



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

BERNARDO SOARES CARDOSO

**ADSORÇÃO EM COLUNAS DE LEITO FIXO DE CARBONO ATIVADO COMO
ETAPA NA PURIFICAÇÃO DE XILITOL BIOTECNOLÓGICO**

CAMPINAS – SP

2020

BERNARDO SOARES CARDOSO

**ADSORÇÃO EM COLUNAS DE LEITO FIXO DE CARBONO ATIVADO COMO
ETAPA NA PURIFICAÇÃO DE XILITOL BIOTECNOLÓGICO**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos da Universidade
Estadual de Campinas como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
Mestre em Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Marcus Bruno Soares Forte

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNO BERNARDO
SOARES CARDOSO, E ORIENTADO
PELO PROF. DR. MARCUS BRUNO
SOARES FORTE

CAMPINAS – SP

2020

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

C179a Cardoso, Bernardo Soares, 1990-
Adsorção em colunas de leito fixo de carbono ativado como etapa na purificação de xilitol biotecnológico / Bernardo Soares Cardoso. – Campinas, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Marcus Bruno Soares Forte.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Purificação. 2. Xilitol. 3. Carbono ativado. I. Forte, Marcus Bruno Soares. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Activated carbon adsorption in fixed bed columns as a step in the purification of biotechnological xylitol

Palavras-chave em inglês:

Purification

Xylitol

Activated carbon

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Mestre em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Marcus Bruno Soares Forte [Orientador]

Ivanildo José da Silva Junior

Luiz Henrique Fasolin

Data de defesa: 08-10-2020

Programa de Pós-Graduação: Engenharia de Alimentos

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0001-9101-6566>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/0203797508684812>

FOLHA DE APROVAÇÃO

Prof. Dr. Marcus Bruno Soares Forte

Presidente da Comissão Julgadora

Prof. Dr. Luiz Henrique Fasolin

Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP

Prof. Dr. Ivanildo José da Silva Junior

Faculdade de Engenharia Química/UFC

Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria de Pós Graduação da FEA.

AGRADECIMENTOS

Me perturbei por muitos dias pensando se eu deveria escrever ou não uma seção de agradecimentos. São muitos os acontecimentos e pessoas pelas quais eu me sinto agradecido e temo que não consigo exprimir aqui toda a extensão desse sentimento. Por fim decidi tentar, peço perdão pela simplicidade.

Agradeço ao meu irmão Diego pela inspiração para buscar o conhecimento, e por ser um exemplo de esforço, dedicação e sucesso.

Agradeço ao Prof. Marcus por toda a ajuda durante o processo. Foi muito habilidoso lidando com todos os problemas que tivemos desenvolvendo este trabalho, e sempre aberto a discutir novas ideias e abordar novos ângulos. Sempre de bom humor e com um bom conselho na manga. Foi um grande prazer ser seu orientado.

Agradeço à minha companheira Sharon pelo apoio em todas as decisões e por fazer todos os dias serem mais leves e agradáveis.

Agradeço aos meus tios e tias pelo apoio, especialmente minha tia Gorette, que me ajudou, me aconselhou e esteve comigo durante toda a jornada.

Agradeço à todos os meus amigos pelos bons momentos juntos e pela amizade que nos une.

Agradeço aos companheiros de mestrado pelo companheirismo, pelas rizadas e pela caminhada juntos.

Agradeço aos companheiros de laboratório por toda a ajuda no dia-a-dia e pelo ambiente amigável e tranquilo.

Agradeço à Priscila, responsável pelo laboratório, pelas inúmeras vezes que me auxiliou nos experimentos, sempre gentil e interessada em ajudar.

Agradeço à banca de exame de qualificação, Prof. Dr. Julian Martinez e Prof. Dr. Juliano Bicas pelas sugestões, direcionamentos e correções.

Agradeço à Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), à Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), ao Departamento de Engenharia de

Alimentos (DEA), ao Laboratório de Engenharia Metabólica e de Bioprocessos (LEMEB) e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PPG-EA) por prover todos os recursos necessários para a realização do trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) processo 439548/2018-7 e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

O presente trabalho estuda a purificação do xilitol biotecnológico utilizando carbono ativado em coluna de leito fixo. Na primeira etapa, de estudos preliminares, dois caldos de fermentação contendo xilitol foram caracterizados e purificados. Um obtido a partir de hidrolisado de cana-de-açúcar, e outro a partir de meio sintético constituído para o experimento. Foram utilizadas duas formas de alimentação distintas, por pulso (cromatografia) e alimentação direta (em degrau), e foi testada a adição de etanol à fase móvel. Houve grande diferença entre a purificação do xilitol proveniente dos dois caldos, sendo o de meio sintético mais eficientemente purificado por conta de sua menor complexidade, e observou-se que a adição de etanol à fase móvel diminui a adsorção e separação de todos os compostos. Na segunda etapa foi estudado como o processo de purificação se comporta com relação à variação de temperatura (T), volume de injeção (V_i) e velocidade superficial (v_s), utilizando alimentação por pulso e caldo proveniente do hidrolisado. Para tal foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR). Respostas obtidas são coeficientes de retenção (CR), fatores de purificação (FP), rendimento e produtividade de xilitol, e os compostos avaliados são xilitol, xilose, glicose, arabinose, glicerol, ácido acético, etanol, proteínas totais e compostos coloridos, e é avaliado também o teor de sólidos totais. Os resultados do DCCR apontaram que as condições que promoviam menor retenção de xilitol no adsorvente e maior produtividade se encontravam nos limites superiores dos parâmetros testados. Por isso, na terceira etapa do projeto, foram testadas um conjunto de condições nos limites utilizados no DCCR e um conjunto de condições extrapolando-as, e os melhores resultados foram obtidos no segundo conjunto ($T = 70^\circ\text{C}$, $V_i = 3 \text{ mL}$, $v_s = 1,5 \text{ cm/min}$), apresentando retenção total de proteínas e compostos coloridos, $FP_{\text{sólidos}} = 5,4$ e $CR_{\text{xilitol}} = 5,0\%$. Por último foi realizado ensaio em triplicata com alimentação em degrau nas condições escolhidas na etapa anterior, obtendo $FP_{\text{proteína}} = 18,0$, retenção de compostos coloridos maior que 99% e produtividade de 36,8 g/L.h. O processo se mostrou efetivo principalmente na remoção de proteínas, compostos coloridos e etanol.

Palavras-chave: purificação, xilitol, carbono ativado, coluna de adsorção.

ABSTRACT

The present work studies the purification of biotechnological xylitol using activated carbon in a fixed bed column. The first part of this work consisted of preliminary studies. In it, two fermentation broths containing xylitol were characterized and purified. One was obtained from sugarcane hydrolyzate, and another from a synthetic medium constituted for the experiment. Two different forms of feeding were used, by pulse input (chromatography) and direct feeding (step input), and ethanol addition to the mobile phase was also tested. There was a big difference between the xylitol purification from the hydrolyzed broth and the synthetic broth, with the synthetic one being more efficiently purified due to its smaller complexity. Also, the addition of ethanol to the mobile phase decreased the adsorption and separation of all compounds. The second part of this work studied how the purification process behaves when varying the temperature (T), injection volume (V_i) and surface speed (v_s), while using hydrolyzate broth with pulse input. For this purpose, reponse surface methodology was used with a central composite rotatable design (CCRD). The responses obtained are retention coefficients (RC), purification factors (PF), xylitol yield and productivity, and the compounds analyzed are xylitol, xylose, glucose, arabinose, glycerol, acetic acid, ethanol, proteins and colored compounds, and total solids content was also evaluated. The CCRD results show that the conditions that promote less xylitol retention in the adsorbent and greater productivity are in the upper limits tested. Therefore, the third part of the project tested the conditions found in the previous step against more extreme conditions, and the best results were obtained in the second set of conditions ($T = 70^\circ\text{C}$, $V_i = 3 \text{ mL}$, $v_s = 1.5 \text{ cm/min}$), with complete retention of proteins and colored compounds, $PF_{\text{solids}} = 5.4$ and $RC_{\text{xylitol}} = 5.0\%$. Lastly, a triplicate assay was performed with step input under the conditions chosen in the previous step, obtaining $PF_{\text{protein}} = 18.0$, retention of colored compounds greater than 99% and productivity of $36.8 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. The process proved to be effective mainly in removing proteins, colored compounds and ethanol.

Keywords: purification, xylitol, activated carbon, adsorption column.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	11
2.	OBJETIVO E ETAPAS.....	12
3.	REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	13
3.1	Xilitol.....	13
3.1.1	Propriedades químicas, nutricionais e aplicações	13
3.1.2	Mercado de xilitol.....	14
3.2	Produção de xilitol	17
3.2.1	Via química	17
3.2.2	Via biotecnológica (fermentação)	19
3.3	Purificação do xilitol	28
3.3.1	Métodos de purificação de xilitol biotecnológico	28
3.3.2	Adsorção	31
3.3.3	Carbão ativado e suas características	34
3.3.4	Tipos de adsorvedores	38
4.	MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1	Material	43
4.2	Métodos.....	43
4.2.1	Caracterização dos caldos fermentados e produtos da purificação	44
4.2.2	Purificação do xilitol presente nos caldos fermentados utilizando colunas de adsorção	45
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
5.1	Estudos preliminares.....	52
5.1.1	Primeira parte.....	53
5.1.2	Segunda parte	59

5.2	Otimização das condições – Planejamento experimental	63
5.2.1	Coeficiente de retenção de xilitol (Y_1)	66
5.2.2	Estudos de confirmação	76
5.3	Purificação de xilitol pelo método do degrau	81
6.	CONCLUSÕES	86
7.	LISTA DE PUBLICAÇÕES	87
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Xilitol ($C_5H_{12}O_5$) é um poliol de cinco carbonos (pentitol) que contém um grupo hidroxila ligado a cada átomo de carbono em sua cadeia, e que possui alto poder adoçante, apesar de apresentar teor calórico 40% menor quando comparado à sacarose (GRANSTRÖM, IZUMORI & LEISOLA, 2007).

O xilitol tem sido amplamente citado na literatura devido a suas características vantajosas para aplicação em produtos alimentícios, farmacêuticos e de cuidados pessoais. Algumas dessas características são alta solubilidade (BOND; DUNNING, 2006), baixas taxas glicêmicas (LIVESEY, 2003), propriedades cariostáticas (RITTER *et al.*, 2013) e não participar da reação de Maillard, que resulta na manutenção do valor nutricional das proteínas presentes no produto (MONEDERO, PÉREZ-MARTÍNEZ & YEBRA, 2010). Exemplos de aplicação em alimentos são gomas de mascar, doces, chocolates, sorvetes, gelatinas e bebidas variadas.

Existe uma crescente preocupação da população em nível mundial em reduzir o consumo de açúcar e de consumir produtos alimentícios com baixo teor calórico, devido a um maior cuidado com a saúde e estética (RAO *et al.*, 2016). Devido a essa tendência, a demanda por xilitol cresce, segundo a agência de pesquisa de mercado *Research and Markets*. De acordo com relatório publicado em janeiro de 2017, o mercado global de xilitol deve crescer de 725,9 milhões de dólares em 2016 para mais de 1 bilhão de dólares em 2022 (RESEARCH AND MARKETS, 2017).

Atualmente a maior parte do xilitol é produzida por via química. Nesse processo a xilose pura é reduzida cataliticamente sob altas pressões e temperaturas com utilização de custosos catalisadores, normalmente a base de níquel. Devido às condições de operação, à necessidade de etapas de purificação da xilose e ao custo elevado dos catalisadores, o processo é bastante oneroso (RAO *et al.*, 2016).

Diante desse cenário, a produção de xilitol por via biotecnológica torna-se interessante, uma vez que pode ser energeticamente menos exigente e apresentar um custo geral de processo menor. O processo envolve hidrólise de biomassa lignocelulósica, destoxificação do hidrolisado, fermentação desse hidrolisado

hemicelulósico destoxificado e posterior processo de concentração, purificação e cristalização para obtenção de xilitol com grau de pureza necessário para comercialização.

Materiais lignocelulósicos, contendo basicamente celulose, hemicelulose e lignina, estão entre os mais abundantes na terra. A hemicelulose, que é uma potencial fonte de substrato (xilose) para produção de xilitol, é o segundo composto mais comum na parede celular de plantas (CHANDEL, DA SILVA & SINGH, 2012). Por conta disso, há vasta possibilidade de fontes de biomassa lignocelulósica para utilização no processo, incluindo diversos subprodutos industriais como, por exemplo, o bagaço de cana-de-açúcar proveniente da produção de etanol. Outros exemplos são palha de arroz, espiga de milho, serragem e haste de girassol. A utilização de subprodutos apresenta vantagem por conta do custo mais baixo e diminuição de problemas ambientais (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014).

Apesar de a produção de xilitol por via biotecnológica ser promissora, na literatura há pouca informação sobre as etapas de recuperação e purificação (*downstream*). Esse estágio do bioprocessamento, que pode incluir várias etapas, muitas vezes é o maior contribuinte para o custo total de produção (RAFIQUL & SAKINAH, 2013). A maioria dos estudos na área está orientada à obtenção dos hidrolisados hemicelulósicos, sua fermentação e bioconversão metabólica (MISRA *et al.*, 2011).

Dessa maneira, o estudo e otimização de técnicas para a purificação de xilitol biotecnológico é de grande relevância para reduzir o seu custo e tornar o processo viável. É essa necessidade que o presente trabalho pretende atender, avaliando a capacidade purificadora do carbono ativado, que é um material de baixo custo, utilizando técnicas de adsorção aplicáveis em larga escala.

2. OBJETIVO E ETAPAS

Frente a necessidade de se desenvolver um processo de purificação de xilitol biotecnológico que seja eficiente e de baixo custo, o presente trabalho tem como objetivo:

- Avaliar a capacidade de purificação do xilitol biotecnológico por carbono ativado utilizando colunas de leito fixo em escala laboratorial;

- Investigar como a temperatura, velocidade superficial e volume de injeção influenciam o processo de purificação, e propor explicações para os comportamentos encontrados;
- Definir as melhores condições de temperatura, velocidade superficial e volume de injeção para o processo estudado.

3. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

3.1 Xilitol

3.1.1 Propriedades químicas, nutricionais e aplicações

Xilitol é um composto natural do tipo pentitol, também conhecido como poliól. Sua fórmula molecular é $C_5H_{12}O_5$, sendo um álcool composto por cinco grupos hidroxila (OH), cada um deles ligado a um átomo de carbono (Figura 1).

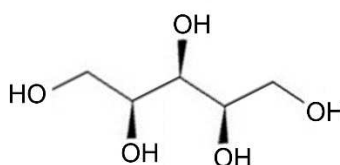


Figura 1. Estrutura Química do Xilitol.

O xilitol puro é um pó branco e cristalino que se assemelha à sacarose, tanto visualmente quanto em seu gosto. O xilitol é caracterizado como edulcorante, ou adoçante artificial, por conta de seu poder adoçante próximo ao da sacarose. Porém, apresenta vantagem devido ao seu teor energético de 2,4 kcal/g comparado às 4 kcal/g da sacarose (MUSSATTO, 2012; GRANSTRÖM, IZUMORI & LEISOLA, 2007).

Quando em estado sólido, o xilitol se dissolve rapidamente na boca, produzindo um efeito de frescor. Isso se dá devido à sua entalpia de dissolução, que é altamente endotérmica (36,6 cal/g). Esse efeito é benéfico para aplicação em diversos produtos, combinando especialmente com produtos com sabor de menta, eucalipto e demais sabores de ervas (BEMILLER, 2019; MUSSATTO, 2012).

Outra característica importante do xilitol é sua alta solubilidade. A molécula de xilitol apresenta forte afinidade por água, o que a torna facilmente solubilizável em soluções aquosas. Sua solubilidade é próxima à da sacarose à temperatura ambiente, e maior em temperaturas mais elevadas (BOND & DUNNING, 2006).

A ausência de um grupo reduzível na estrutura do xilitol lhe confere uma característica de composto não reativo. Por conta disso, o xilitol não participa de reações de Maillard. Sua temperatura de ebulição é de 216 °C e a caramelização só ocorre caso sejam mantidas temperaturas próximas a seu ponto de ebulição. Ainda em relação à estabilidade, o xilitol pode ser utilizado em ampla faixa de pH (1-11) pois sua estabilidade não é afetada pelo pH (BOND & DUNNING, 2006). Além disso, como a molécula de xilitol contém número ímpar de carbonos, os micro-organismos encontram dificuldade em atacar o xilitol para obtenção de energia, conferindo alta estabilidade microbiológica (MUSSATTO, 2012).

Muitos efeitos benéficos à saúde foram relacionados ao uso do xilitol em diferentes campos de estudo: ajuda no combate à formação de cáries (RITTER *et al.*, 2013), redução da ocorrência de otite média aguda em crianças (AZARPAZHOOH, LAWRENCE & SHAH, 2016), participação no combate à obesidade e diabetes, redução de gengivite e controle de halitose (MARTÍNEZ *et al.*, 2015).

Em termos de aplicação, o xilitol pode ser adicionado à cereais ou frutas, misturado em molhos para saladas ou usado em culinária e panificação. O xilitol tem sido utilizado como aditivo alimentar e agente adoçante desde a década de 1960, porém recentemente o número e tipos de produtos que contêm este edulcorante na formulação vêm aumentando rapidamente. Hoje em dia uma grande variedade de produtos contendo xilitol na composição pode ser encontrada no mercado, incluindo gomas de mascar, confeitos, geléias, chocolates, sobremesas congeladas, biscoitos, pudins, sorvetes e refrigerantes (HOU-RUI, 2012).

3.1.2 Mercado de xilitol

O mercado global de xilitol está estimado em 190,9 mil toneladas, avaliado em US\$ 725,9 milhões em 2016 e deverá atingir 266,5 mil toneladas avaliadas em pouco mais de US\$ 1 bilhão até 2022, crescendo com robusta taxa de

crescimento anual composta (CAGR) de cerca de 5,7% em termos de volume e valor. O mercado de xilitol representa cerca de 10 a 12% do mercado de edulcorantes de poliol, que incluem sorbitol, manitol, maltitol, xilitol e eritritol (GLOBAL MARKET INSIGHTS, 2019).

Em termos de aplicação, o segmento de gomas de mascar dominou o mercado global de xilitol, respondendo por 62% do volume global em 2015 (GLOBAL MARKET INSIGHTS, 2019). Esse segmento deverá se expandir com o CAGR mais rápido de 6,2% de 2016 a 2025, devido à crescente conscientização sobre a saúde entre os consumidores de gomas de mascar. Esse aumento da conscientização tem provocado uma mudança no comportamento de compra do consumidor, exibindo uma preferência crescente pela goma de mascar sem açúcar. Além disso, grandes fabricantes de goma de mascar vem focando na introdução de produtos sem açúcar em seu portfólio, que por sua vez influencia o crescimento do mercado. As propriedades únicas do xilitol de proteção contra cáries e desmineralização de esmalte devem estimular também seu uso em higiene bucal (INDUSTRY EXPERTS, 2017; GRAND VIEW RESEARCH, 2017).

Produtos de confeitaria e padaria apresentam tendência promissora no mercado de xilitol na América do Norte e Europa, devido à crescente demanda dos consumidores por produtos de confeitaria de baixo teor calórico (GRAND VIEW RESEARCH, 2017). Os dados globais de vendas e receita, divididos por aplicação, no ano de 2015 estão apresentados na Tabela 1.

Aplicação	Vendas (mil toneladas)	Receita (milhões de dolares)
Gomas de mascar	112,9	464,3
Confeitaria	27,6	115,0
Alimentos	20,5	93,8
Cuidados pessoais	12,0	57,0
Farmacêutica	5,9	32,4
Nutracêutica	3,1	20,8
Total	182,0	783,3

Tabela 1. Vendas e receita divididas por aplicação de xilitol. Dados globais do ano de 2015. Fonte: GLOBAL MARKET INSIGHTS, 2019.

