção e purificação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar com resinas de troca iônica.....	65
4.1.1. Matéria-prima e preparo do hidrolisado hemicelulósico .....	65
4.1.2. Etapas de concentração e tratamento do hidrolisado .....	65
4.2. Produção de xilitol por <i>Candida guilliermondii</i> em meio sintético e em hidrolisado hemicelulósico tratado com resinas de troca iônica.....	67
4.2.1. Microrganismo.....	67
4.2.2. Preparo de inóculo .....	67
4.2.3. Meio e condições de fermentação .....	68
4.2.4. Centrifugação do meio fermentado .....	68
4.2.5. Precipitação pela mudança de pH do licor centrifugado. ....	69
4.2.6. Tratamento do meio fermentado com resinas de troca iônica .....	69
4.2.7. Concentração do meio fermentado .....	70
4.3. Avaliação da cinética de cristalização de xilitol a partir de experimentos-modelo em cristalizador de batelada.....	70
4.3.1. Experimentos-modelo .....	70
4.3.2. Peneiramento.....	72
4.3.3. Obtenção da curva de solubilidade de xilitol em água e em mistura etanol (50 %)-água (50 %).....	73
4.4. Métodos analíticos .....	74
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	80

5.1. Obtenção e tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar rico em xilose. ....	80
5.2. Obtenção de xilitol pela fermentação de meio sintético e de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. ....	87
5.3. Purificação e concentração do meio fermentado .....	93
5.4. Obtenção das curvas de solubilidade de xilitol em água e em água-etanol. ....	96
5.5. Estudos preliminares de cristalização de xilitol comercial .....	98
5.6. Estudo da cinética de cristalização de xilitol comercial. ....	100
5.7. Experimentos-modelo utilizando xilitol obtido por via fermentativa. ....	114
5.8. Análise estatística dos resultados. ....	131
6. CONCLUSÕES.....	144
7. RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	146
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS. ....	147

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Fórmula estrutural do xilitol. ....	8
FIGURA 2. Esquema de equilíbrio dos açúcares, segundo MIKKOLA et al (1999). Da esquerda para direita, e de cima para baixo: xilose, xilitol, ácido xilônico, xilulose, arabinitol, e furfural. ....	13
FIGURA 3. Possíveis tecnologias para a produção de xilitol, segundo PARAJO et al. (1998a). ....	14
FIGURA 4. Esquema proposto para o metabolismo de xilose e glicose por leveduras (HAHN-HÄGERDAL et al., 1994).....	16
FIGURA 5. Modelo plano de uma resina de troca iônica catiônica.....	27
FIGURA 6. Curvas típicas de solubilidade.....	37
FIGURA 7. Efeito da supersaturação na cristalização, onde: $L_m$ é o tamanho médio de cristais; $G$ é a velocidade de crescimento; $N_N$ é a taxa de nucleação e $\Delta C$ é a supersaturação da solução.....	38
FIGURA 8. Dependência da energia livre ( $\Delta G$ ) com o tamanho de partícula ( $L$ ) (Sawada, 1998). ....	40
FIGURA 9. Diagrama de fases de um sistema binário sólido-líquido. ....	42
FIGURA 10. Solubilidade do xilitol e da sacarose em água (MANZ et al., 1973). .	55
FIGURA 11. Isotermas da solubilidade de xilitol em misturas água-etanol. $C_x$ : solubilidade do xilitol; $C_e$ : concentração de etanol. Temperatura (K): 1) 333, 2) 323, 3) 313, 4) 303, 5) 298, 6) 293, 7) 278. VYGLAZOV e KHOL'KIN (1984) .....	56
FIGURA 12. Fermentador usado para a obtenção de xilitol a partir da bioconversão de meio sintético e de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar por <i>C. guilliermondii</i> . ....	69
FIGURA 13. Sistema utilizado para realizar os estudos da cristalização de xilitol. .....	72
FIGURA 14. Sistema utilizado para realizar o estudo de solubilidade de xilitol comercial em água e em água-etanol. ....	74

FIGURA 15. Consumo de xilose e produção de xilitol por <i>C. guilliermondii</i> em meio sintético ( $\diamond, \Delta$ ), e em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica ( $\square, x$ ) respectivamente, durante o processo de fermentação descontínuo em reator de 15 litros. ....	88
FIGURA 16. Crescimento celular, pH e consumo de arabinose durante a produção de xilitol por <i>C. guilliermondii</i> em meio sintético ( $\diamond, \Delta, \text{não}$ ) e em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica ( $\square, x, *$ ) respectivamente, no processo de fermentação descontínuo em reator de 15 litros. ....	88
FIGURA 17. Variação da velocidade específica de consumo de xilose durante a fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica, por <i>C. guilliermondii</i> em reator de 15 litros. ....	92
FIGURA 18. Variação da velocidade específica de crescimento celular ( $\circ$ ) e de formação de xilitol ( $\Delta$ ) durante a fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica, por <i>C. guilliermondii</i> em reator de 15 litros. ....	92
FIGURA 19. Representação esquemática da variação da % mássica de xilitol em água em função do índice de refração (IR) a 70 °C. ....	97
FIGURA 20. Representação esquemática da variação da % mássica de xilitol em soluções água-etanol (50-50%) em função do índice de refração (IR) a 60 °C. ....	97
FIGURA 21. Solubilidade do xilitol grau analítico em água ( $\blacksquare$ ) e em água-etanol ( $\blacklozenge$ ) em função da temperatura. ....	98
FIGURA 22. Distribuição granulométrica (% acumulada, % diferencial) dos ensaios 22 ( $\blacksquare, \blacktriangle$ ), 23 ( $\times, *$ ) e 24 ( $\blacklozenge, \bullet$ ) respectivamente. ....	101
FIGURA 23. Linearização da distribuição granulométrica obtida nos experimentos realizados com temperatura de saturação 60 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min (ensaios 22 ( $\blacksquare$ ), 23 ( $\blacktriangle$ ) e 24 ( $\times$ )). ....	102
FIGURA 24. Variação do log da taxa de nucleação com o log da velocidade de crescimento de cristais de xilitol. ....	108

FIGURA 25. Valor máximo de $\Delta T$ em função da velocidade de resfriamento para os ensaios realizados com temperaturas de saturação de 40 ( $\diamond$ ), 50 ( $\square$ ) e 60 °C ( $\Delta$ ).....	111
FIGURA 26. Correlação entre o tamanho dominante calculado e o experimental dos ensaios de cristalização de xilitol.....	112
FIGURA 27. Fotos em microscópio dos cristais de xilitol obtidos a partir dos xaropes de xilitol.....	114
FIGURA 28. Distribuição granulométrica (% diferencial) da recristalização do xilitol obtido a partir de meio sintético nas condições de temperatura de saturação de 30 ( $\blacklozenge$ ), 40 ( $\blacktriangle$ ) e 50 °C ( $*$ ) com velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min.....	116
FIGURA 29. Distribuição granulométrica acumulada da recristalização do xilitol obtido a partir de meio sintético nas condições de temperatura de saturação de 30 ( $\blacksquare$ ), 40 ( $\times$ ) e 50 °C ( $\bullet$ ) com velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min.....	117
FIGURA 30. Linearização da distribuição granulométrica dos ensaios correspondentes à recristalização do xilitol obtido a partir de meio sintético nas condições de temperatura de saturação de 30 ( $\blacklozenge$ ), 40 ( $\blacksquare$ ) e 50 °C ( $\blacktriangle$ ) com velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min.....	118
FIGURA 31. Comparação entre o tamanho dominante calculado e experimental dos experimentos realizados com xilitol puro e os três ensaios de recristalização realizados com xilitol produzido a partir da fermentação de meio sintético.....	121
FIGURA 32. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de meio sintético a temperatura de saturação de 30 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min (60x e 200x)....	122
FIGURA 33. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de meio sintético a temperatura de saturação de 40 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min (60x e 200x)....	122
FIGURA 34. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de meio sintético a temperatura de saturação de 50 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min (60x e 200x)....	123

FIGURA 35. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar a temperatura de saturação de 30 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,10 (A), 0,25 (B) e 0,50 °C/min (C). .....	128
FIGURA 36. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar a temperatura de saturação de 40 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,10 (A), 0,25 (B) e 0,50 °C/min (C). .....	129
FIGURA 37. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar a temperatura de saturação de 50 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,10 (A), 0,25 (B) e 0,50 °C/min (C). .....	130
FIGURA 38. Efeito da interação dos fatores temperatura de saturação e velocidade de resfriamento sobre a velocidade de crescimento de cristais. ....	134
FIGURA 39. Efeito da interação dos fatores temperatura de saturação e velocidade de resfriamento sobre a taxa de nucleação de cristais.....	136
FIGURA 40. Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto, que representa a velocidade de crescimento de cristais de xilitol. ....	140
FIGURA 41. Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto, que representa a taxa de nucleação de xilitol. ....	143
FIGURA 42. Superposição das curvas referentes aos modelos que descrevem as variações das respostas velocidade de crescimento, taxa de nucleação e tamanho médio de cristais.....	143

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Propriedades físico-químicas do xilitol.....	9
TABELA 2. Ordem de afinidade de diferentes resinas por íons em soluções diluídas .....	28
TABELA 3. Massas de xilitol, água e etanol nas temperaturas de saturação de 30, 40, 50 e 60 °C.....	71
TABELA 4. Características das peneiras da série ABNT P-EB22. ....	73
TABELA 5. Esquema da matriz de planejamento do projeto fatorial 2 <sup>2</sup> composto em face centrada, com três repetições.....	78
TABELA 6. Características físico-químicas do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar durante cada etapa do processo de tratamento. ....	81
TABELA 7. Concentração de ácidos no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar em cada etapa do processo de tratamento. ....	81
TABELA 8. Concentração de metais no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar em cada etapa do processo de tratamento. ....	81
TABELA 9. Teor de cinzas e cor do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar em cada etapa do processo de tratamento. ....	85
TABELA 10. Parâmetros fermentativos da bioconversão de xilose a xilitol por <i>Candida guilliermondii</i> em meio sintético durante o processo de fermentação descontínuo em reator de 15 litros. ....	89
TABELA 11. Parâmetros fermentativos da bioconversão de xilose a xilitol por <i>Candida guilliermondii</i> em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica durante o processo de fermentação descontínuo em reator de 15 litros. ....	90
TABELA 12. Características químicas das amostras de hidrolisado fermentado submetido a diferentes níveis de pH após o processo de centrifugação.....	94
TABELA 13. Composição dos meios fermentados a partir de meio sintético (A) e de hidrolisado (B) durante o tratamento com resinas de troca iônica A-505 e C-504.....	96
TABELA 14. Resultados da cristalização de xilitol obtidos durante os experimentos-modelo preliminares utilizando água e misturas água-etanol. ....	99

TABELA 15. Condições experimentais e valores de temperatura de nucleação ( $T_{nucl}$ ), temperatura da solução final ( $T_{final\ sol.}$ ) e a variação de temperatura entre a temperatura de saturação e a de nucleação ( $\Delta T$ ) nos experimentos-modelo nas temperaturas de saturação de 40, 50 e 60 °C e velocidades de resfriamento iguais a 0,10, 0,25 e 0,50 °C/min.....	100
TABELA 16. Distribuição granulométrica acumulada (% mássica) e valores de z dos ensaios realizados com temperatura de saturação de 40 °C.....	103
TABELA 17. Distribuição granulométrica acumulada (% mássica) e valores de z dos ensaios realizados com temperatura de saturação de 50 °C.....	104
TABELA 18. Distribuição granulométrica acumulada (% mássica) e valores de z dos ensaios realizados com temperatura de saturação de 60 °C.....	105
TABELA 19. Tempo de cristalização, massa cristalizada de xilitol, velocidade de crescimento e taxa de nucleação de xilitol durante os experimentos-modelo. ....	109
TABELA 20. Parâmetros cinéticos: expoente da concentração mássica dos cristais (c), expoentes da supersaturação na cinética de crescimento (g) e nucleação (n), a constante do sistema ( $B_N$ ), a constante da regressão (A"), o coeficiente de correlação obtido para cada regressão ( $R^2$ ), os valores de teste de "t de Student" calculados ( $t_{s_{cal}}$ ) e os tabelados ( $t_{s_{tab}}$ ). para o processo de cristalização de xilitol.....	110
TABELA 21. Tamanhos médios calculados e experimentais dos cristais e os erros. ....	113
TABELA 22. Resultados da primeira etapa de cristalização dos xaropes de xilitol obtidos a partir de meio sintético (A) e a partir de hidrolisado hemicelulósico (B).....	115
TABELA 23. Distribuição granulométrica acumulada (% mássica) e valores de z dos ensaios de recristalização de xilitol obtidos a partir de meio sintético. .	116
TABELA 24. Resultados da recristalização de xilitol obtido a partir de meio sintético .....	119
TABELA 25. Valores de tamanho médio experimental, velocidade de crescimento e taxa de nucleação de cristais, tamanho calculado e erro entre os tamanhos experimental e o calculado.....	120



TABELA 26. Distribuição granulométrica acumulada (% mássica) e valores de z dos experimentos de recristalização de xilitol obtido a partir de hidrolisado hemicelulósico.....	125
TABELA 27. Características dos cristais de xilitol do xarope obtido a partir de hidrolisado na segunda etapa de cristalização.....	126
TABELA 28. Massa de cristais, temperaturas de nucleação e final da solução dos ensaios de recristalização de xilitol a partir de hidrolisado.....	127
TABELA 29. Estimativa dos efeitos sobre o tamanho médio de cristais. ....	131
TABELA 30. Análise de variância com erro total para o tamanho médio de cristais. ....	132
TABELA 31. Estimativa dos efeitos sobre a velocidade de crescimento dos cristais. ....	133
TABELA 32. Análise de variância com erro total para a velocidade de crescimento dos cristais. ....	134
TABELA 33. Estimativa dos efeitos sobre a taxa de nucleação. ....	135
TABELA 34. Análise de variância com erro total para a taxa de nucleação. ....	137
TABELA 35. Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de Student e nível de significância para o modelo representativo do tamanho médio de cristais de xilitol .....	138
TABELA 36. Análise de variância de regressão para o modelo representativo do tamanho médio de cristais de xilitol.....	138
TABELA 37. Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “Student“ e nível de significância para o modelo representativo da velocidade de crescimento de cristais de xilitol .....	139
TABELA 38. Análise de variância de regressão para o modelo representativo da velocidade de crescimento de cristais de xilitol. ....	139
TABELA 39. Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “Student” e nível de significância para o modelo representativo da taxa de nucleação de xilitol. ....	141
TABELA 40. Análise de variância de regressão para o modelo representativo da velocidade específica de nucleação de cristais de xilitol. ....	141

## LISTA DE SÍMBOLOS

A''	- Constante da regressão da equação 17
A-103	- Hidrolisado hemicelulósico após resina A-103S
A-860	- Hidrolisado hemicelulósico após resina A-860S
B <sub>N</sub>	- Constante cinética do sistema definido pela equação 18 [[kgsoluto/kgsolvente) <sup>g/n</sup> .s <sup>g/n-1</sup> ]
c	- Expoente da concentração mássica dos cristais na cinética de nucleação: 0, 1 ou 2 dependendo do mecanismo.
C	- Concentração da solução (kg/m <sup>3</sup> )
C-150	- Hidrolisado hemicelulósico após resina C-150S
C <sub>sat</sub>	- Concentração de equilíbrio (kg/m <sup>3</sup> )
ΔC	- Supersaturação
ΔC <sub>max</sub>	- Supersaturação máxima (kg soluto/kg solvente)
CSS	- Concentração de sólidos solúveis
CSS <sub>dil</sub>	- Concentração de sólidos solúveis da amostra diluída
DO	- Absorbância das amostras
f(z <sub>N</sub> )	- Função definida pela equação
F	- Teste F
g	- Expoente da supersaturação na cinética de crescimento
G	- Velocidade de crescimento (m/s)
ΔG	- Energia livre de Gibbs
ΔG <sub>s</sub>	- Variação da energia livre de Gibbs com a formação de superfície
ΔG <sub>v</sub>	- Variação da energia livre de Gibbs com a formação de volume
GL	- Graus de liberdade
H	- Hidrolisado hemicelulósico
HC	- Hidrolisado hemicelulósico concentrado
HP <sub>f</sub>	- Hidrolisado hemicelulósico purificado final
k <sub>La</sub>	- Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (h <sup>-1</sup> )
k <sub>G</sub>	- Constante cinética de crescimento [ms <sup>-1</sup> (kg soluto/kg solvente) <sup>-g</sup> ]
k <sub>N</sub>	- Constante cinética de nucleação [m <sup>3(c-1)</sup> s <sup>-1</sup> (kg sólidos) <sup>-c</sup> (kg soluto/kg solvente) <sup>-n</sup> ]

L	- Tamanho característico do cristal (mm)
$L_{crit}$	- Tamanho crítico do cristal (mm)
$L_m$	- Tamanho médio ou dominante dos cristais (mm)
$L_n$	- Tamanho mínimo dos cristais na distribuição (mm)
m	- Ordem aparente de nucleação
$m_c$	- Concentração de sólidos na suspensão ( $kg/m^3$ )
M(L)	- Fração acumulada de cristais maiores que L
MN-150	- Hidrolisado hemicelulósico após resina MN-150
MQ	- Média quadrática
n	- Expoente da supersaturação na nucleação
$n^o_N$	- Número de núcleos por unidade de volume ( $\#/m^3$ )
N	- Hidrolisado hemicelulósico após resina 039RAD
p	- Nível de significância
Qp	- Produtividade volumétrica (g.L/h)
$R_{PT}$	- Remoção de proteínas totais (%)
$\Delta S$	- Consumo de xilose (%)
$t_{s_{calc}}$	- Valor de t de Student calculado
$t_{s_{tab}}$	- Valor de t de Student tabelado
T	- Temperatura ( $^{\circ}C$ )
$\Delta T_{max}$	- Grau máximo de super-resfriamento ( $^{\circ}C$ )
Yp/s	- Fator de rendimento em xilitol a partir de xilose (g/g)
Yx/s	- Fator de rendimento em células a partir de xilose (g/g)
VR	- Velocidade de resfriamento ( $^{\circ}C/min$ )
SQ	- Soma quadrática
$t_c$	- Tempo da batelada (min)
$T_{nucl}$	- Temperatura de nucleação ( $^{\circ}C$ )
$T_{sat}$	- Temperatura de saturação ( $^{\circ}C$ )
z	- Tamanho adimensional do cristal
Z	- Valor codificado da variável no planejamento fatorial
$\alpha$	- Fator de forma do volume
$\beta$	- Fator de forma da área superficial
$\epsilon$	- Eficiência da fermentação (%)

$\rho$	- Densidade do hidrolisado ( $\text{kg/m}^3$ )
$\rho_c$	- Densidade do cristal ( $\text{kg/m}^3$ )
$\rho_{\text{sol}}$	- Densidade do solvente ( $\text{kg/m}^3$ )
$\sigma_{\text{sl}}$	- Energia específica de superfície
$\nu$	- Volume molecular ou molar ( $\text{m}^3/\text{gmol}$ )
$\mu_s$	- Velocidade específica de consumo de substrato ( $\text{g}_s/\text{g}_x\text{h}$ )
$\mu_x$	- Velocidade específica de crescimento celular ( $\text{h}^{-1}$ )
$\Delta\mu$	- Variação de potencial químico

## 1. INTRODUÇÃO

Grandes quantidades de resíduos vegetais e agro-industriais são gerados e acumulados na natureza na forma sólida, ocasionando sérios problemas de poluição ambiental. A comunidade científica encontra-se cada vez mais preocupada com os problemas ambientais e tem se dedicado cada vez mais ao estudo da utilização destas fontes para a produção de compostos de alto valor agregado.

O bagaço da cana-de-açúcar é um típico resíduo lignocelulósico abundante em países tais como Brasil e Cuba. O uso diversificado da cana-de-açúcar é uma alternativa que poderia estabilizar a economia da indústria açucareira. Às inquestionáveis vantagens alimentícias do açúcar devem-se adicionar as potencialidades da cana-de-açúcar como matéria prima para a obtenção de produtos derivados de diferentes gerações mediante o emprego de tecnologias químicas e bioquímicas.

Dentre os subprodutos que se podem obter a partir do bagaço da cana-de-açúcar mediante o emprego de uma tecnologia de media a alta complexidade encontra-se o xilitol. Este poliol é amplamente usado na confecção de alimentos, de produtos de higiene bucal, produtos farmacêuticos e na confecção de cosméticos.

Os trabalhos relacionados com a produção de xilitol a partir de biomassa encontrados na literatura enfatizam fundamentalmente os aspectos de obtenção e tratamento de hidrolisados, a redução de xilose a xilitol por via química assim como os aspectos metabólicos da produção por via biotecnológica. Entretanto, o

processo de purificação dos produtos obtidos por via fermentativa tem sido pouco reportado na literatura.

Os estudos de purificação do xilitol podem ser baseados em parte nos métodos gerais aplicados aos açúcares, devido à similaridade estrutural e físico-química entre estes compostos. No entanto, as características específicas de sistemas complexos tais como alta viscosidade, reologia complexa, instabilidade com relação a altas temperaturas, semelhanças físico-químicas entre produtos e contaminantes fazem de sua purificação uma das etapas mais difíceis na produção dessas substâncias puras.

A cristalização é uma das técnicas de purificação mais antigas do conhecimento humano, empregada em muitos casos quando se deseja obter um produto sólido o qual encontra-se dissolvido em uma solução. A predominância da cristalização como método de purificação é devido a que os cristais produzidos por esta via podem possuir melhor aparência e uniformidade de tamanho assim como uma grande pureza, aspectos importantes para a aceitação dos consumidores.

O presente trabalho é parte de um Convênio de Cooperação Técnico Científica entre o Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), de Havana, Cuba, e a Faculdade de Engenharia Química de Lorena (FAENQUIL). Um dos objetivos principais desta cooperação científica, além da formação de recursos humanos, é o desenvolvimento de uma tecnologia econômica de produção de xilitol a partir de materiais lignocelulósicos, visando a sua purificação mediante o processo de cristalização.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Biomassa Lignocelulósica

Grandes quantidades de resíduos vegetais e agro-industriais são gerados e acumulados anualmente na natureza na forma sólida, ocasionando sérios problemas de poluição ambiental e perdas de fontes potenciais de alto valor (BISARIA, GHOSE, 1981, MOLWITZ *et al.*, 1996; PIMENTEL, 2002). As atividades florestais podem causar uma variedade de impactos sobre o meio ambiente (SINGH, MISHRA, 1995). Entre estas, a monocultura florestal tem um peso considerável, visto que simplifica o ecossistema e o deixa vulnerável a doenças e outros fatores ambientais (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1995; BOWYER, 2001; PIMENTEL, 2002).

Segundo PIMENTEL (2002), ao redor de 40,5 bilhões de toneladas de biomassa são produzidos no ecossistema terrestre e somente 50 % são usados para a alimentação, construção cível ou como combustível, causando sérios problemas na biodiversidade. Os materiais lignocelulósicos são os compostos orgânicos de maior abundância na biosfera, tendo uma produção anual estimada de 10 a 50 x 10<sup>9</sup> ton, o que corresponde a aproximadamente 60 % da biomassa vegetal no mundo (KUHAD, SINGH, 1993; SINGH, MISHRA, 1995). O aproveitamento dos resíduos vegetais e agro-industriais como substrato em processos biotecnológicos é uma alternativa atrativa e promissora, uma vez que essas fontes são abundantes e de baixo custo. Além disso, existem várias vantagens do processo biotecnológico sobre o químico tais como: condições moderadas de temperatura, pressão, pH, alta seletividade de produto e

biodegradabilidade dos produtos (REIMANN *et al.*, 1998; MOSIER *et al.*, 2005). Dentro deste contexto, diversos pesquisadores têm buscado desenvolver formas de utilização desses materiais e evitar a degradação do meio ambiente (CHEN, ANDERSON, 1980, BISARIA, GHOSE, 1981; ROBERTO *et al.*, 1994; ROBERTO *et al.*, 1996; ICIDCA, 2000; MARTINEZ *et al.*, 2002; SAHA, 2003; JEFFRIES, JIN, 2004; MUSSATO, ROBERTO, 2004; SUN *et al.*, 2004, 2005).

A biomassa lignocelulósica é composta basicamente por celulose, hemicelulose, lignina e pequenas quantidades de extrativos e sais minerais (D'ALMEIDA, 1988; FENGEL, WEGENER, 1989; HON, SHIRAISHI, 1991; KHUAD, SINGH, 1993; SINGH, MISHRA, 1995; HON, 1996; SJÖSTRÖM, ALÉN, 1998; SUN *et al.*, 2004, 2005; MOISER *et al.*, 2005).

A celulose, o material orgânico e a fonte renovável mais abundante da terra, é um polímero linear de unidades de glicose, unidas através de ligações glicosídicas  $\beta(1\rightarrow4)$ , com regiões altamente ordenadas ou cristalinas na sua estrutura. Esta fração é composta por unidades monoméricas de celobiose, a qual é formada pela junção de duas moléculas de glicose com a eliminação de água, através das hidroxilas ligadas aos carbonos 1 e 4. Este dímero se repete constantemente, apresentando o oxigênio que liga os anéis, na posição equatorial (FENGEL, WEGENER, 1989, KHUAD; SINGH, 1993; SUN *et al.*, 2004). A celulose é insolúvel em água e solúvel em poucos solventes e apresenta uma apreciável resistência ao efeito de agentes oxidantes (ICIDCA, 2000). Esta fração pode ser convertida hidroliticamente em glicose por via enzimática mediante o uso de celulasas ou por via química pelo uso de ácidos tais como o ácido sulfúrico (MOISER *et al.*, 2005).



A hemicelulose pode representar até 40 % do material da parede celular dos vegetais (BISARIA, GHOSE, 1981; GONG *et al.*, 1983; FERRARI *et al.*, 1992). É um polímero de baixo peso molecular em relação à celulose e é composto principalmente por pentoses (xilose e arabinose) e hexoses (galactose, manose e glicose), além de apresentar pequenas quantidades dos ácidos acético e urônico (BISARIA, GHOSE, 1981; FENGEL, WEGENER, 1989; KHUAD, SINGH, 1993; SINGH, MISHRA, 1995; SAHA, 2003). Em geral as plantas e as madeiras duras são mais ricas em pentosanas, enquanto que as hexoses predominam nas madeiras moles (JEFFRIES, 1983; FENGEL, WENEGER, 1989).

A lignina é o terceiro maior componente na parede celular dos vegetais, e possui uma estrutura polifenólica complexa constituída basicamente dos álcoois cumarílico, coniferílico e sinapílico, e não é fermentescível (LADISCH, 1979; BISARIA, GHOSE, 1981; SINGH, MISHRA, 1995). A lignina é insolúvel em água e dificulta a degradação microbiana da celulose e da hemicelulose, e atua como suporte para as fibras de celulose (FENGER, WEGENER, 1989; KUHAD, SINGH, 1993).

Existe ainda uma fração menor formada basicamente por outros materiais, incluindo compostos extrativos e não extrativos os quais podem compreender até 10 % do material lignocelulósico. Compostos fenólicos, terpenos e resinas comumente são chamados de extrativos, pois podem ser extraídos com solventes orgânicos e água (D`ALMEIDA, 1988; FENGER, WEGENER, 1989; SINGH, MISHRA, 1995). Por outro lado, os compostos não extrativos tais como sílica, carbonatos, oxalatos e substâncias não celulares e em menor quantidade, substâncias de paredes não celulares tais como amido, pectina e proteínas estão presentes em resíduos agrícolas (ICIDCA, 2000).

É interessante ressaltar que todos os constituintes da biomassa estão intimamente associados ou ligados quimicamente, construindo todo o complexo celular (FENGER, WEGENER, 1989).

O bagaço de cana-de-açúcar é um típico resíduo lignocelulósico muito abundante em países da zona tropical ou equatorial tais como Brasil, Cuba, Índia e Barbados, uma vez que nestes países a indústria açucareira é de grande significância comercial (BISWAS, VASHISHTHA, 1998; PESSÔA, 1999; ICIDCA, 2000). De acordo com SZWARC (2004), a produção de cana-de-açúcar no Brasil, na safra 2003/2004, foi de 357,5 milhões de toneladas. Para cada tonelada de cana processada, obtém-se de 180 a 280 kg de bagaço (SANTANA, SOUZA, 1984), o qual contém de 41 a 44 % de celulose, de 25 a 27 % de hemicelulose e de 20 a 22 % de lignina para as diferentes frações de bagaço como fibra, medula e integral as quais são empregadas com maior frequência (ICIDCA, 2000). Apesar desse resíduo ser utilizado como combustível nas indústrias sucro-alcooleiras, alimentícias, papelarias e químicas (MACEDO, 1998; PESSÔA, 1999; ICIDCA, 2000), grandes quantidades são acumuladas anualmente na natureza, aumentando os problemas ambientais, além de significar uma perda de potenciais fontes de valor energético ou alimentício (BISARIA, GHOSE, 1981; CHIPARUS, CHEN, 2003; SUN *et al.*, 2004).

Um aproveitamento integral e mais eficiente dos materiais lignocelulósicos pode ser conseguido mediante a separação das principais frações lignocelulósicas em moléculas mais simples (PARAJÓ, *et al.*, 1998b; SUN *et al.*, 2004, 2005). Processos tais como hidrólise ácida (FUNK, 1975; LADISCH, 1979, NIMZ, CASTEN, 1986; PESSOA Jr. *et al.*, 1997; CRUZ *et al.*, 2000; IRANMAHBOOB *et al.*, 2002; SUN, CHENG, 2002; MUSSATO, ROBERTO, 2004;

PURWADI *et al.*, 2004; PALMAROLA-ADRADOS *et al.*, 2005), enzimática (BISARIA, GHOSE, 1981; PARAJÓ *et al.*, 1997; PALMAROLA-ADRADOS *et al.*, 2005), explosão a vapor (SCHULTZ *et al.*, 1984; SUN *et al.*, 2004, 2005) e extração com soluções alcalinas (du TOIT, 1984), são métodos que permitem a hidrólise da fração hemicelulósica em monossacarídeos. Sendo assim, essa fração é mais fácil de hidrolisar que os componentes celulósicos cristalinos da biomassa, devido à sua estrutura heterogênea e ao seu baixo grau de polimerização (WINKELHAUSEN, KUZMANOVA, 1998).

Segundo FUNK (1975), JEFFRIES (1985), BECK (1993), AGUILAR *et al.* (2002) e MOISER *et al.* (2005), a hidrólise ácida dos materiais lignocelulósicos permite extrair até 80 % das pentoses presentes na fração hemicelulósica em forma de xilose, o que torna vantajosa a utilização desses materiais como matéria-prima para processos de bioconversão.

O processo de hidrólise ácida pode ser conduzido mediante o uso de altas concentrações de ácido mineral, a temperatura ambiente ou a baixas temperaturas, ou pelo emprego de ácido mineral diluído e altas temperaturas e pressões (FUNK, 1975). Entretanto, para a utilização da hemicelulose, uma hidrólise a baixa temperatura e curtos tempos de reação são mais convenientes, pois impedem a degradação da xilose em produtos que podem ser fortes inibidores do metabolismo microbiano (Kim, Lee, 1987 citados por DOMINGUEZ *et al.*, 1997; WINKELHAUSEN, KUZMANOVA, 1998; CRUZ *et al.*, 2002; MUSSATO, ROBERTO, 2004)

## 2.2. Xilitol

### 2.2.1. Propriedades e aplicações

O xilitol, um álcool pentahidroxiado de xilose, possui fórmula empírica  $C_5H_{12}O_5$  (FIGURA 1) e é um produto intermediário do metabolismo de carboidratos nos seres humanos e em animais (MANZ *et al.*, 1973; YLIKAHRI, 1979; SAHA, BOTHAST, 1997; MAKINEN, 2000). Este pentiol é encontrado em frutas e vegetais em concentrações muito baixas em comparação à concentração de sacarose em cana-de-açúcar, sendo antieconômica a sua extração a partir dessas fontes (EMODI, 1978; BISWAS, VASHISHTHA, 1998).

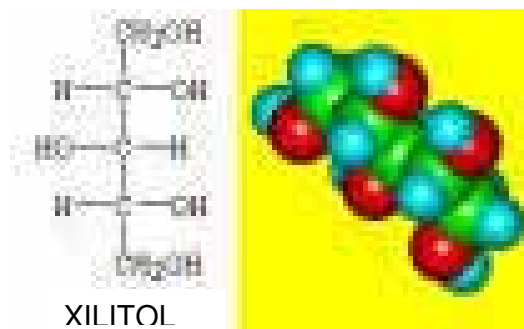


FIGURA 1. Fórmula estrutural do xilitol.

Dentre as propriedades físico-químicas do xilitol encontram-se o poder adoçante equivalente ao da sacarose. Segundo ADA REPORTS (2004), o xilitol possui conteúdo calórico estimados de 2,4 kcal/g e como não é absorvido completamente pelo intestino é menos disponível para o metabolismo. Quando consumido em forma sólida ou cristalina, produz uma sensação de frescor devido a seu calor de solução negativo (-34,8 cal/g). Outras propriedades estão descritas na TABELA 1 segundo dados apresentados por AMINOFF *et al.* (1978), HYVONEN *et al.* (1982), BISWAS, VASHISHTHA (1998) e ULLMANN (1999).

TABELA 1. Propriedades físico-químicas do xilitol.

Propriedades	
Massa molar	152,15
Aparência	Cristal branco
Odor	Inodoro
Sabor	Doce
Ponto de ebulição (°C)	216
Ponto de fusão (°C)	92-95
Solubilidade (30 °C)	65 – 68 g / 100 g solução Abaixo desta temperatura é menos solúvel que a sacarose, maiores temperaturas é mas solúvel. 1,2 g/100g de solução 96 % etanol 6,0 g/100g de solução 96 % metanol
pH em água	5 – 7
Calor de solução (cal/g)	-34,8
Calor de cristalização (cal/g)	45,3
Viscosidade (cP)	$\mu$ (% sol.) = 0,497 e <sup>0,7152 %sol.</sup> 10-60 % solução $\mu$ (T) = 32,27 T <sup>-1,4267</sup> T = 20-80 °C
Índice de refração (25 °C)	IR = 0,0165 %sol. + 1,3295 10 – 50 % solução
Estabilidade	Alta estabilidade microbiologica
Densidade (g/cm <sup>3</sup> ) (20 °C)	$\rho$ = 0,068 %sol. + 0,95 10 – 60 % solução
Higroscopicidade	Tem umidade crítica relativa alta, o xilitol é mais higroscópico que a sacarose mas menos que o sorbitol.
Atividade ótica [ $\alpha$ ] <sub>D</sub> <sup>20</sup>	Não produz rotação do plano de luz polarizado

O xilitol, devido à sua baixa velocidade de absorção no intestino, apresenta propriedades laxantes e, se consumido em grandes quantidades, pode causar diarreia osmótica (EMODI, 1978; CURTAYRES, 1980; GRENBY, COLLEY, 1983; DUFFY, ANDERSON, 1998; MAKINEN, 2000). Este efeito varia entre indivíduos e com a forma em que o xilitol é consumido, sendo comparado ao sorbitol e a outros carboidratos de baixa absorção. O nível de tolerância é de 20 a 30 g/dose

ou 50 g/dia, podendo ser aumentado se for ingerido em várias refeições diárias (AMINOFF *et al.*, 1978; EMODI, 1978; SANROMÁN *et al.*, 1991; MAKINEN, 2000).

O xilitol é metabolizado independentemente da insulina, além de não causar flutuações súbitas nos níveis de glicose no sangue. É não cariogênico, pois não é metabolizado por microrganismos presentes na flora bucal, como por exemplo, *Streptococcus mutans*. Além disso, também é capaz de inibir o desenvolvimento de cáries já existentes (cariostático), reduzir a gengivite e controlar a halitose (EMODI, 1978; MÄKINEN, 1979; AGUIRRE-ZERO *et al.*, 1993; NOTHENBERG, 1994; BISWAS, VASSHISHTHA, 1998; MAKINEN, 2000; IWATA *et al.*, 2003). Segundo UHARI *et al.* (1996, 1998), o xilitol, como inibe o crescimento de *streptococci* alfa hemolítica incluindo *Streptococci mutans*, quando é consumido em forma de goma de mascar ajuda também na prevenção de otites média aguda. Por outro lado, segundo MÄKINEN (1979), o consumo deste poliol está associado a um ligeiro incremento nos níveis de atividade das glicosidasas salivares, enzimas que produzem uma película fina que protege o esmalte dos dentes. Além disto, pode ser também empregado como substituto do açúcar na dieta de pacientes portadores de *diabetes mellitus*, bem como ser utilizado por pessoas com doenças biliares e renais. Este poliol é usado como componente nas transfusões de sangue para evitar choques após cirurgias. Como não reage com aminoácidos, pode ser utilizado na alimentação parenteral (FUNK, 1975; MAKINEN, 2000). Segundo BISWAS, VASSHISHTHA (1998), este poliol tem sido usado como tópico no tratamento do aumento da pressão intra-ocular, e quando preparado em complexos com cálcio numa relação molar xilitol:cálcio de 1:5 o xilitol pode incrementar a absorção/retenção intestinal de cálcio. Estas

propriedades o tornam um produto de grande valor para as indústrias alimentícia, farmacêutica e odontológica, podendo ser utilizado em programas de prevenção de cáries.

O xilitol, em combinação com glicóis, é utilizado no campo da traumatologia para preparar poliésteres ramificados, como por exemplo, o hidroxipropil-xilitol, cujas propriedades mecânicas e termofísicas são semelhantes às das espumas de poliuretano, usadas para a imobilização de lesões traumatológicas (SANROMÁN *et al.*, 1991). Além disto, BISWAS, VASSHISHTHA (1998) referem-se ao uso de xilitol em preparação de cosméticos pois ajudam a restaurar o balanço da flora da pele inibindo o crescimento de germens patogênicos.

### **2.3. Métodos de Obtenção do Xilitol**

O xilitol pode ser obtido pela extração sólido-líquido de frutas e vegetais, e a partir da D-xilose obtida por hidrólise de materiais lignocelulósicos (MELAJA e HÄMÄLÄINEN, 1977; PARAJO *et al.*, 1999). No segundo caso pode-se empregar dois métodos: síntese química, através da hidrogenação catalítica ou redução eletrolítica, e biosíntese, empregando-se leveduras ou bactérias fermentadoras de pentoses e/ou enzimas como catalisadores do processo de redução (OJAMO *et al.*, 1988; HEIKKILÄ *et al.*, 1990; HEIKKILÄ *et al.*, 1991; HEIKKILÄ *et al.*, 1992; MANALO *et al.*, 1992; PARAJO *et al.*, 1998a; MIKKOLA, 1999).

### 2.3.1. Obtenção de xilitol por via química

O xilitol é atualmente preparado quimicamente através da hidrogenação catalítica da xilose, obtida por hidrólise ácida de materiais lignocelulósicos (JAFFE *et al.*, 1974; MIKKOLA, 1999). Este processo envolve a etapa de obtenção da xilose, que pode ser feita através da hidrólise ácida do material lignocelulósico rico em xilana. Posteriormente, realiza-se a purificação do hidrolisado para se obter uma solução de xilose pura, condição essencial para o sucesso do processo de hidrogenação (MIKKOLA *et al.*, 1999). Este procedimento de purificação inclui operações com resinas de troca iônica, descoloração e fracionamento cromatográfico. A etapa seguinte compreende a hidrogenação catalítica da xilose purificada na presença do catalisador níquel-Raney (MIKKOLA *et al.*, 1999). Segundo estes autores, esta reação é realizada industrialmente em processos isobáricos ou isotérmicos em reatores trifásicos funcionando em batelada. Este processo é em princípio, uma reação direta de xilose a xilitol, mas é complicado pela formação de pequenas quantidades de subprodutos produzidos em dependência do pH do meio de reação e da temperatura. Na FIGURA 2 apresenta-se o possível esquema de reação onde a xilose pode ser isomerizada a xilulose sendo posteriormente reduzida a arabinitol ou xilitol; o ácido xilônico pode ser formado pela reação de Cannizaro catalisada por álcalis e o furfural também pode ser produzido devido às altas temperaturas e concentrações de álcalis. Como a solubilidade do hidrogênio na fase líquida é muito baixa, o processo requer altas temperaturas (80-140 °C) e pressões elevadas (40-70 atm) (WISNIAK *et al.*, 1974; MIKKOLA *et al.*, 1999). Segundo MIKKOLA *et al.* (1999), após vários ciclos de hidrogenação pode-se observar envenenamento e desativação do catalisador devido ao colapso da estrutura dos poros, lixiviação dos promotores



(molibidênio e alumina) e acumulação de materiais orgânicos sobre a superfície do catalisador. Em seguida, o material hidrogenado é separado mediante filtração mecânica e separação cromatográfica e, posteriormente, é realizada a cristalização do xilitol obtido (MELAJA, HÄMÄLÄINEN, 1977).

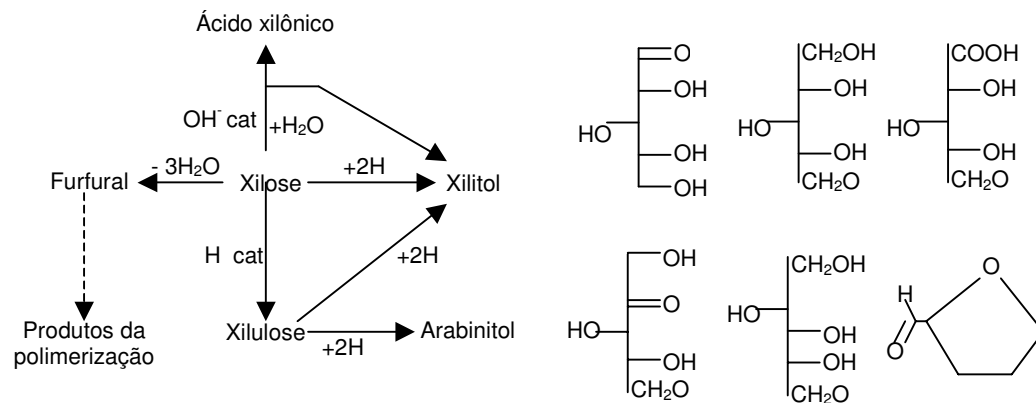


FIGURA 2. Esquema de equilíbrio dos açúcares, segundo MIKKOLA *et al* (1999). Da esquerda para direita, e de cima para baixo: xilose, xilitol, ácido xilônico, xilulose, arabinitol, e furfural.

A FIGURA 3 apresenta as possíveis tecnologias para a produção de xilitol, segundo PARAJÓ *et al.*, (1998a).

### 2.3.2. Obtenção de xilitol por via microbiológica

A via microbiológica de obtenção de xilitol se apresenta como alternativa à via química pois o processo microbiológico opera em condições mais brandas de pressão e temperatura, e seu emprego poderia reduzir os altos níveis de poluição ambiental e os gastos relacionados com tratamento de resíduos produzidos pela via química (MOLWITZ *et al.*, 1996, WINKEHAULSEN, KUZMANOVA, 1998).

