



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA - PGEQ**

JOSÉ EDVAN MARQUES JUNIOR

**DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO DE RECUPERAÇÃO E
PURIFICAÇÃO DO XILITOL PRODUZIDO POR ROTA BIOTECNOLÓGICA
UTILIZANDO O HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DO BAGAÇO DE CAJU
COMO MATÉRIA-PRIMA**

FORTALEZA

2019

JOSÉ EDVAN MARQUES JUNIOR

DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO DE PURIFICAÇÃO DO XILITOL
PRODUZIDO PELA ROTA BIOTECNOLÓGICA COM O HIDROLISADO
HEMICELULÓSICO DO BAGAÇO DE CAJU

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química do centro de Tecnologia da Universidade Federal do Ceará - UFC, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química. Área de concentração: Processos Químicos e Bioquímicos.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Valderez
Ponte Rocha

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M318d Marques Júnior, José Edvan.

Desenvolvimento do processo de purificação do xilitol produzido pela rota biotecnológica com o hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju / José Edvan Marques Júnior. – 2019. 93 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Fortaleza, 2019.
Orientação: Profa. Ma. Maria Valdevez Ponte Rocha.

1. Bagaço de caju. 2. Cristalização. 3. Xilitol. I. Título.

CDD 660

JOSÉ EDVAN MARQUES JUNIOR

DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO DE PURIFICAÇÃO DO XILITOL
PRODUZIDO PELA ROTA BIOTECNOLÓGICA COM O HIDROLISADO
HEMICELULÓSICO DO BAGAÇO DE CAJU

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título Mestre em Engenharia Química. Área de concentração: Processos Químicos e Bioquímicos.

Aprovada em: 11/03/2019.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Valderez Ponte Rocha (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (DEQ/UFC)

Prof. Dr. André Casimiro de Macêdo
Universidade Federal do Ceará (DEQ/UFC)

Prof. Dr. Amaro Gomes Barreto Júnior
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, essa conquista é uma vitória que devo agradecer a Deus, por tudo o que Ele tem realizado na minha vida, pela minha saúde e por estar sempre por perto.

Ao meu pai Edvan, que me mostrou o quão difícil seria a caminhada e eu tenho certeza que ele continua essa caminhada comigo. À minha mãe Marisa, por ser sempre um exemplo de como ser forte, determinada, por nunca desistir e por todo o amor da vida. À minha irmã Edvannia, que vem sendo uma companheira e uma verdadeira amiga nas horas mais complicadas e por toda sua calma. À minha mãe Eliza, por mostrar que família é aquilo que a gente escolhe. Às minhas tias Iris, Marlene, Socorro e Toinha por todo o carinho dedicado. Aos meus tios Carlos, Leudo e Márcio, por todo o incentivo e por proporcionarem as melhores lembranças da vida. À minha namorada Sarah Araújo, por toda a paciência, por me apoiar e estar sempre comigo conseguindo me alegrar com todo o seu amor.

Aos amigos na pós graduação Darlyson, João, Jorge, Karol, Láysa, Liana, Rafael, Ravena Raquel, Renata Renato, Silvia, Vanessa.

À Professora Dra. Valdez, por todas as conversas nos corredores, por toda amizade, respeito, por toda a paciência demonstrada nesse tempo, por todos os risos e por ser um exemplo a todos de uma excelente profissional.

A todos os companheiros do grupo de pesquisa GPBio, Bruna, Juliana, Nathalia, Carla, Guedes, Marcinha, Mary, Natan, Tici, Valdelice, Paulinha, Kimberle, Carlos, Italo, Lorena, Thalita, Raíssa, ao professor André e a professora Luciana conseguindo sempre deixar o ambiente de trabalho o mais agradável possível. Em especial, agradeço à Jéssyca, Tiago, Brenda, Cristiane e Jouciane por todo o ensinamento passado.

Aos meus amigos do corredor do DEQ, Seu Luís, Danilo, Jorjão, Jorjinho, Virgínia, Dayanne, Aline, Regiane, Professores Filipe e Hosiberto por todas as conversas nos corredores.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

Um tipo de indústria que apresenta grande destaque no Brasil e em especial no Estado do Ceará é a indústria do caju. Só nesse estado são produzidas cerca de 30,9 mil toneladas por ano, e tal produção gera uma grande quantidade de resíduo, o bagaço de caju. Este material é composto de celulose, hemicelulose e lignina, e os polissacarídeos podem ser hidrolisados, obtendo carboidratos, principalmente glicose e xilose, que podem ser utilizados em diferentes processos. Esses açúcares podem ser metabolizados por microrganismos gerando produtos de interesse comercial como, por exemplo, o xilitol. Este carboidrato vem sendo utilizado em diversos ramos industriais como alimentícios, farmacêuticos, odontológicos, entre outros. O meio cultivado para a produção de xilitol por bioprocessos, utilizando hidrolisados de biomassa, contém impurezas, exigindo, assim, processos de separação e purificação. Neste contexto, a presente dissertação teve como objetivo estudar a recuperação e purificação do xilitol obtido por produção biotecnológica, usando a levedura *Kluyveromyces marxianus* ATCC36907 e o hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju como meio de cultivo, e sua posterior purificação pelo processo de cristalização. Realizou-se uma hidrólise ácida branda no bagaço de caju, obtendo um hidrolisado contendo 15,66 g/L e 11,87 g/L de glicose e xilose, respectivamente, o qual foi usado para produzir xilitol. Após, iniciou-se o estudo dos processos de recuperação e cristalização, avaliando-se a influência de diferentes antissolventes (água-etanol, água-isopropanol e água-líquido iônico prótico acetato de 2- hidroxietanolamina – 2HEAA), a porcentagem de antissolvente no meio (10-90% v/v) e a velocidade de resfriamento (V_r , 0,25-0,50 °C/min), e comparou-se os resultados com o xilitol comercial. Nos experimentos utilizando o xilitol PA foi obtido um rendimento de 93% usando etanol 70% (v/v) como antissolvente e uma velocidade de resfriamento linear de 0,25 °C/min. Os resultados utilizando o líquido iônico prótico 2-HEAA com xilitol PA apresentaram um rendimento de 80% independente da velocidade de resfriamento. As melhores condições para o processo de cristalização do xilitol produzido foram utilizando o antissolvente isopropanol a 50% (v/v) com taxa de resfriamento 0,5 °C/min, ocorrendo uma nucleação secundária, alcançando um rendimento de 69,7% e pureza destes cristais de 84,8, e em alguns casos como, utilizando etanol com velocidade de resfriamento linear de 0,5 °C/min, isopropanol ou líquido iônico prótico 2-HEAA, não ocorreu à cristalização. Com um balanço de massa simples, usando 1000 Kg de bagaço de caju obtém-se 7,86 g de xilitol na melhor condição de cristalização (isopropanol 50% e V_r 0,5 °C/min) e este poliálcool apresentou características similares ao xilitol PA como, aparência e cristalinidade. Desta maneira, concluiu-se que xilitol pode ser obtido usando o hidrolisado do bagaço de caju como matéria-prima e pode ser recuperado por cristalização.

Palavras-chave: Bagaço de caju, xilitol, cristalização, anti-solvente, líquido iônico prótico.

ABSTRACT

One type of industry that stands out in Brazil and especially in the State of Ceará is the cashew industry. Only in this state are produced about 30.9 thousand tons per year, and this production generates a large amount of residue, the cashew apple bagasse. This material is composed of cellulose, hemicellulose and lignin, and the molecules of polysaccharides can be broken, obtaining carbohydrates, mainly glucose and xylose, that can be used in different processes. Such sugars can be metabolized by microorganisms to synthesize products of commercial interest, such as xylitol. This carbohydrate has been used in several industrial sectors such as food, pharmaceutical, dental, among others. The medium cultivated for the production of xylitol by bioprocess using biomass hydrolyzates contains impurities, thus requiring separation and purification processes. In this context, the present dissertation aims to study the recovery and purification of the xylitol obtained by biotechnological production, using the yeast *Kluyveromyces marxianus* ATCC36907 and the hemicellulosic hydrolyzate of the cashew apple bagasse (CAB) as a culture medium, and its subsequent purification by the crystallization. The CAB was hydrolyzed by acid obtaining a hydrolyzate containing 15.66 g/L and 11.87 g/L of glucose and xylose, respectively, which was used to produce xylitol. After that, the study of the recovery and crystallization processes was started, evaluating the influence of different antisolvents (water, ethanol, isopropanol and protic ionic liquid 2-hydroxyethanolamine acetate – 2-HEAA), the percentage of antisolvent (10-90%) and the cooling rate (V_r , 0.25-0.50 °C/min), and the results were compared with commercial xylitol. In the experiments using xylitol PA a yield of 93% was obtained using 70% (v/v) ethanol as antisolvent and a linear cooling rate of 0.25 °C/min. The results using the proton ionic liquid 2-HEAA with xylitol PA showed an efficiency of 80% regardless of the cooling rate. The best conditions for the crystallization of the xylitol produced were using the 50% (v/v) isopropanol with a cooling rate of 0.5 °C/min, occurring a secondary nucleation, achieving a yield of 69.7% and purity of these crystals of 84.8, and in some cases, using ethanol with a linear cooling rate of 0.5 °C/min, 70% (v/v) isopropanol or protic ionic liquid 2-HEAA, did not occur at crystallization. By simple mass balance, using 1000 Kg of cashew apple bagasse, 7.86 g of xylitol was obtained in the best crystallization condition (50% isopropanol and V_r 0.5 °C/min) and this polyol presented characteristics similar to xylitol PA as, appearance and crystallinity. Then, it was concluded that xylitol can be obtained using hydrolyzate from cashew apple bagasse as the raw material and can be recovered by crystallization.

Keywords: Cashew apple bagasse, xylitol, crystallization, anti-solvent, protic ionic liquid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura química do xilitol	17
Figura 2	– Fluxograma do processo de produção de xilitol por rota química usando fibra de milho como matéria prima	23
Figura 3	– Curvas típicas de solubilidade	39
Figura 4	– Equipamento utilizado para determinação das curvas de solubilidade e cristalização	45
Figura 5	– Fluxograma do processo de produção e cristalização do xilitol a partir do bagaço de caju	48
Figura 6	– Composição percentual do bagaço de caju in natura	49
Figura 7	– Perfil do processo microbiano usando o meio hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju par avaliar a produção de xilitol a 30 °C e 180 rpm por <i>Kluyveromyces marxianus</i> ATCC36907: glicose (●), xilose (■), biomassa (◀), xilitol (▲), etanol (▼)	53
Figura 8	– Curvas de solubilidade de xilitol (■), glicose (●) e xilose (▲) em água	56
Figura 9	– Curvas de solubilidade de xilitol (■), glicose (●) e xilose (▲) em 50% (v/v) água + etanol	57
Figura 10	– Curvas de solubilidade de xilitol (■), glicose (●) e xilose (▲) em 50% (v/v) água + isopropanol	58
Figura 11	– Curvas de solubilidade de xilitol (■), glicose (●) e xilose (▲) em 50% (v/v) água + líquido iônico prótico 2-HEAA	59
Figura 12	– Influência da variação da proporção de antissolvente na solubilidade de xilitol a 15 °C. (■) etanol, (●) isopropanol e (▲) 2HEAA	62
Figura 13	– Coeficiente de atividade do xilitol pela fração mássica em diferentes meios A (água), B (50% v/v etanol em água), C (50% v/v isopropanol em água) e D (50% (m/v) líquido iônico prótico	64

	acetato de 2- hidroxietanolamina em água)	
Figura 14	– Fração molar pela temperatura em diferentes meios (água) (■), (50% v/v etanol em água) (●), (50% v/v isopropanol em água) (▲) e (50% (m/v) líquido iônico prótico acetato de 2- hidroxietanolamina em água) (▼)	65
Figura 15	– Perfil da concentração de xilitol na solução durante o processo de cristalização a 5 °C por 24 h a diferentes concentrações iniciais de xilitol: (■) 400 g/L e (●) 200 g/L	66
Figura 16	– Balanços de massa das cristalizações realizadas com o hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju nas seguintes condições: A: 50% v/v etanol com Vr de 0,25, B: 70% v/v etanol com Vr 0,25, C: 50% v/v isopropanol Vr de 0,5 e D: 50% v/v isopropanol Vr 0,25	72
Figura 17	– FTIR realizado com: A: xilitol puro, e com os cristais obtidos pela cristalização do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju nas seguintes condições: B: 50 % (v/v) água e etanol com Vr de 0,25, C: 70 % (v/v) água e etanol com Vr de 0,25 e D 50 % (v/v) água e isopropanol com Vr de 0,25 com os cristais obtidos pela cristalização do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju	74
Figura 18	– Fotografias dos cristais de xilitol obtidas por microscopia ampliada em 15X: A (xilitol PA), B (xilitol obtido por cristalização do meio sintético), C (xilitol obtido por cristalização do hidrolisado do ensaio com 70% v/v de etanol com Vr de 0,25), D (xilitol obtido por cristalização do hidrolisado do ensaio com 50% v/v de etanol com Vr 0,25)	76
Figura 19	– Raio X dos cristais de xilitol sob as seguintes condições: A: xilitol PA (Sigma-Aldrich), B: xilitol cristalizado PA, C: com 50% (v/v) de etanol com Vr 0,25, D: com 70% (v/v) de etanol com Vr 0,25, E: com 50% (v/v) de isopropanol com Vr 0,25	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Propriedades físico-químicas do xilitol	18
Tabela 2	– Produtos que contém xilitol em sua composição	21
Tabela 3	– Materiais lignocelulósicos e micro-organismos utilizados para produção de xilitol	26
Tabela 4	– Composição química de alguns materiais lignocelulósicos	30
Tabela 5	– Métodos para hidrolisar materiais lignocelulósicos	32
Tabela 6	– Caracterização química percentual do bagaço de caju in natura e após o tratamento com: H ₂ SO ₄ 0,6M, H ₂ O ₂ 4,3% e NaOH 4%	50
Tabela 7	– Composição de hidrolisados hemicelulósicos obtidos de diferentes materiais lignocelulósicos expressados em concentração de carboidratos	52
Tabela 8	– Resultados da cristalização do xilitol padrão (Sigma-Aldrich) e do produzido por bioprocessamento usando hidrolisado hemicelulósico de bagaço de caju como meio de cultivo, avaliando diferentes antissolventes, proporção de antissolvente e velocidade de resfriamento durante o processo de cristalização	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

GRAS	Generally Recognized As Safe
FDA	Food and Drug Administration
V_R	Velocidade De Resfriamento Linear
PA	Pureza Analítica
FTIR	Fourier-Transform Infrared Spectroscopy
UFC	Universidade Federal do Ceará
GPTA	Grupo de Pesquisa em Termofluidodinâmica Aplicada
GPBIO	Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
NREL	National Renewable Energy Laboratory

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	Xilitol	16
2.2	Processo de produção de xilitol	21
2.2.1	<i>Produção de xilitol por via química</i>	22
2.2.2	<i>Produção de xilitol por via biotecnológica</i>	24
2.2.2.1	<i>Materiais lignocelulósicos</i>	28
2.2.2.1.1	Caju	35
2.3	Cristalização	36
3	MATERIAIS E MÉTODOS	42
3.1	Matéria-prima – material lignocelulósico- bagaço de caju	42
3.1.2	<i>Caracterização da matéria prima</i>	42
3.2	Hidrólise ácida branda do bagaço de caju	42
3.3	Microrganismo	43
3.4	Condições de cultivo	43
3.5	Produção do xilitol	44
3.6	Concentração do meio contendo xilitol	44
3.7	Curvas de solubilidade	44
3.8	Cristalização do xilitol	46
3.9	Métodos analíticos	47
3.10	Caracterização do xilitol cristalizado	47
3.11	Representação do processo	48
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	49
4.1	Caracterização do bagaço de caju e do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju	49
4.2	Produção de xilitol	53
4.3	Curvas de solubilidade	55
4.4	Cinética da cristalização	65
4.5	Cristalização xilitol	67
5	CONCLUSÃO	78
	REFERÊNCIAS	80

1 INTRODUÇÃO

O xilitol, um composto orgânico que apresenta cinco átomos de carbonos e cinco hidroxilas é um álcool com elevado poder adoçante. Essa substância apresenta diversos benefícios à saúde humana e devido a essa característica, é produzido e utilizado por diferentes segmentos industriais, tais como a alimentícia, a farmacêutica e a odontológica (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014). Atualmente o xilitol é produzido por via química, que é um processo eficaz, porém apresenta grandes desvantagens como, por exemplo, necessita de altas temperaturas e pressões condições que elevam os custos de produção e o preço de comercialização do xilitol. Assim sendo, vem crescendo cada vez mais estudos que buscam outro método de produção de xilitol visando diminuir essas desvantagens.

De forma alternativa ao método químico, um método que vem sendo bastante pesquisado, é a produção biotecnológica de xilitol, pois por esse método é possível produzir xilitol em condições mais amenas as quais são bastante elevadas no método químico, e conseguir assim diminuir seu valor final. Porém não existem muitos estudos detalhados acerca da viabilidade econômica desse processo e há, apenas, uma única planta química capaz de produzir xilitol pelo método biotecnológico (BOLAK, 2001).

Outro gargalo da produção de xilitol por via química é o custo com a matéria-prima, porém existem diversos resíduos de origem orgânica que são descartados pela agroindústria, que causam impactos ambientais negativos e podem ser utilizados para produção de xilitol por via biotecnológica. Desta maneira, tem-se realizado estudos acerca de como esses resíduos podem ser utilizados para gerar produtos de alto valor agregado e conseguir também diminuir os problemas relacionados a poluição ambiental por eles causados.

Dentre os resíduos provenientes da agroindústria destacam-se os materiais lignocelulósicos, que apresentam como principais constituintes celulose, hemicelulose e lignina. Com a hidrólise desses polímeros é possível obter açúcares fermentescíveis necessários para produção de diferentes bioprodutos de alto valor agregado (CORREIA *et al.*, 2013; ALBUQUERQUE *et*

al., 2015). E dentre os diversos materiais lignocelulósicos que podem ser usados, destaca-se o bagaço de caju, que é um resíduo orgânico abundante no Brasil e que pode ser utilizado para produção produtos como o etanol (ROCHA *et al.*, 2011; RODRIGUES, KENEALY E JEFFRIES, 2011; CORREIA *et al.*, 2013), e em especial o xilitol (ALBUQUERQUE, 2014) devido ao bagaço de caju apresentar um alto teor de hemicelulose, cerca de 17,73%, na sua composição.

Para a produção de xilitol, inicialmente deve ocorrer a obtenção dos açúcares fermentescíveis por hidrólise. A hidrólise ácida promove a quebra da molécula de hemicelulose no açúcar xilose, porém após a realização da hidrólise ácida ocorre também a formação de compostos tóxicos ao microrganismo utilizado na etapa fermentativa, tais como fenóis e ácidos, compostos esses que podem causar diminuição da eficiência do processo (ROCHA *et al.*, 2014). A hidrólise enzimática, procedimento com custo elevado devido ao alto valor das enzimas utilizadas, é realizada em condições mais amenas do que a hidrólise ácida, na qual os polímeros de celulose e hemicelulose são quebrados em açúcares, principalmente a glicose e xilose, pela ação de enzimas (CORREIA *et al.*, 2013). Contudo, para a realização da hidrólise enzimática necessita-se primeiramente de um pré-tratamento da biomassa lignocelulósica para reestruturar a lignina e facilitar o ataque das enzimas aos polímeros (CORREIA *et al.*, 2013).

Após ocorrer a quebra da molécula de hemicelulose em açúcares, inicia-se o processo fermentativo, utilizando microrganismo que apresenta capacidade de converter a xilose em xilitol.

Após a produção de xilitol faz-se necessário a purificação do mesmo, a qual é a etapa mais crítica desse processo.

Dentre os métodos de purificação destaca-se a cristalização que é um método comumente utilizado para purificação de açúcares. Nesse processo ocorre a formação de um produto com ótimas características finais que são: boa aparência ao consumidor, elevada pureza e padronização no tamanho dos cristais. A dificuldade desse processo está atrelada às características do cristal formado, desta maneira deve-se conhecer o meio no qual a solução está inserida, bem como antissolventes capazes de diminuir a solubilidade desse produto e as condições que ocorrerão a cristalização.

Desta maneira, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver um processo de biotecnológico de produção de xilitol usando o hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju como meio de cultivo com posterior etapa de recuperação e purificação do xilitol obtido por cristalização. Neste estudo avaliou-se a influência das impurezas no hidrolisado, dos antissolventes, da sua proporção, da velocidade de resfriamento e do comportamento da cristalização ao aumentar a concentração da solução.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

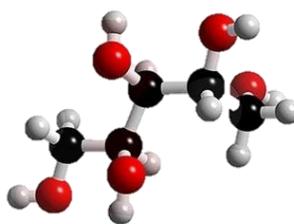
2.1 XILITOL

Haja vista a indispensabilidade do consumo de açúcares para ter uma alimentação considerada saudável e de qualidade, tem se a utilização da sacarose, pois a mesma está presente na maioria dos alimentos disponíveis no mercado e apresenta um baixo custo de produção. Porém, o consumo indiscriminado de sacarose provoca, em longo prazo, situações que dificultam o bom funcionamento do corpo humano (ALBUQUERQUE, 2014).

Devido aos diversos problemas ocasionados pelo excesso de consumo de açúcares como, cáries, obesidade, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares, entre outros, e os adoçantes normalmente utilizados além de não serem capazes de suprir esses problemas acabam por originar tantos outros, faz-se necessário um estudo acerca de outros edulcorantes capazes de suprir esses problemas.

Uma alternativa seria o xilitol, um poliol que apresenta cinco átomos de carbono na sua composição, cinco hidroxilas e estrutura aberta, fazendo também parte do grupo dos pentiois, tem como características importantes na indústria a sua ação anticariogênica e seu poder edulcorante extremamente semelhante ao da sacarose e contendo apenas um terço do teor calórico deste dissacarídeo, apenas 2,4 kcal/g (ALBUQUERQUE, 2014). A Figura 1 representa a estrutura química do referido poliol. Tais propriedades possibilitam o consumo dessa substância por pessoas que estão na faixa de obesidade e diabéticas, pois ele não provoca mudanças nos níveis de glicose no sangue devido a sua não dependência da insulina já que em seres humanos o xilitol é metabolizado por caminhos independentes da insulina (PEREIRA *et al.*, 2009).

Figura 1 - Estrutura química do xilitol.



Fonte: 3dchem

O xilitol foi descoberto por Bertrand, Fischer e Stahel em 1891, a mais de 100 anos, e a partir de então foi observado que o mesmo poderia ser gradativamente utilizado na dieta de diabéticos (HYVÖNEN; KOIVISTOINEN; VOIROL, 1982).

E a partir do final da década de 60, foram descobertas outras aplicações para o xilitol, por exemplo, suas propriedades anticariogênicas que foram comprovadas por Mäkinen (1976), demonstrando assim que a troca da sacarose pelo xilitol possibilitou tanto uma diminuição das cáries como também a remineralização de lesões pré-existentes.

Desta maneira, o xilitol é considerado um edulcorante natural com grande valor para as indústrias e o processo da sua purificação representa uma etapa de grande importância comercial.

O xilitol, que é um açúcar-álcool pentahidroxilado, é classificado como uma matéria do tipo GRAS (*Generally Recognized as Safe* - Geralmente Reconhecida como Segura) pelo FDA (*Food and Drug Administration*), órgão dos Estados Unidos responsável pela regulamentação de alimento. Seu elevado calor de dissolução provoca uma sensação de frescor (ALBUQUERQUE, 2014) o que faz com que tal produto seja utilizado na indústria odontológica e alimentícia como em pasta de dentes e chicletes.

As principais propriedades dos cristais de xilitol estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas do xilitol.

Propriedades	Características
Fórmula Química	$C_5H_{12}O_5$
Massa Molar	152,15 g/mol
Cor	Branca
Sabor	Doce
Odor	Nenhum
Aparência	Pó cristalino
Ponto de fusão	92-96 °C
Ponto de ebulição	216 °C
pH (solução aquosa 10%)	5-7
Viscosidade a 20 °C	a 10%: 1,23 cP; a 60%: 20,63 cP
Solubilidade a 30 °C	68 g de xilitol por 100 g de solução.
Densidade	a 10%: 1,03 g/mL; a 60%: 1,23 g/mL
Calor de dissolução	+34,8 cal/g (efeito refrescante)
Poder adoçante	Igual ao da sacarose, superior ao manitol e sorbitol
Valor calórico	4,06 kcal/g
Índice de refração a 25 °C	a 10%: 1,3471; a 50%: 1,4132
Estabilidade	Estável a 120 °C (não carameliza)
Higroscopicidade	Em umidade relativa alta, o xilitol é mais higroscópico que a sacarose, mas menos que o sorbitol

Fontes: (HYVÖNEN; KOIVISTOINEN; VOIROL, 1982; BAR, 1986).

Xilitol é proveniente da xilose, pentose obtida da hemicelulose, que contém grandes quantidades de xilana, que quando hidrolisada obtém-se xilose.