Dentre as regiões, a Ásia-Pacífico deve apresentar a taxa de crescimento mais rápida até 2025, devido a um aumento da preocupação com a saúde e de programas de controle de peso entre os consumidores de países em desenvolvimento (GRAND VIEW RESEARCH, 2017). A representatividade de cada região no mercado mundial de xilitol em 2018 está apresentada na Tabela 2.

Região	Representatividade
America do Norte	39,3%
Europa	31,7%
Ásia-Pacífico	22,2%
América Latina	4,9%
Oriente médio e África	2,1%

Tabela 2. Representatividade de cada região no mercado mundial de xilitol no ano de 2018, calculado com base em massa de xilitol vendida. Fonte: GLOBAL MARKET INSIGHTS, 2019.

A DuPont Danisco é líder mundial em xilitol, com fábricas localizadas na Finlândia, EUA e China (DASGUPTA *et al.*, 2017). Outros grandes produtores são DFI Corporation (EUA), Shandong Futaste Co. (China), Sweet Natural Trading Co. (antiga Xylitol Canada Inc.), Zuchem Inc. (EUA), e Roquette Freres (França). A Shandong Futaste produz aproximadamente 20.000 toneladas de xilose e 35.000 toneladas de xilitol por ano, e fornecem xilitol para grandes multinacionais como Kraft, Cadbury e Wrigleys (FELIPE HERNÁNDEZ-PÉREZ *et al.*, 2019; GRAND VIEW RESEARCH, 2017).

DuPont Danisco e Sweet Natural Trading produzem xilitol à base de bétula (birchwood) e seu preço varia entre US\$ 10-11/kg. Já os fabricantes chineses produzem xilitol principalmente à base de espiga de milho, e o preço varia entre US\$ 2,8-3,2/kg (GLOBAL MARKET INSIGHTS, 2019). Já no mercado brasileiro, para o consumidor final, o xilitol é encontrado com o preço variando de R\$35,00 a R\$100,00 por quilograma. São muitas as marcas que embalam e distribuem xilitol em território nacional, sendo a maior parte importada da China.

Devido às suas vantagens em termos de sustentabilidade, a implantação de processos biotecnológicos para produção de xilitol é foco de diversas empresas, como Thomson Biotech Xiamen PTE LTD., empresa chinesa com sede em Singapura e diversas filiais em território chinês, e ZuChem Inc., estadunidense, que atualmente realiza seu processo em escala piloto. Além disso, DuPont Danisco,

Xyrofin Oy e Thomson Biotech possuem diversas patentes relacionadas a produção de xilitol por fermentação. Ainda sobre sustentabilidade, a DuPont desenvolveu processo integrado à indústria de papel e celulose que afirmam utilizar 85% menos energia que o processo convencional, e uma redução da pegada de carbono de 90%, porém a conversão de xilose a xilitol ainda é realizada por via química (DELGADO ARCAÑO *et al.*, 2018; RAVELLA *et al.*, 2012).

3.2 Produção de xilitol

3.2.1 Via química

O xilitol é fabricado industrialmente por hidrogenação catalítica de xilose em um processo de três fases, na presença de um catalisador metálico, sendo o níquel Raney o mais comumente utilizado. Sua produção é realizada em banho, utilizando altas pressões de hidrogênio e temperaturas relativamente altas. A partir da hemicelulose da biomassa, é possível recuperar aproximadamente 50-60% da xilana como xilitol, ou 8-15% comparado à matéria-prima inicial. Realizando o cálculo a partir de xilose pura, este processo atinge até 98% de rendimento (RAFIQUL & SAKINAH, 2013).

A escolha apropriada da matéria-prima é importante. Ela deve ter um conteúdo de xilana alto e que esteja altamente disponível. O conteúdo de xilanas pode variar dependendo da planta, fração a ser utilizada, armazenamento e métodos e condições de pré-tratamento empregados (DELGADO ARCAÑO *et al.*, 2018).

A produção industrial de xilitol pela via química ocorre em quatro etapas: hidrólise ácida da biomassa lignocelulósica; obtenção de xilose pura (na forma cristalina ou em solução) por purificação do hidrolisado; hidrogenação catalítica de xilose para xilitol à alta temperatura e pressão de H₂ (até 50 atm); e cristalização e purificação do xilitol (DELGADO ARCAÑO *et al.*, 2018). As etapas estão apresentadas na Figura 2.

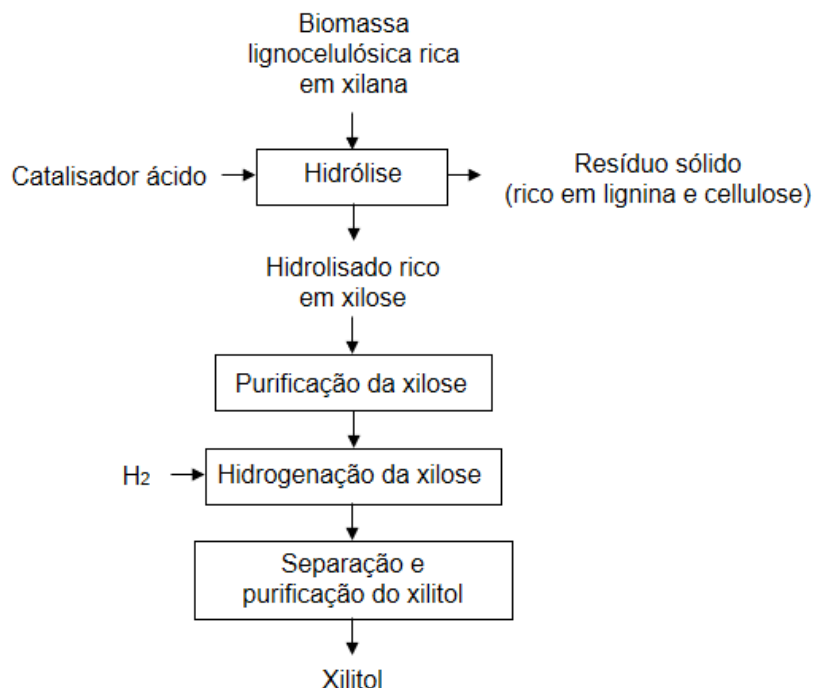


Figura 2. Principais etapas para a produção de xilitol por via química. Adaptado de DELGADO ARCAÑO et al., 2018.

Para purificação da xilose, os tratamentos com carbono ativado e cromatografia de troca iônica são apontados como os mais eficientes para descolorir o hidrolisado e eliminar compostos fenólicos, furfural e HMF, sem perda de xilose. Outros métodos de purificação podem ser físicos, químicos ou biológicos, incluindo ultrafiltração, neutralização, extração por solvente, evaporação, precipitação, tratamentos com enzimas ou micro-organismos, destilação a vapor, extração com fluidos supercríticos, encapsulação, peneira molecular ou o uso de substâncias redutoras e adsorventes poliméricos (DELGADO ARCAÑO *et al.*, 2018).

Apesar de obter altos rendimentos, esse método de produção é custoso e, por consequência, o xilitol tem custo elevado quando comparado ao açúcar comercial ou outros edulcorantes de mais fácil obtenção. O processo é oneroso principalmente devido às etapas de purificação, para obtenção de xilose com alto grau de pureza, de hidrogenação, por ser intensiva em energia devido ao uso de altas temperaturas e pressão, e devido à alta sensibilidade dos catalizadores necessários para a reação (DELGADO ARCAÑO et al., 2018; YI & ZHANG, 2012).

3.2.2 Via biotecnológica (fermentação)

Na produção por via biotecnológica o xilitol é produzido por fermentação realizada por micro-organismo. Neste processo o xilitol é gerado a partir da D-xilose, na maioria dos casos, como um metabólito intermediário, obtido pela conversão direta de D-xilose a D-xilitol pela enzima xilose redutase (XR). Em seguida o D-xilitol pode ser oxidado a D-xilulose pela enzima xilitol desidrogenase (XDH), ou secretado da célula. A XR tem uma preferência dupla de cofator, podendo utilizar NADPH e NADH, enquanto que a xilitol desidrogenase (XDH) utiliza apenas NAD⁺ (Figura 3) (KWAK & JIN, 2017; CHEN et al., 2010). A acumulação de xilitol é promovida restringindo a disponibilidade de oxigênio. Essa condição gera um desequilíbrio redox de NADH / NAD⁺, que reduz a atividade de XDH. Porém essa abordagem gera outros desafios, uma vez que a acumulação de xilitol causa redução do fluxo de carbono pelas vias metabólicas centrais, particularmente a via das pentoses-fosfato, que é a principal via produtora de NADPH. Por consequência, quando a XR depende exclusivamente de NADPH, a regeneração de NADPH se torna um obstáculo para o processo. Uma possível estratégia para superar essa limitação é o uso de co-substratos que sejam capazes de manter o suprimento de NADPH (HERNÁNDEZ-PÉREZ et al., 2019).

A conversão de D-xilose a D-xilulose em duas etapas, com uma redução seguida por uma oxidação, é comum na maioria das leveduras e fungos. Já em bactérias, a conversão é realizada em uma única etapa, catalizada pela enzima xilose isomerase (XI). A conversão em uma única etapa pela XI é detectada também em algumas leveduras e bolores, como *C. boidinii*, *Malbranchea pulchella*, e *Meurospora crassa* (KWAK & JIN, 2017; CHEN et al., 2010).

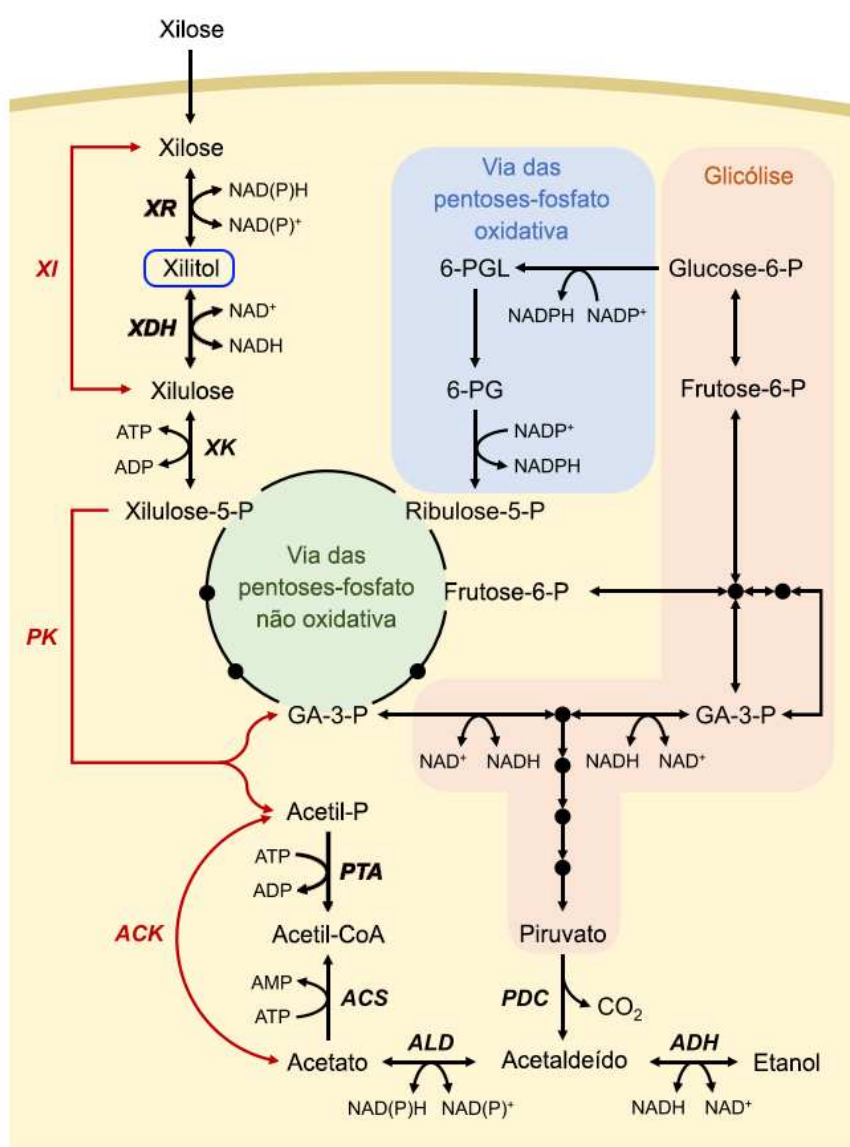


Figura 3. Visão geral das vias de assimilação da xilose em leveduras. As enzimas participantes das vias são xilose redutase (XR), xilitol desidrogenase (XDH), xilose isomerase (XI), xilulose quinase (XK), fosfocetolase (PK), fosfotransacetilase (PTA), acetil-CoA sintase (ACS), acetato quinase (ACK), aldeído desidrogenase (ALD), álcool desidrogenase (ADH), piruvato descarboxilase (PDC). Adaptado de: KWAK & JIN, 2017.

As etapas para produção de xilitol por via biotecnológica estão apresentadas na Figura 4. O processo se inicia com o pré-tratamento de material lignocelulósico, com o objetivo de fracionar seletivamente as hemiceluloses presentes na biomassa, remover lignina e reduzir a cristalinidade do substrato (RAO *et al.*, 2016). Existe grande variedade de materiais lignocelulósicos que podem ser utilizados, e alguns deles têm atraído a atenção de pesquisadores por conta do seu baixo custo. Exemplos são bagaço de cana-de-açúcar, palha de arroz, espiga de milho, serragem e haste de girassol (GÍRIO *et al.*, 2012).

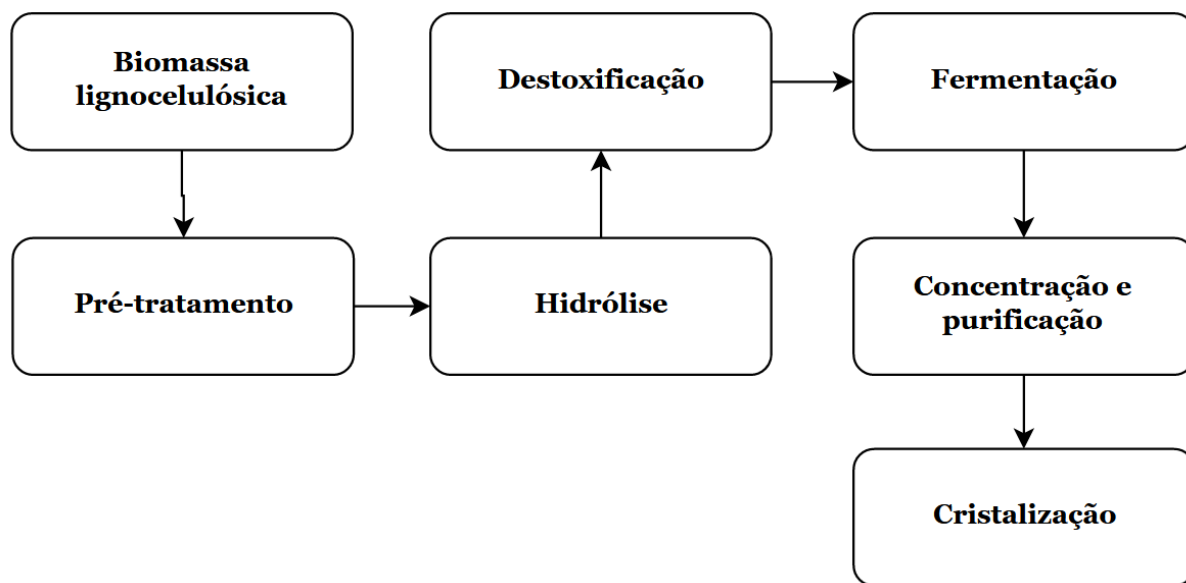


Figura 4. Etapas da produção de xitol por via biotecnológica. Dependendo do tipo de pré-tratamento utilizado, a etapa de hidrólise pode não ser necessária. O mesmo ocorre com a destoxificação. Caso a hidrólise não gere componentes tóxicos para o micro-organismo utilizado na fermentação, a etapa de destoxificação não é necessária.

O material selecionado passa, como mencionado, pela etapa de pré-tratamento, que pode ser físico, químico, físico-químico ou biológico (RAO *et al.*, 2016). Os principais processos de fracionamento seletivo das hemiceluloses são a aplicação de ácidos, água (líquida ou vapor), agentes alcalinos e solventes orgânicos, sendo os dois primeiros os mais comumente utilizados. O pré-tratamento produz uma fase líquida rica em hemiceluloses totalmente ou parcialmente hidrolisadas em mono e oligossacarídeos. Quando oligossacarídeos são gerados, é necessária uma etapa subsequente para hidrolisá-los em monossacarídeos (GÍRIO *et al.*, 2012).

A etapa de hidrólise, quando necessária, pode ser ácida ou enzimática. A hidrólise ácida é a mais estudada e empregada devido a seu custo mais baixo e alta efetividade (GARCÍA MARTÍN, SÁNCHEZ & CUEVAS, 2013). O processo normalmente é realizado utilizando ácidos diluídos, como o ácido fosfórico ou o ácido sulfúrico, em temperaturas superiores a 100 °C (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014).

Os açúcares gerados no pré-tratamento são, principalmente, xilose e glicose. Gerados em menores concentrações são manose, galactose, arabinose e

ramnose. Além disso, dependendo das condições de operação do pré-tratamento, podem ser gerados também produtos de degradação que têm características inibitórias a micro-organismos, como furfural, hidroximetilfurfural, compostos fenólicos, ácidos alifáticos e vanilina. Esses compostos podem limitar o consumo de carbono ou até bloquear completamente o processo de fermentação (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014; GÍRIO *et al.*, 2012).

Devido aos compostos inibidores gerados, a etapa seguinte na produção de xilitol é a de destoxificação, que tem por objetivo remover esses interferentes para que a fermentação possa ocorrer adequadamente. Os métodos para tal são variados. Dentre eles há o tratamento por enzimas (lacase), tratamento físico, tratamento químico com agentes alcalinos (NaOH, CaO, Ca(OH)₂) e tratamentos físico-químicos envolvendo adsorção com carbono ativado e resinas de troca iônica. A etapa de destoxificação é capaz de eliminar completamente todos os principais inibidores de fermentação presentes no caldo (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014).

A etapa seguinte é a de fermentação, na qual bactérias, leveduras ou fungos filamentosos metabolizam a xilose presente no meio hidrolisado e destoxificado, produzindo xilitol e demais substâncias. A etapa de fermentação é influenciada por vários fatores, entre os quais o tipo de micro-organismo utilizado, a fonte de nitrogênio, aeração, temperatura, pH, concentração celular, idade do inóculo e adição ou não de co-substratos podem ser considerados como os principais (SALGADO, CONVERTI & DOMÍNGUEZ, 2012).

Xilitol tem sido extensivamente produzido utilizando células livres em batelada, processo contínuo (quimiostato) ou batelada alimentada, com o uso de meio sintético ou hidrolisado de materiais lignocelulósicos. Conforme apontam Salgado, Converti e Domínguez (2012), os processos contínuos e de batelada alimentada apresentam melhores rendimentos e produtividades.

3.2.2.1 Materiais lignocelulósicos para produção de xilitol

Material lignocelulósico é um termo utilizado para descrever os compostos orgânicos de maior abundância na biosfera, com uma produção anual estimada entre 10¹⁰ ton e 5x10¹⁰ ton, correspondendo a 60% da biomassa vegetal mundial. Material lignocelulósico é composto basicamente por celulose, hemicelulose, lignina

e pequenas quantidades de sais minerais e extrativos (MARTÍNEZ, 2005). A Figura 5 mostra os principais compostos da biomassa lignocelulósica.