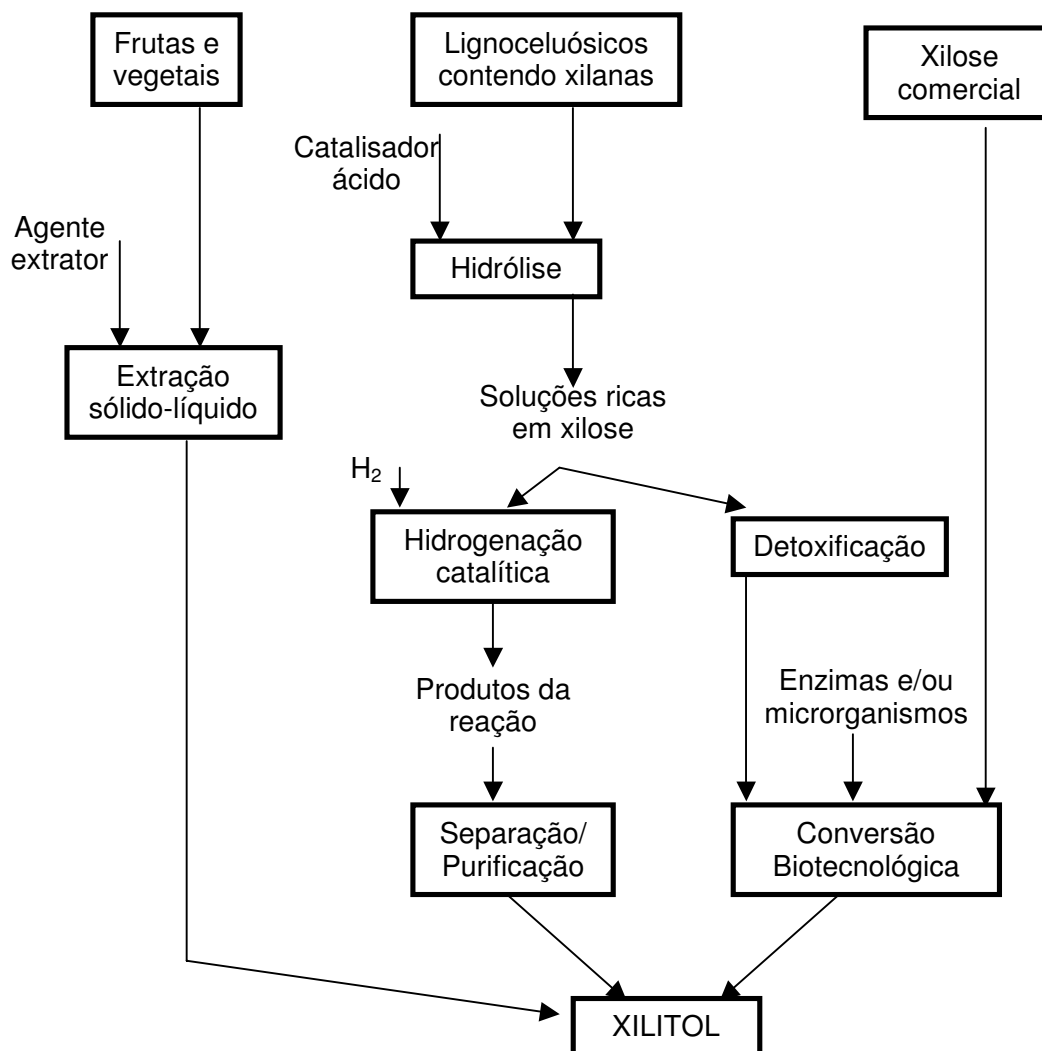


FIGURA 3. Possíveis tecnologias para a produção de xilitol, segundo PARAJÓ *et al.* (1998a).

Existem bactérias, leveduras e fungos capazes de assimilar e fermentar a xilose, produzindo xilitol, etanol e outros compostos (WINKEHAULSEN, KUZMANOVA, 1998; SAHA, 2003). Dentre estes microrganismos, destacam-se as leveduras, especialmente as do gênero *Candida* (BARBOSA *et al.*, 1988). De acordo com estes autores, *Candida guilliermondii* mostrou-se como uma espécie promissora para produzir xilitol, tanto em meio sintético (SILVA *et al.*, 1996; MARTINEZ *et al.*, 2002) quanto em hidrolisado de materiais lignocelulósicos (ROBERTO *et al.* 1996; FELIPE *et al.*, 1996a; MARTINEZ *et al.*, 2002a).

A bioconversão xilose-xilitol ocorre devido à ação das enzimas intracelulares xilose redutase e xilitol desidrogenase, presentes nos microrganismos eucarióticos fermentadores de xilose, conforme demonstrado na FIGURA 4.

O primeiro passo do metabolismo de xilose é o transporte deste açúcar através da membrana celular. O fornecimento de oxigênio tem, aparentemente, um papel importante sobre a ativação ou indução do sistema de transporte de xilose (Skoog, Hahn-Hägerdal, 1990 citados por HAHN-HÄGERDAL *et al.*, 1994). Uma vez dentro da célula, a xilose é reduzida a xilitol pela enzima xilose redutase (EC 1.1.1.21) dependente de NADPH ou NADH. O xilitol é então excretado da célula ou oxidado a xilulose pela ação da enzima xilitol desidrogenase (EC 1.1.1.9) dependente de NAD<sup>+</sup> ou NADP. A xilulose é fosforilada a xilulose 5-fosfato pela xilulose quinase (EC 2.7.1.17) e, desta forma, entra na via das fosfopentoses que, em conexão com a via glicolítica, gera as coenzimas necessárias para as etapas iniciais do metabolismo da xilose. Na via das pentoses fosfato, a D-xilulose-5-fosfato é convertida em gliceraldeído 3-fosfato e frutose 6-fosfato, através de rearranjos não oxidativos. Estes são transformados em piruvato pela via Embden Mayerhof Parnas (EMP). O piruvato é um composto intermediário entre a via fermentativa e a via oxidativa das células. Na presença de oxigênio, o piruvato é oxidado através do ciclo de ácido tricarboxílico (TCA) e a cadeia respiratória, onde ocorre a fosforilação oxidativa (HAHN-HÄGERDAL *et al.*, 1994).

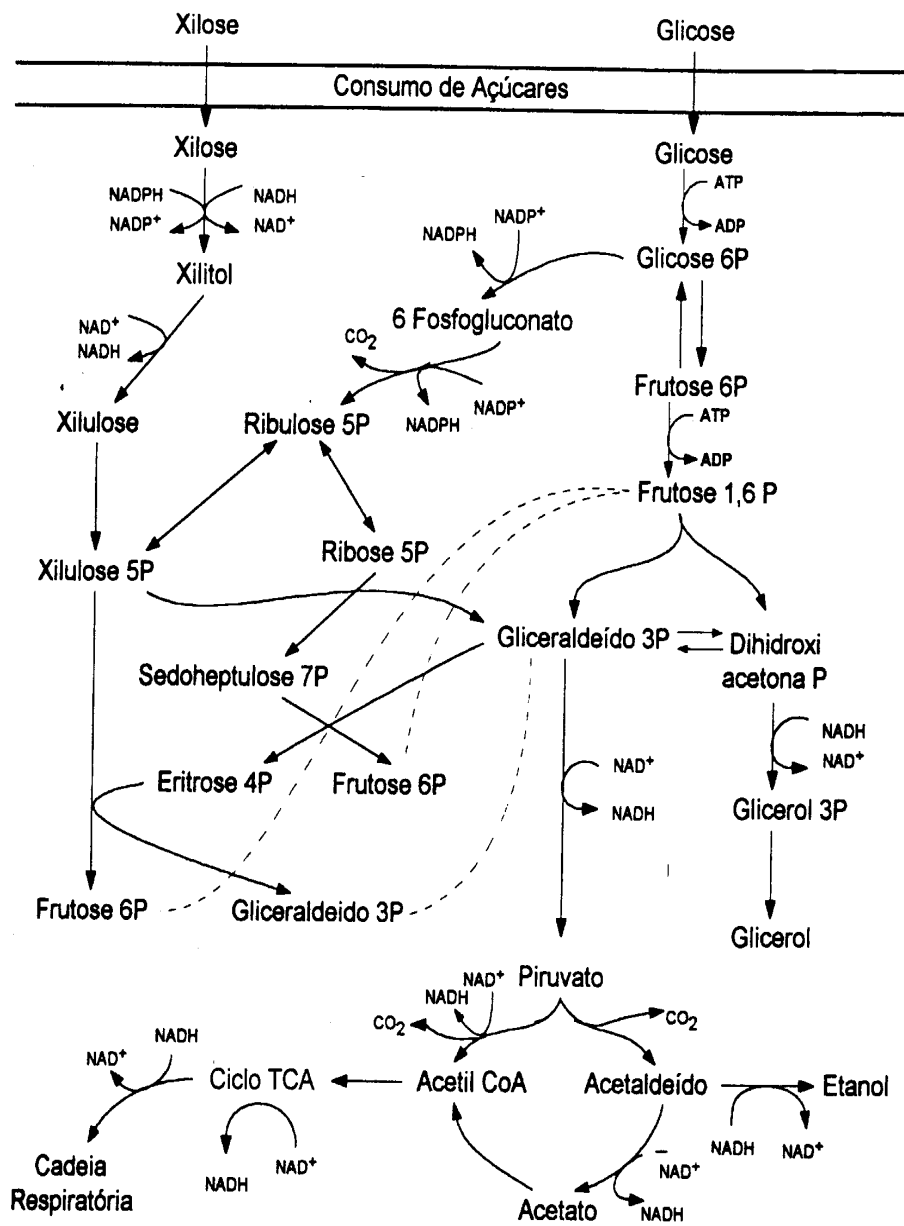


FIGURA 4. Esquema proposto para o metabolismo de xilose e glicose por leveduras (HAHN-HÄGERDAL *et al.*, 1994)

A bioconversão de xilose em xilitol a partir de hidrolisados hemicelulósicos ricos em xilose apresenta algumas limitações devido à presença de compostos derivados da degradação de açúcares e da lignina, os quais são inibidores do metabolismo microbiano. Entre tais inibidores, que afetam negativamente a eficiência do processo fermentativo, encontram-se o furfural, o hidroximetilfurfural, aldeídos e ácidos fenólicos dentre outros o ácido acético. São também compostos inibidores os íons metálicos: ferro, níquel, cobre e cromo, assim como alguns minerais, provenientes dos materiais lignocelulósicos ou da corrosão dos equipamentos de hidrólise (JAFFE *et al.*, 1974; LEE, McKASKEY, 1983; HEIKKILÄ *et al.*, 1992; PARAJÓ *et al.*, 1997; MUSSATTO, ROBERTO, 2004; PURWADI *et al.*, 2004).

O efeito desses compostos sobre a formação de xilitol por leveduras está relacionado à sua concentração no meio e aos parâmetros fermentativos associados à produção de xilitol, principalmente o pH e a aeração. Segundo PALMQVIST, HANH-HAGERDAL (2000), o mecanismo de inibição do crescimento celular dos compostos fenólicos não é conhecido claramente. A fim de minimizar o problema de toxicidade dos hidrolisados sobre a fermentação, vários métodos têm sido utilizados para o tratamento dos hidrolisados, como por exemplo, a adsorção com resinas de troca iônica (MADDOX, MURRAY, 1983; van ZYL *et al.*, 1991; GONG *et al.*, 1993; DOMINGUEZ *et al.*, 1997; NAPOLES *et al.*, 1998; AROCHE, 2000; DELER *et al.*, 2000, CANILHA *et al.*, 2004), a precipitação por alteração do pH com ácidos e bases (ROBERTO *et al.*, 1991; HEIKKILÄ *et al.*, 1992; ALVES *et al.*, 1998, 1999; MARTINEZ *et al.*, 2001; MARTINEZ *et al.*, 2002; MUSSATO, 2002), adaptação de microrganismos (SILVA, ROBERTO, 2001, SENE *et al.*, 2001), a adsorção com carvão ativo (GONG *et al.*, 1993; WANG *et*

*al.*, 1997; ALVES, 1997; LEE *et al.*, 1999; MUSSATTO, ROBERTO, 2001; MARTON *et al.*, 2000, 2002) ou a combinação desses tratamentos (CONVERTI *et al.*, 1999; LARSON *et al.*, 1999).

A toxicidade do ácido acético e do furfural para a levedura *Candida guilliermondii*, durante a conversão de xilose em xilitol, foi constatada quando estes estavam presentes em concentrações maiores que 4,5 g/L de ácido acético (FELIPE *et al.*, 1995, FELIPE *et al.*, 1996, FELIPE *et al.*, 1997) e que 1,0 g/L de furfural (OJAMO *et al.*, 1988). O ácido acético, um potente inibidor do metabolismo da xilose por leveduras (JEFFRIES, 1985; van ZYL *et al.*, 1988; FERRARI *et al.*, 1992; FELIPE *et al.*, 1997), tem seu efeito relacionado com a concentração da forma não dissociada e, portanto, dependente do pH do meio de fermentação. No pH ótimo para a fermentação por leveduras (pH 4,0-5,0), esse ácido, que se encontra sob a forma não dissociada, difunde livremente para o interior da célula (citoplasma), onde se dissocia, causando um decréscimo no pH intracelular (NODA *et al.*, 1982; HERRERO *et al.*, 1985). Como resultado, o gradiente de prótons na membrana citoplasmática não pode ser mantido, a produção de energia é desacoplada e o transporte de vários nutrientes é prejudicado (KO *et al.*, 1975; HERRERO *et al.*, 1985). Em outros estudos, realizados por SILVA (1994), verificou-se que em pH 4,0 a conversão xilose-xilitol, em meio sintético na ausência de ácido acético, ocorre com uma eficiência de 76,3%. Entretanto, FELIPE (1994) observou que nenhuma bioconversão ocorre quando a levedura *C. guilliermondii* cresce em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar contendo ácido acético em concentrações maiores que 5 g/L, em pH inferior a 4,5.

O furfural é outro composto que pode inibir a utilização de açúcares presentes nos hidrolisados hemicelulósicos pelos microrganismos. Esse composto é formado pela degradação da xilose durante o processo de hidrólise, e sua formação depende da concentração de ácido e da temperatura de reação. Segundo PARAJÓ *et al.* (1997a), o furfural pode ser inibitório para o crescimento da levedura *Debaryomyces hansenii* Y-7426, cultivada em hidrolisado de madeira, em concentrações entre 1,3 e 3,2 g/L. No entanto, concentrações menores que 2 g/L foram relatadas como tendo efeito prejudicial mínimo sobre a fermentação. A enzima álcool desidrogenase (EC 1.1.1.1) é responsável pela redução do furfural a álcool furfurílico. Estes compostos inibem a atividade respiratória pois têm efeito sobre a síntese de citocromos e sobre a velocidade de crescimento das células, respectivamente. De acordo com SILVA *et al.* (1997), concentrações de furfural de até 0,5 g/L não influenciam o desenvolvimento da levedura *C. guilliermondii* em meio complexo. Concentrações de furfural entre 0,2 e 1 g/L favoreceram a conversão de xilose em xilitol por *C. guilliermondii* (Farnos-Yhtyma, 1988, citado por PREZIOSI-BELLOU *et al.*, 1997).

CONVERTI *et al.* (2000), 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.

O hidroximetilfurfural, por ser muito reativo, está usualmente presente em hidrolisados hemicelulósicos em baixas concentrações. CHUNG, LEE (1985) relataram que uma concentração de hidroximetilfurfural de 0,11 % e seu efeito interativo com o furfural (0,08 %) e com outras toxinas, podem, além de inibir o crescimento celular, causar a morte das células. Segundo FELIPE *et al.* (1996a),

o efeito inibitório desses compostos é mais acentuado quando se empregam baixos níveis de inóculo ( $2,4 \times 10^6$  cel/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 ( $1,2 \times 10^8$  cel/mL). Por outro lado, estudos realizados por PREZIOSI-BELLOU *et al.* (1997), mostraram que concentrações de 1,5 g/L de hidroximetilfurfural tiveram um efeito ligeiramente estimulante sobre a produção de xilitol em meio sintético, pela levedura *Candida parapsilosis*.

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 (NODA *et al.*, 1982; SANCHEZ *et al.*, 1997; FELIPE *et al.*, 1997). 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.*, 1997a). 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 em fermentações de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar para produção de xilitol, o pH aumentou constantemente, atingindo valores finais da ordem de pH 8,0 (PFEIFER *et al.*, 1996). Isto sugere que o microrganismo usa o ácido acético como fonte de carbono, o que reforça os resultados obtidos por FELIPE *et al.* (1995) e MARTINEZ *et al.* (1999). Estudos realizados por FELIPE *et al.* (1997), com *C. guilliermondii* crescendo em hidrolisado hemicelulósico de



bagaço de cana-de-açúcar, constataram que em 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.

A aeração é o principal fator que influencia a produção de xilitol por leveduras (MOLWITZ *et al.*, 1996; SILVA *et al.*, 1996). O oxigênio fornecido através da aeração é utilizado na respiração, transporte de açúcar, regeneração de coenzimas, produção de ATP durante a fosforilação oxidativa e no incremento da massa celular. Pequenas alterações na disponibilidade de oxigênio ocasionam mudanças no metabolismo da levedura e conseqüentemente alteram a excreção de xilitol. Segundo JEFFRIES (1983), essa influência parece estar relacionada com a regeneração dos cofatores essenciais para a atividade das enzimas xilose redutase e xilitol desidrogenase e, também, com a produção de ATP durante a fosforilação oxidativa.

Em condições aeróbias ocorre a maior produção de massa celular, enquanto que em condições limitadas de oxigênio, uma grande parte da xilose é convertida em xilitol (LIGHTELM *et. al.*, 1988; GROOTJEN *et. al.*, 1991; WINKELHAUSEN, KUZMANOVA, 1998). A dependência do comportamento fermentativo das leveduras em relação à disponibilidade de oxigênio pode ser devido ao fato de que sob condições anaeróbias, ou em taxas de transferência de oxigênio muito baixas, o sistema de transporte de elétrons é incapaz de oxidar completamente o NADH intracelular, ocasionando um aumento de sua concentração. Esse aumento provoca uma alteração das concentrações de NADH e NAD<sup>+</sup>, permitindo a excreção de xilitol. O aumento da taxa de transferência de oxigênio favorece a

fermentação de xilose. Esse fato pode ser devido ao papel do oxigênio como aceptor final de elétrons, que alivia a desproporção dos dois passos iniciais do metabolismo anaeróbio de xilose. Esta hipótese está sustentada pela relação inversa entre o grau de aeração e a produção de xilitol observada em algumas leveduras. Por outro lado, quando o oxigênio é fornecido em excesso, ocorre um desvio no fluxo de piruvato, resultando em uma alta produção de massa celular (Laplace *et al.*, 1991, citado por WINKELHAUSEN e KUZMANOVA, 1998, PARAJÓ *et al.*, 1998a).

Altos rendimentos em xilitol são observados sob condições de aeração e agitação apropriadas (SILVA *et al.*, 1997). Estudos realizados por SILVA *et al.* (1996) relatam que a produtividade volumétrica em xilitol por *C. guilliermondii* foi favorecida em 288 %, pelo aumento da agitação de 200 ( $k_{La}$  5,3 h<sup>-1</sup>) para 300 rpm ( $k_{La}$  10,6 h<sup>-1</sup>). Entretanto, o aumento para 400 rpm ( $k_{La}$  41 h<sup>-1</sup>) provocou um incremento de 22 % no consumo de xilose e uma diminuição de 71 % na produtividade volumétrica em xilitol. SILVA *et al.* (1997), em fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana de açúcar pela levedura *C. guilliermondii*, obtiveram maiores valores de produtividade volumétrica (0,87 g/L.h) e conversão de xilose em xilitol (0,67 g/g), com coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio igual a 27 h<sup>-1</sup> e agitação de 400 rpm. AGUIAR Jr. *et al.* (2002), em estudos da fermentação de D-xilose por *C. guilliermondii*, reportaram maiores valores de produtividade volumétrica em xilitol (1,52 g/L.h) com maior aeração (100 h<sup>-1</sup>) e maior concentração inicial celular (4 g/L). MARTINEZ *et al.* (2003), durante a fermentação contínua de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, reportaram que a produtividade volumétrica em xilitol não foi influenciada significativamente pelo nível de aeração (10 e 30 h<sup>-1</sup>). SANTOS *et al.*

(2005), em estudos da produção de xilitol por células imobilizadas de *C. guilliermondii* em reator de leito fluidizado reportaram que, maiores níveis de aeração ( $0,093 \text{ h}^{-1}$ ) e de concentração (125 g/L) proporcionaram menores valores de rendimento (0,21 g/g) e de produtividade volumétrica em xilitol (0,18 g/L.h). Por outro lado, foi obtida uma maior concentração celular (23,9 g/L) o qual indica que o metabolismo celular foi dirigido preferencialmente para a produção de biomassa celular.

O grau de inibição do metabolismo da xilose pelo ácido acético está principalmente relacionado com a concentração do ácido e a disponibilidade de oxigênio (du PREEZ *et al.*, 1991; FELIPE *et al.*, 1996). A aeração afeta significativamente a assimilação de ácido acético pelas leveduras. van ZYL *et al.* (1991), observaram um efeito favorável da aeração sobre o consumo de ácido acético e xilose pela levedura *Pichia stipitis*, com diminuição de 56 % da produtividade volumétrica em etanol, de 17 % da velocidade específica de crescimento e de 33 % do fator de conversão de xilose em xilitol, sob condições limitadas de oxigênio. Em condições anaeróbias de cultivo não foi verificado consumo de ácido acético e o crescimento celular foi mínimo (140 unidades KLETT). Verificou-se também uma diminuição de 38 % da produtividade volumétrica. Entretanto, o fator de conversão de xilose em etanol (0,47 g/g) não foi afetado pela presença de ácido acético.

Resultados encontrados por FELIPE *et al.* (1996) demonstraram que, em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, a melhor produtividade em xilitol (0,65 g/L.h) ocorre a 0,6 vvm (volume de ar por volume de meio por minuto), condição em que as células adaptaram-se bem na presença de concentrações de ácido acético em torno de 4,5 g/L. Segundo SILVA (1994) em

condições de aeração de 20 mL de ar/min, em meio contendo 1,0 g/L de ácido acético, a produção de xilitol foi reduzida em 4,36 %. A fermentação de xilose por *Pichia stipitis* foi também inibida pelo ácido acético (van ZYL *et al.*, 1991). Segundo estes autores, em concentrações de ácido acético na faixa de 0,8 a 13 g/L, pH 5,1 e 6,5 respectivamente, em condições anaeróbias, observou-se uma redução de 50 % na produtividade de xilitol.

#### **2.4. Purificação de hidrolisado hemicelulósico com resinas de troca iônica**

A via biotecnológica de obtenção de xilitol apresenta limitações quanto à eficiência e produtividade do processo fermentativo usando hidrolisado hemicelulósico como substrato devido à presença de compostos inibidores do metabolismo microbiano. Esses incluem produtos da degradação de açúcares glicose e xilose (furfural e hidroximetilfurfural), produtos da degradação da lignina (ácidos vanílico, siríngico, p.coumárico, ferúlico e vanilina), produto de radicais acetila presentes em algumas hemiceluloses (ácido acético) e metais pesados provenientes do equipamento da hidrólise (cobre, cromo, ferro, níquel) também são encontrados no hidrolisado. O modo de ação desses inibidores no desempenho das leveduras tem sido estudado, o qual depende principalmente da concentração desses inibidores no hidrolisado que por sua vez depende da origem da matéria-prima e das condições da hidrólise (PARAJÓ *et al.*, 1998b; PALMQVIST, HAGERDAL, 2000; DUES *et al.*, 2005).

Entre os métodos mais estudados para minimizar a concentração desses inibidores no hidrolisado hemicelulósico encontra-se o método de alteração do pH o qual causa a remoção parcial de ácidos (acético e taninos), compostos fenólicos, precipitação de íons metálicos pesados e conversão de furfural em

ácido furfurílico (ROBERTO *et al.*, 1994; ALVES *et al.*, 1999; NILVEBRANT *et al.*, 2003; PURWADI *et al.*, 2004; MUSATTO *et al.*, 2004); mas os açúcares podem ser parcialmente degradados (PARAJÓ *et al.*, 1998). Mediante a concentração a vácuo, se remove principalmente compostos inibidores voláteis como ácido acético e furfural (PARAJÓ *et al.*, 1998; MARTINEZ, 1999; RODRIGUES *et al.*, 2001). Por outro lado, mediante o processo de adsorção com carvão ativo se remove principalmente compostos fenólicos, furânicos e baixa remoção 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; MUSSATTO *et al.*, 2004).

O tratamento do hidrolisado com resinas de troca iônica é um dos mais eficientes métodos de remoção de inibidores do metabolismo microbiano. Removendo eficientemente os inibidores ácido acético, compostos fenólicos, furânicos e metais pesados, propicia-se aumentos no rendimento e a produtividade do processo fermentativo (NÁPOLES *et al.*, 1998).

Segundo DE DANDEL, ANDEN, 1989 e MOMMAERTS, no processo de troca iônica, os íons de uma determinada carga (anions ou cátions) presentes numa solução são adsorvidos sob um material sólido ou trocador iônico sendo trocados por quantidades equivalentes de outros íons da mesma carga cedida pelo sólido. Segundo esses autores, 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 ou contra-ión, que podem ser trocados com outros íons de mesma carga (co-íons) sem alterar a matriz (FIGURA 5).

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 da matriz determina suas propriedades físicas e em certo grau sua capacidade de troca (HARLAND, 1994).

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). De acordo com seus grupos funcionais podem ser classificadas em catiônicas ácido fraco ( $\text{COO}^-$ ), catiônicas ácido forte ( $\text{SO}_3^-$ ), aniônicas base forte Tipo I [ $\text{CH}_2^- \text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ ] e Tipo II [ $\text{CH}_2^- \text{N}(\text{CH}_3)_2 (\text{C}_2\text{H}_4\text{OH})^+$ ] e aniônicas base fraca [ $\text{CH}_2^- \text{N}(\text{CH}_3)_2$ ] e [ $\text{CH}_2^- \text{NH}(\text{CH}_3)$ ] (HARLAND, 1994).

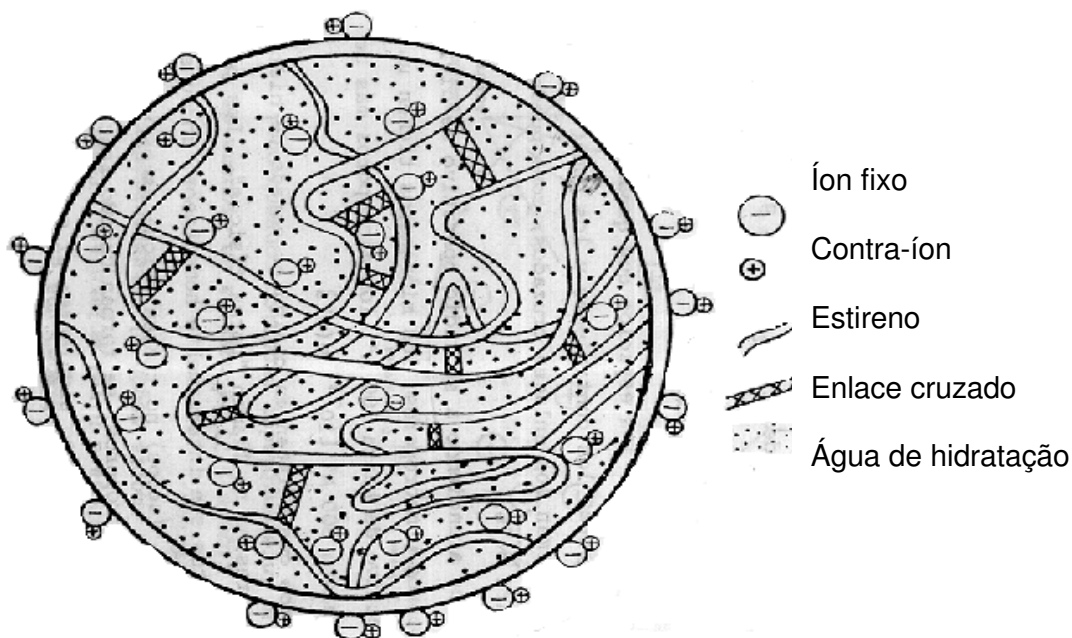


FIGURA 5. Modelo plano de uma resina de troca iônica catiônica.

As resinas de troca iônica são estruturas macromoleculares com uma base que contém esqueleto tridimensional ao qual se fixam os grupos ativos. As resinas são insolúveis em água e nos solventes orgânicos e inorgânicos mais comuns. A troca iônica se produz de maneira estequiométrica, para alcançar o equilíbrio cada mV de íons tomados da solução problema pela resina é substituído por outro íon que a resina entrega à solução. As resinas possuem diferentes capacidades de extrair os diferentes íons, esta capacidade aumenta com a valência, o número atômico e o grau de dissociação do íon trocado.

Segundo HARLAND (1994), as características mais importantes de um trocador ideal são: estrutura hidrofílica de forma regular e reprodutível, capacidade efetiva e controlada de troca iônica, reversibilidade e rápida velocidade de troca, estabilidade química, estabilidade física em termos de

resistência mecânica e resistência a fricção, estabilidade térmica e tamanho da partícula constante.

A capacidade de troca iônica de uma resina é possivelmente a característica mais importante de um trocador. É a medida quantitativa da sua habilidade de reter contra íons e pode ser expressa como capacidade total ou capacidade disponível.

A capacidade total é a quantidade de grupos carregados e potencialmente carregados por grama de resina e a disponibilidade é a capacidade sob condições experimentais específicas, que depende da acessibilidade dos grupos funcionais, concentração e força iônica do eluente, da natureza do contra íon e da seletividade do grupo funcional frente a eles. O pH e a temperatura do eluente também são importantes, especialmente para os trocadores ácido e base fracos.

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, o entrecruzamento das resinas, o tipo do grupo funcional e a natureza dos íons não trocados. A TABELA 2 apresenta a seletividade para cada um dos tipos de resinas (De DANDEL e ANDEN, 1989; HARLAND, 1994).

TABELA 2. Ordem de afinidade de diferentes resinas por íons em soluções diluídas

Resina	Seletividade
Catiônicas fracamente ácidas	$H^+ > Cu^{2+} > Pb^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Fe^{3+} > Ca^{2+} > Mg^{2+} > Na^+ > K^+ > Cs^+$
Catiônicas fortes	$Ca^{2+} > Mg^{2+} > K^+ > Na^+ > H^+$
Aniônicas fracamente básicas	$OH^- > SO_4^{2-} > HSO_4^- > I^- > NO_3^- > Br^- > Cl^- > HCO_3^- > HSiO_3^-$
Aniônicas fortemente básicas	$SO_4^{2-} > HSO_4^- > I^- > NO_3^- > Br^- > Cl^- > HCO_3^- > HSiO_3^- > F^- > OH^-$
Tipo I	$SO_4^{2-} > HSO_4^- > I^- > NO_3^- > Br^- > Cl^- > HCO_3^- > OH^- > HSiO_3^- > F^-$
Tipo II	$SO_4^{2-} > HSO_4^- > I^- > NO_3^- > Br^- > Cl^- > HCO_3^- > OH^- > HSiO_3^- > F^-$



O tratamento com resinas de troca iônica é a base de um grande número de processos químicos os quais podem ser divididos em três categorias principais compreendendo substituição, separação e remoção de íons. Essa técnica pode ser utilizada para a remoção de impurezas ácidas presentes no hidrolisado hemicelulósico, principalmente os ácidos minerais usados na hidrólise. Pela utilização de resinas de troca aniônica do tipo base fraca, os ânions  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , são removidos e trocados pelos íons  $\text{OH}^-$ , observando-se a neutralização da solução. Além disto, são removidos alguns compostos corantes, silicatos, taninos, ácidos orgânicos e cinzas. As resinas catiônicas removem impurezas nitrogenadas complexas, cinzas e corantes (PARAJÓ. *et al.*, 1998; NÁPOLES *et al.*, 1998). A remoção de cinzas, cor e de proteínas mediante a desmineralização dos xaropes aumenta a estabilidade da cor do xarope sem a necessidade de adição de dióxido de enxofre, o qual poderia ocasionar reações alérgicas aos humanos durante o consumo do produto final (PUROLITE). As cinzas podem estar formadas pelos íons sódio, cálcio, magnésio, cloretos e sulfatos (HONING, 1969).

O tratamento de neutralização e purificação de hidrolisados hemicelulósicos com resinas de troca iônica remove eficientemente não só a cor, mas também compostos fenólicos, ácidos orgânicos e inorgânicos, compostos furânicos e metais, que são inibidores do processo fermentativo. A purificação de hidrolisados com resinas de troca iônica não apresenta o problema relacionado com a perda de xilose constatada no tratamento dos hidrolisados com ácidos, bases e carvão ativo, sendo assim um método promissor para o tratamento destes hidrolisados (NÁPOLES *et al.*, 1998).

A purificação de hidrolisados por esta via possui vantagens tais como tempo de vida mais prolongado das resinas, menor espaço e uso de regenerantes mais

baratos. Entretanto, o uso de carvão ativo requer regeneração térmica para sua reutilização o qual é limitado e ocasiona prejuízos ao meio ambiente (PUROLITE, 1998<sup>a</sup>).

Em geral, os compostos inibidores também proporcionam a formação de cor ao sistema. Os fenóis, metais e o hidroximetilfurfural atuam como agentes produtores de cor ao polimerizar fragmentos de açúcares e compostos orgânicos não-açucarados tais como os aminoácidos presentes nos licores. De modo geral, a cor e seus promotores se caracterizam por serem compostos aromáticos, ânions alifáticos, compostos altamente hidratados, e os de alto peso molecular (DIAZ, 1989).

NAPOLIS, LOPEZ-PLANES (1987), detectaram polifenóis, taninos e antocianinas, alguns dos quais, se não são coloridos, são susceptíveis de produzir compostos coloridos com outros cátions e anions presentes nos licores identificados grupos funcionais fenólicos, carboxílicos, aminos e outros cores primários.

A troca iônica é aplicada em diferentes processos industriais como na indústria nuclear para a produção de água ultrapura; purificação de solventes e remoção de íons metálicos; no tratamento de água para a eliminação de nitratos, silicatos e outros íons dissolvidos na solução na produção de água desmineralizada (DYER *et al.*, 1993); em processos de descoloração e desmineralização de xaropes açucarados de milho (MANUAL DA PUROLITE); e na área biotecnológica para a purificação de numerosos produtos (DECHOW, 1989).

Nas indústrias alimentícia e açucareira as resinas de troca iônica são usadas para descalcificar, descolorir, desmineralizar e separar os compostos por

cromatografia. Esse método é aplicado em países como Estados Unidos, Canadá, França e Finlândia (GUZMAN, 1999).

A matriz da resina é insolúvel e os grupos funcionais enlaçados são capazes de trocar íons ou moléculas adsorvidas desde a solução e desse modo afetar a troca de íons ou da concentração molecular do xarope (PUROLITE).

Em estudos comparativos realizados por NÁPOLES *et al.* (1998) utilizando carvão ativo e uma série de resinas de troca iônica catiônica e aniônica para o tratamento de hidrolisado hemicelulósico de cana-de-açúcar contendo 58 g/L de xilose e neutralizado com óxido de cálcio, obteve-se uma redução dos inibidores ácido acético e fenóis de 15,2 % e 54,7 % usando carvão ativo e de 92,5 % e 98,9 % usando resinas de troca iônica, respectivamente. O uso de resinas também aumentou a conversão de xilose em xilitol em 36,5 %; a produtividade em 85,6 % e o rendimento em 36,5 % quando comparado ao carvão ativo.

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 foi tratado com resina aniônica AG 1-XB e pH 10,0. Uma diminuição do pH até 5,5 provocou uma diminuição da produtividade para 0,49 g/L.h durante o tratamento com a resina

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 usados de cervejaria 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.

## **2.5. Processo de cristalização**

A cristalização é uma das técnicas de purificação mais antigas do conhecimento humano, empregada em muitos casos quando se deseja obter um produto sólido o qual encontra-se dissolvido em uma solução. O processo de separação de um produto representa ao redor de 20-80 % do custo do produto, e este fato associado a que o 70 % dos produtos comercializados para serem usados pelas indústrias de processos e farmacêutica são sólidos, tornam importante o aumento do conhecimento da ciência da cristalização, quando a cada dia aumentam as exigências de perfeição estrutural, homogeneidade e controle de defeitos dos cristais (WHEELWRIGHT, 1987; DERENZO, 1994; SCHEEL, 2000; GIULIETTI *et al.*, 2001; van ROSMALEN *et al.*, 2003).

A predominância da cristalização como método de purificação é devido a que os cristais são de grande pureza, a produção de cristais uniformes facilita os

passos seguintes da produção tais como filtração e secagem, e este processo melhora a aparência do produto, aspecto importante para a aceitação do consumidor (BELTER *et al.*, 1988).

A complexidade do fenômeno de cristalização consiste no surgimento e no crescimento de partículas sólidas no meio, provocados por uma instabilidade na solução. Essa instabilidade pode ser provocada por mudanças nas propriedades físicas da solução tais como concentração e temperatura para a formação de um produto sólido. Assim, as partículas podem apresentar diversos tamanhos e formas durante a cristalização, exigindo um tratamento complexo dos dados experimentais (DERENZO, 1994).

Um cristal é uma estrutura altamente organizada caracterizada por uma formação tridimensional ordenada em forma de grade espacial. A grade está formada por partículas constituintes as quais podem ser átomos, íons ou moléculas que se separam do seio da solução quando os níveis de potenciais termodinâmicos do sistema adquirem valores que assim o impõem. Embora o tamanho relativo das faces possa variar para o mesmo composto, os ângulos feitos por faces correspondentes de todos os cristais do mesmo composto são iguais (BELTER *et al.*, 1988)

Em geral, o processo de cristalização pode ser conduzido a partir de um material fundido ou de uma solução (DERENZO, 1994; MULLIN, 2001; van ROSMALEN *et al.*, 2003). Um material fundido é um líquido perto de seu ponto de congelamento mas em sua aplicação geral o termo inclui mistura de líquidos homogêneos de duas ou mais substâncias que normalmente poderiam solidificar sob resfriamento a partir da temperatura ambiente. Por outro lado, uma solução é uma mistura homogênea de duas ou mais substâncias. Ambos os procedimentos

são importantes industrialmente, sendo o primeiro utilizado na remoção de impurezas presentes em baixos teores e o segundo como processo de separação de componentes e também na purificação de produtos. Existem diferenças importantes no que diz respeito aos parâmetros de processo entre os dois tipos de cristalização. Em um fundente o teor de substância a cristalizar está próximo de 100 %, e o processo ocorre na temperatura de solidificação, enquanto na cristalização em solução a substância a cristalizar encontra-se dissolvida em uma ou mais substâncias, podendo o processo ocorrer em uma faixa de temperatura.

Os tipos de cristalizadores podem ser classificados de acordo com as condições hidrodinâmicas no equipamento em cristalizadores não agitados, mecânicos, com classificação e agitados, entre estes últimos estão os com classificação de produto e com circulação interna ou externa (NÝVLT *et al.*, 2001). Entre os tipos básicos de cristalizadores encontramos os com resfriamento direto por ar ou por líquidos imiscíveis, com resfriamento indireto ou com vácuo, evaporação por solvente, secadores de nebulização (*spray dryers*), os de leito fluidizado, com reação química, cristalizadores a partir do estado fundido e cristalização fracionada (NÝVLT *et al.*, 2001, van ROSMALEN *et al.*, 2003).

A escolha do tipo de cristalizador a ser utilizado depende do material a ser cristalizado e do solvente, do método de cristalização, das especificações requeridas do produto, em particular a distribuição de tamanho do cristal, e da flexibilidade do projeto em casos onde devem ser cristalizados vários produtos em função da demanda. Outra consideração é se o processo vai ser conduzido em modo batelada, semicontínuo ou contínuo o qual está em dependência da quantidade de produto a ser produzido (van ROSMALEN *et al.*, 2003).

A cristalização e a precipitação podem ser consideradas como um processo de separação, onde a fase sólida é criada a partir de uma fase líquida. A maior diferença entre cristalização e precipitação é que mediante a primeira se produzem partículas de tamanho e forma bem definidos. Entretanto, mediante precipitação, obtém-se sólidos amorfos de forma e tamanhos mal definidos (BELTER *et al.*, 1988)

Quando se estuda o equilíbrio de fases de um sistema sólido-líquido, geralmente consideram-se dois estados da solução, a insaturada e a saturada. Há, no entanto, um outro estado de solução, a supersaturação, que permite a ocorrência da cristalização, e cujas propriedades tem efeitos marcantes sobre o processo e os parâmetros do produto obtido (NÝVLT *et al.*, 1985; MULLIN, 1961). Uma solução supersaturada é aquela que contém um teor de soluto acima do equilíbrio, nas mesmas condições de temperatura e concentração dos demais componentes (JANCIC, GROOTSCHOLTEN, 1984; BELTER *et al.*, 1988). Existem várias formas de se gerar a supersaturação (NÝVLT *et al.*, 1985; van ROSMALEN *et al.*, 2003).

Uma solução poderá atingir vários níveis de supersaturação a uma dada temperatura. Ostwalt (1897) citado por MULLIN (1961) introduziu pela primeira vez os termos lábil (instável) e metaestável para definir o grau de supersaturação, eles se referem respectivamente ao ponto onde ocorrerá ou não a geração espontânea de sólidos (MULLIN, 1961). À faixa de supersaturação compreendida entre estes dois pontos dá-se o nome de zona metaestável.

A escolha do método de cristalização quando se parte de uma solução, depende da inclinação da curva de solubilidade versus temperatura. A supersaturação pode ser criada por resfriamento, evaporação, adição de anti-

solvente ou por precipitação (NÝVLT *et al.*, 1985; NÝVLT *et al.*, 2001; GIULIETTI *et al.*, 2001; van ROSMALEN *et al.*, 2003). Na FIGURA 6 apresentam-se diferentes comportamentos das curvas de solubilidade (van ROSMALEN *et al.*, 2003). Quando temos uma curva íngreme e supersaturação relativa ( $\sigma = \Delta C/c^*$ ) menor que 0,01 o resfriamento é o mais indicado, proporcionando a formação de cristais grandes, podendo ocorrer nucleação secundária. Este método é o mais aplicado para compostos facilmente solúveis, e pode ser alcançado por resfriamento indireto, direto ou por resfriamento a vácuo.

No caso de uma curva de solubilidade achatada com  $\sigma$  menor que 0,01 usa-se a evaporação, gerando cristais grandes e pode ocorrer também nucleação secundária.

Quando a curva é achatada ou íngreme e  $\sigma$  menor que 1 pode-se usar a cristalização por anti-solvente, ou precipitação física, facilitando-se a formação de cristais de tamanho médio, podendo ocorrer nucleação primária ou secundária. A nucleação primária é caracterizada por mecanismos nos quais o nascimento dos cristais ocorre na ausência de cristais e a nucleação secundária resulta da presença de cristais da substância em soluções supersaturadas.

E caso se tenha uma curva achatada ou íngreme em que  $\sigma \gg 1$  então é melhor utilizar cristalização por precipitação dando lugar a cristais pequenos ocorrendo nucleação primária (van ROSMALEN *et al.*, 2003).



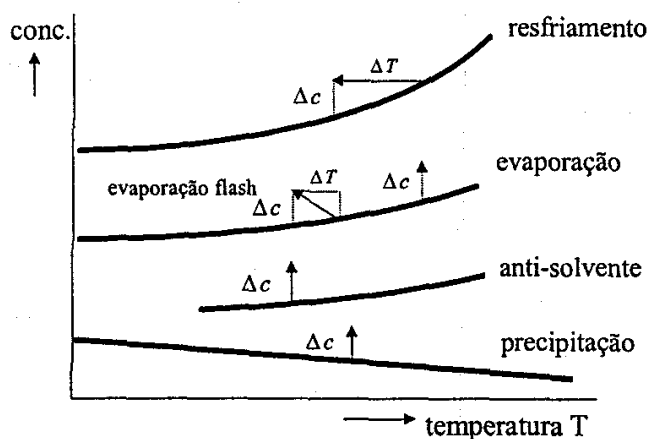


FIGURA 6. Curvas típicas de solubilidade.

A cristalização é uma transição de fase de primeira ordem. Isto implica que em um ponto de transição os cristais da fase sólida estão em equilíbrio com a fase líquida (solução ou fundido); uma fase líquida supersaturada ou subresfriada pode ser criada por uma mudança de concentração, temperatura ou pressão; as duas fases estão separadas pela superfície do cristal com uma tensão interfacial  $\gamma > 0$  e a supersaturação são necessárias para a nucleação primária, causada pela tensão interfacial (van ROSMALEN *et al.*, 2003). Dentro da chamada zona metaestável não ocorre nucleação na fase líquida clara dentro de um período razoável de tempo. A formação de núcleos e seu posterior crescimento em cristais ocorrem somente quando a supersaturação é criada, que atua como força motriz para a cristalização. A nucleação pode ser induzida por agitação, choque mecânico, fricção e pressões extremas. Entretanto, antes que os cristais possam desenvolver-se, devem existir na solução um número de corpos sólidos, embriões ou núcleos que devem atuar como centros de cristalização (MULLIN, 1993).