O xilitol é um conhecido componente químico que possui utilização em diferentes áreas da indústria, por exemplo, alimentícia, farmacêutica, médica,

odontológica e também está crescendo a cada dia a sua utilização em outras áreas como têxteis e químicas.

Em consequência da falta de um grupo carbonilo redutor, tem-se que o xilitol torna-se quimicamente menos reativo, em comparação a aldoses e cetoses, desta maneira microrganismos encontram maior dificuldade em conseguir obter energia do xilitol. O xilitol é apontado na literatura como um composto que contém índice glicêmico inferior a outros componentes (Khalid *et al.*, 2012; Islam, 2011), poder de resfriamento elevado, ou seja, apresenta calor negativo de dissolução (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015; Mussatto e Roberto, 2002,), possui caminho metabólico independente da insulina (Chen *et al.*, 2010), e também não apresenta interferência nos valores nutricionais dos alimentos (Ritter *et al.*, 2013; Uittamo *et al.*, 2011).

Na indústria médica, tem-se que o xilitol apresenta potencial de inibição de crescimento de algumas bactérias como, por exemplo, inibi *Staphylococcus coagulase* e *S. pneumoniae*, podendo ser empregado no tratamento tanto da otite (TAPIAINEN *et al.*, 2002; UHARI; TAPIAINEN; KONTIOKARI, 2000) como também da fibrose cística (ZABNER *et al.*, 2000). Experiências com ratos indicaram que os roedores ao consumir xilitol por via oral, tiveram aumento da massa óssea e desta maneira a progressão da osteoporose foi impedida, indicando que o xilitol apresenta grande potencial no tratamento da osteoporose (MATTILA; KNUUTTILA; SVANBERG, 1998). Na indústria médica é recomendado para pacientes que sofrem de doenças biliares e renais e apresenta uma colaboração ínfima se comparado com outros açúcares na constituição de tecidos gordurosos (BAR, 1986). A utilização adequada do xilitol também consegue tratar anemia hemolítica, que ocorre devido a insuficiência da enzima glicose 6-fosfato desidrogenase (HYVÖNEN; KOIVISTOINEN; VOIROL, 1982; WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998). Em relação a doenças ósseas, o referido poliol auxilia de maneira preventiva na redução da densidade óssea e dos seus minerais como o cálcio e o fósforo (MATTILA *et al.*, 2002, MATTILA; KANGASMAA; KNUUTTILA,2005).

Na indústria de alimentos, sua utilização ocorre em diferentes produtos, por exemplo, em condimentos, enlatados, gelatinas, gomas de mascar, entre outras. Causando dessa forma uma melhoria significativa em diversos aspectos como, cor, estabilidade dos produtos, sabor e textura (HYVÖNEN; TÖRMA,

1983; MÄKINEN, 1976). E por não fazer parte das reações de Maillard, por não apresentar grupos aldeídicos e cetônicos em sua composição, que é uma reação que ocorre a uma elevada temperatura entre um aminoácido ou uma proteína e um carbono redutor na qual se gera sabor, odor e cor aos alimentos, o xilitol não diminui o valor nutricional das proteínas presentes nos alimentos (PARAJÓ; DOMÍNGUEZ; DOMÍNGUEZ, 1998a). Este poliol apresenta baixo poder calorífico e poder adoçante similar ao da sacarose.

Pode ser empregado no preparo de refrescos e xaropes, pois o mesmo dispensa a necessidade tanto da pasteurização do produto quanto da adição de conservantes no processo de estocagem (MANZ; VANNNINEN; VOIROL, 1973; LAM *et al.*, 2000). É bem aceito pelo corpo do ser humano, a quantidades moderadas, pois altas quantidades de xilitol apresentam efeito laxativo (MAKINEN, 1976; MUSSATO, ROBERTO, 2002).

Na indústria farmacêutica, temos que o xilitol vem sendo bastante empregado no revestimento de produtos por causa da sua característica termodinâmica de ter um calor de dissolução positivo. E, desta maneira, tem-se a introdução do xilitol em diferentes produtos, por exemplo: creme, enxaguantes bucais, fio dental, lavatórios nasais e vitaminas (PEPPER; OLINGER, 1988).

Mesmo tendo inúmeras vantagens em comparação a outros açúcares como, por exemplo, o sorbitol e a sacarose, tem-se que sua utilização como produto de consumo ainda é baixa e o motivo principal para isso é o seu alto custo de produção (Albuquerque, 2014; Nigam; Singh, 1995; Parajó, 1998a). Porém como observado o xilitol não é apenas um produto que pode ser aplicado em alimentos com baixo valor calórico, sua utilização e benefícios se expandem em outros ramos industriais.

O xilitol faz parte do metabolismo de carboidratos de homens e animais como um produto intermediário (MANZ; VANNINEN; VOIROL, 1973), e um humano em condições normais produz entre 5 gramas e 15 gramas de xilitol diariamente (ALBUQUERQUE, 2014).

O xilitol tem a capacidade de reverter lesões recém formadas e também a capacidade de remineralização do esmalte dentário (MAKINEN, 1976; SHEN *et al.*, 2001).

Desta maneira, devido aos diversos benefícios que o uso do xilitol pode proporcionar, no Brasil tem crescido muito sua utilização em diversos produtos, desde os cremes dentais a gomas de mascar. Na Tabela 2 são listados alguns produtos e a quantidade deste polioliol nos mesmos.

Tabela 2 - Produtos que contém xilitol em sua composição.

Produtos que contém xilitol	Quantidade de xilitol ou polióis
Mentos pure White	2,1g
Mentos UP2U	2,0 g
Mint Strips	Valor não informado
Trident Fresh	Valor não informado
ValdaX	1,0 g
Cremes Dentais	de 1 a 2 %

Fonte: Elaborado pelo autor.

2.2 PROCESSO DE PRODUÇÃO DE XILITOL

A produção de xilitol ocorre por meio da conversão química da xilose. Porém, esse processo apresenta inúmeros pontos negativos que são: as condições de operação que utilizam elevadas temperaturas (80 °C a 140 °C) e pressões (50 atmosferas), e o crítico processo de purificação da xilose (HYVÖNEN; KOIVISTOINEN; VOIROL, 1982), e desta maneira tem-se que essas desvantagens acabam por encarecer o processo de produção. E também, como mencionado pelos autores Mikkola e Salmi (2001), o catalisador utilizado no processo de produção, níquel Raney, contém várias desvantagens no processo, como desativação rápida e ser muito difícil sua separação.

Já a produção de xilitol a partir da xilose por via microbiológica é considerado um processo que apresenta uma possibilidade bastante propícia, visto que a mesma é capaz de atuar em condições amenas de temperatura e pH, conseguindo assim uma diminuição nos custos energéticos e uma grande eficiência ao utilizar os microrganismos no processo que converterá o açúcar no álcool. Além disso, a produção microbiológica do xilitol gera menos interferentes, ou seja, menos subprodutos durante o processo. Porém, mesmo

assim, apenas uma companhia produz xilitol desta maneira, trata-se de uma empresa situada na Coreia cujo nome é Bolak Co, e de acordo com os dados obtidos por essa empresa conseguiu-se diminuir em 50% os custos ao realizar a troca entre os métodos de produção (BOLAK, 2001).

Ambos os processos, químicos e microbianos, necessitam de soluções ricas em xilose, provenientes da hidrólise de materiais lignocelulósicos ricos em xilana, para a produção do xilitol (ALBUQUERQUE, 2014; CRUZ *et al.*, 2000).

2.2.1 PRODUÇÃO DE XILITOL POR VIA QUÍMICA

No ano de 1977, Asko Melaja e Lauri Hamalainen patentearam o processo de produção do xilitol a partir da redução química da xilose (LIMA; BERLINCK, 2003). Para se conseguir uma maior qualidade e um melhor rendimento, necessita-se de uma solução de xilose mais pura possível para não ocorrer problemas. Desta maneira, são realizadas etapas de purificação no meio contendo xilose para aumentar sua pureza, porém a adição desse processo além de aumentar o tempo acaba por aumentar também o valor do produto (LIMA; BERLINCK, 2003).

A produção de xilitol por via química utiliza condições de temperaturas na faixa de 80 °C a 140 °C e pressões que vão até 50 atmosferas na presença de um catalisador metálico de níquel. É feita a partir de hidrólise de materiais lignocelulósicos após a remoção da cor do hidrolisado, impurezas orgânicas e sais inorgânicos que não foram retirados no processo de exclusão iônica, procedimento de purificação realizado para se conseguir uma solução de xilose mais pura. E após o xilitol ser produzido, o mesmo é levado a um fracionamento cromatográfico utilizando resinas de troca iônica, conseguindo assim restaurar partes do xilitol com alta pureza que ao final passaram por um processo de cristalização (HYVÖNEN; KOIVISTOINEN; VOIROL, 1982; MELAJA; HAMALAINEN, 1977).

Após a produção de xilitol utilizando a xilose por via química, faz-se necessária diversas etapas de purificação do xilitol, pois como a reação é catalisada por um catalisador de níquel, que é um componente tóxico, o mesmo é capaz de prejudicar a saúde humana devido a liberação de resíduos

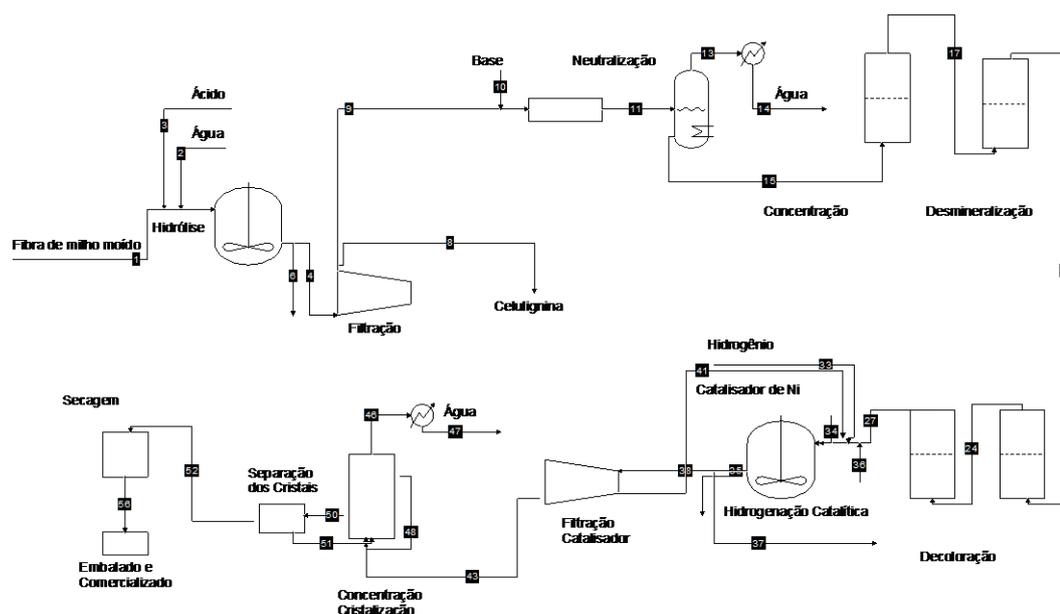
que devem ser separados do produto para enfim ser comercializado (MELAJA; HÄMÄLÄINEN, 1977; PARAJÓ; DOÍNGUEZ; DOMÍNGUEZ, 1998a).

Ressalta-se, então, que o processo de produção de xilitol por via química tem-se a necessidade de ocorrer diversas etapas de purificação tanto na fase *upstream* quanto no *downstream* (PARAJÓ, DOMÍNGUEZ e DOMÍNGUEZ, 1998b) fazendo com que o valor do produto final, o xilitol, seja bastante caro.

A Figura 2 mostra o fluxograma da produção de xilitol por via química, e para melhor entendimento o processo é explicado em cinco etapas (HYVÖNEN; KOIVISTOINEN,1982):

1. Hidrólise ácida do material natural rico em xilana;
2. Purificação do hidrolisado até obter-se uma solução de xilose pura;
3. Hidrogenação catalítica da xilose pura a xilitol utilizando o catalisador liga de Ni e Al;
4. Purificação da solução de xilitol obtida;
5. Cristalização do xilitol

Figura 2 - Fluxograma do processo de produção de xilitol por rota química usando fibra de milho como matéria prima.



Fonte: Adaptado de LAROSA, (2002).

Devido aos altos custos de produção de xilitol por via química, faz-se necessário um melhor estudo acerca de um outro método capaz de produzir xilitol de forma mais barata, e um dos métodos que vem apresentando resultados mais significantes é a produção de xilitol utilizando-se microrganismos capazes de converter a xilose em xilitol, ou seja, a produção biotecnológica.

2.2.2 PRODUÇÃO DE XILITOL POR VIA BIOTECNOLÓGICA

Devido ao elevado custo de produção de xilitol que chega a ser cerca de dez vezes maior que o custo de outros edulcorantes como sacarose e sorbitol vem crescendo cada vez mais estudos capazes de amenizar o seu alto gasto com produção (ALBUQUERQUE, 2014; ARRUDA, 2011; CANILHA, 2006; MARTINEZ, 2005; PARAJO; DOMÍNGUEZ; DOMÍNGUEZ, 1998a). Entre as pesquisas, destaca-se a via biotecnológica, pois a mesma não necessita de um alto teor de pureza da xilose, ou seja, a xilose não precisa passar por uma purificação prévia para ser utilizada para produção de xilitol, como acontecia na via química.

Além disso, o método biotecnológico apresenta outras vantagens como a capacidade de ser realizado com menores custos energéticos, pois o mesmo atua em condições de pressão e temperatura menores que no processo químico, também sua utilização é capaz de proporcionar uma diminuição na poluição ambiental em comparação com o processo químico bem como diminuição dos custos com o tratamento de resíduos tóxicos. (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998). Somente em 1966, após Onishi e Suzuki terem descoberto que existiam leveduras que conseguiam, na presença de xilose, fazer com que a enzima xilose redutase fosse capaz de prover a redução de xilose a xilitol que a via biotecnológica começou a ser considerada (HAHN-HÄGERDAL *et al.*, 1994).

E uma grande variedade de insumos, que apresentam baixo custo, podem ser utilizados no processo de produção de xilitol por via biotecnológica. Esses materiais lignocelulósicos são obtidos a partir dos resíduos oriundos da agroindústria. Assim sendo, sua utilização além de gerar um ganho econômico,

pois acarreta na diminuição do custo da matéria-prima, ainda provoca uma considerada redução dos impactos ambientais que seriam causados pelo descarte errôneo desses materiais. O processo biotecnológico é considerado um processo sustentável de produção de xilitol.

Para se conseguir produzir xilitol pelo método biotecnológico, faz-se necessário obter a xilose, para compor o meio de cultivo, e essa xilose é obtida a partir da hidrólise da fração hemicelulósica desses rejeitos industriais. Essa hidrólise pode ser catalisada por ácidos ou enzimas (ZHANG *et al.*, 2012). E uma dessas matérias-primas estudadas no processo de produção de xilitol é o bagaço de caju (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015; ROCHA *et al.*, 2014).

As principais diferenças entre as hidrólises ácida e enzimática são que na hidrólise ácida seu processo é realizado muitas vezes com ácido sulfúrico sob elevadas condições de temperatura e durante o processo pode ocorrer a formação de compostos que atuarão de maneira inibitória no bioprocessamento como, por exemplo, furfural, hidroximetilfurfural e ácido acético (ALBUQUERQUE, 2014). Já na hidrólise enzimática, devido a utilização de enzimas no processo, a mesma é realizada sob condições de pH e uma faixa de temperatura mais brandas (45-50 °C) e não existe a ocorrência de problemas relacionados a corrosão (SUN e CHENG, 2002). No entanto, o uso destas enzimas hemicelulolíticas oneram o processo.

Existe uma grande variedade de microrganismos (bactérias, fungos e leveduras) capazes de converter xilose em xilitol, etanol e outros compostos (PARAJÓ; DOMÍNGUEZ; DOMÍNGUEZ, 1998a; SAHA, 2003; ALBUQUERQUE *et al.*, 2015).

Dentre os microrganismos que podem ser usados no processo para produção de xilitol, tem-se um maior destaque para as leveduras, pois elas apresentam diversos benefícios em comparação com as bactérias como, apresentam melhor crescimento em pH ácido, são mais resistentes a contaminação e seu requerimento nutricional é menos rigoroso (JEFFRIES, 2006).

As leveduras que apresentam maiores rendimentos de conversão de xilose em xilitol são as do gênero *Candida*, principalmente *C. tropicalis* e *C. guilliermondii* (MISRA, RAGHUWANSHI e SAXENA, 2013; PING *et al.*, 2013; SENE *et al.*, 2000) e as espécies dos gêneros *Kluyveromyces*, como a

Kluyveromyces marxianus (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015; ROCHA *et al.*, 2011; ROCHA *et al.*, 2014; WILKINS *et al.*, 2008). Um destaque especial vai para a *Kluyveromyces marxianus*, pois a mesma exhibe resultados bastante aceitáveis tanto no consumo de xilose quanto na produção de xilitol em um intervalo de tempo inferior aos outros microrganismos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015).

Na Tabela 3 estão listados os diferentes tipos de biomassa lignocelulósica que são fonte de xilose e os microrganismos que podem consumir esse açúcar para produção do xilitol.

Tabela 3 - Materiais lignocelulósicos e micro-organismos utilizados para produção de xilitol.

Tipos de Substratos Lignocelulósicos	Micro-organismo	Referências
Bagaço de cana	<i>Candida guilliermondii</i> FTI 20037	Arruda <i>et al.</i> (2011)
Palha de milho	<i>Pichia stipitis</i> YS-30	Rodrigues, Kenealy, e Jeffries (2011)
Resíduos da madeira	<i>Candida. boidinii</i> BCRC 21 432	Ko <i>et al.</i> (2008)
Resíduos de grãos de cervejaria	<i>Debaryomyces hansenii</i> CCM1 941	Carvalho <i>et al.</i> , (2007)
Resíduos de poda de oliveira	<i>Candida tropicalis</i> NBRC 0618	García <i>et al.</i> (2011)
Resíduos de videira	<i>D. hansenii</i>	Diéguez <i>et al.</i> (2011)
Resíduos hortícolas	<i>C. athensensis</i> SB18	Zhang <i>et al.</i> (2012)
Sabugo de milho	<i>C. tropicalis</i> CCTCC M2012462	Ping <i>et al.</i> (2013)
Palha de Arroz	<i>C. guilliermondii</i> FTI 20037	Mussatto e Roberto (2002)
Bagaço de caju	<i>Kluyveromyces marxianus</i> CE025	Rocha <i>et al.</i> (2011)
Bagaço de caju	<i>Kluyveromyces marxianus</i> CCA510	Albuquerque <i>et al.</i> (2015)

Fonte: Elaborado pelo autor (2018)

Durante o processo da bioconversão da xilose a xilitol, algumas variáveis podem influenciar o processo como: a concentração dos açúcares, aeração, pH, fontes de nitrogênio e forma como o processo é conduzido.

Pelo fato do processo biotecnológico ser realizado sob condições mais amenas de pH, aeração, temperatura e pressão (Zhang *et al.*, 2012), tem-se que, desta forma, ele se apresenta como um processo que tem um ganho energético e econômico em relação ao processo químico. Durante o processo fermentativo, no qual o xilitol é produzido, tem-se que a temperatura e pressão adequadas para o microrganismo é, normalmente, 30 °C e 1 atm, condições bem mais brandas que o método químico (AKINTERINWA *et al.*, 2008).

De acordo com as análises feitas por Winkelhausen e Kuzmanova (1998), tem-se que a faixa de pH ideal utilizada para o cultivo de leveduras é em torno de 4,0 a 6,0. Porém, outros autores como Canettieri, Almeida e Silva e Felipe (2001) observaram a produção de xilitol a partir do hidrolisado hemicelulósico de eucalipto com pH 8,0 no início da fermentação conseguindo um fator de conversão de 0,2 g de xilitol/g de xilose. E Martinez *et al.* (2003) conseguiu produzir xilitol a partir do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana com pH 6,7 e alcançou 0,69 g de xilitol/g de xilose.

Outro fator importante no processo de conversão de xilose em xilitol pelo método biotecnológico é a velocidade de transferência de oxigênio (SILVA *et al.*, 1996; ZOU *et al.*, 2010). Um ótimo controle na transferência de oxigênio é necessário, pois um excesso de oxigênio desvia o metabolismo em direção ao crescimento celular e a falta de oxigênio provoca a paralisação tanto do crescimento celular como da produção de xilitol (VANDESKA *et al.*, 1995).

Existem diversos autores que levam em consideração, tanto a atuação da aeração quanto a concentração inicial dos açúcares já que ambos apresentam grande interferência no processo de produção de xilitol pelo método biotecnológico (PARAJÓ, DOMÍNGUEZ e DOMÍNGUEZ, 1998c; ARRUDA *et al.*, 2011; MISRA, RAGHUWANSHI e SAXENA, 2013).

Após a produção de xilitol faz-se necessário separar o xilitol presente no meio fermentativo. E entre as técnicas de separação a que mais se destaca é o método de cristalização.

2.2.2.1 MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Devido às elevadas quantidades que são produzidas de resíduos sólidos oriundos da agroindústria a cada ano e que vem se acumulando cada vez mais gerando diversos inconvenientes como a poluição ambiental, ocasionando assim a perda de matérias-primas que podem gerar uma grande quantidade de produtos com alto valor agregado (BISARIA, GHOSE, 1981; MOLWILTZ *et al.*, 1996; PIMENTEL, 2001), tem se intensificado um maior estudo a cerca dos materiais lignocelulósicos.

Desta maneira, esses resíduos que são extremamente abundantes e apresentam um custo baixíssimo apontam como uma alternativa bastante viável e promissora para ser utilizada como matéria-prima em diversos processos biotecnológicos, buscando então uma maneira de conseguir diminuir essa poluição ambiental reutilizando esses materiais lignocelulósicos (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, CORREIA *et al.*, 2013; ALBUQUERQUE *et al.*, 2015; ROCHA *et al.*, 2011; ROCHA *et al.*, 2014).

Os materiais lignocelulósicos apresentam-se como matérias-primas abundantes e de baixo custo que podem ser utilizadas em diversos processos biotecnológicos capazes de gerar vários bioprodutos como: biocombustíveis, bioenergia e biomoléculas de elevado valor agregado (BOUSSARSAR; ROGÉ; MATHLOUTH, 2009).

Um dos principais benefícios do uso dos materiais lignocelulósicos como matéria-prima para diversos bioprodutos é o fato do mesmo não competir com a utilização de terras cultiváveis para a agricultura, ou seja, ele não influenciará numa menor produção alimentícia nem tão pouco numa posterior elevação do seu preço. Esses materiais têm seu uso diversificado, que vai desde a produção de combustíveis, produtos e energia apresentando altíssima lucratividade, pois por ano são produzidas por volta de 180 bilhões de toneladas na qual 70% dessa quantidade corresponde aos polissacarídeos no qual tem se que 40% são de celulose e 30% de hemicelulose (MÄKI-ARVELA *et al.*, 2011).

Uma maior preocupação com o meio ambiente e também com o desenvolvimento sustentável faz com que cada vez mais os resíduos industriais sejam usados como substrato para a fabricação de novos produtos, pois esses resíduos que podem vir a ter seu uso ligado a diferentes produtos de interesse além de serem baratos encontram-se disponíveis em grandes quantidades (BOCCHINI, 2004).

Desta maneira, esses resíduos que são extremamente abundantes e apresentam um custo baixíssimo apontam como uma alternativa bastante viável e promissora para ser utilizada como matéria-prima em diversos processos biotecnológicos.

Os materiais lignocelulósicos são considerados subprodutos fibrosos formados por macromoléculas orgânicas complexas e constituídos pelos polissacarídeos celulose e hemicelulose e também por um material polifenólico que é a lignina (VÁSQUEZ *et al.*, 2007; CORREIA *et al.*, 2013). Faz também parte dos compostos lignocelulósicos pequenas quantidades de extraíveis e sais minerais (D'ALMEIDA, 1988; FENGEL, WEGENER, 1989; HON, SHIRAIISHI, 1991; KHUAD, SINGH, 1993; SINGH, MISHRA, 1995; HON, 1996; SJÖSTRÖM, ALÉN, 1998; SUN *et al.*, 2004, 2005; MOISER *et al.*, 2005).

Desta maneira, torna-se imprescindível o conhecimento a cerca dos constituintes que fazem parte dos materiais lignocelulósicos para assim conseguir determinar o quanto dos seus açúcares fermentescíveis estará presente no meio reacional para sua bioconversão em xilitol. A Tabela 4 apresenta alguns exemplos de materiais lignocelulósicos e as porcentagens dos seus constituintes.

Tabela 4- Composição química de alguns materiais lignocelulósicos.