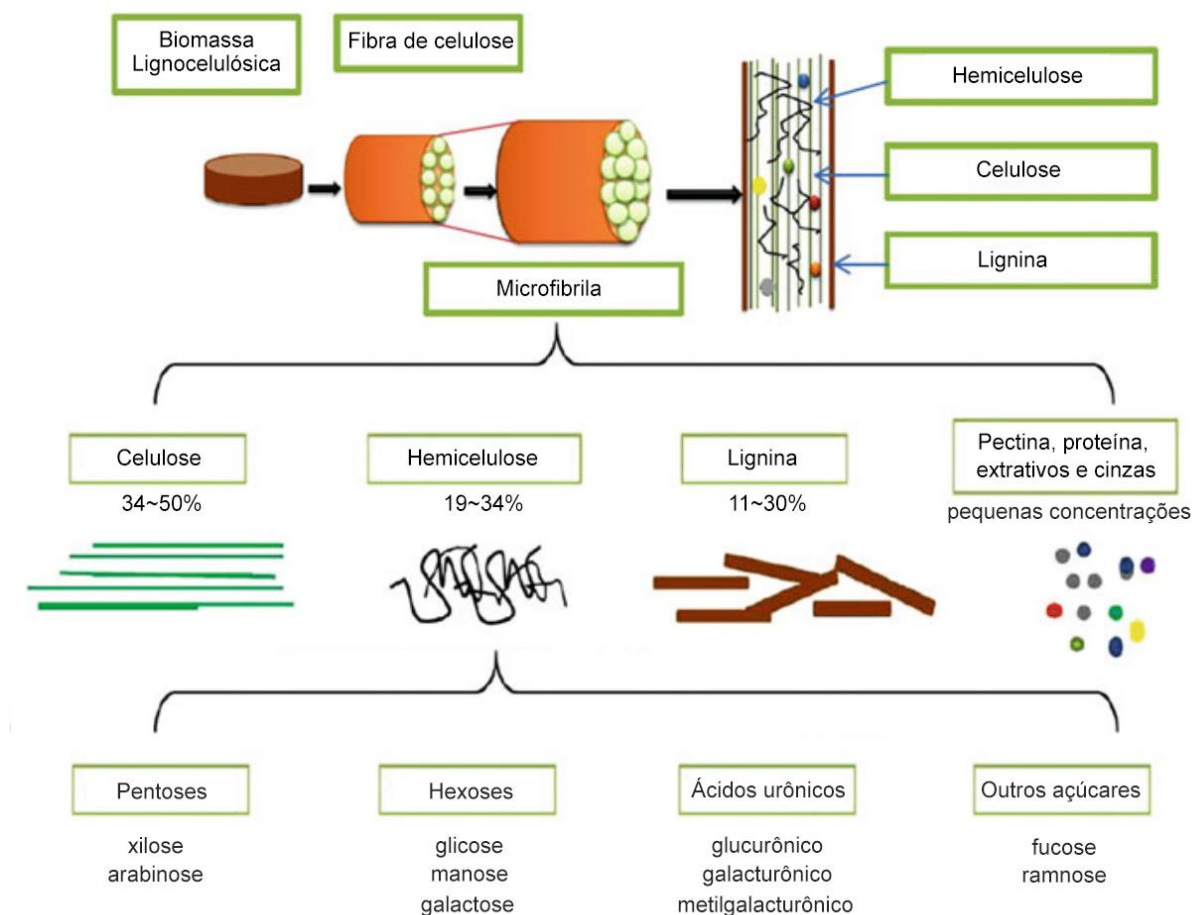


Figura 5. Estrutura e principais compostos presentes na biomassa lignocelulósica. Adaptado de MPABANGA et al., 2012.

A xilose, necessária para a produção do xilitol, é o segundo monossacarídeo mais comum na natureza. Ela está contida na hemicelulose, que é parte constituinte da parede celular de todas as plantas terrestres, juntamente com outros polissacarídeos como celulose e pectina, e compostos fenólicos como lignina. (GÍRIO et al., 2012; SCHELLER & ULVSKOV, 2010).

A estrutura detalhada das hemiceluloses e sua abundância variam amplamente entre diferentes espécies e tipos de células. As hemiceluloses podem conter pentoses (β -D-xilose, α -L-arabinose), hexoses (β -D-manose, β -D-glicose, α -D-galactose) e/ou ácidos urônicos (α -D-glucurônico, α -D-4-O-metilgalacturônico e α -

D-galacturônico). Outros açúcares como α -L-ramnose e α -L-fucose também podem estar presentes em pequenas quantidades e os grupos hidroxil de açúcares podem ser parcialmente substituídos por grupos acetil. As hemiceluloses mais relevantes são xilanas e glucomananas, sendo as xilanas as mais abundantes. Outros tipos são xiloglucanas, mananas e β -(1 $\rightarrow$ 3,1 $\rightarrow$ 4)-glucanas. Quando hidrolisadas as hemiceluloses se decompõem em seus monômeros (Tabela 3) (GÍRIO et al., 2012; SCHELLER & ULVSKOV, 2010).

Matéria-prima	Xilose	Arabinose	Manose	Galactose	Rhamnose	Ácidos urônicos
Madeiras duras						
Aspen	18–27,3	0,7–4,0	0,9–2,4	0,6–1,5	0,5	4,8–5,9
Bétula	18,5–24,9	0,3–0,5	1,8–3,2	0,7–1,3	0,6	3,6–6,3
Eucalipto	14–19,1	0,6–1	1–2,0	1–1,9	0,3–1	2
Carvalho	21,7	1	2,3	1,9	–	3
Poplar	17,7–21,2	0,9–1,4	3,3–3,5	1,1	–	2,3–3,7
Materiais agrícolas e agroindustriais						
Farelo de cevada	29,2	5,7	–	–	–	–
Bagaço de malte	15–23,4	8–10,2	0	1	0	2
Espiga de milho	28–35,3	3,2–5,0	–	1–1,2	1	3
Fibra de milho	21,6	11,4	–	4,4	–	–
Palha de milho	14,8–25,2	2–3,6	0,3–0,4	0,8–2,2	–	–
Casca de pistache	33–50	0	–	–	–	–
Palha de arroz	14,8–23	2,7–4,5	1,8	0,4	–	–
Palha de sorgo	21,5	5,5	–	–	–	–
Bagaço de cana de açúcar	20,5–25,6	1,3–6,3	0,5–0,6	1,6	–	–
Palha de trigo	19,2–21,0	2,4–3,8	0–0,8	1,7–2,4	–	–

Tabela 3. Composição da hemicelulose de vários materiais lignocelulósicos que já foram utilizados para a produção de xilitol. Expresso em g/100 g de material seco. Adaptado de Gírio et al., 2012.

Apesar de abundante, a xilose não é facilmente removida. Por conta disso, a disponibilidade de soluções baratas e ricas em xilose é um dos principais gargalos para a produção de xilitol (GÍRIO *et al.*, 2012).

3.2.2.2 Bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço de cana-de-açúcar é um dos subprodutos da indústria de açúcar e álcool, assim como a sacarose e a palha. Ele é constituído pelo resíduo fibroso da cana após moagem. O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, sendo responsável por aproximadamente 41% da produção mundial em 2017 (FAO, 2019), e contendo mais de 500 variedades de cana-de-açúcar (ANTUNES *et al.*, 2019). Dados sobre a produção de cana-de-açúcar no mundo dividido por países e por regiões estão apresentados na Tabela 4 e Tabela 5.

País	Produção
Brasil	758.548
Índia	306.069
China	104.793
Tailândia	102.946
Paquistão	73.401
México	56.955
Austrália	36.561
Colômbia	34.638
Guatemala	33.758
Estados Unidos da América	30.153
Filipinas	29.287
Indonésia	21.213
Argentina	19.165

Tabela 4. Produção de cana-de-açúcar em 2017 dividido por país. Produção em mil toneladas (10^3 ton) (FAO, 2019).

Uma tonelada de cana-de-açúcar utilizada na produção de açúcar ou etanol gera de 260 a 280 kg de bagaço com cerca de 50% de umidade (CLAUSER *et al.*, 2016). Estima-se que em 2016, no Brasil, foram produzidas 178.302 mil toneladas de bagaço de cana-de-açúcar. Atualmente o bagaço de cana-de-açúcar gerado na usina é consumido, por meio de cogeração, para produção de energia. Por conta da grande produção de bagaço, a maioria das usinas hoje são autossustentáveis energeticamente e, em alguns casos, sobra energia para venda de eletricidade. (CONAB, 2019)

Apesar do uso para produção de energia, a CONAB (2019) afirma que o potencial energético do bagaço ainda não é plenamente utilizado nas usinas. Além disso, a utilização do bagaço para produção de xilitol, ao invés da queima para geração de energia, gera produto de alto valor agregado, podendo apresentar vantagem econômica.

Região	Produção
América do Sul	851.391
Ásia	685.784
América Central	118.602
África	92.140
Oceania	38.228
América do Norte	30.153
Europa	6
Mundo	1.841.528

Tabela 5. Produção de cana-de-açúcar em 2017 dividido por região. Produção em mil toneladas (10^3 ton) (FAO, 2019).

A constituição do bagaço de cana-de-açúcar é de 32 a 50% de celulose, 19 a 25% de hemicelulose, 23 a 32% de lignina, 2% de cinzas, 46% de fibra e 50% de umidade (CONAB, 2019). A composição da hemicelulose presente na cana é apresentada na Tabela 3.

3.2.2.3 Composição do caldo fermentado

Para definir o objetivo e a eficácia de um processo de purificação é necessário conhecer a composição do meio a ser purificado, e saber de quais substâncias o composto de interesse precisa ser separado. No caso do caldo fermentado proveniente de material lignocelulósico hidrolisado, observa-se considerável variação da composição do meio dependendo do material e do micro-organismo escolhido, bem como das condições empregadas na fermentação. Na Tabela 6 é apresentada a composição do caldo fermentado encontrado em diferentes trabalhos. Os trabalhos foram selecionados de maneira a apresentar o maior número de compostos quantificados diferentes, com o objetivo de auxiliar a identificar a complexidade do caldo e possíveis concentrações para cada composto.

	Silva et al. (2020)	Alves (2018)	Moraes et al. (2018)	Santos (2015)	Variz et al. (2011)			Arruda (2011)	Rivas et al. (2006)	Gurgel et al. (1995)
Hidrolisado	Bagaço e palha de cana-de- açúcar	Bagaço da cana-de- açúcar	Palha de cevada	Palha de arroz	Palhada de sorgo 0942- 032	Palhada de sorgo 0942- 058	Palhada de sorgo 0942- 064	Bagaço da cana-de- açúcar	Espiga de milho	Bagaço da cana-de- açúcar
Micro- organismo	<i>S. amazonenses</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>K. marxianus</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>D. hansenii</i>	<i>C. guilliermondii</i>
Unidade	g.L ⁻¹	g.L ⁻¹	g.L ⁻¹	g.L ⁻¹	g.L ⁻¹	g.L ⁻¹	g.L ⁻¹	g.L ⁻¹	g.Kg ⁻¹	g.L ⁻¹
Xilitol	21,6	19,3	47,1	10,5	15,5	11,3	6,1	39,0	71,1	25,6
Xilose	1,0	0,3	2,1	39,7	2,4	2,0	6,0	0,6	1,9	-
Glicose	1,5	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	-
Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	2,6	-
Arabinose	6,0	n.d.	8,1	-	4,8	6,7	5,8	1,7	7,4	-
Ácido acético	0,1	n.d.	1,3	1,9	1,4	2,7	3,7	0,3	-	-
Etanol	2,1	4,8	-	0,3	7,9	13,9	12,2	0,8	-	-
Fenóis	-	-	-	-	5,1	6,4	5,5	-	-	0,2
Glicerol	1,1	n.d.	-	-	1,6	1,3	1,3	2,9	-	-
Celobiose	-	4,4	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácidos urônicos	-	-	-	-	-	-	-	-	2,2	-
Proteínas	-	-	-	-	-	-	-	-	5,2	9,2
Cinzas	-	-	-	-	-	-	-	-	14,4	-
Sólidos totais	-	-	-	-	-	-	-	-	-	102,1

Tabela 6. Composição do caldo fermentado de xilitol obtido por diferentes autores (n.d.: não detectável).

Observa-se que possíveis contaminantes presentes no caldo fermentado são açúcares residuais como xilose e arabinose, proteínas, ácido acético, etanol, glicerol, arabitol, e ácidos urônicos, além da biomassa do micro-organismo utilizado. Componentes voláteis são facilmente removidos com secagem e, por isso, normalmente não são caracterizados e quantificados nos estudos que têm como objetivo purificar o xilitol (RIVAS *et al.*, 2006).

3.3 Purificação do xilitol

3.3.1 Métodos de purificação de xilitol biotecnológico

A bibliografia sobre a produção de xilitol biotecnológico é extensa, concentrando-se nas etapas de obtenção do hidrolisado hemicelulósico, seleção de micro-organismos e na fermentação propriamente dita (ARRUDA, 2011; CANILHA *et al.*, 2008; HERNÁNDEZ-PÉREZ, DE ARRUDA & FELIPE, 2016; MARTÍNEZ & SANTOS, 2012; MARTON *et al.*, 2006; MUSSATTO, DRAGONE & ROBERTO, 2005; SENE *et al.*, 2011; TOMOTANI *et al.*, 2009). Porém, as pesquisas sobre a purificação do xilitol biotecnológico são escassas, havendo necessidade de mais trabalhos na área para desenvolver um processo eficiente e de baixo custo.

As etapas seguintes à síntese do xilitol têm o objetivo de obter o produto com alto grau de pureza para comercialização, e também são conhecidas como *downstream processing*. Para tal, é necessário separar o xilitol dos demais componentes presentes no caldo.

As etapas que compõem essa parte do processo são diversas, sendo normalmente divididas entre clarificação e cristalização. Para a etapa de clarificação têm sido estudados vários métodos, dentre eles a adsorção, ajuste de pH, separação por membranas, métodos cromatográficos, extração líquido-líquido, precipitação e combinações de métodos. Além dos métodos citados, usualmente o caldo também é centrifugado com o objetivo de remover partículas sólidas e a biomassa de micro-organismos, e pode passar por processo de concentração para aumentar o teor de xilitol (MARTÍNEZ *et al.*, 2015).

A etapa seguinte, de cristalização, também pode ser realizada por diferentes métodos. Dentre eles, o aumento de concentração através da evaporação de solvente, redução de solubilidade através de redução da temperatura e, por

último, precipitação por relargagem (*salting-out*). A cristalização tem se consolidado como o último passo para obtenção de xilitol, pois permite a obtenção do composto na forma pura, com consistência sólida, a partir de uma solução relativamente impura e em uma única operação (MARTÍNEZ *et al.*, 2015).

A pureza do cristal obtido por cristalização direta não é aceitável para comercialização devido à complexidade do caldo fermentado. A presença de compostos coloridos pode influenciar negativamente a etapa de cristalização, formando uma solução viscosa que envolve os cristais de xilitol (GURGEL *et al.*, 1995). Além disso, a existência de açúcares residuais também pode ser significativo na pureza dos cristais e no rendimento da cristalização (WEI *et al.*, 2010). O xilitol comercial apresenta 99,8% de pureza e 0,05% de umidade (MARTÍNEZ *et al.*, 2015). Por conta disso, o caldo deve passar pela etapa de clarificação antes da cristalização.

Misra *et al.* (2011) avaliaram três métodos para extrair o xilitol do caldo fermentado: extração líquido-líquido, precipitação com solvente e um método combinado de três etapas, sendo elas tratamento com carbono ativado, concentração a vácuo e cristalização. Apesar de os dois primeiros tratamentos serem amplamente utilizados na indústria, eles envolvem o uso de solvente, de modo que a recuperação do xilitol é dificultada e o custo do processo o torna inviável para utilização em larga escala. Os autores concluem, então, que o tratamento combinado de carbono ativado, concentração a vácuo e cristalização é o melhor processo, sendo economicamente viável, fácil e amigável ao meio ambiente.

Martínez *et al.* (2015) afirmam que, das diferentes estratégias para purificação e cristalização de xilitol apresentadas na literatura, indiscutivelmente a melhor é o tratamento com carbono ativado seguido de concentração a vácuo e cristalização por resfriamento.

Foi observado que altos teores de carbono ativado geram altas perdas de xilitol, provavelmente devido à adsorção do xilitol por esse material (SAMPAIO *et al.*, 2006), e que carbono ativado em pó apresenta melhores resultados que carbono ativado granulado, tanto com relação à taxa de descoloração quanto com relação à perda de xilitol (WEI *et al.*, 2010).

Na Tabela 7 estão apresentados os melhores parâmetros de tratamento utilizando carbono ativado, encontrados por diferentes pesquisadores.

Autores	Concentração	Temperatura (°C)	pH	Duração (h)	Agitação (rpm)	Fonte do substrato	Resultado
Misra et al. (2011)	15 g L ⁻¹	30	-	1	-	Meio sintético fermentado	• Obteve o maior rendimento na cristalização
Wei et al. (2010)	40 g kg ⁻¹	60	5	0,83	165	Hidrolisado fermentado de espiga de milho	• Remoção de 96 % de cor • Perda menor de 5 % de xilitol
Sampaio et al. (2006)	20 g L ⁻¹	25	-	1	-	Meio sintético fermentado	• Remoção de 79 % e 94 % dos contaminantes responsáveis por OD (densidade óptica) à 540 nm e 280 nm • Remoção de 69 % das proteínas totais • Perda de xilitol praticamente nula
Rivas et al. (2006)	66 g kg ⁻¹	-	-	-	-	Hidrolisado fermentado de espiga de milho	• Remoção de 81,9 % das proteínas • Remoção de 98,8 % de ICUMSA 4 color* • Perda de 3,2 % de xilitol
Affleck (2000)	25 g kg ⁻¹	80	6,0	1	100	Meio sintético fermentado	• Removeu 79,5 % dos contaminantes coloridos • Perda de 25-50 % de xilitol
Gurgel et al. (1995)	250 g L ⁻¹	80	6,0	1	100	Hidrolisado fermentado de bagaço de cana-de-açúcar	• Diminuição de 70 % da cor • Retenção de impurezas de 52,9 % • Perda de 19,1 % de xilitol

Tabela 7. Melhores parâmetros encontrados por diferentes autores para descolorização de xilitol biotecnológico utilizando carbono ativado. *ICUMSA 4 color, também conhecido como ICUMSA method 4, é um método utilizado para medir cor em soluções que contém açúcar. O método foi criado por International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ERDOĞAN, DEMIRCI & AKAY, 1996).

Como pode ser visto, a purificação do xilitol é um tema que exige ainda bastante estudo. Além disso, todos esses trabalhos foram realizados usando processos em batelada, não sendo encontrados relatos com processo em coluna. Os processos utilizando coluna são mais versáteis, uma vez que podem ser associados às diferentes operações (anteriores e posteriores) do processo com maior facilidade, são mais passíveis de ser automatizados e apresentam maior

produtividade do que uma batelada, tornando-os mais interessantes em aplicações industriais. Ainda, a avaliação da purificação de xilitol por adsorção em colunas de leito fixo pode fornecer informações sobre os mecanismos fenomenológicos envolvidos, imprescindíveis para o melhor entendimento do processo, assim como para ampliação de escala.

3.3.2 Adsorção

A adsorção pode ser definida como um processo no qual material (adsorbato) é transferido de uma fase gasosa ou líquida à um sólido (adsorvente), ou raramente um líquido, e forma uma camada superficial. Nesse processo apenas a superfície do adsorvente está envolvida - o adsorbato não se difunde na estrutura do adsorvente. O processo inverso, isto é, a retirada de moléculas de uma superfície sólida é chamado dessorção (CRAWFORD & QUINN, 2017; ARTIOLI, 2008).

A adsorção surge como resultado de insaturação ou desbalanço de forças moleculares presentes em qualquer superfície sólida. Quando uma superfície sólida é colocada em contato com um líquido ou gás, há uma interação entre os campos de forças da superfície e a do líquido ou gás. A superfície sólida tende a satisfazer essas forças residuais atraindo e retraindo em sua superfície as moléculas, átomos ou íons do gás ou líquido. Isso resulta em uma concentração maior de gás ou líquido nas proximidades da superfície sólida do que na fase de gás ou vapor (BANSAL & GOYAL, 2005).