A formação de núcleos cristalinos é um processo que decide o tamanho dos cristais do produto e a sua pureza e propriedades físicas. O requisito fundamental para a operação de cristalização é o controle do número de cristais gerados, ou seja, o controle da velocidade de nucleação. Segundo a FIGURA 7 o aumento da supersaturação  $\Delta C$  a velocidade ou taxa de crescimento cristalino  $G$  aumenta quase linearmente e a velocidade ou taxa de nucleação  $N_N$ , primeiramente desprezível, cresce rapidamente a supersaturações maiores. Essa dependência reflete-se na dependência do tamanho médio dos cristais  $L_m$ , de tal forma que para supersaturações maiores, o tamanho médio dos cristais diminui significativamente (NÝVLT *et al.*, 2001; GIULIETTI *et al.*, 2001).

Os mecanismos da nucleação podem ser classificados como nucleação primária homogênea e heterogênea e nucleação secundária originada por cristais, por camada intermediária ou por contato (MULLIN, 1993; NÝVLT *et al.*, 2001; van ROSMALEN *et al.*, 2003).

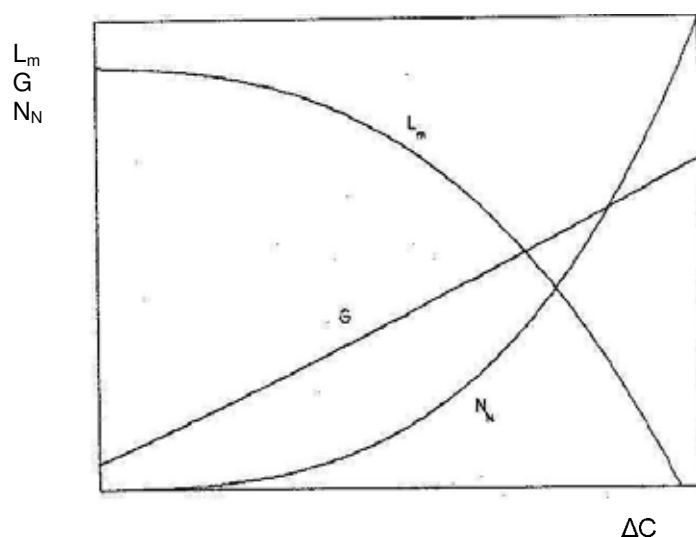


FIGURA 7. Efeito da supersaturação na cristalização, onde:  $L_m$  é o tamanho médio de cristais;  $G$  é a velocidade de crescimento;  $N_N$  é a taxa de nucleação e  $\Delta C$  é a supersaturação da solução.

A nucleação primária é caracterizada por mecanismos nos quais o nascimento dos cristais se dá na ausência de cristais; se a solução é absolutamente pura, a nucleação ocorre pelo mecanismo de nucleação homogênea. Neste caso, de acordo com a teoria clássica da nucleação, minúsculos grupos de partículas (*clusters*) são formados na solução partindo de unidades básicas. Quando os *clusters* atingem um tamanho crítico  $L$ , correspondente à solubilidade de tais partículas, as forças atrativas no *cluster* prevalecem sobre a ação das partículas próximas presentes na solução e o núcleo permanece estável. A velocidade de nucleação pode ser escrita como:

$$N_N = k' \exp(-\Delta G^* / k T) \quad (1)$$

A velocidade de nucleação  $N_N$  é o número de núcleos gerados num intervalo de tempo unitário, numa quantidade de solução que contém uma quantidade unitária de solvente. A variação da energia livre de Gibbs que acompanha a formação de uma nova partícula de tamanho  $L$  pode ser escrita pela equação:

$$\Delta G = -\alpha L^3 \Delta\mu / \nu + \beta L^2 \sigma_{sl} \quad (2)$$

onde  $\Delta\mu$  representa a variação de potencial químico que acompanha a transferência de uma partícula do líquido à fase sólida,  $\nu$  é o volume molecular,  $\sigma_{sl}$  é a energia específica de superfície e  $\alpha$  e  $\beta$  são respectivamente, os fatores de forma de volume e de superfície. O primeiro termo do lado direito da equação representa a variação de energia livre de Gibbs com a formação de volume; o segundo termo corresponde à formação de superfície da fase sólida (SAWADA, 1998). A dependência da energia livre de Gibbs no tamanho do cluster passa por um máximo que corresponde ao tamanho do núcleo crítico  $L_{crit}$  (FIGURA 8).

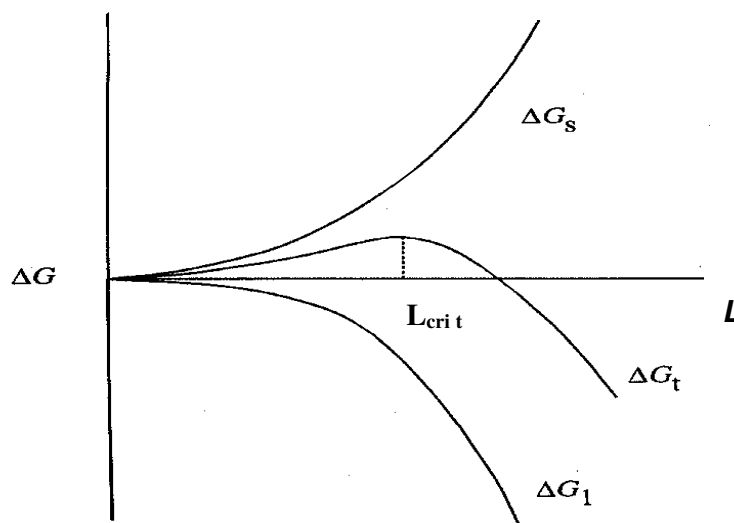


FIGURA 8. Dependência da energia livre ( $\Delta G$ ) com o tamanho de partícula ( $L$ ) (Sawada, 1998).

A nucleação heterogênea se produz na presença de substâncias sólidas estranhas ao meio tais como pó, colóides e paredes do cristalizador e, se a nucleação se dá numa suspensão cristalina então ela se denomina nucleação secundária (NÝVLT *et al.*, 2001; van ROSMALEN *et al.*, 2003).

As cinéticas de nucleação primária, crescimento cristalino e de nucleação secundária podem ser estudadas utilizando *experimentos-modelo*, em escala de laboratório ou em cristalizadores de planta piloto, operando em contínuo ou em batelada. Como neles a cristalização ocorre em condições similares às dos cristalizadores industriais, os dados cinéticos são obtidos de forma mais confiável para sua utilização em engenharia química, diminuindo o risco do projeto (NÝVLT *et al.*, 2001).

Quando se utilizam os *experimentos-modelo*, não se estudam as cinéticas diretamente, mas as estimam a partir das propriedades dos produtos, sendo estas afetadas por outros processos, então não considerados. Além disso, investiga-se

a cristalização em um sistema constituído de um grande número de partículas, cujas propriedades individuais são desprezadas pelo tratamento estatístico, não sendo possível estudar o comportamento específico, por exemplo, das faces individuais dos cristais (NÝVLT *et al.*, 2001).

A FIGURA 9 representa uma parte do diagrama de fases de um sistema binário sólido-líquido possuindo uma dependência positiva da solubilidade com a temperatura. A uma dada temperatura  $T$ , uma solução é supersaturada se  $C(T) > C_{\text{sat}}(T)$ , pertencendo à zona metaestável, região delimitada pela curva de solubilidade (a) e a de supersaturação limite (b) (ou limite do comportamento metaestável); estas duas curvas são, em geral, aproximadamente paralelas. Segundo a FIGURA 9: um processo politérmico é efetuado por resfriamento da solução, representado pela rota A'-A-B do diagrama. A solução é resfriada desde a condição inicial (A'), passando pela saturação (A), até atingir a supersaturação com  $T < T_2$ . Neste ponto (A), a solução está saturada e deverá estar em equilíbrio com a fase sólida correspondente, se existente. A precipitação espontânea dos sólidos só ocorre da forma efetiva quando é atingido o limite da zona metaestável (B).

Portanto, podem ser definidos:

- grau máximo de super-resfriamento:

$$\Delta T = T_2 - T_1 \quad (3)$$

sendo  $T_2$  a temperatura de saturação da solução ( $C=C_{\text{sat}}(T_2)$ ) e  $T_1$  a temperatura correspondente à supersaturação limite.

- grau máximo de supersaturação:

$$\Delta C_{\text{máx}} = C_{\text{sat}}(T_2) - C_{\text{sat}}(T_1) \quad (4)$$

Se o trecho da curva de solubilidade em questão for aproximadamente linear, resulta a seguinte relação para os dois parâmetros da supersaturação:

$$\Delta C_{\text{máx}} \cong \Delta T_{\text{máx}} (dC_{\text{sat}} / dT) \quad (5)$$

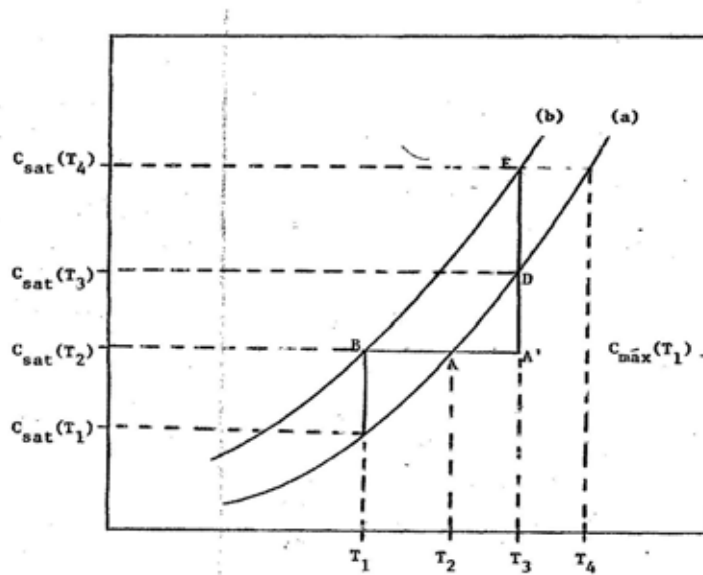


FIGURA 9. Diagrama de fases de um sistema binário sólido-líquido.

A rota A'-D-E da FIGURA 9 ilustra o processo isotérmico, através da evaporação do solvente a temperatura constante. Considerando a mesma concentração inicial do processo politérmico, os graus máximos de supersaturação e de super-resfriamento serão diferentes dos valores obtidos no processo politérmico (DERENZO, 1994).

Na zona metaestável o soluto em excesso da concentração de equilíbrio poderá depositar-se sobre os cristais existentes, mas não são formados novos núcleos (BELTER *et al.*, 1988; KRISTIAN *et al.*, 1999).

A largura da zona metaestável é afetada por uma série de outros fatores, dos quais os mais importantes são a temperatura, pureza física da solução, a presença de impurezas e de aditivos solúveis, a velocidade de resfriamento, história térmica da solução e efeitos de ação mecânica na solução (NÝVLT *et al.*, 1985; NÝVLT *et al.*, 2001). Por exemplo, uma solução não agitada possui uma zona metaestável mais larga que a da mesma solução sob agitação (MULLIN, 1961). Observação semelhante foi feita por Garside *et al.* (1972) citado por LAGUERIE (1991) quando dizem que o aumento da velocidade de agitação, de choques ou de irradiação por ultra-som sobre a solução provoca um estreitamento da largura da zona metaestável. Segundo Nývlt (1968) citado por LAGUERIE (1991) a velocidade de resfriamento e, de um modo geral, o processo térmico ao qual foi submetida a solução afetam a supersaturação limite. Por outro lado, a curva de supersaturação é muito sensível à presença de contaminantes e, em particular, às poeiras em suspensão no ar que tenham passado para a solução (MULLIN, 1961; Garside *et al.*, 1972 citado por LAGUERIE, 1991; Nývlt, 1968 citado por LAGUERIE, 1991).

Assim, segundo os efeitos discutidos anteriormente, a largura da zona metaestável, embora possa ser muito reprodutível num mesmo laboratório, pode não o ser quando medida por diferentes laboratórios e até por diferentes operadores (NÝVLT *et al.*, 1985).

A nucleação secundária, resulta da presença de cristais da substância em soluções supersaturadas. Uma supersaturação muito elevada é necessária para romper a barreira energética da nucleação homogênea, supersaturação esta jamais alcançada em cristalizadores industriais, pelo menos para substâncias solúveis. A nucleação heterogênea sem dúvidas requer supersaturações

menores, mas ainda muito elevadas para garantir crescimento cristalino regular (DERENZO, 1994; NÝVLT *et al.*, 2001; van ROSMALEN *et al.*, 2003). O efeito da supersaturação na nucleação secundária pode ser explicado como que as microrrugosidades das sementes aumentam com a supersaturação, aumentando a probabilidade dos *clusters* se soltarem numa colisão; o número de núcleos sobreviventes a altas supersaturações aumenta, pois o tamanho crítico do núcleo é aproximadamente inversamente proporcional à supersaturação; a camada adjacente torna-se mais espessa a supersaturações mais elevadas e contém um maior número de clusters que são em média maiores, de forma que a probabilidade de um cluster poder sobreviver também aumenta (NÝVLT *et al.*, 2001).

Segundo MULLIN (1993), NÝVLT *et al.* (2001) e van ROSMALEN *et al.* (2003), o mecanismo de nucleação secundária aparente, onde núcleos são introduzidos na solução, ocorre ao submergir um cristal seco na solução supersaturada. Na superfície desse cristal há a presença de microcristais, aderidos por forças eletrostáticas ou capilares, gerados por atrito dos cristais, ou pela secagem do licor-mãe. Após a submersão do cristal na solução eles começam se soltar da superfície aderida, servindo de núcleos de crescimento. A desintegração de policristais pode também contribuir à formação de novos núcleos cristalinos.

A nucleação secundária por contato, causado por atrito, baseia-se no fato que a superfície do cristal não é completamente lisa e contém um número de imperfeições, chamados montes e vales microscópicos, de diversos tamanhos, que vão do núcleo crítico até os visíveis a olho nú (MULLIN, 1993; NÝVLT *et al.*, 2001; van ROSMALEN *et al.*, 2003). Um impacto de outro corpo sólido nessa



superfície atua numa área superficial muito menor do que seria no caso de uma face lisa; tais forças podem quebrar esses pequenos montes e os microcristais poderão agir como núcleos cristalinos.

Como último, a nucleação secundária na camada intermediária, interface cristal-solução, pode ser subdividida nos seguintes grupos: nucleação vegetativa que afirma que próximo à superfície do cristal, formam-se os clusters ou blocos, mais ou menos orientados, que podem ser facilmente removidos da camada intermediária para a solução escoando pelo cristal, gerando assim novos núcleos cristalinos. Em um outro grupo, a força representada pela superfície do cristal causa mudança na estrutura da solução aderida; por exemplo, a estrutura das moléculas da água pode mudar levando a uma diminuição da solubilidade do soluto e a uma supersaturação local maior nas vizinhanças do cristal, o que explica o efeito da fase sólida na nucleação. O mecanismo do gradiente de impureza pode ser efetivo em casos nos quais o aditivo solúvel é incorporado no retículo cristalino. Concentrações relativas de tais substâncias próximas à superfície do cristal são então menores que aquela no seio da solução e se o aditivo retarda a nucleação, as condições próximas à superfície favoreceram o surgimento de novos núcleos cristalinos (NÝVLT *et al.*, 2001).

Segundo NÝVLT *et al.* (2001), a velocidade de nucleação secundária é significativamente afetada pela intensidade da agitação que pode ser expressa como velocidade de rotação do agitador. Um aumento da intensidade de agitação torna mais freqüentes as interações mútuas entre os cristais, assim como os contatos cristal-agitador e cristal-paredes do cristalizador. Em diversos casos, encontrou-se uma dependência exponencial entre a velocidade de rotação do agitador e a velocidade de nucleação secundária, com expoentes de 2 a 4.

As equações de crescimento (G) e nucleação (dN/dT) secundária que descrevem a cinética de cristalização podem ser expressas por (MULLIN, 2001; DERENZO, 2003):

$$G = dL/dT = k_g(C-C_{sat})^g = (k_g\beta/3\alpha\rho_c)(C-C_{sat})^g \quad (6)$$

$$dN / d\tau = k_N m_c^c \Delta C^n \quad (7)$$

onde  $k_g$  é a constante cinética de crescimento de cristais;  $g$  é o expoente da cinética de crescimento cristalino;  $\beta$  é o fator de forma da área superficial;  $\alpha$  é o fator de forma do volume;  $\rho_c$  é a densidade do cristal;  $m_c$  concentração de sólidos  $k_N$  é a constante cinética de nucleação;  $\Delta C$  a supersaturação;  $c$  é o expoente da concentração mássica de cristais na cinética de nucleação; e  $n$  é o expoente da nucleação secundária em relação a concentração de sólidos com valores de 0 para o mecanismos de adsorção, 1 para o mecanismo de colisão cristal-cristalizador e 2 para o mecanismo de colisão cristal-cristal.

Uma vez nucleados, os cristais começam a crescer pela incorporação do soluto na sua estrutura. O mecanismo, em geral, leva ao crescimento das faces do cristal em diferentes velocidades e pode sofrer, da mesma maneira que a nucleação, efeitos de impurezas e aditivos presentes na solução (DERENZO, 1994; van ROSMALEN *et al.*, 2003).

Segundo van ROSMALEN *et al.* (2003), o mecanismo de crescimento de um cristal em uma solução pode ser dividido nas etapas de difusão de unidades de crescimento até a superfície do cristal e a integração destas unidades na superfície do cristal.

Embora a cristalização seja uma operação unitária, pode-se estabelecer um paralelo com a reação química, pois ambas são governadas por leis cinéticas.

Assim como no reator químico, os parâmetros cinéticos de cristalização sofrem interação com diversas variáveis, influenciando no comportamento do cristalizador (DERENZO, 1994).

Apesar de ter havido o desenvolvimento de modelos e teorias importantes desde o século passado, o ferramental necessário à análise da cristalização como processo advém da aplicação do conceito do balanço populacional de cristais. O balanço consiste basicamente na determinação do número de cristais por faixa de tamanhos. Esta abordagem surgiu na década de 60, possibilitando assim um grande avanço no seu estudo (DERENZO, 1994).

As teorias de crescimento de cristais podem-se classificar em duas categorias: aquelas que se ocupam de forma final dos cristais e as que se ocupam da cinética de crescimento cristalino (NÝVLT *et al.*, 2001). As teorias que pertencem à primeira categoria não contêm em suas premissas fundamentais o fator tempo e tentam resolver a forma final dos cristais em função dos parâmetros energéticos do sistema cristal-fase mãe. Pôr outro lado, as que se ocupam da cinética de crescimento cristalino tentam, expressar o efeito de parâmetros auxiliares tais como concentração, temperatura e pressão na velocidade de crescimento das faces cristalinas individuais. Essas teorias contribuem para a obtenção de condições de crescimento que levam a cristais com propriedades predefinidas.

Os métodos de medida da velocidade de crescimento de cristais podem ser divididos em diretos e indiretos (NÝVLT *et al.*, 2001). Ao primeiro grupo pertencem os métodos experimentais baseados na observação e medida diretas realizadas em microscópio ótico. Usualmente utiliza-se um cristal único, entre estes estão a medida direta do tamanho do cristal sob microscópio, no início e ao

final do experimento; a medida utilizando microscópio de percurso (catetômetro) que permite o monitoramento direto da medida do tamanho do cristal e a medida com uso do micrômetro (NÝVLT *et al.*, 2001; van ROSMALEN *et al.*, 2003).

Segundo NÝVLT *et al.* (2001), existem outros métodos diretos onde a velocidade linear de crescimento não é medida diretamente mas é calculada a partir da medida direta de massa ou do volume dos cristais. Entre esses os mais importantes são a pesagem de um cristal único com medida do aumento de massa onde o cristal pode ser pesado ou antes ou depois do experimento, ou continuamente, pela ação no braço de uma balança; e o método do leite fluidizado, onde o aumento da massa de um contado número de cristais obtido pelo escoamento de uma solução supersaturada através deles em um leite fluidizado, é medido no início e no final do experimento.

Por outro lado, os métodos indiretos utilizam uma medida de outros dados experimentais. Esses podem ser, por exemplo, a distribuição de tamanhos dos cristais do produto obtido em cristalizadores agitados em batelada, onde se segue o aumento da massa dos cristais na suspensão; em cristalizadores contínuos tipo MSMPR (Mixed Suspension, Mixed Product Removal- Suspensão Bem Misturada com Remoção de Produto Bem Misturado); e a medida da taxa de dessurpesaturação em um sistema isotérmico isolado (NÝVLT *et al.*, 2001; van ROSMALEN *et al.*, 2003).

A distribuição de tamanhos de cristais de um produto é extremadamente importante para os estudos de cristalização, pois é um critério decisivo para os tratamentos conseqüentes do produto, como a separação do licor-mãe, a secagem e para a utilização e o destino finais. A distribuição de tamanhos de cristais pode ser uma forma conveniente de diagnóstico de operação do

cristalizador e sua utilização pode fornecer uma estimativa de inúmeros parâmetros de cristalização, muito apropriados ao bom entendimento e a descrição do processo de cristalização.

Segundo NÝVLT *et al.* (2001), é praticamente impossível assegurar idênticas condições de crescimento para os cristais no volume inteiro do cristalizador; há novos cristais nascendo durante o processo de cristalização, o que somando resultará sempre em um produto que possuirá tamanhos diferentes de cristais. De acordo com o método de determinação da distribuição de tamanho de cristais (DTC), pode-se distinguir a distribuição do número de cristais obtida pela medida de um grande número de cristais sob o microscópio, e a distribuição de massa dos cristais obtida pela pesagem das frações do produto retidas em peneiras de tamanhos determinados. Essas DTCs podem ser representadas como distribuições cumulativas, isto é, como os dados das frações de maiores tamanhos  $M(L)$ , sendo a massa dos cristais (em % mássica) maior que a abertura da peneira  $L$ , e a distribuição diferencial ou de freqüências,  $M'(L) = dM(L)/dL$ , ou seja, a massa de cristais correspondente a um intervalo unitário de tamanho  $L$ . Enquanto a distribuição cumulativa de tamanhos é caracterizada pelo tamanho do cristal (ou malha da peneira)  $L$ , a distribuição diferencial deve ser caracterizada por ambos os tamanhos vizinhos  $L_1$  e  $L_2$ , o que leva à necessidade de caracterizar também a distribuição de tamanhos dentro desse intervalo, que normalmente não é conhecida, sendo por isso, utilizada a distribuição cumulativa obtendo-se a distribuição diferencial pela derivação da primeira.

A análise granulométrica em peneiras é o método mais freqüentemente utilizado na prática da cristalização para determinar a DTC. Por este método, o tamanho característico dos cristais é dado pela abertura da peneira através da

qual a partícula pode passar. Em geral, utiliza-se uma série de peneiras para as quais existe uma relação definida, entre a abertura de duas peneiras próximas. O peneiramento pode ser efetuado manualmente ou por meio de equipamentos mecânicos de peneiramento, que fornecem resultados mais reproduzíveis para uma série de medidas (NÝVLT *et al.*, 2001).

O meio no qual um produto foi cristalizado pode afetar as suas propriedades tais como cristalinidade, granulometria, morfologia, que interferem nas suas características finais, influenciando no processamento posterior. A filtrabilidade, densidade da suspensão e outros parâmetros do processo dependem fundamentalmente da distribuição granulométrica e do hábito do cristal. A estrutura interna do cristal, obtida pela difração de raios-X, é conhecida para a maioria dos sólidos e, a menos que exista um polimorfo, ela não vai variar com o crescimento cristalino. O hábito externo, no entanto, pode variar com as condições de crescimento, tipo de solvente e presença de impurezas (MYERSON, SASKA, 1990).

A escolha de um solvente num processo de cristalização pode afetar também o tipo de processo mais adequado será evaporação quando a solubilidade praticamente não variar com a temperatura ou poderá ser por resfriamento, quando a variação for significativa.

A modelagem matemática de cristalizadores em batelada é mais difícil que a dos contínuos, pois grandezas envolvidas tais como supersaturação, concentração da suspensão, número e tamanho dos cristais e temperatura variam com o tempo. A modelagem desenvolvida por Nývlt baseia-se nas equações cinéticas de nucleação e crescimento, no balanço de massa, na linearização da distribuição granulométrica representada pela função gama modificada e no

tamanho dominante dessa distribuição, representada pelo terceiro momento da distribuição. Nos casos em que a aglomeração e a quebra estão presentes, estas serão inseridas, respectivamente na cinética de crescimento e de nucleação. Assim, a velocidade de crescimento avaliada é aparente (DERENZO, 1994; NÝVLT *et al.*, 2001).

A distribuição granulométrica no modelo Nývlt (NÝVLT *et al.*, 1985), considera uma distribuição mássica acumulada até o tamanho correspondente ao da abertura da peneira. A distribuição granulométrica dos cristais é uma função do tipo gama:

$$M(L) = (100 (1+z+z^2/2 + z^3/6)/f(z_n)) \exp(-(z-z_n)) \quad (8)$$

$$\text{com} \quad z = (L-L_n)/3L_m \quad (9)$$

$$f(z_n) = (1+z_n+z_n^2/2+z_n^3/6) \quad (10)$$

$$z_n = L_n/3L_m \quad (11)$$

onde  $L_m$  é o tamanho dominante dos cristais;  $L_n$  o tamanho mínimo dos cristais na distribuição;  $G$  a velocidade média de crescimento em que o nível de supersaturação pode variar ao longo do ensaio;  $z$  é um adimensional de tamanho.

O valor de  $L_n$  é aproximadamente constante para um material e um conjunto de condições de operação (NÝVLT *et al.*, 1985). Consequentemente,  $f(z_n)$  também é constante e próximo à unidade para núcleos pequenos.

Nessa distribuição o tamanho médio ou dominante é o correspondente ao ponto máximo da distribuição diferencial ou ao de inflexão na distribuição acumulada (NÝVLT *et al.*, 1985) o que é obtido pela diferenciação da equação e igualando-a a zero. Através desse modelo chega-se que o tamanho dominante é aquele que equivale a  $z=3$  e corresponde a 64,7 ou 65 % da distribuição (NÝVLT *et al.*, 2001; MULLIN, 2001).

A massa de cristais por unidade de volume de cristalizador pode ser dada por:

$$m_c = (6/81)\alpha\rho_c n_N^0 (G\tau_r)^4 f(z_n) = (6/81)\alpha\rho_c n_N^0 (L_m - L_n) f(z_n) \quad (12)$$

Onde o número de núcleos é dado por:

$$n_N^0 = (dN/dT)/G \quad (13)$$

Uma forma conveniente de se calcular a velocidade de nucleação consiste na substituição das equações 7 e 12 em 6:

$$dN/dT = (27 m_c G)/(2\alpha\rho_c f(z_n) (L_m - L_n)^4) \quad (14)$$

Com base nas equações o modelo obtido é:

$$(L_m - L_n)^{1-3g/n} = 3B_N m_c^{(1-c)(g/n)} (t_b/3)^{(1-g/n)} / f(z_n)^{g/n} \quad (15)$$

$$\text{onde: } B_N = (4,5k_g^{n/g} / \alpha\rho_c k_N)^{g/n} \quad (16)$$

para  $L_n = 0 \Rightarrow z_n = 0 \Rightarrow f(z_n) = 1 \Rightarrow$

$$L_m^{1-3g/n} = 3B_N m_c^{(1-c)(g/n)} (t_b/3)^{(1-g/n)}$$

A partir da equação 14, pode-se estimar os valores de  $c$ ,  $g/n$  e  $B_N$  aplicando-se logaritmo nos dois lados da equação e realizar uma regressão multilinear em uma série de dados experimentais (DERENZO, 2003):

$$Y = \log dN/dT = \log(k_N/k_g^{n/g}) + c \log m_c + (n/g) \log G \quad (17)$$

$$Y = A + c \log(m_c) + n/g \log(G)$$

De onde:

$$B_N = (4,5^{g/n} k_g) / (\alpha\rho_c k_N)^{g/n} = (4,5k_g^{n/g} / \alpha\rho_c k_N)^{g/n} = (4,5/\exp(A)\alpha\rho_c)^{g/n} \quad (18)$$



Assim, segundo DERENZO (2003), pode-se obter os valores dos parâmetros cinéticos sem que o perfil da supersaturação tenha sido monitorado ao longo do ensaio. A aplicação destes parâmetros na equação 15 permitem a previsão do tamanho médio dos cristais a serem obtidos a partir de uma dada condição experimental.

A separação dos expoentes  $g$  e  $n$  pode ser obtida a partir do grau máximo de super-resfriamento ( $\Delta T_{\max}$ ), que pode ser relacionado com a supersaturação máxima ( $\Delta C_{\max}$ ) da seguinte maneira:

$$\Delta C_{\max} = (dC_{\text{eq}}/dT) \Delta T_{\max} \quad (19)$$

Assumindo-se que nos estágios iniciais da nucleação a produção seja igual a velocidade de supersaturação e considerando a velocidade de resfriamento (VR):

$$dC_{s(\text{nucl})}/dT = (dC_{\text{eq}}/dT) (-VR) = k_n \Delta C^m \quad (20)$$

onde  $m$  é a ordem aparente de nucleação.

Combinado-se as equações:

$$(dC_{\text{eq}}/dT) (VR) = k_N (dC_{\text{eq}}/dT) \Delta T_{\max}^m \quad (21)$$

que, linearizada tomando-se o logaritmo resulta:

$$\ln \Delta T_{\max} = [(1-m)/m] \ln dC_{\text{eq}}/dT - (1/m) \ln k_N - (1/m) \ln VR \quad (22)$$

Em geral, corrige-se a equação 22 para compensar a dificuldade de se detectar os primeiros cristais sem que eles tenham crescido até um tamanho visível. Assim, a ordem real de nucleação ( $n$ ) pode ser obtida conhecendo-se o expoente para a taxa de crescimento ( $g$ ) através da equação 23 (NÝVLT *et al.*, 2001):

$$n = 4(m-1)/(3(g/n)+1) \quad (23)$$

### 2.5.1. Cristalização de xilitol

Os trabalhos relatados na literatura com relação à produção de xilitol enfatizam principalmente os aspectos metabólicos da bioconversão ou da preparação de hidrolisados para a fermentação, assim como aspectos relacionados com o tratamento de hidrolisados e a redução de xilose a xilitol empregando-se catalisadores químicos. Entretanto, existe pouca informação em relação à recuperação do produto. Estes estudos poderiam ser baseados em parte nos métodos gerais aplicados a açúcares diversos, devido à similaridade estrutural e físico-química entre estes compostos. No entanto, características específicas do sistema, tais como alta viscosidade, reologia complexa, instabilidade em relação a altas temperaturas, semelhanças físico-químicas entre produtos e contaminantes, tais como pequenas diferenças de densidade, fazem da purificação de açúcares uma das etapas mais difíceis na produção de substâncias puras (WEATHERLEY, 1994).

A cristalização de xilitol a partir de solução aquosa tem sido estudada por alguns pesquisadores, mas não há informações suficientes para se desenvolverem processos industriais. WOLFROM e KOHN (1942) observaram a formação de cristais de xilitol obtidos a partir da hidrogenação da xilose, mantendo a solução de xilitol a baixas temperaturas durante algumas semanas. Os cristais foram caracterizados como anidros, higroscópicos e com ponto de fusão 61 °C, o que é significativamente menor que o ponto de fusão de xilitol puro, de 93,5 °C (LIDE e MILNE, 1996).

Segundo APEL *et al.* (1959), MANZ *et al.* (1973), AMINOFF *et al.* (1978), VYGLAZOV e KHOL'KIN (1984) e ULLMANN (1998) a dependência da

solubilidade do xilitol com a temperatura é maior que para a sacarose (FIGURA 10).

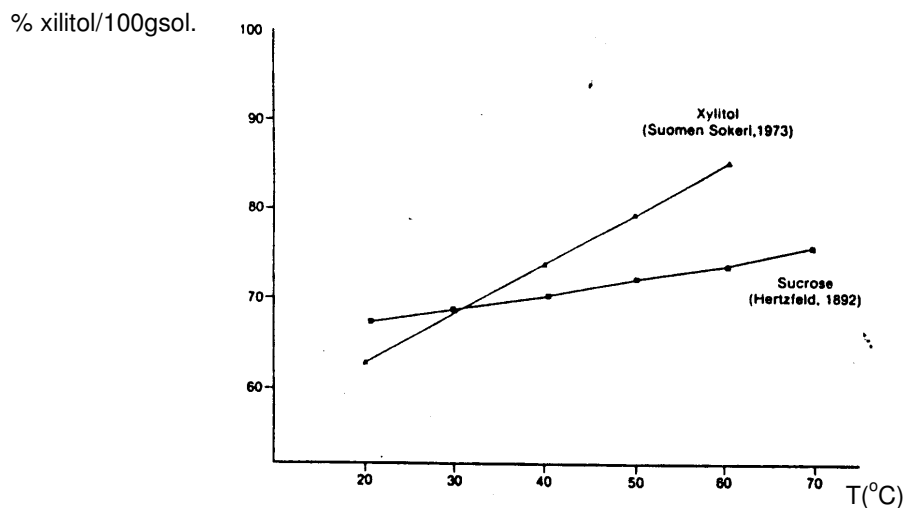


FIGURA 10. Solubilidade do xilitol e da sacarose em água (MANZ et al.,1973).

Segundo VYGLAZOV e KHOL'KIN (1984), a solubilidade do xilitol puro depende significativamente da temperatura e da composição da mistura de solvente água-etanol. A solubilidade do xilitol em água pura diminuiu de 85 a 50 g/100g de solução, com a diminuição da temperatura desde 333 a 278 K. Com o incremento da concentração de etanol até 95,3 % na solução, a solubilidade do xilitol foi menor diminuindo seus valores de 18 até próximo 0 g/g de solução com a mesma diminuição da temperatura (FIGURA 11).

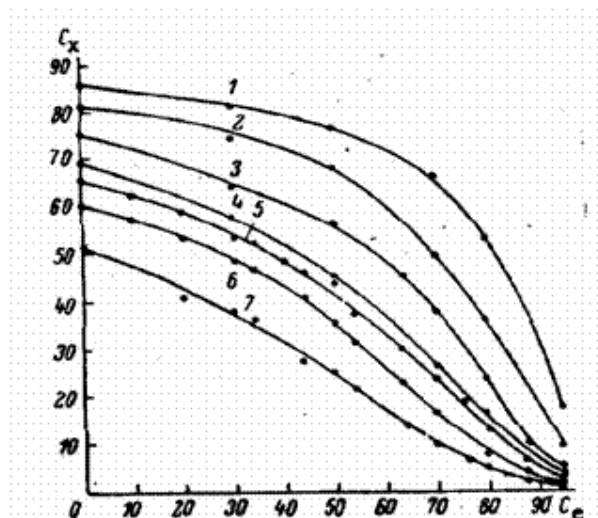


FIGURA 11. Isotermas da solubilidade de xilitol em misturas água-etanol. Cx: solubilidade do xilitol; Ce: concentração de etanol. Temperatura (K): 1) 333, 2) 323, 3) 313, 4) 303, 5) 298, 6) 293, 7) 278. VYGLAZOV e KHOL'KIN (1984)

A solubilidade do xilitol na presença de seus isômeros conformacionais arabitól e adonitol foi estudada por FERNANDEZ *et al.* (1999). Pequenas quantidades de arabitól e adonitol não afetaram a solubilidade do xilitol na mistura água (25 %)-etanol (75 %), obtendo-se uma correlação da solubilidade do xilitol,  $S_{eq}(\text{kg}_{\text{xilitol}}/\text{kg}_{\text{solvente}})$  com a temperatura, T(K) que foi representada pela seguinte equação exponencial:

$$S_{eq} = 1,732 * 10^{-8} e^{0,05435 * T} \quad (24)$$

A obtenção de xilitol na forma cristalina a partir da fermentação de materiais lignocelulósicos foi desenvolvida por HEIKKILÄ *et al.* (1991, 1992). Estes autores propõem a separação cromatográfica para obter uma solução contendo 82,5% de xilitol a qual foi evaporada a 65 °C até obter uma concentração de 92 %. A solução foi semeada com cristais de xilitol diminuindo a temperatura até 45 °C em 55 h. Este processo foi realizado em cristalizador vertical equipado com um

misturador. A separação dos cristais (com pureza de 99,4 % e 0,37 mm de tamanho médio) foi realizada por centrifugação, utilizando-se água na lavagem.

GURGEL *et al.* (1995), estudaram a formação de cristais de xilitol a partir de um licor de xilitol filtrado, concentrado e tratado a  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante uma semana, empregando como semente 1 g/L de xilitol grau comercial. O licor foi obtido pela fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. Devido à afinidade do xilitol pelas resinas de troca catiônica forte e aniônica fraca houve uma perda de 40-55 % de produto, pois o xilitol foi aderido à superfície das resinas. Os cristais formados tiveram forma de agulha e cor uniforme. Entretanto, quando não se adicionou semente, durante um período de 5 semanas e a  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ , não houve formação visível de cristais. Kim e Jeffrey (1969) citado por GURGEL *et al.* (1995), observaram também a formação de cristais de xilitol na forma de agulhas.

A cristalização de xilitol produzido pela hidrogenação catalítica de ácido xilônico foi estudada por HEIKKILA *et al.* (1997). A solução alimentada com 97 g de xilitol, com 11,4% de matéria seca, foi concentrada até um conteúdo de 91,4 % de matéria seca; usando 0,06 e 0,05 g de cristais de xilitol como semente e um programa linear de resfriamento de 49 e 41 h para diminuir a temperatura de 60,5 a  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  no primeiro e segundo experimento, respectivamente. A pureza do xilitol obtida foi de 77 e 64,3 % da matéria seca, respectivamente. Depois, os cristais foram separados por centrifugação e lavados. A diminuição do tempo de resfriamento no processo de cristalização de 49 a 41 h produziu um aumento no rendimento dos cristais de xilitol de 30 a 54 g de cristais secos, assim como um aumento na pureza dos cristais de xilitol de 81,2 a 93,3 % em base de matéria seca.

Segundo HEIKKILA *et al.* (1997), quando aumentou-se o tempo de resfriamento até 69 h, para diminuir a temperatura de 57 até 30 °C, usando 0,05 g de semente de xilitol puro em 185 g de xilitol com 92,2% de matéria seca, obtiveram uma massa com pureza de xilitol de 56,5 % da matéria seca. Entretanto, depois das etapas de centrifugação e lavagem, o rendimento de cristais secos de xilitol foi de 55 g e uma pureza de 68 % em base de matéria seca.

O xilitol é cristalizado substancialmente de uma solução de alta viscosidade contendo monossacarídeos, glicerol, manitol, ranitol, xilitol, sorbitol, e outras substâncias não detectadas. Isto é alcançado quando o valor da supersaturação com respeito ao xilitol é muito alto, e mediante a nucleação, de forma tal que o crescimento do cristal não é significativo no processo. Segundo KRISTIAN *et al.* (1999), a nucleação é alcançada mediante uma agitação efetiva, depois da nucleação começar, a alta viscosidade do licor-mãe da suspensão obtida previne substancialmente o crescimento de cristais e a saída do estado de supersaturação. No primeiro método proposto por esses autores, 12,3 kg de massa contendo 93,8 g xilitol/100 g de solução, foi transferida a um cristalizador de 10 L, a qual foi agitada durante 20 min a uma temperatura de 50 °C e 10 g de semente de xilitol foram adicionadas à solução supersaturada. Posteriormente, a massa foi resfriada até 25 °C em 10 h, tendo a massa de cristalização uma viscosidade de 61,5 Pa.s. A massa foi mantida sob agitação nesta temperatura durante 8 h. Depois de 3 h a massa de cristalização tinha uma temperatura de 16 °C e viscosidade 250 Pa.s quando a massa alcançou 18 °C. Posteriormente, a temperatura foi aumentada até 25 °C em 3 h (viscosidade 81,5 Pa.s) e aumentada até 28 °C em 2 h (59,5 Pa.s) sendo a fração cristal separada por filtração a

pressão. O rendimento de xilitol na fração cristal foi de 67 % e o rendimento efetivo de filtração foi de 31 %. Num outro método empregado por KRISTIAN *et al.* (1999), 13,58 kg de massa contendo 94,1 g xilitol/100 g solução, foi transferida a um cristalizador de 10 L, a qual foi agitada durante 20 min a uma temperatura de 50 °C e 10 g de semente de xilitol foram adicionadas à solução supersaturada. Posteriormente, a massa foi resfriada até 23 °C em 15 h, tendo uma viscosidade de 110 Pa.s. A massa foi mantida sob agitação nesta temperatura durante 2 h. Depois de 3 h a massa de cristalização apresentou uma temperatura de 16 °C e viscosidade 345 Pa.s, sendo agitada durante 42 h a esta temperatura. Após este período de tempo a viscosidade era de 407 Pa.s. Posteriormente, a temperatura foi aumentada até 20 °C em 30 min (viscosidade 256 Pa.s) e aumentada até 23 °C em 23 h (198 Pa.s). Neste ponto, 5 % em peso de água foi adicionado para baixar sua viscosidade, sendo a fração cristal separada por filtração sob pressão. O rendimento de xilitol na fração cristal foi de 57 % e o rendimento efetivo de filtração foi de 47 %.

Como terceira variante para a cristalização de xilitol presente em uma solução com alta viscosidade, KRISTIAN *et al.* (1999), a partir de 13,52 kg de massa contendo 94,4 g de xilitol/100 g de solução, foi transferida para um cristalizador de 10 L, a qual foi agitada durante o processo todo. A massa de cristalização foi semeada a uma temperatura de 56 °C com 10 g de xilitol e submetida posteriormente a resfriamento linear. Posteriormente, a massa foi resfriada até 20,5 °C em 26 h, sendo mantida sob agitação nesta temperatura durante 42 h tendo ao final uma viscosidade de 280 Pa.s. Posteriormente, a temperatura foi aumentada para 25 °C em 2 h (viscosidade 176 Pa.s) e agitada durante 1 h. Parte da massa de cristalização foi retirada do cristalizador e 5 % em peso de água foi

adicionado para baixar sua viscosidade, para 28 Pa.s, sendo a fração cristal separada por filtração sob pressão. Etanol foi adicionado à massa que ficou no cristizador numa quantidade 5 % em peso da massa de cristalização, a qual foi agitada a 25 °C durante 30 min, sendo também esta fração de cristais separada por filtração sob pressão. O rendimento de xilitol desde a primeira filtração foi 68 %, entretanto o resultante da segunda filtração foi o 74 % do xilitol contido na solução inicial. O rendimento de xilitol foi de 60 % e o rendimento efetivo na primeira filtração foi de 60 %.

HEIKKILA *et al.* (1999), estudaram um novo processo para a cristalização de xilitol pelo contato da solução de xilitol com partículas de xilitol suspensas em um gás, secando o material para produzir uma multitude de microcristais e condicionado o material em um produto aglomerado. As partículas são secadas em um fluxo de gás quente, e o xilitol sob a superfície da partícula forma novos microcristais sobre a superfície. Uma solução de xilitol 65,5 % em peso, 99 % de pureza, foi alimentada num tanque aquecido. A temperatura do tanque foi mantida a  $64 \pm 2$  °C e uma solução foi fornecida desde o tanque até um pulverizador “spray” a uma taxa de 27,4 kg/h e pressão entre 140 e 150 bar. Simultaneamente, pequenas partículas de produto seco são introduzidas com a solução de alimentação, assim como ar seco (temperatura entre 104 e 107 °C) com o objetivo de secar a solução pulverizada e as partículas úmidas. Com um tempo de operação de 4 min., foi formado um pó de partículas porosas, aglomerado ao redor 1-2 cm que posteriormente foi moído e peneirado. O xilitol microcristalino tinha 0,1 % de água.