Materiais lignocelulósicos	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Referência
Palha de trigo	32,6	24,7	20,6	Govumoni <i>et al.</i> , 2013
Bagaço de cana	45,5	17,0	21,1	Rocha <i>et al.</i> , 2011
Bagaço de caju	20,5	16,3	33,6	Rocha <i>et al.</i> , 2011
Palha de milho	37,0	31,3	17,8	Saha <i>et al.</i> , 2013
Casca de arroz	35,6	11,9	15,4	Saha e Cotta <i>et al.</i> , 2007
Farelo de cevada	23,0	32,7	24,4	Cruz <i>et al.</i> , 2000
Casca de aveia	30,51	28,63	23,09	Felipe <i>et al.</i> , 2003
<i>Eucalyptus grandis</i>	40,20	15,67	26,9	Canettieri; Silva; Carvalho Jr, 2003
Sabugo de milho	31,7	34,7	20,3	Cruz <i>et al.</i> , 2000
Palha de cevada	38,6	21,4	19,9	Moraes, 2008
Palha de Sorgo	34,0	44,0	20,0	Herrera <i>et al.</i> , 2004

Fonte: Elaborado pelo autor.

Cruz *et al.*, (2000), destaca a utilização do sabugo de milho, de acordo com a Tabela 4 é o material lignocelulósico que contém os valores mais elevados de hemicelulose, que após o processo de hidrólise irá liberar a xilose,

açúcar que será utilizado para se produzir o bioproduto de interesse, o xilitol. Rocha *et al.*, (2011) observando que existia uma grande quantidade de resíduos agroindustriais no nordeste brasileiro, avaliou esses rejeitos para produção de etanol, e de acordo com seus estudos o bagaço de caju apresenta valores aceitáveis e hemicelulose, tornando-se, uma biomassa muito propícia para produção de xilitol.

O Brasil, conhecido como um grande exportador de produtos agrícolas e com uma imensa extensão territorial, destaca-se como um país que apresenta um elevado potencial para produção e utilização de recursos renováveis. Assim, o Brasil pode-se utilizar de diversos materiais lignocelulósicos para gerar produtos de grande valor agregado como o xilitol.

Utilizando-se ácidos ou enzimas é possível hidrolisar a celulose e a hemicelulose, ao passo que a lignina continua presente no meio ácido como um resíduo sólido.

A celulose é o material orgânico mais abundante da terra, representando assim uma grande fonte renovável, ela é formada por monômeros de glicose e é o principal constituinte da parede celular dos vegetais. Já a hemicelulose é um polímero que apresenta peso molecular menor que o da celulose e é constituída basicamente de pentoses (xilose e arabinose) e hexoses (galactose, manose e glicose) e também é formada por ácidos acético e urônico em menores valores (BISARIA, GHOSE, 1981; FENGEL, WEGENER, 1989; KHUAD, SINGH, 1993; SINGH, MISHRA, 1995; SAHA, 2003).

Em relação aos materiais lignocelulósicos, tem-se que entre 15 a 45% do peso da biomassa é correspondente a hemicelulose e que a fração de xilose na hemicelulose é em torno de 95% (ALBUQUERQUE, 2014).

Devido ao fato da hemicelulose não apresentar uma conformação cristalina, ela acaba apresentando uma tendência maior, sob condições mais amenas, a sofrer hidrolises químicas.

A lignina que além de sustentar os polímeros de glicose atua também inibindo a corrosão que possa vir a ocorrer na celulose e hemicelulose (FENGEL, WEGENER, 1989; KHUAD, SINGH, 1993). É um dos três principais formadores da parede celular da biomassa lignocelulósica e apresenta uma organização bastante complexa formada a partir de compostos polifenólicos,

álcoois cumarílico, coniferílico e sinapílico (LADISCH, 1979; BISARIA, GHOSE, 1981; SINGH, MISHRA, 1995).

O restante, que pode vir a corresponder cerca de 10% da biomassa lignocelulósica, é constituído por compostos extrativos e não extrativos. Os compostos extrativos têm esse nome pois são normalmente extraídos a partir da utilização de água ou solventes orgânicos (D`ALMEIDA, 1988; FENGER, WEGENER, 1989; SINGH, MISHRA, 1995). Já os compostos não extrativos são formados por diferentes materiais que vão desde carbonatos, oxalatos e sílica até outros que não fazem parte da parede celular (ICIDCA, 2000).

Para conseguir com que os polímeros sejam utilizados como matéria prima por microrganismos que sejam capazes de convertê-los em produtos de interesse é de suma importância realizar a hidrólise da biomassa lignocelulósica. Portanto, vem sendo estudado, cada vez mais, diversos métodos que possam vir a provocar a hidrólise dos materiais lignocelulósicos e desta maneira conseguir liberar, no meio fermentável, seus respectivos açúcares (SUN e CHENG, 2002; KUMAR *et al.*, 2009). A Tabela 5 mostra os principais métodos de hidrólise desses polímeros obtidos a partir de dados da literatura.

Tabela 5- Métodos para hidrolisar materiais lignocelulósicos.

Métodos	Referência
Hidrólise ácida	ZHAO, WANG, LIU, 2008; ALBUQUERQUE <i>et al.</i> , 2015
Explosão a vapor	KUMAR, 2009
Hidrólise enzimática	PAN, 2005
Hidrólise alcalina	DAWNSON, BOOPATHY, 2008

Fonte: Elaborado pelo autor (2018)

O método de explosão a vapor consiste na descompressão de maneira rápida da biomassa lignocelulósica juntamente com o vapor de água saturado. Esse método apresenta como vantagens solubilizar a hemicelulose com um baixo custo benefício. Porém apresenta como desvantagens, por operar em elevadas condições de temperatura e pressão, conseguir degradar tanto a hemicelulose, polímero de interesse a ser hidrolisado, como a lignina,

composto que não deveria ser hidrolisado, gerando compostos tóxicos (CHEN; HAN; XU, 2008).

A hidrólise alcalina tem como objetivo a remoção da lignina da biomassa lignocelulósica (SÁNCHEZ e CARDONA, 2008). Apresenta como desvantagens remover a lignina e uma parte da hemicelulose, que é o polímero que vai liberar as pentoses, em especial a xilose, açúcar importante para a produção de xilitol, e a utilização do hidrolisado como meio de cultivo torna-se complexo devido a presença de lignina no mesmo.

Para se realizar a hidrólise enzimática, precisa-se primeiramente de um pré-tratamento capaz de conseguir liberar os polímeros, celulose e hemicelulose, da lignina. E em seguida faz-se a fermentação do meio hidrolisado para conseguir obter o bioproduto desejado (FITZPATRICK *et al.*, 2010; HENDRIKS e ZEEMAN, 2009; CORREIA, ROCHA E GONÇALVES, 2012). Porém, mesmo conseguindo excelentes resultados na liberação dos açúcares no meio fermentescível tem-se que a hidrólise enzimática é um processo que apresenta um longo tempo de reação e um custo bastante elevado, pois o preço das enzimas utilizadas no processo é bastante alto (MODENBACH e NOKES, 2013).

Por fim, existem dois tipos de hidrólises ácidas, uma que utiliza ácidos diluídos e outra que utiliza ácidos concentrados. No processo de hidrólise ácida branda apresenta menos problemas com corrosão e uma menor formação de inibidores, porém o mesmo também apresenta uma menor quantidade de açúcares no meio hidrolisado (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015). Com a hidrólise ácida branda é possível hidrolisar a fração hemicelulósica permitindo que as frações de celulose e lignina fiquem praticamente idênticas. Esse processo é considerado bastante útil quando se deseja obter os açúcares provenientes da hemicelulose hidrolisados no meio a ser fermentado, e os ácidos mais comumente utilizados são o clorídrico e o sulfúrico (HERRERA *et al.*, 2003; SAHA *et al.*, 2005).

A principal vantagem da hidrólise ácida é a capacidade de se conseguir obter até 80% das pentoses, em especial a xilose, que estão presentes na hemicelulose da biomassa lignocelulósica (FUNK, 1975; JEFFRIES, 1985; AGUILAR *et al.*, 2002; MOISER *et al.*, 2005).

E dentre os diversos materiais lignocelulósicos listados na Tabela 4, destaca-se o bagaço de caju, tanto pela abundância no Brasil quanto pela grande quantidade dos polímeros celulose e hemicelulose.

Para se dar início ao processo de produção de xilitol primeiramente deve-se ajustar o pH do meio proveniente do pré-tratamento ácido. Tal ajuste é realizado a partir da adição de hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2). Alguns autores reportaram uma redução na quantidade total dos açúcares, mas listaram que a mesma não apresentava valores significativos ao processo (ALBUQUERQUE, 2014). Além de ajustar o pH para iniciar a produção de xilitol faz-se necessário a utilização de um método de destoxificação do hidrolisado, tal método pode ocorrer por: adição de carvão ativado, resina de troca iônica ou ajuste de pH. Outros autores constataram que a adsorção por carvão ativado consegue não só clarificar o hidrolisado como remover possíveis interferentes e componentes tóxicos ao processo de fermentação, entretanto apresentou como desvantagem uma maior perda na quantidade de açúcares totais se comparada a adição de hidróxido de cálcio (MARTON, 2002; VILLARREAL, 2005). Todavia a adição de carvão ativado continua sendo o procedimento mais utilizado pelos pesquisadores que desejam remover componentes nocivos ao processo fermentativo.

Deve-se salientar que a etapa de ajuste de pH do hidrolisado já é considerado como um método de destoxificação. Ou seja, esse procedimento beneficia o crescimento microbiano tanto por deixar o meio hidrolisado em condições propícias para tal como pela retirada de componentes que seriam tóxicos para o processo fermentativo. Além disso, a adição de hidróxido de cálcio apresenta outros benefícios como: baixo custo, remoção parcial de ácido acético e compostos fenólicos, precipitação de íons metálicos tóxicos de Fe, Ni, Cr, e conversão de furfural a compostos menos tóxicos (como ácido furfurílico), metabolizável pelo microrganismo da fermentação. Entretanto como inconvenientes tem-se: perdas de açúcares do hidrolisado causadas por conversão a compostos tóxicos (ácido láctico), por arraste na precipitação do sal e problemas de incrustações dos sais de cálcio formados nos equipamentos de separação, fermentação e purificação (PARAJÓ, DOMINGUEZ e DOMINGUEZ *et al.*, 1998).

2.2.2.1.1 CAJU

O cajueiro tem como nome científico *Anacardium occidentale* pertencendo, desta maneira a família das *Anacardiaceae*. O fruto proveniente do cajueiro corresponde a parte mais dura, conhecida como a castanha de caju. E essa fruta para ser consumida deve ser assada para conseguir retirar a casca. O pseudofruto, que representa a parte carnosa, representa 90% do caju e é considerado um produto rico tanto em vitaminas quanto em sais minerais (ROCHA *et al.*, 2009). O pseudofruto apresenta um tamanho entre 6 a 10 cm com peso variando entre 70 a 90 gramas (MENEZES e ALVES, 1995).

O Brasil, país com dimensões continentais, é um dos maiores produtores de caju, fruto este que é encontrado em todo o país e devido ao seu clima tropical o litoral nordestino se destaca como a maior região produtora (PEREIRA *et al.*, 2005).

Os principais produtos provenientes da indústria do caju são: a amêndoa ou castanha, e o suco de caju, que é obtido a partir da prensagem do pseudofruto, gerando assim uma elevada quantidade de um rejeito orgânico industrial que não é aproveitado, o bagaço de caju. Após a retirada do suco, tem-se que 40% (m/m) corresponde ao bagaço, um subproduto da indústria que não apresenta valor significativo e desta forma acaba sendo descartada pela indústria (ROCHA *et al.*, 2011).

Desejando-se, a partir do bagaço de caju, obter xilitol, necessita-se primeiramente entender como essa biomassa está organizada. Albuquerque (2014) avaliou a capacidade de se produzir os álcoois, etanol e xilitol, utilizando o hidrolisado hemicelulósico proveniente do bagaço de caju como fonte de açúcares e a levedura *Kluyveromyces marxianus* CCA 510 no cultivo microbiano. Para conseguir liberar os açúcares no meio fermentativo foi realizada uma hidrólise ácida com ácido sulfúrico diluído (0,6 mol/L), o hidrolisado foi concentrado para aumentar o teor de açúcares e em seguida adicionou-se carvão ativado para se retirar os interferentes do meio. O bioprocessamento ocorreu em Erlenmeyers em agitador orbital sob as seguintes condições: 120 h, 30 °C e 200 rpm. Durante o processo, o microrganismo apresentou um crescimento celular de 13,03 g/L, os açúcares, glicose e xilose, apresentaram um consumo de 100,00% e 96,96% respectivamente,

conseguindo assim, após o consumo dos substratos, produzir os produtos de interesse, etanol e xilitol com produção de 15,10 g/L e 8,26 g/L respectivamente. Por fim a adição de fontes de nitrogênio no meio fermentativo influência significativa na produção de xilitol.

2.3 CRISTALIZAÇÃO

O processo de cristalização é um método de recuperação de um soluto dissolvido em uma solução que apresenta como vantagem acontecer em condições de baixas temperaturas e pressões. Assim, não existe a necessidade de um grande gasto com energia o que vem a tornar esse processo, economicamente falando, bastante atraente. Este procedimento é capaz de fornecer cristais que apresentam altíssima pureza, à vista disso, trata-se de um método largamente difundido em diversas indústrias que produzem materiais que necessitam de altos índices de pureza. O processo para separar sólidos de líquidos através do método de cristalização utiliza-se de procedimentos simples como: centrifugação, filtração e secagem.

Em comparação com outros processos de purificação, tem-se que a cristalização é a mais usualmente utilizada, pois a mesma tem a capacidade de produzir cristais uniformes e com grande pureza e desta forma tornar os processos posteriores de filtração e secagem muito mais simples para no final conseguir prover um produto que apresente características que consigam fazer com que o mesmo seja de mais fácil aprovação pelo consumidor final (BELTER *et al.*, 1988).

Na indústria, tanto a cristalização quanto a precipitação e a destilação são considerados as operações unitárias mais utilizadas no mundo (Mullin, 2001). Cerca de 70% dos produtos comercializados nas indústrias químicas se encontram na fase sólida, desta maneira a análise de um processo como a cristalização torna-se de suma importância, pois a mesma além de garantir a separação dos sólidos no líquido, garante também uma melhor conformidade dos cristais formados, conseguindo assim um produto que apresenta um melhor aspecto ao consumidor fazendo com que o mesmo seja mais facilmente aceito no mercado (Giullietti *et al.*, 2001).

Tem-se que em vários processos de produção, a cristalização representa entre 20-80% do valor do produto final e como em diversas indústrias, (processos e farmacêuticas), nos quais mais da metade encontram-se no estado sólido, existe uma grande necessidade do estudo sobre o processo de cristalização, que garantirá assim uma melhor homogeneidade e uma perfeição dos cristais no produto formado (WHEELWRIGHT, 1987; DERENZO, 1994; SCHEEL, 2000; GIULIETTI *et al.*, 2001; ROSMALEN *et al.*, 2003).

Tanto a cristalização como a precipitação são processos capazes de promover a separação dos componentes sólidos do meio líquido, porém a maior diferença entre os processos se dá na forma e tamanho dos componentes sólidos, que enquanto na cristalização tem-se a formação da fase sólida que apresentam forma e tamanho muito bem definidos, na precipitação acontece que os componentes sólidos apresentam como característica serem amorfos e forma mal definida (Belter *et al.*, 1988).

Para ocorrer a cristalização existe a necessidade de acontecer a condição de supersaturação que é um estado de não-equilíbrio sólido-líquido diferente dos mais convencionais que são as soluções saturadas e insaturadas. Na supersaturação, tem-se que a concentração do soluto na solução é maior que a da solução saturada, porém ainda não ocorreu a precipitação. A supersaturação é uma condição necessária para o processo de cristalização, desta maneira, tanto a velocidade de crescimento quanto a velocidade de nucleação só aconteceram quando houver na solução uma condição de supersaturação.

E em uma mesma temperatura pode ocorrer diferentes níveis de supersaturação na solução. Foi então em 1897, que Ostwalt estabeleceu os conceitos de instabilidade e metaestabilidade que teriam como objetivo determinar o grau de supersaturação da solução, esses conceitos irão descrever como o momento em que irá ou não ocorrer a geração espontânea de sólidos e tem-se que a zona metaestável é representada pelo intervalo da supersaturação compreendido entre a condição de instabilidade e a condição de metaestabilidade (MULLIN, 1961).

A cristalização acontece a partir do momento em que se tem uma instabilidade no meio, ocorrendo assim o aparecimento de partículas sólidas na

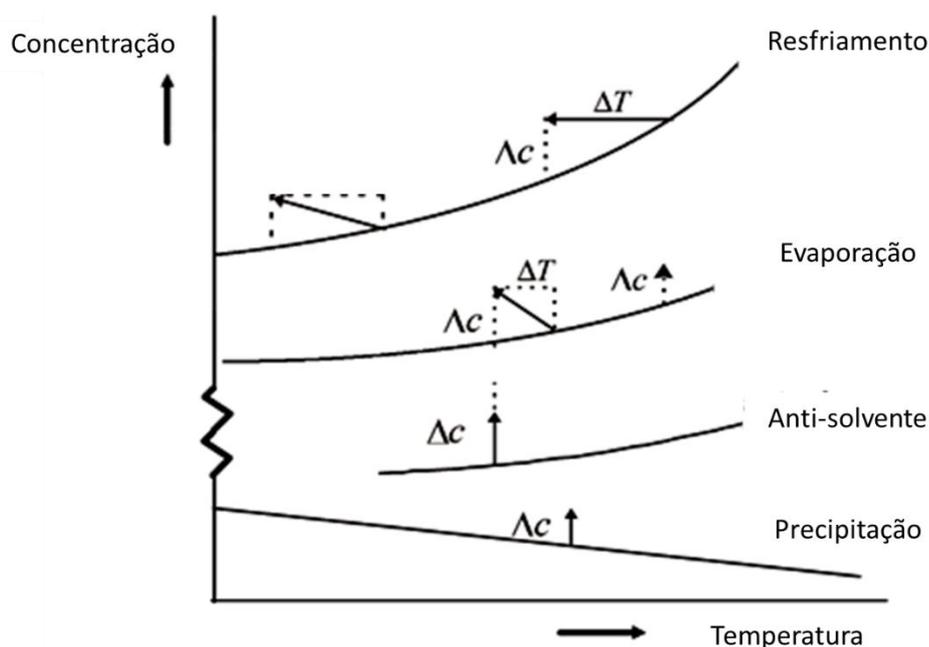
solução, a causa da instabilidade advém de transformações que ocorrem nas propriedades físicas do meio, normalmente muda-se as condições de concentração e temperatura para conseguir gerar instabilidade no meio e assim provocar o surgimento das partículas sólidas, cristais. Ao final do processo, esses cristais são encontrados em diferentes formas e tamanhos, necessitando, desta maneira, uma caracterização dos mesmos (DERENZO, 1994).

Um cristal nada mais é do que uma estrutura com três dimensões que apresenta forma de grade espacial e é extremamente sistemático. Essa grade espacial é constituída por átomos, íons ou moléculas e mesmo ocorrendo uma grande diferenciação no tamanho das faces, para um mesmo componente, tem-se que as angulações provocadas pelas faces apresentaram o mesmo valor (BELTER *et al.*, 1988).

Existem três tipos de estado de equilíbrio em uma solução que se encontra num sistema sólido-líquido, que são: insaturada, saturada e supersaturada, sendo essa última a mais importante, pois é a que possibilita a ocorrência do processo de cristalização (NÝVLT *et al.*, 1985; MULLIN, 1961). Tem-se diversas formas de se conseguir chegar na condição de supersaturação (NÝVLT *et al.*, 1985; van ROMASLEN *et al.*, 2003), e essa é uma condição na qual a quantidade de soluto presente na solução ultrapassa a condição de equilíbrio, saturação, porém não ocorre o fenômeno da precipitação do soluto e a solução continua homogênea (JANCIC, GROOTSCHOLTEN, 1984; BELTER *et al.*, 1988). A condição de supersaturação pode ser obtida por diversos métodos como: adição de anti-solvente, evaporação, resfriamento ou precipitação (NÝVLT *et al.*, 1985; NÝVLT *et al.*, 2001; GIULLIETTI *et al.*, 2001; van ROMASLEN *et al.*, 2003).

Na Figura 3, é possível observar o comportamento das curvas típicas de solubilidade e qual é a melhor condição de cristalização a ser usada de acordo com a curva obtida.

Figura 3- Curvas típicas de solubilidade.



Fonte: van ROMASLEN *et al.*, (2004).

Tem-se que na condição de resfriamento ocorre nucleação secundária e formação de cristais grandes, já na evaporação ocorre também nucleação secundária e formação de cristais grande, na adição de anti-solvente ocorre a nucleação primária e secundária e formação de cristais de tamanho médio e por fim na precipitação ocorre a nucleação primária com formação de cristais pequenos.

Na cristalização existem dois tipos de nucleação; a primária na qual o aparecimento dos cristais ocorre na ausência de cristais, podendo ocorrer nas paredes do próprio cristalizador, e a secundária, na qual o aparecimento de cristais só ocorrerá mediante a presença dos cristais, podendo ocorrer por fragmentos do processo da nucleação primária ou por adição de cristais ao cristalizador. Para conseguir fazer com que a nucleação aconteça, deve-se causar uma perturbação na solução, seja por meio de agitação, choque mecânico, fricção ou pressões externas. Porém, primeiro do que a formação dos cristais, terá que existir uma quantidade de núcleos necessária para agir como centro de cristalização (MULLIN, 1992).

As características intrínsecas dos cristais como tamanho, pureza e propriedades físicas são determinadas no momento em que acontece a

formação dos núcleos cristalinos, desta maneira tem-se que o controle da velocidade de nucleação se apresenta de suma importância no mecanismo de cristalização. As classificações dos mecanismos de cristalização são: primária homogênea, primária heterogênea, secundária por camada intermediária, secundária por cristais e secundária por contato (MULLIN, 1992; NÝVLT *et al.*, 2001; van ROMASLEN *et al.*, 2003).

Como já mencionado antes, na nucleação primária o surgimento dos cristais ocorre na ausência dos mesmos, desta maneira, tendo uma solução pura tem-se que a nucleação que ocorrerá seguirá o mecanismo de nucleação primária homogênea, já para acontecer o mecanismo da nucleação primária heterogênea necessita-se da presença de partículas sólidas estranhas como pó, coloides ou paredes do cristizador, pois esse tipo de mecanismo acontece por indução de partículas, e por fim, o também já mencionando mecanismo de nucleação secundário, acontece em suspensão cristalina ou pela indução de cristais do próprio soluto.

Todas essas cinéticas de nucleação podem ser determinadas por experimentos simples feitos em laboratório ou em escala piloto e em diferentes processos como batelada ou contínuo, no qual ambos promoveram a obtenção de uma forma mais rápida e confiável dos dados cinéticos necessários causando assim um menor risco no projeto final de um cristizador industrial (NÝVLT *et al.*, 2001). Na nucleação homogênea precisa-se de um nível de supersaturação muito alto que seja capaz de conseguir quebrar a barreira energética desse tipo de nucleação, já na nucleação heterogênea utiliza-se menores níveis de supersaturação para conseguir com quem aconteça o crescimento cristalino regular (DERENZO, 1994; NÝVLT *et al.*, 2001; van ROMASLEN *et al.*, 2003).

Como explicado anteriormente as nucleações secundárias são geradas por adição de cristais em soluções sólido-líquido, cujo equilíbrio se encontra na supersaturação. E MULLIN, (1992), NÝVLT *et al.*, (2001), van ROMASLEN *et al.*, (2003) conseguem explicar melhor as diferenças nos tipos de nucleações secundárias citadas anteriormente, na qual a nucleação secundária aparente acontece a partir da adição de cristais no meio supersaturado que com isso ocasiona o desprendimento do soluto da solução fazendo assim o surgimento de outros cristais e auxiliando na formação de novos núcleos cristalinos. Já a

nucleação secundária por contato origina-se da indução causada pelo atrito e partindo-se do princípio que a superfície cristalina não pode ser considerada completamente lisa, suas falhas então formaram núcleos de diversos tamanhos (MULLIN, 1992; NÝVLT *et al.*, 2001; van ROMASLEN *et al.*, 2003).

E por fim, tem-se que a nucleação secundária na camada intermediária, que acontece entre as áreas do cristal e da solução que explica que acontece a formação de blocos que saem da solução em direção ao cristal conseguindo, desta maneira, produzir outros núcleos no processo. A agitação é influenciadora da velocidade de nucleação secundária (NÝVLT *et al.*, 2001), desta maneira, quanto maior for a sua agitação, maior será o número de interações entre os cristais, entre os cristais e o impelidor do agitador e também entre os cristais e as paredes do cristalizador.

De acordo com os resultados obtidos por Albuquerque (2014), tem-se que o bagaço de caju se apresentou como um substrato favorável e possível para ser utilizado para produção de dois bioprodutos de interesse, etanol e xilitol, a partir da fermentação utilizando-se a levedura *Kluyveromyces marxianus* CCA 510. Com base nessas informações, nesse trabalho realizou-se a produção biotecnológica de xilitol pela levedura *Kluyveromyces marxianus* ATCC36907 usando o hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju como meio de cultivo, e em seguida iniciou-se os estudos acerca da cristalização para recuperação do xilitol, mostrando, desta maneira, a relevância desse trabalho.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATÉRIA-PRIMA – MATERIAL LIGNOCELULÓSICO- BAGAÇO DE CAJU

A matéria-prima utilizada, para produção do xilitol, foi o bagaço de caju, o qual foi doado pela empresa Jandaia Sucos do Brasil S/A. Para sua utilização o bagaço é lavado com água e a retirada da água ocorre por prensagem. Após o bagaço de caju foi seco em estufa Tecnal TE-397/4 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) a 60 °C durante 24 h. Posteriormente o bagaço foi triturado e peneirado, para ocorrer à padronização do tamanho no qual selecionou-se partículas que ficaram entre as peneiras de 20-80 Mesh (0,25-0,84 mm de diâmetro). Após essas etapas o material padronizado foi estocado a temperatura ambiente (25 °C) até ser utilizado.