Este processo é influenciado pelas condições físicas e químicas do ambiente e, em particular, pelas condições de temperatura, pH e redox. Sendo um processo de superfície, um fator chave para a adsorção é a área de superfície do adsorvente. Quanto maior ela for, maior a capacidade de adsorver substâncias. Por esse motivo, os melhores adsorventes são substâncias porosas ou, geralmente, aquelas com maior superfície por unidade de volume (ARTIOLI, 2008; RUTHVEN, 1984).

Dependendo da natureza das forças envolvidas, a adsorção pode ser dividida em dois tipos: adsorção física (ou fisissorção) quando o adsorbato adere à superfície devido a forças físicas, e adsorção química (ou quimissorção) se o adsorbato estiver quimicamente ligado à superfície do adsorvente (NASCIMENTO et

al., 2014; ARTIOLI, 2008). Um esquema de ambos os tipos está apresentado na Figura 6.

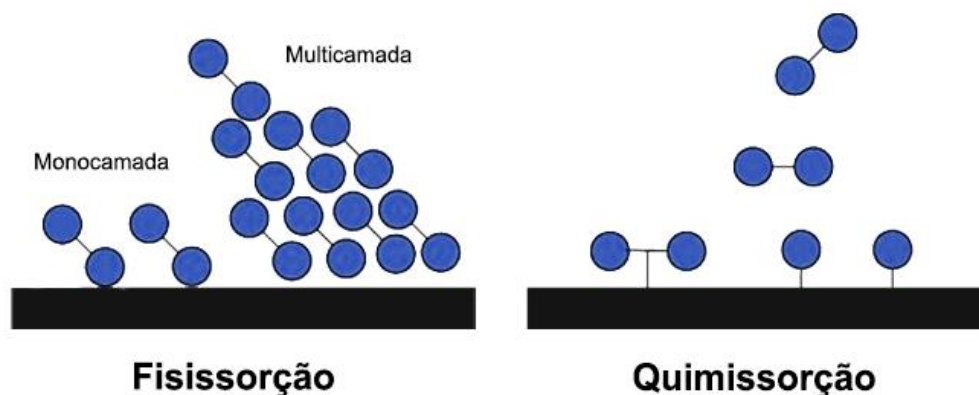


Figura 6. Esquema de fisissorção e quimissorção.

Apesar de os conceitos de quimissorção e fisissorção serem distintos, os dois mecanismos não são completamente independentes e, frequentemente, a distinção quanto à espécie ser adsorvida fisicamente ou quimicamente não é muito clara (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

3.3.2.1 Adsorção física

Adsorção física é causada pelas mesmas forças responsáveis pelo comportamento não ideal em gases, coesão de moléculas em líquidos etc. Elas são chamadas coletivamente de forças de van der Waals. Essas forças de atração se dão devido a interações eletrostáticas fracas que ocorrem entre as moléculas. A mudança de entalpia é tão baixa que ambos adsorbato e adsorvente não sofrem alteração em seu estado químico, isto é, nenhuma nova ligação é formada e nenhuma mudança no estado energético é observada. Por conta disso, a ligação física é altamente instável e o processo pode ser revertido com mais facilidade, podendo acontecer até mesmo como consequência de movimentos vibracionais moleculares (ARTIOLI, 2008; PONEC, 1974).

Dada a natureza das forças de van der Waals, a fisissorção pode ocorrer em multicamadas. Desde que as moléculas adsorvidas não atenuem completamente o potencial eletrostático, o novo adsorbato pode aderir à superfície do adsorvente ainda que o mesmo esteja coberto por outras moléculas. Nesse caso a entalpia necessária para dessorver essas novas moléculas é menor, pois a força de

adsorção (e sua duração) diminuem com o aumento do número de camadas de adsorbato já aderidos à superfície (ARTIOLI, 2008).

Do ponto de vista termodinâmico, o calor envolvido na adsorção física geralmente é menor que 40 kJ/mol, que corresponde à ordem de uma condensação/vaporização. Outra característica da fisissorção é que ela ocorre em toda a superfície adsorvente, por isso é classificada como não localizada (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

3.3.2.2 Adsorção química

Diferente da fisissorção, a quimissorção envolve forças mais intensas. Neste caso o adsorbato forma uma ligação química propriamente dita com a superfície do adsorvente, e essa ligação geralmente é covalente, com compartilhamento de um ou mais pares de elétrons entre os átomos. A mudança de entalpia é maior, de 40 a 400 kJ/mol, e sempre negativa pois adsorção é um processo espontâneo. Além disso, a quimissorção é classificada como localizada pois só pode ocorrer nos sítios ativos (NASCIMENTO *et al.*, 2014; ARTIOLI, 2008).

A quimissorção pode ser um processo ativado, quando é requerido que o adsorbato possua um mínimo de energia para ser absorvido. Isso depende da presença de uma barreira energética entre o estado fisissorvido e quimissorvido: se essa barreira for maior que a energia das moléculas livres, o adsorbato se ligará quimicamente ao adsorvente somente se tiver mais energia que a barreira, caso contrário será dessorvido. No caso de a barreira ser menor que a energia das moléculas livres, todas as moléculas fisissorvidas podem formar rapidamente uma ligação química com a superfície adsorvente, formando rapidamente a quimissorção (ARTIOLI, 2008).

Devido à maior entalpia envolvida, movimentos vibracionais não são capazes de quebrar as ligações covalentes. A dessorção do estado quimissorvido é sempre um processo ativado, isto é, para se separar da superfície as moléculas precisam receber energia para romper as ligações. Além disso, somente uma monocamada de adsorbato pode ser quimicamente adsorvida na superfície do adsorvente. Uma vez que toda a superfície é coberta pelas moléculas do adsorvente, de modo que não haja mais locais disponíveis para a ligação, a adsorção entra em estado de equilíbrio dinâmico com a dessorção (ARTIOLI, 2008).

3.3.3 Carbono ativado e suas características

Carbono ativado inclui uma ampla gama de materiais amorfos processados baseados em carbono. O material não é de fato amorfo, mas sim possui uma estrutura microcristalina. Os carbonos ativados têm uma porosidade altamente desenvolvida e uma grande área superficial interparticular. Sua preparação envolve duas etapas principais: a carbonização da matéria-prima carbonácea a temperaturas abaixo de 800 °C em atmosfera inerte e a ativação do produto carbonizado. A Figura 7 apresenta microfotografias de casca de coco antes da carbonização, após carbonização e após ativação. Qualquer material carbonáceo pode ser convertido em carbono ativado, embora as propriedades do produto final variem dependendo da natureza da matéria-prima utilizada, da natureza do agente ativador e das condições dos processos de carbonização e ativação (BANSAL & GOYAL, 2005).

Durante o processo de carbonização, com exceção do carbono, a maioria dos elementos (como oxigênio, hidrogênio e nitrogênio) é eliminada como espécie gasosa volátil pela decomposição pirolítica da matéria-prima. Os átomos de carbono elementares residuais se agrupam em pilhas de lâminas aromáticas planas entrelaçadas aleatoriamente. Essas folhas aromáticas são dispostas de maneira irregular, o que forma interstícios livres. Esses interstícios dão origem a poros, razão pela qual os carvões ativados são excelentes adsorventes. Durante a carbonização, esses poros são preenchidos com matéria alcatroada, produtos de decomposição ou ao menos são parcialmente bloqueados por carbono desorganizado. Essa estrutura de poros é desenvolvida e aprimorada durante o processo de ativação, que converte a matéria-prima carbonizada em uma configuração que contém o maior número possível de poros de vários tamanhos e formas e distribuídos aleatoriamente, dando origem a uma área de superfície extremamente alta. A ativação do carbono é geralmente realizada em uma atmosfera de ar, CO₂ ou vapor na faixa de temperatura de 800 °C a 900 °C. Essa atmosfera resulta na oxidação de algumas regiões do carbono em detrimento de outras e, à medida que prossegue a combustão, ocorre uma gravação preferencial. Isso resulta no desenvolvimento de uma grande superfície interna, que em alguns casos pode chegar a 2500 m² g⁻¹ (BANSAL & GOYAL, 2005).

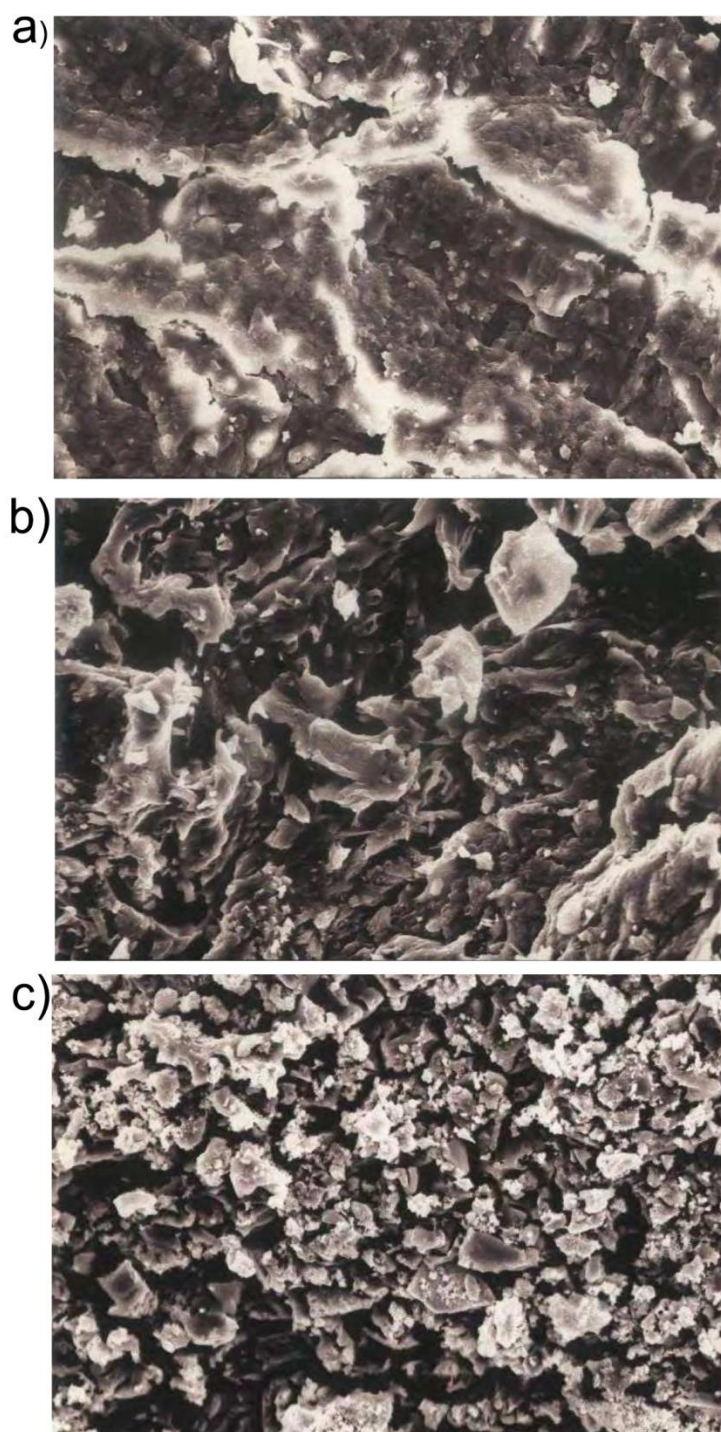


Figura 7. Microfotografias de: a) superfície externa de casca de coco crua ($w = 3 \mu\text{m}$); b) superfície externa de casca de coco carbonizada ($w = 2 \mu\text{m}$); c) superfície externa de carbono ativado de casca de coco ($w = 2 \mu\text{m}$). Fonte: Achaw & Afrane, 2008.

Para o carbono ativado foram definidos três grupos de poros diferenciados de acordo com suas larguras (w), classificação essa adotada pela IUPAC (1982): microporos $w < \sim 2 \text{ nm}$; mesoporos $w \sim 2\text{-}5 \text{ nm}$; macroporos $w > \sim 50 \text{ nm}$.

Um esquema da estrutura dos poros do carbono ativado está apresentado na Figura 8. Pode ser conveniente, ainda, dividir os microporos em supermicroporo $w \sim 1-2\text{nm}$ e ultramicroporos $w < \sim 1\text{nm}$. Porém essas dimensões são um tanto arbitrárias e imprecisas pois os estágios de preenchimento dos poros dependem do sistema sólido-gás e da geometria dos poros (BOTTANI & TASCÓN, 2008).

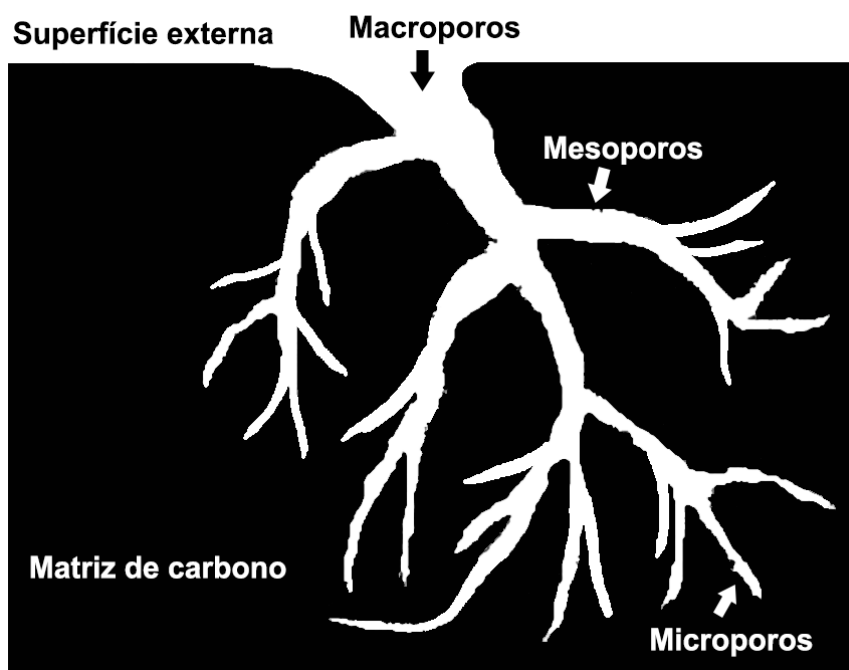


Figura 8. Esquema da estrutura dos poros do carbono ativado. Adaptado de: ALI et al., 2018.

Os microporos constituem cerca de 95% da área total da superfície do carbono ativado e, por isso, têm grande influência na capacidade de adsorção de um determinado carbono ativado, desde que as dimensões moleculares do adsorbato sejam suficientes para entrar nos microporos. Os mesoporos constituem cerca de 5% da área total da superfície e, por último, os macroporos têm influência desprezível, uma vez que sua contribuição para a área de superfície não excede $0,5\text{ m}^2/\text{g}$. Eles atuam como condutores para a passagem de moléculas de adsorbato para os micro e mesoporos (BANSAL & GOYAL, 2005).

Estudos mostram que as lâminas aromáticas dos carvões ativados contêm estrutura de radicais livres ou estrutura com elétrons desemparelhados. Esses elétrons desemparelhados são estabilizados por ressonância e retidos durante o processo de carbonização devido à quebra de ligações nas bordas das

lâminas aromáticas e, assim, criam átomos de carbono na fronteira externa. Esses átomos de carbono da borda têm valências insaturadas e, portanto, podem interagir com heteroátomos como oxigênio, hidrogênio, nitrogênio e enxofre, dando origem a diferentes tipos de grupos de superfície. Verificou-se que a composição elementar de um carbono ativado típico é 88% C, 0,5% H, 0,5% N, 1,0% S e 6 a 7% O, com o restante sendo cinzas inorgânicas. O conteúdo de oxigênio de um carbono ativado pode variar, no entanto, dependendo do tipo de matéria-prima de origem e das condições do processo de ativação (BANSAL & GOYAL, 2005).

Esses heteroátomos ligados nas bordas das lâminas dão origem à compostos de superfície carbono-oxigênio, carbono-hidrogênio e carbono-nitrogênio, e a presença desses grupos alteram as características de superfície do carbono ativado, bem como sua capacidade adsorptiva. O grupo carbono-oxigênio é o mais importante, influenciando características como molhabilidade, polaridade, acidez, densidade eletrônica da camada de grafeno, e outras propriedades físico-químicas como reatividade catalítica, elétrica e química (BOTTANI & TASCÓN, 2008; BANSAL & GOYAL, 2005). Um modelo de fragmento de superfície de carbono ativado mostrando os grupos carbono-oxigênio na superfície está apresentado na Figura 9.

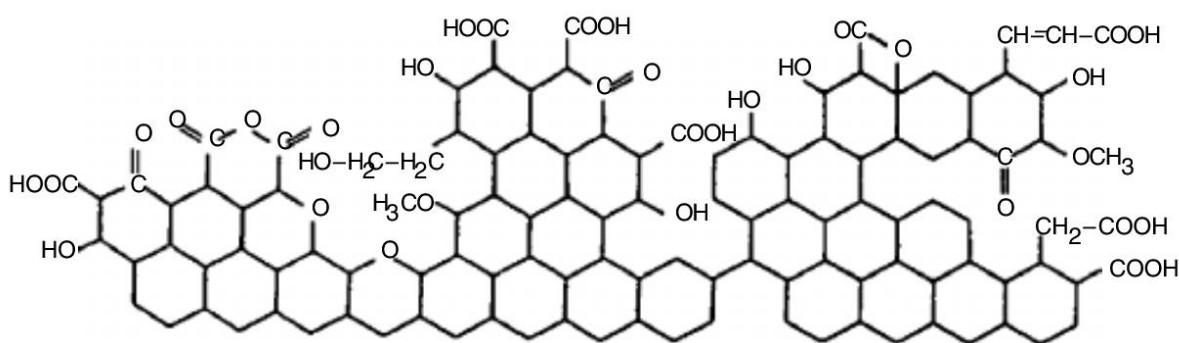


Figura 9. Modelo de um fragmento de superfície de carbono ativado com grupos carbono-oxigênio.
Fonte: BANSAL & GOYAL, 2005.

Os carvões ativados podem ser utilizados em três diferentes formas: em pó, na forma granulada e na forma fibrosa. Os carvões ativados em pó geralmente têm um tamanho de partícula por volta de 44 μm , que permite uma adsorção mais rápida, porém são mais difíceis de manusear e causam alta perda de carga em leitos

fixos de adsorção, tornando-os mais difíceis de regenerar. O carbono ativado granulado possui grânulos de 0,6 a 4,0 mm e é duro, resistente à abrasão e relativamente denso para suportar as condições de operação. Embora mais caros que o carbono ativado em pó, eles causam menos resistência hidrodinâmica e podem ser mais convenientemente regenerados. Por último, os carvões ativados fibrosos são ainda mais caros que as duas outras opções, porém podem ser moldados facilmente na forma do sistema de adsorção, facilitando o manuseio, e também produzem baixa perda de carga. Esta opção normalmente é utilizada em tratamento de águas residuárias (BANSAL & GOYAL, 2005).

A superfície do carbono ativado apresenta uma estrutura porosa que determina sua capacidade de adsorção, uma estrutura química que influencia sua interação com adsorbatos polares e não polares e possui sítios ativos na forma de bordas, deslocamentos e descontinuidades que determinam suas reações químicas com outros átomos. Assim, o comportamento de adsorção de um carbono ativado não pode ser interpretado apenas com base na área da superfície e na distribuição do tamanho dos poros. Carvões ativados com área de superfície igual, porém preparados por métodos diferentes ou com diferentes tratamentos de ativação demonstram propriedades de adsorção muito diferentes. Portanto, quando considerando carvões ativados, os mecanismos específicos de adsorção de muitos compostos, especialmente compostos orgânicos, permanecem incertos (BOTTANI & TASCÓN, 2008; BANSAL & GOYAL, 2005).

3.3.4 Tipos de adsorvedores

Os adsorvedores são divididos, com relação ao modo de operação, em descontínuos (batelada) ou contínuos (podendo ter geometria tubular ou de tanque).

Os adsorvedores descontínuos são mais aplicados a processos em pequena escala, uma vez que em sua operação é necessário que sejam carregados, descarregados e limpos, o que resulta em um tempo de operação maior que o de reatores contínuos. Além disso, exigem cuidado especial para evitar contaminações durante a manipulação (SCHMAL, 2010).