FERNANDEZ *et al.* (1999), estudaram a cristalização de xilitol em soluções contendo etanol, arabitol e adonitol. Os resultados demonstraram que a presença



de arabitol e adonitol, dois isômeros do xilitol, e possíveis subprodutos da secreção de xilitol por microrganismos, impedem a cristalização de xilitol especialmente a altas concentrações das misturas (0,06 kg/ kg solvente de adonitol e arabitol respectivamente). A redução da velocidade de crescimento de xilitol devido à adição de adonitol ao sistema foi mais pronunciada que na presença de arabitol, por exemplo, para um conteúdo de impurezas de 0,06 kg /kg de solvente, a 293 K as taxas de crescimento de xilitol foram 55 % menores que as obtidas no sistema xilitol-arabitol. Os autores mostraram que a velocidade de crescimento de cristais de xilitol depende fortemente da temperatura, sendo este efeito mais pronunciado em sistema com xilitol puro.

De FAVERI *et al.* (2002), estudaram a separação de xilitol de soluções concentradas de xilose (93-223 g/L) e xilitol (270-730 g/L) simulando um hidrolisado hemicelulósico de madeira dura fermentado por *Debaryomyces hansenii*. Os melhores valores de rendimento de cristalização (0,56) ou grau de pureza (1,00) foram obtidos com soluções concentradas de xilitol (730 g/L) e temperaturas relativamente altas (-5 °C). Os experimentos, nos quais foram adicionados 1,0 g/L de xilitol como semente, foram realizados em tubos de vidro de 25 mL submersos em um banho de etilenoglicol e agitados suavemente com um agitador mecânico. Depois da etapa de cristalização as soluções foram centrifugadas a 10 °C, 5000 rpm durante 15 min para separar os cristais de xilitol. Finalmente, os cristais foram separados por filtração a vácuo através de filtros com diâmetro de poro de 0,45 µm.

De FAVERI *et al.* (2004), estudaram o efeito do valor de supersaturação inicial de xilitol e da temperatura de resfriamento na cristalização de xilitol obtido de soluções sintéticas. Através da análise da superfície de resposta o modelo

identificou como condições ótimas 728 g/L de xilitol e  $-6,0^{\circ}\text{C}$ , onde foram obtidos os maiores valores de grau de pureza (0,97) e de rendimento de cristalização de xilitol (0,54). O rendimento da cristalização segundo o modelo obtido pode ser aumentado com o incremento da supersaturação de xilitol ou através da diminuição da temperatura de resfriamento. Por outro lado, como seu coeficiente de correlação é negativo o decréscimo da temperatura pode provocar uma grande redução da pureza dos cristais. Segundo Hassani *et al* (2001) citado por De FAVERI *et al.* (2004), um nível de supersaturação de xilitol não excessivo poderia fazer o controle da cristalização mas fácil sugerindo o uso na prática da cristalização industrial de xilitol presente em soluções supersaturadas entre 1,12 e 1,40.

VYGLAZOV (2004), realizou estudos da cinética de cristalização de xilitol puro em misturas etanol-água em condições isotérmicas de 5, 25 e  $40^{\circ}\text{C}$ . A cristalização realizada em frascos com três bocas, foi monitorada através da mudança do índice de refração da solução. Os resultados mostraram que, o aumento da concentração de etanol na solução favorece a separação do xilitol. Por exemplo, a  $25^{\circ}\text{C}$  a cristalização de xilitol é 11 vezes mais rápida com 90 % que com 60 % de etanol. A taxa de nucleação de xilitol aumentou com o aumento da temperatura com valores de ordem de nucleação de 7 e 30 para concentrações de etanol de 60 e 90 % e temperaturas iguais a 5 e  $40^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. O autor reporta que em condição isotérmica ocorre uma reação de cristalização de primeira ordem mostrando que, a taxa de cristalização é limitada pela taxa de difusão de moléculas de xilitol à superfície dos cristais que estão crescendo.

Como pode-se constatar, o processo de purificação de xilitol é abordado na literatura superficialmente, não havendo muitos detalhes técnicos disponíveis, seja a partir de soluções de xilitol puro, soluções sintéticas ou em sistemas complexos.

### 3. OBJETIVOS

O objetivo geral do presente projeto é o desenvolvimento de uma tecnologia que visa a utilização de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar para a produção biotecnológica de xilitol.

Em termos específicos, o presente projeto objetiva:

1. Obtenção e tratamento de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar com resinas de troca iônica.
2. Fermentação de meio sintético e de hidrolisado em escala de 15 litros.
3. Obter dados de solubilidade do xilitol comercial em água e em água-etanol.
4. Realizar estudo da cinética da cristalização de xilitol comercial em água-etanol.
5. Realizar o estudo do processo de cristalização de xilitol em caldo fermentado, obtido pelo cultivo de *Candida guilliermondii* em meio sintético e em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS.**

### **4.1. Obtenção e purificação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar com resinas de troca iônica**

Esta parte do projeto foi realizada nos laboratórios do Departamento de Ingeniería Química do Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), Ciudad de La Habana, Cuba.

#### **4.1.1. Matéria-prima e preparo do hidrolisado hemicelulósico**

O bagaço de cana-de-açúcar, proveniente da Usina Camilo Cienfuegos, Matanzas, Cuba, foi lavado e submetido a secagem a temperatura ambiente, ao ar livre, com o objetivo de diminuir seu teor de umidade. O hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar foi obtido por hidrólise ácida em reator de aço inoxidável de 100 L de capacidade, a 145-150°C por 30 min, empregando-se 65 mL de ácido sulfúrico (98 %), com relação sólido: líquido 3,5 kg de bagaço: 20 L de água.

#### **4.1.2. Etapas de concentração e tratamento do hidrolisado**

O pH do hidrolisado hemicelulósico foi aumentado para 4,93 empregando-se uma resina de troca aniônica fraca 039RAD (QUIMICAGUA) na forma OH<sup>-</sup> (A). Posteriormente, foi concentrado por um fator de oito vezes em rotoevaporador com um condensador com área de transferência de 1 m<sup>2</sup> a vácuo tipo Büchi (Laboratoriums-TechnikAG, Suécia), de vidro com 20 L de capacidade,

temperatura de  $65 \pm 5^\circ\text{C}$  e 80rpm. Após a concentração o hidrolisado foi submetido a tratamento com quatro tipos de resinas no seguinte ordem: resina de adsorção MN 150 (B), resina aniônica forte A-860S na forma  $\text{Cl}^-$  (C), resina catiônica forte C-155S na forma  $\text{H}^+$  (D), e a resina aniônica fraca A-103S na forma  $\text{OH}^-$  (E).

O pH do hidrolisado finalmente foi ajustado com o uso de resinas aniônica e catiônica até atingir pH 2,90.

O procedimento de troca iônica foi realizado em colunas de vidro operando-se a  $30^\circ\text{C}$ , onde o fluxo de hidrolisado (4 mL/min) é por gravidade através das camadas formadas pela resina, as quais descansam sobre um suporte poroso. Na medida que o hidrolisado vai se clarificando as resinas se saturam com os íons que está separando do mesmo, até se esgotar sendo regeneradas voltando a seu estado original.

Cada ciclo completo da operação compreende as seguintes etapas:

1. Pré-lavagem da resina com uma solução de xilose.
2. Passagem do hidrolisado a purificar através do leito.
3. Lavagem das resinas com água para extrair o hidrolisado remanescente .
4. Lavagem rápida das resinas com água em contracorrente.
5. Passagem de solução regenerante através da resina (Resina A: NaOH (4%); resina B: Metanol; resina C: NaCl (10 %); resina D: HCl (5 %) e resina E:  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (5 %).
6. Separação do excesso de regenerante com água (enxágüe devagar e rápido).

## **4.2. Produção de xilitol por *Candida guilliermondii* em meio sintético e em hidrolisado hemicelulósico tratado com resinas de troca iônica.**

Esta parte experimental foi realizada nos laboratórios do Departamento de Biotecnologia (DEBIQ) da Faculdade de Engenharia Química de Lorena (FAENQUIL), Lorena, São Paulo.

### **4.2.1. Microrganismo**

Utilizou-se a levedura *Candida guilliermondii* FTI 20037 da coleção de culturas do Grupo de Microbiologia Aplicada e Bioprocessos do DEBIQ/FAENQUIL. As culturas foram mantidas em tubos de ensaio contendo extrato ágar de malte inclinado a 4 °C.

### **4.2.2. Preparo de inóculo**

O cultivo foi preparado a partir de uma alçada da cultura estoque inoculada 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 Erlenmeyer de 500 mL contendo 250 mL de meio, a 30 °C, em incubadora de movimento rotatório a 200 rpm por 24 h. Após esse período este meio foi transferido para um Erlenmeyer de 2000 mL, contendo 1200 mL de hidrolisado tratado e autoclavado (88 g/L de xilose) o que corresponde a 10 % do volume útil do reator de 12 L. A concentração inicial de células foi de 0,25 g/L em todos os experimentos.

O nutriente sulfato de amônio foi esterilizado a 121°C/20 min. A suspensão de farelo de arroz foi autoclavada a 111°C/15 min, e separada por um tratamento a

2000xg por 15 min em centrífuga CU-5000 DAMON/IEC Division, USA. Somente o sobrenadante desta suspensão foi adicionado ao meio. Ao início de cada fermentação 12 gotas de antiespumante Adecanol LG-294 foram adicionadas ao meio de fermentação.

#### **4.2.3. Meio e condições de fermentação**

Utilizou-se meio sintético: D(+) xilose [58-86-6] EC No.200-400-7, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Alemanha e glicose e hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar (88 g/L de xilose e 2 g/L de glicose) e adicionado em ambos os casos os mesmos nutrientes utilizados no meio para preparo do inóculo. Os experimentos foram realizados em duplicata. A fermentação foi realizada em fermentador de bancada tipo BIOENGINEERING L1523 com capacidade total de 15 L contendo 12 L de meio, a 30 °C, 300 rpm, pH inicial 5,0 e coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ( $k_{La}$ ) igual 30 h<sup>-1</sup> (MORITA, 1998). O fermentador foi equipado com eletrodo de pH e de oxigênio dissolvido, termopar, agitador com 2 turbinas (de 6 pás) e ar comprimido (FIGURA 12).

#### **4.2.4. Centrifugação do meio fermentado**

O meio fermentado contendo xilitol foi centrifugado a 2000xg por 15 min em centrífuga CU-5000 Damon/IEC para separar a biomassa e o precipitado formado pela mudança do pH do meio.





FIGURA 12. Fermentador usado para a obtenção de xilitol a partir da bioconversão de meio sintético e de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar por *C. guilliermondii*.

#### **4.2.5. Precipitação pela mudança de pH do licor centrifugado.**

O pH do meio centrifugado foi ajustado de 3,64 até valores entre 5,0 e 9,0 pelo uso de NaOH 3N. Estes ensaios foram realizados em tubos contendo 15 mL de amostra, durante 2 h a temperatura ambiente. O produto da fermentação foi submetido a precipitação a pH 7,00.

#### **4.2.6. Tratamento do meio fermentado com resinas de troca iônica**

O meio fermentado foi tratado com resina de troca iônica catiônica C-504 na forma  $H^+$ , utilizando-se HCl (6 %) como regenerante. A seguir o meio foi tratado com resina de troca iônica aniônica A-505 na forma  $OH^-$ , utilizando-se KOH (6 %) como regenerante. Nesta etapa foram utilizadas colunas de vidro onde o fluxo de meio (5 mL/min) é por gravidade através das camadas formadas pela resina a 40 °C.

#### **4.2.7. Concentração do meio fermentado**

A concentração do meio fermentado centrifugado e purificado pela mudança de pH até 7,00 foi realizada em concentrador a vácuo, a uma temperatura de  $66\pm 4$  °C, em evaporador de vidro vertical de 4 L, com o objetivo de aumentar a concentração de xilitol presente no mesmo.

#### **4.3. Avaliação da cinética de cristalização de xilitol a partir de *experimentos-modelo* em cristalizador de batelada**

Esta parte do projeto foi realizada nos laboratórios do Agrupamento de Processos Químicos da Divisão de Química (APQ-DQ) do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT).

##### **4.3.1. Experimentos-modelo**

Os *experimentos-modelo* foram realizados num cristalizador de escala de laboratório, com volume de 100 mL, encamisado, provido de agitador tipo hélice, ambos construídos em vidro de borossilicato. O cristalizador é provido de dois bocais: um para alimentação e outros para medição de temperatura, apresenta também um agitador tipo IKA Labortechnik, RW 20.n, IKA Works do Brasil Ltda.

Foram preparadas as soluções aquo-etanólicas de xilitol grau Danisco, com concentrações definidas a priori (TABELA 3), tomando como base os dados de VYGLAZOV e KHOL'KIN, (1984).

Inicialmente elevou-se a temperatura da suspensão água-xilitol, sob agitação constante (450 rpm) até 10 °C acima da temperatura de saturação, previamente determinada. A suspensão foi mantida nessa temperatura por 10 minutos, para

assegurar a total dissolução dos cristais. Posteriormente, quando a solução ficou próxima à temperatura de saturação (2,5 °C), foram adicionados 4 cristais de xilitol (0,25–0,59 mm).

TABELA 3. Massas de xilitol, água e etanol nas temperaturas de saturação de 30, 40, 50 e 60 °C.

$T_{\text{sat}}(^{\circ}\text{C})$	Ensaio	Massa xilitol (g)	Massa água (g)	Massa etanol (g)
30	1	42,63	13,01	13,01
40	1 e 2	52,98	18,21	18,21
50	1 e 2	63,59	23,51	23,51
60	2	73,89	28,69	28,69

Onde: 1: ensaios utilizando xilitol obtido por via fermentativa e 2: ensaios utilizando xilitol comercial

Ao término da etapa anterior, foi adicionado etanol (aquecido à mesma temperatura de saturação) quando a solução alcançou a temperatura de saturação (30, 40, 50 e 60 °C) e em seguida implementou-se uma velocidade de resfriamento linear pré-definida (0,1, 0,25 e 0,5 °C/min) à solução usando um termostato LAUDA RC 6 CP, Lauda Dr. R.-Wobser, GMBH & Co. KG e o “software” WINTHERM, version 1,01, Lauda. No decorrer desta etapa, definiu-se como temperatura de nucleação, a temperatura correspondente a um aumento na temperatura da solução, valor esse em que se pode também detectar visualmente o surgimento de muitos cristais. O “software” WINTHERM registra os valores de temperatura da suspensão, do set-point e do banho termostatado durante o tempo do ensaio (FIGURA 13).



FIGURA 13. Sistema utilizado para realizar os estudos da cristalização de xilitol.

Ao final de cada experimento, a suspensão foi imediatamente filtrada a vácuo em funil de Büchner com diâmetro de 125 mm, usando papel de filtro 42 marca Whatman para a retenção de cristais finos. Os cristais foram lavados com 100 mL de etanol 99,7 %, mantidos em um dessecador a vácuo à temperatura ambiente durante 24 horas, até secagem completa. Uma vez secos, os cristais foram pesados em balança Mettler Toledo PB1502, Suíça.

#### **4.3.2. Peneiramento**

Após a determinação da massa seca, os cristais foram caracterizados quanto à granulometria por peneiramento em um jogo de peneiras de 5 polegadas (12,6 cm) de diâmetro, marca Granutest, Telastem Peneiras para Análises Ltda, cujas aberturas são apresentadas na TABELA 4.

O peneiramento foi realizado dividindo-se o jogo de peneiras em dois conjuntos, cada um deles ordenado em ordem decrescente de acordo com a diminuição da abertura da malha. Os cristais ficaram 15 minutos em vibrador

modelo VAG/ET 100, marca Bertel Indústria Metalúrgica Ltda., Brasil. O material passante da última peneira foi transferido para o topo da peneira do conjunto seguinte, o qual foi vibrado no mesmo equipamento pelo mesmo período de tempo. As peneiras foram pesadas, em balança Mettler Toledo PR8002, Suíça, antes e depois do peneiramento, podendo, através da diferença de peso, determinar a massa retida em cada faixa de tamanho.

TABELA 4. Características das peneiras da série ABNT P-EB22.

Peneira Tyler	Abertura (mm)	ABNT	Peneira Tyler	Abertura (mm)	ABNT
9	2,00	10	24	0,710	25
10	1,68	12	28	0,590	30
12	1,41	14	60	0,250	60
14	1,19	16	80	0,177	80
16	1,00	18	150	0,106	140

#### **4.3.3. Obtenção da curva de solubilidade de xilitol em água e em mistura etanol (50 %)-água (50 %)**

O estudo da solubilidade do xilitol DANISCO grau comercial [87-99-0] em água e em água-etanol (50%-50%) em função da temperatura foi realizado em cristalizador de escala de laboratório, com volume de 100 mL, encamisado, provido de agitador tipo hélice, ambos construídos em vidro de borossilicato. O cristalizador possui três bocais: um para alimentação, e os outros dois para retirada de amostras e medição de temperatura, além de um agitador com velocidade de agitação variável tipo Heidolph HP, Alemanha. O controle de temperatura é feito por um banho termostático, provido de refrigeração, com operação na faixa de  $-30$  a  $+200$  °C tipo Julabo HP, Alemanha (FIGURA 14).



FIGURA 14. Sistema utilizado para realizar o estudo de solubilidade de xilitol comercial em água e em água-etanol.

A solubilidade foi determinada pela agitação prolongada (400 rpm) das soluções com excesso de xilitol (SIGMA), na instalação experimental anteriormente descrita. A concentração de xilitol em equilíbrio na solução nas diferentes condições de temperatura foi monitorada pela medição do índice de refração (IR) a 589,3 nm em refractômetro RE 40, Mettler Toledo, GmbH .

#### **4.4. Métodos analíticos**

Foram analisadas as correntes de saída de cada etapa do processo purificação do hidrolisado hemicelulósico descrito anteriormente.

Para a determinação das concentrações dos açúcares (xilose, glicose, e arabinose) e ácido acético, as amostras foram previamente diluídas e filtradas em

filtros Sep Pack C18 (Millipore). As análises foram realizadas em HPLC (Waters 410, USA), utilizando detector índice de refração (IR), coluna HPX-87H (300 x 7,8 mm), temperatura 45°C, eluente ácido sulfúrico 0,01 N, fluxo 0,6 mL/min e 20 µL de volume de amostra.

As concentrações de furfural e hidroximetilfurfural foram determinadas em HPLC, em amostras adequadamente diluídas e filtradas em membranas HAVUP em éster de celulose de 0,45 µm de poro (Millipore), utilizando equipamento Waters 2487 (USA), detector ultravioleta (UV), coluna C18 (300 x 3,9 mm), temperatura 25°C, eluente acetonitrila/água (1:8) com 1% de ácido sulfúrico, fluxo 0,8 mL/min e 20 µL de amostra.

A concentração dos ácidos fenólicos (gálico, aldeído protocateóico, p. hidroxibenzóico, vanílico, siríngico, a p.cumárico, ferúlico e vanilina) foi determinada em cromatógrafo Knauer (Alemanha), detector UV 280 nm, coluna Hypersil 50DS, pressão 130 bar, eluente ácido sulfúrico 0,01 N:metanol:água (180:30:5), fluxo 1 mL/min. A concentração dos ácidos orgânicos (glicólico, cítrico, succínico, transaconítico e propiônico) foi determinada no mesmo equipamento porém empregando detector UV 210 nm, coluna Hypersil 50DS, pressão 53 bar, eluente água pH 2,5, fluxo 0,6 mL/min e 20 µL de amostra.

A determinação do teor de cinzas foi feita em mufla EGDCON 1P modelo F3000 (São Carlos, Brasil) a 600 °C, durante 5 horas. Foi determinado a concentração de sólidos solúveis (CSS), a condutividade e o pH em cada etapa do processo de purificação.

A concentração de metais foi determinada em espectrômetro de adsorção atômica por chama Analkyst 800 - PerkinElmer.

A cor do hidrolisado foi determinada pelo método ICUMSA, ajustado para o hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar por NAPOLES *et al.* (1998). Neste método a absorvância (DO) das amostras foi determinada em espectrofotômetro BECKMAN DU 640B (USA) a 420 mn, usando água deionizada como referência e determinada a concentração de sólidos solúveis das amostras diluídas. A cor ICUMSA foi determinada pela seguinte equação:

$$\text{Cor ICUMSA} = \frac{\text{DO} \times 1000 \times \text{diluição}}{\rho (\text{CSS}_{\text{dil}}/100)} \quad (24)$$

$$\rho = 1 + [\text{CSS} (200 + \text{CSS})]/54000 \quad (25)$$

Onde: CSS: Concentração de sólidos solúveis na amostra original (°Brix).

CSS<sub>dil</sub>: Concentração de sólidos solúveis na amostra diluída (°Brix).

$\rho$ : densidade da amostra.

As fermentações foram acompanhadas por meio da retirada periódica de amostras para a determinação das concentrações de xilose, glicose, arabinose, xilitol, ácido acético e concentração celular.

Para a determinação da concentração celular foi utilizada uma curva padrão de absorvância em função do peso seco de células a partir de leituras em espectrofotômetro BECKMAN a 600 nm.

O coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio foi determinado segundo o método de “gassing-out” conforme descrito por BARTOLOMEW *et al.* (1950).

As velocidades de crescimento ( $dX/dt$ ), consumo de substrato ( $dS/dt$ ), e formação de xilitol ( $dP/dt$ ) foram calculadas pelo método proposto por LE DUY e ZAJIC (1973). As velocidades específicas de crescimento ( $\mu_x$ ), consumo de xilose ( $q_s$ ) e de produção de xilitol ( $q_p$ ) foram obtidas pela divisão das velocidades



instantâneas pela concentração celular nos pontos onde foram calculadas as derivadas.

A determinação de proteínas solúveis foi realizada pelo método de LOWRY. Este método baseia-se no seguinte: a um tubo de ensaio (15x150mm) limpo, seco e isento de qualquer tipo de detergente adiciona-se 200 µL de amostra e 2 mL de solução formada por 1 mL de solução de sulfato de cobre penta-hidratado 1 %, 1 mL de solução de tartarato de sódio e potássio 2 % e 98 mL de solução de carbonato de sódio/hidróxido de sódio. Deixar em repouso por 10 min, adicionar 200 µL de solução de Folin, agitar os tubos em vórtice por 5 “ e proceder as leituras de absorbancia a 578 nm.

A determinação dos parâmetros cinéticos da cristalização de xilitol foi realizada mediante a aplicação do método de Nývlt *et al.*, (1985). A partir da aplicação da metodologia proposta sobre os dados de  $M(L)$  e  $z$  em função do tamanho do cristal, obteve-se o tamanho dominante de cada distribuição granulométrica.

O ponto de fusão, temperatura e calor de fusão e a pureza dos cristais de xilitol foram determinados mediante calorimetria diferencial de varredura em DSC 822e da Mettler Toledo da Suíça, software STAR<sup>e</sup>.

A umidade dos cristais de xilitol foi determinada em tritador de Karl Fischer Mettler Toledo DL38, Suíça.

A fotografia dos cristais foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) marca LEO Modelo 1450 VP em alto vácuo (da ordem de  $2 \cdot 10^{-5}$  TOR) no modo de eletrons retroespalhados trabalhando com 20 kV de voltagem de aceleração.

Os experimentos de cristalização foram conduzidos segundo planejamento fatorial de acordo com a metodologia proposta por BOX *et al.* (1978), e BARROS NETO *et al.* (1995), para avaliar o efeito dos fatores temperatura e velocidade de resfriamento sobre as variáveis de resposta: tamanho médio de cristal ( $L_m$ ), velocidade de crescimento (G) e taxa de nucleação ( $dN/dT$ ). O esquema da matriz de planejamento e os níveis utilizados com três repetições estão mostrados na Tabela 5.

TABELA 5. Esquema da matriz de planejamento do projeto fatorial  $2^2$  composto em fase centrada, com três repetições.

Ensaio	Blocos	Níveis originais das variáveis		Níveis codificados das variáveis	
		T (°C)	VR (°C/min)	T (°C)	VR (°C/min)
1	1	40	0,10	-1	-1
2	1	40	0,10	-1	-1
3	1	40	0,10	-1	-1
4	1	40	0,25	-1	-0,25
5	1	40	0,25	-1	-0,25
6	1	40	0,25	-1	-0,25
7	1	40	0,50	-1	+1
8	1	40	0,50	-1	+1
9	1	40	0,50	-1	+1
10	2	50	0,10	0	-1
11	2	50	0,10	0	-1
12	2	50	0,10	0	-1
13	2	50	0,25	0	-0,25
14	2	50	0,25	0	-0,25
15	2	50	0,25	0	-0,25
16	2	50	0,50	0	+1
17	2	50	0,50	0	+1
18	2	50	0,50	0	+1
19	3	60	0,10	+1	-1
20	3	60	0,10	+1	-1
21	3	60	0,10	+1	-1
22	3	60	0,25	+1	-0,25
23	3	60	0,25	+1	-0,25
24	3	60	0,25	+1	-0,25
25	3	60	0,50	+1	+1
26	3	60	0,50	+1	+1
27	3	60	0,50	+1	+1

Os valores das variáveis no planejamento foram codificados de acordo com a equação:

$$Z = (N - \mu)/(N_2 - N_1)/2 \quad (26)$$

Onde: Z é o valor codificado da variável; N é o valor real da variável;  $\mu$  é a média dos valores reais das variáveis e  $N_1$  e  $N_2$  são os valores reais mínimo e máximo das variáveis, respectivamente.

A análise estatística dos resultados obtidos no planejamento de experimentos foi realizada utilizando os programas Desing-Expert e STATGRAPHICS Plus versão 4.1.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Obtenção e tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar rico em xilose.

Nas TABELAS 6-8 estão apresentadas as características químico-físicas do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar ao longo do processo de tratamento.

A hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar forneceu um hidrolisado composto por açúcares (79,87 % de xilose e 3,44 % de glicose), ácido acético (6,98 %), furfural (3,28 %) e hidroximetilfurfural (0,59 %) e de ácidos e metais (8,06 %). A decomposição da xilose e da glicose durante o processo de hidrólise conduziu à formação de produtos inibitórios a atividade fermentativa tais como furfural (0,32 g/L) e hidroximetilfurfural (0,18 g/L). NIGAM (2001), reportou que concentrações de furfural de 0,25 g/L no meio de fermentação não provocou nenhum efeito sobre o rendimento e a produtividade na produção de etanol por *Pichia stipitis*. Por outro lado, concentrações de furfural igual a 1,5 g/L produziu uma diminuição destes parâmetros fermentativos em 90,4 e 85,1 %, respectivamente. PALMQUIST e HAHN-HÄGERDAL (2000), reportaram que o efeito inibitório do hidroximetilfurfural (HMF) é similar ao do furfural causando uma maior fase lag durante o crescimento. MARTINEZ *et al.* (2000), constataram que a produção de etanol, a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar por *E. coli*, foi afetada somente na presença de concentrações maiores de 0,9 g/L de furfural e HMF. Outro inibidor, o ácido acético (2,13 g/L), foi produzido pela ruptura dos grupos acetil da fração hemicelulósica do bagaço de cana-de-açúcar (LEE e McCASKEY, 1983).

TABELA 6. Características físico-químicas do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar durante cada etapa do processo de tratamento.

Etapa	pH	c (mS)	°Brix	Glicose (g/L)	Xilose (g/L)	Á. ac. (g/L)	Furfural (g/L)	HMF (g/L)
H	1,61	12,44	4,0	1,05	24,37	2,13	0,32	0,18
N	4,93	2,44	3,5	1,06	24,10	1,59	0,28	0,18
C	4,95	7,06	23,0	7,18	194,65	7,49	0,043	0,45
MN-150	5,19	7,11	21,0	5,33	190,60	5,03	0,003	0,20
A-860	4,45	9,72	20,0	4,16	184,40	1,64	0,002	0,01
C-155	0,99	23,0	21,5	4,89	209,25	0,32	0,007	0,002
A-103	4,42	1,65	20,5	3,82	213,40	0,00	0,00	0,0
HP <sub>f</sub>	2,86	0,47	17,0	2,10	177,80	0,00	0,00	0,0

Onde: H: hidrolisado; N: hidrolisado após resina 039RAD; C: hidrolisado concentrado; MN-150: hidrolisado após resina MN-150; A-860: hidrolisado após resina A-860; C-155: hidrolisado após resina C-155; A-103: hidrolisado após resina A-103; HPr: hidrolisado purificado final.

TABELA 7. Concentração de ácidos no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar em cada etapa do processo de tratamento.

Ácido (g/L)	H	N	C	MN-150	A-860	C-155	A-103	HP <sub>f</sub>
gálico	0,3962	0,3742	0,3267	0,0240	0,0145	-	-	-
protocateóico	0,0036	0,0008	-	-	-	-	-	-
p.h.benzóico	0,0030	0,0054	-	-	-	-	-	-
Vainílico	0,0546	0,0025	0,0250	0,0021	-	-	-	-
siringico	0,0109	-	-	-	-	-	-	-
p. coumárico	0,1144	-	0,0140	-	-	-	-	-
siringaldeído	0,0789	0,0104	0,0460	0,0039	-	-	-	-
ferúlico	0,0576	-	-	-	-	-	-	-
vanilina	0,0117	0,0026	0,0210	0,0020	-	-	-	-

TABELA 8. Concentração de metais no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar em cada etapa do processo de tratamento.

Etapa	Zn (mg/L)	Co (mg/L)	Cu (mg/L)	Cr (mg/L)	Ni (mg/L)	Fe (mg/L)
H	171,8	0,25	< 0,1	9,70	757,5	798,0
N	92,3	0,58	< 0,1	0,59	536,0	583,3
C	659,7	1,64	<0,1	11,2	3514,7	3733,3
MN-150	712,8	1,2	< 0,1	8,2	5285,8	5180,0
A-860	397,8	1,2	0,68	0,83	2188,0	2385,0
C-155	44,25	0,98	0,94	1,1	264,6	288,0
A-103	30,3	0,94	0,39	0,74	105,3	109,5
HP <sub>f</sub>	15,6	0,69	0,14	1,16	1,6	7,2

LARSSON *et al.* (2000), estudaram o efeito de vários compostos aromáticos na produção de etanol por *S. cerevisiae*. Esses autores constataram que, concentrações de ácido p. coumárico (1 g/L) diminuiram a velocidade específica de crescimento celular e a produção de etanol em aproximadamente 63 %. Outro composto, ácido ferúlico em concentrações inferiores (0,2 %) provocou a diminuição do rendimento em biomassa (83 %), da velocidade específica de crescimento celular (64 %) e da produtividade em xilitol (46 %). Segundo ZALDIVAR *et al.* (2000), a toxicidade dos hidrolisados hemicelulósicos está relacionada com a acumulação de diversos compostos tóxicos, mas não por componentes individuais.

Com vistas à sua purificação, o licor foi submetido inicialmente a um aumento de pH para 4,93 empregando-se uma resina de troca aniônica básica fraca 039RAD (Quimicagua) a qual possui alto grau de porosidade polimérica proporcionando uma melhor e mais completa adsorção e desorção de grandes moléculas orgânicas. Esse aumento do pH teve como objetivo obter um hidrolisado quase neutro o que facilita sua concentração em diferentes equipamentos quando o processo for desenvolvido em escala industrial. Durante este processo não houve perdas de xilose, glicose e hidroximetilfurfural, entretanto verificou-se uma diminuição das concentrações de ácido acético (25,35 %) e de furfural (12,5 %). A resina adsorveu 100 % dos ácidos siríngico e ferúlico, 77,7 % de ácido protocateóico e de vanilina assim como 86,81 % de siringaldeído. O aumento do pH do hidrolisado também pode estar associado à diminuição da concentração dos ácidos vanílico e gálico em 95,42 e 5,55 %, respectivamente. Esta resina favoreceu a desmineralização do licor, pois adsorveu quantidades equivalentes a 46,27, 93,92, 29,24 e 26,90 % de zinco,

romo, níquel e ferro respectivamente (TABELA 8). É importante ressaltar que a perda de qualquer açúcar fermentescível pode ter uma influência significativa sobre a economia do tratamento de destoxificação do hidrolisado.

De acordo com os resultados apresentados na TABELA 6 observa-se uma tendência de aumento no teor dos açúcares glicose e xilose, em relação ao fator de concentração do hidrolisado. O mesmo comportamento não foi observado para o ácido acético, constatando-se um aumento em sua concentração de 4,71 vezes quando o hidrolisado foi concentrado 8 vezes com o objetivo de aumentar o conteúdo de xilose. O aumento desproporcional do teor de ácido acético pode ser atribuído à sua volatilização nas condições empregadas para a concentração do hidrolisado (temperatura  $65 \pm 5$  °C e vácuo). O ponto de ebulição do ácido acético à pressão atmosférica (760 mmHg) é de 118,1 °C, sendo reduzido para 63 °C quando a pressão passa para 100 mmHg (vácuo).

Nota-se também na TABELA 6 que existe uma relação xilose/glicose variando entre 23/1 e 27/1, nos hidrolisados original e concentrado, respectivamente. Segundo PFEIFER *et al.* (1996) e YAHASHI *et al.* (1996) a glicose, presente no meio em baixas concentrações, pode favorecer a velocidade de consumo de xilose, pois poderia ser utilizada para a geração de energia de manutenção celular e como substrato para a regeneração de cofatores requeridos para a produção de xilitol (ROCA *et al.*, 1996).

Quanto ao furfural, nota-se que sua concentração, diminuiu em 84,64 %. Isto foi possível devido à temperatura utilizada no processo de concentração à vácuo ( $65 \pm 5$  °C), uma vez que o ponto de ebulição do furfural, sob pressão reduzida, é de 54-55 °C (VOGEL, 1971). Por outro lado, a concentração de hidroximetilfurfural aumentou 2,5 vezes quando o hidrolisado foi concentrado 8 vezes.

Após a passagem do hidrolisado através da resina de adsorção MN-150 observou-se uma ligeira redução do °Brix do hidrolisado. Esse fato pode ser devido a uma redução nas concentrações de glicose (25,8 %), xilose (2,1 %), ácido acético (32,84 %), furfural (93 %) e hidroximetilfurfural (55,55 %). Essa resina também produziu uma redução do conteúdo de ácido gálico (92,65 %), vanílico (8,4 %), cumárico (100 %), siringaldeído (91,52 %) e vanilina (90 %) fato que pode ser constatado nas TABELAS 6 e 7. LEE e McCASKEY (1983), relataram que resinas de troca iônica chegaram a remover até 80 % dos compostos fenólicos do hidrolisado ácido de madeira dura, entretanto, removeram de 15-25 % da xilose. Segundo LARSSON *et al.* (1999), durante o tratamento com resinas de troca iônica, o trocador aniônico produziu uma diminuição na concentração de todos os diferentes tipos de inibidores testados (fenólicos, aldeídos furânicos e alifáticos). Resultados reportados por NILVEBRANT *et al.* (2001), demonstram a remoção de 20-65 % de HMF e de 38-64 % de furfural após o tratamento de hidrolisado de madeira branca com resina fortemente aniônica (AG 1-X8) ou catiônica (XAD-8). Os mecanismos para a remoção de compostos fenólicos mediante o emprego de resinas de troca iônica são complexos, sendo eles adsorvidos completamente pelas resinas aniônicas e repelidas pelas de troca catiônica (NILVEBRANT *et al.*, 2001).

É importante ressaltar uma remoção de 58,73 % da cor do hidrolisado após seu tratamento com essa resina de adsorção (TABELA 9).

Posterior ao tratamento do hidrolisado com a resina A-860S, constatou-se uma diminuição das concentrações de ácido acético (67,39 %) e de hidroximetilfurfural (95,0 %). Observou-se também uma diminuição no teor de



cinzas e uma remoção da cor do hidrolisado de 82,45 e 13,79 %, respectivamente (TABELA 9).

TABELA 9. Teor de cinzas e cor do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar em cada etapa do processo de tratamento.

Etapa	Cinzas (%)	Cor ICUMSA	Remoção da cor (%)
H	0,199	$5,142 \times 10^5$	-
N	1,102	$5,748 \times 10^5$	-
C	0,140	$1,902 \times 10^6$ *	0
MN-150	1,077	$7,849 \times 10^5$	58,7
A-860S	0,189	$5,227 \times 10^5$	72,0
C-155S	0,149	$4,509 \times 10^4$	97,0
A-103S	0,080	$3,484 \times 10^4$	98,0
HP <sub>f</sub>	Não detectado	$4,356 \times 10^3$	99,0
Processo	-	-	99,7

Onde: H: hidrolisado; N: hidrolisado após resina 039RAD; C: hidrolisado concentrado; MN-150: hidrolisado após resina MN-150; A-860: hidrolisado após resina A-860; C-155: hidrolisado após resina C-155; A-103: hidrolisado após resina A-103; HPr: hidrolisado purificado final; \* valor de referência.

A resina de troca aniônica fortemente básica A-860S, possui uma capacidade boa de adsorção de corpos coloridos de alta massa molar, tais como os presentes em xaropes de açúcares assim como os produzidos pela reação de Maillard (Catálogo da PUROLITE). Por ação das resinas de troca aniônica são adsorvidos os anions  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  que são trocados pelos íons  $\text{OH}^-$  os quais são liberados neutralizando os íons  $\text{H}^+$  e portanto, a solução. Desta forma, são trocados anions orgânicos presentes em compostos coloridos, sílicatos, taninos e cinzas (De DANDEL e ANDEN, 1989).

Segundo o catálogo da PUROLITE, a resina de troca catiônica fortemente ácida C-155S é usada para a desmineralização e adsorção de cinzas presentes no hidrolisado, xaropes de açúcares e de álcoois de açúcares tais como sorbitol. Durante o presente trabalho constatou-se de fato uma diminuição do conteúdo de metais Zn (88,85 %), Ni (60,20 %) e Fe (61,98 %) como apresentado na TABELA

9 o que corresponde a uma redução de 25,11 % da cor do hidrolisado. Segundo De DANDEL e ANDEN (1989), as cinzas estão principalmente na forma de sais de potássio e sódio e com o uso destas resinas pode se remover impurezas nitrogenadas complexas, cinzas e cor. Zerban (1920) segundo HONIG (1969), demonstrou que na presença do ferro a cor do caldo de cana é duas ou três vezes mais escura que na sua ausência. Isto é atribuída a interação entre os polifenóis e sais de ferro.

Observa-se nas TABELAS 6 e 7 que a resina A-103S adsorveu traços de ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural e de ácido glicólico, o que não foi observado com a resina C-155S. A resina de troca aniônica de base fraca macroporosa A-103S é usada na demineralização de xaropes de cana e beterraba, assim como na indústria de açúcares líquidos (PUROLITE). Sua alcalinidade relativamente alta permite a adsorção de ácidos orgânicos com  $pK_a$  de aproximadamente 5,0, e sua estrutura macroporosa resulta numa excelente resistência ao choque osmótico e às incrustações orgânicas. Como resultado, muitos dos compostos coloridos de alto peso molecular são removidos. Com essa resina conseguiu-se remover 46,31 % do teor de cinzas do hidrolisado.

Segundo How e Moor (1982) citados por FRAZER e McCASKEY (1989), as resinas catiônicas e aniônicas são efetivas na remoção de compostos fenólicos. Essa remoção pode ser devida ao enlace iônico aos grupos químicos carregados ou à adsorção física às regiões não-polares da molécula. As resinas de troca iônica, diferente de outros métodos de purificação, removem impurezas orgânicas e inorgânicas. Esse fato tem sido observado ao longo do tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar pois todas as resinas

removem ambos tipos de compostos em maior ou menor grau, embora cada uma se destaque por remover mas eficientemente um determinado composto.

No presente trabalho obteve-se um hidrolisado com uma concentração de xilose de 177,80 g/L e com quantidades mínimas de glicose (2,10 g/L). Removeu-se o conteúdo de metais até valores entre 0,69 e 15,6 mg/L e a cor do hidrolisado em 99,7 %.

## **5.2. Obtenção de xilitol pela fermentação de meio sintético e de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar.**

Nas FIGURAS 15 e 16 pode-se observar o perfil de consumo de xilose e arabinose, produção de xilitol, crescimento celular e pH durante o processo descontínuo de produção de xilitol por *Candida guilliermondii* em meio sintético e em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica. Quanto ao consumo de xilose, este foi favorecido em meio sintético, encontrando-se valores de 99,14 % de consumo após 92 h de fermentação. No hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica observou-se um consumo de xilose de 97,99 % por *C. guilliermondii* após 132 horas de fermentação (FIGURA 15).

De acordo com os resultados obtidos, o xilitol, principal produto da conversão de xilose presente no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar por *C. guilliermondii*, foi produzido nos dois meios avaliados, em concentrações entre 61,20 e 63,05 g/L em meio sintético e em hidrolisado, respectivamente. Por outro lado, no que se refere à concentração celular, o maior crescimento (7,05 g/L) foi obtido em meio sintético, o que corresponde a um maior fator de conversão de xilose em células (0,0710 g/g).

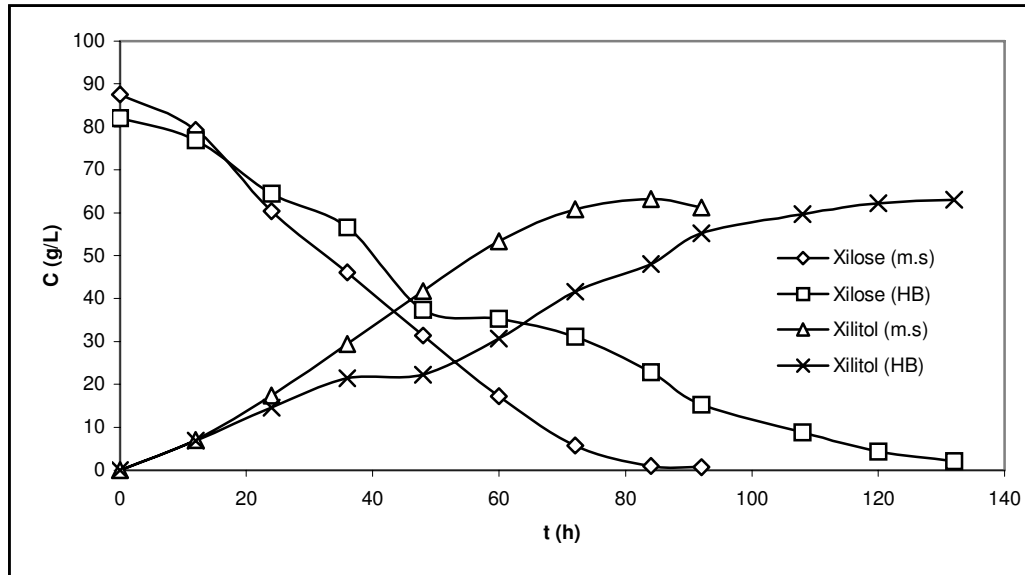


FIGURA 15. Consumo de xilose e produção de xilitol por *C. guilliermondii* em meio sintético ( $\diamond, \Delta$ ), e em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica ( $\square, x$ ) respectivamente, durante o processo de fermentação descontínuo em reator de 15 litros.