3.1.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

Após a preparação do bagaço de caju, foi feita a caracterização da matéria-prima para se determinar porcentagem de celulose, hemicelulose e lignina presente na biomassa *in natura*. Tal caracterização foi também realizada na fase sólida proveniente do processo de hidrólise ácida branda. Caracterizou-se segundo metodologia proposta por Gouveia *et al.*, (2009). E para determinar a quantidade de extraíveis (ceras e gorduras), sólidos totais e cinzas utilizou-se os protocolos: NREL/TP-510-42619 (Sluiter *et al.*, 2008a) e NREL/TP-510-42621 (Sluiter *et al.*, 2008b), respectivamente.

3.2 HIDRÓLISE ÁCIDA BRANDA DO BAGAÇO DE CAJU

De acordo com as melhores condições obtidas nos estudos realizados por Rocha (2014) e Albuquerque (2014) e com o intuito de conseguir a maior quantidade de xilose, foi realizada uma hidrólise ácida branda no bagaço de caju. A hidrólise em autoclave a 121 °C por 30 min utilizando uma solução de ácido sulfúrico 0,6 M e uma proporção de 20% (m/v) de bagaço de caju. Após o

processo de hidrólise, a solução e a mesma é filtrada, na qual ocorrem as separações das fases sólida e líquida.

Na fase líquida, hidrolisado rico em xilose, ocorre o ajuste de pH para 6,0 usando Ca(OH)_2 , que é o pH ótimo para o crescimento da levedura (*Kluyveromyces marxianus* ATCC36907). Durante o procedimento de ajuste de pH ocorre a formação de um precipitado que pode vir a conter componentes tóxicos que causam interferência no bioprocesso. Desta maneira, foi realizada uma nova filtração da solução para utilizar apenas a fase líquida para produção de xilitol.

3.3 MICRORGANISMO

Nesse trabalho, utilizou-se a levedura *Kluyveromyces marxianus* ATCC36907 para a produção de xilitol, a qual foi obtida a partir da Coleção de Culturas Tropicais - CCT na Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia - André Tosello. As culturas foram conservadas em Ágar YEPD (*Yeast Extract Peptone Dextrose*) inclinado composto por extrato de levedura, 10 g.L^{-1} , peptona 20 g.L^{-1} , dextrose, 20 g.L^{-1} , e ágar, 20 g.L^{-1} a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ e em caldo YEPD (extrato de levedura, 10 g.L^{-1} , peptona 20 g.L^{-1} e dextrose, 20 g.L^{-1}) contendo glicerol (50%) a -8°C .

3.4 CONDIÇÕES DE CULTIVO

Para inicializar o processo de preparo do inóculo ocorreu inicialmente a ativação da levedura em meio ágar YEPD e incubada a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 h em estufa bacteriológica Tecnal TE-397/4 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil). Posteriormente a ativação, fez-se o repique das placas transferindo três alçadas de colônia para 50 mL de meio do inóculo, que continha glicose, 20 g.L^{-1} , uréia, $0,4 \text{ g.L}^{-1}$; KH_2PO_4 , $1,2 \text{ g.L}^{-1}$, Na_2HPO_4 , $0,18 \text{ g.L}^{-1}$, e extrato de levedura, 10 g.L^{-1} a pH 4,5, e esse inóculo foi incubado em um agitador orbital a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, 180 rpm por 24 h. Após, mediu-se a concentração celular a partir da absorbância (no comprimento de onda de 600 nm) em espectrofotômetro

(Biochrom, Libra S22) e calculou-se a concentração celular a partir das curvas padrões em base de massa seca.

3.5 PRODUÇÃO DO XILITOL

De acordo com as melhores condições obtidas nos estudos realizados por Albuquerque (2014), realizou-se a produção biotecnológica de xilitol utilizando o hidrolisado hemicelulósico de bagaço de caju como meio fermentativo. A produção ocorreu em frascos Erlenmeyers de 250 mL com 100 mL de meio, incubados em um agitador orbital (Tecnal – TE 422, Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) a 30 °C, 180 rpm por 96 h, na qual amostras eram retiradas a cada 24 h, para quantificar a biomassa e determinar o consumo de açúcares e formação dos produtos (xilitol e etanol). A concentração de inóculo no início da reação foi de 10% (v/v).

Após o processo ocorreu a separação das células do meio por centrifugação a 4500 rpm, 4 °C por 20 minutos. E com a retirada das células a fase líquida foi estocada para em seguida dar início aos processos de recuperação e cristalização de xilitol.

3.6 CONCENTRAÇÃO DO MEIO CONTENDO XILITOL

A fim de se conseguir uma maior concentração de xilitol para iniciar o processo de cristalização realizou-se a concentração de xilitol por evaporação num evaporador rotativo (Quimis, Q344B) acoplado a um banho termostatizado (Tecnal, TE-2005). O procedimento ocorre sob condições de baixas pressões, temperaturas e rotações (-600 mmHg, 50 °C e 30 rpm).

3.7 CURVAS DE SOLUBILIDADE

Para se estudar o processo de cristalização, inicialmente foram feitas curvas de solubilidade do xilitol, glicose e xilose em diversas misturas como: água, água- etanol 50% (v/v), água- isopropanol 50% (v/v), água-líquido iônico prótico acetato de 2- hidroxietanolamina 50% (m/v). O líquido iônico foi

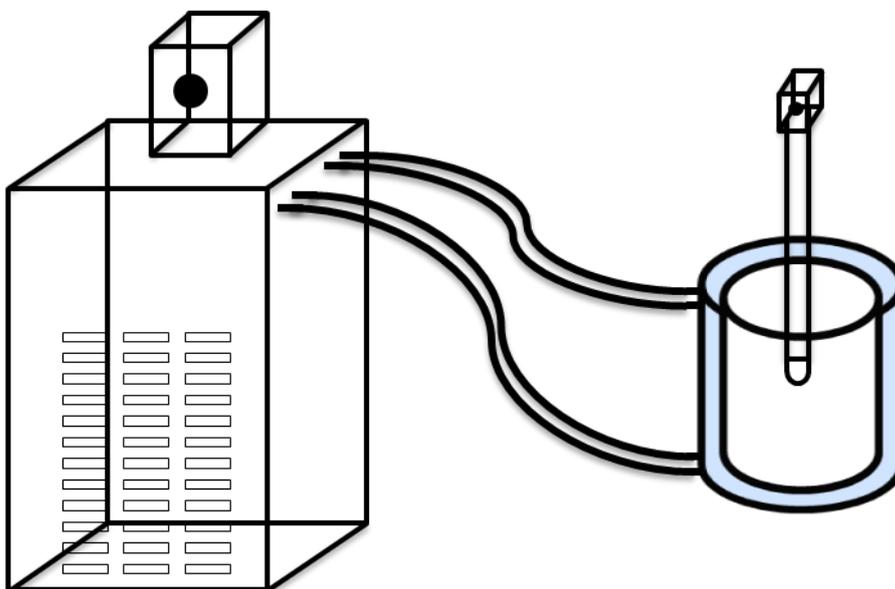
sintetizado de acordo com os estudos realizados por Reis (2016) no Grupo de Pesquisa em Termofluidodinâmica Aplicada (GPTA), com as temperaturas variando entre 5 °C e 70 °C. Esse procedimento foi realizado em um cristalizador com volume de 50 mL, provido de um agitador, com agitação constante de 750 rpm. Para conseguir manter a temperatura estável utiliza-se de um banho termostático (LAUDA, ECO RE 420) com refrigeração, aquecimento e controle de rampa de temperatura. Tal sistema é mostrado na Figura 4.

Os cálculos de coeficiente de atividade e fração molar foram realizados de acordo com as Equações a (1) e (2), no qual γ_{BP} corresponde ao coeficiente de atividade, x_{BP} é a fração mássica, $\Delta_{fus}H$ é a variação de entalpia, em outras palavras significa a quantidade de calor que um sistema absorve ou libera, T_m é a temperatura na qual foi medido o delta H.

$$\gamma_{BP} = \frac{1}{x_{BP}} \exp \left\{ -\frac{\Delta_{fus}H}{RT} \left[1 - \frac{T}{T_m} \right] \right\} \quad (1)$$

$$x_{BP} = \frac{n_{xilitol}}{n_{total}} \quad (2)$$

Figura 4- Equipamento utilizado para determinação das curvas de solubilidade e cristalização.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.8 CRISTALIZAÇÃO DO XILITOL

Após observado o comportamento das curvas de solubilidade, estudou-se o processo de cristalização, no qual avaliou-se a temperatura de saturação (T) e velocidade de resfriamento linear (V_R), mantendo-se constante a velocidade de rotação durante todo o experimento bem como a temperatura final do processo de cristalização. Realizaram-se experimentos de cristalização usando xilitol PA e o meio de cultivo processado e concentrado. Avaliaram-se também diferentes antissolventes: etanol, isopropanol e líquido iônico prótico acetato de 2- hidroxietanolamina (2-HEAA). Durante o processo de cristalização esses antissolventes tiveram sua proporção variada entre 50% e 70% para avaliar possíveis melhorias no processo. A temperatura do processo iniciava a 10 °C acima da temperatura de saturação, obtida a partir da curva de solubilidade e terminava em 5 °C. O tempo de cristalização variou com a velocidade de resfriamento linear (V_R) entre 0,25 °C/min e 0,5 °C/min.

A cinética de cristalização foi realizada avaliando a concentração inicial de xilitol de 400 g/L e 200 g/L a qual a cristalização ocorreu a temperatura constante 5°C por 24 h. Realizaram-se cálculos de rendimento e pureza, de acordo com os resultados obtidos em HPLC, da cristalização e qual antissolvente e velocidade de resfriamento linear (V_R) apresentaram melhores resultados. Os ensaios de cristalização foram realizados no equipamento mostrado na Figura 4.

3.9 MÉTODOS ANALÍTICOS

As concentrações dos carboidratos (glicose, xilose e arabinose) e do xilitol, proveniente tanto do processo fermentativo como da cristalização realizada, foram medidas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, utilizando um sistema de HPLC (Waters, Milford, MA, EUA) equipado com um detector de índice de refração Waters (modelo 2414) e com uma coluna Aminex HPX-87H (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). A solução de H_2SO_4 a 5 mmol/L preparada com Água MiliQ (Simplicity 185, Millipore, Billerica, MA) foi utilizada como fase móvel com vazão de 0,5 mL/min a 65 °C. O volume de injeção das amostras foi padronizado em 20 μ L e os picos foram comparados

com o tempo de retenção dos padrões previamente definidos dos constituintes de interesse identificados. Já para se determinar o crescimento microbiano, utilizou-se a turbidez por densidade ótica determinada no comprimento de onda de 600 nm em espectrofotômetro. Para tanto fez-se necessário uma curva de calibração em função da concentração celular e da densidade ótica.

3.10 CARACTERIZAÇÃO DO XILITOL CRISTALIZADO

Com objetivo de caracterizar os cristais obtidos nas diferentes condições de cristalização, as amostras foram submetidas a análise de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e comparadas com os espectros obtidos para os carboidratos padrões (glicose, xilose e xilitol). Os espectros foram medidos entre 4000 cm^{-1} e 600 cm^{-1} com resolução espectral de 1 cm^{-1} , no equipamento Cary 630 da Agilent Technologies. Essa análise foi realizado pelo Grupo de Pesquisa em Termofluidodinâmica Aplicada GPTA.

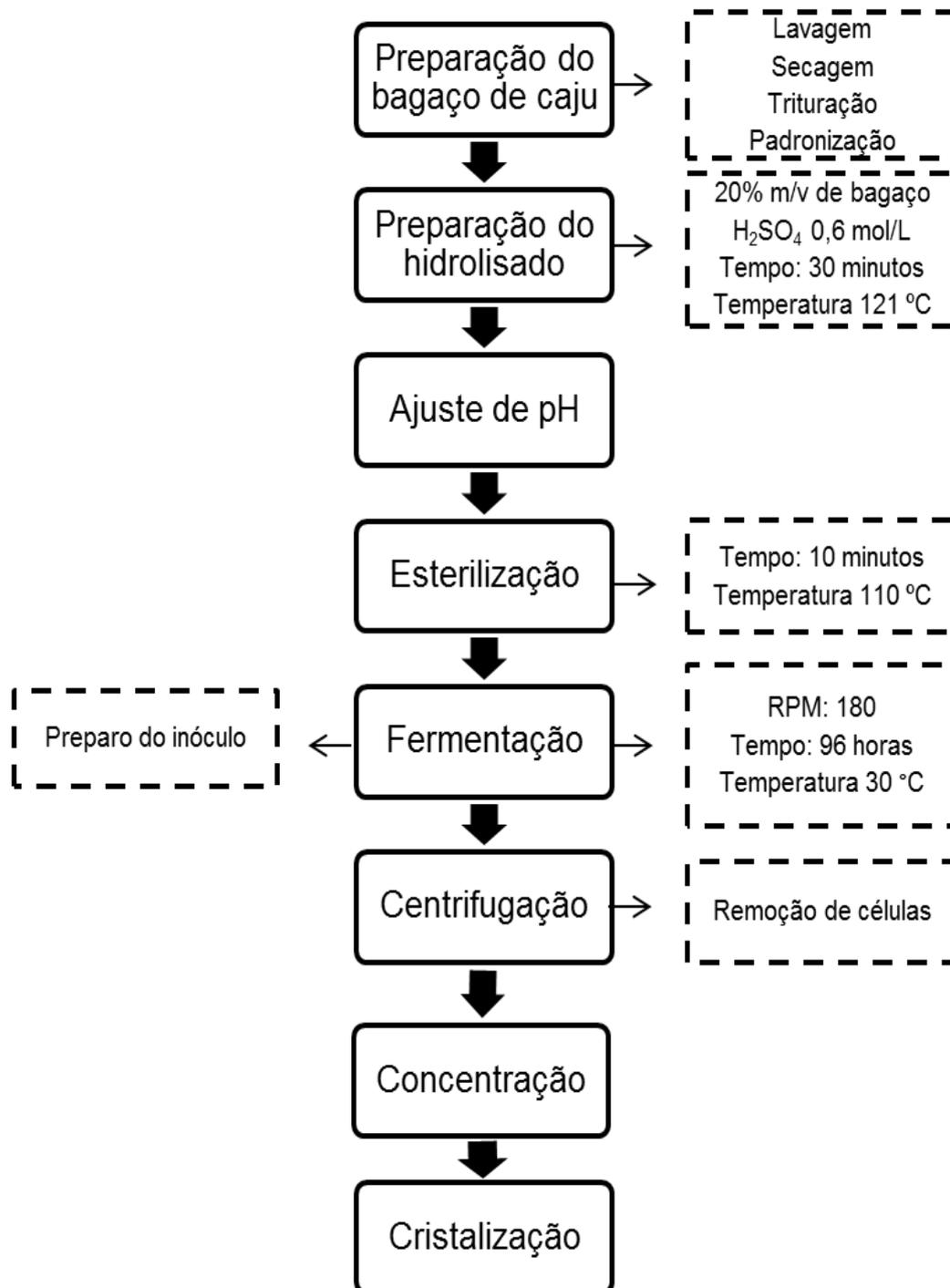
A metodologia de difração de raio-X foi realizada no laboratório de raio x da Universidade Federal do Ceará (UFC), utilizando-se o equipamento PANalytical X'Pert PRO com as seguintes condições de angulação: 2θ Inicial: 10° , 2θ Final: 100° , $\Delta\theta$: 0.013° .

Já a metodologia da microscopia, utilizou-se um microscópio estereoscópio modelo 745 T da marca Nikon acoplada a uma câmera INFINITY 1. Tal microscopia foi realizada com aumento de 15 vezes.

3.11 REPRESENTAÇÃO DO PROCESSO

A Figura 5 ilustra o fluxograma de todo o processo realizado dividido em 11 etapas, desde o preparo do meio hidrolisado até o momento da cristalização do xilitol.

Figura 5- Fluxograma do processo de produção e cristalização do xilitol a partir do bagaço de caju



Fonte: Elaborado pelo autor.

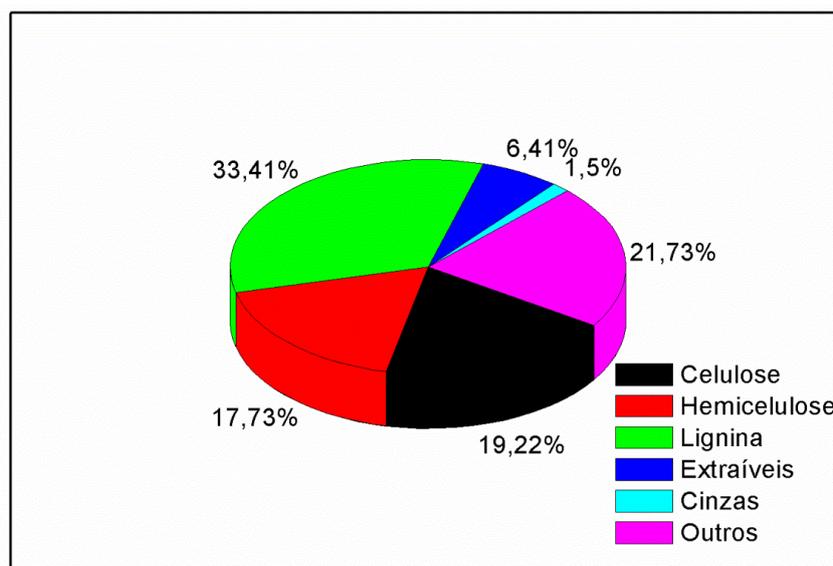
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO BAGAÇO DE CAJU E DO HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DO BAGAÇO DE CAJU

Para iniciar o processo de produção por cultivo microbiano e cristalização de xilitol, precisa-se inicialmente determinar qual a composição da matriz lignocelulósica

O bagaço de caju *in natura* apresenta 19,22% de celulose, 17,73% de hemicelulose, 33,41% de lignina total, 6,41% de extraíveis e 1,5% de cinzas (conforme Figura 6). Saha e Cotta, (2007) alcançou 35,6% de celulose, 11,9% de hemicelulose e 15,4% de lignina utilizando casca de arroz. ROCHA *et al.*, (2011) com bagaço de cana conseguiu 45,5% de celulose, 17,0% de hemicelulose e 21,1% de lignina. Govumoni *et al.*, (2013) no seu estudo utilizando a palha de trigo como matéria-prima obteve quantidades de 32,6% de celulose, 24,7% de hemicelulose e 20,6% de lignina. Diferentemente do comportamento para celulose, observou-se que o teor de hemicelulose do bagaço de caju foi bastante próximo se comparado com outras fontes de materiais lignocelulósicos.

Figura 6 - Composição percentual do bagaço de caju *in natura*



Fonte: Elaborado pelo autor.

Por apresentar valor satisfatório de hemicelulose no bagaço de caju *in natura* o mesmo foi submetido ao pré-tratamento ácido a fim de se obter um hidrolisado hemicelulósico rico em xilose.

Em seguida, o bagaço de caju pré-tratado foi caracterizado e sua composição está apresentada na Tabela 6.

Tabela 6 - Caracterização química percentual do bagaço de caju *in natura* e após o tratamento com: H₂SO₄ 0,6M, H₂O₂ 4,3% e NaOH 4%.

Tratamento	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Extraíveis (%)	Cinzas (%)
<i>In natura</i>	19,22	17,73	33,41	6,41	1,5
H₂SO₄ 0,6M	19,30	4,53	54,85	22,54	2,30

Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com os dados obtidos a partir da Tabela 6, tem-se que após a hidrólise ácida o bagaço de caju apresenta elevado teor de lignina e uma redução nos seus valores percentuais de hemicelulose, indicando que a maior parte da hemicelulose foi hidrolisada.

Nesse estudo foi possível obter, nas condições de hidrólise empregadas, um total de 11,87 g/L de xilose.

A concentração de xilose no meio hidrolisado é superior a de alguns autores que obtiveram resultados menores como Castro *et al.*, (2013) no seu estudo com madeira de eucalipto obteve 7,4 g/L do referido açúcar e ainda Mateo *et al.* (2013) também obteve quantidade inferior, apresentando um valor de 2,7 g/L no seu trabalho com podas de oliveira. Por outro lado, mostrou-se inferior ao resultado obtido por Fonseca *et al.* (2011) que obteve valores de 46,4 g/L, 46,8 g/L e 35,2 g/L ao utilizar casca de café, palha de cana e palha de milho respectivamente em suas pesquisas.

Já a concentração de glicose presente nesse estudo foi de 15,66 g/L, resultado considerado bastante elevado se comparado com o trabalho desenvolvido por Huang *et al.* (2011) ao utilizar palha de arroz no qual conseguiu concentração de glicose igual a 4,5 g/L. Enquanto Zhang *et al.*, (2012) a partir de resíduos hortícolas alcançou concentração de glicose de 8,5 g/L.

Desta maneira, a partir da hidrólise ácida foi possível liberar uma quantidade total de açúcares equivalente a 27,53 g/L, açúcares esses oriundos da celulose e hemicelulose da biomassa, esses açúcares tem papel importante no bioprocessamento tanto para o crescimento microbiano quanto para a produção de xilitol, assim, observou-se que o hidrolisado do bagaço de caju obtido a partir do pré-tratamento ácido exibe altas concentrações de açúcares fermentescíveis (glicose e xilose) e também baixos valores de concentração de componentes inibitórios ao processo fermentativo (furfural e 5-hidroximetilfurfural).

Devido a sua alta concentração de açúcares fermentescíveis tem-se que o hidrolisado ácido hemicelulósico do bagaço de caju se apresenta como um meio bastante favorável. A Tabela 7 apresenta a composição dos açúcares fermentescíveis provenientes de diferentes biomassas, é possível observar, que alguns pesquisadores apresentaram, após tratamento equivalente, resultados próximos ao hidrolisar outras biomassas lignocelulósicas. Observa-se que Misra, Raghuwanshi e Saxena (2013) ao hidrolisar sabugo de milho apresentou valores de 24,3 g/L de açúcares fermentescíveis. Já Canilha (2006) obteve aproximadamente 27,68 g/L ao hidrolisar palha de trigo. Também consta que Martinez (2005) no seu trabalho com bagaço de cana de açúcar conseguiu obter 25,42 g/L de açúcares.

Tabela 7 - Composição de hidrolisados hemicelulósicos obtidos de diferentes materiais lignocelulósicos expressados em concentração de carboidratos.