Os adsorvedores contínuos são mais aplicados em grandes escalas, como processos industriais, pois podem operar durante vários meses ou anos com

paradas intermediárias, apresentando maior produtividade. Suas condições de operação são amplas, porém exigem um controle contínuo, uma vez que o regime de escoamento afeta o sistema. Devem ser continuamente controladas as variáveis mais importantes, como vazão de alimentação e temperatura (SCHMAL, 2010).

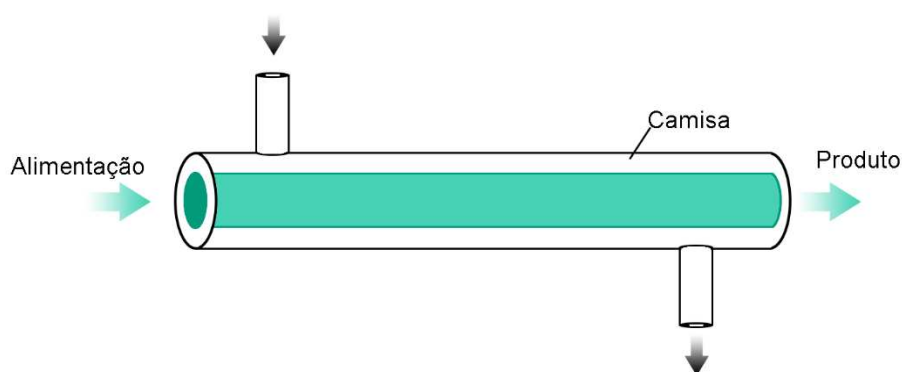


Figura 10. Reator tubular.

Os adsorvedores são classificados também com relação à sua geometria, sendo os dois mais comuns o tubular (Figura 10) e o tanque continuamente agitado (Figura 11). No adsorvedor tubular o objetivo é passar os reagentes pelo tubo de maneira que ocorra a menor mistura possível entre o conteúdo na entrada e o produto na saída. Já no tanque continuamente agitado, quando em batelada alimentada, há contínua alimentação de substrato e retirada de produto, e um agitador é introduzido para dispersar os substratos na mistura imediatamente quando adicionados. Neste tanque a intenção é a de que, supondo mistura perfeita, o produto retirado do tanque tenha a mesma composição que o conteúdo contido no tanque. Pode-se ainda ligar diversos reatores do tipo tanque em série quando for interessante para o processo (RICHARDSON & PEACOCK, 1994).

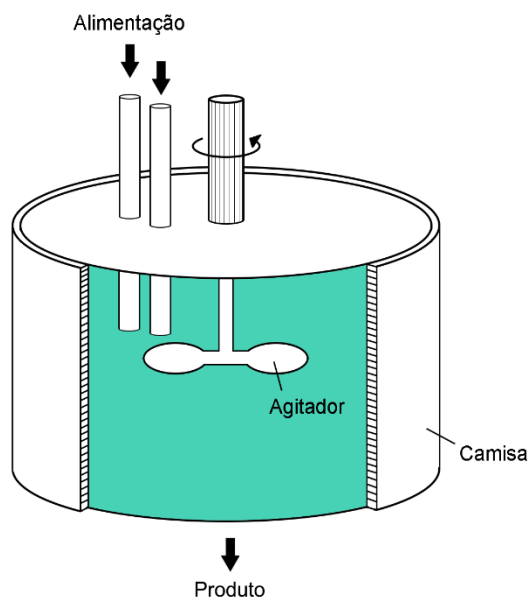


Figura 11. Reator tanque continuamente agitado.

3.3.4.1 Adsorção em leito fixo

Colunas de leito fixo são adsorvedores do tipo tubular, e operados de maneira contínua. Em processos de adsorção em colunas de leito fixo, a amostra pode ser alimentada seguindo dois métodos diferentes: alimentação por pulso ou degrau (para obtenção de curvas de *breakthrough*).

Na alimentação por pulso um volume conhecido da amostra é injetado (um “pulso”) enquanto há passagem contínua, ascendente ou descendente, de uma fase móvel. Essa fase móvel carrega a amostra através da coluna, que contém uma fase estacionária em seu interior. A fase móvel tem vazão controlada, a temperatura da coluna é controlada com uso de camisa, e no interior da coluna encontra-se o adsorvente empacotado. Em intervalos de tempo definidos são coletadas amostras na saída da coluna, e através de análise dessas frações coletadas é possível gerar uma representação do processo e determinar diferentes coeficientes para avaliar a eficiência do processo (FORTE, 2013). Um exemplo de representação do processo está demonstrado na Figura 12, que mostra a concentração de determinado componente analisado dividido por sua concentração inicial em função do volume de efluente obtido do processo (diretamente relacionado ao tempo de processo). Após a injeção da amostra há um período no qual o componente ainda não está presente no efluente. Após esse período há uma elevação da concentração do componente

até atingir um pico. A concentração no pico deve ser menor que a concentração inicial ($C/C_0 < 1$) uma vez que a amostra é diluída pela fase móvel e apresenta dispersão ao longo da coluna. Uma vez que o pico foi atingido, a concentração do componente no efluente volta a decrescer até atingir completa ausência. Na análise de amostra com apenas um componente, essa situação indicaria que tem-se apenas fase móvel no efluente.

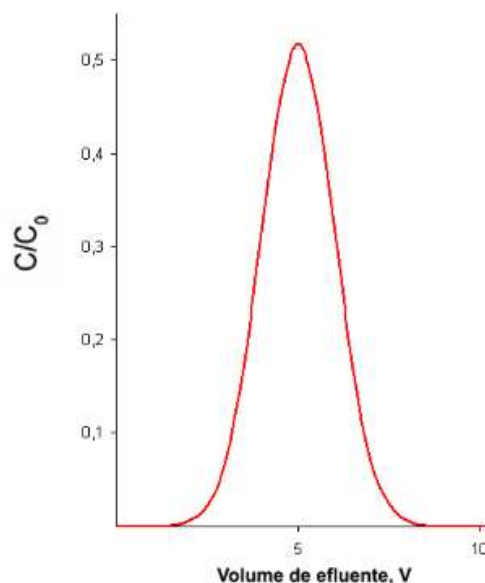


Figura 12. Exemplo de curva obtida com alimentação em pulso.

Na alimentação em degrau a amostra é diretamente alimentada na coluna, de maneira contínua e com uma vazão fixa, até que ocorra a saturação da coluna. Assim como na alimentação por pulso, em intervalos de tempo definidos são coletadas amostras na saída da coluna para análise. A análise dessas frações gera uma curva de *breakthrough*. A concentração de *breakthrough* (C_b) e concentração de exaustão (C_x) do composto de interesse deve ser definido de acordo com o objetivo do processo. A partir das curvas é possível, então, obter os pontos de *breakthrough* e de exaustão e seus respectivos tempos ou volumes de efluente (V_b e V_x). Através de correlações podem ser calculados outros parâmetros, como a eficiência de recuperação do soluto de interesse, produtividade do processo, coeficientes de retenção dos contaminantes e fatores de purificação (FORTE et al., 2016). Um exemplo de curva de *breakthrough* ideal está apresentada na Figura 13 que, assim como o exemplo da Figura 12, também mostra a

concentração de determinado componente relativa à concentração de alimentação. Inicialmente o adsorvente possui abundância de sítios livres para adsorção do componente analisado, e tal componente é completamente retido, apresentando concentração relativa igual a 0. Após certo tempo de processo os sítios livres para adsorção se tornam escassos e parte do componente alimentado não mais é adsorvido, aumentando sua concentração no efluente. A partir do *breakpoint* o componente não mais é adsorvido e sua concentração se eleva no efluente até que em dado momento sua concentração é idêntica à concentração de alimentação. A forma das curvas de *breakthrough* pode ser utilizada para identificar propriedades de transferência de massa do sistema através de ajuste de dados experimentais à modelos de curva de *breakthrough*.

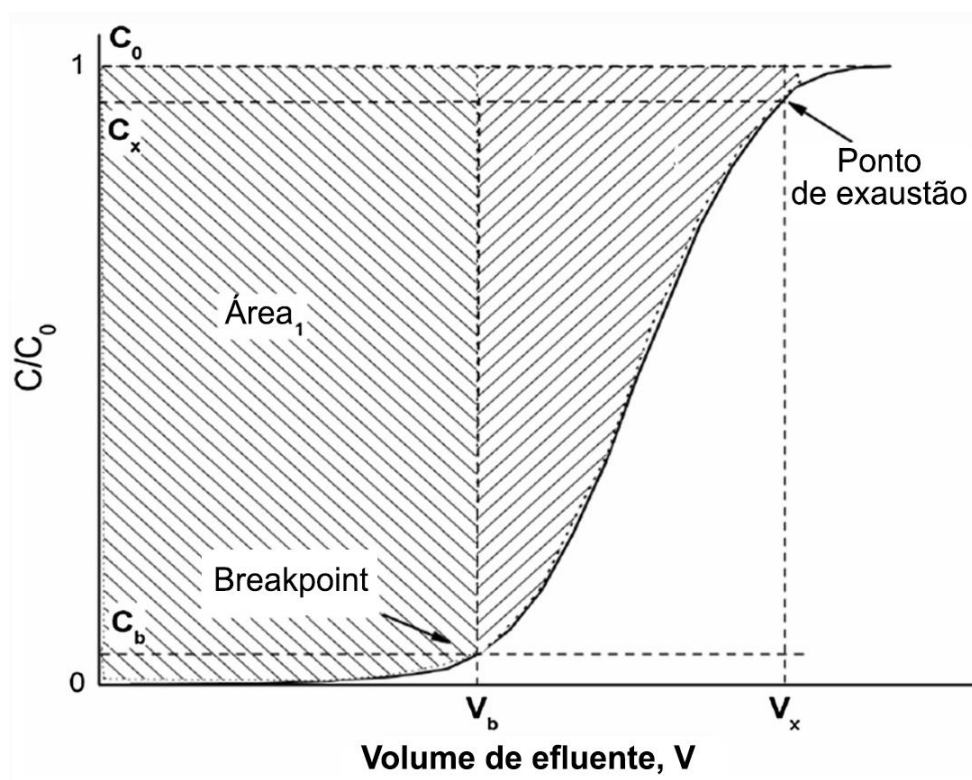


Figura 13. Curva de *Breakthrough*. Adaptado de PATEL (2019).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto foi realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) processo 439548/2018-7 e da

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

4.1 Material

No presente trabalho foram utilizadas duas soluções diferentes contendo xilitol para purificação: O caldo hidrolisado (CH), que se refere ao meio obtido através de pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar com ácido diluído, destoxificação e posterior fermentação por *Candida tropicalis*; e o caldo sintético (CS), que se refere ao meio sintético gerado adicionando 70 g/L de xilose, 10 g/L de extrato de levedura, 5 g/L de KH_2PO_4 e 0,4 g/L de MgSO_4 à água destilada, e posterior fermentação por *Candida tropicalis*. A cepa de *Candida tropicalis* foi encontrada em bagaço de cana-de-açúcar e isolada por metodologia explicitadas por ALVES (2018).

Ambos os caldos utilizados no presente estudo foram cedidos por Yara Pereira Cerceau Alves, que os produziu como parte de sua pesquisa de mestrado (ALVES, 2018).

O adsorvente utilizado foi carbono ativado de casca de coco, obtido com a empresa EIB (Bacabal - MA, Brasil) com diâmetro de partícula entre 0,105 e 0,177 mm (obtido por classificação granulométrica por peneiras) e teor de cinzas de 10%.

4.2 Métodos

O projeto foi dividido em 4 etapas. Na primeira, o caldo hidrolisado e caldo sintético foram caracterizados. Na segunda etapa foram realizados estudos preliminares com a intenção de adaptar a metodologia, testar faixas de trabalho para as variáveis do processo (temperatura, volume de injeção, velocidade superficial e concentração de etanol na fase móvel) e avaliar o impacto na execução da purificação com relação à utilização de CS ou CH. Na terceira etapa foi realizado o planejamento experimental para estudar como o processo de purificação se comporta com relação a variação de temperatura (T), volume de injeção (V_i) e velocidade superficial (v_s) e identificar quais condições resultam numa purificação mais eficiente. Na quarta etapa foram realizados testes com alimentação em degrau para confirmar as tendências encontradas na terceira etapa e avaliar os resultados

do processo de purificação nas condições operacionais escolhidas como melhores em atingir os objetivos definidos. Na Figura 14 são apresentadas as etapas de execução do projeto.

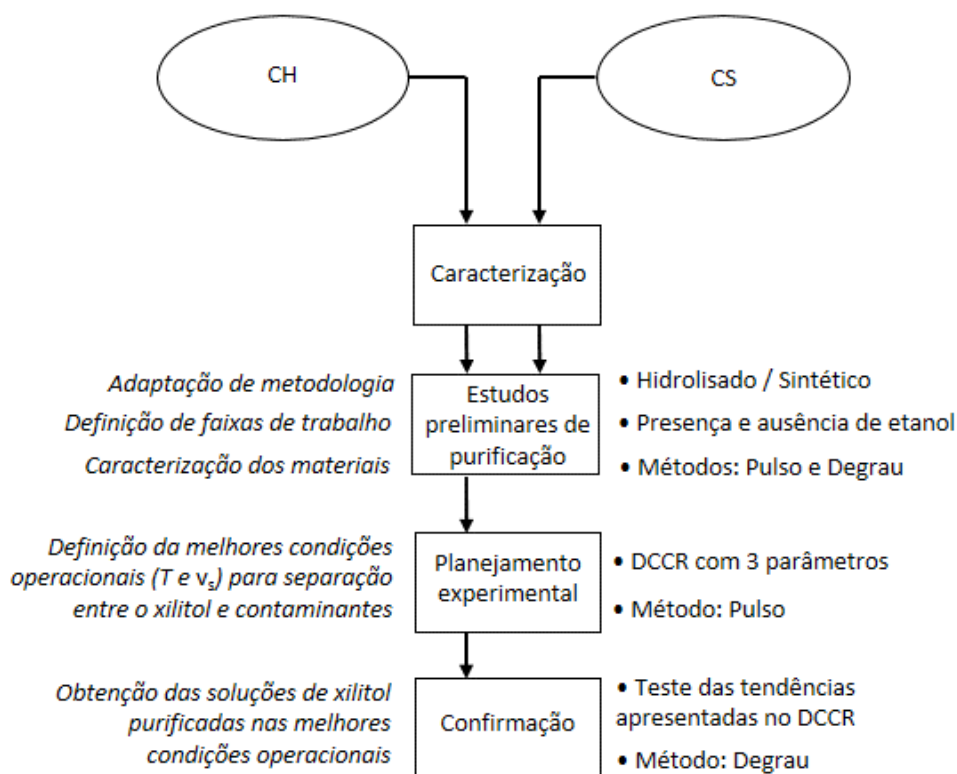


Figura 14. Diagrama de atividades do projeto.

4.2.1 Caracterização dos caldos fermentados e produtos da purificação

As caracterizações foram realizadas nos caldos fermentados antes e após processo de purificação. As caracterizações incluem avaliação da cor, pH, concentração de xilitol, xilose, glicose, arabinose, etanol, glicerol, ácido acético, teor total de proteínas e teor de sólidos totais.

As concentrações dos açúcares residuais, xilose e glicose, de xilitol, etanol, glicerol e ácido acético foram determinadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), com coluna Aminex HPX-87H utilizando 0,01 N de ácido sulfúrico como fase móvel, vazão de 0,6 mL/min, temperatura da coluna de 45 °C e volume de injeção de 20 µL, condições estabelecidas por RODRIGUES *et al.*(2006).

O teor de sólidos totais foi determinado utilizando estufa a 100 °C até peso constante, e então foi calculado a diferença de peso entre a amostra inicial e final (Sperotto, 2014). Devido ao volume limitado de cada fração (4 ou 5 mL a ser utilizado para todas as análises) e a sensibilidade do método, não foi possível determinar o teor de sólidos de cada fração em todos os experimentos. Em alguns experimentos foi determinado o teor de sólidos do processo como um todo, isto é, de todas as frações somadas. Em outros experimentos foi determinado o teor de sólidos de um conjunto de frações previamente selecionadas (Ver 4.2.2.1).

A cor foi determinada através de leitura de absorbância em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 420 nm e 560 nm, como estabelecido pela *International Commission for the Unification of the Methods of Sugar Analysis (ICUMSA)*. A leitura a 420 nm é utilizada para comparar açúcares brancos e produtos de coloração leve e a leitura a 560 nm é utilizada para comparar produtos mais escuros (CHEN & CHOU, 1993).

Os valores de pH foram determinados por potenciometria em pHmêtro.

O teor de proteínas totais foi determinado segundo método de Lowry, que se baseia na redução do reagente Folin-Ciocalteu ao reagir com proteínas, na presença de catalisador cobre (II), produzindo um composto com absorção máxima a 750 nm. O reagente Folin-Ciocalteu é uma mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico (Sperotto, 2014). Para o branco foi utilizada água destilada. A curva de calibração foi construída a partir de albumina bovina padrão e tanto as amostras quanto os pontos da curva padrão foram analisados em triplicata.

4.2.2 Purificação do xilitol presente nos caldos fermentados utilizando colunas de adsorção

Os ensaios de purificação do xilitol a partir dos caldos fermentados (sintético e do hidrolisado) foram realizados em colunas de leito fixo (Figura 15). As colunas utilizadas são encamisadas, com controle de temperatura por meio de banho termostatizado, altura de leito igual a 15 cm, diâmetro interno de 1 cm e fluxo ascendente controlado por sistema de FPLC da marca Pharmacia. O preenchimento da coluna é realizado com carbono ativado. Coloca-se o carbono vagarosamente através de um funil e utilizando vibração intensa e intermitente para que o

adsorvente se acomode adequadamente e não forme caminhos preferenciais. Foram utilizados dois métodos de alimentação de amostra distintos: por pulso cromatográfico e em degrau (obtenção de curvas de *breakthrough*). Os detalhes sobre ambos os métodos estão apresentados em 4.2.2.1 e 4.2.2.2.

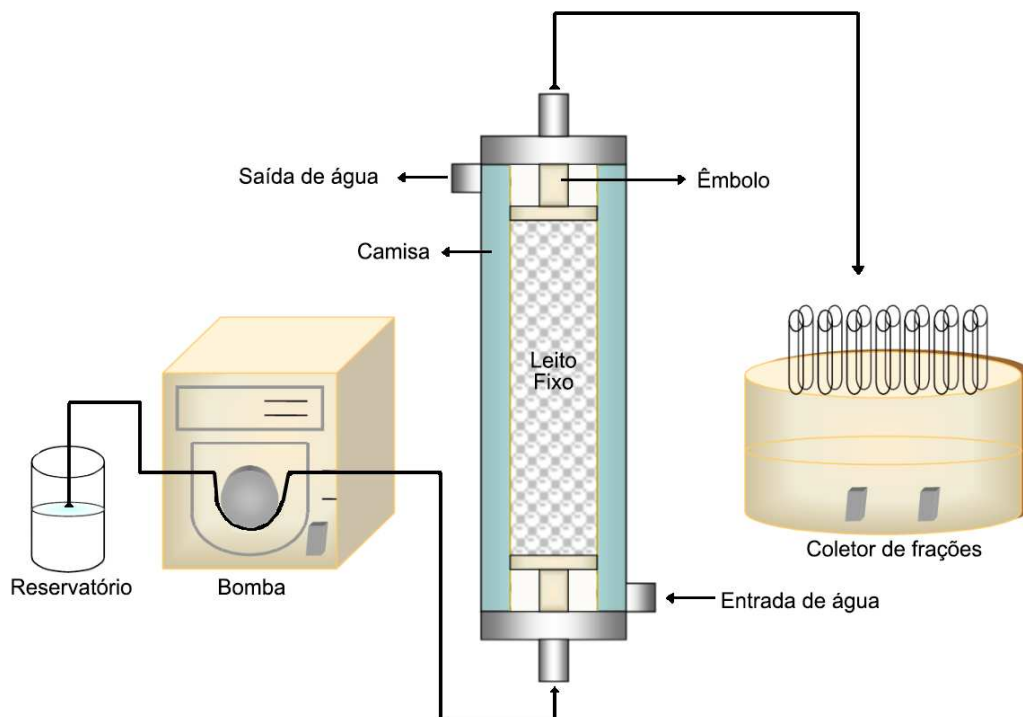


Figura 15. Esquema de sistema de adsorção em coluna de leito fixo.