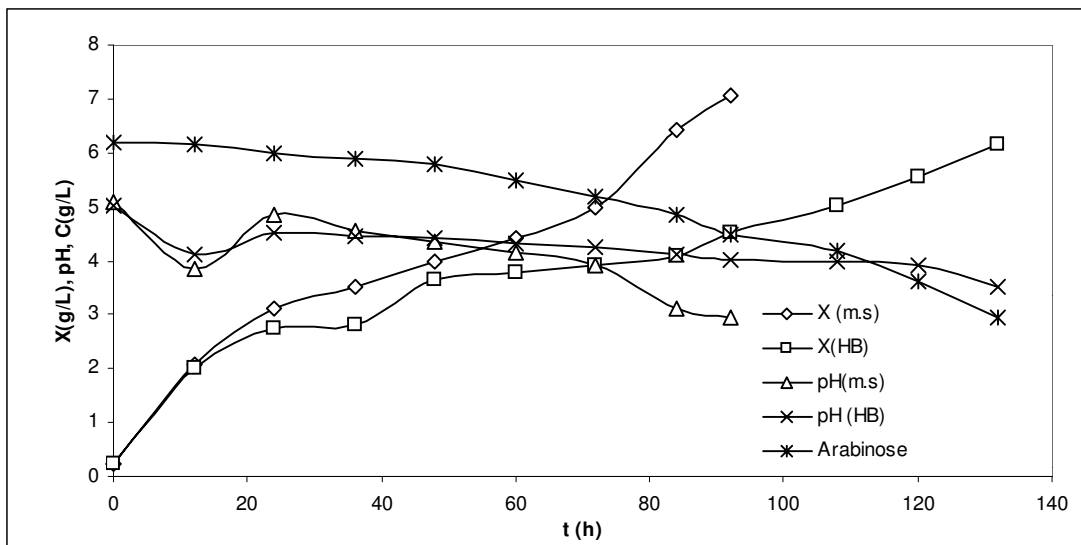


FIGURA 16. Crescimento celular, pH e consumo de arabinose durante a produção de xilitol por *C. guilliermondii* em meio sintético ( $\diamond, \Delta, \text{não}$ ) e em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica ( $\square, x, *$ ) respectivamente, no processo de fermentação descontínuo em reator de 15 litros.

Quanto à arabinose, pentose presente no hidrolisado (6 g/L), verificou-se um consumo parcial (52,41 %) ao longo do processo fermentativo (FIGURA 16). ROBERTO *et al.* (1995), em fermentação com hidrolisado hemicelulósico de palha de arroz, observaram também uma discreta diminuição na concentração de arabinose. Segundo AFFLECK (2000), 40 % da arabinose foi consumida após 170 horas de fermentação de um meio sintético, simulando um hidrolisado hemicelulósico de milho, por *Candida tropicalis* em reator de 1 litro.

Nas TABELAS 10 e 11 são apresentados os parâmetros fermentativos da bioconversão de xilose a xilitol por *Candida guilliermondii* em meio sintético e em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica, respectivamente, durante o processo de fermentação descontínua em reator de 15 litros.

TABELA 10. Parâmetros fermentativos da bioconversão de xilose a xilitol por *Candida guilliermondii* em meio sintético durante o processo de fermentação descontínuo em reator de 15 litros.

tempo (h)	Qp (g/L.h)	$\Delta S$ (%)	Yp/s (g/g)	Yx/s (g/g)	$\epsilon$ (%)
0	0	0	0	0	0
12	0,581	9,78	0,8105	0,2128	88,38
24	0,725	31,39	0,6307	0,1041	68,77
36	0,817	47,55	0,7040	0,0786	76,77
48	0,868	64,23	0,7382	0,0663	80,50
60	0,890	80,43	0,7551	0,0592	82,35
72	0,844	93,46	0,7400	0,0578	80,69
84	0,752	98,95	0,7265	0,0710	79,22
91	0,665	99,14	0,7024	0,0781	76,59

Onde: Qp: produtividade volumétrica em xilitol;  $\Delta S$ : consumo de xilose; Yp/s: fator de rendimento em xilitol a partir de xilose; Yx/s: fator de rendimento em células a partir de xilose;  $\epsilon$ : eficiência da fermentação.

Conforme mostrado nas TABELAS 10 e 11 observam-se maiores valores de produtividade volumétrica em xilitol (0,665 g/L.h)), consumo de xilose (99,14 %) e de fator de conversão de xilose em células (0,0781 g/g) no processo de produção de xilitol a partir de meio sintético, após 92 horas de fermentação. Entretanto,

maiores valores de fator de rendimento de xilose em xilitol (0,8549 g/g) e de eficiência da fermentação (93,22 %) foram obtidos a partir de hidrolisado hemicelulósico.

TABELA 11. Parâmetros fermentativos da bioconversão de xilose a xilitol por *Candida guilliermondii* em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica durante o processo de fermentação descontínuo em reator de 15 litros.

tempo (h)	Qp (g/L.h)	$\Delta S$ (%)	Yp/s (g/g)	Yx/s (g/g)	$\epsilon$ (%)
0	0	0	0	0	0
12	0,570	5,27			
24	0,607	20,09	0,8450	0,1480	92,15
36	0,596	30,43	0,8215	0,1042	89,58
48	0,465	49,24	0,5281	0,0765	57,59
60	0,511	50,30	0,7102	0,0818	77,45
72	0,577	57,10	0,8485	0,0803	92,53
84	0,572	65,14	0,8595	0,0730	93,73
92	0,601	75,36	0,8549	0,0636	93,22
108	0,553	84,06	0,8285	0,0610	90,35
120	0,518	92,04	0,7877	0,0646	85,90
132	0,478	97,99	0,7502	0,0644	81,81

Onde: Qp: produtividade volumétrica em xilitol;  $\Delta S$ : consumo de xilose; Yp/s: fator de rendimento em xilitol a partir de xilose; Yx/s: fator de rendimento em células a partir de xilose;  $\epsilon$ : eficiência da fermentação.

CONVERTI *et al.* (1999), no processo de produção de xilitol por *Pachysolen tannophilus* cultivada em hidrolisado de madeira dura com 89 g/L de xilose obtiveram 39,5 g/L de xilitol após 96 horas de fermentação. SILVA e ROBERTO (2001), realizaram estudos do efeito da concentração de xilose e de inóculo na produção de xilitol por *C. guilliermondii* em hidrolisado hemicelulósico de palha de arroz. Os melhores resultados de produção de xilitol (52,0 g/L) e fator de rendimento em xilitol (0,65 g/g) foram obtidos nas condições iniciais de 82 g/L de xilose e 3 g/L de células. DIZ *et al.* (2002), em estudos relativos ao processo de obtenção de xilitol a partir de hidrolisado de madeira de eucalipto (80 g/L de xilose), tratado com carvão ativo, por *Debaryomyces hansenii*, reportaram

máximos valores de produção de xilitol (40 g/L), produtividade volumétrica (0,40 g/L.h) e rendimento em xilitol (0,57 g/g) após 100 h de fermentação. MUSSATO e ROBERTO (2004), investigaram o comportamento cinético de *C. guilliermondii* durante a produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de palha de arroz tratado com carvão ativo e com elevada concentração de xilose (90,33 g/L). Os resultados, após 116 horas de fermentação e 78,7 % de consumo de xilose, indicaram valores de produtividade e rendimento em xilitol de 0,32 g/L.h e 0,53 g/g, respectivamente.

O processo fermentativo foi conduzido até o momento em que foram obtidos produtos com quantidades mínimas de xilose (132 horas) o qual, por outro lado, provocou uma diminuição nos valores de produtividade em xilitol e de rendimento do processo fermentativo.

O comportamento cinético da levedura *C. guilliermondii* em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica foi avaliado e os resultados estão mostrados nas FIGURAS 17 e 18. A variação das velocidades específicas de crescimento ( $\mu_x$ ) e de formação de xilitol (qp) em função do tempo estão mostradas na FIGURA 18. Observa-se que, o maior valor de  $\mu_x$  ( $0,144 \text{ h}^{-1}$ ) foi atingido na fase inicial do cultivo. Nota-se ainda que, após o período de 10 horas, quando iniciou o consumo de xilose a velocidade específica de crescimento decresceu para  $0,067 \text{ h}^{-1}$ . Comportamento semelhante foi também constatado por ROBERTO (1997) e NOLLEAU *et al.* (1995) durante o cultivo de *C. guilliermondii* em hidrolisados hemicelulósicos de palha de arroz e de madeira, respectivamente.

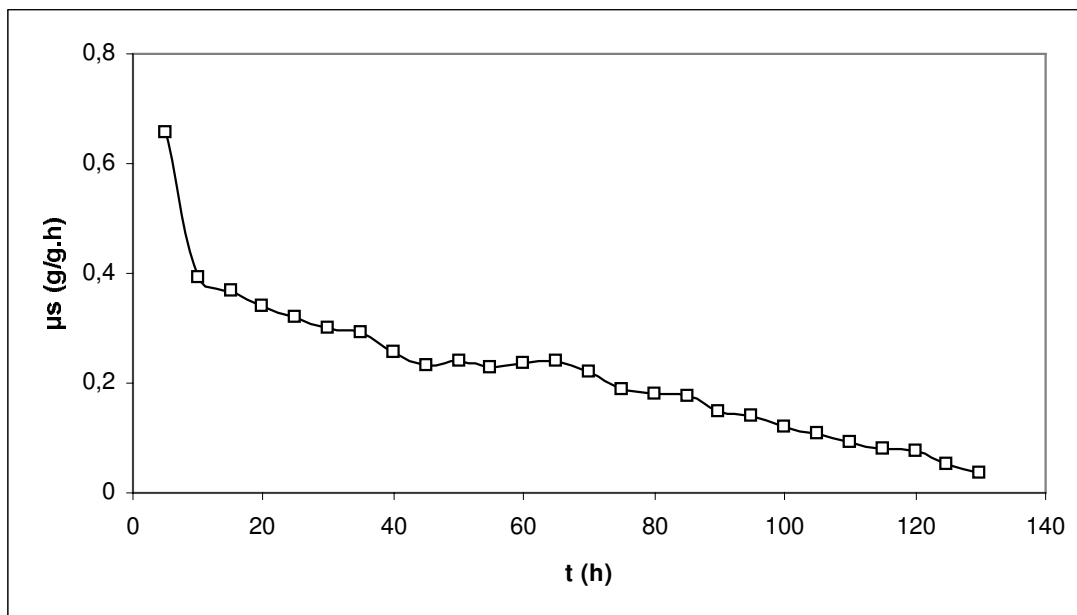


FIGURA 17. Variação da velocidade específica de consumo de xilose durante a fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica, por *C. guilliermondii* em reator de 15 litros.

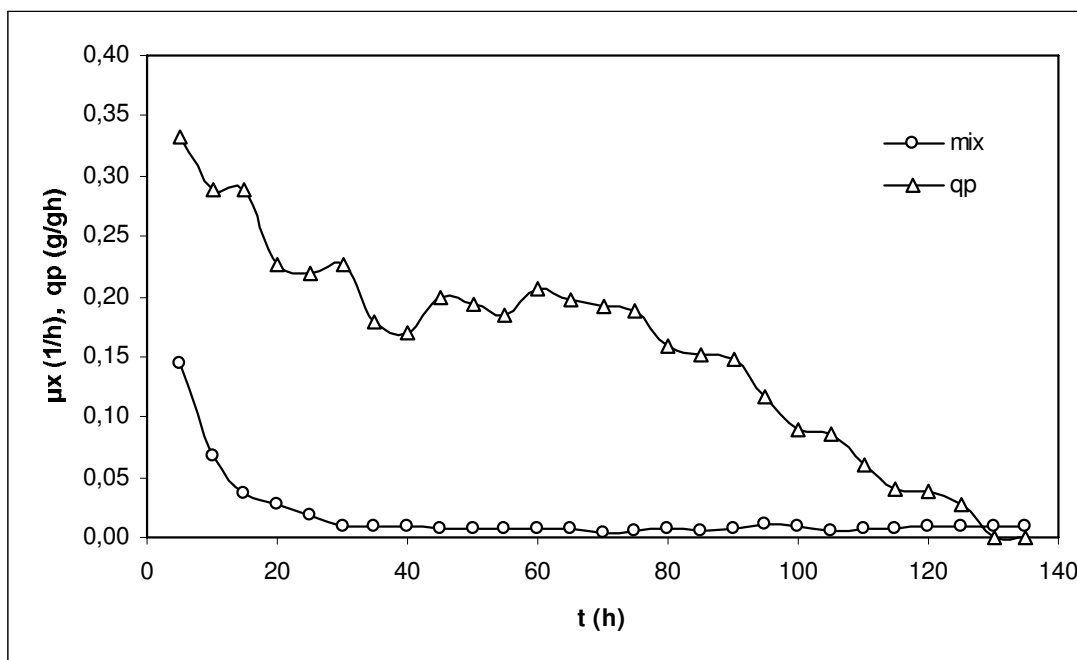


FIGURA 18. Variação da velocidade específica de crescimento celular ( $\circ$ ) e de formação de xilitol ( $\Delta$ ) durante a fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar tratado com resinas de troca iônica, por *C. guilliermondii* em reator de 15 litros.



Quanto à velocidade específica de produção de xilitol (qp), o máximo valor obtido (0,227 g/g.h, após 20 horas de fermentação) foi superior ao encontrado por ROBERTO (1994) em fermentação de hidrolisado de palha de arroz (0,12 g/g.h), comportamento que pode ser atribuído à presença de compostos como furfural e ácido acético neste hidrolisado, que atuam como inibidores do crescimento microbiano.

Na FIGURA 18 verifica-se que, após 10 horas de fermentação, as velocidades específicas de crescimento e de produção de xilitol decresceram com o tempo.

### **5.3. Purificação e concentração do meio fermentado**

O meio fermentado embora rico em xilitol contém leveduras e fragmentos destas, assim como outros contaminantes tais como ingredientes do meio de cultivo, substrato residual e subprodutos da fermentação. É por isso, que os meios fermentados foram submetidos a um processo de centrifugação para separar a biomassa.

Mediante o processo de centrifugação foi possível extrair 2,99 e 2,50 % de biomassa do meio de fermentado a partir de xilose comercial (11,7 kg) e de hidrolisado (11,0 kg) respectivamente. Após a separação da massa celular constatou-se um aumento da concentração de xilitol de 61,20 para 67,11 g/L no meio fermentado a partir de meio sintético e de 60,00 para 68,17 g/L no meio fermentado a partir de hidrolisado.

Com o objetivo de extrair pequenos fragmentos de células que não foram separadas por centrifugação (2000xg) foi realizado um estudo em tubos de ensaio

da precipitação usando NaOH 3N. A TABELA 12 apresenta as características físico-químicas do hidrolisado fermentado submetido a diferentes níveis de pH.

Após 2 horas em repouso observou-se que o aumento do pH de 3,64 até 5,0 e 6,0 não produziu nenhum efeito, entretanto, em valores entre 7,0 e 9 observou-se formação de precipitado. O processo de precipitação e sedimentação foi mais rápido em pH 7,0, sendo constatado também menor perda de xilitol (0,92 %) no sobrenadante.

TABELA 12. Características químicas das amostras de hidrolisado fermentado submetido a diferentes níveis de pH após o processo de centrifugação.

Amostra	Xilose (g/L)	Arabinose (g/L)	Xilitol (g/L)	R <sub>PT</sub> (%)
Inicial	2,28	2,76	68,17	
pH 5,0	2,20	2,75	67,78	1,15
pH 6,0	2,19	2,59	66,99	3,34
pH 7,0	2,18	2,62	67,54	26,42
pH 8,0	2,17	2,47	66,70	22,23
pH 9,0	2,09	2,46	66,30	26,06

R<sub>PT</sub>: Remoção de proteínas totais.

Pode-se constatar ainda uma maior remoção de proteínas totais (26,42 %) em pH 7,0, segundo resultados obtidos utilizando o método de Lowry. Este método pode sofrer interferência de açúcares, aminoácidos e péptideos presentes na solução fermentada, sendo portanto utilizado como uma medição quantitativa dos produtos retidos no permeado, ou seja, dos materiais positivos ao método de Lowry.

Tomando em consideração os resultados obtidos neste estudo foi realizado o processo de separação do precipitado através do aumento do pH dos licores de xilitol obtidos por via fermentativa a partir de meio sintético e de hidrolisado hemicelulósico para 7,0.

De maneira visual, foi possível observar que os precipitados formados nos meios fermentados obtidos seja a partir de meio sintético (116,98 g correspondentes ao 1,06 % do licor) ou de hidrolisado tratado (189,1 g correspondentes ao 1,26 % do licor) tinham a mesma coloração e textura. Por isso, foi realizado um teste para saber se os nutrientes eram os agentes precipitantes. Após a mistura dos nutrientes, na mesma proporção em que são adicionados ao meio de fermentação, pela adição de NaOH 3N até valores de pH entre 5,0 e 7,0, foi constatada a formação de um precipitado muito parecido aos formados com os licores de xilitol. Esse fato indicou a necessidade de se estudar o efeito da concentração inicial dos nutrientes (em especial o extrato de farelo de arroz) na fermentação. Os resultados do estudo do efeito da concentração inicial de extrato de farelo de arroz (5 e 20 g/L) no processo fermentativo indicaram que 5 g/L são suficientes para o processo.

Os meios fermentados foram posteriormente concentrados e purificados com resinas de troca iônica A-505 e C-505. Na TABELA 13 apresenta-se a composição dos meios fermentados durante cada etapa de purificação. Após o tratamento do meio fermentado a partir de hidrolisado, foi observada a diminuição da concentração de arabinose em 17,55 % e da cor dos xaropes. Por outro lado, houve uma perda de 8,15 e 15,23 % de xilitol após esta etapa de tratamento.

TABELA 13. Composição dos meios fermentados a partir de meio sintético (A) e de hidrolisado (B) durante o tratamento com resinas de troca iônica A-505 e C-504.

Meio fermentado	Xilitol (g/L)	Arabinose (g/L)
A	239,1	-
A após A-505	229,1	-
A após C-504	219,6	-
B	294,1	11,09
B após A-505	267,1	9,15
B após C-504	249,3	9,14

Com o objetivo de aumentar a concentração de xilitol os xaropes foram concentrados a vácuo 4 vezes. Foram obtidos xaropes com concentrações de xilitol iguais a 745,3 e 935,4 g/L a partir de meio sintético e de hidrolisado hemicelulósico, respectivamente. O concentrado de xilitol a partir de hidrolisado continha uma concentração de arabinose igual a 13,10 g/L.

#### 5.4. Obtenção das curvas de solubilidade de xilitol em água e em água-etanol.

Nas FIGURAS 19 e 20 são apresentados os valores de índice de refração (IR) correspondentes às soluções de xilitol comercial em água (0-75 %) e em água-etanol (0-85 %), respectivamente. Observa-se que a % mássica de xilitol em água e em soluções água-etanol (50-50 %) e o IR está correlacionada através de polinômios de segundo e terceiro grau, respectivamente:

$$\% \text{ máss }_{\text{água}} = -552,85 \cdot \text{IR}^2 + 2123,2 \cdot \text{IR} - 1843,3 \quad R^2 = 0,9997$$

$$\% \text{ máss }_{\text{água-etanol}} = -9864,3 \cdot \text{IR}^3 + 39516 \cdot \text{IR}^2 - 51943 \cdot \text{IR} + 22378 \quad R^2 = 0,9994$$

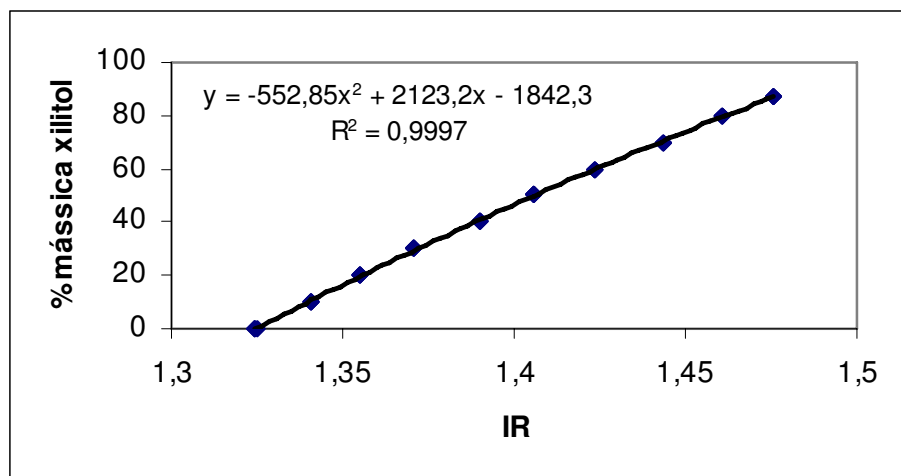


FIGURA 19. Representação esquemática da variação da % mássica de xilitol em água em função do índice de refração (IR) a 70 °C.

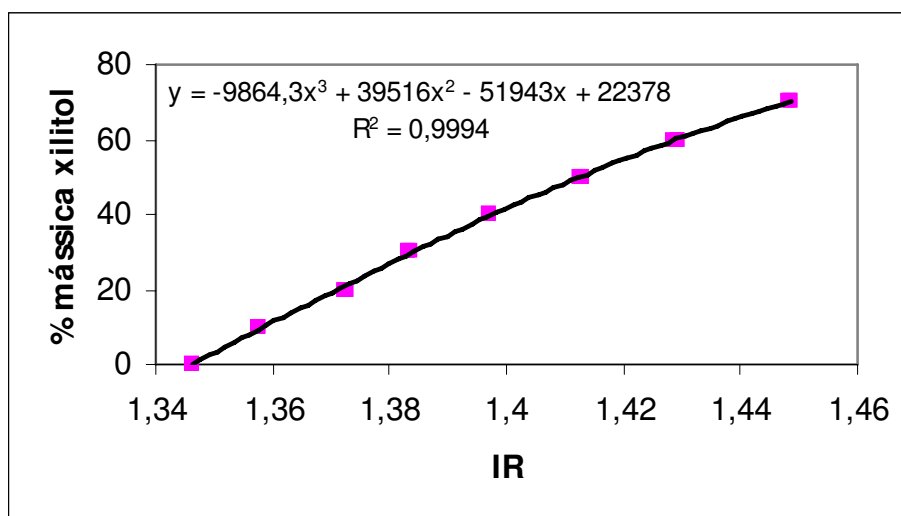


FIGURA 20. Representação esquemática da variação da % mássica de xilitol em soluções água-etanol (50-50%) em função do índice de refração (IR) a 60 °C.

Na FIGURA 21 mostra-se a solubilidade do xilitol em água e em água-etanol (50-50 %) em função da temperatura. Observa-se que a curva de solubilidade do xilitol DANISCO grau comercial em função da temperatura pode ser representada por um polinômio de segundo grau descrito pela equação 27, com um coeficiente de correlação ( $R^2$ ) igual a 0,9866. Por outro lado, a solubilidade do xilitol em solução água-etanol (50-50%) pode ser melhor correlacionada com a temperatura

por um polinômio de terceira ordem com um coeficiente de correlação ( $R^2$ ) igual a 0,9996 segundo a equação 28:

$$\% \text{ xilitol} = -0,0035 \cdot T^2 + 0,8126 \cdot T + 45,857 \quad (27)$$

$$\% \text{ xilitol} = -0,0005 \cdot T^3 + 0,0443 \cdot T^2 - 0,0109 \cdot T + 21,006 \quad (28)$$

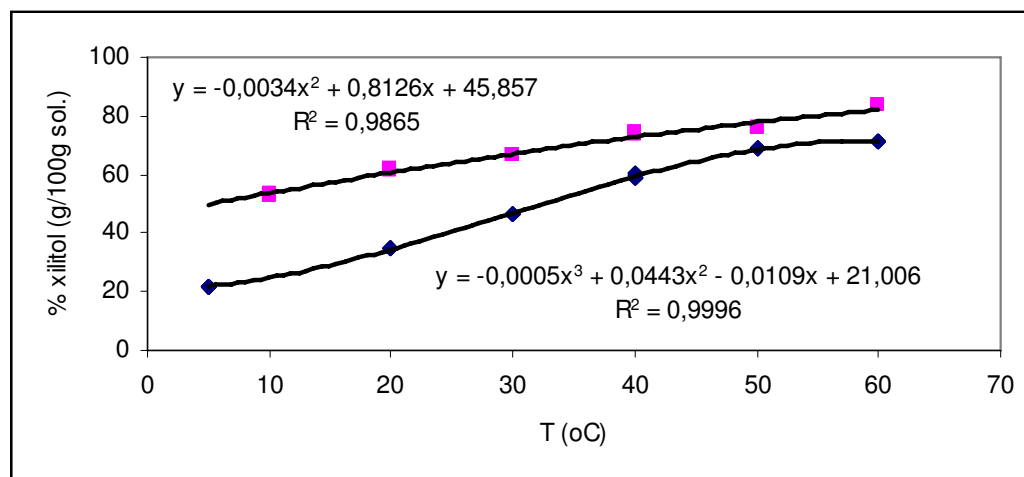


FIGURA 21. Solubilidade do xilitol grau analítico em água (■) e em água-etanol (◆) em função da temperatura.

Os valores de solubilidade obtidos são similares aos reportados na literatura (ANEXO). As diferenças de solubilidade podem ser atribuídas, entre outros fatores, à qualidade da matéria-prima utilizada assim como aos métodos empregados na determinação de suas propriedades.

### 5.5. Estudos preliminares de cristalização de xilitol comercial

Na TABELA 14 são apresentados os resultados do processo de cristalização de xilitol obtidos nos *experimentos-modelo* preliminares utilizando como solvente água e misturas água-etanol (70%-30% e 50%-50%). Observa-se que, os resultados enquanto a temperatura de nucleação variou para as mesmas condições iniciais. Isto pode ser possível devido à complexidade do sistema em estudo o qual é composto por uma substância orgânica dissolvida em água ou

misturas água-etanol e possui altas concentrações e uma zona metaestável muito larga, a qual, em alguns casos, chegou a ser maior que 60 °C. Uma forma de se reduzir a supersaturação consiste na introdução de sementes no sistema. Nos estágios iniciais da cristalização existem muito poucos cristais em suspensão sobre os quais o material deve depositar para crescer, implicando no aumento da supersaturação, permitindo a ocorrência de uma supersaturação excessiva. Por isso, foram adicionados 4 cristais de xilitol no início de cada experimento com o objetivo de estabilizar o sistema e de forma a atingir condições adequadas para a nucleação secundária.

TABELA 14. Resultados da cristalização de xilitol obtidos durante os *experimentos-modelo* preliminares utilizando água e misturas água-etanol.

T (°C)	VR (°C/min)	Solvente (%) Água-etanol	T <sub>final</sub> (°C)	Observações
40	0,125	100-0	-20	Cristalizou a 25,4 °C
			-20	Não cristalizou
			-20	Cristalizou a -12,0 °C
40	0,25	100-0	20	Cristalizou a 34,5 °C
			20	Não cristalizou
			5	Não cristalizou
			-10	Não cristalizou
40	0,50	100-0	-20	Não cristalizou
60	0,125	70 – 30*	0	Cristalizou a 39,5 °C
		50- 50	0	Cristalizou a 24,3 °C
60	0,50	100-0	30	Não cristalizou
		70- 30	20	Não cristalizou
		70- 30	0	Cristalizou a 11,8 °C
		70- 30	0	Não cristalizou
		70- 30	6	Não cristalizou
		50-50	-10	Cristalizou a -0,8 °C
		50-50	-10	Cristalizou a 32,3 °C
		50-50	-10	Não cristalizou

\* A concentração de xilitol em mistura água-etanol (70%-30%) na temperatura de saturação de 60 °C é igual a 77,76 g de xilitol em 15,57 g de água e 6,67 g de etanol 99,7 % segundo VYGLAZOV e KHOL'KIN (1984).

## 5.6. Estudo da cinética de cristalização de xilitol comercial.

Na TABELA 15 são apresentados os resultados quanto à temperatura de nucleação ( $T_{\text{nucleação}}$ ), temperatura da solução final ( $T_{\text{final sol.}}$ ) e a variação de temperatura entre a temperatura de saturação e a de nucleação ( $\Delta T$ ) dos *experimentos-modelo* da cristalização de xilitol em mistura de solvente água (50%)-etanol (50 %) nas condições de temperatura de saturação de 40, 50 e 60 °C, com velocidades de resfriamento (VR) iguais a 0,10, 0,25 e 0,50 °C/min.

TABELA 15. Condições experimentais e valores de temperatura de nucleação ( $T_{\text{nucl}}$ ), temperatura da solução final ( $T_{\text{final sol.}}$ ) e a variação de temperatura entre a temperatura de saturação e a de nucleação ( $\Delta T$ ) nos *experimentos-modelo* nas temperaturas de saturação de 40, 50 e 60 °C e velocidades de resfriamento iguais a 0,10, 0,25 e 0,50 °C/min..

Tsat (°C)	VR (°C/min)	$T_{\text{nucleação}}$ (°C)	$T_{\text{sol. final}}$ (°C)	$\Delta T = T_{\text{sat}} - T_{\text{nucleação}}$
40	0,10	24,30	5,88	15,70
		26,27	6,23	13,73
		25,67	5,81	14,33
	0,25	16,82	6,30	23,18
		20,50	6,17	19,50
		22,43	6,18	17,57
	0,50	16,91	7,22	23,10
		14,96	7,27	25,04
		16,76	7,26	23,24
50	0,10	38,81	15,89	11,19
		38,38	15,81	11,62
		38,89	15,75	11,11
	0,25	29,90	16,55	20,10
		33,52	16,23	16,48
		35,14	16,25	14,86
	0,50	29,88	17,34	20,12
		30,39	17,08	19,61
		31,02	17,09	18,98
60	0,10	51,54	24,94	8,46
		48,58	24,79	11,42
		50,03	25,93	9,97
	0,25	50,78	24,85	9,22
		48,18	24,88	11,82
		49,19	24,84	10,81
	0,50	48,65	27,06	11,35
		46,20	27,88	13,80
		45,44	26,99	14,56



Para obter os parâmetros cinéticos foi necessário conhecer a distribuição granulométrica (%diferencial e % acumulada) dos cristais obtidos em cada ensaio. A partir da distribuição (% mássica) foi realizada sua linearização, de acordo com a função gama modificada, segundo equação 8. Nas TABELAS 16 a 18 estão apresentados os resultados da distribuição granulométrica acumulada  $M(L)$  em % mássica e os valores de  $z$  de cada ensaio nas temperaturas de saturação de 40, 50 e 60 °C, respectivamente.

A partir dos valores de  $z$  em função do tamanho dos cristais foram traçados os gráficos de distribuição, verificando-se que não existe linearidade em toda a distribuição devido principalmente à aglomeração de cristais de xilitol.

Nas FIGURAS 22 e 23 podem ser verificadas as distribuições granulométricas e os valores de  $z$  em função do tamanho dos cristais de xilitol respectivamente, nos ensaios 22, 23 e 24. Pode-se observar, que as distribuições granulométricas obtidas foram bastante semelhantes, mostrando que a reprodutibilidade desses ensaios é satisfactoria.

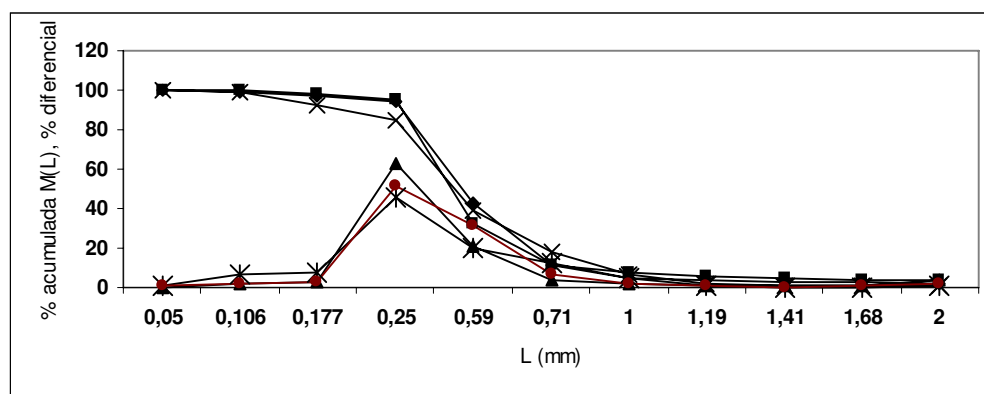


FIGURA 22. Distribuição granulométrica (% acumulada, % diferencial) dos ensaios 22 (■, ▲), 23 (x, \*) e 24 (◆, ●) respectivamente.

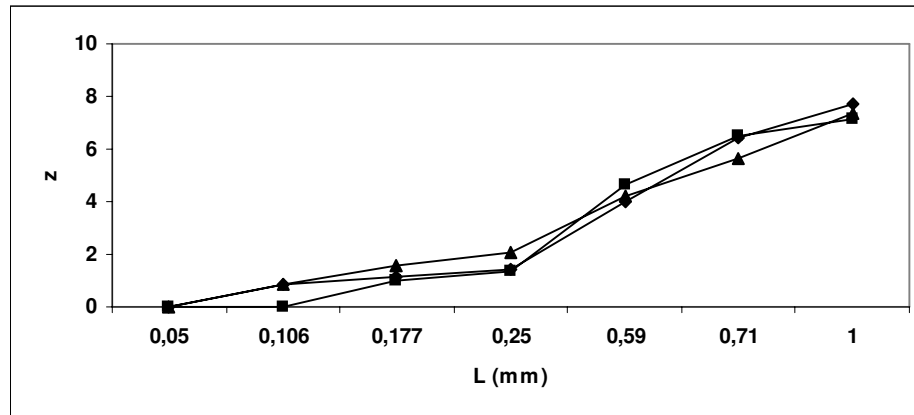


FIGURA 23. Linearização da distribuição granulométrica obtida nos experimentos realizados com temperatura de saturação 60 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min (ensaio 22 (■), 23 (▲) e 24 (×)).

Para realizar os cálculos foi fixada a densidade do xilitol sólido igual a 1500 kg/m<sup>3</sup> e o fator de forma volumétrico dos cristais igual a 0,83 segundo FERNANDEZ *et al.* (1999). Os parâmetros cinéticos tais como tamanho dominante da distribuição ( $L_m$ ), velocidade de crescimento ( $G$ ) e taxa de nucleação ( $dN/dT$ ) foram determinados utilizando-se o método de Nývlt *et al.* (1985). O tamanho dominante experimental foi calculado utilizando-se o critério proposto por DERENZO (2003): considera-se o  $L_N$  igual a zero para  $z$  igual a zero e o tamanho dominante  $L_M$  corresponde-se com o valor de  $z$  igual a 3, definindo assim uma distribuição granulométrica hipotética para representar o experimento.

TABELA 16. Distribuição granulométrica acumulada (% mássica) e valores de z dos ensaios realizados com temperatura de saturação de 40 °C.

VR (°C/min)	No.	Abertura (mm)	0,05	0,106	0,177	0,25	0,59	0,71	1,00	1,19	1,41	1,68	2,00
0,10	1	M(L)	100	99,36	92,869	76,637	21,498	11,903	6,964	3,746	2,414	1,970	1,276
		z	0	0,721	1,5442	2,4587	5,3900	6,3984	7,2496	8,1819	8,8173	9,1054	9,7105
	2	M(L)	100	97,955	89,219	72,225	26,049	17,870	12,347	7,222	5,257	4,089	2,469
		z	0	1,0232	1,7944	2,6629	5,0325	5,7130	6,3383	7,1934	7,6782	8,0528	8,7848
	3	M(L)	100	98,751	95,508	89,208	46,889	28,735	14,354	4,705	2,339	1,542	1,037
		z	0	0,8799	1,3181	1,7951	3,8225	4,8457	6,0878	7,8446	8,8621	9,4487	9,9959
0,25	4	M(L)	100	99,039	95,972	88,103	29,261	15,471	7,788	4,028	2,561	1,920	1,200
		z	0	0,8134	1,2712	1,8625	4,8106	5,9611	7,0760	8,0752	8,7329	9,1413	9,7950
	5	M(L)	100	98,079	91,5478	75,082	14,791	6,998	3,869	2,552	2,031	1,619	1,0702
		z	0	1,0036	1,6407	2,5315	6,0372	7,2423	8,1343	8,7377	9,0626	9,3805	9,9524
	6	M(L)	100	98,530	91,689	73,677	11,918	5,157	2,886	1,737	1,149	0,882	0,561
		z	0	0,9244	1,6308	2,5965	6,3963	7,7070	8,5611	9,2822	9,8549	10,2161	10,8238
0,50	7	M(L)	100	98,615	94,759	86,207	36,492	24,817	16,807	10,263	6,788	4,724	2,769
		z	0	0,9078	1,3882	1,9724	4,3688	5,1231	5,8193	6,6390	7,2892	7,8385	8,6205
	8	M(L)	100	97,859	91,348	76,418	21,152	12,731	8,131	4,514	2,865	2,141	1,013
		z	0	1,0380	1,6546	2,4690	5,4150	6,2877	7,0088	7,9064	8,5719	8,988	10,0279
	9	M(L)	100	97,814	89,287	70,345	24,771	16,946	12,034	7,6363	5,154	4,074	2,509
		z	0	1,0448	1,7901	2,7481	5,1266	5,8052	6,3804	7,1068	7,7082	8,0582	8,7619

TABELA 17. Distribuição granulométrica acumulada (% mássica) e valores de z dos ensaios realizados com temperatura de saturação de 50 °C.

VR (°C/min)	No.	Abertura (mm)	0,05	0,106	0,177	0,25	0,59	0,71	1,00	1,19	1,41	1,68	2,00
0,10	10	M(L)	100	98,892	94,845	81,655	34,172	26,460	19,976	13,270	9,545	7,612	5,054
		z	0	0,8487	1,3805	2,2142	4,5034	5,0030	5,5172	6,2190	6,7553	7,1119	7,7374
	11	M(L)	100	98,224	94,954	88,070	45,842	29,996	18,874	10,557	7,408	5,793	3,853
		z	0	0,9796	1,3706	1,8645	3,8742	4,7526	5,6175	6,5936	7,1540	7,5315	8,1473
	12	M(L)	100	99,163	95,621	80,275	18,480	9,637	5,173	2,254	1,352	0,880	0,515
		z	0	0,7810	1,3069	2,2832	5,6544	6,7399	7,7026	8,9150	9,6307	10,2190	10,9379
0,25	13	M(L)	100	98,189	91,416	75,504	20,193	12,948	8,543	5,270	3,438	2,532	1,626
		z	0	0,9855	1,6499	2,5188	5,4979	6,2599	6,9311	7,6747	8,3075	8,7491	9,3744
	14	M(L)	100	98,694	94,436	84,371	36,541	21,655	12,314	7,513	5,583	4,600	3,154
		z	0	0,8918	1,4169	2,0730	4,3660	5,3726	6,3427	7,1322	7,5831	7,8782	8,4328
	15	M(L)	100	98,006	92,947	81,255	25,735	12,545	5,479	2,372	1,532	1,134	0,735
		z	0	1,0153	1,5382	2,2344	5,0553	6,3643	7,6161	8,8423	9,4573	9,8737	10,4630
0,50	16	M(L)	100	99,079	95,813	87,159	25,080	15,485	11,338	8,514	6,731	5,492	3,646
		z	0	0,8918	1,4169	2,0730	4,3660	5,3726	6,3427	7,1322	7,5871	7,8782	8,4328
	17	M(L)	100	99,634	98,189	93,639	40,894	23,316	14,995	9,929	8,077	6,734	5,188
		z	0	0,6149	0,9854	1,4793	4,1276	5,2382	6,0141	6,6922	7,0191	7,3014	7,6982
	18	M(L)	100	93,542	90,887	77,860	19,269	9,917	5,198	3,545	2,740	2,218	1,457
		z	0	1,0840	1,6861	2,4046	5,5810	6,6941	7,6954	8,2626	8,6357	8,9375	9,5272

TABELA 18. Distribuição granulométrica acumulada (% mássica) e valores de z dos ensaios realizados com temperatura de saturação de 60 °C.

VR (°C/min)	No.	Abertura (mm)	0,05	0,106	0,177	0,25	0,59	0,71	1,00	1,19	1,41	1,68	2,00
0,10	19	M(L)	100	99,438	94,621	88,599	53,914	38,29	25,411	13,489	8,731	6,784	4,737
		z	0	0,7292	1,4006	1,8326	3,4884	4,2678	5,0790	6,1919	6,8967	7,2900	7,8345
	20	M(L)	100	98,539	95,498	90,496	55,202	35,654	20,308	8,944	5,002	3,621	2,441
		z	0	0,9226	1,3190	1,7123	3,4290	4,4167	5,4878	6,8587	7,7531	8,2314	8,8014
	21	M(L)	100	98,926	97,526	92,041	17,188	6,966	3,711	2,230	1,790	1,562	1,237
		z	0	0,8410	1,0836	1,6056	5,7807	7,2493	8,1957	8,9302	9,2399	9,4301	9,7537
0,25	22	M(L)	100	100	98,191	95,197	32,195	11,415	7,335	5,406	4,743	4,260	3,557
		z	0	0,0220	0,9851	1,3480	4,6232	6,4669	7,1694	7,6362	7,8327	7,9922	8,2577
	23	M(L)	100	98,931	92,418	84,432	3,919	18,552	6,614	1,896	1,250	1,069	0,786
		z	0	0,8397	1,5781	2,0697	4,2337	5,6477	7,3291	9,1597	9,7390	9,9543	10,3711
	24	M(L)	100	98,977	96,812	94,285	43,072	11,751	5,053	3,509	2,988	2,687	2,206
		z	0	0,8288	1,1767	1,4298	4,014	6,4196	7,7378	8,2775	8,5112	8,6640	8,9456
0,50	25	M(L)	100	97,480	93,222	87,158	34,623	12,045	5,445	2,991	2,194	1,771	1,187
		z	0	1,0925	1,5169	1,9181	4,4768	6,3790	7,6252	8,5096	8,9529	9,2545	9,8108
	26	M(L)	100	99,135	93,321	84,269	18,648	7,282	5,230	3,903	3,400	2,957	2,193
		z	0	0,7886	1,5091	2,0785	5,6386	7,1806	7,6860	8,1217	8,3237	8,5260	8,4540
	27	M(L)	100	97,485	93,201	89,507	64,590	47,632	33,032	17,970	9,511	5,070	3,164
		z	0	1,0920	1,5185	1,7763	3,0059	3,7862	4,5718	5,7043	6,7610	7,7329	8,4283

Na TABELA 19 estão relacionados os tempos de cristalização, a massa de xilitol cristalizada por massa de solvente e as velocidades específicas de crescimento e de nucleação dos cristais de xilitol para cada ensaio. DERENZO (2003), em estudos do processo de cristalização de ácido adípico em diversos solventes reporta valores de velocidade específica de crescimento e de nucleação da mesma ordem que os obtidos neste trabalho. Por outro lado, dados compilados por Mersmann e Kind (1988) segundo MULLIN (2001) sobre compostos inorgânicos cristalizados ou precipitados a partir de soluções aquosas apresentam ordem de magnitude para as velocidades de crescimento e de nucleação de  $10^{-8}$ - $10^{-9}$  m/s e de  $10^7$ - $10^{10}$  #/m<sup>3</sup>s, respectivamente, para supersaturações relativas menor ou igual a 1. Os valores de  $m_c$ ,  $G$  e  $dN/dT$  foram correlacionados mediante uma regressão multilinear, conforme a equação 17. Em todas as regressões procurou-se manter o valor de  $c$  fixo em 0, 1 ou 2, por serem valores relacionados aos diferentes mecanismos de nucleação secundários.

Na TABELA 20 estão relacionados os valores dos parâmetros cinéticos: expoente da concentração mássica dos cristais ( $c$ ),  $g/n$ , expoentes da supersaturação na cinética de crescimento ( $g$ ) e nucleação ( $n$ ), a constante do sistema ( $B_N$ ), a constante da regressão ( $A''$ ), o coeficiente de correlação obtido para cada regressão ( $R^2$ ), os valores de teste de "t de Student" calculados ( $ts_{cal}$ ) e os tabelados ( $ts_{tab}$ ). Como se pode constatar, o fato de desconsiderar somente o ensaio 26 com  $c$  igual a zero provocou um aumento do coeficiente de correlação ( $R^2$ ) de 0,6781 a 0,7297. O valor de  $ts_{cal}$  foi sempre maior que o tabelado ao nível de 99,9% de confiança, indicando que as correlações são significativas ao nível de 0,1 %.