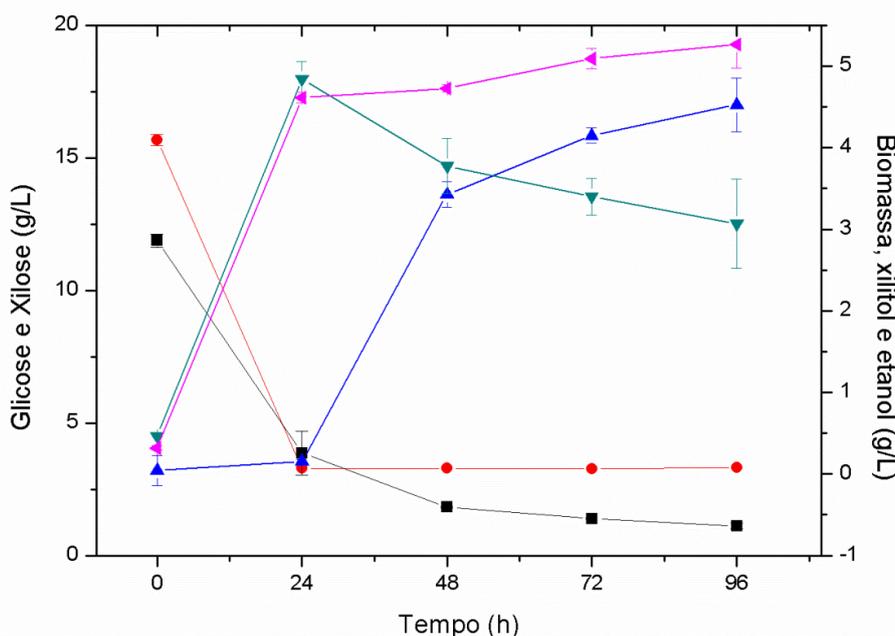
Biomassa	Composição (g/L)		Condições	Referência
	Glicose	Xilose		
Bagaço de caju	15,66	11,87	121°C; H ₂ SO ₄ 0,6 M; 20% m/v; 30 min	Presente trabalho
Madeira de eucalipto	0,3	7,4	H ₂ SO ₄ 3% 121 °C 1 h	Castro <i>et al.</i> , 2013
Podas de oliveira	5,8	2,7	H ₂ SO ₄ 2% 120 °C 90 % 1/10 m/v	Mateo <i>et al.</i> , 2013
Sabugo de milho	3,4	20,9	H ₂ SO ₄ 1% 1/8 m/v 30 min 121 °C	Misra, Raghuwanshi e Saxena, 2013
Sabugo de milho	2,8	21,7	H ₂ SO ₄ 1% 125°C 1 h	Ping <i>et al.</i> , 2013
Palha de trigo	8,18	19,50	H ₂ SO ₄ 1% 1,76 kg/20 L 121 °C 20 min	Canilha, 2006
Bagaço de cana de açúcar	1,05	24,37	65 ml H ₂ SO ₄ 98% T 145-150 °C 30 min 3,5 kg/20 L	Martinez, 2005
Serragem de madeira	4,2	18,5	H ₂ SO ₄ 4% 125 °C 60 min 1/8 m/v	Rafiqul e Sakinah, 2012
Sabugo de milho	3,3	31,3	H ₂ SO ₄ 1% 121 °C 40 min 1/10 m/v	Li <i>et al.</i> , 2012
Resíduos hortícolas	8,5	36,5	Etanol 70% na presença de H ₂ SO ₄ 1% 1/8 m/v 65 °C 4 h	Zhang <i>et al.</i> , 2012
Palha de milho	2,4	35,2	H ₂ SO ₄ 2,9% 130 °C 30 min 1/4 m/v	Fonseca <i>et al.</i> , 2011
Palha de cana de açúcar	9,2	46,8	H ₂ SO ₄ 2,9% 130 °C 30 min 1/4 m/v	Fonseca <i>et al.</i> , 2011
Palha de arroz	4,5	25,9	H ₂ SO ₄ 2,9% 130 °C 30 min 1/4 m/v	Huang <i>et al.</i> , 2011
Casca de café	28,0	46,4	H ₂ SO ₄ 2,9% 130 °C 30 min 1/4 m/v	Fonseca <i>et al.</i> , 2011
Bagaço de cana de açúcar	6,0	18,0	100 mg de H ₂ SO ₄ /g de material seco 121°C 10 min	Branco, Santos e Silva, 2011
Bagaço de abacaxi	29,9	27,6	H ₂ SO ₄ 2% 20 min 140 °C 1/10 m/v	Silva, 2011
Bagaço de malte	6,2	14,9	H ₂ SO ₄ 2% 121 °C 15 min	Carvalho <i>et al.</i> , 2005

Fonte: Adaptado de Albuquerque 2014

4.2 PRODUÇÃO DE XILITOL

Pelos resultados apresentados na Figura 7, constatou-se que nenhum dos açúcares foi totalmente consumido, restando ainda, ao final do processo fermentativo, aproximadamente 21,12 % de glicose e 9,34 % de xilose. A produção de xilitol iniciou-se após as primeiras 24 horas, obtendo 0,16 g/L. Muito provavelmente esse resultado foi obtido devido ao maior valor de glicose no meio, pois a levedura consome preferencialmente nas horas iniciais a glicose e não a xilose, açúcar responsável pela produção de xilitol. A maior concentração de xilitol foi obtida após 96 horas de reação atingindo um valor de 4,53 g/L. Já o crescimento microbiano ocorre rapidamente nas primeiras 24 horas e se mantém aproximadamente constante no decorrer do processo atingindo um valor máximo de 5,27 g/L após 96 horas de cultivo. E por fim a concentração máxima de etanol foi obtida após as 24 horas iniciais de reação conseguindo um valor de 4,84 g/L e esse valor foi diminuindo no decorrer do ensaio atingindo uma concentração de 3,06 g/L no final do processo, indicando que provavelmente parte do etanol foi evaporada.

Figura 7 – Perfil do processo microbiano usando o meio hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju par avaliar a produção de xilitol a 30 °C e 180 rpm por *Kluyveromyces marxianus* ATCC36907: glicose (●), xilose (■), biomassa (◀), xilitol (▲), etanol (▼).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Foram estudados os principais resultados dos parâmetros oriundos no trabalho da produção de xilitol que foram: consumo de xilose, consumo de glicose, concentração de xilitol, concentração celular, produtividade e rendimento de produto por substrato.

O consumo da glicose, xilose e o crescimento celular foram iguais a 12,36 g/L, 10,77 g/L e 5,26g/L, respectivamente. Foi possível observar que o valor de $Y_{P/S}$ (0,42 g/g) foi considerado significativo, tendo em vista o resultado obtido por outros autores. A produtividade (0,047 g/L.h) e a produção de xilitol (4,52 g/L) foram consideradas baixas, em comparações a outros estudos, porém o meio de produção destes continha altas concentrações de xilose.

Os parâmetros de produção obtidos por outros autores foram semelhantes ao presente estudo Albuquerque, (2014) alcançou valores de rendimento igual a 0,523 g/g ($Y_{P/S}$), produtividade 0,109 g/L.h e uma produção máxima de xilitol de 7,85 g/L ao utilizar *Candida tropicalis* durante 120 horas de reação, e utilizando a *Kluyveromyces marxianus* CCA 510, durante as mesmas 120 horas de reação, obteve-se 0,363 g/g de rendimento ($Y_{P/S}$), 0,070 g/L.h de produtividade e 6,76 g/L de produção de xilitol. Canilha (2006) citou uma produção máxima de xilitol de 22,5 g/L, produtividade volumétrica 0,31 g/L e um rendimento de 0,45 g/g ($Y_{P/S}$) durante 72 horas de reação utilizando o hidrolisado hemicelulósico da palha de trigo concentrado, contendo inicialmente 21,20 g/L de glicose e 59,77 g/L de xilose, na produção de xilitol por *Candida guilliermondii* FTI 20037. Silva e Roberto (2001) no processo de produção de xilitol a partir da *Candida guilliermondii* usando hidrolisado hemicelulósico da palha de arroz constataram, como resultados mais significativos, uma produção de 52,0 g/L de xilitol e um rendimento de 0,65 g/g a partir de 82 g/L de xilose. Diz *et al.*, (2002) conseguiu obter utilizando a *Debaryomyces hansenii* no hidrolisado de madeira de eucalipto 40 g/L de xilitol, 40 g/L.h de produtividade volumétrica e 0,50 g/L de rendimento a partir de 80 g/L de xilose durante 100 horas de reação. Converte *et al.*(1999) no seu estudo sobre a produção de xilitol utilizando a *Pachysolen tannophilus* no hidrolisado de madeira dura conseguiu produzir 39,5 g/L de xilitol a partir de 89 g/L de xilose durante as 96 horas de reação conseguindo assim um rendimento de 0,44 g/g e uma produtividade de 0,41 g/L.h. Por fim, Mussato e Roberto (2004) na sua pesquisa sobre produção de xilitol utilizando a *Candida guilliermondii* e hidrolisado de palha de arroz

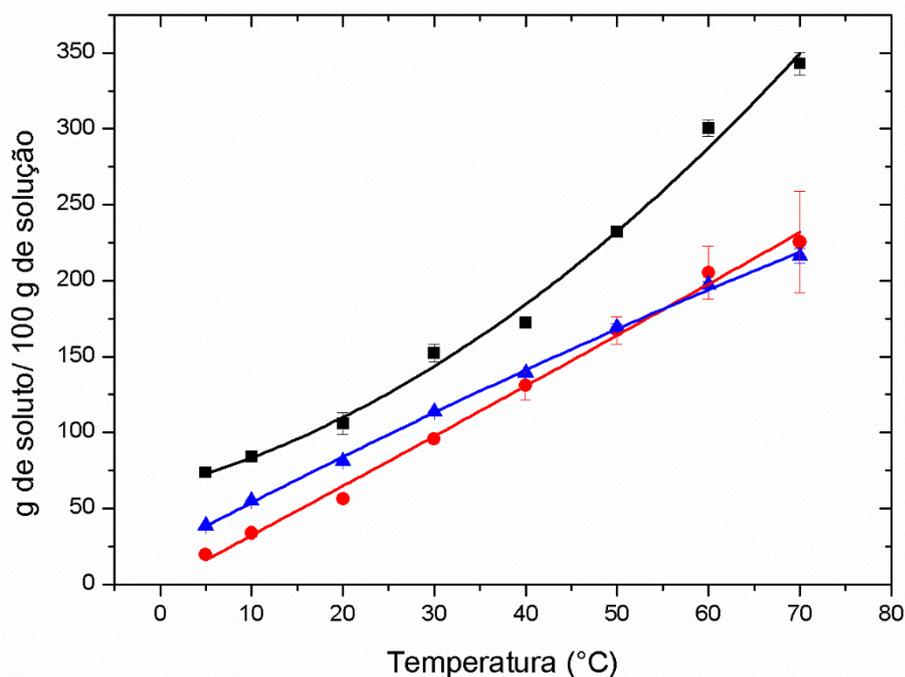
obtiveram 47,87 g/L de xilitol, 0,32 g/L.h de produtividade e 0,41 g/g de rendimento após as 116 horas de reação.

Desta maneira, foi constatado que os autores citados obtiveram valores tanto de produção de xilitol como de produtividade volumétrica maiores que os do presente trabalho. Essa discrepância pode ser explicada, pois no início do processo de produção de xilitol estes autores partiram de concentrações de xilose mais elevadas que a desse trabalho. Já quando se analisa os valores obtidos dos rendimentos observa-se que os mesmos foram bastante semelhantes ao dos autores o que constata a relevância desse resultado.

4.3 CURVAS DE SOLUBILIDADE

Nas Figuras 8, 9, 10 e 11 observa-se o comportamento da concentração de xilitol, glicose e xilose em diferentes temperaturas utilizando-se de 4 diferentes solventes, sendo eles: água, 50% (v/v) água e etanol, 50% (v/v) água e isopropanol e por fim, 50% (m/v) água e líquido iônico prótico 2-HEAA. Tais curvas foram construídas para o conhecimento dos graus de supersaturação que o sistema pode atingir e para auxiliar nos devidos balanços de massa que foram realizados durante o processo de cristalização. A importância do conhecimento dos graus de supersaturação é justificada, pois os antissolventes reduzem a solubilidade e assim, é atingido um ponto onde os cristais sofrerão nucleação e crescerão, formando cristais com maior pureza e averiguando assim as possíveis impurezas que podem ser formadas durante a etapa de cristalização.

Figura 8 - Curvas de solubilidade de xilitol (■), glicose (●) e xilose (▲) em água.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Observando a Figura 8, nota-se que o xilitol é bastante solúvel em água e é o soluto mais solúvel nesse solvente, observa-se que a medida que sua temperatura vai diminuindo de 70 °C para 5 °C sua concentração na solução vai diminuindo de 342,92 g/100 g de solução para 73,6 g/100 g de solução como esperado, porém tanto a altas como a baixas temperaturas o xilitol é, dos três componentes estudados, o soluto mais solúvel. A glicose apresenta comportamento diferente, a altas temperaturas sua solubilidade é elevada por volta de 225,42 g/100 g de solução a 70 °C, porém a partir dos 50 °C ela decai apresentando a menor solubilidade a baixas temperaturas obtendo 19,7 g/100 g de solução a 5 °C. E a xilose apresenta comportamento antagônico, pois a mesma é a menos solúvel a altas temperaturas, apresentando valor de 216,36 g/100 g de solução a 70 °C, e a baixas apresenta solubilidade intermediária com valor de 38,66 g/100 g de solução a 5 °C. Nesses estudos foram determinadas as equações das curvas de solubilidade para cada soluto, utilizaram equações de segundo grau e foi possível obter as Equações (3), (4) e (5).

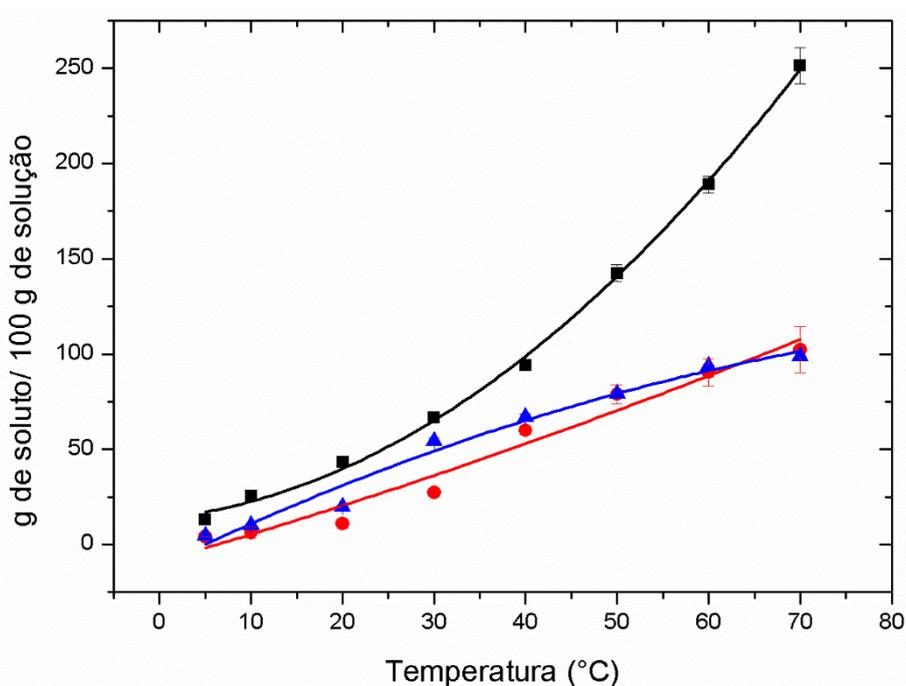
$$\text{Sol}_{\text{Xilitol}} (\text{g}/100 \text{ g}) = 0,035613 \cdot T^2 + 1,589274 \cdot T + 63,902381 \quad (3)$$

$$\text{Sol}_{\text{Glicose}} (\text{g}/100 \text{ g}) = 0,00147 \cdot T^2 + 3,207803 \cdot T - 0,037007 \quad (4)$$

$$\text{Sol}_{\text{xilose}} (\text{g}/100 \text{ g}) = -0,005372 \cdot T^2 + 3,180156 \cdot T + 22,513537 \quad (5)$$

Com os valores de R^2 na faixa de 0,99 indicando que a equação se adequou bastante aos pontos. Nos trabalhos realizados por Martínez (2005) e Serafim (2013) obteve-se também uma equação de segundo grau, ao se estudar a solubilidade do xilitol em água, com coeficiente de regressão na mesma faixa, mostrando assim uma consistência dos dados desse trabalho com a literatura.

Figura 9 - Curvas de solubilidade de xilitol (■), glicose (●) e xilose (▲) em 50% (v/v) água + etanol.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Figura 9 consta comportamento análogo a Figura 8 na qual se tem que o xilitol é o soluto mais solúvel na solução composta por 50% (v/v) água e etanol tanto na temperatura de 70 °C apresentando valor de 251,24 g/100 g de solução como na menor temperatura de 5 °C com valor de 13,08 g/100 g de solução. A 70 °C a glicose é o segundo soluto mais solúvel apresentando valor de 102,23 g/100 g de solução porém a medida que a temperatura diminui este carboidrato se torna o mais insolúvel, com apenas 4,12 g/100 g de solução a 5 °C. E a xilose apresenta solubilidade de 98,9 g/100 g de solução a 70 °C, sendo assim o soluto menos solúvel a altas temperaturas chega a apresentar

solubilidade de 4,76 g/100 g de solução a 5 °C. Nesses estudos foram determinadas as equações das curvas de solubilidade para cada soluto, utilizaram equações de segundo grau e foi possível obter as Equações (6), (7) e (8).

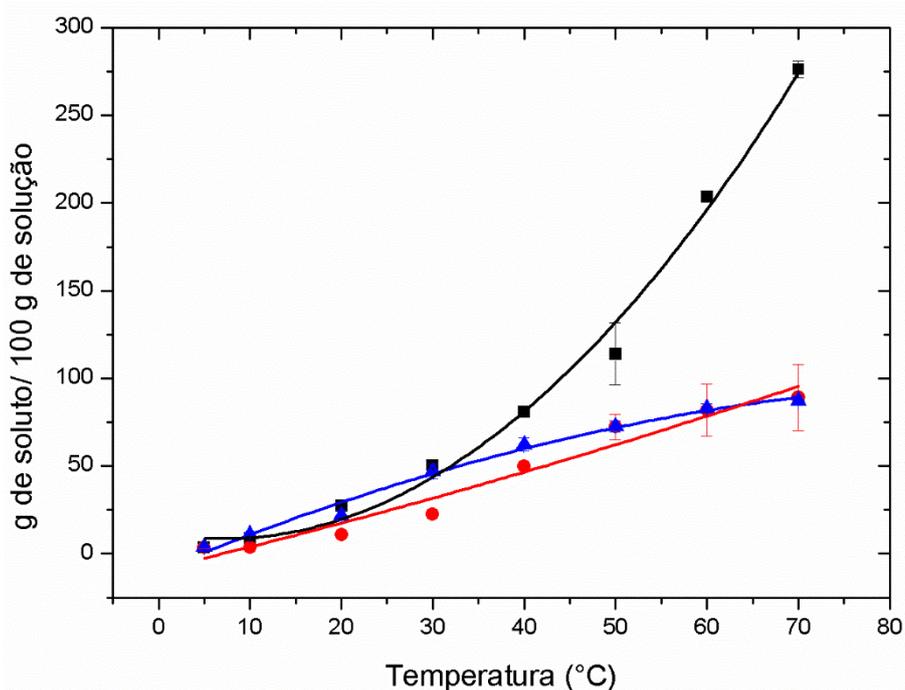
$$\text{Sol}_{\text{Xilitol}} \text{ (g/100 g)} = 0,041269 \cdot T^2 + 0,479663 \cdot T + 13,691497 \quad (6)$$

$$\text{Sol}_{\text{Glicose}} \text{ (g/100 g)} = 0,003981 \cdot T^2 + 1,385646 \cdot T - 8,861973 \quad (7)$$

$$\text{Sol}_{\text{Xilose}} \text{ (g/100 g)} = -0,009978 \cdot T^2 + 2,30531 \cdot T - 11,125714 \quad (8)$$

Tais curvas apresentaram R^2 na faixa de 0,99 a 0,95. Martínez (2005) e Serafim (2013) apresentaram perfil das curvas de solubilidade de xilitol em 50% (v/v) água + etanol similares a esse estudo, ambos obtiveram curvas de segundo grau e coeficiente de regressão próximo de 1.

Figura 10 - Curvas de solubilidade de xilitol (■), glicose (●) e xilose (▲) em 50% (v/v) água + isopropanol.



Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com a Figura 10, utilizando como solução 50% (v/v) água e isopropanol, observa-se que o xilitol é o mais solúvel dos três solutos apresentando a 70 °C solubilidade de 276,22 g/100 g de solução enquanto a glicose apresenta solubilidade de 89,12 g/100 g de solução e a xilose de 87,49 g/100 g de solução na mesma temperatura. Porém na temperatura menor, 5 °C

a solubilidade do xilitol cai drasticamente para 3,6 g/100 g de solução, valor considerado bem próximo a solubilidade da glicose e da xilose que foram de 3,54 g/100 g de solução e 3,82 g/100 g de solução, respectivamente. Nesses estudos foram determinadas as equações das curvas de solubilidade para cada soluto, utilizaram equações de segundo grau e foi possível obter as Equações (9), (10) e (11).

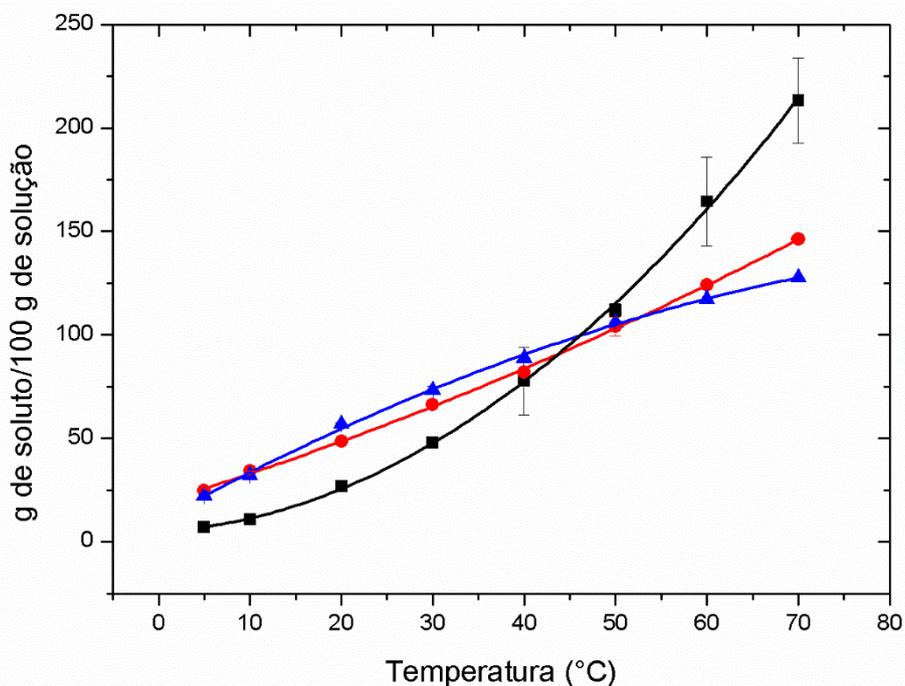
$$\text{Sol}_{\text{Xilitol}} \text{ (g/100 g)} = 0,067212 \cdot T^2 - 0,95999 \cdot T + 11,960272, \quad (9)$$

$$\text{Sol}_{\text{Glicose}} \text{ (g/100 g)} = 0,003532 \cdot T^2 + 1,243466 \cdot T - 8,803129 \quad (10)$$

$$\text{Sol}_{\text{Xilose}} \text{ (g/100 g)} = -0,010837 \cdot T^2 + 2,175085 \cdot T - 9,794558 \quad (11)$$

Na qual foi possível obter o valores de R^2 na faixa de a 0,99, a 0,95. Serafim (2013) conseguiu, nos seus estudos sobre solubilidade de xilitol em 50% (v/v) de água + isopropanol equação e coeficiente de regressão similar a esse trabalho.

Figura 11- Curvas de solubilidade de xilitol (■), glicose (●) e xilose (▲) em 50% (v/v) água + líquido iônico prótico 2-HEAA .



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Figura 11 tem-se que ao utilizar uma solução composta por 50% (v/v) água e líquido iônico prótico 2-HEAA, o xilitol apresentou-se como o soluto mais solúvel a altas temperaturas, em que a 70 °C apresentou solubilidade de 213,25 g/100 g de solução enquanto a glicose e a xilose, na mesma temperatura, apresentaram solubilidades de 146,181 g/100 g de solução e 127,746 g/100 g de solução respectivamente. Porém na temperatura de 5 °C tal comportamento se inverte, no qual tem-se que o xilitol foi o soluto menos solúvel apresentando solubilidade de 7,14 g/100 g de solução enquanto a glicose e a xilose, na mesma temperatura, apresentaram solubilidades de 1461,81 g/L e 1277,46 g/L respectivamente. Nesses estudos foram determinadas as equações das curvas de solubilidade para cada soluto, utilizaram equações de segundo grau e foi possível obter as Equações (12), (13) e (14).

$$\text{Sol}_{\text{Xilitol}} \text{ (g/100 g)} = 0,039204 \cdot T^2 + 0,247148 \cdot T + 4,967755 \quad (12)$$

$$\text{Sol}_{\text{Glicose}} \text{ (g/100 g)} = 0,006575 \cdot T^2 + 1,360827 \cdot T + 18,705473 \quad (13)$$

$$\text{Sol}_{\text{Xilose}} \text{ (g/100 g)} = -0,010969 \cdot T^2 + 2,447668 \cdot T + 10,157382 \quad (14)$$

Todas as três curvas de solubilidade apresentaram valores de coeficiente de regressão linear na faixa de 0,99, o que indica que as equações apresentadas se adequaram bastante aos dados obtidos.

A ação dos antissolventes é bastante evidente observando as Figuras 8, 9, 10 e 11, tanto nas altas quanto nas baixas temperaturas, uma vez que, a uma mesma temperatura, ao adicionar o antissolvente a concentração dos solutos decai bastante se comparada a solubilidade apenas em água. A 70 °C tem-se que a solubilidade máxima de xilitol na água corresponde a 342,9 g/100 g de solução, utilizando-se 50 % (m/v) água e líquido iônico prótico 2-HEAA, na mesma temperatura, foi possível solubilizar cerca de 213,25 g/100 g de solução. Já na menor temperatura estudada, 5 °C, observou-se que 73,6 g/100 g de solução de xilitol eram solúveis em água enquanto para na solução de 50 % (v/v) água e isopropanol foi possível constatar uma solubilidade máxima de xilitol de apenas 3,6 g/100 g de solução. Essa ação antissolvente também pode ser observada na concentração dos açúcares, glicose e xilose, no qual tem-se que utilizando-se apenas água a 70 °C foi possível obter a maior solubilidade

de glicose (225,42 g/100 g de solução), na mesma temperatura obteve-se a menor solubilidade de glicose (89,12 g/100 g de solução) utilizando como antissolvente 50 % (v/v) água e isopropanol. Para xilose a 70 °C a maior solubilidade obtida 216,36 g/100 g de solução foi utilizando apenas água, e a menor solubilidade, na mesma temperatura, foi de 87,49 g/100 g de solução com 50 % (v/v) água e isopropanol. Na temperatura de 5 °C observa-se uma solubilidade, utilizando apenas água, de 19,7 g/100 g de solução para glicose e 38,66 g/100 g de solução para xilose, utilizando 50 % (v/v) água e etanol, na mesma temperatura, observa-se solubilidades de 4,12 g/100 g de solução e 4,76 g/100 g de solução para glicose e xilose, respectivamente.