A estratégia do estudo inclui três etapas: i) ensaios preliminares com CH e com CS, usando ambos os métodos de injeção (pulso e degrau), com ausência ou adição de etanol à fase móvel em 10 e 20%, e em condições pré-estabelecidas (pontos centrais do planejamento experimental a seguir); ii) realização de planejamento experimental (delineamento composto central rotacional, DCCR), utilizando alimentação em pulso; iii) teste avaliando as condições e tendências apresentadas nos resultados do DCCR.

O planejamento experimental foi realizado com a intenção de estudar como o processo de purificação se comporta com relação a variação dos parâmetros selecionados, que são temperatura (T), volume de injeção (V_i) e velocidade superficial (v_s) ou velocidade na secção transversal, e se possível, identificar quais condições resultam numa purificação mais eficiente. Os valores utilizados para cada

parâmetro estão apresentados na Tabela 8. Os volumes de injeção foram estimados para corresponder à valores aproximadamente entre 7 e 17% do volume do leito, que é 11,8 cm³. Os níveis da temperatura foram selecionados de acordo com os dados apresentados na Tabela 7, na Seção 3.3.1. As velocidades superficiais foram selecionadas com a intenção de não usar valores tão baixos que a produtividade seja drasticamente afetada, nem tão altos que ocorra elevação de pressão no sistema. A velocidade superficial foi determinada com relação à coluna vazia, calculando a partir do volume vazio da coluna e a vazão utilizada.

Foi realizado um fatorial completo 2³ incluindo 6 pontos axiais e 3 repetições no ponto central, totalizando 17 ensaios. A matriz desses ensaios está apresentado na Tabela 9. Todos os cálculos envolvendo o planejamento experimental foram realizados de acordo com metodologia proposta por RODRIGUES & IEMMA (2014). Os resultados foram analisados usando o software on-line Protimiza Experimental Design (<https://experimental-design.protimiza.com.br/>).

Parâmetro	-α	Nível Inferior	Ponto Central	Nível Superior	+α
	(-1,68)	(-1)	0	(+1)	(+1,68)
T (°C)	20	28	40	52	60
V _i (mL)	0,80	1,05	1,40	1,75	2,00
v _s (cm/min)	0,40 (0,31 mL/min)	0,56 (0,44 mL/min)	0,80 (0,63 mL/min)	1,04 (0,82 mL/min)	1,20 (0,94 mL/min)

Tabela 8. Valores do planejamento fatorial.

A ordem de execução dos ensaios foi: 1, 15, 9, 2, 10, 3, 4, 16, 11, 5, 12, 6, 13, 7, 14, 17, 8.

São considerados como contaminantes primários as proteínas e compostos coloridos devido as suas altas concentrações e/ou consequências causadas na etapa seguinte de purificação, a cristalização. Contaminantes secundários são os açúcares (xilose e arabinose) e álcoois (glicerol e etanol), que são quantificados com análise em HPLC.

Ensaio	T (°C)	V _i (mL)	V _s (cm/min)
1	-1 (28)	-1 (1,05)	-1 (0,56)
2	+1 (52)	-1 (1,05)	-1 (0,56)
3	-1 (28)	+1 (1,75)	-1 (0,56)
4	+1 (52)	+1 (1,75)	-1 (0,56)
5	-1 (28)	-1 (1,05)	+1 (1,04)
6	+1 (52)	-1 (1,05)	+1 (1,04)
7	-1 (28)	+1 (1,75)	+1 (1,04)
8	+1 (52)	+1 (1,75)	+1 (1,04)
9	-1,68 (20)	0 (1,40)	0 (0,80)
10	+1,68 (60)	0 (1,40)	0 (0,80)
11	0 (40)	-1,68 (0,80)	0 (0,80)
12	0 (40)	+1,68 (2,00)	0 (0,80)
13	0 (40)	0 (1,40)	-1,68 (0,40)
14	0 (40)	0 (1,40)	+1,68 (1,20)
15	0 (40)	0 (1,40)	0 (0,80)
16	0 (40)	0 (1,40)	0 (0,80)
17	0 (40)	0 (1,40)	0 (0,80)

Tabela 9. Matriz do planejamento fatorial DCCR.

4.2.2.1 Método de alimentação por pulso

Nesse método um pulso de volume definido (V_i) do caldo de fermentação contendo xilitol é injetado na coluna através da passagem contínua e ascendente de eluente (água destilada ou etanol à 10 ou 20%), com vazão controlada (relativa à velocidade superficial do experimento). São coletadas frações na saída da coluna em intervalos de tempos definidos, e essas frações são posteriormente analisadas. De acordo com os resultados dos testes preliminares realizados, foi definido que as corridas se encerram quando houve a passagem de 100 mL de líquido, e a injeção da amostra sempre se dá após a passagem de 5 mL de fase móvel.

A partir das análises realizadas nas frações calcula-se:

I) Coeficientes de retenção (CR) de xilitol, xilose, arabinose, glicerol e etanol: para tal cálculo avalia-se quanto foi injetado e quanto foi obtido de cada composto na soma de todas as frações. O coeficiente de retenção avalia qual fração do total injetado no sistema fica retido no adsorvente para um dado composto.

$$CR = \left(1 - \frac{m_x}{m_{x,i}}\right) \times 100 \% \quad (1)$$

m_x = massa do composto somada em todas as frações;

$m_{x,i}$ = massa do composto injetada no sistema;

II) Coeficiente de retenção de sólidos: avalia quanto de sólidos há na soma de todas as frações e compara com a quantidade de sólidos injetada no processo.

$$CR_{sól} = 1 - \frac{m_{sól}}{m_{sól,i}} \quad (2)$$

$m_{sól}$ = massa de sólidos somado em todas as frações;

$m_{sól,i}$ = massa de sólidos injetada no sistema;

III) Fator de purificação do xilitol por áreas do cromatograma, obtido por HPLC, para cada fração ($FP_{\text{área, fração}}$): relaciona a porcentagem que a área do xilitol ocupa no cromatograma na amostra inicial e na fração.

$$FP_{\text{área, fração}} = \frac{\frac{A_{xil}}{A_{total}}}{\frac{A_{xil,i}}{A_{total,i}}} \quad (3)$$

A_{xil} = área do xilitol no cromatograma da fração;

$A_{xil,i}$ = área do xilitol no cromatograma da amostra injetada;

A_{total} = área total obtida no cromatograma;

$A_{total,i}$ = área total obtida no cromatograma da amostra injetada;

O fator de purificação por áreas do cromatograma é utilizado para selecionar as frações nas quais se obtiveram maior separação do xilitol. Essas melhores frações formam um *pool*, que é utilizado em outras análises apresentadas a seguir. Foram selecionadas para o *pool* frações com $FP_{\text{área, fração}}$ maiores que 2,0.

IV) Fator de purificação do xilitol por áreas do cromatograma, obtido por HPLC, para o *pool* ($FP_{\text{área}}$): relaciona a soma da área ocupada pelo xilitol em cada fração do *pool* dividido pela soma da área total de cada fração do *pool* com a porcentagem que a área do xilitol ocupa na amostra inicial, áreas essas obtidas pelo cromatograma.

$$FP_{\text{área}} = \frac{\frac{A_{\text{xil, pool}}}{A_{\text{total, pool}}}}{\frac{A_{\text{xil, i}}}{A_{\text{total, i}}}} \quad (4)$$

$$A_{\text{xil, pool}} = A_{\text{xil, 1}} + A_{\text{xil, 2}} + \dots + A_{\text{xil, n}} \quad (5)$$

$$A_{\text{total, pool}} = A_{\text{total, 1}} + A_{\text{total, 2}} + \dots + A_{\text{total, n}} \quad (6)$$

$A_{\text{xil, 1}}, A_{\text{xil, 2}}, \dots, A_{\text{xil, n}}$ = área do xilitol no cromatograma de cada fração do *pool*, sendo que n é o número de frações do *pool*;

$A_{\text{total, 1}}, A_{\text{total, 2}}, \dots, A_{\text{total, n}}$ = área total obtida no cromatograma de cada fração do *pool*, sendo que n é o número de frações do *pool*;

$A_{\text{xil, i}}$ = área do xilitol no cromatograma da amostra injetada;

$A_{\text{total, i}}$ = área total obtida no cromatograma da amostra injetada;

V) Fator de purificação do processo com relação a proteínas totais:

$$FP_{\text{proteína}} = \frac{m_{\text{xil}}/m_{\text{prot}}}{m_{\text{xil, i}}/m_{\text{prot, i}}} \quad (7)$$

m_{xil} = massa de xilitol no *pool*;

m_{prot} = massa de proteínas totais no *pool*;

$m_{\text{xil, i}}$ = massa de xilitol na amostra injetada;

$m_{\text{prot},i}$ = massa de proteínas totais na amostra injetada;

VI) Fator de purificação do processo com relação a sólidos totais:

$$FP_{\text{sólidos}} = \frac{m_{\text{xil}}/m_{\text{sol}}}{m_{\text{xil},i}/m_{\text{sol},i}} \quad (8)$$

m_{xil} = massa de xilitol no *pool*;

m_{sol} = massa de sólidos totais no *pool*;

$m_{\text{xil},i}$ = massa de xilitol na amostra injetada;

$m_{\text{sol},i}$ = massa de sólidos totais na amostra injetada;

VII) Rendimento de xilitol (η_{xilitol}): Considerando que somente as frações selecionadas para o *pool* seriam utilizadas no processo consolidado, este parâmetro indica quanto do xilitol utilizado no processo é obtido no produto final.

$$\eta_{\text{xilitol}} = \frac{m_{\text{xil}}}{m_{\text{xil},i}} \times 100 \% \quad (9)$$

m_{xil} = massa de xilitol no *pool*;

$m_{\text{xil},i}$ = massa de xilitol na amostra injetada;

Os parâmetros apresentados são utilizados para comparar diferentes processos, desde que utilizem alimentação por pulso, a fim de identificar qual processo gera purificação mais eficiente do xilitol.

4.2.2.2 Método do degrau

Nesse método a coluna é alimentada continuamente com caldo fermentado contendo xilitol por tempo ou volume pré-determinado, ou até que a pressão no sistema se eleve acima do limite do equipamento. Frações são coletadas na saída do sistema em intervalos de tempo definidos e, posteriormente, essas frações são analisadas. O resultado das análises gera uma curva de *breakthrough*, conforme apresentado no capítulo 3.3.4.1. O ponto de *breakthrough* (*breakpoint*) de determinado compostos geralmente é definido como o instante no qual a

concentração na saída da coluna corresponde a 10% da concentração inicial (na entrada da coluna) e o ponto de exaustão corresponde ao instante no qual a concentração na saída da coluna corresponde a 90% da concentração inicial (na entrada da coluna). Do *breakpoint* calculam-se o tempo e volume de *breakthrough*. A partir das análises serão calculados então: os volumes e tempos de *breakthrough* do xilitol e dos contaminantes, os coeficientes de retenção de todos os compostos analisados, os fatores de purificação relacionados à todos os contaminantes, a massa de xilitol obtida no produto e a produtividade volumétrica do processo de acordo com a Eq. (10).

$$Prodv = m_{xil}/(V_{col} \times t) \quad (9)$$

m_{xil} = massa de xilitol no produto;

V_{col} = volume da coluna;

t = tempo de processo;

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho é dividido em três grandes etapas: i) estudos preliminares (incluindo a caracterização dos caldos fermentados de meio sintético e do hidrolisado), para adaptação de metodologias e definições de faixas de trabalho (métodos do pulso e degrau); ii) definição das melhores condições operacionais de temperatura (T) e vazão (em termos de velocidade superficial) (v_s) para separação entre o xilitol e contaminantes (método do pulso); iii) obtenção das soluções de xilitol purificadas nas melhores condições operacionais (método degrau).

5.1 Estudos preliminares

O primeiro passo foi caracterizar os caldos (CH e CS) que seriam posteriormente utilizados nos experimentos: Nessa caracterização foram avaliados teores de xilose, glicose, arabinose, xilitol, glicerol, etanol e ácido acético, absorbância a 420 nm e 560 nm e teor de proteínas totais (Tabela 10).

Observou-se que não há glicose ou ácido acético em ambos os caldos, e a arabinose só está presente no caldo hidrolisado. Além disso, o teor de proteínas totais e a absorbância se apresentam muito maiores no caldo do hidrolisado que no caldo proveniente do meio sintético, indicando que o CH é uma solução mais complexa e concentrada. Isso era esperado uma vez que o CH é proveniente de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar, que contém um número maior de componentes que o meio sintético produzido para os experimentos.

	Caldo Hidrolisado	Caldo Sintético	
Xilose	1,44	1,71	g/L
Glicose	0,00	0,00	g/L
Arabinose	3,38	0,00	g/L
Xilitol	15,02	19,98	g/L
Glicerol	1,79	0,50	g/L
Ac. Acético	0,00	0,00	g/L
Etanol	5,93	5,50	g/L
Proteínas totais	19,2	1,9	g/L
Sólidos totais	98,1	-	g/L
Absorbância 420 nm	15,74	0,40	
Absorbância 560 nm	3,49	0,12	

Tabela 10. Caracterização inicial de CH e CS, que serão utilizados nos ensaios de purificação. O teor de sólidos totais do caldo sintético não foi avaliado.

5.1.1 Primeira parte

A primeira parte dos estudos preliminares consistiu na realização de 4 experimentos: 2 utilizando caldo hidrolisado, um com alimentação do tipo pulso e outro com alimentação do tipo degrau, e 2 utilizando caldo sintético e essas mesmas alimentações. Para este primeiro estudo preliminar foram escolhidas condições mais brandas de operação. Essas condições estão apresentadas na Figura 16.

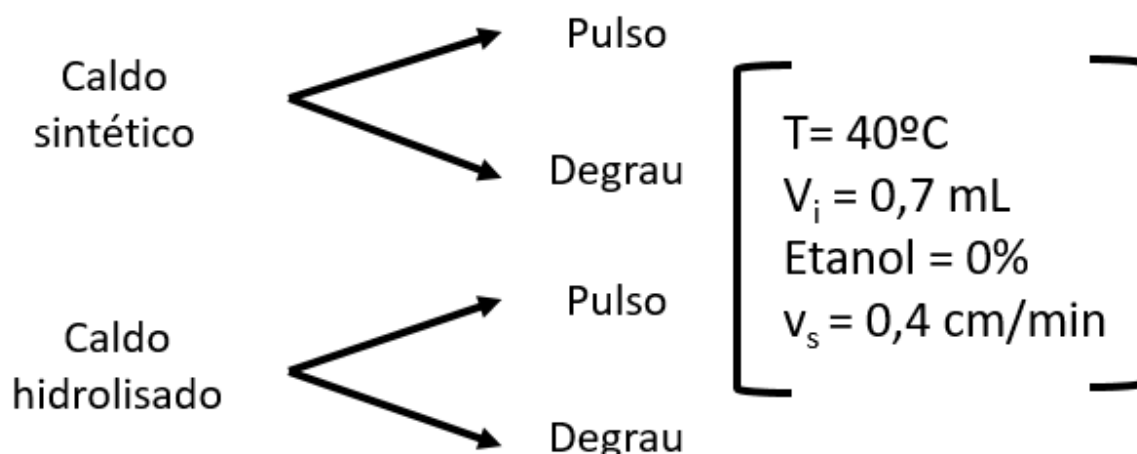


Figura 16. Diagrama da primeira parte dos estudos preliminares.

Nestes primeiros experimentos preliminares somente metade das frações foram analisadas e, por conta disso, não puderam ser calculados coeficientes de retenção. Também não foram realizadas análises de sólidos totais, que só passaram a ser realizadas a partir da segunda parte dos ensaios preliminares em diante.

5.1.1.1 Caldo do hidrolisado e do sintético com método de alimentação por pulso

No método do pulso os componentes presentes na amostra são diluídos por conta de serem injetados em uma corrente contínua de eluente (fase móvel). Por conta disso, as absorbâncias relativas se mantiveram abaixo de 0,005 e não foram mostradas na Figura 17, que apresenta os resultados obtidos dos experimentos utilizando CH e CS e alimentação por pulso. Além disso, o conteúdo de proteína permaneceu abaixo do limite de detecção do método e as concentrações relativas de arabinose, xilose, glicerol e etanol foram desprezíveis. Foi possível observar também que houve uma retenção maior do xilitol no processo com CH se comparado ao CS.

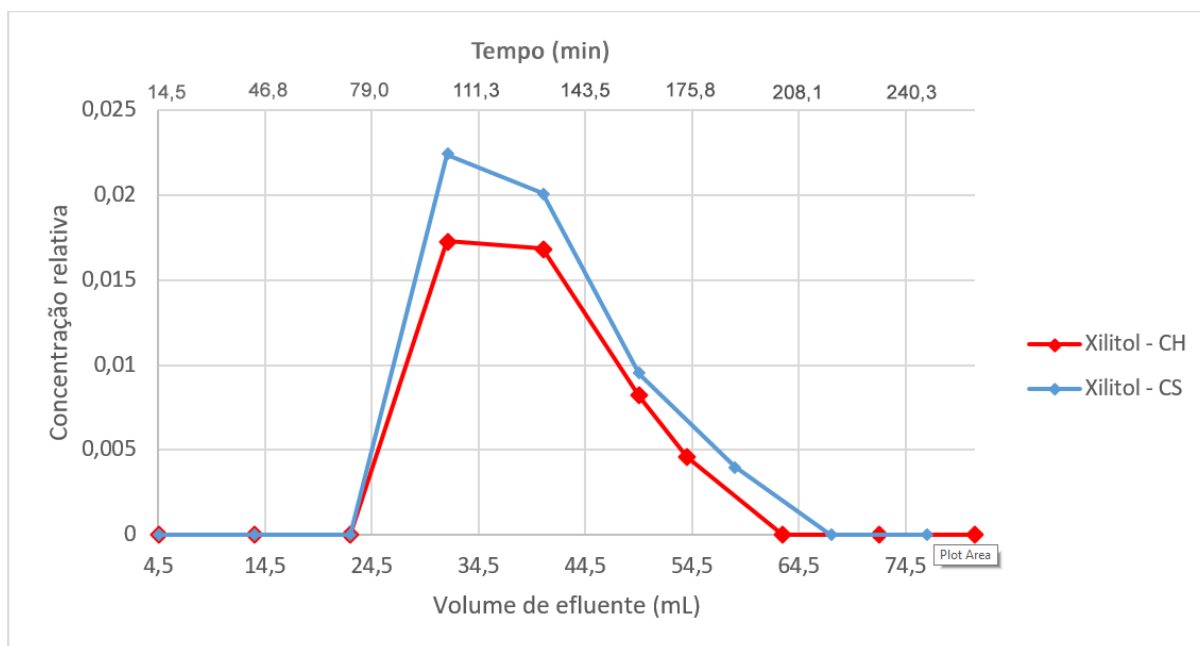


Figura 17. Experimentos utilizando alimentação do tipo pulso. A linha vermelha representa a concentração de xilitol nas frações da corrida com CH, caldo a partir do hidrolisado. A linha azul representa a concentração de xilitol nas frações da corrida com CS, caldo a partir do meio sintético. A concentração relativa refere-se à razão entre a concentração na fração coletada após a purificação e a concentração na amostra inicial.

5.1.1.2 Caldo do sintético com método de alimentação em degrau

Nesta corrida, apresentada na Figura 18, foram alimentadas 88 mL de CS, dando origem a 22 frações de 4 mL de produto.