A FIGURA 24 apresenta a correlação entre o  $\log dN/dT$  e o  $\log G$  onde obteve-se um coeficiente angular igual a 1 (g/n) e o intercepto 14,88 correspondente ao valor de A” com um coeficiente de correlação  $R^2$  igual a 0,7297.

A separação dos expoentes g e n foi realizada através da determinação do coeficiente m (orden aparente da nucleação) e da equação 23. A partir dos dados de velocidade de resfriamento e a diferença de temperatura de saturação e de nucleação ( $\Delta T_{max}$ ) foram elaborados os gráficos de variação do grau máximo de sub-resfriamento em função da velocidade de resfriamento (FIGURA 25). O coeficiente m é o inverso do coeficiente angular das retas. A inclinação das retas para as diferentes concentrações de xilitol teve uma pequena variação encontrando-se valores de 0,3463, 0,3066 e 0,2199 para as temperaturas de saturação de 40, 50 e 60 °C, respectivamente. Para realizar os cálculos foi utilizado o valor médio entre esses valores ( $1/m = 0,2909$ ).

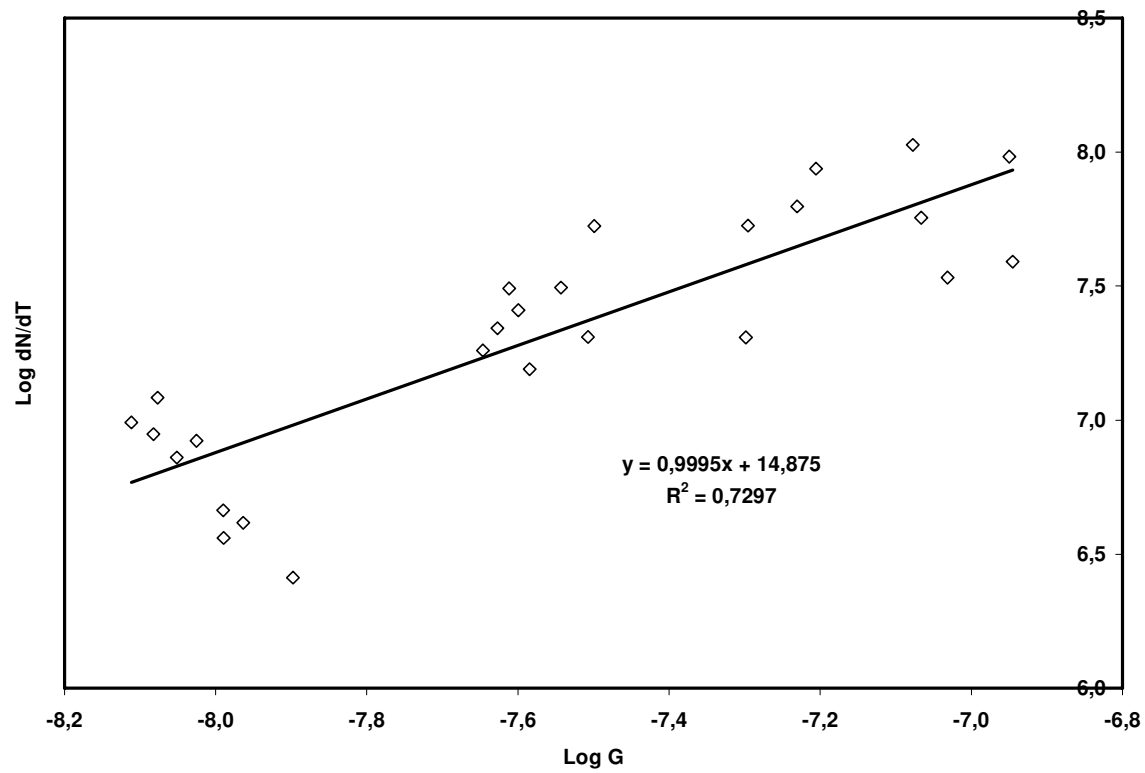


FIGURA 24. Variação do log da taxa de nucleação com o log da velocidade de crescimento de cristais de xilitol.



TABELA 19. Tempo de cristalização, massa cristalizada de xilitol, velocidade de crescimento e taxa de nucleação de xilitol durante os *experimentos-modelo*.

Ensaio	$t_c$ (min)	$m_c$ (kg/m <sup>3</sup> <sub>solv</sub> )	G (m/s)(*10 <sup>8</sup> )	dN/dT(#/m <sup>3</sup> <sub>solv</sub> s)(10 <sup>-7</sup> )
1	184,20	782,91	94,3	0,837
2	200,43	782,49	82,7	0,885
3	198,54	785,82	1,26	0,258
4	42,09	788,94	5,03	2,04
5	57,35	766,47	2,86	3,12
6	65,01	783,53	2,44	3,10
7	19,38	778,75	0,113	3,90
8	15,40	742,13	0,112	9,62
9	18,99	783,95	8,37	10,6
10	229,20	1359,13	88,8	0,724
11	225,69	1340,59	1,09	0,414
12	231,38	1261,07	77,4	0,981
13	53,42	1333,34	3,17	5,30
14	69,16	1366,12	3,11	2,05
15	75,59	1294,12	2,52	2,57
16	25,09	1380,09	8,58	5,69
17	26,06	1327,43	9,29	3,41
18	27,99	1243,07	6,23	8,66
19	265,98	2392,87	1,02	0,461
20	273,90	2133,00	1,02	0,364
21	240,94	2329,87	83,8	1,21
22	103,72	2346,37	2,26	1,82
23	93,24	2122,50	2,36	2,21
24	97,40	2383,87	2,60	1,55
25	43,19	2326,87	5,06	5,32
26	36,65	2383,87	8,94	1,91
27	36,90	2291,25	5,88	6,27

TABELA 20. Parâmetros cinéticos: expoente da concentração mássica dos cristais (c), expoentes da supersaturação na cinética de crescimento (g) e nucleação (n), a constante do sistema ( $B_N$ ), a constante da regressão ( $A''$ ), o coeficiente de correlação obtido para cada regressão ( $R^2$ ), os valores de teste de “t de Student” calculados ( $t_{s_{calc}}$ ) e os tabelados ( $t_{s_{tab}}$ ). para o processo de cristalização de xilitol.

Ensaio	c	g/n	n	g	$A''$	$R^2$	$B_N$	$t_{s_{calc}}$	$t_{s_{tab}}$
Todos	-0,09	0,926	2,58	2,39	14,60	0,6798		7,29	2,485
(N=27)	0	0,932	2,57	2,39	14,35	0,6781		7,26	2,479
	1	-1,32							
Sem o 26	0,07	1,006	2,43	2,44	14,71	0,7305		8,16	2,492
(N=26)	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2,44</b>	<b>2,44</b>	<b>14,88</b>	<b>0,7297</b>	<b><math>2,26 \cdot 10^{-16}</math></b>	<b>8,05</b>	<b>2,485</b>
	1	1,097	2,27	2,49	12,50	0,6778	$4,76 \cdot 10^{-18}$	7,11	2,485

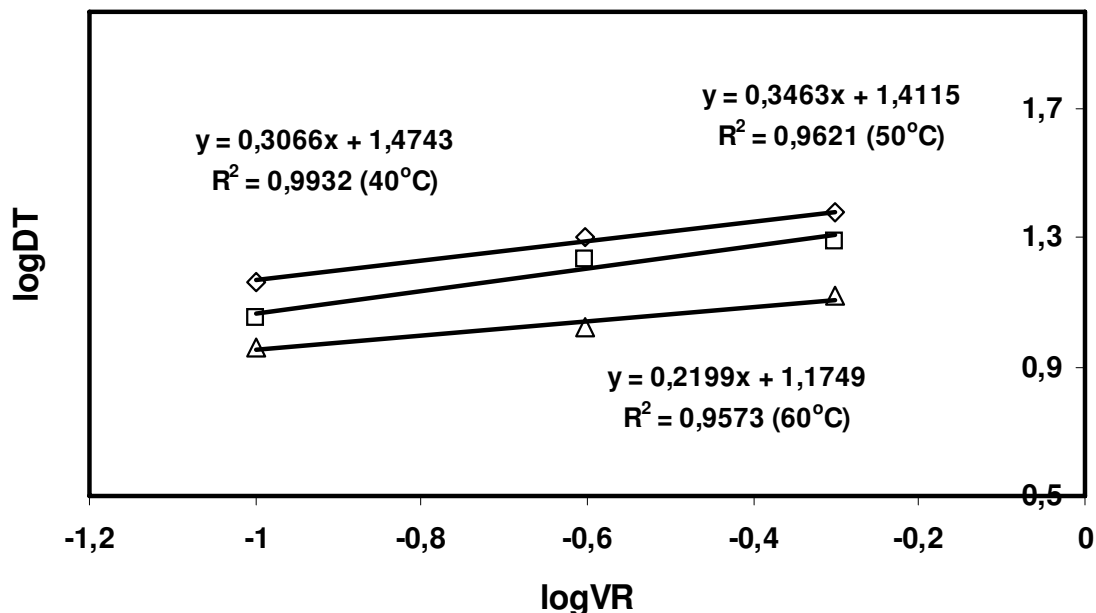


FIGURA 25. Valor máximo de  $\Delta T$  em função da velocidade de resfriamento para os ensaios realizados com temperaturas de saturação de 40 ( $\diamond$ ), 50 ( $\square$ ) e 60 °C ( $\triangle$ ).

Utilizando os parâmetros cinéticos foi então realizado o cálculo do tamanho médio esperado dos cristais (equação 15) nos ensaios com resfriamento linear e com adição de 4 sementes de xilitol. A densidade da mistura de solventes foi considerada igual a 910 kg/m<sup>3</sup>.

Conforme TABELA 21, verificou-se um bom ajuste entre os tamanhos médios dos cristais experimental e calculado com um erro médio igual a 11,29 % e valor máximo igual a 27,78 %. A FIGURA 26 apresenta a correlação entre os valores de tamanho médio dos cristais calculado e experimental sem considerar o ensaio 26. Como pode ser observado, a comparação entre ambos os valores pode ser considerada como satisfactoria pois existe uma distribuição quase eqüitativa dos pontos em relação a reta. Se por um lado a distribuição hipotética que utilizamos

para determinar os valores de tamanho médio apresenta desvios em relação à original, por outro permite a obtenção de parâmetros de modelagem que possibilitarão a estimativa do tamanho dominante de cristais a partir das condições experimentais planejadas para um determinado ensaio.

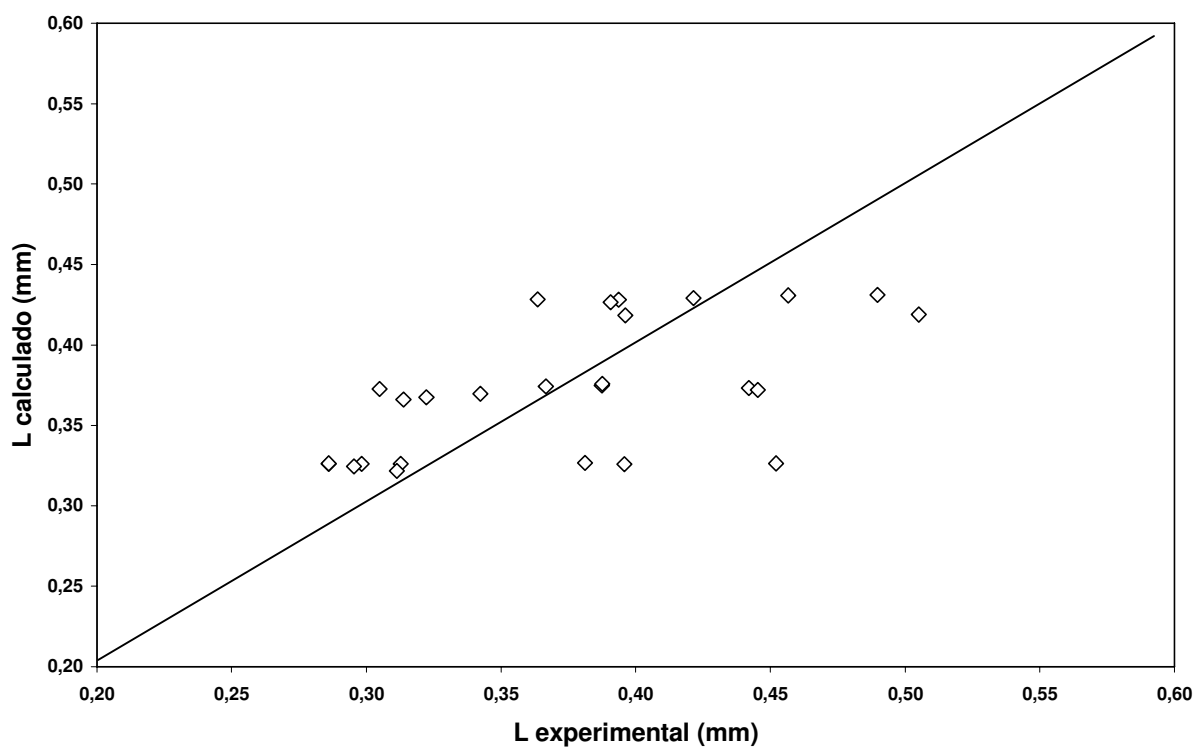


FIGURA 26. Correlação entre o tamanho dominante calculado e o experimental dos ensaios de cristalização de xilitol.

TABELA 21. Tamanhos médios calculados e experimentais dos cristais e os erros.

Ensaio	$L_{cal}$ (mm)	$L_{D\ exp.}$ (mm)	Erro (%)
1	0,3261	0,3128	4,27
2	0,3261	0,2984	9,29
3	0,3264	0,4521	27,78
4	0,3268	0,3812	14,27
5	0,3244	0,2954	9,81
6	0,3262	0,2861	14,02
7	0,3257	0,3958	17,71
8	0,3218	0,3113	3,38
9	0,3263	0,2860	14,07
10	0,3744	0,3667	2,09
11	0,3731	0,4421	15,61
12	0,3674	0,3223	14,01
13	0,3726	0,3049	22,19
14	0,3749	0,3875	3,25
15	0,3698	0,3423	8,04
16	0,3758	0,3876	3,05
17	0,3722	0,4452	16,41
18	0,3661	0,3137	16,69
19	0,4312	0,4897	11,94
20	0,4190	0,5050	17,03
21	0,4284	0,3636	17,83
22	0,4291	0,4215	1,81
23	0,4185	0,3962	5,63
24	0,4308	0,4566	5,63
25	0,4282	0,3938	8,75
27	0,4266	0,3707	9,18

### 5.7. Experimentos-modelo utilizando xilitol obtido por via fermentativa.

Os xaropes de xilitol obtidos pela fermentação de meio sintético (745,3 g/L) e de hidrolisado hemicelulósico de cana-de-açúcar (935,3 g/L) foram submetidos a uma primeira etapa de cristalização por resfriamento linear (0,25 °C/min) partindo de 50 °C. A FIGURA 27 apresenta fotografias de cristais obtidos a partir dos dois meios, observando-se uma grande aglomeração dos cristais. De forma visual pode-se constatar que os cristais de xilitol obtidos a partir de meio sintético foram menos escuros que os obtidos a partir de hidrolisado.

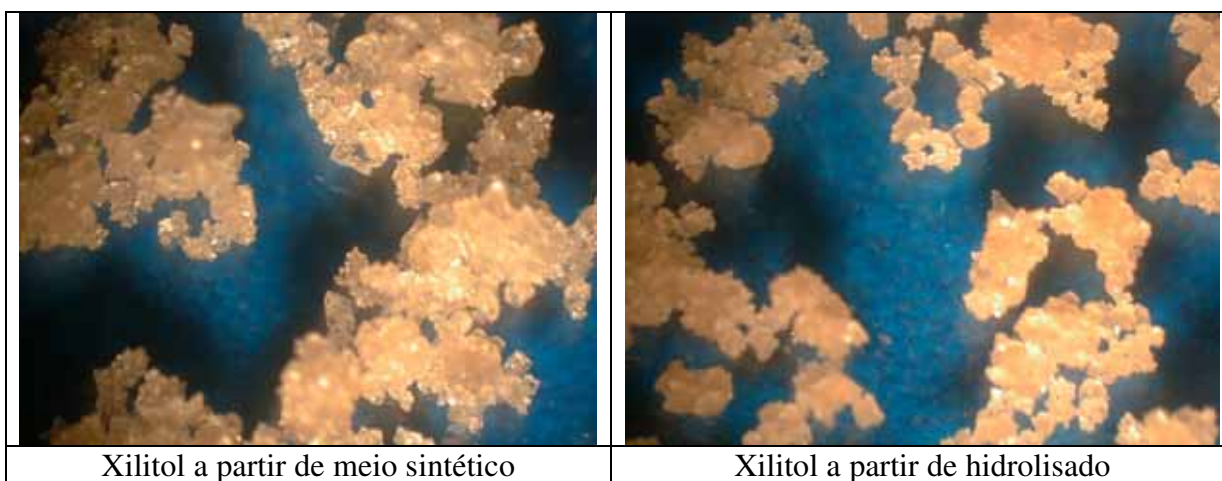


FIGURA 27. Fotos em microscópio dos cristais de xilitol obtidos a partir dos xaropes de xilitol.

Na TABELA 22 estão apresentados os resultados da primeira etapa de cristalização. Os cristais produtos desta etapa apresentaram um grau de pureza (95 e 85 %), ponto de fusão (91,55 e 84,67 °C), calor de fusão (206,71 e 147,81 j/g) e % de umidade (4 e 3 %) para o xilitol obtido de meio sintético e de hidrolisado, respectivamente. Esses valores de pureza, ponto de fusão e de calor

de fusão são inferiores aos do xilitol com qualidade alimentícia (99,8 %, 93,61 °C e 259,66 J/g, respectivamente).

TABELA 22. Resultados da primeira etapa de cristalização dos xaropes de xilitol obtidos a partir de meio sintético (A) e a partir de hidrolisado hemicelulósico (B).

Xarope	$m_{\text{inicial}}$ (g)	$m_c(\text{kg}/\text{m}^3_{\text{solv}})$	Pureza (%)	Umidade (%)
A	273,75	234,2	95	3,08
B	626,63	258,5	85	4,03

Os cristais obtidos foram posteriormente submetidos a uma recristalização considerando-se seu grau de pureza. Os experimentos com o xilitol obtido a partir de meio sintético foram realizados partindo de soluções de xilitol em água-etanol nas condições de saturação correspondentes a 30, 40 e 50 °C e aplicando uma velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min.

Os produtos de cada ensaio foram caracterizados granulometricamente por peneiramento (TABELA 23).

Nas FIGURAS 28 e 29 apresentam-se as distribuições granulométrica diferencial e acumulada, respectivamente dos três ensaios. Observa-se que nas três condições testadas obteve-se uma maior quantidade de cristais com tamanhos entre 0,21 e 0,59 mm.

TABELA 23. Distribuição granulométrica acumulada (% mássica) e valores de z dos ensaios de recristalização de xilitol obtidos a partir de meio sintético.

L (mm)	$T_{\text{sat}} = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$		$T_{\text{sat}} = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$		$T_{\text{sat}} = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$	
	M(L)	z	M(L)	z	M(L)	z
0,05	100	0	100	0	100	0
0,106	99,96	0,331	99,96	0,326	99,93	0,396
0,177	99,77	0,539	99,64	0,613	96,57	1,206
0,21	97,55	1,083	95,83	1,286	89,85	1,755
0,59	7,24	7,189	30,02	4,761	16,76	5,824
0,71	3,79	8,164	25,19	5,095	14,05	6,124
1,00	3,10	8,456	22,72	5,285	11,17	6,502
1,19	1,95	9,117	13,83	6,150	9,01	6,847
1,41	0,77	10,406	9,26	6,804	7,25	7,188
1,68	0,34	11,468	7,22	7,193	6,03	7,470
2,00	0,23	11,996	5,30	7,666	4,12	8,041

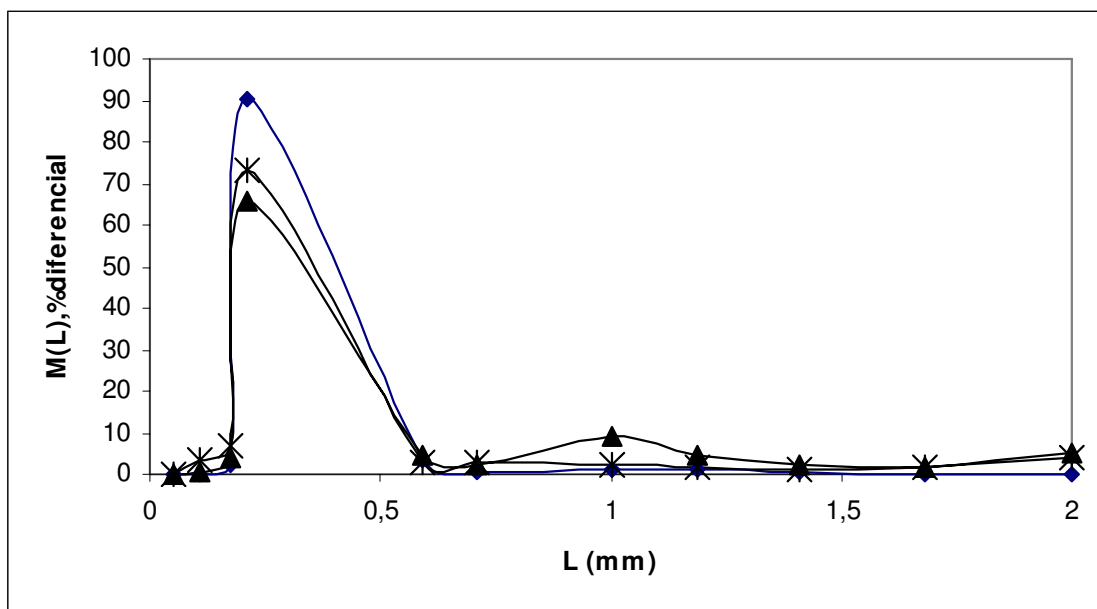


FIGURA 28. Distribuição granulométrica (% diferencial) da recristalização do xilitol obtido a partir de meio sintético nas condições de temperatura de saturação de 30 (♦), 40 (▲) e 50 °C (\*) com velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min.



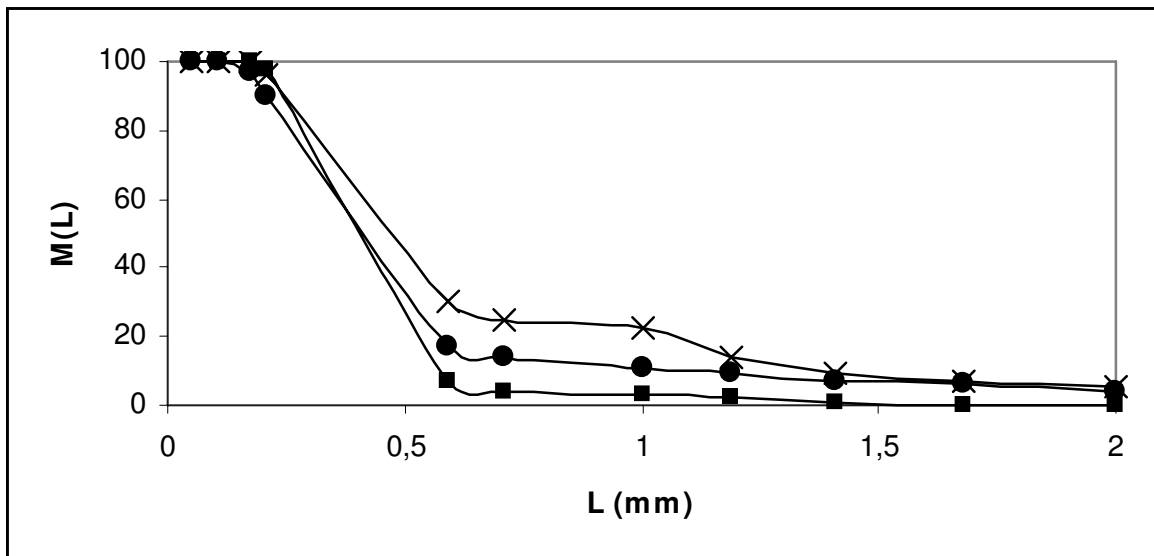


FIGURA 29. Distribuição granulométrica acumulada da recristalização do xilitol obtido a partir de meio sintético nas condições de temperatura de saturação de 30 (■), 40 (x) e 50 °C (●) com velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min.

Observa-se na FIGURA 30 que não existe linearidade para toda a distribuição granulométrica devido principalmente à alta polaridade do xilitol (presença de grupos hidroxila) produzem aglomeração dos cristais de xilitol. Segundo FERNANDEZ *et al.* (1999), os cristais de xilitol obtidos mediante cristalização possuem uma apreciável fração de aglomerados e este fato acontece geralmente quando as substâncias são cristalizadas a partir de soluções aquosas altamente concentradas.

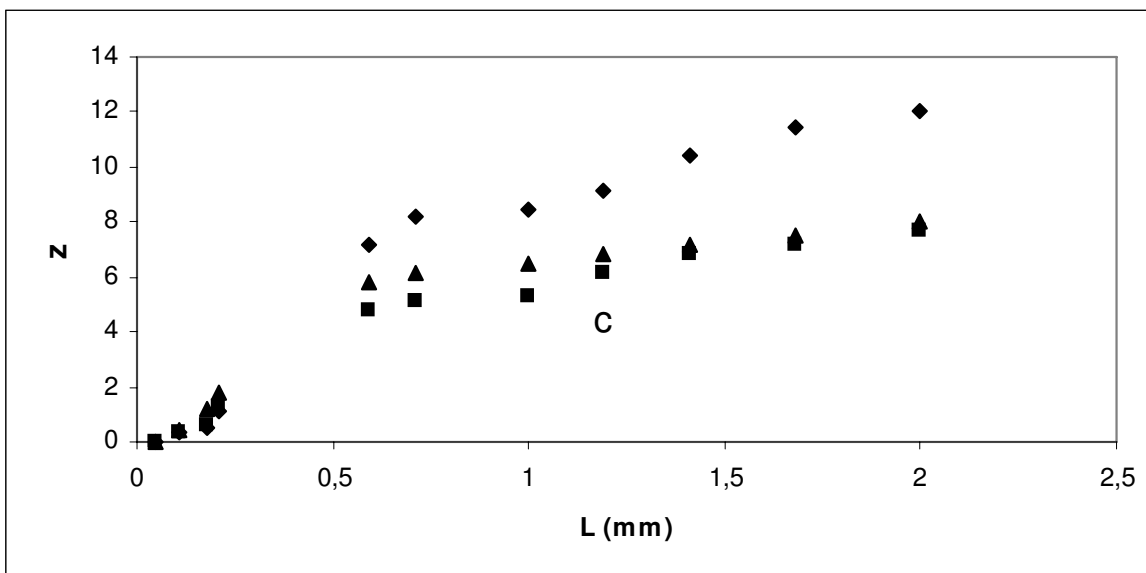


FIGURA 30. Linearização da distribuição granulométrica dos ensaios correspondentes à recristalização do xilitol obtido a partir de meio sintético nas condições de temperatura de saturação de 30 (◆), 40 (■) e 50 °C (▲) com velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min.

Na TABELA 24 estão apresentados os resultados da recristalização dos cristais xilitol obtidos a partir do xarope de xilitol obtido por fermentação de meio sintético. Pode-se constatar que, nas condições de temperatura de saturação inicial 40 e 50 °C quando comparado com o processo de cristalização de xilitol puro foram obtidas quantidades menores de massa de cristais (22,44 e 15,42 %, respectivamente). Por outro lado, houve uma diminuição do grau máximo de sub-resfriamento da solução de aproximadamente 10 e 6 °C para temperaturas de saturação de 40 e 50 °C, respectivamente.

TABELA 24. Resultados da recristalização de xilitol obtido a partir de meio sintético

$T_{\text{sat}}$ (°C)	$m_c(\text{kg}/\text{m}^3_{\text{solv}})$	$T_{\text{nucl}}$ (°C)	$T_{\text{final}}$ (°C)	$\Delta T$ (°C)
30	1800,00	7,813	-8,781	16,59
40	1359,43	26,694	15,977	10,72
50	718,54	37,618	25,892	11,73

O tamanho dominante nesta série de experimentos foi determinado utilizando-se o mesmo critério que nos ensaios de cristalização de xilitol puro. Com os parâmetros cinéticos obtidos no estudo cinético da cristalização de xilitol foi realizado o cálculo do tamanho médio calculado dos cristais de xilitol a partir de meio sintético. Na TABELA 25 encontram-se apresentados os valores dos tamanhos médios experimentais dos cristais, a velocidade de crescimento e a taxa de nucleação, o tamanho médio calculado e os erros entre os tamanhos experimental e calculado. Como se pode constatar na FIGURA 31, os parâmetros cinéticos da cristalização de xilitol puro são adequados para representar o tamanho médio dos três experimentos de cristalização com xilitol produzido a partir da fermentação de xilose pura. Os erros entre os valores calculados e experimentais estiveram, para os ensaios com temperatura de saturação de 40 e 50 °C, abaixo do valor médio dos erros obtido no estudo (11,29 %). Por outro lado, embora o ensaio realizado com temperatura de saturação de 30 °C tenha um erro maior ao valor médio ele encontra-se entre a distribuição de valores. A concentração de impurezas não teve influência significativa sobre os parâmetros cinéticos.

TABELA 25. Valores de tamanho médio experimental, velocidade de crescimento e taxa de nucleação de cristais, tamanho calculado e erro entre os tamanhos experimental e o calculado.

$T_{\text{sat}}$ (°C)	$L_m$ (mm)	$G$ (m/s)	$dN/dT$ (#/m <sup>3</sup> <sub>solvS</sub> )	$L_{\text{calc}}$ (mm)	Erro (%)
30	0,3293	$2,76 \cdot 10^{-8}$	$4,58 \cdot 10^7$	0,4016	21,96
40	0,3975	$5,15 \cdot 10^{-8}$	$3,04 \cdot 10^7$	0,3744	5,80
50	0,3263	$3,87 \cdot 10^{-8}$	$2,66 \cdot 10^7$	0,3192	2,16

Os cristais de xilitol produzidos nesta segunda etapa de cristalização a partir de *experimentos-modelo* com temperatura de saturação de 30, 40 e 50 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min apresentaram um maior grau de pureza (98,71, 99,22 e 98,49 %), valores maiores de calor de fusão (-244,95, -236,80 e -238,25 J/g) e pontos de fusão mais elevados (93,92, 94,07 e 94,08 °C), respectivamente.

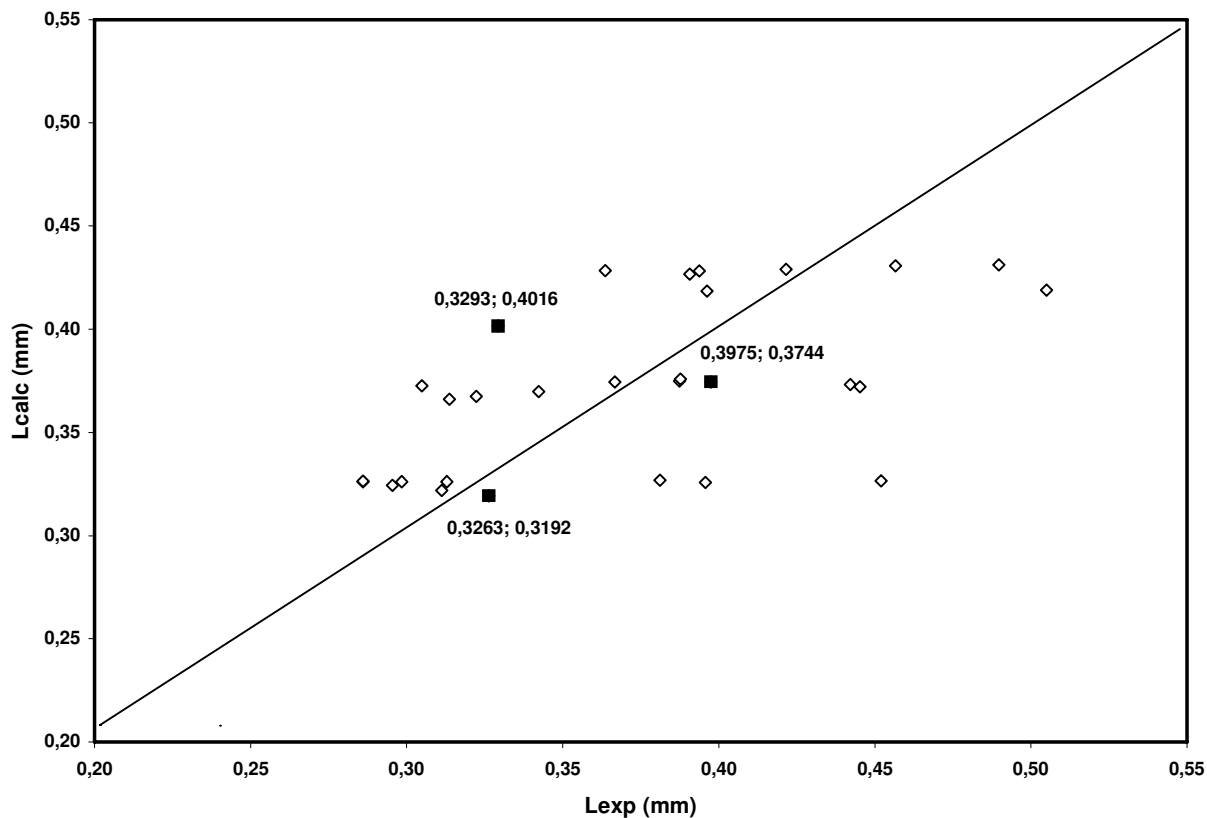


FIGURA 31. Comparação entre o tamanho dominante calculado e experimental dos experimentos realizados com xilitol puro e os três ensaios de recristalização realizados com xilitol produzido a partir da fermentação de meio sintético.

As FIGURAS 32, 33 e 34 apresentam fotografias de microscopia eletrônica de varredura dos cristais de xilitol a partir de meio sintético obtidos na segunda etapa de cristalização.

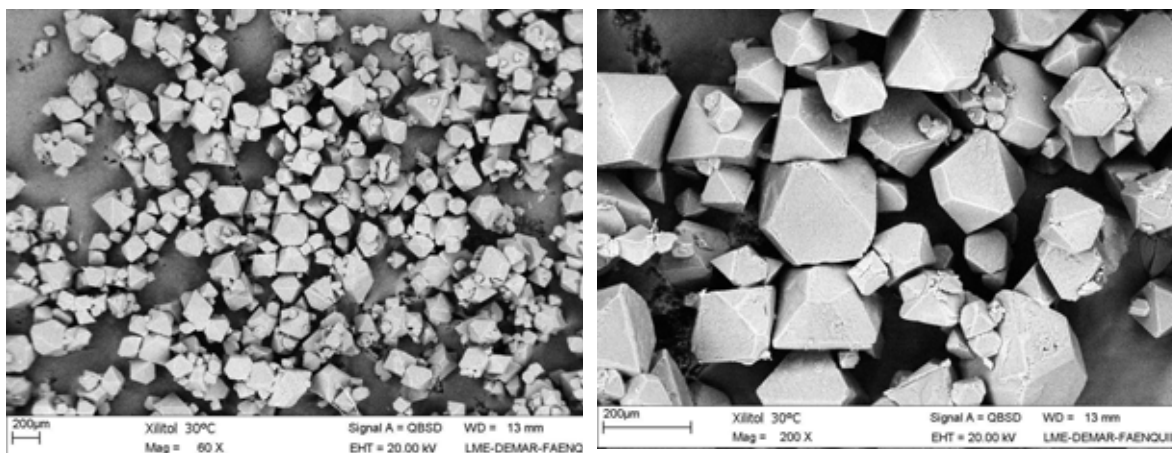


FIGURA 32. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de meio sintético a temperatura de saturação de 30 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min (60x e 200x).

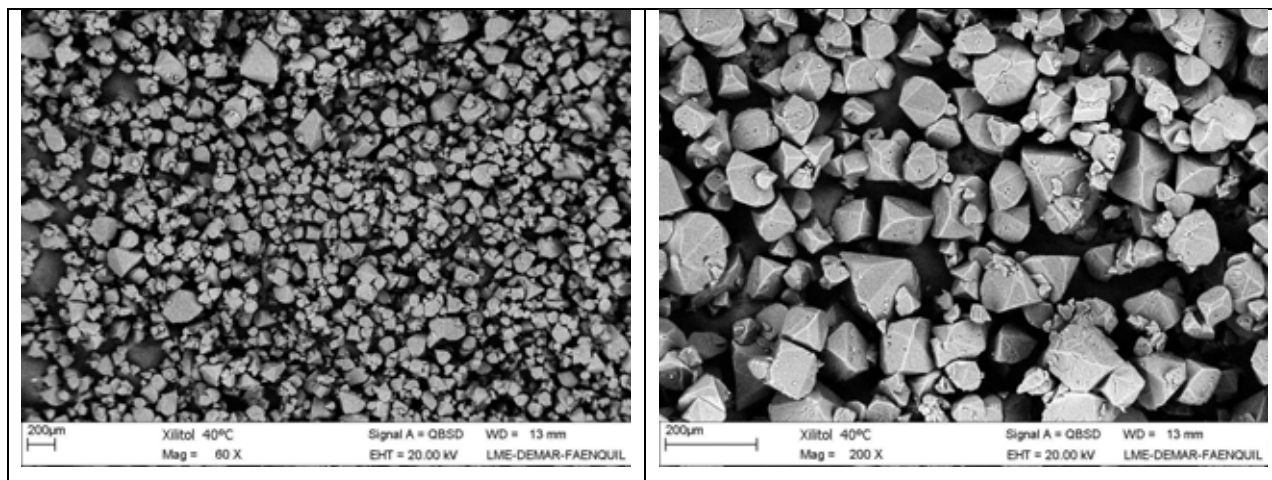


FIGURA 33. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de meio sintético a temperatura de saturação de 40 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min (60x e 200x).

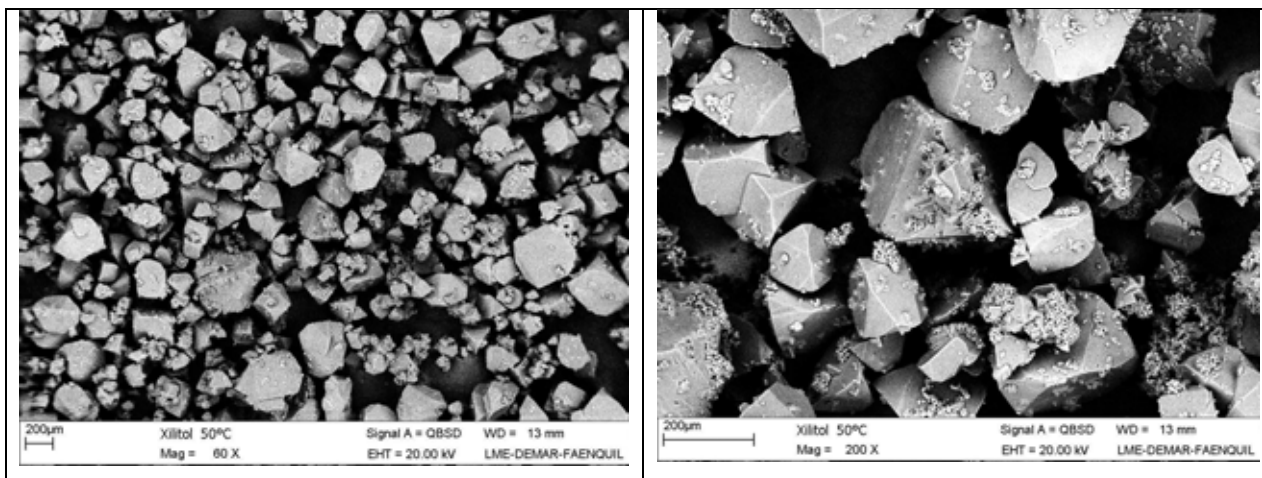


FIGURA 34. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de meio sintético a temperatura de saturação de 50 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,25 °C/min (60x e 200x).

Verifica-se que na maior parte dos ensaios obteve-se cristais hexagonais alongados assim como aglomerados de cristais, fato que acontece como foi dito anteriormente como resultado da cristalização de compostos a partir de soluções altamente viscosas. FERNANDEZ *et al.* (1999), reportaram formas similares para cristais de xilitol obtidos a partir de soluções aquo-etanólicas contendo arabitól e adonitol.

Os cristais obtidos a partir da primeira cristalização do xarope de xilitol produzido pela fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de- açúcar foram submetidos a uma segunda etapa de cristalização com o objetivo de aumentar sua pureza. Na TABELA 26 são apresentadas as distribuições granulométricas dos experimentos realizados com concentrações iniciais de xilitol correspondentes a temperaturas de saturação de 30, 40 e 50 °C e velocidades de resfriamento linear igual a 0,10, 0,25 e 0,5 °C/min. Pode-se constatar que, obteve-se nesta segunda etapa de cristalização cristais aglomerados com tamanhos

maiores que 0,5900 mm, independentemente das condições utilizadas. Este fato pode ser atribuído à impureza dos cristais os quais, mesmo após 48 horas de secagem, quando foram submetidos a peneiramento formaram aglomerados. Por isso, não foi possível realizar o cálculo da cinética de crescimento de cristais. FERNANDEZ *et al.* (1999), relatam uma diminuição significativa do grau de aglomeração dos cristais através da utilização de soluções aquosas com maior quantidade de etanol.

Na TABELA 27 apresentam-se as características dos cristais de xilitol, a partir de hidrolisado, obtidos em cada ensaio de recristalização. Como pode-se constatar, houve um aumento do grau de pureza dos cristais de xilitol de 85 % até valores entre 91,20 e 94,85 % o que se corresponde com um aumento de 6,6 a 11,2 % na pureza dos cristais nesta segunda etapa. O calor de fusão do xilitol foi favorecido pelo uso de uma menor concentração inicial de xilitol no início do processo. O aumento da velocidade de resfriamento, de maneira geral, favoreceu o aumento do calor de fusão e a diminuição da incorporação de impurezas nos cristais de xilitol.



TABELA 26. Distribuição granulométrica acumulada (% mássica) e valores de z dos experimentos de recristalização de xilitol obtido a partir de hidrolisado hemicelulósico.

T (°C)	VR (°C/min)	Abertura (mm)	0,05	0,106	0,177	0,21	0,59	0,71	1,00	1,19	1,41	1,68	2,00
30	0,10	M(L)	100	100	100	100	99,94	98,46	71,88	56,56	47,19	40,75	32,66
		z	0	0	0	0	0,3715	0,9368	2,6784	3,3658	3,8075	4,1349	4,5943
	0,25	M(L)	100	100	100	100	99,71	98,85	83,85	67,99	53,50	44,41	33,81
		z	0	0	0	0	0,5747	0,8591	2,1008	2,8541	3,5077	3,9458	4,5247
	0,50	M(L)	100	100	100	100	99,69	99,23	89,85	81,17	69,49	61,26	52,50
		z	0	0	0	0	0,5852	0,7617	1,7542	2,2387	2,7869	3,1548	3,5542
40	0,10	M(L)	100	100	100	100	99,30	95,31	71,39	58,12	47,88	40,07	28,85
		z	0	0	0	0	0,7407	1,3368	2,7007	3,2962	3,7739	4,1713	4,8378
	0,25	M(L)	100	100	100	100	99,80	99,11	88,55	75,66	57,16	43,83	32,67
		z	0	0	0	0	0,5175	0,7959	1,8358	2,5047	3,3394	3,9755	4,5938
	0,50	M(L)	100	100	100	100	99,66	97,76	74,55	55,70	38,70	30,09	19,52
		z	0	0	0	0	0,5999	1,0524	2,5561	3,4060	4,2455	4,7564	5,5582
50	0,10	M(L)	100	100	100	100	71,48	57,31	47,71	39,92	32,97	28,12	21,63
		z	0	0	0	0	2,6967	3,3236	3,7825	4,1798	4,5755	4,8873	5,3750
	0,25	M(L)	100	100	100	99,97	99,94	99,76	84,65	67,70	44,41	29,87	21,32
		z	0	0	0	0	0,3748	0,5484	2,0578	2,8536	3,9456	4,7710	5,4004
	0,50	M(L)	100	100	100	100	96,98	90,27	79,09	66,46	54,77	46,98	36,64
		z	0	0	0	0	1,1572	1,7269	2,3411	2,9224	3,4490	3,8179	4,3605

TABELA 27. Características dos cristais de xilitol do xarope obtido a partir de hidrolisado na segunda etapa de cristalização.