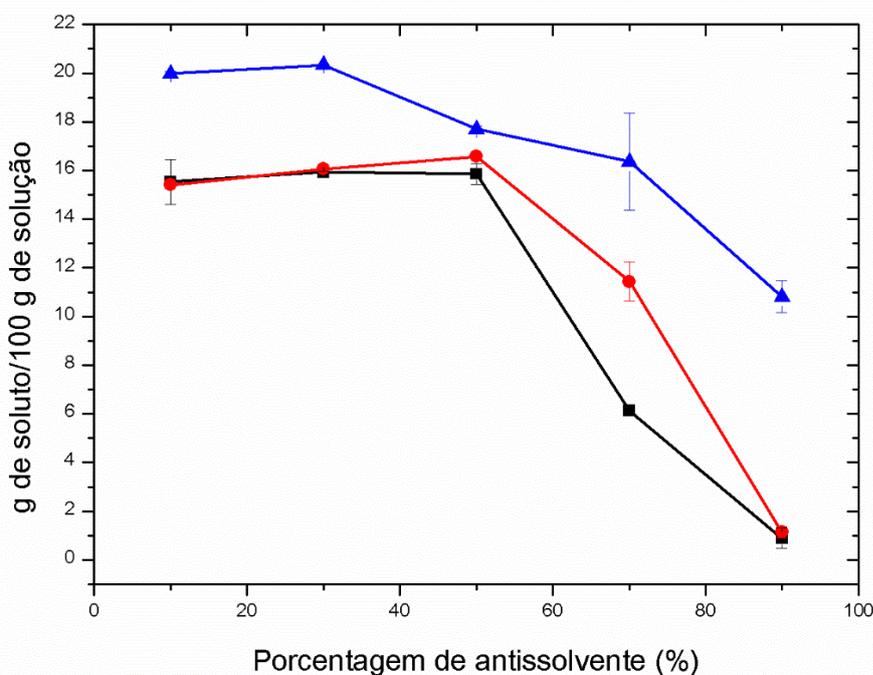
A baixas temperaturas é possível observar que todos os três antissolventes propostos (50 % (v/v) etanol, 50 % (v/v) isopropanol e 50 % (m/v) líquido iônico prótico 2-HEAA) apresentam ação semelhante. Então só poderá ser determinado qual dos três antissolventes apresenta melhor capacidade de precipitar o xilitol após os testes de cristalização.

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 (Martínez *et al.*, 2008). Como as curvas obtidas apresentaram aspectos achatadas e/ou íngreme (Figuras 8, 9, 10 e 11) pode-se usar cristalização por anti-solvente, ou precipitação física, facilitando-se a formação de cristais de tamanho médio, podendo ocorrer nucleação primária ou secundária (Martínez, 2005).

Após os testes de solubilidade, resolveu-se avaliar a influência da proporção de antissolvente na solubilidade do xilitol (Figura 12) a uma temperatura constante (15 °C). Observa-se que usando proporções de 10% a 50% (v/v) de etanol ou isopropanol não há uma diferença significativa da concentração de xilitol solubilizada a 15 °C. Porém, observa-se uma diminuição brusca ao utilizar proporções acima de 50% (v/v). Nos experimentos utilizando líquido iônico como antissolvente observa-se que não houve variação significativa da concentração de xilitol solubilizada entre 10% a 30% (m/v), todavia após aumentar a proporção de antissolvente percebesse um decréscimo da concentração de xilitol solubilizada. No entanto, os resultados que foram obtidos utilizando-se as proporções de 70 a 90% foram possíveis

constatar que ao se utilizar os álcoois (etanol e isopropanol) obteve-se uma ação antissolvente bem maior do que quando se utilizou 50 % (m/v) de líquido iônico prótico 2-HEAA. Enquanto a máxima solubilidade de xilitol utilizando líquido iônico prótico 2-HEAA apresenta um decaimento de 1,33 g/100 g de solução (17,702 g/100 g de solução (50%) a 16,372 g/100 g de solução (70%)), o isopropanol apresenta um decaimento de 5,137 g/100 g de solução (16,575 g/100 g de solução (50%) a 11,438 g/100 g de solução (70%)) e por fim o etanol apresenta um decaimento de 9,729 g/100 g de solução (15,860 g/100 g de solução (50%) a 6,131 g/100 g de solução (70%)). Partindo dessas informações obteve-se que os álcoois apresentaram valores mais significativos, pois conseguiram ter uma ação antissolvente superior ao do que foi apresentada pelo líquido iônico, ao propiciarem uma menor solubilidade com a mesma porcentagem de antissolvente, e segundo Diniz, (2017) tal resultado é explicado devido ao pH do antissolvente e da solução serem ambas ácido, pois na obtenção de cocrystalis, para fármacos com caráter básico, busca-se coformadores de caráter ácido.

Figura 12- Influência da variação da proporção de antissolvente na solubilidade de xilitol a 15 °C. (■) etanol, (●) isopropanol e (▲) 2HEAA.



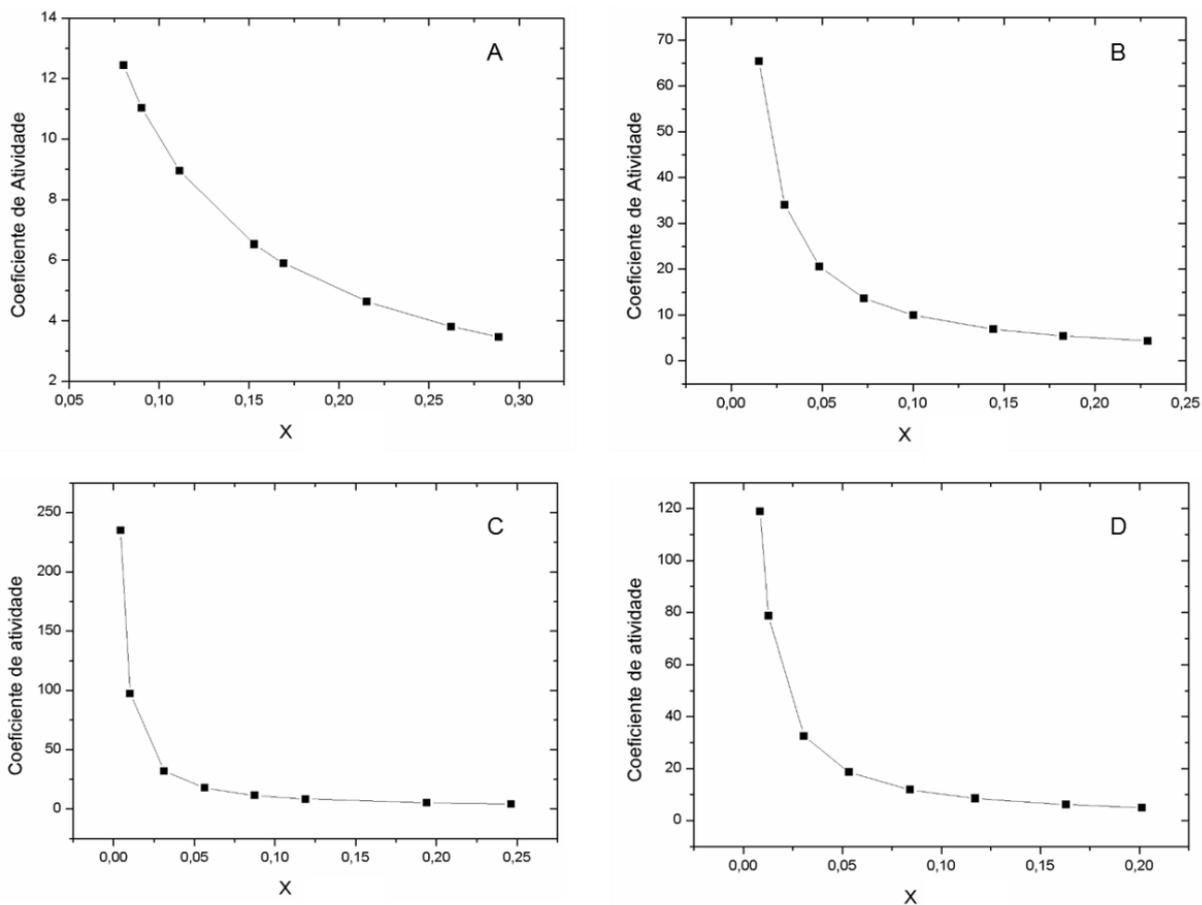
Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com os dados obtidos mediante a análise da Figura 12, selecionou-se as proporções de 50% e 70% para realizar a cristalização, não sendo utilizada a maior proporção (90%) devido à alta quantidade de antissolvente necessária para o estudo e isso dificultaria a solubilidade no início do processo.

Realizada as curvas de solubilidade, foram calculados os coeficientes de atividade, que indicam o quanto a interação entre as moléculas da solução desviam do comportamento ideal, para cada meio em função da fração molar, de acordo com as Equações (1) e (2), o valor de $\Delta_{\text{fus}}H$ (37,4 KJ/mol) utilizado foi o obtido por Barone *et al.* (1990) a uma temperatura de 365,7 K. No início tem-se um elevado valor do coeficiente de atividade pois tem-se o maior valor da não idealidade, pois a interação das moléculas do soluto são mínimas se comparada com a quantidade das interações das moléculas de solução. E a medida que a fração molar aumenta, aumenta a quantidade de soluto no meio diminuindo o coeficiente de atividade e aumentando a idealidade da solução.

Pode-se observar de acordo com a Figura 13 que os menores valores para o coeficiente de atividade foram determinados no meio contendo água, devido ao fato desse meio ser o que apresentou maior solubilidade e desta maneira também é o meio que apresenta maior valor da fração molar. Observa-se que a medida que a fração molar aumenta o coeficiente de atividade diminui, nos 4 gráficos formados as curvas obtidas apresentam o mesmo aspecto.

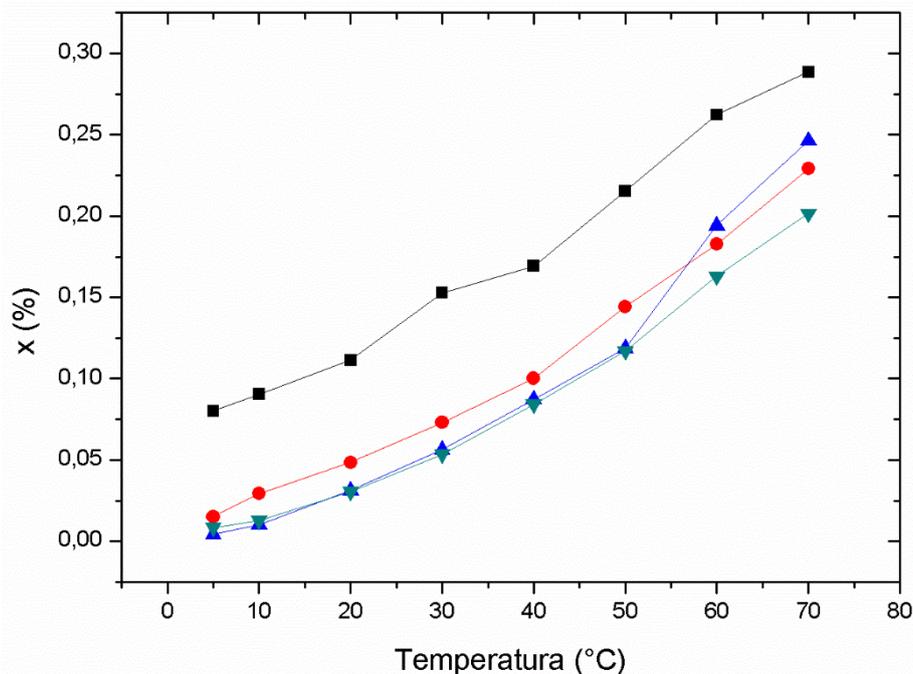
Figura 13 - Coeficiente de atividade do xilitol pela fração mássica em diferentes meios A (água), B (50% v/v etanol em água), C (50% v/v isopropanol em água) e D (50% (m/v) líquido iônico prótico acetato de 2- hidroxietanolamina em água).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Figura 14 observa-se os valores obtidos da fração molar em função da temperatura para os diferentes meios. É possível observar que fração molar do xilitol aumenta com o aumento da temperatura, indicando uma maior solubilidade com o aumento da temperatura.

Figura 14 - Fração molar pela temperatura em diferentes meios (água) (■), (50% v/v etanol em água) (●), (50% v/v isopropanol em água) (▲) e (50% (m/v) líquido iônico prótico acetato de 2-hidroxi-etanolamina em água) (▼).



Fonte: Elaborado pelo autor.

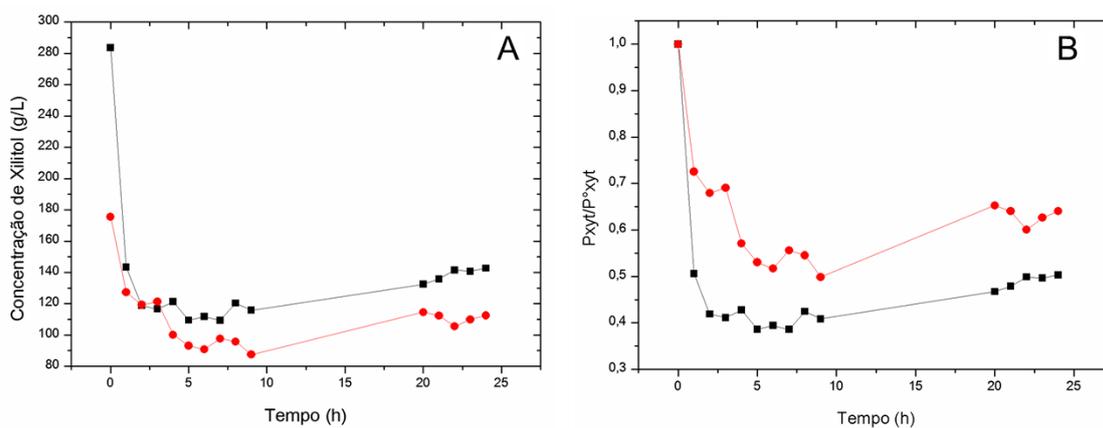
Observa-se então que o aumento da temperatura favorece o aumento da solubilidade e que a altas temperaturas com água obteve-se maior fração molar enquanto que com (50% (m/v) líquido iônico prótico acetato de 2-hidroxi-etanolamina em água) obteve-se os menores valores de fração molar. Já a baixas temperaturas utilizando-se água obteve-se maior fração molar enquanto que com (50% v/v isopropanol em água) obteve-se os menores valores da fração molar. Esses resultados já eram esperados, pois são condizentes com os dados obtidos e apresentados nas Figuras 8, 9, 10 e 11.

4.4 CINÉTICA DA CRISTALIZAÇÃO

Para avaliar a cinética de cristalização escolheu-se, de acordo com os testes previamente realizados, o melhor antissolvente com a melhor proporção.

Esse estudo foi realizado com etanol como antissolvente na proporção de 70 % (v/v) e foi conduzido por 24 h e 5 °C, essa temperatura foi utilizada para garantir que ocorreria a cristalização tendo em vista as curvas de solubilidade realizadas. Analisou-se o perfil cinético da cristalização, apresentado na Figura 15 A.

Figura 15 – Perfil da concentração de xilitol na solução durante o processo de cristalização a 5 °C por 24 h a diferentes concentrações iniciais de xilitol: (■) 400 g/L e (●) 200 g/L.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Observou-se que nas primeiras duas horas iniciais a concentração de xilitol já se estabilizou nas duas concentrações iniciais avaliadas, ou seja, a 5°C a concentração de xilitol decai nas primeiras 2 h ficando aproximadamente estável nas 24 h subsequentes. Para uma maior concentração de xilitol no início da etapa tem-se também uma maior queda na concentração final, porém tem-se também uma maior concentração ao final do processo. Notou-se que utilizando 400 g/L obteve-se uma cristalização de 140,816 g/L e com a concentração inicial de 200 g/L conseguiu-se cristalizar 63,143 g/L. Ressalta-se também que utilizando-se a concentração de 400 g/L obteve-se um rendimento de 0,64% enquanto que com a concentração de 200 g/L foi igual a 0,44%. Ao aumentar a concentração de xilitol no início do processo foi possível obter os melhores resultados, haja vista que a solubilidade máxima da solução será a mesma em ambas as concentrações.

Plotou-se um gráfico dos dados da concentração de xilitol em cada ponto pela concentração inicial de xilitol por tempo, vide Figura 15 B. Na Figura 15 B, ocorreu a formação das curvas cinéticas na qual foi possível observar que com a maior concentração de xilitol (400 g/L) a cristalização ocorre de maneira mais rápida do que com a menor concentração (200 g/L). Ambos os processos estão completos no decorrer das primeiras cinco horas, porém o mais concentrado apresenta uma curva mais descendente do que a do menos concentrado indicando que sua cristalização ocorreu mais rapidamente, haja vista o maior número de moléculas de xilitol no meio mais concentrado, pois quanto maior o número de moléculas maior a interação e mais cristais irão ser formado.

A Tabela 8 retrata os valores das concentrações de xilitol iniciais e finais de cada um dos testes bem como o rendimento da cristalização. Foi possível constatar que com uma maior concentração foi possível obter um maior rendimento, porém observou-se que após as 24 h de cristalização a concentração final da solução era maior no ensaio com 400 g/L do que no de 200 g/L o que indica que mesmo o ensaio com 400 g/L apresentando um maior rendimento ainda foi possível constatar uma concentração mais elevada.

Após a obtenção dos dados de cristalização a temperatura constante, iniciou-se os ensaios de cristalização utilizando diferentes antissolventes, tanto com o meio sintético quanto com o meio proveniente do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju.

4.5 CRISTALIZAÇÃO XILITOL

Realizadas as fermentações e posteriores concentrações dos meios contendo xilitol e determinadas também as curvas de solubilidade e as porcentagens de antissolventes que seriam utilizadas, foi dado início ao processo de cristalização de xilitol.

Na Tabela 8 é apresentada as sínteses dos resultados obtidos da cristalização do xilitol padrão e do xilitol produzido, respectivamente. Nestes experimentos avaliaram-se dois aspectos fundamentais no processo de

cristalização: a influência da proporção de antissolvente e a velocidade de resfriamento (V_r).

Tabela 8 - Resultados da cristalização do xilitol padrão (Sigma-Aldrich) e do produzido por bioprocesso usando hidrolisado hemicelulósico de bagaço de caju como meio de cultivo, avaliando diferentes antissolventes, proporção de antissolvente e velocidade de resfriamento durante o processo de cristalização.

Antissolvente	T _{inicial} (°C)	T _{sat} (°C)	T _{final} (°C)	Vr (°C/min)	Xilitol PA	Xilitol produzido	
					Rendimento da cristalização (%)	Rendimento da cristalização (%)	Pureza (%)
Etanol 50%	38	28,18	5	0,50	80,0	NC	-
Etanol 50%	38	28,18	5	0,25	80,0	58,65	75,12
Etanol 70%	38	28,18	5	0,50	80,0	NC	-
Etanol 70%	38	28,18	5	0,25	93,0	58,09	82,84
Isopropanol 50%	44	34,81	5	0,50	80,0	69,70	84,81
Isopropanol 50%	44	34,81	5	0,25	80,0	68,27	83,37
Isopropanol 70%	44	34,81	5	0,50	85,1	NC	-
Isopropanol 70%	44	34,81	5	0,25	80,0	NC	-
2-HEAA 50%	45	34,44	5	0,50	80,0	NC	-
2-HEAA 50%	45	34,44	5	0,25	80,0	NC	-
2-HEAA 70%	45	34,44	5	0,50	80,0	NC	-
2-HEAA 70%	45	34,44	5	0,25	80,0	NC	-

NC: Não Cristalizou.

Fonte: Elaborado pelo autor.

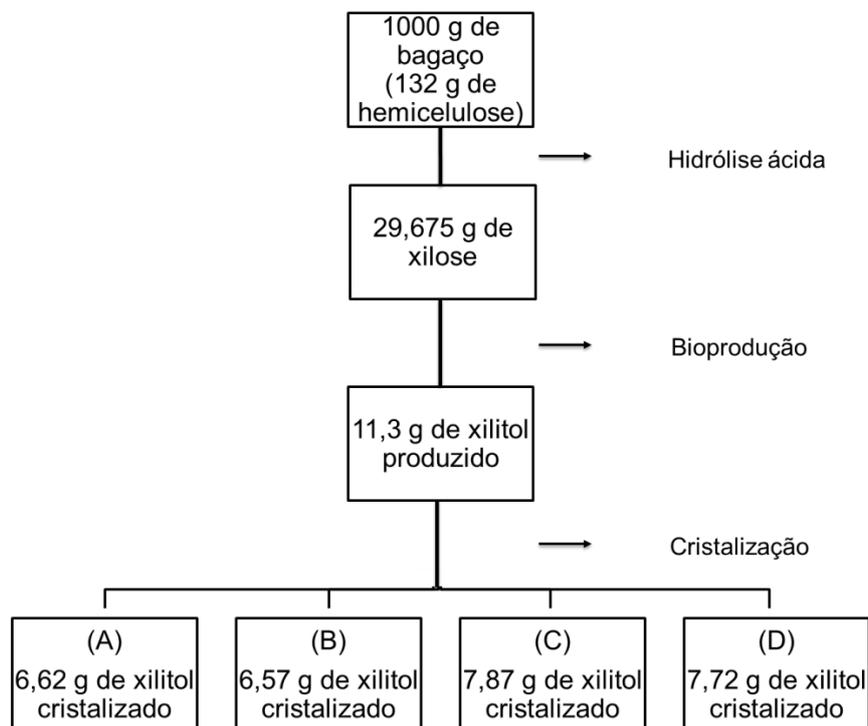
Em todos os ensaios ocorreram nucleação secundária, pois a cristalização iniciava-se após a adição de cristais na solução supersaturada. O ensaio iniciava com 10 °C acima da temperatura de saturação de cada solução, para garantir que todo o xilitol estaria solúvel, e quando a mesma se encontrava na temperatura de saturação ocorria a adição de cristais de xilitol para induzir a cristalização. Os três antissolventes apresentaram rendimentos de cristalização bem próximos no processo de cristalização do xilitol PA, com exceção do processo conduzido usando etanol 70% (v/v) a V_r de 0,25°C/min, que se obteve o maior rendimento de cristalização (93%). Em algumas condições avaliadas não se cristalizou o xilitol produzido, principalmente utilizando o líquido iônico prótico (2-HEAA). Um possível motivo é a concentração inicial de xilitol ser baixa no processo de cristalização, pois um aumento da concentração de xilitol favorece a nucleação deste, aumentando a eficiência do processo de cristalização (Sampaio *et al.*, 2006). Além disso, a presença de outros carboidratos como, por exemplo, a xilose e glicose não consumidas, e de impurezas, interferem no processo de cristalização. O líquido iônico prótico não foi eficiente possivelmente devido o xilitol apresentar a maior solubilidade neste, de acordo com as Figuras 8, 9, 10 e 11, e com a interferência dos outros parâmetros não foi possível cristalizar. Segundo Diniz, (2017) no seu estudo para obter cocristais com fármacos de caráter básico, utiliza-se de coformadores com caráter ácido de acordo com a análise dos pKa's das moléculas envolvidas, ou seja, por se tratar de um líquido iônico prótico (ácido), e o pH da solução de xilitol também ser ácida tem-se que não favoreceu a formação dos cristais nesses estudo e por isso a cristalização nesse meio não ocorreu, haja vista que o pH do hidrolisado era ácido.

Nos processos de cristalização utilizando o etanol como antissolvente não cristalizou o poliol na velocidade de resfriamento de 0,50 °C/min, em ambas as proporções estudadas. Também, não cristalizou a molécula de interesse usando isopropanol 70% (v/v) em ambas as velocidades de resfriamento. A maior pureza dos cristais (85%) e o maior rendimento de cristalização (aprox. 69%) foram obtidos usando o isopropanol 50% (v/v) como antissolvente. Resultados semelhantes foram obtidos por Wei *et al.*, (2010),

que estudaram a cristalização de xilitol obtivo por bioprocesso usando resíduos hemicelulósicos e alcançaram, a partir de uma solução concentrada com 750 g/L de xilitol, um caldo com xilitol de 95% de pureza e 60,2% de rendimento de cristalização de xilitol. Bem como, resultados semelhantes ou superiores de rendimento de cristalização foram obtidos por Canilha *et al.* (2008), Martínez *et al.* (2009), Misra *et al.* (2011). No entanto, salienta-se que estes autores utilizaram soluções supersaturadas com concentração maior que a desse estudo (750 g/L na literatura e 600 g/L nesse trabalho) e esse fator aumenta o processo de nucleação (Misra *et al.*, 2011).