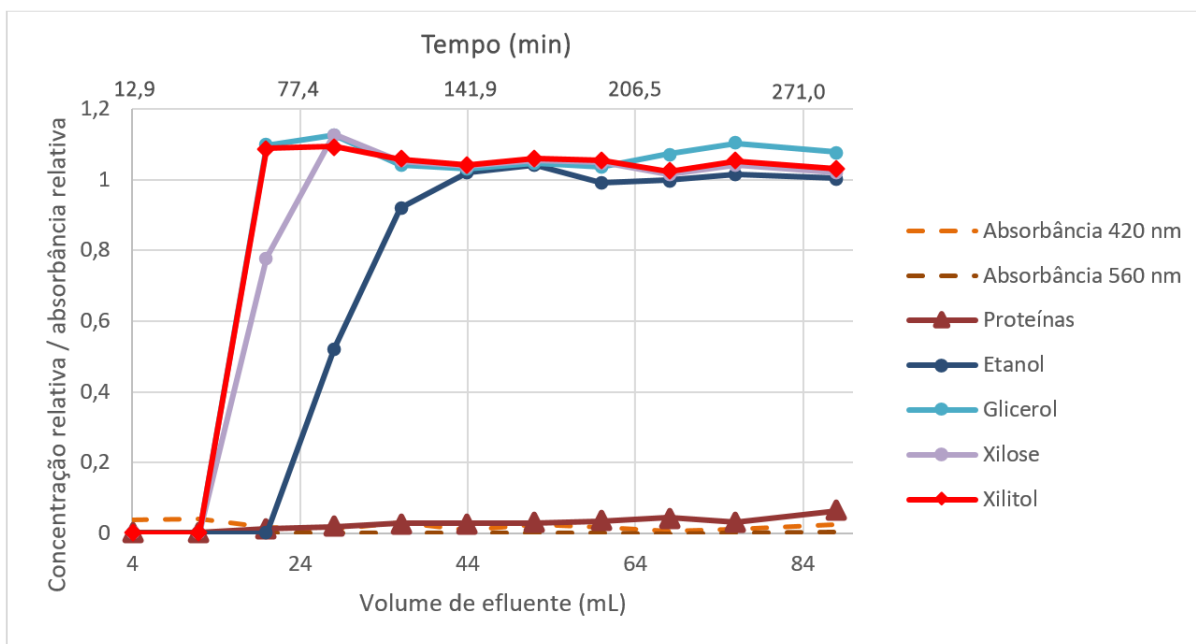


Figura 18. Experimento utilizando CS com método de alimentação em degrau. Concentração relativa refere-se à razão entre a concentração na fração coletada após a purificação e a concentração na amostra inicial. A absorvância relativa refere-se à razão entre a absorvância na fração coletada após a purificação e a absorvância na amostra inicial.

Como se tem uma concentração menor de proteínas e compostos coloridos no CS, conforme apresentado na Tabela 10, a passagem de 88 mL de amostra não foi suficiente para saturar todo o adsorvente e haver um *breakthrough* desses compostos. Por isso não houve aumento da concentração de proteínas, ou aumento das absorvâncias na saída do processo. É possível observar também pelos resultados apresentados na Figura 18 que praticamente não houve separação entre xilitol e glicerol, porém houve certa separação entre xilitol e xilose, e maior separação entre xilitol e etanol, uma vez que o etanol ficou retido por mais tempo no adsorvente.

5.1.1.3 Caldo do hidrolisado com método de alimentação em degrau

Neste experimento foram alimentados 48 mL de caldo hidrolisado fermentado, momento no qual a pressão interna do sistema se tornou elevada ao ponto de desconectar as conexões das tubulações do equipamento. Isso se deu devido ao aumento da perda de carga no interior da coluna de adsorção por conta de acúmulo dos componentes do caldo, que é altamente complexo.

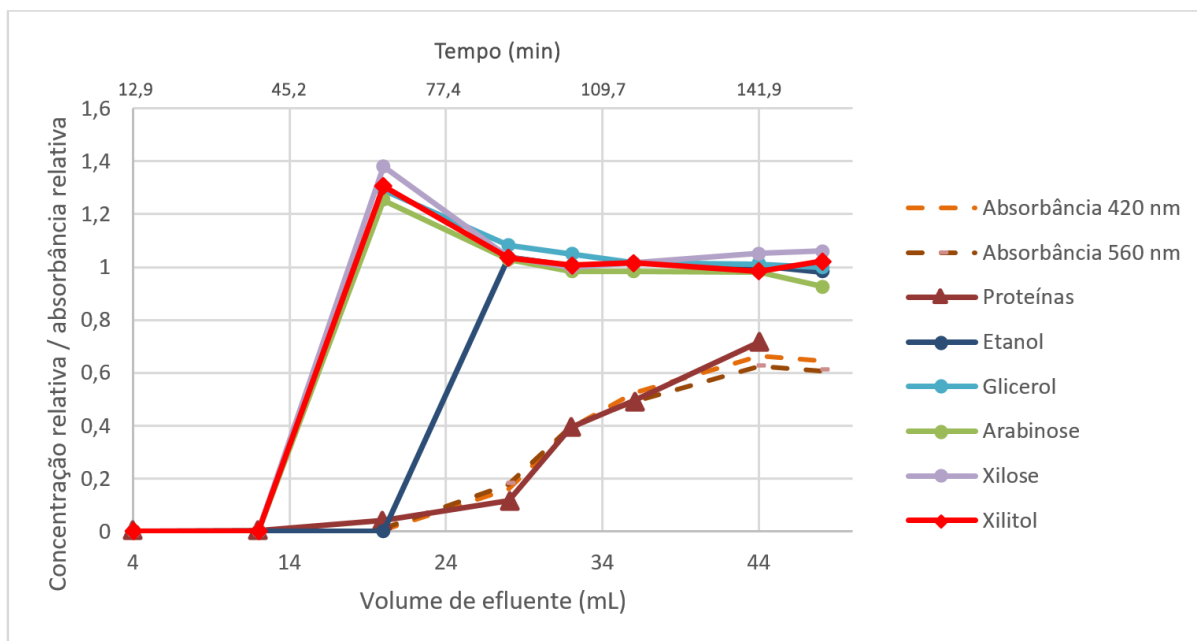


Figura 19. Experimento utilizando CH com método de alimentação em degrau. Concentração relativa refere-se à razão entre a concentração na fração coletada após a purificação e a concentração na amostra inicial. A absorvância relativa refere-se à razão entre a absorvância na fração coletada após a purificação e a absorvância na amostra inicial.

Os resultados do método de alimentação de CH em degrau, apresentados na Figura 19, mostram uma boa retenção de proteínas e compostos coloridos, além de certa separação do etanol presente na amostra inicial em relação ao xilitol. Tomando a fração de 16 a 20 mL, na qual há maior separação, o fator de purificação do xilitol relacionado à proteína é de 29,6, que indica que a concentração do xilitol em relação à concentração de proteínas se elevou em 29,6 vezes. Além disso, há ausência de etanol e a absorvância em 420 e 560 nm é próxima de 1% de seu valor inicial, indicando alta retenção dos compostos coloridos. Utilizando essas condições de operação o processo poderia, então, ser interrompido após a alimentação de 20 mL de CH.

Pode-se observar também que não houve separação entre xilitol, xilose, arabinose e glicerol. Estes compostos apresentaram elevação de suas concentrações na mesma fração do processo (5ª fração, entre 16 e 20 mL de efluente).

O diferente comportamento de adsorção do etanol quando comparado ao xilitol, xilose, arabinose e glicerol pode ser explicado devido à característica do

carbono ativado de apresentar ampla distribuição de tamanhos de poros. Devido a isso, o carbono ativado apresenta um efeito parcial de peneira molecular, adicionando um grau de preferência de adsorção por componentes de tamanho molecular menor, independentemente da competição por adsorção devido a outros fatores, como polaridade. As moléculas de tamanho menor têm mais poros disponíveis para serem adsorvidas quando comparadas às moléculas de tamanho maior, e por isso são mais adsorvidas (MARSH & REINOSO, 2006; BANSAL & GOYAL, 2005). E, como apresentado na Tabela 11, o etanol possui peso molecular mais baixo, e menor número de átomos que os demais compostos. O peso molecular é utilizado em diversos cálculos para estimar o tamanho de uma molécula, e uma simples contagem de átomos pode ser considerada como uma medida grosseira do tamanho molecular (WINIWARTER ET AL., 2007). Dessa maneira, pode-se inferir que o etanol possui menor tamanho molecular, e por isso é mais adsorvido pelo carbono ativado.

	Peso molecular (g/mol)	Número de átomos
Xilitol	152,15	22
Xilose	150,13	20
Arabinose	150,13	20
Glicerol	92,09	14
Etanol	46,07	9

Tabela 11. Peso molecular e número de átomos do xilitol e contaminantes secundários.

As proteínas e compostos coloridos apresentam maior retenção quando comparados ao xilitol, xilose, arabinose, glicerol e etanol pois provavelmente são quimissorvidos. KOPPER et al. (2008) identificou que uma vez que as proteínas de amendoim eram adsorvidas ao carbono ativado, todas as tentativas de dessorvelas não obtiveram sucesso. Essa dificuldade de promover dessorção é característica de uma quimissorção, que envolve forças mais intensas se comparada à fisissorção, como explicado no Capítulo 3.3. Sobre os compostos coloridos, GURGEL et al. (1995) sugere que eles sejam ligados quimicamente ao carbono ativado, uma vez que observou aumento na retenção desses compostos com o aumento da temperatura na faixa de 35 a 80°C. Confirmando essa possibilidade, BANSAL & GOYAL (2005) afirmam que, ainda à temperatura ambiente, a adsorção em carbono

ativado pode ser tanto de natureza física quanto química. Isso vem de encontro ao que se acreditava anteriormente, que à temperatura ambiente a adsorção em carbono ativado era exclusivamente física.

Pode ser observado também que a concentração de xilitol, xilose, arabinose e glicerol na saída do sistema em dado momento ultrapassa a concentração da alimentação, posteriormente se reduzindo até a concentração de alimentação. Esse fenômeno é conhecido pelo termo “*overshoot*”. Ele ocorre devido à competição adsorviva entre os diferentes compostos presentes no CH. Em um primeiro momento, há grande quantidade de sítios disponíveis para adsorção e diferentes sorbatos com diferentes afinidades ao carbono ativado são adsorvidos. Conforme o processo continua, em um segundo momento a quantidade de sítios disponíveis se torna escassa e os sorbatos com maior afinidade ao adsorvente deslocam os sorbatos com menor afinidade. Uma vez dessorvidos, eles contribuem para aumentar a concentração do produto acima da concentração de alimentação (ESCUADERO, POCH & VILLAESCUSA, 2013; FRANCA & OLIVEIRA; 2011).

A partir da análise dos resultados da primeira parte dos experimentos preliminares observou-se a necessidade de analisar todas as frações obtidas em cada corrida para que o processo possa ser avaliado melhor quanto à sua eficiência de purificação.

5.1.2 Segunda parte

A segunda parte dos estudos preliminares consistiu na realização de 3 experimentos, todos com alimentação de CH por pulso. As condições estão apresentadas na Tabela 12. Foram testadas condições de processo mais extremas que na primeira parte: utilizou-se velocidade superficial 3 vezes maior, de 1,2 cm/min, temperatura mais elevada, de 60 °C, e volume de injeção quase 3 vezes maior, de 2 mL. A intenção foi avaliar se o processo e os equipamentos utilizados são capazes de comportar condições mais exigentes. Além disso, testou-se também a adição de etanol à fase móvel, em concentrações de 10 e 20%, com o intuito de avaliar como essa diferença alteraria o comportamento da adsorção e purificação do xilitol.

Ensaio	T (°C)	V _i (mL)	v _s (cm/min)	etanol (%)
1	20	2	1,2	0
2	40	1,4	0,8	10
3	60	2	1,2	20

Tabela 12. Condições dos ensaios realizados na segunda parte dos estudos preliminares.

Os resultados da corrida 1 estão apresentados na Figura 20, Figura 21 e Tabela 13. Houve total remoção dos compostos coloridos sendo obtidas soluções transparentes, e praticamente remoção total das proteínas, atingindo retenção de 98,2% de proteínas. Houve retenção dos contaminantes secundários, acontecendo portanto purificação do xilitol em relação a eles (FP_{sec} de 2,0), porém houve pouca diferença no tempo de retenção entre xilitol e xilose, arabinose e glicerol. Dos contaminantes secundários somente o etanol apresentou considerável separação, pois permaneceu retido por mais tempo no adsorvente. O *pool* de frações desse experimento foi selecionado entre 25 e 60 mL. De 5 a 25 mL não há separação do xilitol, e entre 60 e 80 mL há pouca obtenção de xilitol, diminuindo a produtividade do processo. Caso fossem consideradas as frações até 80 mL haveria uma diminuição de 29% da produtividade para um ganho de 6% em massa de xilitol.

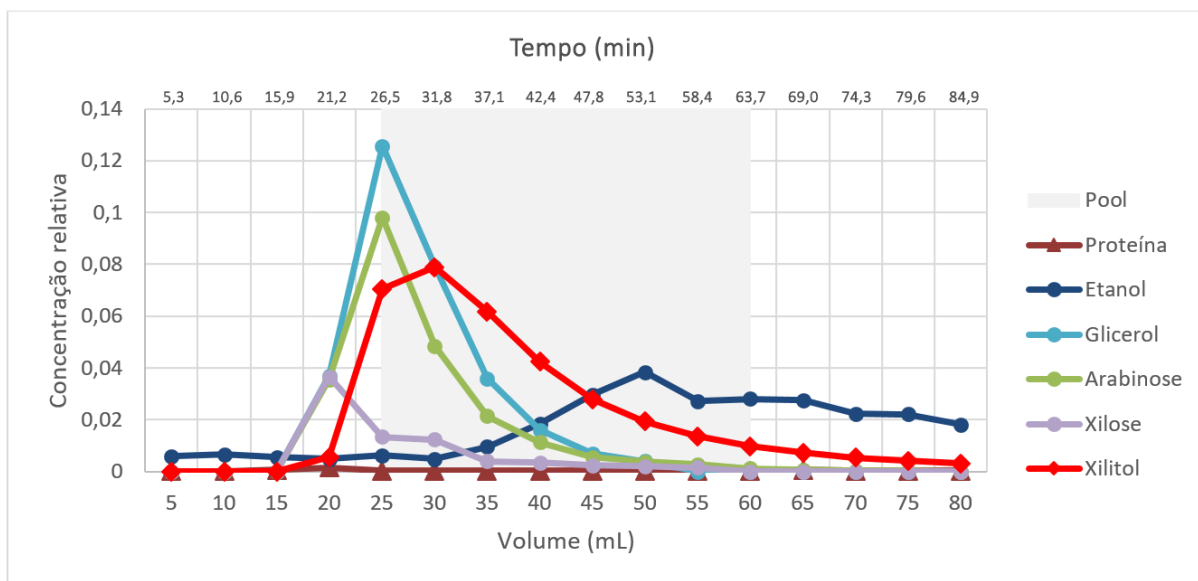


Figura 20. Ensaio 1 da segunda parte dos estudos preliminares. A concentração relativa refere-se à razão entre a concentração na fração coletada após a purificação e a concentração na amostra inicial. A área legendada como *pool* indica quais frações foram selecionadas a partir do cálculo do FP_{crom} .

Pode-se observar também, a partir da Figura 21 que apresenta as concentrações dos componentes em gramas por litro, que o xilitol ainda é o componente majoritário, apresentando uma fração mássica de 70,1% no *pool* com relação à contaminantes secundários.

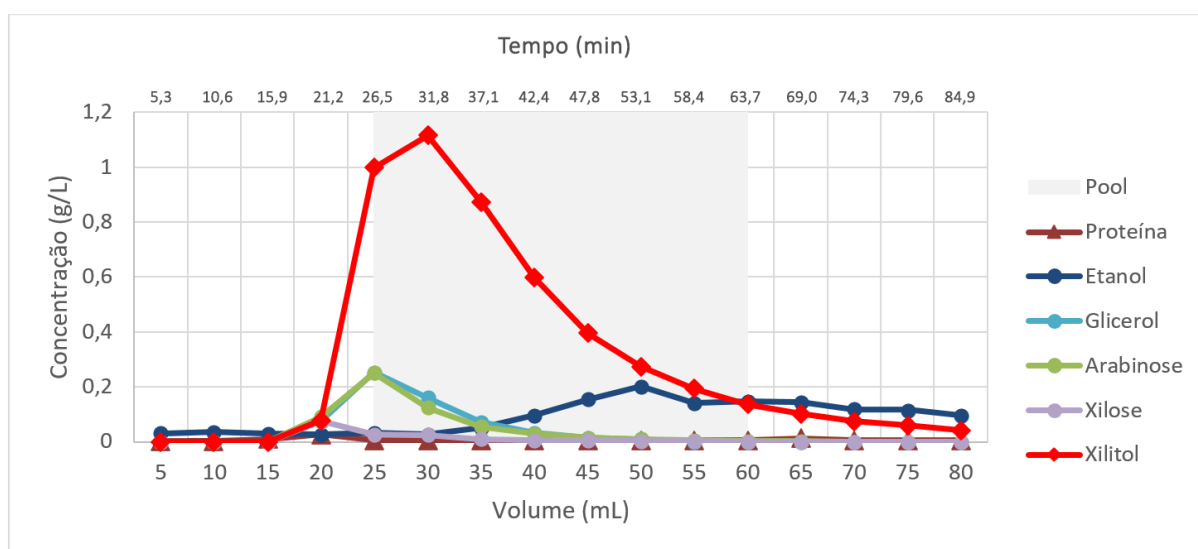


Figura 21. Ensaio 1 da segunda parte dos estudos preliminares. A área legendada como *pool* indica quais frações foram selecionadas a partir do cálculo do FP_{crom} .

Nos experimentos 2 e 3 obteve-se menor coeficiente de retenção de xilitol, de proteínas, de contaminantes secundários e de sólidos totais, indicando que há menos adsorção de uma maneira geral quando se adiciona etanol à fase móvel. O etanol promove uma espécie de lavagem do carbono ativado, podendo ser utilizado num posterior processo de dessorção dos compostos adsorvidos ao leito, seja para aproveitamento desses compostos ou para reutilização do adsorvente.

		Experimento		
		1	2	3
Retenção (%)	FPsec	2,0	-	-
	Xilitol	12,6	5,8	5,9
	Proteína	98,2	93,1	91,6
	Compostos Coloridos	100	100	100
	Sólidos Totais	29,2	-2,8	4,1
	Xilose	81,0	44,2	33,0
	Arabinose	42,6	30,8	36,1
	Glicerol	23,8	16,6	12,1
	Etanol	31,0	-	-

Tabela 13. Parâmetros calculados para as corridas 1, 2 e 3 da segunda parte dos ensaios preliminares.

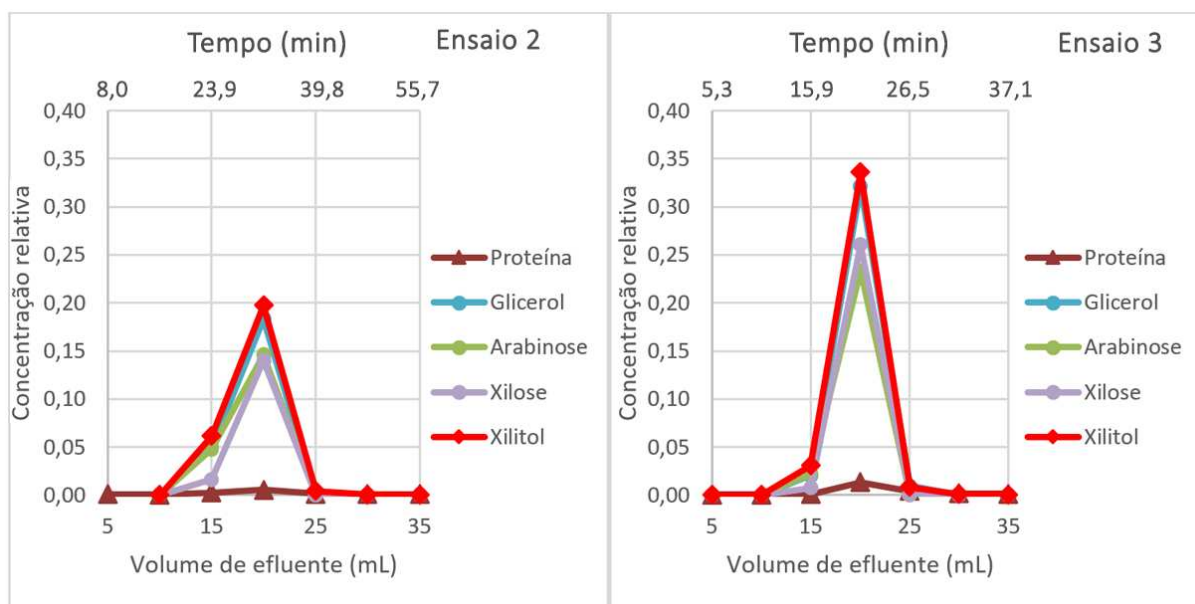


Figura 22. Ensaios 2 e 3 da segunda parte dos estudos preliminares. A concentração relativa refere-se à razão entre a concentração na fração coletada após a purificação e a concentração na amostra inicial.