T (°C)	VR (°C/min)	Pureza (%)	Calor fusão (J/g)	Ponto fusão (°C)	Umidade (%)
30	0,10	92,75	-199,89	93,3	1,55
	0,25	92,85	-202,73	94,1	1,74
	0,50	91,20	-214,62	93,4	2,08
40	0,10	94,76	-182,00	92,7	2,68
	0,25	94,09	-186,18	93,8	2,40
	0,50	94,47	-194,86	92,8	2,85
50	0,10	94,85	-175,88	91,6	2,77
	0,25	92,92	-174,18	92,3	3,03
	0,50	94,17	-180,57	91,8	2,51

Uma análise cromatográfica dos cristais obtidos em cada condição foi realizada com o objetivo de verificar e quantificar as impurezas, só que a quantidade é tão pequena que não foi possível detectá-la com o aparelho utilizado.

Na TABELA 28 se apresentam a massa de cristais e as temperaturas de nucleação e final da solução em cada ensaio de recristalização dos cristais de xilitol obtidos a partir da fermentação de hidrolisado hemicelulósico. Como pode-se constatar, houve uma diminuição da massa de cristais obtidas entre 35 e 51,5 % para as condições iniciais de temperatura de saturação de 40 °C e de entre 23 e 34 % para as condições iniciais de temperatura de saturação de 50 °C quando comparados os ensaios aos realizados com xilitol puro. Por outro lado, observou-se geralmente um aumento do grau de sub-resfriamento máximo o que indica que as impurezas solúveis presentes nos cristais tornaram a zona metaestável mas larga. Segundo NÝVLT *et al.* (2001), é usualmente impossível prever o efeito de

aditivos solúveis na largura da zona metaestável. Esses autores relatam que aditivos orgânicos, especialmente polímeros solúveis alargam a zona metaestável de soluções supersaturadas. Por outro lado, aditivos inorgânicos ativos possuem a habilidade de formar complexos fortes que alargam a zona metaestável como por exemplo cátions polivalentes de metais:  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  e ânions  $\text{PO}^{3-}$ .

TABELA 28. Massa de cristais, temperaturas de nucleação e final da solução dos ensaios de recristalização de xilitol a partir de hidrolisado.

T (°C)	VR (°C/min)	$m_c$ (kg/m <sup>3</sup> <sub>solv</sub> )	$T_{\text{nucl.}}$ (°C)	$T_{\text{final}}$ (°C)
30	0,10	1067,45	2,487	-7,531
	0,25	1297,34	3,026	-7,158
	0,50	1198,41	-0,05	-5,603
40	0,10	608,88	17,233	3,911
	0,25	734,09	13,029	2,414
	0,50	827,14	10,866	3,512
50	0,10	303,82	34,940	11,020
	0,25	350,75	28,881	12,423
	0,50	308,89	27,829	12,649

As FIGURAS 35, 36 e 37 apresentam fotografias tomadas em microscópio óptico (0,10 °C/min) e microscópio eletrônico de varredura (0,25 e 0,50 °C/min) dos cristais de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico obtidos em cada condição de recristalização. Essas observações feitas em microscópio indicaram a ocorrência de aglomeração. Esses aglomerados resultam do agrupamento aleatório de cristais, que posteriormente cresceram juntos, aderindo e interpenetrando uns nos outros, criando formas irregulares. Resultados similares foram reportados por DERENZO (1994), em estudos da cristalização de ácido adípico em batelada.

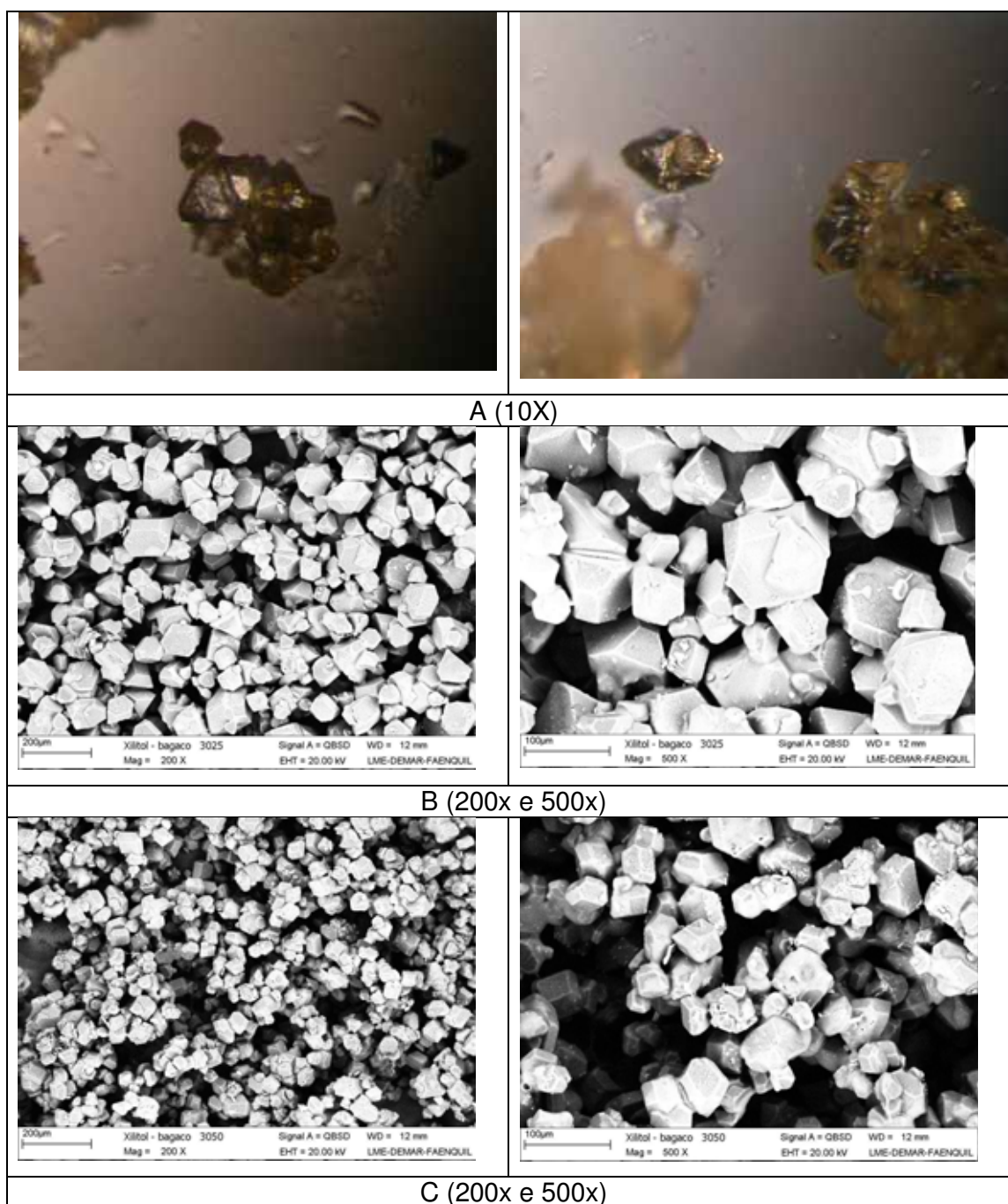


FIGURA 35. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar a temperatura de saturação de 30 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,10 (A), 0,25 (B) e 0,50 °C/min (C).

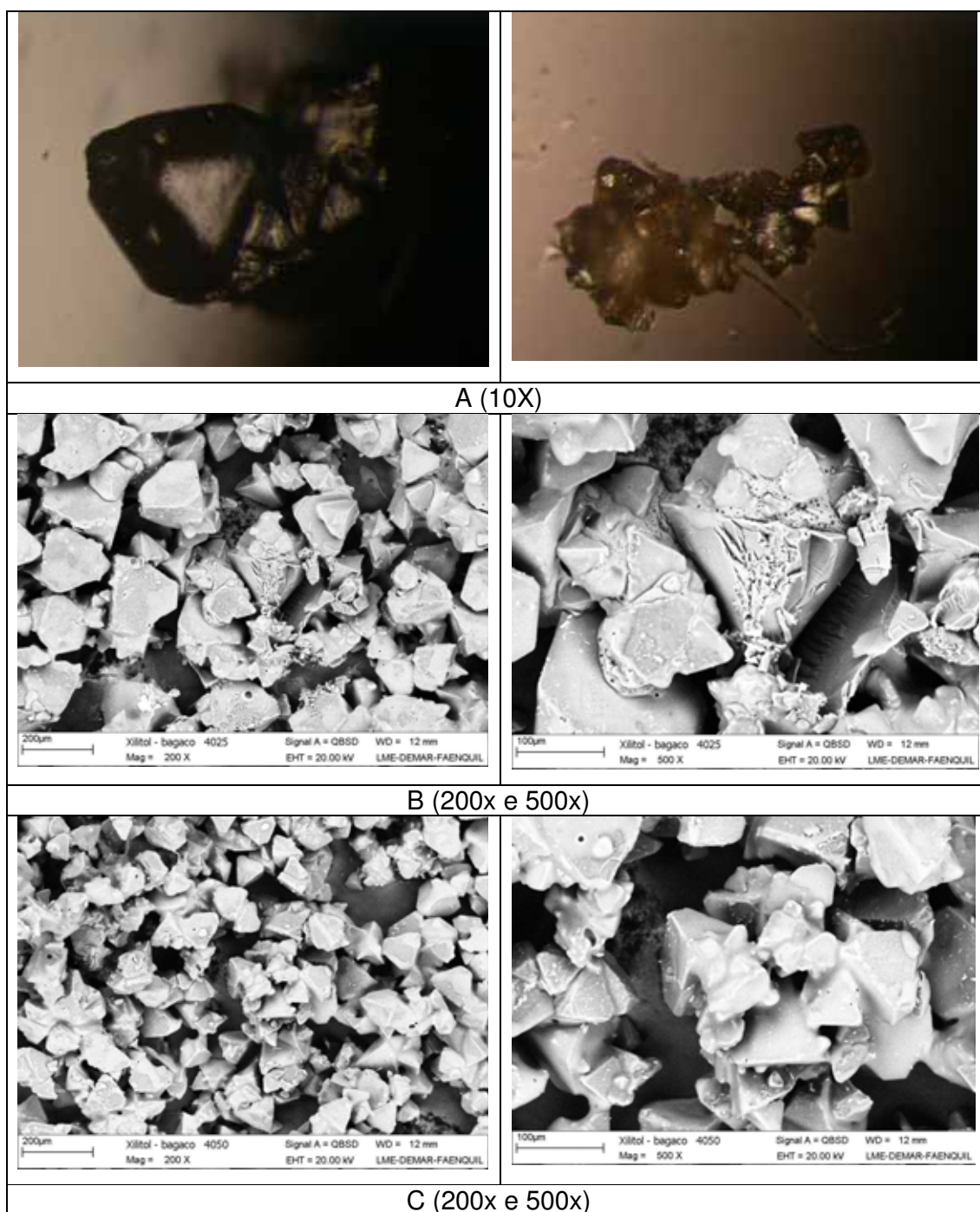


FIGURA 36. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar a temperatura de saturação de 40 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,10 (A), 0,25 (B) e 0,50 °C/min (C).

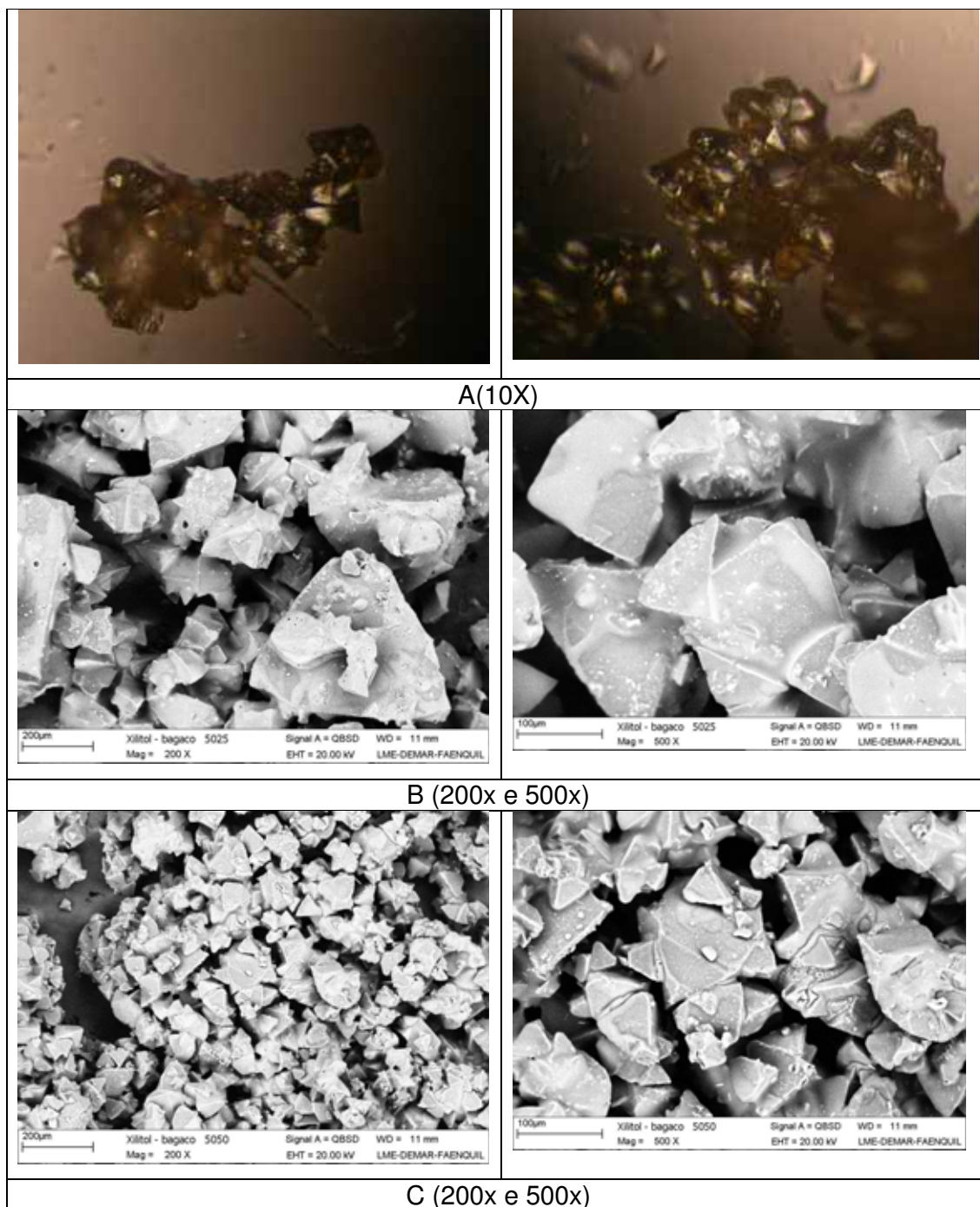


FIGURA 37. Cristais de xilitol obtidos na segunda etapa de cristalização do xilitol obtido a partir da fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar a temperatura de saturação de 50 °C e velocidade de resfriamento igual a 0,10 (A), 0,25 (B) e 0,50 °C/min (C).

### 5.8. Análise estatística dos resultados.

Os resultados experimentais referentes aos ensaios de cristalização de xilitol comercial foram também analisados estatisticamente e utilizados para estimar os efeitos principais e os efeitos das interações sobre as respostas de interesse: tamanho médio dos cristais ( $L_m$ ), velocidade de nucleação ( $G$ ) e taxa de nucleação ( $dN/dT$ ). A continuação são apresentados os resultados da análise do planejamento fatorial  $2^2$ , com ponto central com três repetições de cada condição experimental.

Análise da resposta ao tamanho médio de cristais ( $L_m$ )

A TABELA 29 apresenta a estimativa dos efeitos das variáveis temperatura de saturação e velocidade de resfriamento e suas interações sobre o tamanho médio de cristais, assim como os desvios-padrão de cada um dos efeitos.

TABELA 29. Estimativa dos efeitos sobre o tamanho médio de cristais.

Efeito	Estimativa	Desvios-Padrão
Constante	0,38847	$\pm 0,019777$
T	0,11273	$\pm 0,044155$
VR	-0,00368	$\pm 0,044155$
T x VR	0,01440	$\pm 0,044155$
Bloco	0,09356	

A TABELA 30 mostra os resultados da análise de variância para o tamanho de cristais. Para esta resposta somente a temperatura de saturação teve valor significativo ao nível de 5 % de probabilidade. O aumento da temperatura do nível

40 °C para 60 °C aumenta o tamanho de cristais em 0,11 mm, nota-se ainda um valor muito baixo de coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,5120.

Nota-se na TABELA 30 que o efeito do bloco não é significativo, fato que indica boa reprodutibilidade dos ensaios.

TABELA 30. Análise de variância com erro total para o tamanho médio de cristais.

Efeito	SQ	GL	MQ	F	p
T	0,0381264	1	0,0381264	6,52	0,0310**
VR	0,0000412	1	0,0000412	0,01	0,9349
T x VR	0,0006220	1	0,0006220	0,11	0,7518
Bloco	0,0164441	2	0,0082221	1,41	0,2943
Erro total	0,0526401	9	0,0058489		
Total	0,1078740	14			

SQ: Soma Quadrática; GL: Graus de Liberdade; MQ: Média Quadrática.

$R^2 = 0,5120$

Análise da resposta velocidade de crescimento dos cristais (G)

A TABELA 31 apresenta a estimativa dos efeitos das variáveis temperatura de saturação e velocidade de resfriamento e suas interações sobre a velocidade de crescimento dos cristais, assim como os desvios-padrão de cada um dos efeitos.

Na TABELA 32 é mostrado a análise de variância para a resposta velocidade de crescimento de cristais (G). A análise, aponta que os efeitos da variável temperatura de saturação e da interação entre a temperatura de saturação e a velocidade de resfriamento são significativas ao nível de 95 % de confiança, a velocidade de resfriamento foi significativa ao nível de probabilidade de 1 % com um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9461.



TABELA 31. Estimativa dos efeitos sobre a velocidade de crescimento dos cristais.

Efeito	Estimativa	Desvios-Padrão
Constante	4,53019	± 0,292814
T	-1,94667	± 0,653745
VR	7,64362	± 0,649697
T x VR	-1,74000	± 0,653745
Bloco	1,42000	± 0,826929

O aumento da temperatura de menor a maior nível provoca a diminuição da velocidade de crescimento em  $1,94 \cdot 10^{-8}$  m/s. Em compensação o efeito positivo da velocidade de resfriamento indica que, um aumento desta favorece a velocidade de crescimento de cristais em  $7,64 \cdot 10^{-8}$  m/s. Observa-se um efeito negativo da interação entre a temperatura de saturação e a velocidade de resfriamento (TABELA 32). Uma melhor interpretação deste efeito de interação pode ser verificada na FIGURA 38.

A análise da FIGURA 38 mostra que no nível inferior de temperatura ( $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) o aumento da velocidade de resfriamento de 0,1 para  $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , promoveu um aumento na velocidade de crescimento de cristais de  $9,31 \cdot 10^{-8}$  m/s. No maior valor de temperatura ( $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), a elevação da velocidade de resfriamento promoveu um aumento da velocidade de crescimento de cristais de  $5,82 \cdot 10^{-8}$  m/s. Por outro lado, na menor velocidade de resfriamento o aumento da temperatura provoca uma diminuição de  $0,20 \cdot 10^{-8}$  m/s em G e na maior velocidade de resfriamento o aumento da temperatura provoca uma diminuição de  $0,69 \cdot 10^{-8}$  m/s nessa resposta.

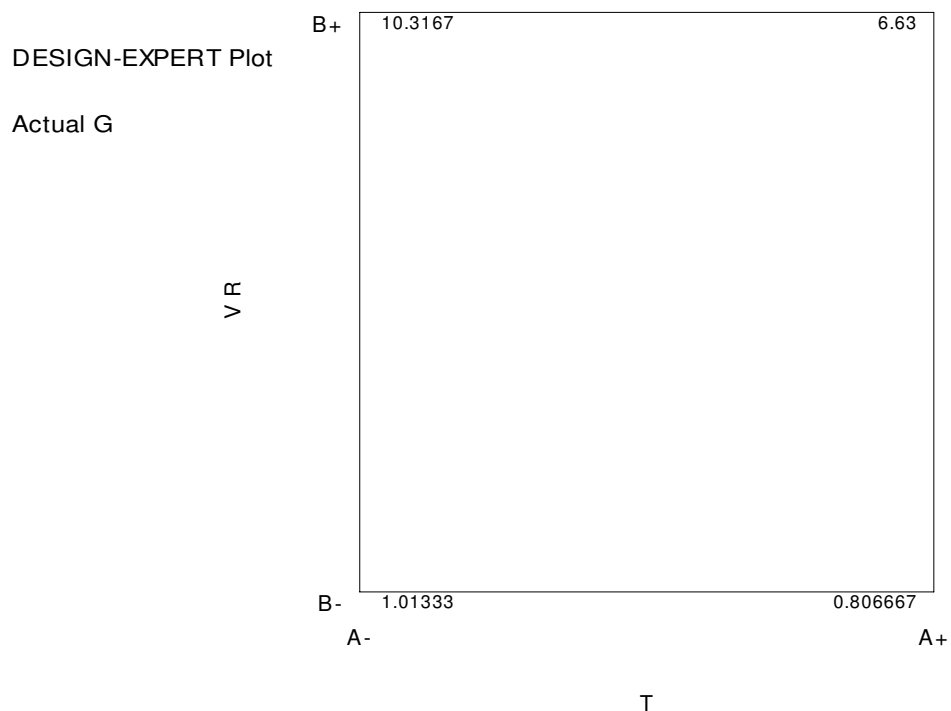


FIGURA 38. Efeito da interação dos fatores temperatura de saturação e velocidade de resfriamento sobre a velocidade de crescimento de cristais.

TABELA 32. Análise de variância com erro total para a velocidade de crescimento dos cristais.

Efeito	SQ	GL	MQ	F	p
T	11,3685	1	11,3685	8,87	0,0155
VR	177,4660	1	177,4660	138,41	0,0000
T x VR	9,0828	1	9,0828	7,08	0,0260
Bloco	4,6868	2	2,3434	1,83	0,2157
Erro total	11,5393	9	1,2822		
Total	214,143	14			

SQ: Soma Quadrática; GL: Graus de Liberdade; MQ: Média Quadrática.  
 $R^2 = 0,9461$

### Análise da resposta taxa de nucleação (dN/dT)

A TABELA 33 apresenta a estimativa dos efeitos das variáveis temperatura de saturação e velocidade de resfriamento e suas interações sobre a taxa de nucleação, assim como os desvios-padrão de cada um dos efeitos.

TABELA 33. Estimativa dos efeitos sobre a taxa de nucleação.

Efeito	Estimativa	Desvio-Padrão
Constante	40,5536	± 3,19328
T	-28,9500	± 7,12939
VR	67,2107	± 7,08524
T x VR	-29,0500	± 7,12939
Bloco	-159467	± 9,01804

A análise de variância para a resposta taxa de nucleação é mostrada na TABELA 34. Observa-se que o efeito do fator temperatura de saturação e o efeito da interação entre a temperatura de saturação e a velocidade de resfriamento foram significativos a um nível de 5 % de probabilidade e que o fator velocidade de resfriamento foi significativo a um nível de 99 % de confiança com um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9334.

O aumento da temperatura de menor a maior nível provoca a diminuição da taxa de nucleação em  $28,95 \cdot 10^6 \text{ \#/m}^3_{\text{solvs}}$ . Em compensação o efeito positivo da velocidade de resfriamento indica que, um aumento desta favorece a taxa de nucleação de cristais em  $67,21 \cdot 10^6 \text{ \#/m}^3_{\text{solvs}}$ . Observa-se um efeito negativo da interação entre a temperatura de saturação e a velocidade de resfriamento (TABELA 34). Uma melhor interpretação desse efeito de interação pode ser verificada na FIGURA 39. A análise dessa figura mostra que no nível inferior de

temperatura o aumento da velocidade de resfriamento de 0,1 para 0,5 °C/min, promoveu um aumento na taxa de nucleação de  $96,37 \cdot 10^6 \text{ \#/m}^3_{\text{solv.s}}$ . No maior valor de temperatura, a elevação da velocidade de resfriamento promoveu um aumento da resposta de  $38,27 \cdot 10^6 \text{ \#/m}^3_{\text{solv.s}}$ . Por outro lado, na menor velocidade de resfriamento o aumento da temperatura provoca um aumento de  $0,10 \cdot 10^6 \text{ \#/m}^3_{\text{solv.s}}$  na  $dN/dT$  e na maior velocidade de resfriamento o aumento da temperatura provoca uma diminuição em  $58 \cdot 10^6 \text{ \#/m}^3_{\text{solv.s}}$  nessa resposta.

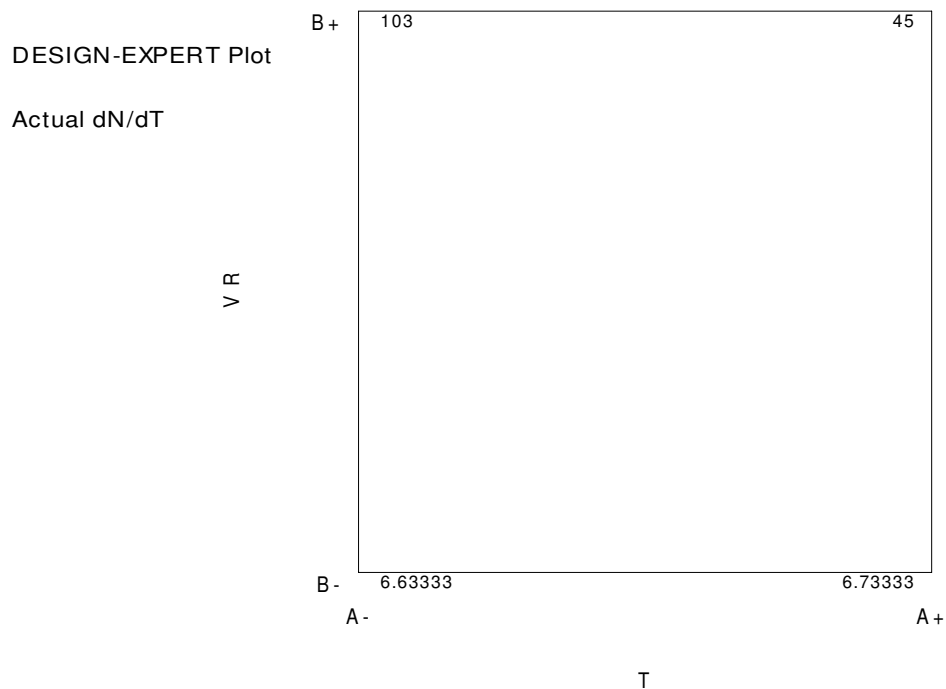


FIGURA 39. Efeito da interação dos fatores temperatura de saturação e velocidade de resfriamento sobre a taxa de nucleação de cristais.

TABELA 34. Análise de variância com erro total para a taxa de nucleação.

Efeito	SQ	GL	MQ	F	p
T	2514,31	1	2514,31	16,49	0,0028
VR	13721,20	1	13721,20	89,98	0,0000
T x VR	2531,71	1	2531,71	16,60	0,0028
Bloco	447,00	2	238,50	1,56	0,2612
Erro total	1372,36	9	152,48		
Total	20616,60	14			

SQ: Soma Quadrática; GL: Graus de Liberdade; MQ: Média Quadrática.

$R^2 = 50,83$

A fim de obter um modelo estatístico para a representação do processo foram feitos mas 4 ensaios com três repetições de acordo com um planejamento fatorial  $2^2$  completo em face centrada.

A análise estatística dos resultados obtidos através desse planejamento para a resposta tamanho médio de cristais foi efetuada, sendo que os coeficientes de regressão, erros-padrão, valores de t, níveis de significância e análise de variância dos coeficientes do modelo estão apresentados nas TABELAS 35 e 36. Pelos resultados obtidos, verificou-se que a  $T_s$  tem efeito principal significativo ao nível de 1 % de probabilidade. A validade do modelo foi verificada pela análise de regressão múltipla (TABELA 36). Através do teste F, ou seja, comparando o valor de F do modelo calculado com o tabelado, tornou-se evidente que o modelo é altamente significativo ( $p = 0,0008$ ) e que a falta de ajuste do modelo é não significativa ( $p = 0,9601$ ).

TABELA 35. Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste  $t$  de Student e nível de significância para o modelo representativo do tamanho médio de cristais de xilitol

Efeitos	Coeficientes	Erros-padrão	t	p
Constante	0,380	0,012		
T	0,055	0,014	3,79	0,0008***

\*\*\*:significativo ao nível de 1 % de probabilidade ( $t_{\text{tab}} \geq 2,479$ ).

TABELA 36. Análise de variância de regressão para o modelo representativo do tamanho médio de cristais de xilitol.

CV	SQ	GL	QM	F	p
Modelo	0,054	1	0,054	14,36	0,0008
Resíduo	0,094	25	$3,77 \cdot 10^{-3}$		
Falta de ajuste	$8,8 \cdot 10^{-3}$	7	$1,26 \cdot 10^{-3}$	0,26	0,9601
Erro puro	0,086	18	$4,75 \cdot 10^{-3}$		
Total	0,150	26			

$R^2 = 0,3649$

A análise estatística para a resposta velocidade de crescimento de cristais foi também efetuada, sendo que os coeficientes de regressão, erros-padrão, valores de  $t$ , níveis de significância e análise de variância dos coeficientes do modelo estão apresentados nas TABELAS 37 e 38. Pelos resultados obtidos, verificou-se que a  $T_s$  e a VR assim como o efeito de interação entre a T e a VR e o termo quadrático da VR tem efeito principal significativo ao nível de 1 % de probabilidade enquanto o termo quadrático da velocidade de resfriamento tem efeito principal significativo ao nível de 10 % de probabilidade, uma vez que os valores calculados de  $t$  para esses efeitos foram superiores aos valores de  $t$  tabelados.

TABELA 37. Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “Student” e nível de significância para o modelo representativo da velocidade de crescimento de cristais de xilitol

Efeitos	Coeficientes	Erros-padrão	t	p
Constante	3,80	0,38		
T	-0,87	0,25	-3,52	0,0019***
VR	3,68	0,25	14,93	0,0001***
VR <sup>2</sup>	0,85	0,46	1,85	0,0781*
T*VR	-0,92	0,30	-3,09	0,0053***

\*\*\*:significativo ao nível de 1 % de probabilidade ( $t \geq 2,479$ ).

\*: significativo ao nível de 10 % de probabilidade ( $t \geq 1,706$ ).

A análise da variância da regressão demonstra que o modelo que representa a velocidade de crescimento de cristais de xilitol é significativo ao nível de 99 % de confiança ( $p \leq 0,01$ ), e consegue estimar 92,17 % da variância em função do valor de T, VR, da interação entre T e VR e do termo quadrático da VR (TABELA 38).

TABELA 38. Análise de variância de regressão para o modelo representativo da velocidade de crescimento de cristais de xilitol.

CV	SQ	GL	QM	F	p
Modelo	283,72	1	70,93	64,76	0,0001
Resíduo	24,10	25	1,10		
Falta de ajuste	0,54	7	0,13	0,10	0,9803
Erro puro	23,56	18	1,31		
Total	307,82	26			

$R^2 = 0,9217$

Com base nos resultados obtidos, considerando os termos significativos, e com auxílio da metodologia de superfície de resposta, obteve-se um modelo matemático para representar a resposta velocidade específica de crescimento de cristais (equação 29):

$$y = 3,80 - 0,87*A + 3,68*B + 0,85*B^2 - 0,92*A*B \quad (29)$$

onde: y representa o valor previsto para G ( $*10^{-8}$  m/s), e A e B os níveis codificados para a T e a VR, respectivamente.

De acordo com o gráfico de superfície de resposta (FIGURA 40) pode-se constatar que o máximo valor de velocidade de crescimento (G) de  $10 \cdot 10^{-8}$  m/s poderia ser alcançado nessa região.

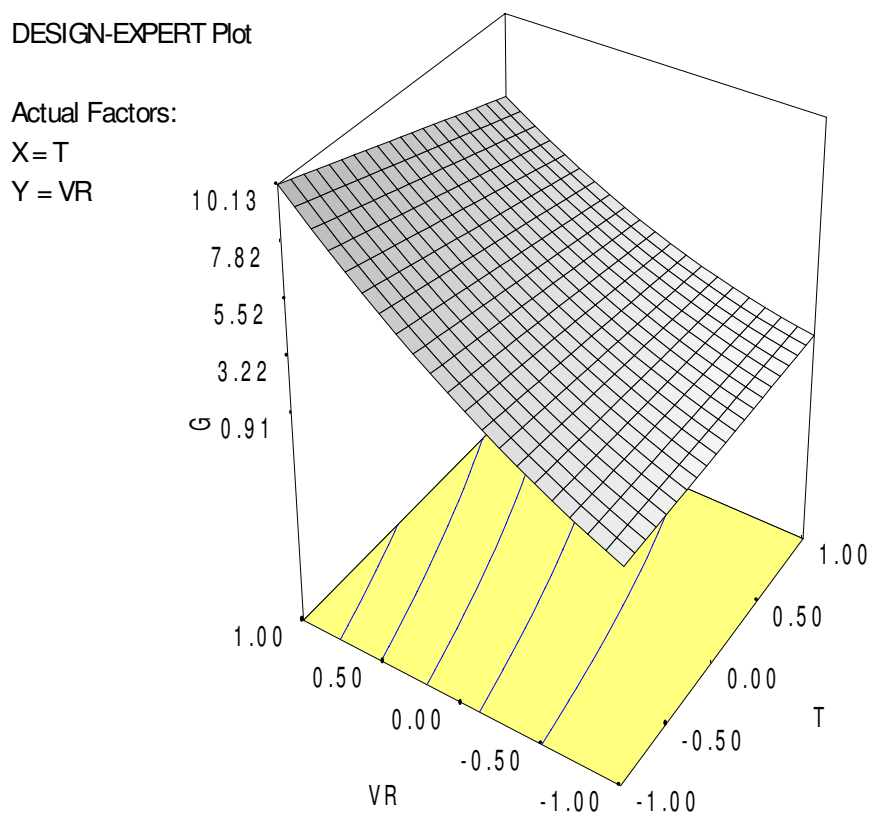


FIGURA 40. Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto, que representa a velocidade de crescimento de cristais de xilitol.

A análise estatística dos resultados para a resposta taxa de nucleação de cristais foi efetuada, sendo que os coeficientes de regressão, erros-padrão,



valores de t, níveis de significância e análise de variância dos coeficientes do modelo estão apresentados nas TABELAS 39 e 40. Pelos resultados obtidos, verificou-se que a T e a VR, assim como o efeito da interação entre a T e a VR tem efeito principal significativo ao nível de 1 % de significância, uma vez que os valores calculados de t para estes feitos foram superiores aos valores de t calculados (TABELA 39).

TABELA 39. Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “Student” e nível de significância para o modelo representativo da taxa de nucleação de xilitol.

Efeitos	Coeficientes	Erros-padrão	t	p
Constante	36,68	2,64		
T	-12,43	3,23	-3,85	0,0008***
VR	31,45	3,18	9,89	0,0001***
T*VR	-15,01	3,89	-3,85	0,0008***

\*\*\*:significativo ao nível de 1 % de probabilidade ( $t \geq 2,479$ ).

TABELA 40. Análise de variância de regressão para o modelo representativo da velocidade específica de nucleação de cristais de xilitol.

CV	SQ	GL	QM	F	p
Modelo	23184,99	1	7728,33	41,60	0,0001
Resíduo	4273,29	25	185,80		
Falta de ajuste	890,44	7	178,09	0,95	0,4747
Erro puro	3382,85	18	189,94		
Total	27458,28	26			

$R^2 = 0,8444$

A análise da variância da regressão demonstra que o modelo que representa a velocidade de crescimento de cristais de xilitol é significativo ao nível de 99 % de confiança ( $p \leq 0,01$ ), e consegue estimar 84,44 % da variância em função do valor

de T, VR e da interação entre T e VR (TABELA 40). Constata-se que, a falta de ajuste não apresenta significância estatística.

Com base nos resultados obtidos, considerando os termos significativos, e com auxílio da metodologia de superfície de resposta, obteve-se um modelo matemático para representar a resposta taxa de nucleação de xilitol (equação 30):

$$y = 36,68 - 12,43*A + 31,45*B - 15,01*A*B \quad (30)$$

onde: y representa o valor previsto para  $dN/dT$  ( $*10^6 \text{ \#/m}^3_{\text{solvs}}$ ), e A e B os níveis codificados para a T e a VR, respectivamente.

De acordo com o gráfico de superfície de resposta (FIGURA 41) pode-se constatar que o máximo valor de  $dN/dT$  de  $95,57 \cdot 10^6 \text{ \#/m}^3_{\text{solvs}}$  poderia ser alcançado nessa região.

Observa-se na FIGURA 42 a região definida pela superposição das curvas de nível estimadas pelos modelos que descrevem as respostas: tamanho médio dos cristais, velocidade de crescimento e taxa de nucleação. Os máximos valores de velocidade de crescimento ( $9,50 \cdot 10^{-8} \text{ m/s}$ ) e de taxa de nucleação ( $89,88 \cdot 10^6 \text{ \#/m}^3_{\text{solvs}}$ ) podem ser obtidos pelo uso de menor nível de temperatura de saturação inicial da solução e maior nível de velocidade de resfriamento linear. Nesta condição são obtidos cristais de xilitol com tamanho médio igual a 0,33 mm.

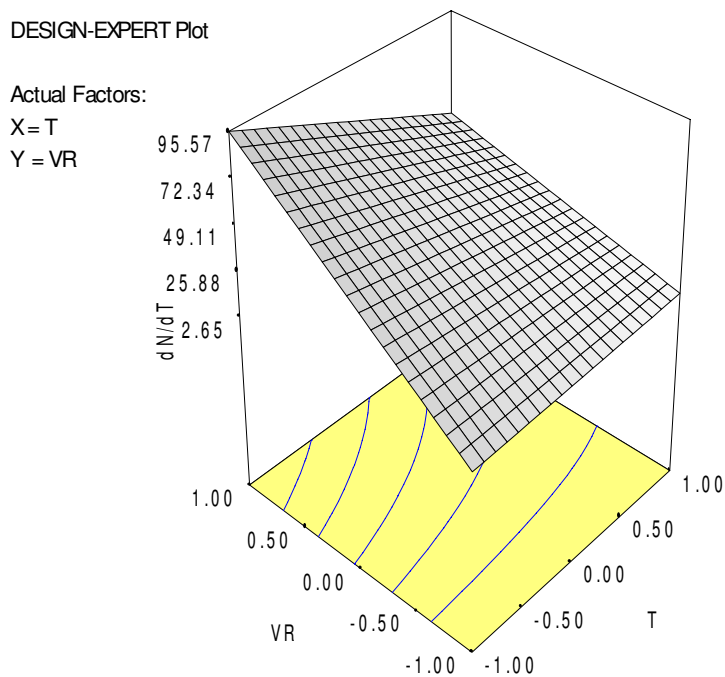


FIGURA 41. Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto, que representa a taxa de nucleação de xilitol.

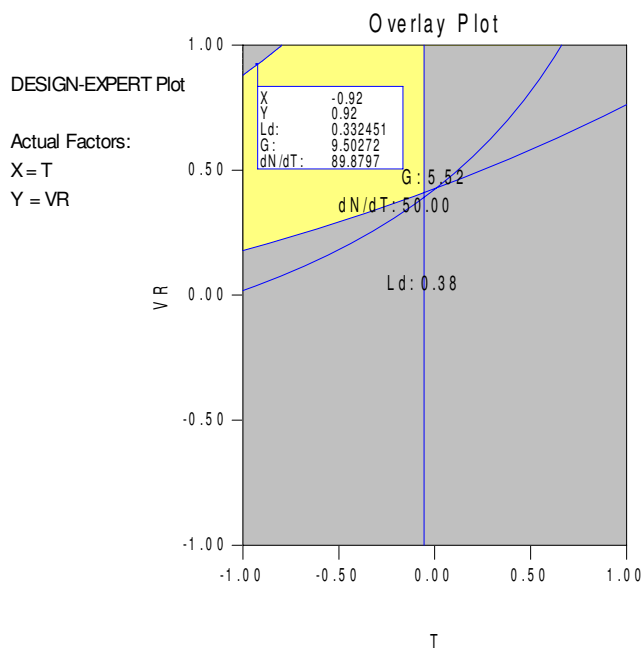


FIGURA 42. Superposição das curvas referentes aos modelos que descrevem as variações das respostas velocidade de crescimento, taxa de nucleação e tamanho médio de cristais.

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram concluir que:

- O processo de purificação de hidrolisado hemicelulósico de cana-de-açúcar mediante o uso de resinas de troca iônica forneceu um licor rico em xilose (177,8 g/L de xilose e 2,10 g/L de glicose).
- O processo de fermentação de meio sintético e de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar realizado em escala de 15 L permitiu obter produtividades volumétricas iguais a 0,665 e 0,601 g/L.h e fatores de rendimento em xilitol a partir de xilose iguais a 0,7024 e 0,8549 g/g após 92 horas de fermentação, respectivamente.
- O processo de cristalização pode ser utilizado para realizar a separação de xilitol a partir da fermentação de meio sintético e de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar.
- O estudo cinético do processo de cristalização de xilitol como função da temperatura de saturação e da velocidade de resfriamento permitiu a obtenção de parâmetros de modelagem que torna possível a estimativa de tamanhos dominantes de cristais a partir de diferentes condições experimentais. Com esta metodologia obtiveram-se parâmetros cinéticos, adoptando-se o expoente  $c$  nulo:  $B_N(2,26 \cdot 10^{-16})$ ,  $m(3,44)$ ,  $n(2,44)$ ,  $g(2,44)$  e  $g/n(1)$ .
- A metodologia de superfície de resposta permitiu encontrar um modelo matemático representativo do efeito da temperatura de saturação e da velocidade de resfriamento sobre o processo de cristalização de xilitol em água-etanol para as respostas velocidades específicas de

crescimento e de nucleação de cristais, explicando até 92,17 e 84,44 % da variância, respectivamente.