Na Figura 16 consta os balanços de massa realizados para conseguir calcular os rendimentos de cristalização que estão listados na Tabela 11. Nela é possível observar que partindo-se inicialmente de 1000 g de bagaço de caju consegue-se cristalizar cerca de 6,62 g de xilitol utilizando como antissolvente 50% v/v etanol com V_r de 0,25, apresentando um rendimento de 0,662 %. Já utilizando-se 70% v/v etanol com V_r de 0,25 obteve-se um rendimento de 0,657%. O resultado utilizando 50% v/v isopropanol V_r de 0,5 apresentou o melhor rendimento igual a 0,787. E o resultado com 50% v/v isopropanol V_r 0,25 apresentou um rendimento de 0,772%. Observa-se que esses resultados foram condizentes com as curvas de solubilidades determinadas nas Figuras 8,9,10 e 11 pois nelas observa-se que a solubilidade do xilitol é muito pequena tanto em 50% v/v de etanol 13,08 g/100 g de solução como em 50% v/v de isopropanol 3,6 g/100g de solução. Por o xilitol apresentar uma menor solubilidade no meio com 50% v/v de isopropanol foi possível cristalizar mais xilitol nele e assim obter um maior rendimento comparando com o meio com 50% v/v de etanol.

Figura 16- Balanços de massa das cristalizações realizadas com o hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju nas seguintes condições: A: 50% v/v etanol com Vr de 0,25, B: 70% v/v etanol com Vr 0,25, C: 50% v/v isopropanol Vr de 0,5 e D: 50% v/v isopropanol Vr 0,25



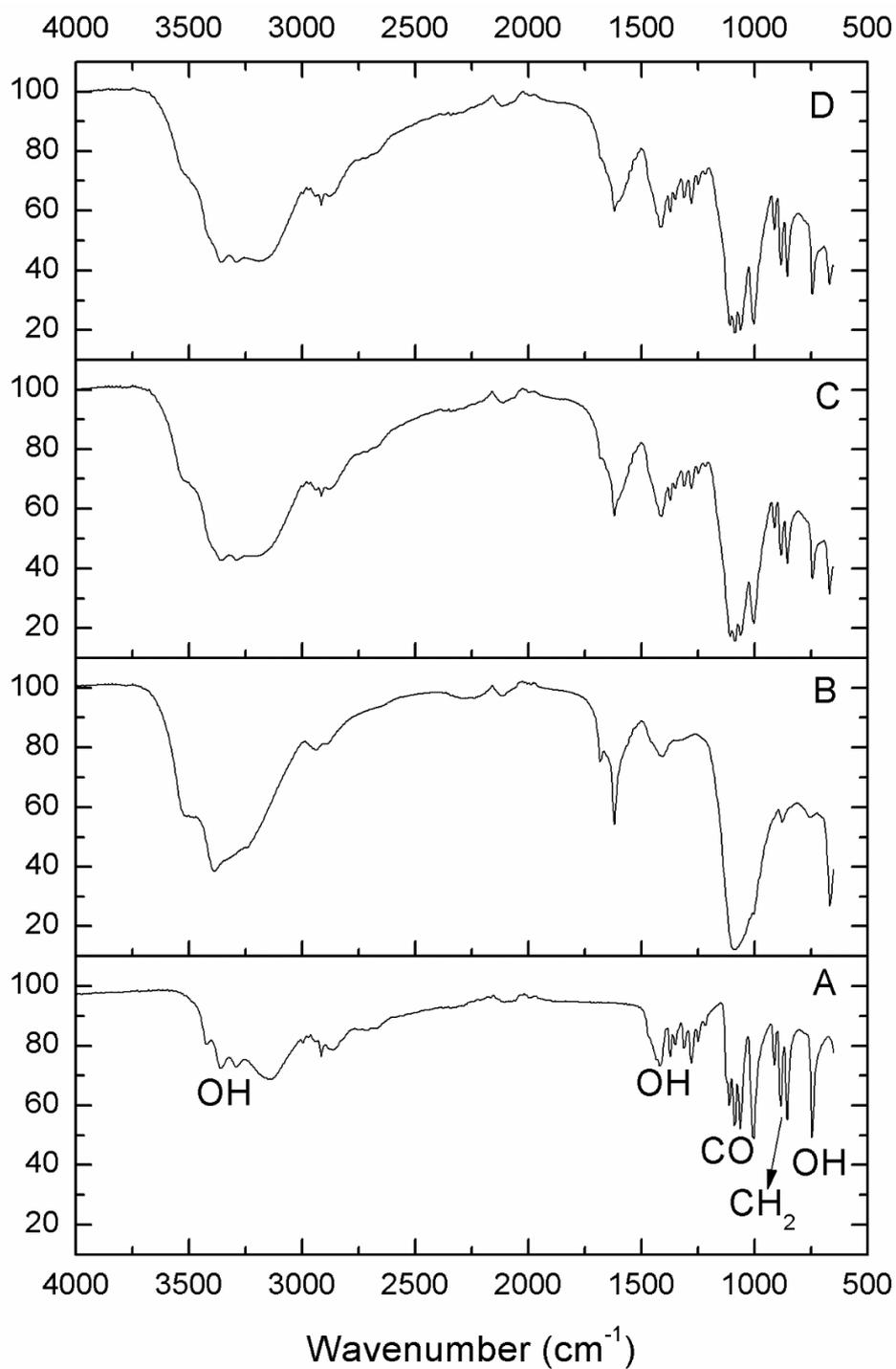
Fonte: Elaborado pelo autor.

Após a cristalização realizou-se análises para determinar as características dos cristais obtidos como microscopia, cristalinidade. A Figura 19 apresenta os espectros FTIR do xilitol cristalizado e xilitol PA. Observa-se que em todos os espectros aparecem vibrações observadas na faixa de 3500 cm^{-1} a 3000 cm^{-1} representam as ligações OH, segundo Silverstein, Webster e Kiemle (2006). Segundo dados alcançados por Salaün *et al.*, (2011) constataram-se valores semelhantes para o espectro de xilitol iguais a 3420 cm^{-1} , 3368 cm^{-1} e 3300 cm^{-1} . Santos (2014) obteve valores na faixa de 3432 cm^{-1} e 3198 cm^{-1} para ligações OH. Yang *et al.*, (2018), obtiveram valores para o xilitol puro no qual constataram que a larga banda em torno de 3431 cm^{-1} correspondia a grupos OH do xilitol e a absorção de água, e as bandas mostrados em 1416 cm^{-1} e 740 cm^{-1} correspondem a grupos OH, para as ligações CH_2 as bandas apareciam entre os valores de 859 cm^{-1} e 920 cm^{-1} e as seguintes bandas 1000 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 1086 cm^{-1} e 1116 cm^{-1} correspondiam a ligações CO.

De acordo com a Figura 1, tem-se que a estrutura do xilitol é formada por cinco ligações OH, duas ligações CH₂, cinco ligações CO. Essas ligações são observadas também na Figura 19 ao analisar o FTIR, nesse estudo as bandas de na faixa de 3500 cm⁻¹ a 3000 cm⁻¹ e as bandas 1470 cm⁻¹ e 750 cm⁻¹ estão relacionadas a OH, já as bandas que se encontram entre 900 cm⁻¹ e 800 cm⁻¹ correspondem ao CH₂, e por fim as bandas localizados entre 1000 cm⁻¹ e 1125 cm⁻¹ representam CO.

Observou-se, na Figura 17, que os cristais obtidos nas condições de (70% etanol (v/v) Vr 0,25 e 50% (v/v) isopropanol Vr 0,25) apresentaram picos semelhantes com o xilitol PA o que indica que em ambos a estrutura é majoritariamente igual ao do xilitol, nesses ensaios obteve-se, de acordo com a Tabela 10 pureza dos cristais 82,84% e 83,37%, respectivamente. Já o cristal obtido na condição (etanol 50% (v/v) Vr 0,25), por mais que apresente um perfil semelhante, não observou-se a formação dos picos característicos do xilitol nem tampouco dos demais açúcares, muito provavelmente devido a impregnação da cor e dos açúcares do hidrolisado, nos cristais, pois de acordo com a Tabela 10 observa-se que tais cristais apresentaram a menor pureza 75,12%.

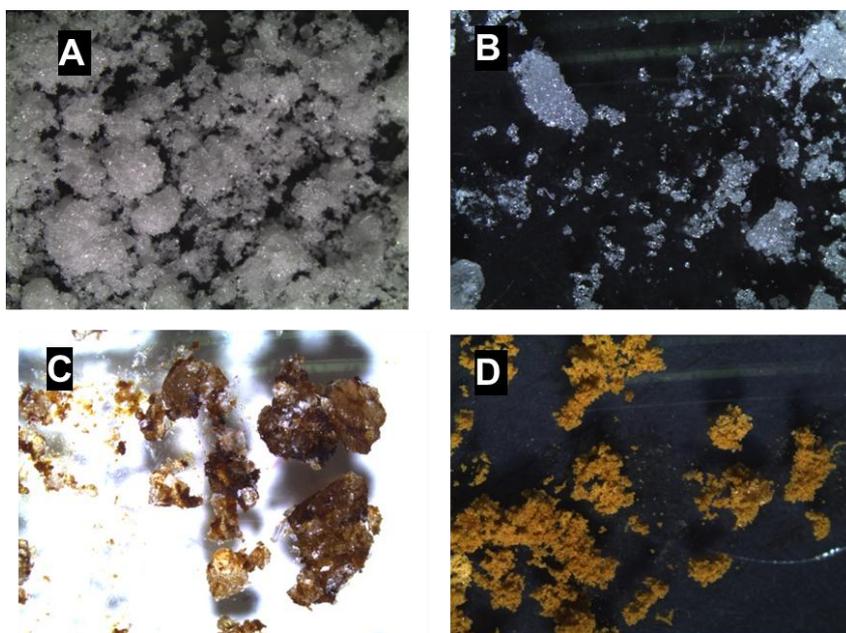
Figura 17 - FTIR realizado com: A: xilitol puro, e com os cristais obtidos pela cristalização do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju nas seguintes condições: B: 50 % (v/v) água e etanol com Vr de 0,25, C: 70 % (v/v) água e etanol com Vr de 0,25 e D 50 % (v/v) água e isopropanol com Vr de 0,25 com os cristais obtidos pela cristalização do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju



Fonte: Elaborado pelo autor.

Em seguida a obtenção dos cristais de xilitol que ocorreu a partir da cristalização tanto do meio sintético quanto do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju, realizou-se a microscopia dos cristais. A Figura 18 exibe as micrografias retiradas dos cristais do xilitol produzido por bioprocessamento e pelo xilitol PA (Sigma-Aldrich). Pela microscopia é possível observar que o cristal obtido a partir do meio sintético é o mais semelhante ao cristal do xilitol puro e o que apresenta melhor aspecto e o mais claro, enquanto que os obtidos a partir do hidrolisado são mais escuros. No ensaio com 50% (v/v) de etanol com V_r 0,25 o cristal, como um todo, apresenta aspecto escuro o que indica que parte da cor do hidrolisado se incrustou na superfície do cristal de xilitol e também devido aos açúcares presentes no meio que se cristalizaram juntos ao xilitol, pois de acordo com a Tabela 10 observou-se que esses cristais foram os que apresentaram menor pureza (75,12%), demonstrando assim que somente a etapa de cristalização não foi suficiente para total purificação do xilitol. No ensaio com 70% v/v de etanol com V_r de 0,25 é possível observar que os cristais formados são mais claros que os do ensaio com 50% v/v de etanol com V_r 0,25 e que esses cristais estão envoltos do hidrolisado, que se tornou bastante viscoso e acabou por aglomerar os cristais formados. Assinalando assim, que somente a etapa de cristalização não foi suficiente para purificação total do xilitol.

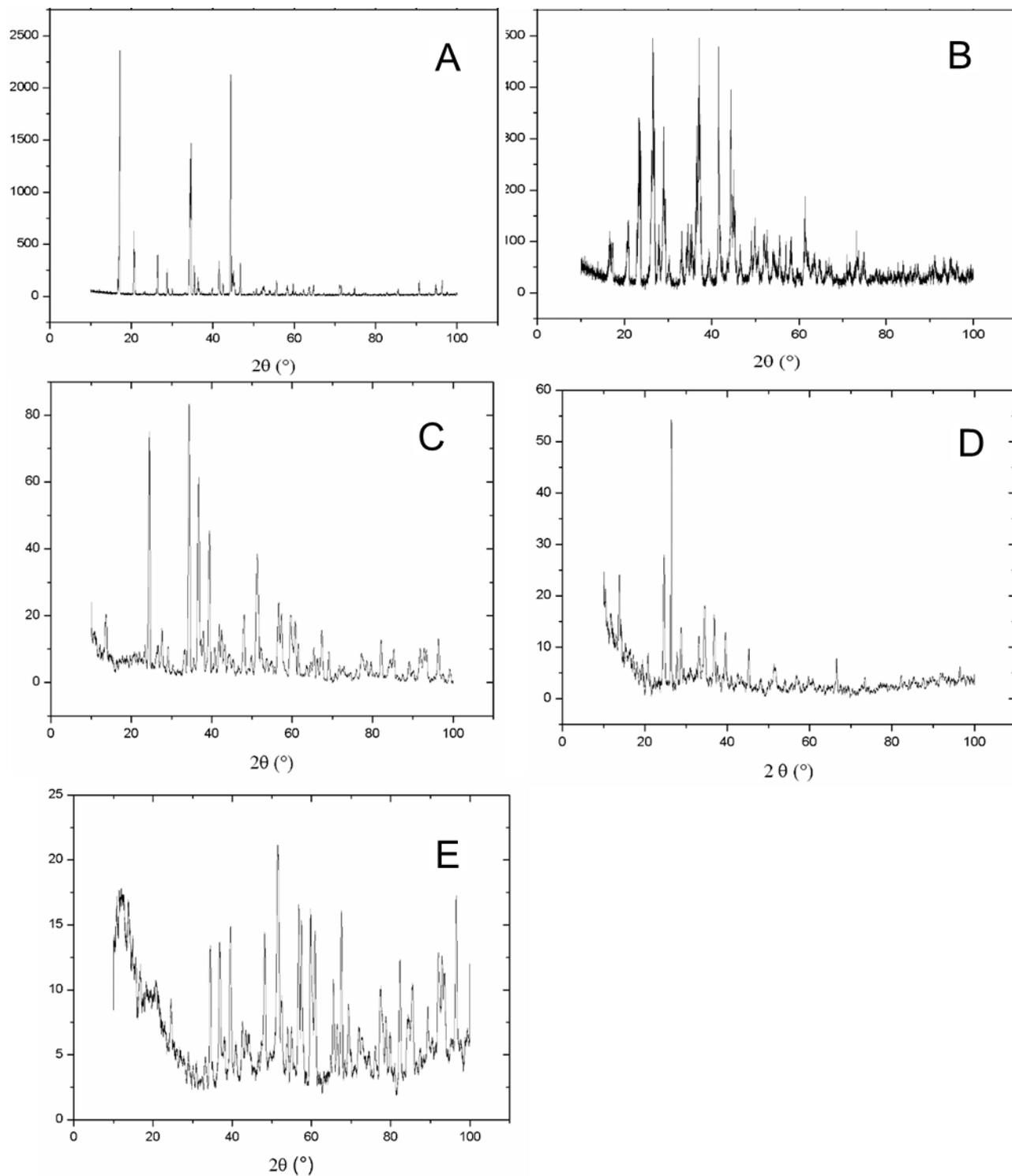
Figura 18- Fotografias dos cristais de xilitol obtidas por microscopia ampliada em 15X: A (xilitol PA), B (xilitol obtido por cristalização do meio sintético), C (xilitol obtido por cristalização do hidrolisado do ensaio com 70% v/v de etanol com Vr de 0,25), D (xilitol obtido por cristalização do hidrolisado do ensaio com 50% v/v de etanol com Vr 0,25).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Após a microscopia, realizou-se a difração de raio X dos cristais para determinar a cristalinidade dos mesmos. Observa-se na Figura 19 que o resultado que melhor se assemelha a condição obtida com o xilitol PA, ensaio A, foi o exposto no ensaio com xilitol cristalizado PA, ensaio B. Podem-se observar ruídos nos ensaios B, C, D e E. Os maiores picos no ensaio A ($17,03^\circ$, $34,35^\circ$ e $44,50^\circ$) não são observados nos outros ensaios, porém no ensaio B observou-se picos similares ao ensaio A nos seguintes graus ($21,60^\circ$, $26,41^\circ$, $28,76^\circ$, $36,6^\circ$, $41,40^\circ$ e $44,78^\circ$). Já o ensaio C apresentou picos semelhantes ao ensaio A em ($26,41^\circ$, $35,41^\circ$, $36,60^\circ$, $41,40^\circ$ e $47,82^\circ$). O ensaio D apresentou picos semelhantes ao xilitol PA, ensaio A, em ($26,41^\circ$, $28,76^\circ$, $35,41^\circ$, $36,60^\circ$, $41,40^\circ$ e $47,82^\circ$). Por fim o ensaio E apresentou similaridade ao ensaio A nos graus ($35,41^\circ$, $36,60^\circ$, $41,40^\circ$ e $47,82^\circ$).

Figura 19- Raio X dos cristais de xilitol sob as seguintes condições: A: xilitol PA (Sigma-Aldrich), B: xilitol cristalizado PA, C: com 50% (v/v) de etanol com Vr 0,25, D: com 70% (v/v) de etanol com Vr 0,25, E: com 50% (v/v) de isopropanol com Vr 0,25



Fonte: Elaborado pelo autor.

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos nesse trabalho, é possível concluir que o processo biotecnológico de produção de xilitol pela levedura *Kluyveromyces marxianus* ATCC36907 a partir do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju apresentou valores consideráveis. E foi possível cristalizar o xilitol obtido a partir do bagaço de caju, o que denota que este resíduo agroindustrial pode ser utilizado na produção desse poliol.

Avaliou-se que os antissolventes, etanol, isopropanol apresentaram foram efetivos enquanto o líquido iônico prótico acetato de 2-hidroxietanolamina (2-HEAA) não apresentou nenhum efeito no processo de cristalização do xilitol oriundo do bagaço de caju, contudo tais antissolventes se mostraram bem mais efetivos utilizando-se um meio contendo apenas xilitol PA do que no meio fermentativo. E também a porcentagem de antissolvente, no qual determinou-se que com o incremento de 50% para 70% obteve-se melhores resultados de cristalização.

Conclui-se, com o ensaio de cristalização de 24 horas, que a cristalização do xilitol ocorre nas primeiras 5 horas e que com o aumento da concentração de 200 g/L para 400 g/L tem-se um aumento no rendimento de cristalização de 0,44% a 0,64%, indicando que quanto maior o número de cristais na solução maior o número de cristais que irão cristalizar.

As condições do processo de cristalização do xilitol PA que obteve-se o melhor desempenho foi utilizando como antissolvente o etanol, na proporção de 70%, com velocidade de resfriamento linear de 0,25 °C/min, alcançando um rendimento de 93.

Além disso, para conseguir obter o xilitol cristalizado, tem-se que as melhores condições de cristalização do xilitol produzido foram obtidas utilizando isopropanol a 50% (v/v) com taxa de resfriamento linear de 0,5 °C/min, atingindo um rendimento de 69,7% e pureza destes cristais de 84,8.

Constatou-se que partindo de 1000 g de bagaço de caju, consegue-se valores entre 6,62 e 7,87 g de xilitol cristalizado, conseguindo assim um rendimento entre os valores de 0,662% e 0,787%.

A partir dos dados obtidos com FTIR, microscopia e raio X, foi possível determinar as ligações, o aspecto e a cristalinidade dos cristais produzidos e

compará-los com o xilitol PA, observando similaridade entre o xilitol PA e o xilitol cristalizado.

Desta maneira concluiu-se que a cristalização oriunda do hidrolisado hemicelulósico do caju utilizando-se os antissolventes 50% (v/v) de etanol com V_r 0,25, 70% (v/v) de etanol com V_r 0,25 e com 50% (v/v) de isopropanol com V_r 0,25 foram satisfatórios.

REFERÊNCIAS

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.

AKINTERINWA O.; KHANKAL, R.; CIRINO, P. C. Metabolic engineering for bioproduction of sugar alcohols. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 19, p. 461– 467, 2008.

ALBUQUERQUE, Tiago Lima de. **Produção Biotecnológica de Xilitol A Partir de Hidrolisado de Bagaço de Caju**. Fortaleza: UFC, 2014. 163 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, 2014.

ALBUQUERQUE, T. L.; GOMES, S. D. L. JR., J. E. M.; JR., I. J. S.; ROCHA, M. V. P. Xylitol production from cashew apple bagasse by *Kluyveromyces marxianus* CCA510. **Catalysis Today**, v. 255, p. 33–40, 2015.

ARRUDA, P. V.; RODRIGUES, R. D. C. L. B.; SILVA, D. D. V.; FELIPE, M. D. G. D. A. Evaluation of hexose and pentose in pre-cultivation of *Candida guilliermondii* on the key enzymes for xylitol production in sugarcane hemicellulosic hydrolysate. **Biodegradation**, v. 22, n. 4, p. 815-22, 2011.

BAR, A. Xylitol. In: O'BRIEN NABORS, L.; GELARDI, R.C. **Alternative Sweeteners** New York: Marcel Dekker, 1986. p.185-216.

BARONE, G.; DELLA GATTA, G., FERRO D., AND PIACENTE, V., Enthalpies and entropies of sublimation, vaporization and fusion of nine polyhydric alcohols, **J. Chem. Soc.**, Faraday Trans., v. 86(1), p. 75-79, 1990.

BELTER, P., CUSSLER, E.L., HU, W. **Bioseparation Dowstream Process for Biotechnology**. JohnWiley & Sons, 1988. 368p.

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.

BOCCHINI, D. A., **Estudos da produção, indução e purificação da xilanase termoestável em *Bacillus circulans* D1**, (Doutorado em Biotecnologia), Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

BOLAK **sweetens Korean biology industry with competitive material products**. **News World**, v.9, n.96, Feb., 2001.

BRANCO, F. R.; SANTOS, J. C.; SILVA, S. S. **A novel use for sugarcane bagasse hemicellulosic fraction: Xylitol enzymatic production**. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 7, p. 3241-3246, 2011.

BOUSSARSAR, H.; ROGÉ, B.; MATHLOUTHI, M. Optimization of sugarcane bagasse conversion by hydrothermal treatment for the recovery of xylose. **Bioresource Technology**, v.100, p.6537-6542, 2009.

CANETTIERI, E. V.; SILVA, J. B. A. E.; CARVALHO JR, J. A. **Tratamento químico de resíduos de *Eucalyptus grandis* com ácido diluído**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 14., 2003, Florianópolis. Anais... Florianópolis, 2003. CDROM.

CANNETIERI, E. V.; ALMEIDA e SILVA, J. B.; FELIPE, M. G. A. Application of factorial design to the study of xylitol production from eucalyptus hemicellulosic hydrolysate. **Applied Biochesmitry and Biotechnology**, v.24, p. 159-168, 2001.

CANILHA, L. **Produção de xilitol no hidrolisado hemicelulósico de palha de trigo**. 2006. 171p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial), ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA (EEL), Lorena, 2006.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; GIULIETTI, M. et al. **Clarification of a wheat straw-derived médium with ion-exchange resins for xylitol crystallization**, J. Chem Technol. Biotechnol., v. 83, p.715-712, 2008.

CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L. C.; LOPES, S.; PARAJÓ, J. C.; PEREIRA H.; GÍRIO, 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.

CARVALHEIRO, F., DUARTE, L. C., MEDEIROS, R., GÍRIO, F. M. Xylitol production by *Debaryomyces hansenii* in brewery spent grain dilute-acid hydrolysate: effect of supplementation. **Biotechnology letters**, v. 29, n. 12, p. 1887-1891, 2007.

CASTRO, J. F.; PARRA, C.; YA, M.; ROJAS, J.; TEIXEIRA, R.; BAEZA, J.;FREER, J. Optimal pretreatment of *Eucalyptus globulus* by hydrothermolysis andalkaline extraction for microbial production of ethanol and xylitol, **Industrial &Engineering Chemistry Research**, v.52, p. 5713-5720, 2013.

CHEN, X.; JIANG, Z.-H.; CHEN, S.; QIN, W. Microbial and bioconversion production of D-xylitol and its detection and application. **International journal of biological sciences**, v. 6, n. 7, p. 834-44, 2010.

CHEN, H.; HAN, Y.; XU, J. Simultaneous saccharification and fermentation of steam exploded wheat straw pretreated with alkaline peroxide. **Process Biochemistry**. v. 43, p.1462-1466, 2008.

CHEN, W. P., ANDERSON, A. W. 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.

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.

CORREIA, J. A. C.; JUNIOR, J. E. M.; GONÇALVES, L. R. B.; ROCHA, M. V. P. Alkaline hydrogen peroxide pretreatment of cashew apple bagasse for ethanol production: Study of parameters. **Process Biochemistry**, v. 139, p. 249-256, 2013.

CORREIA, J., ROCHA, M., GONÇALVES, L. (2012), “**Efeito da combinação de enzimas na hidrólise enzimática do bagaço de caju pré-tratado com peróxido de hidrogênio para produção de etanol**”. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química COBEQ, Búzios.