## 7. RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para complementar este estudo dando continuidade ao processo tecnológico de produção de xilitol por via fermentativa, são sugeridos:

- Realizar o processo de fermentação em escala de 15 litros com uma maior concentração inicial de células para aumentar a produtividade do processo de bioconversão.
- Realizar o processo de fermentação com menor concentração de extrato de farelo de arroz.
- Estudar o processo de purificação do xarope de xilitol obtido a partir de hidrolisado hemicelulósico mediante o uso de membranas de ultrafiltração.
- Realizar o estudo da solubilidade do xilitol em outros solventes e misturas de solventes.
- Implementar um método para a determinação da concentração de impurezas no xarope de xilitol obtido a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar.
- Realizar estudos cinéticos de cristalização de xilitol com outros solventes, e verificar se o modelo obtido se adapta ao sistema.
- Realizar o estudo do efeito da agitação na cinética de cristalização de xilitol.
- Realizar o estudo da influência da concentração de arabinose e arabitól na cinética de cristalização de xilitol em água-etanol.
- Realizar a análise da viabilidade econômica da tecnologia de produção de xilitol por via fermentativa.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- ADA REPORTS. Position of the American Dietetic Association: Use of nutritive and nonnutritive sweeteners. Journal of the American Dietetic Association, v.104, p.255-275, 2005.
- AFFLECK, R. P. Recovery of xylitol from fermentation of model hydrolysates using membrane technology. State University of Virginia, 2000. 104p. (Thesis of Master of Science)
- 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.
- AGUIRRE-ZERO, D., ZERO, D.T., PROSKIN, H. M. Effect of chewing xylitol chewing gum on flow rate and the acidogenic potencial of dental plaque. Caries Research, Basel, h. 27, p. 55 - 59, 1993.
- ALVES, L.A.; FELIPE, M.G.A., ALMEIDA e SILVA, J.B., SILVA, S.S. Pretreatment of sugar cane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. Applied Biochemistry and Biotechnology, v.70-72, p.89-98, 1998.
- AMINOFF, C., VANNINEN, E., DOTY, T.E. The occurrence, Manufacture and Propierties of Xylitol. In COUNSELL, J.N., ed. Xylitol, London. Applied Science Publishes Ltda, 1978. p 1-9.
- APEL, M-R. ALFONS, GEORG ROSSIER, M-K. Preparation of stable polyol solutions and the resulting product. US Patent 2,917,390. Dec. 15, 1959.
- AROCHE, Y.O. Estudios de purificación de hidrolizados hemicelulósicos de bagazo de caña de azúcar para la obtención de xilitol por via biotecnológica. Universidad de La Habana, Facultad de Farmácia y Alimento, 77p, 2000 (Tesis de Maestria).
- BADET, M. C., RICHARD, B., DORINACX, G. An study of pH-lowering potential of salivary lactobacilli associated with dental caries. Journal of Applied Microbiology, v.90, p.1015-1018, 2001.

- 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 which affect xylitol yield in *Candida guilliermondii*. Journal of Industrial Microbiology, v.3, p.241-251, 1988.
- BARNETT, J.A. The utilization of sugars by yeasts. Advances in Carbohydrates Chemistry and Biochemistry, New York, v. 32, p. 125-234, 1976.
- BARROS-NETO, B., SCARMINIO, I. S., BRUNS, R. E. Planejamento e Otimização de Experimentos, UNICAMP, Campinas, 1995. 299p.
- BARTOLOMEW, W.H., KAROW, E.A, SAFT, M.R., WIHLEM, R.H. Industrial Chemical Engineering, v.42, p.1801, 1950.
- BELTER, P., CUSSLER, E.L., HU, W. Bioseparation Downstream Process for Biotechnology. John Wiley & Sons, 1988. 368p.
- BISWAS, S., VASHISHTHA, N. Xylitol: Technology & Bussines Opportunities. Chemical Engineering World, v. 33, n. 1, p.103-08, 1998.
- BISARIA, V. S., GHOSE, T.K. Biodegradation of cellulosic materials: substrates, microorganisms, enzyme and products. Enzyme and Microbial Technology, v.3, p.90-104, 1981.
- BOWYER, J. L. Environmental implications of wood production in intensively managed plantations. Wood and Fiber Science, v.33, n.3, p.318-333, 2001.
- BOX, G. E. P, HUNTER, W. G., HUNTER, J. S., Statistics for Experimenters. An introduction to Design, Data Analysis, and Model Building, John Wiley & Sons, 1978. 653p.
- CANILHA, L., ALMEIDA e SILVA, J. B., SOLENZAL, A. I. N. Eucalyptus hydrolysate detoxification with activated charcoal adsorption or íon-exchange resins for xylitol production. Process Biochemistry, v.39, p.1909-1912, 2004.
- CARVALHEIRO, F., DUARTE, L. C., LOPES, S., PARAJO, J. C., PEREIRA, H., GIRIO, F. M. Evaluation of the detoxification of brewery's spent grain hydrolysate for xylitol production by *Debaryomyces hansenii* CCMI 941. Process Biochemistry, v.40, p.1215-1223, 2005.



- CCC (Calorie Control Council), Benefits of Using Low-Calories Sweeteners, The role of Low-Calories Sweeteners in Weigth Control, 1999. <http://caloriecontrol.org/benefit.html>
- CONVERTI, A., PEREGO, P., DOMINGUEZ, J. M. Xylitol production from hardwood hemicellulosic hydrolysates by *Pachysolen tannophilus*, *Debaryomyces hansenii* e *Candida guilliermondii*. Applied Biochemistry and Biotechnology, v.82, p.141-151, 1999.
- 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.1861-1865, 2000.
- CHEN, W. P., ANDERSON, . Extraction for ryegrass straw for the production of glucose-isomerase and use of the resting straw residue for animal feed. Biotechnology and Bioengineering, v.22, p.519-531, 1980.
- CHIPARUS, O. I., CHEN, Y. An image method to evaluate bagasse fiber dimensions. Bioresource Technology, v.90, p.305-309, 2003.
- CHUNG, I. S., LEE, Y. Y., Ethanol fermentation of crude acid hydrolysate of cellulose using high-level inocula. Biotechnology and Bioengineering, v. XXVII, p.308-315, 1985.
- CRUZ, J.M., DOMINGUEZ, J. M., DOMINGUEZ, H., PARAJÓ, J. C. Preparation of fermentation media from agricultural wastes and their bioconversion into xylitol. Food Biotechnology, v.14, n.1-2, p.79-97, 2000.
- CRUZ, J.M., DOMINGUEZ, H., PARAJÓ, J. C. Anti-oxidant activity of isolates from acid hydrolysates of *Eucalyptus globulus* wood. Food Chemistry, v.90, p.503-511, 2005.
- CURTAYRES, D. D. S. Dental caries and sugar substitutes. Dental Hygiene, April 1980.
- D'ALMEIDA, M. L. O. Composição Química dos Materiais Lignocelulósicos. In: Celulose e Papel-Tecnología de Fabricação da Pasta Celulósica. São Paulo: SENAI/IPT, v.2, p.45-106, 1988.
- DECHOW, F.J. Separation and Purification Techniques in Biotechnology. Noyes Publications, New Jersey, 1989. 490p.

- DE DARDEL, F., ARDEN, T.V. Ion Exchangers Principles and applications. Rohm and Haas, p.393-459, 1989.
- De FAVERI, D., PEREGO, P., CONVERTI, A., Del BORGHI, M. Xylitol recovery by crystallization from synthetic solutions and fermented hemicellulose hydrolysate. Chemical Engineering Journal, v.90, p.291-98, 2002.
- De FAVERI, D., TORRE, P., PEREGO, P., CONVERTI, A. Optimization of xylitol recovery by crystallization from synthetic solutions using response surface methodology. Journal of Food Engineering, v.61, p.407-412, 2004.
- DELER, M. L. R., NAPOLES, A. I. S., VILLARREAL, M. L. M., MARTINEZ, E. A, MANGANELLY, E. S., GONZALEZ, M. B., Obtención de xilitol a partir de hidrolizados de bagazo de caña. CubaAzúcar , v.XXIX, n.1, p.21-24. 2000.
- DERENZO, S. Estudo da cristalização de ácido adípico em batelada, por resfriamento e em escala de laboratório. EPUSP, São Paulo, 1994. 162p. (Dissertação de Mestrado).
- DERENZO, S. Estudo da cristalização do ácido adípico em diversos solventes. Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2003. 181p. (Tese de Doutorado).
- DIAZ, E. Tecnología de producción de azúcares blancas de caña de azúcar. Tomo I, p.294-297. 1989.
- DIZ, J. CRUZ, J. M., DOMINGUEZ, H., PARAJO, J. C. Eucalyptus. Food Technology Biotechnology, v.40, n.3, p.191-97, 2002.
- DOMÍNGUEZ, J.M., GONG, C.S., TSAO, G.T. Pretreatment of sugar cane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by yeast. Applied Biochemistry and Biotechnology. v. 57/58, p. 49-56, 1996.
- DOMINGUEZ, J. M., CAO, N., GONG, C. S., TSAO, G. T. Dilute acid hemicellulosic hydrolysates from corn cobs for xylitol production by yeast. Bioresourse Technology, v.61, p.85-90, 1997.
- DUES, A., MULLATI, R., EDEBO, L., TAHERZADEH, M. J. Ethanol production from hexoses, pentoses and dilute-acid hydrolysates by *Mucor indicus*. FEMS Yeast Research, v.5, p.669-676, 2005.
- DUFFY, V.B., ANDERSON, G.H. Use of nutritive and nonnutritive sweeteners – Position of ADA. Journal of American Diet Association, v. 98, p.580-87, 1998.

- du PREZZ, J. C, MEYER, P. S., KILIAN, S. G. The effect of mixtures of acetic acid and d-xylose on the growth rate of *Candida blankii*. Biotechnology Letters, v. 13, n.1, 1991.
- 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.1071-1078, 1984.
- DYER, M.J., HUDSON M.J., WILLIAMS P.A. Ion Exchange Processes: Advances and Applications. Royal Society of chemistry, Cambridge, 1993, 371p.
- EMODI, A. Xylitol its properties and food applications. Food Technology, p.28-32 jan., 1978.
- FELIPE, M. G. A. Obtenção de xilitol por fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. São Paulo, USP/Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 1994. 141p. (Tese de Doutorado).
- FELIPE, M. G. A., MANCILHA, I. M., VITOLLO, M., ROBERTO, I. C., SILVA, S. S., ROSA, S. A. Preparação de xilitol por fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. Arquivos de Biologia e Tecnologia, v. 36, n.1, p.103-14, 1993.
- FELIPE, M.G. A., VIERA, D.C.; VITOLLO, 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, n.3, p.171-177, 1995.
- FELIPE, M.G. A., VITOLLO, M., MANCILHA, I. M. Fermentation of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate for xylitol production: Effect of aeration and inoculum adaptation. Acta Biotechnologica, v.16, n.1, p.73-79, 1996.
- FELIPE, M. G. A.; ALVES, L. A.; SILVA, S. S.; ROBERTO, I. C.; MANCILHA, I. M.; ALMEIDA E SILVA, J. B., Fermentation of eucalyptus hemicellulosic hydrolysate to xylitol by *Candida guilliermondii*. Bioresource Technology, v.56, p.281-283, 1996a.
- FELIPE, M.G. A., VITOLLO, M.; MANCILHA, I. M.; SILVA, S. S. Fermentation of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate for xylitol production: Effect of pH. Biomass and Biengineering, v.13, n.1/2, p.11-14, 1997.

- FENGEL, D., WENEGER, G. Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Berlin: Walter de Gruyter, New York, 1989. 613p.
- FERNANDEZ, C., AVELINO, A, FARELO, F. Crystallization of xylitol from hydro-alcoholic solutions containing arabitol and adonitol. In: 14<sup>TH</sup> INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON INDUSTRIAL CRYSTALLIZATION. 12-16 september, University of Cambridge, 1999.
- FUNK, H. F. Recovery of pentoses and hexoses from wood and others materials containing hemicellulosic and further processing of C<sub>5</sub> and C<sub>6</sub> components. Applied Polymer Symposium, v. 28, p. 145-152, 1975.
- GARSDIE, J., MERSMANN, A., NÝVLT, J. Measurement of crystal growth rates. s.l., European Federation of Chemical Engineering, 1990. 191p.
- GIULIETTI, M., SECKLER, M., DERENZO., S., RÉ, M.I., CESINSKI,, E. Industrial crystallization and precipitation from solutions: state of the technique. Brazilian Journal of Chemical Engineering, v.18, n.4, p.423-440, 2001.
- GONG, C.; CHEN, L.F.; TSAO, G.T. Quantitative production of xylitol from D-xylose by a high xylitol producing yeast mutant *Candida tropicalis* HXP2. Biotechnology Letters, v.3, n.3, p. 125-130, 1981.
- GONG, C. S., CHEN, C. S., CHEN, L. F. Pretreatment of sugar cane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by yeast. Applied Biochemistry and Biotechnology, v. 39/40, p. 83-88, 1993.
- GRENBY, T. H., COLLEY, J. Dental effects of xylitol compared with other carbohydrates and polyols in the diet of laboratory rats. Archives of Oral Biology, v.28, n.8, p.745-758, 1993.
- GROOTJEN, D. R. J., van der LANDS, R. G. M., LUYBEN, K. Ch. A. M. Conversion of glucose/xylose mixtures by *Pichia stipitis* under oxygen-limited conditions. Enzyme Microbial and Technology, v.13, p.648-54, 1991.
- GURGEL, P. V., MANCILHA, I. M., PEÇANHA, R. P., SIQUEIRA, J. F. M. Xylitol recovery from fermented sugarcane bagasse hydrolysate. Bioresource Technology, v.52, p.219-223, 1995.
- FRAZER, F. R., McCASKEY, T. A., Wood hydrolysate treatments for improved fermentation of wood sugars to 2,3-butanediol. Biomass, v.18, p.31-42, 1989.

- GUZMAN, P. Especialista San Marco Corporation, Cuba. Información Personal, 1999.
- HAHN-HÄGERDAL, B., JEPSSON, H., SKOOG, K., PRIOR, B. A. Biochemistry and physiology of xylose fermentation by yeasts. Enzyme Microbiology and Technology, v. 16, nov., p. 933-943, 1994.
- HARLAND, C.E. Ion exchange: theory and practice. 2<sup>nd</sup> The Royal Society of Chemistry. 1994, 285 p. ISBN 0-85186-484-8.
- HEIKKILÄ, H., HYRÖKY, G., RAHKILA, L., SARKKI, L., VILJAVA, T. A. Process for the simultaneous production of xylitol and ethanol. Patente WO 91/10740. 25 July 1991.
- HEIKKILÄ, H., NUMI, J., RAHKILA, L., SARKKI, L., TÖYRYLA, M. Method for the production of xylitol from mixtures containing xylose. Patente WO 90/08193. 15/01/1990.
- HEIKKILÄ, H., NURMI, J., RAHKILA, L., TOYRYLA, M. Method for the production of xylitol. Patente 5.081.026. Jan. 14, 1992.
- HEIKKILÄ, H., PUUPPO, O., TYLLI, M., NIKANDER, H., NYGRÈN, J., LINDROOS, M., EROMA, O-P. Method for producing xylitol. Patente WO97/49659, 23 June 1997.
- HEIKKILÄ, H., NYGRÈN, J., SARKKI, M-L., GROS, H., EROMA, O-P., PEARSON, J., PEPPER, T. Crystallization of xylitol, crystalline xylitol product and use thereof. Patente WO 99/59426, 17 May 1999.
- HERRERA, A., TÉLLEZ-LUIS, S. J., GONZÁLEZ-CABRALES, J. J., RAMÍREZ, J. A., VÁZQUEZ, M. Effect of hydrochloric acid concentration on the hydrolysis of sorghum straw at atmospheric pressure. Journal of Food Engineering, v.63, p.103-109, 2004.
- HERRERO, A. A., GOMES, R. F., SNEDECOR, B., TOLMAN, C. J., ROBERTS, M. F. Growth inhibition of *Clostridium thermocellum* by carboxylic acids: A mechanism based on uncoupling by weak acids. Applied Microbiology and Biotechnology, Berlin, v. 22, p. 53-62, 1985.

- HON, DAVID. N.-S., SHIRAISHI, N. Wood and Cellulose Chemistry, Marcel Dekker, New York, 1991. 1020p.
- HONIG, P. Principios da la Tecnología Azucarera. Tomo I, p.173-185. 1969. Compañía Editorial Continental
- HYVÖNEN, L., KOIVISTOINEN, P., VOIROL, F. Food technological evaluation of xylitol. Advances in Food Research, v.28, p.373-403, 1982.
- ICIDCA, Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar, Imprenta MINAZ, 2000. 458p.
- IRANMANHOOB, J., NADIM, F., MONEMI, S. Optimization acid-hidrolysis: A critical step for production of ethanol from mixed wood chips. Biomass and Bioengineering, v.22, p.401-404, 2002.
- IWATA, C., NAKAGAKI, H., MORITA, I., SEKITA, 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.
- JAFFE, G.M., SZKRYBALO, W., WEINERT, P.H. Process for producing xylose. Patent. US3.784.408. Dep. 16/9/70. Publ. 08/01/74.
- JEFFRIES, T.W. Utilization of xylose by bacteria, yeasts and fungi. Advances in Biochemical Engineering, New York, v. 27, p.1-32,1983.
- JEFFRIES, T. W. Emerging technology for fermenting D-xylose. Trends in Biotechnology, v. 3, n. 8, 1985.
- JEFFRIES, T. W., JIN, Y.-S. Metabolic engineering for improved fementation of pentoses by yeast. Applied Microbiology and Biotechnology, v.63, p.495-509, 2004.
- KRISTIAN, E., JUHA, N., OLLI-PEKKA, E. Method for recovering an organic compound from solutions. Patente US5980640, 9 november 1999.
- KUHAD, R. C., SINGH, A., Lignocellulose biotechnology: current and future prospects. Critical Reviews in Biotechnology, Cleveland, v.13, n.2, p.151-172, 1993.

- LADISCH, M. R., Fermentable sugars from cellulosic residues. Process Biochemistry, v.14, n.1, p.21-5, 1979.
- LAGUERIE, C. Curso de cristalização industrial. São Paulo, IPT, 1991.
- LARSSON, S., QUINTANA-SÁINS, A., REIMANN, A., NILVERBRANT, N-O., JÖNSSON, L. J. Influence of lignocellulosic-derived aromatic compounds on oxygen-limited growth and ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. Applied Biochemistry and Biotechnology, v.84-86, p.617-632, 2000.
- LARSSON, S., REIMANN, A., NILVEBRANT, N-O., JÖNSSON, L.J. Comparison of different methods for detoxification of lignocellulosic hydrolysates of spruce. Applied Biochemistry Biotechnology, v.77-79, p.91-103, 1999.
- Le DUY, A., ZAJIC, J. E. A geometrical approach for differentiation of an experimental function at a point: Applied to growth and product formation. Biotechnology and Bioengineering, v.15, n.4, p.805-815, 1973.
- LEE, W. G., LEE, J. S., SHIN, C. S., PARK, S. C., CHANG, H. N., CHANG, Y. K. Ethanol production using concentrated oak wood hydrolysates and methods to detoxify. Applied Biochemistry and Biotechnology, v.77-79, p.547-559, 1999.
- LEE, Y. Y., McCASKEY, T. A. Hemicellulose hydrolysis and fermentation of resulting pentoses to ethanol. Tappi Journal, v.66, n.5, p.102-107, 1983.
- LIDE, D. R., MILNE, G. W. A. Properties of organic compounds. CRC Press, Boca Raton, 1996. CD-ROM.
- LIGTHELM, M. E., PRIOR, B. A., du PREEZ, J. C. The oxygen requeriments of yeasts for the fermentation of D-xylose and D-glucose to ethanol. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 28, p. 63-68, 1988.
- LON'JONES, A. H. The next step in infectious disease: taming bacteria. Medical Hypotheses, v.60, n.2, p.171-174, 2003.
- MACEDO, I. C. Greenhouse gas emissions and energy balances bio-ethanol production and utilization in Brazil. Biomass and Bioenergy, v. 14, n.1, p.77-81, 1998.

- MADDOX, I. S., MURRAY, A. E. Production of n-butanol by fermentation of wood hydrolysate. Biotechnology and Bioengineering, v.5, n.3, p.175-8, 1983.
- MAGUIRE, A., RUGG-GUNN, A. J. Xylitol and caries prevention is it a magic bullet?. British Dental Journal, v.194, p.429-436, 2003.
- MÄKINEN, K. K. Xylitol and oral health. Advances in Food Research, v.25, p.137-158, 1979.
- MÄKINEN, K. K. Can the pentitol-hexitol theory explain the clinical observations made with xylitol?. Medical Hypothesis, v.54, p.603-613, 2000.
- MARTINEZ, E.A. Estudo de parâmetros do sistema contínuo de produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. FAENQUIL-DEBIQ, Lorena-SP. 1999. 98p. (Dissertação de mestrado).
- MARTINEZ, 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.
- MARTINEZ, E. A., 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.84/86, p.633-641, 2000.
- MARTINEZ, E. A., VILLARREAL, M., ALMEIDA e SILVA, J. B., SOLENZAL, A I. N., CANILHA, L., MUSSATTO, S.I. Uso de diferentes materias primas en la producción biotecnológica de xilitol. Ciencia y Tecnologia Alimentaria, v.3, n.5, p.295-301, 2002.
- MARTINEZ, E. A., SILVA, S. S, ALMEIDA E SILVA, J. B., 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.1677-1683, 2003.
- 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. FAENQUIL, 2002. (Tese de Mestrado).



- MARTON, J. M., FELIPE, M. G. A, ALMEIDA E SILVA, J. J., SILVA, S. S. Importance of pretreating sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate with activated charcoal for xylitol production. In: BRAZILIAN MEETING ON CHEMISTRY OF FOODS AND BEVERAGES, São Carlos, SP, 1-3 Dec., 2000. Anais.
- MELAJA, A. J., HÄMÄLÄINEN, L. Process for making xylitol. US Patent 4.008.285. Dep. 18/6/75. Publ. 15/02/77.
- MIKOLLA, J-P. Hydrogenation of xylose to xylitol over Raney-Nickel catalyst-towards na improved production technology. Faculty of Chemical Engineering, Abo Akademi. 1999. (Tese de doutorado).
- MOMMAERTS G. J. Introduction to Íon Exchange. 17p. Íon Exchange Services, Canadá.
- 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.673-686, 2005.
- MOLWITZ, M., SILVA, S. S., RIBEIRO, J. D., ROBERTO, I. C., FELIPE, M. G. A., PRATA, A. M. R., MANCILHA, I. M. Aspects of the cell grown of *Candida guilliermondii* in sugar cane bagasse hydrolysate. Z. Naturforsch, 51c, 1996.
- MORITA, T. A. Estudo da produção de xilitol em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar: Efeito do pH e da Aeração. FAENQUIL-DEBIQ, Lorena-SP. 1998. (Dissertação de mestrado).
- MOSIER, N., WYMAN, C., DALE, B., ELANDER, R., LEE, Y. Y.HOLTZAPPLE, M., LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. Bioresourse Technology, v.96, p.673-686, 2005.
- MULLIN, J.W. Crystallization, Fourth Edition, Butterworth-Heinemann, Oxford, 2001. 594p.
- MUSSATO, S. I. Influência do tratamento do hidrolisado hemicelulósico de palha de arroz na produção de xilitol por *C. guilliermondii*. FAENQUIL, 2002. (Tese de Mestrado).

- MUSSATTO, S.I., ROBERTO, I. C. Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolysates for use in fermentative process: a review. Bioresource technology, v.93, p.1-10, 2004.
- MUSSATTO, S.I., ROBERTO, I. C. Kinetic behavior of *Candida guilliermondii* yeast during xylitol production from highly concentrated hydrolysate. Process Biochemistry, v.39, p.1433-1439, 2004.
- 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.590-596, 2004.
- NÁPOLES, I., LOPEZ-PLANES, R. Propiedades y empleo del bagazo. Hidrólisis y tratamientos químicos a los materiales celulósicos. Editorial Científico-Técnico. 1987.
- NÁPOLES, I., SILVA, S. S., MANCILHA, I. M., FELIPE, M. G. A., ACOSTA, E., VILLA, P., CEPERO, I., GONZÁLEZ, M., MANGANELLY, E. Application of ion-exchange resins to upstream processing of sugar cane bagasse hydrolysate for its utilization in bioprocesses. In: 2<sup>ND</sup> EUROPEAN SYMPOSIUM ON BIOCHEMICAL ENGINEERING SCIENCE. Porto, Sep., 1998.
- 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.615-628, 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.
- NIGAM, J. N. Ethanol production from wheat straw hemicellulosic hydrolysate by *Pichia stipitis*. Journal Biotechnology, v.87, p.17-27, 2001.
- NIMZ, H. H., CASTEN, R. Chemical processing of lignocellulosics. Holz als Roh- und Werkstoff, v.44, p.207-12, 1986.
- NODA, F., HAYASHI, K., MIZUNUMA, T. Influence of pH on inhibitory activity of acetic acid on osmophilic yeast used in brine fermentation of soy sauce.

- Applied and Environmental Microbiology, Washington, v. 43, n. 1, p. 245-46, 1982.
- NOLLEAU, V.; PREZIOSI-BELLOY, L.; NAVARRO, J.M. The reduction of xylose to xylitol by *Candida guilliermondii* and *Candida parapsilosis*: Incidence of oxygen and pH. Biotechnology Letters, v. 17, n. 4, p. 417-422, 1995.
- NOTHENBERG, M. Polióis adoçam a boca e amarguram o bolso. Química e Derivados, Setembro, 1994.
- NÝVLT, J. Solid-liquid equilibria, Elsevier, Amsterdam, 1977.
- NÝVLT, J., HOSTOMSKY, J., GIULIETTI, M. Cristalização, IPT/SP, Editora da UFSCar, 2001. 160p.
- NÝVLT, J., SOHHEL, O., MATUCHOVA, M., BROUL, M. The kinetics of industrial crystallization. Praga, 1985. 350p.
- OJAMO, H., YLINEN, L., LINKO, M. Process for the preparation of xylitol from xylose by culturing *Candida guilliermondii*. US Patent WO 88/05467, 1988.
- PALMAROLA-ANDRADOS, B., CHOTEBORSKÁ, P., GALBE, M., ZACCHI, G. Ethanol production from non-starch carbohydrates of wheat bran. Bioresource Technology, v.96, p.843-850, 2005.
- PALMQVIST, E., HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. Bioresource Technology, v.74, p.25-33, 2000.
- PARAJÓ, J.C., DOMINGUEZ, H., DOMINGUEZ, J. M. Xylitol production from *Eucalyptus* wood hydrolysates extracted with organics solvents. Process Biochemistry, v. 32, n.7, p.599-604, 1997.
- PARAJÓ, J. C., DOMINGUEZ, H., DOMINGUEZ, J. M. Improved xylitol production with *Debaryomyces hansenni* Y-7426 from raw or detoxified wood hydrolysates. Enzyme and Microbial Technology, v.21, p.18-24, 1997a.
- PARAJÓ, J.C., DOMINGUEZ, H., DOMINGUEZ, J. M. Biotechnological production of xylitol. Part 1: Interest of xylitol and fundamentals of its biosynthesis. Bioresource Technology, v.65, p.191-201, 1998a.

- PARAJÓ, J.C., DOMINGUEZ, H., DOMINGUEZ, J. M. Biotechnological production of xylitol. Part 3: Operation in culture media made from lignocelulosic hydrolysates. Bioresource Technology, v.66, p.25-40, 1998b.
- PARAJÓ, J.C.; ALONSO, J.L.; SANTOS, V. Kinetics of eucalyptus wood fractionation in acetic acid-HCl-water media. Bioresource Technology, v.51, p.153-162, 1995.
- PESSÕA, A. Cana-de-açúcar. <http://www.mre.gov.br/cdbrasil/itamaraty/web/port/economia/agric/producao/cana/index.htm>, 1999.
- PESSOA Jr., A.; MANCILHA, I.M.; SATO, S. Acid hydrolysis of hemicellulose from sugarcane bagasse. Brazilian Journal of Chemical Engineering, v.14, p.291-297, 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 Biotechnology, v.57/58, p. 423-430, 1996.
- PIMENTEL, D. Limits of Biomass Utilization. Encyclopedia of Physical Science and Technology, Third Edition. Academic Press. 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.124-129, 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.187-198, 2004.
- REIMANN, C., WELTER, K., WITTLICH, P., WILLKE, T., VORLOP, K-D. Bioconversion of renewable resources. In: Sustainable Agriculture for Food, Energy and Industry Strategies, Towards Achievement, v. 1. BASSAM, N. EL., BEHL, R\_K., PROCHNOW, Science Publishers, 1998. 652p.
- 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.271-5, 1991.

- ROBERTO, I.C., MANCILHA, I. M., SOUZA, C. A., FELIPE, M. G. A., SATO, S., CASTRO, H. F. Evaluation of rice straw hemicellulosic hydrolysate in the production by *C. guilliermondii*. Biotechnology Letters, v.16, n.11, p.1211-1216, 1994.
- ROBERTO, I. C., MUSSATO, S. I., RODRIGUES, R. C. L. B. Dilute-acid hydrolysis for optimization of xylose recovery from rice straw in a semi-pilot reactor. Industrial Crops and Products, v.17, p.171-176, 2003.
- ROBERTO, I. C.; SILVA, S. S.; FELIPE, M. G. A.; MANCILHA, I. M.; SATO, S. Bioconversion of rice straw hemicellulose hydrolysate for the production of xylitol. Applied Biochemistry and Biotechnology, v.57/58, p.339-347, 1996.
- RODRIGUES, R. C. L. R., FELIPE, M. G. A., ALMEIDA E SILVA, J. B., VITOLO, M., GOMEZ, P. The influence of pH, temperature and hydrolysate concentration on the removal of volatile and nonvolatile compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate treated with charcoal before or after vacuum evaporation. Brazilian Journal of Chemical Engineering, v.18, n.3, p.299-311, 2001.
- ROSEIRO, J. C., PEITO, M. A., GIRIO, F. M., AMARAL-COLLAÇO, M. T. The Effects of the oxygen transfer coefficient and substrate concentration on the xylose fermentation by *Debaromyces hansenii*. Archives of Microbiology, Berlin, v.165, p.484-490, 1991.
- SAHA, B. C. Hemicellulosic bioconversion. Journal of Industrial Microbial Biotechnology, v.30, p.279-291, 2003.
- SAHA, B.C., BOTHAST, R.J. Enzymes in Lignocellulosic Biomass Conversion, p.46-56. In: Fuels and Chemicals from Biomass. Saha, B.C., Woodward, J., A.C.S. 1997. 356p.
- 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.355-360, 1997.
- 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.673-679, 2004.

- SANROMAN, M. A., DOMINGUEZ, H., NUÑEZ, M. J., LEMA, J. M. Xylitol. Un alcohol con futuro. Afinidad, XLVIII Julio-agosto, 1991.
- SANTANA, J., SOUZA, S. O. Subprodutos da cana de açúcar. Informe Agropecuário, v. 10, p.22, 1984.
- SANTOS, J. C., CONVERTI, A., CARVALHO, W., MUSSATO, S. I., SILVA, S. S. Influence of aeration rate and carrier concentration on xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate in immobilized-cell fluidized bed reactor. Process Biochemistry, v.40, p.113-118, 2005.
- SAWADA, K. Mechanisms of Crystal Growth of Ionic Crystals in Solution. In: Crystallization Processes. OHTAKI, H. Ed. Wiley1998, 208p.
- SCHEEL, H.J. Historical aspects of crystal growth technology. Journal of Crystal Growth, v.211, p.1-12, 2000.
- SENE, L., CONVERTI, A., ZILLI, M., FELIPE, M. G. A., SILVA, S. S. Metabolic study of the adaptation of the yeast *C. guilliermondii* to sugar cane bagasse hydrolysate. Applied Microbiology Biotechnology, v.57, p.738-743, 2001.
- 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.; ROBERTO, I. C.; FELIPE, M. G. A.; MANCILHA, I. M. Batch fermentation of xylose for xylitol production in a stirred tank bioreactor. Process Biochemistry, v.31 n.6, p.549-553, 1996.
- SILVA, S. S. & AFSCHEAR, A. S. Microbial production of xylitol from D-xylose using *Candida tropicalis*. Bioprocess Engineering, v.11, p.129-134, 1994.
- SILVA, S. S. Produção de xilitol por via biotecnológica: Estudo de sistema de bioreatores e parâmetros fermentativos. São Paulo, USP, 1994. 219p. (Tese de Doutorado).
- SILVA, S. S., QUESADA-CHANTO, A., VITOLO, M. Up stream parametres affecting the cell growth and xylitol production by *Candida guilliermondii* FTI 20037. Zeitschrift Naturforschung, 52c, p. 359-363,1997.

- SILVA, S. S.; FELIPE, M. G. A., MANCILHA, I. M. Factors that affect the biosynthesis of xylitol by xylose-fermenting yeasts. Applied Biochemistry and Biotechnology, v.70-72, 1997a.
- SINGH, A., MISHRA, P. Microbial Pentose Utilization. Current Applications in Biotechnology. Elsevier, 1995. 401p.
- SJOSTROM, E., ALLEN, R. Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping, and Papermaker. Springer Series in Woods Science, 1998. 316p.
- SLININGER, P.J.; BOLEN, P.L.; KURTZMAN, C.P. *Pachysolen tannophilus*: Properties and process consideration for ethanol production from D-xylose. Enzyme and Microbial Technology, v.9, p. 5-15, 1987.
- SUN, Y., CHEN, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. Bioresource Technology, v.83, p.1-11, 2002.
- SUN, J. X., SUN, X. F., ZHAO, H., SUN, R. C. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. Polymer Degradation and Stability, v.84, p.331-339, 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, X. F., XU, F., SUN, R. C., WANG, Y. X., FOWLER, P., BAIRD, M. S. Characteristics of degraded lignins obtained from steam exploded wheat straw. Polymer Degradation and Stability, v.86, p.245-56, 2004.
- SZWARC, A. Perspectivas para o mercado de álcool no Brasil. In: FÓRUM PERMANENTE DE ENERGIA, UNICAMP, Campinas, 05 out 2004.
- TAYLOR, K. B., BECK, M. J., HUANG, D. H., SAKAI, T. T. The fermentation of xylose: Studies by carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Journal of Industrial Microbiology, Amsterdam, v. 16, p. 29-41, 1990.
- UHARI, M., KONTIOKARI, T., KOSKELA, M., NIEMELA, M. Xylitol chewing-gum in prevention of acute otitis media: Double blind randomized trial. British Medical Journal, v.313, n.7066, p.1180-1183, 1996.

- UHARI, M., KONTIOKARI, T., NIEMELA, M. A Novel use of xylitol sugar in preventing acute otitis media. Pediatrics, v.42, n.4, p.879-884, Part 1, 1998.
- UHARI, M., TAIPIAINEN, T., KONTIOKARI, T. Xylitol in preventing acute otitis media. Vaccine, v.19, p.s144-s147, 2001.
- ULLMANN'S ENCYCLOPEDIA OF INDUSTRIAL CHEMISTRY, Sixth Edition. SUGAR ALCOHOLS-Xylitol. Electronic Release. 1998.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, OFFICE OF FEDERAL ACTIVITIES. January 1995. Pollution Prevention-Environmental Impact Reduction Checklists for Forestry Activities. EPA No. 68-W2-0026. <http://earth2.epa.gov/oeca/ofa/pollprev.html>.
- van ROSMALEN, S., BRUINSMA, D., KRAMER, H., BERMINGHAM, S., WITKAMP, G., DERENZO, S., GIULIETTI, M., SECKER, M. M., RE, M. I., CEKINSKI, E. Industrial Crystallization and Precipitation, IPT-TU DELFT, 2003. (Apostila do Curso de Cristalização Industrial).
- van ZYL, C., PRIOR, B. A., du PREEZ, J. C. Acetic acid inhibition of D-xylose fermentation by *Pichia stipitis*. Enzyme Microbiology Technology, v. 13, January, 1991.
- van ZYL, C., PRIOR, B. A., du PREEZ, J. C. Production of ethanol from sugar cane bagasse hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*. Applied Biochemistry and Biotechnology, v.17, p.357-69, 1988.
- VANDESKA, E., AMATEY, S., KUZMANOVA, S., JEFFRIES, T. Effects of environmental conditions on production of xylitol by *Candida boidinii*. World Journal Microbiology & Biotechnology, v. 11, 1995.
- VOGUEL, A. Análise Orgânica Quantitativa, Rio de Janeiro. Ao livro Técnico S.A., v.3, 1971. 876p.
- VYGLAZOV, V.V. Kinetics characteristics of xylitol crystallization from aqueous-ethanolic solutions. Russian Journal of Applied Chemistry, v.77, p.26-29, 2004.
- VYGLAZOV, V. V., KHOL'KIN, Y. I. Solubility in the system xylitol-ethanol-water and certain properties of saturated solutions. Zhurnal Prikladnoi Khimii, v.57, n. 7, p.1651-1654, 1984.



- WEATHERLEY, L. R. Engineering Process for Bioseparations. Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford, 1994. 296p.
- WEBB, S.R., LEE, H. Regulation of xylose utilization by hexoses in pentose-fermenting yeasts. Biotechnology Advances, Oxford, v.8, p. 685-697, 1990.
- WHEELWRIGHT, S. M. Designing downstream processes for large-scale protein purification, Bio/Technology, v.5, p.789-793, 1987.
- WINKELHAUSEN, E., KUZMANOVA, S. Microbial conversion of D-xylose to xylitol. Journal of Fermentation and Bioengineering, v.86, n.1, p.1-4, 1998.
- WISNIAK, J., HERSKOWITZ, M., STEIN, S. Hydrogenation of xylose over platinum group catalysts. Industrial Engineering Chemistry, Production Research Development, v. 13, n. 4. 1974.
- WOLFROM, M. L., KOHN, E. J. Crystalline xylitol. Journal of the American Chemical Society, v. 64, n. 19, p.1739, 1942.
- ZALDIVAR, J., MARTINEZ, A., INGRAM, L. O. Effect of alcohol compounds found in hemicellulosic hydrolysate on growth and fermentation of ethanogenic *escherichia coli*. Biotechnology Bioengineering, v.68, p.524-530, 2000.
- YAHASHI, Y., HORITSU, H., KAWAI, K., SUZUKI, T., TAKAMIZAWA, K. Production of xylitol from D-xylose by *C. tropicalis*: the effect of D-glucose feeding. Journal of Fermentation and Bioengineering, v.81, n.2, p.148-152, 1996.
- YLIKARI, R. Metabolic and nutritional aspects of xylitol. Advances in Food Research, v.25, p. 159-180, 1979.

TABELA A.1. Resultados da fermentação de xilose por *Candida guilliermondii* FTI 20037 na produção de xilitol em reator de 15 L.

t (h)	Xilose (g/L)	Xilitol (g/L)	Células (g/L)	pH
0	87,51	0	0,25	5,08
10	79,29	6,97	2,08	3,85
24	60,30	17,40	3,12	4,85
36	46,10	29,42	3,53	4,55
48	31,44	41,67	3,99	4,36
60	17,20	53,38	4,43	4,14
72	5,75	60,78	5,00	3,92
84	0,92	63,18	6,43	3,11
91	0,76	61,20	7,05	2,93

TABELA A.2. Resultados da primeira fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar por *Candida guilliermondii* FTI 20037 na produção de xilitol em reator de 15 L.

t (h)	Xilose (g/L)	Arabinose (g/L)	Xilitol (g/L)	Células (g/L)	pH
0	82,06	6,09	0	0,24	5,01
12	76,95	6,09	6,84	2,02	4,13
24	64,47	5,81	14,56	2,76	4,51
36	56,55	5,51	21,44	2,81	4,46
48	37,38	5,30	22,30	3,66	4,43
60	65,30	5,25	30,64	3,79	4,33
72	31,11	5,03	41,65	3,93	4,24
84	22,80	4,69	48,01	4,08	4,11
96	15,25	4,68	55,25	4,52	4,01
108	8,87	4,34	59,73	5,03	3,98
120	4,37	3,75	62,17	5,55	3,90
132	2,09	2,39	63,05	6,15	3,52

Tabela A.3. Resultados da segunda fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar por *Candida guilliermondii* FTI 20037 na produção de xilitol em reator de 15 L.

t (h)	Xilose (g/L)	Arabinose (g/L)	Xilitol (g/L)	Células (g/L)	pH
0	88,95	9,25	0	0,26	5,15
16	85,53	9,22	4,49	1,87	3,91
25	72,58	8,18	9,33	2,34	4,88
40	62,77	7,66	18,31	2,63	4,55
48	59,67	6,16	18,64	2,79	4,41
64	49,94	7,11	36,40	3,27	4,31
72	42,46	6,41	39,67	3,29	4,11
88	27,01	5,01	41,14	3,69	4,03
95	18,47	4,15	49,76	3,77	3,94
116	9,28	4,27	66,74	4,64	3,63
140	1,34	2,31	67,80	4,67	2,58

TABELA A4. Índices de refração (IR) das soluções com diferentes concentrações de xilitol em água a 70 °C.

Cxil (%)	IR	IR	IR
0	1,3247	1,3244	1,3244
10	1,3404	1,3404	1,3409
20	1,3553	1,3551	1,3553
30	1,3704	1,3705	1,0710
40	1,3898	1,3900	1,3900
50	1,4054	1,4055	1,4056
60	1,4236	1,4237	1,4237
70	1,4438	1,4439	1,4438
80	1,4607	1,4608	1,4608
87	1,4757	1,4757	1,460

TABELA A5. Índices de refração (IR) e solubilidade do xilitol  $S_{XOH}$  (g xilitol/100 g solução) em função da temperatura.

T (°C)	IR				
10	IR	1,4116	1,4117	1,4114	1,4114
	$S_{XOH}$	53,19	53,24	53,07	53,07
20	IR	1,4268	1,4269	1,4270	1,4269
	$S_{XOH}$	61,61	61,66	61,72	61,66
30	IR	1,4356	1,4355	1,4361	1,4356
	$S_{XOH}$	66,37	66,32	66,64	66,37
40	IR	1,4498	1,4501	1,4502	1,4502
	$S_{XOH}$	73,87	74,02	74,08	74,08
50	IR	1,4544	1,4544	1,4545	1,4545
	$S_{XOH}$	76,25	76,25	76,30	76,30
60	IR	1,4685	1,4685	1,4684	
	$S_{XOH}$	83,40	83,40	83,35	

TABELA A6. Índices de refração (IR) das soluções com diferentes concentrações de xilitol em água-etanol (50-50 %) a 60 °C.

Cxil (%)	IR				
0	1,3463	1,3463	1,3464	1,3463	1,3463
10	1,3578	1,3577	1,3578	1,3578	1,3580
20	1,3728	1,3722	1,3722	1,3722	1,3725
30	1,3835	1,3834	1,3831	1,3830	1,3829
40	1,3971	1,3970	1,3970	1,3971	1,3971
50	1,4129	1,4126	1,4128	1,4124	1,4130
60	1,4287	1,4295	1,4294	1,4292	1,4296
70	1,4473	1,4483	1,4488	1,4486	1,4488
75	1,4604	1,4608	1,4606		

TABELA A7. Índices de refração (IR) e solubilidade do xilitol  $S_{XOH}$

(g xilitol/100 g solução) em função da temperatura.

T (°C)	Propriedades					
5	IR	1,3737	1,3738	1,3736	1,3736	1,3735
	S <sub>XOH</sub>	21,97	22,05	21,89	21,89	21,82
20	IR	1,3908	1,3911	1,3907	1,3908	1,3907
	S <sub>XOH</sub>	34,93	35,15	34,93	34,86	34,93
30	IR	1,4071	1,4071	1,4070	1,4070	1,4071
	S <sub>XOH</sub>	46,39	46,39	46,32	46,32	46,39
40	IR	1,4277	1,4279	1,4279	1,4277	1,4278
	S <sub>XOH</sub>	59,22	59,34	59,34	59,22	59,28
50	IR	1,4459	1,4459	1,4460	1,4461	1,4461
	S <sub>XOH</sub>	68,65	68,65	68,69	68,74	68,74
60	IR	1,4522	1,4524	1,4525	1,4522	1,4521
	S <sub>XOH</sub>	71,43	71,51	71,55	71,43	71,38

TABELA A8. Solubilidade do xilitol em água e em água-etanol (g/100g solução) reportados na literatura.

T (°C)	Ságua <sup>a</sup>	Ságua <sup>b</sup>	Ságua <sup>c</sup>	Ságua-etanol <sup>d</sup>
10			54,56	
20	62,8	60,00	60,00	33,75
30		69,00	64,71	42,63
40	74,44	75,00	72,33	52,98
50		81,00	78,23	63,59
60	85,09	85,00	85,23	73,89

a: valores reportados na Ullmann's (1988)

b: valores reportados por Vyglazov e Khol'kin (1984)

c: valores reportados por Apele t al., (1959).

d: valores reportados por Vyglazov e Khol'kin (1984).