CRUZ, J. M.; DOMÍNGUEZ, J. M.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJO, J. C. Preparation of fermentation media from agricultural wastes and their bioconversion to xylitol. **Food biotechnology**, New York, v.14, p.79-97, 2000.

D'ALMEIDA, M. L. O. **Composição Química dos Materiais Lignocelulósicos. In: Celulose e Papel-Tecnologia de Fabricação da Pasta Celulósica**. São Paulo: SENAI/IPT, v.2, p.45-106, 1988.

DAWNSON, L.; BOOPATHY, R. Cellulosic ethanol production from sugarcane bagasse without enzymatic saccharification. **BioResources**, v.3, n. 2, p. 452-460, 2008.

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).

DIÉGUEZ, C. G.; SALGADO, J. M.; ROCA, E.; DOMÍNGUEZ, J. M. Kinetic modelling of the sequential production of lactic acid and xylitol from vine trimming wastes. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 34, n. 7, p. 869- 78, 2011.

DINIZ, Luan Farinelli. **Planejamento, obtenção e caracterização de novas formas sólidas de fármacos tuberculostáticos**. São Carlos: USP, 2017. 163 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Física do Instituto de Física de São Carlos, da Universidade de São Paulo, 2017.

DIZ, J. CRUZ, J. M., DOMINGUEZ, H., PARAJO, J. C. Eucalyptus. **Food Technology Biotechnology**, v.40, n.3, p.191-97, 2002.

FELIPE, M. G. A.; VITOLLO, M.; MANCILHA, I. M.; SILVA, S. S. Environmental parameters affecting xylitol production from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate by *Candida guilliermondii*. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v.18, p.251-254, 1997a.

- FELIPE, M. G. A.; HAULY, M. C. O.; CANETTIERI, E. V.; CÂNDIDO, E. J.; TAMANINI, C. **Avaliação da casca de aveia para obtenção de hidrolisado hemicelulósico e produção de xilitol por processo fermentativo.** In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 14., 2003, Florianópolis. Anais... Florianópolis, 2003. CDROM.
- FENGEL, D., WENEGER, G. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions.** Berlim: Walter de Gruyter, New York, 1989. 613p.
- FITZPATRICK, M., CHAMPAGNE, P., CUNNINGHAM, M. F., WHITNEY, R. A., A biorefinery processing perspective: treatment of lignocellulosic materials for the production of value-added products. **Bioresource Technology**, v.101, p. 8915–8922, 2010.
- FONSECA, B. G.; MOUTTA, R. O.; FERRAZ, F. O.; VIEIRA, E. R.; NOGUEIRA, A. S.; BARATELLA, B. F.; RODRIGUES, L. C.; RUI, Z. H. ; SILVA, S.S. Biological detoxification of different hemicellulosic hydrolysates using *Issatchenkia occidentalis* CCTCC M 206097 yeast. **Journal Industrial Microbiology Biotechnology**, v. 38, p. 199-207, 2011.
- FUNK, H. F. **Recovery of pentoses and hexoses from wood and others materials containing hemicellulosic and further processing of C5 and C6 components.** Applied Polymer Symposium, v. 28, p. 145-152, 1975.
- GALES, M. A.; NGUYEN, T. M. **Sorbitol compared with xylitol in prevention of dental caries.** Annals of Pharmacotherapy, v. 34, n. 1, p. 98-100, 2000.
- GARCÍA, F. J.; SÁNCHEZ, S.; BRAVO, V.; CUEVAS, M.; RIGAL, L.; GASET, A. Xylitol production from olive-pruning debris by sulphuric acid hydrolysis and fermentation with *Candida tropicalis*. **Holzforschung**, v. 65, n. 1, p. 59-65, 2011.
- GIULIETTI, M.; SECCKLER, M.; DERENZO, S.; RÉ, M.I.; CEKINSKI, E. Industrial crystallization and precipitation from solutions: state of the technique. Brazilian **Journal of Chemical Engineering**, v. 18, n. 4, p. 423-440, 2001.
- GOUVEIA, E. R.; DO NASCIMENTO, R. T.; SOUTO-MAIOR, A. M.; ROCHA, G. J. M.; ROCHA, G. J. M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 32, p. 1500–1503, 2009.
- GOVUMONI, S. P.; KOTI, S.; KOTHAGOUNI, Y. S.; VENKATESHWAR, S.; LINGA, V. R. Evaluation of pretreatment methods for enzymatic saccharification of wheat straw for bioethanol production. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, p. 646–650, 2013.
- HAHN-HÄGERDAL, B., JEPPSSON, H., SKOOG, K., PRIOR, B. A. Biochemistry and physiology of xylose fermentation by yeasts. **Enzyme Microbiology and Technology**, v. 16, p. 933-943, 1994.

HENDRIKS, A. T., ZEEMAN, G., Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 10–18, 2009.

HERRERA, A.; TÉLLEZ-LUIS, S. J; RAMÍREZ, J. A; VÁSQUEZ, M. Production of xylose from sorghum straw using hydrochloric acid. **Journal of Cereal Science**, v. 37,p. 267-274, 2003.

HERRERA, A. et al. Effect of the hydrochloric acid concentration on the hydrolysis of sorghum straw at atmospheric pressure. **Journal of Food Engineering**, v. 63, n. 1, p. 103-109, 2004.

HON, DAVID. N. S., SHIRAISHI, N. **Wood and Cellulose Chemistry**, Marcel Dekker, New York, 1991. 1020p.

HON, D. N. S. **Chemical modification of lignocellulosic materials**. New York: Marcel Dekker, 1996, 370p.

HUANG, C. F.; JIANG, Y. F.; GUO, G. L.; WANG, W. S. Development of a yeast strain for xylitol production without hydrolysate detoxification as part of the integration of co-product generation within the lignocellulosic ethanol process. **Bioresource technology**, v. 102, n. 3, p. 3322-9, 2011.

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

HYVÖNEN, L.; TÖRMÄ, R. Examination of sugars, sugar alcohols, and artificial sweeteners as substitutes for sucrose in strawberry jam. Keeping quality tests. **Journal of food science**, v. 48, n. 1, p. 186-192, Jan/Feb, 1983.

ICIDCA, **Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar**, Imprenta MINAZ, 2000. 458p.

ISLAM, S. Effects of xylitol as a sugar substitute on diabetes-related parameters in nondiabetic rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 5, p. 505-511, 2011.

JANCIC, S. J.; GROOTSCHOLTEN, P. A. M. **Nucleation: mechanisms and sources of nuclei in industrial crystallizers**. In: _____. Industrial crystallization. Delft: Delft University, 1984. 15-37 p. Cap. 2.

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 fermentation of pentoses by yeast. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 63, p. 495-509, 2004.

JEFFRIES, T. W. Engineering yeasts for xylose metabolism. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 17, p. 320-326, 2006.

KHALID, E.; JOHAN, S.; Helén, J.; JAN, S. Calorimetric and relaxation properties of xylitol-water mixtures **J. Chem. Phys.**, v. 136, p. 104508, 2012.

KO, C. H.; CHIANG, P. N.; CHIU, P. C.; LIU, C. C.; YANG, C. L.; SHIAU, I. L. Integrated xylitol production by fermentation of hardwood wastes. **Chemical Technology**, v. 83, p. 534-540, 2008.

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

KUMAR, P.; BARRET, D. M.; DELWICHE, M. J.; STROVE, P. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. **Industrial Engineering Chemical Resource**, v. 48, p. 3713-1729, 2009.

LADISCH, M. R., Fermentable sugars from cellulosic residues. **Process Biochemistry**, v. 14, n. 1, p. 21-5, 1979.

LAM, M.; RIEDY, C. A.; COLDWELL, S. E.; MILGROM, P.; CRAIG, R. Children's acceptance of xylitol based food. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 28, p. 97-101, 2000.

Larosa, R.. Produccion de xilitol. Disponível em <http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/biodie_lar/xilitol.htm>. Acessado em 02 dezembro 2018.

LI, M.; MENG, X.; DIAO, E.; DU, F. Xylitol production by *Candida tropicalis* from corn cob hemicellulose hydrolysate in a two-stage fed-batch fermentation process. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 387-382, 2012.

LIMA, L. H. A.; BERLINCK, C. N. Xilitol, o adoçante do futuro. **Ciência hoje**, v. 33, n. 95, p. 66-69, 2003.

LINGSTROM, P., LUNDGREN, F., BIRKHED, G., TAKAZOE, I., FROSTELL, G. Effects of frequent mouthrinses with palatinose and xylitol on dental plaque. **European Journal of Oral Sciences**, v. 105, n. 2, p. 162-169, 1997.

LYND, R. L.; VAN ZYL, W. H.; MCBRIDE, J. E.; LASER, M. Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: an update. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 16, p. 577-583, 2005.

MÄKI-ARVELA, P.; SALMI, T.; HOLMBOM, B.; WILLFÖR, S.; MURZIN, D. Y. Synthesis of sugars by hydrolysis of hemicelluloses- A Review. **Chemical Reviews**, v., 111, p. 5638-5666, 2011.

MAKINEN, K. K. Xylitol: The sugar that prevents tooth decay. **The Futurist**, v. 10, n. 3, p. 135-139, 1976.

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

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.; NÁPOLES, A. I. S.; 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.

MARTINEZ, E. A. **Estudo do processo de cristalização de xilitol obtido por via fermentativa**. 2005. 165p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial), Departamento de Biotecnologia, FAENQUIL, Lorena, 2005.

MARTÍNEZ, E. A.; GIULIETTI, M.; SILVA, J. B. A.; DERENZO, S. Kinetics of the xylitol crystallization in hydro-alcoholic solution. **Chem Eng Proc.**, v. 47, p. 2157–2162, 2008.

MARTÍNEZ, E. A.; GIULIETTI, M.; SILVA, J. B. A.; DERENZO, S.; FELIPE, M. G. A. Batch cooling crystallization of xylitol produced by biotechnological route. **J Chem. Technol. Biot.**, v. 84, p. 376–381, 2009.

MARTON, J. M. **Avaliação de diferentes carvões ativados e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana de açúcar para a obtenção biotecnológica de xilitol**. 2002. 105p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial), Departamento de Biotecnologia, FAENQUIL, Lorena, 2002.

MATEO, S., ROBERTO, I. C., SÁNCHEZ, S., MOYA, A. J. Detoxification of hemicellulosic hydrolyzate from olive tree pruning residue. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 196-203, 2013.

MATTILA, P. T.; KANGASMAA, H.; KNUUTTILA, M. L. E. The effect of a simultaneous dietary administration of xylitol and ethanol on bone resorption. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 54, n. 4, p. 548-51, 2005

MATTILA, P. T.; SVANBERG, M. J.; JAMSA T.; KNUUTTILA, M. L. E. Improved bone biomechanical properties in xylitol-fed aged rats. **Metabolism-Clinical and Experimental**, v. 51, n. 1, p. 92-96, 2002.

MATTILA, P. T.; SVANBERG, M. J.; KNUUTTILA, M. L. E. Increased bone volume and bone mineral content in xylitol-fed aged rats. **Gerontology**, v. 47, p. 300-305, 2001.

MATTILA, P. T.; KNUUTTILA, M. L. E.; SVANBERG, M. J. Dietary xylitol supplementation prevents osteoporotic changes in streptozotocin-diabetic rats. **Metabolism**, v. 47, p. 578-583, 1998.

MELAJA, A. J.; HAMÄLÄINEN, L. **Process for making Xylitol**. U.S. Patent n. 4.008.285. 18 jun. 1975, publ. 15/ 02/1977.

MENEZES, J. B.; ALVES, R. E. **Fisiologia e tecnologia pós-colheita do pedúnculo do caju**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 1995, 20 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 17).

MIKKOLA, J. P.; SALMI, T. Three-phase catalytic hydrogenation of xylose to xylitol- prolonging the catalyst activity by means of on-line ultrasonic treatment. **Catalyst today**, v. 64, n. 3-4, p. 271-277, Jan., 2001.

MISRA, S.; GUPTA, P.; RAGHUWANSHI, S.; DUTT, K.; SAXENA, R. K. Comparative study on different strategies involved for xylitol purification from culture media fermented by *Candida tropicalis*. **Sep. Purif. Technol.**, v. 78, n. 3, p. 266-273, 2011.

MISRA, S.; RAGHUWANSHI, S.; SAXENA, R. K. Evaluation of corncob hemicellulosic hydrolysate for xylitol production by adapted strain of *Candida tropicalis*. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 2, p. 1596–601, 2013.

MODENBACH, A. A., NOKES, S. E., Enzymatic hydrolysis of biomass at high-solids loadings- A review. **Biomass and Bioenergy**, v. 56, p. 526-544, 2013.

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.

MORAES, E. J. C. **Estudo da viabilidade econômica da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de palha de cevada**. 2008. 157p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Lorena, 2008.

MOSIER, N., WYMAN, C., DALE, B., ELANDER, R., LEE, Y. Y. HOLTZAPPLE, M., LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 673-686, 2005.

MULLIN, J. W., RAVEN, K. D. Nucleation in Agitated Solutions. **Nature** v. 190, p. 25, 1961.

MULLIN, J. W. Crystallization, 3rd ed., Butterworths-Heinemann Press, **Oxford**, 1992.

MULLIN, J.W. Crystallization, 4th ed., Butterworth-Heinemann, **Oxford**, 2001. 594p.

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. Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, n. 4, p. 401-413, 2002.

NÝVLT, J., SOHHEL, O., MATUCHOVA, M., BROUL, M. **The kinetics of industrial crystallization**. Praga, 1985. 350p.

NÝVLT, J., HOSTOMSKY, J., GIULIETTI, M. **Cristalização**, IPT/SP, Editora da UFSCar, 2001. 160p.

NIGAM, P.; SING, D. Processes of fermentative production of Xylitol — a sugar substitute. **Process Biochemistry**. v. 30, n. 2, p. 117-124, 1995.

PAN, X.; XIE, D.; GILKES, N.; GREGG, D. J.; SADDLER, J. N. Strategies to Enhance the Enzymatic Hydrolysis of Pretreated Softwood with Content High Residual Lignin. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 121/124, p. 1069-1080, 2005.

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

PARAJÓ, J. C; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J. M. Biotechnological production of xylitol. Part 3: Operation in culture media made with lignocellulose hydrolysates. **Bioresource Technology**, v. 66, p. 25-40, 1998c.

PEPPER, T.; OLINGER, P.M. Xylitol in sugar-free confections. **Food Technology**, v. 42, n. 10, p. 98-106, 1988.

PEREIRA, M. C. T.; CORREA, H. C. T.; NIETCHE, S.; MOTA, W. F.; MARQUES, S. V. **Caracterização físico- -química de pedúnculos e castanhas de clones de cajueiro-anão-precoce nas condições do norte de Minas Gerais**. v. 64, n. 2, p. 169-175, 2005.

PEREIRA, A. F. F.; SILVA, T. C.; CALDANA M. L.; MACHADO, M. A. A. M.; BUZALAF, M. A. R. Revisão de literatura: utilização do xilitol para a prevenção de otite média aguda. **International Archives Otorhinolaryngology**, v. 13, n. 1, p. 87-92, 2009.

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

- PING, Y.; LING, H. Z.; SONG, G.; G. E, J. P. Xylitol production from non-detoxified corncob hemicellulose acid hydrolysate by *Candida tropicalis*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 75, p. 86-91, 2013.
- RAFIQUL, I. S. M.; SAKINAH, M. M. Design of process parameters for the production of xylose from wood sawdust. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 90, n. 9, p. 1307-1312, 2012.
- 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. BASSAM, N. EL., BEHL, R_K., PROCHNOW, Science Publishers, v. 1, p. 652, 1998.
- REIS, C. L. B. **Estudos de pré-tratamentos do bagaço de caju utilizando líquido iônico prótico visando a obtenção de produtos de valor agregado**. 2016. 82 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)–Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.
- RITTER, A. V.; BADER, J. D.; LEO, M. C.; PREISSER, J. S.; SHUGARS, D. A.; VOLLMER, W. M.; AMAECHI, B. T.; HOLLAND, J. C. Tooth-surface-specific effects of xylitol **J. Dent. Res.**, v. 92, p. 512-517, 2013.
- 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.; 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.
- ROCHA, M. V. P., RODRIGUES, T. H. S., MACEDO, G. R., GONÇALVES, L. R. B. Enzymatic Hydrolysis and Fermentation of Pretreated Cashew Apple Bagasse with Alkali and Diluted Sulfuric Acid for Bioethanol Production. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 155, p. 407– 417, 2009.
- ROCHA, M. V. P.; RODRIGUES, T. H. S.; MELO, V. M. M.; GONÇALVES, L. R. B.; MACEDO, G. R. Cashew apple bagasse as a source of sugars for ethanol production by *Kluyveromyces marxianus* CE025. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 38, n. 8, p. 1099-107, 2011.
- ROCHA, M. V. P.; RODRIGUES, T. H. S.; ALBUQUERQUE, T. L.; GONÇALVES, L. R. B.; MACEDO, G. R. Evaluation of dilute acid pretreatment on cashew apple bagasse for ethanol and xylitol production. **Chemical Engineering Journal**, v. 243, p. 234–243, 2014.
- RODRIGUES, R. C. L. B.; KENEALY, W. R.; JEFFRIES, T. W. Xylitol production from DEO hydrolysate of corn stover by *Pichia stipitis* YS-30. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 38, n. 10, p. 1649-55, 2011.

SAHA, B. C.; COTTA, M. A. Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated rice hulls to ethanol. **Enzyme Microb. Technol.** v. 41, p. 528-532, 2007.

SAHA, B. C.; ITEN, L. B.; COTTA, M. A.; WU, Y. V. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification, and fermentation of wheat straw to ethanol. **Proc. Biochem.**, v. 40, p. 3693- 3700, 2005.

SAHA, B. C. Hemicellulosic bioconversion. **Journal of Industrial Microbial Biotechnology**, v. 30, p. 279-291, 2003.

SAHA, B. C.; YOSHIDA, T.; COTTA, M. A.; SONOMOTO, K. Hydrothermal pretreatment and enzymatic saccharification of corn stover for efficient ethanol production. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 367-372, 2013.

SAMPAIO, F. C.; PASSOS, F. M. L.; PASSOS, F. J. V.; FAVERI, D.; PEREGO, P.; CONVERTI, A. Xylitol crystallization from culture media fermented by yeasts. **Chemical Engineering and Processing**, v. 45, p. 1041–1046, 2006.

SÁNCHEZ, O. J.; CARDONA, C. A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Biosource Technology**. v. 99, p. 527-5295, 2008.

SANTOS, M. G. **Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de xilitol e mentol por coacervação complexa e sua aplicação em gomas de mascar**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Pirassununga, 2014.

SALAÜN, F.; BEDEK, G.; DEVAUX, E.; DUPONT, D.; GENGEMBRE, L. Microencapsulation of a cooling agent by interfacial polymerization: Influence of the parameters of encapsulation on poly(urethane–urea) microparticles characteristics. **Journal of Membrane Science**, v. 370, n. 1-2, p.23–33, 2011.

SARROUH, B. F.; SILVA, S. S. Evaluation of the performance of a Three-Phase Fluidized Bed Reactor with Immobilized Yeast Cells for the Biothechnological Production of Xylitol. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, v. 6, p. 1-15, 2008.

SCHEEL, H. J. Historical aspects of crystal growth technology. *Journal of Crystal Growth*,v. 211,p. 1-12, 2000.

SENE, L.; VITOLO, M.; FELIPE, M. G. A.; SILVA, S. S. Effect of environmental conditions on xylose reductase and xylitol dehydrogenase production in *Candida guilliermondii*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 84, n. 86, p. 371-380, 2000.

SERAFIM, L. F. **Estudo do processo de separação do xilitol obtido por rota fermentativa utilizando a levedura *k. marxianus* cca510**. 2013. 46p.

Trabalho final de curso. Graduação em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, 2013.

SHEN, P.; CAI, F.; NOWICKI, A.; VINCENT, J.; REYNOLDS, E.C. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide- amorphous calcium phosphate. **Journal of Dental Research**, v. 80, n. 12, p. 2066-2070, 2001.

SILVA, S. S.; ROBERTO, I. C.; FELIPE, M. G. A.; MANCILHA, I. M. Batch fermentation of xylose for xylitol production in stirred tank bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 31, n. 6, p. 549-553, 1996.

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, O. O. **Aproveitamento do bagaço de abacaxi (*Ananas comosus L. Merrill*) para produção biotecnológica de xilitol**. 2011. 121 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7.ed. LTC, p. 506, 2006.

SINGH, A., MISHRA, P. **Microbial Pentose Utilization**. Current Applications in Biotechnology. Elsevier, p.401, 1995.

SJÖSTRÖM, E.; ALÉN, R. **Analytical methods in wood chemistry, pulping, and papermaking**. Berlin: Springer-Verlag, p. 316, 1998.

SLUITER, A.; HAMES, B.; HYMAN, D.; PAYNE, C.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, A.; SLUITER, J.; TEMPLETON D.; WOLFE, J. **Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples Laboratory Analytical Procedure (LAP)** Issue Date: 3/31/2008. Technical Report NREL/TP-510-42621 Revised March 2008a.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; CROCKER, D. **Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Laboratory Analytical Procedure (LAP)** Issue Date: 4/25/2008 Technical Report NREL/TP-510-42618 Revised April 2008b.

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

- TAPIAINEN, T.; LUOTONEN, L.; KONTIOKARI, T.; RENKO, M.; UHARI, M. Xylitol administered only during respiratory infections failed to prevent acute otitis media. **Pediatrics**, v. 109, n. 2, p. U1-U6, 2002
- UHARI, M.; TAPIAINEN, T.; KONTIOKARI, T. Xylitol in preventing acute otitis media. **Vaccine**, v. 19, p. 144-7, 2000.
- UITTAMO, J.; NIEMINEN, M. T.; KAIHOVAARA, P.; BOWYER, P., SALASPURO, M.; RAUTEMAA, R. Xylitol inhibits carcinogenic acetaldehyde production by *Candida species*. **International Journal of Cancer**, v. 129, n. 8, p. 2038-2041, 2011.
- VANDESKA, E.; AMARTEY, S.; KUZMANOVA, S.; JEFFRIES, T. Effects of environmental conditions on production of xylitol by *Candida boidinii*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.11, p.213-218, 1995.
- Van ROSMALEN, G. M.; BERMINGHAM, S.; BRUINSMA, D.; KRAMER, H.; DERENZO, S.; SECKER, M.; RÉ, M.I.; CEKINSKI, E.; GIULIETTI, M. Apostila: **Industrial Crystallization and Precipitation**. São Paulo: IPT-Tu Delft, 2004.
- 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).
- VÁSQUEZ, M. P.; SILVA, J. N. C.; SOUSA JR., M. B.; PEREIRA JR., N. Enzymatic hydrolysis optimization to ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 136, p. 141-154, 2007.
- VILLARREAL, M. L. M. **Avaliação do tratamento do hidrolisado hemicelulósico de resíduos de eucalipto, com carvão ativo e resinas de troca iônica, para a produção de xilitol**. 2005. 132p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Faculdade de Engenharia Química de Lorena, 2005.
- WANG, L.; DAPENG, W.; PINGWAH, T.; XIAO GUANG, F.; QIPENG, Y. Xylitol production from corncob hydrolysate using polyurethane foam with immobilized *Candida tropicalis*. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 1106-1113, 2012.
- WEI, J.; YUAN, Q.; WANG, T.; WANG, L. Purification and crystallization of xylitol from fermentation broth of corncob hydrolysates. **Frontiers Chem. Eng. China**, v. 4, n. 1, p. 57-64, 2010.
- 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. 1-14, 1998.

WILKINS, M. R.; MUELLER, M.; EICHLING, S.; BANAT, I. M. Fermentation of xylose by the thermotolerant yeast strains under anaerobic conditions. **Process Biochemistry**, v. 43, p. 346-350, 2008.

YANG, Y.; KONG, W.; CAI, X. Solvent-free preparation and performance of novel xylitol based solid-solid phase change materials for thermal energy storage. **Energy and Buildings**. v. 158, p. 37–42, 2018.

ZABNER, J.; MICHAEL, P. S.; LAUNSPACH, J. L.; KARP, P. H.; KEARNEY, W. R. The osmolyte xylitol reduces the salt concentration of airway surface liquid and may enhance bacterial killing. **PNAS**, v. 97, n. 21, p. 1164-1169, 2000

ZHANG, J.; GENG, A.; YAO, C.; LU, Y.; LI, Q. Xylitol production from Dxylose and horticultural waste hemicellulosic hydrolysate by a new isolate of *Candida athensensis* SB18. **Bioresource technology**, v. 105, p. 134-41, 2012.

ZHAO, X.; WANG, L.; LIU, D. Peracetic acid pretreatment of sugarcane bagasse for enzymatic hydrolysis: a continued work. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 83, p. 950-956, 2008.

ZOU, Y. Z.; KAI, Q. I.; CHEN, X.; MIAO, X. L.; ZHONG, J. J. Favorable effect of very low initial $k(L)a$ value on xylitol production from xylose by a self-isolated strain of *Pichia guilliermondii*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 109, n. 2, p.149-52, 2010.