Todos os componentes apresentam tempo de residência similar, indicando que não há separação entre os componentes quando se adiciona 10 ou 20 % de etanol à fase móvel. Também por conta dessa adição, as concentrações de etanol se elevaram muito nas frações e não pode-se calcular coeficiente de retenção de etanol (CR_{etanol}) do processo, fator de purificação do xilitol por áreas do cromatograma (FP_{crom}) e fator de purificação de contaminantes secundários (FP_{sec}), e não foram apresentadas as concentrações relativas de etanol na Figura 22.

5.2 Otimização das condições – Planejamento experimental

A partir dos resultados obtidos nos estudos preliminares foram determinadas quais fatores variáveis seriam avaliados no planejamento experimental, bem como seus limites de variação. Os fatores temperatura (T), volume de injeção (V_i) e velocidade superficial (v_s) foram avaliados pela técnica de *design of experiments* (DOE). Para isso, foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) de dois níveis para 3 fatores (2^3) com realização de 8 ensaios fatoriais, 6 axiais e 3 repetições no ponto central, totalizando 17 ensaios. Todos os ensaios foram realizados com alimentação de CH. Na Tabela 14 estão apresentados os parâmetros calculados a partir dos resultados obtidos dos ensaios realizados segundo o DCCR.

Ensaio	T (°C)	V _i (mL)	V _s (cm/min)	CR _{xilitol} (%)	CR _{xilose} (%)	CR _{arabinose} (%)	CR _{glicerol} (%)	FP _{área}	CR _{sól} (%)	η _{xilitol}
1	28,0 (-1)	1,05 (-1)	0,56 (-1)	17,0	83,9	37,7	20,9	3,2	36,1	80,0
2	52,0 (+1)	1,05 (-1)	0,56 (-1)	12,5	79,7	38,0	12,7	3,2	21,1	82,6
3	28,0 (-1)	1,75 (+1)	0,56 (-1)	9,4	77,7	59,0	25,5	3,4	25,1	88,2
4	52,0 (+1)	1,75 (+1)	0,56 (-1)	13,4	72,1	33,4	11,9	3,5	28,7	78,4
5	28,0 (-1)	1,05 (-1)	1,04 (+1)	19,4	89,5	19,4	32,8	3,4	30,1	74,8
6	52,0 (+1)	1,05 (-1)	1,04 (+1)	11,4	81,6	60,7	34,1	3,5	24,4	84,2
7	28,0 (-1)	1,75 (+1)	1,04 (+1)	14,9	70,2	49,3	29,2	3,7	26,3	79,3
8	52,0 (+1)	1,75 (+1)	1,04 (+1)	3,4	83,8	65,7	15,8	3,7	26,9	88,4
9	20 (-1,68)	1,4 (0)	0,8 (0)	15,1	81,9	46,1	18,8	3,3	14,6	81,9
10	60 (+1,68)	1,4 (0)	0,8 (0)	9,5	76,2	50,6	26,0	3,7	20,6	86,6
11	40 (0)	0,8 (-1,68)	0,8 (0)	17,2	94,2	39,1	18,9	3,4	20,7	75,9
12	40 (0)	2 (+1,68)	0,8 (0)	15,2	68,0	52,5	28,6	3,8	22,6	79,0
13	40 (0)	1,4 (0)	0,4 (-1,68)	9,0	66,9	47,7	16,1	3,5	8,6	82,4
14	40 (0)	1,4 (0)	1,2 (+1,68)	8,2	68,8	45,4	16,9	3,6	15,0	83,3
15	40 (0)	1,4 (0)	0,8 (0)	25,4	95,5	58,7	31,3	3,9	22,8	73,3
16	40 (0)	1,4 (0)	0,8 (0)	15,5	85,3	23,0	14,0	3,7	30,3	68,7
17	40 (0)	1,4 (0)	0,8 (0)	15,6	87,9	52,5	24,3	3,8	38,1	83,7
Central	40 (0)	1,4 (0)	0,8 (0)	18,8 ± 5,7	89,6 ± 5,3	44,7 ± 19,1	23,2 ± 8,7	3,8 ± 0,1	30,4 ± 7,6	75,2 ± 7,7

Tabela 14. Condições utilizadas e respostas obtidas dos 17 ensaios realizados como parte do Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR). Da esquerda para a direita tem-se temperatura, volume de injeção, velocidade superficial, coeficiente de retenção de xilitol, coeficiente de retenção de xilose, coeficiente de retenção de arabinose, coeficiente de retenção de glicerol, fator de purificação do xilitol no *pool* por áreas do cromatograma, coeficiente de retenção de sólidos e rendimento de xilitol.

Conforme as condições utilizadas no processo, o coeficiente de retenção de xilitol variou entre 3,4% e 25,4%, o fator de purificação por áreas do cromatograma variou entre 3,2 e 3,9, o coeficiente de retenção de sólidos totais variou de 8,6 a 38,1, o rendimento de xilitol no pool variou entre 74,8 e 88,3, e os coeficientes de retenção de xilose, arabinose e glicerol variaram entre 66,9-95,5%, 19,4-65,7% e 11,9-34,1%, respectivamente. O coeficiente de retenção de proteínas e de compostos coloridos foi próximo de 100% em todos os ensaios, e por isso não foi apresentado na Tabela 14.

Para seleção das melhores condições para realizar a purificação do xilitol biotecnológico, os fatores mais importantes são a retenção de proteínas, pois essas se encontram em alta concentração, maior que o xilitol; retenção de compostos coloridos, pois esses impactam negativamente a subsequente cristalização do xilitol e o produto final; retenção de contaminantes secundários, pois estes podem interferir na cristalização ou cristalizar junto com o xilitol, diminuindo sua pureza; recuperação de xilitol, pois é importante que se perca o mínimo de xilitol; e por último, como consequência de todos os outros, o fator de purificação de sólidos, pois indica o quanto de todos os sólidos presentes no caldo foi retirado com relação a quanto do xilitol foi preservado.

Os dois primeiros fatores, retenção de proteínas e retenção de compostos coloridos, não podem ser utilizados para seleção das melhores condições do processo porque, em todos os ensaios, tanto as proteínas quanto os compostos coloridos foram completamente retidos no adsorvente. Devido às condições escolhidas para o planejamento experimental, não foi possível obter informações sobre como a retenção de proteínas e retenção de compostos coloridos são afetadas pelas variações de temperatura, volume de injeção e velocidade superficial. Para observar esses efeitos seria necessária uma maior relação de massa de proteínas por massa de adsorvente, ou de massa de materiais coloridos por massa de adsorvente, para que não houvesse uma completa adsorção desses compostos.

Sobre o último fator apontado, fator de purificação de sólidos, em seu cálculo é utilizado o coeficiente de retenção de sólidos, que apresentou variação aleatória nos resultados. Por isso não foi possível obter informações sobre o comportamento do $FP_{\text{sólidos}}$ como consequência da variação das condições do processo. Essa variação aleatória nos resultados de $CR_{\text{sól}}$ provavelmente se deu

devido ao uso de pequenos volumes (1 mL) de amostra por fração, devido à limitação de se ter somente 5 mL por fração para realizar todas as análises.

Dos dois fatores restantes, recuperação de xilitol e retenção de contaminantes secundários (representado por $FP_{\text{área}}$), o primeiro apresentou variação considerável ao longo dos experimentos, de 3,37% a 19,44%, enquanto que o segundo apresentou pequena variação, de 3,22 a 3,78, sendo toda essa faixa de resultados relativamente satisfatória uma vez que os contaminantes secundários já se encontram em baixas concentrações. Portanto, maximizar o resultado da recuperação de xilitol resultará em um maior impacto no produto obtido, e por isso o coeficiente de retenção de xilitol foi selecionado como resposta que representa os objetivos do trabalho.

5.2.1 Coeficiente de retenção de xilitol (Y_1)

O coeficiente de retenção de xilitol foi selecionado como resposta relevante pois minimizar o CR_{xil} resulta em menor perda do composto de interesse, aumentando o rendimento do processo, e em maiores quantidades absolutas de xilitol no produto, o que pode facilitar uma etapa subsequente de purificação, como a cristalização. Além disso, por ser uma medida pouco complexa, nos permite estudar o comportamento da adsorção do xilitol nas diferentes condições empregadas.

Fatores	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t calculado	p-valor
Média	18,8	2,1	8,8	< 0,001
(x_1) Temperatura	-2,1	1,0	-2,1	0,070
Temperatura x Temperatura	-2,2	1,1	-1,9	0,093
(x_2) Volume injeção	-1,7	1,0	-1,6	0,144
Volume injeção x Volume injeção	-0,8	1,1	-0,7	0,506
(x_3) Vel. superficial	-0,3	1,0	-0,3	0,753
Vel. superficial x Vel. superficial	-3,5	1,1	-3,1	0,017
Temperatura x Volume injeção	0,6	1,3	0,5	0,641
Temperatura x Vel. superficial	-2,4	1,3	-1,8	0,112
Volume injeção x Vel. superficial	-0,7	1,3	-0,6	0,591

Tabela 15. Coeficientes de regressão estimados para CR_{xil} .

O CR_{xil} foi afetado significativamente ($p < 0,10$) pelos três fatores variáveis: temperatura, volume de injeção e velocidade superficial. Os efeitos dos fatores são avaliados através dos coeficientes de regressão calculados que estão apresentados na Tabela 15. A análise de variância (ANOVA) para CR_{xil} está apresentada na Tabela 16.

Como pode-se observar na Tabela 15, todos os coeficientes de regressão estatisticamente significativos são negativos. Para os efeitos lineares, x_1 e x_2 , qualquer incremento em seus valores produz uma resposta menor, isto é, qualquer aumento na temperatura ou volume de injeção gera um CR_{xil} menor. O oposto também é verdade, isto é, uma diminuição de T ou de V_i aumentam CR_{xil} . Já para os efeitos quadráticos, x_1^2 e x_3^2 , qualquer aumento em módulo do fatores gera diminuição do CR_{xil} , que apresentaria, por isso, o valor mais elevado no ponto central caso só houvessem esses fatores no modelo. Por último, o efeito de interação dois a dois, $x_1.x_3$, apresenta quatro áreas distintas, duas causando aumento de CR_{xil} (quando x_1 é negativa e x_2 é positiva e vice-versa) e duas causando diminuição de CR_{xil} (quando ambas x_1 e x_2 são negativas ou positivas), formando um ponto de sela no ponto central. A equação 10 descreve o coeficiente de retenção de xilitol previsto pelo modelo em função das variáveis codificadas. O modelo apresentado foi reparametrizado de modo a conter apenas os termos estatisticamente significativos.

$$Y_1 = 17,79 - 2,15 x_1 - 1,93 x_1^2 - 1,66 x_2 - 3,22 x_3^2 - 2,39 x_1 x_3 \quad (11)$$

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	Fcalc
Regressão	293,17	5	58,63	5,7
Resíduos	112,71	11	10,25	
Falta de Ajuste	48,55	9	5,39	0,2
Erro Puro	64,16	2	32,08	
Total	405,88	16		
R^2	72,2%			

Tabela 16. ANOVA para CR_{xil} . $F_{5;11;0,10} = 2,45$. $F_{9;2;0,10} = 9,38$.

A Tabela 16 apresenta um coeficiente de determinação (R^2) de 72,2%, valor esse influenciado fortemente por um ensaio que apresentou resultado bastante diferente do predito (ensaio 17), como demonstrado na Figura 23, que apresenta os valores experimentais de CR_{xil} no eixo x e os valores preditos pelo modelo no eixo y para cada ensaio. Esse ensaio com resultado muito distante do predito, um *outlier*, pode ser interpretado como uma possível falha experimental ou analítica. Considerando a complexidade desse tipo de experimento, um ajuste de 72% é aceitável, principalmente visto que o modelo apresenta ajuste adequado ao comportamento do CR_{xil} dos demais 16 ensaios. O ajuste também atendeu aos requisitos necessários em relação ao teste F (para regressão/resíduos, $F_{calculado} > F_{tabelado}$ e para falta de ajuste/erro puro, $F_{calculado} < F_{tabelado}$) (RODRIGUES & IEMMA, 2014). Assim, o modelo pode ser considerado válido e as superfícies de resposta podem ser obtidas (Figura 24).

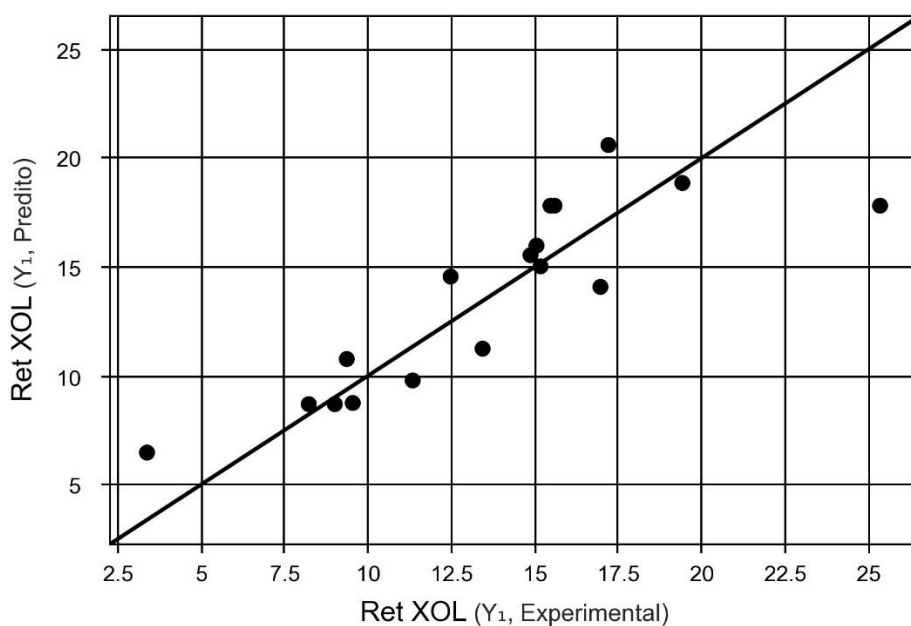


Figura 23. Valores experimentais versus valores preditos pelo modelo para CR_{xil} .

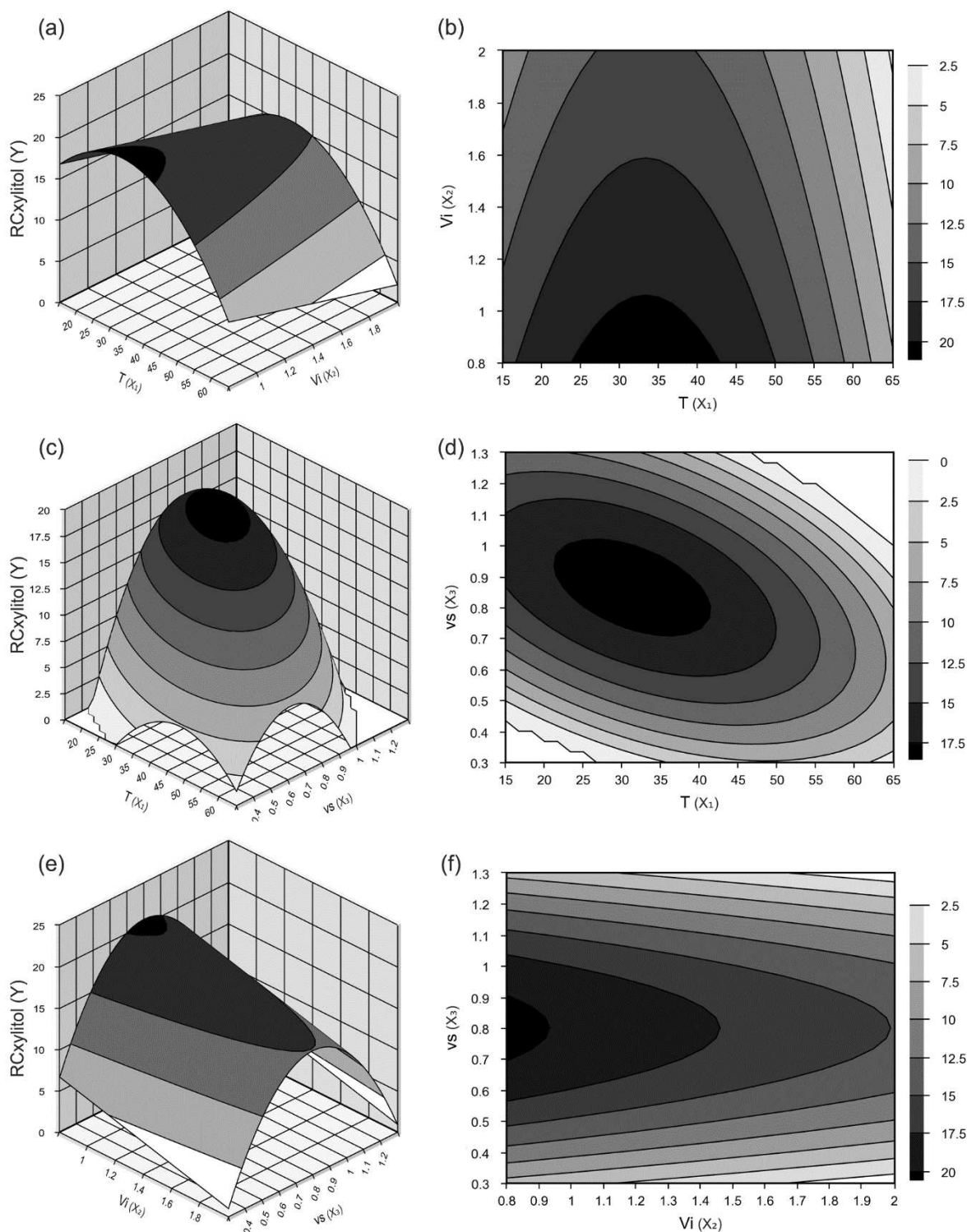


Figura 24. Superfícies de resposta e curvas de contorno para o CR_{xii} (%) em função da temperatura e volume de injeção em (a) e (b), em função da temperatura e velocidade superficial em (c) e (d), e em função do volume de injeção e velocidade superficial em (e) e (f).

O comportamento da retenção de xilitol com relação à variação de temperatura pode ser explicado por dois mecanismos. Os átomos e moléculas

constituintes do carbono ativado não são estacionários, eles vibram. A amplitude dessa vibração é função da temperatura, e decresce com o decréscimo da temperatura. O espaço dentro da rede porosa do sólido não é, portanto, invariável. O espaço poroso aumenta e diminui de tamanho de acordo com as vibrações dos átomos de carbono mais próximos, e de acordo com a temperatura. Portanto é mais relevante, quando considerando um processo de adsorção, lidar como uma molécula que vibra adentrando um poro cujas dimensões são variáveis. Em um processo de adsorção, para que haja uma entrada rápida do adsorbato, as dimensões dos poros precisam ser suficientemente grandes para facilitar a entrada imediata da molécula vibrante. Esse comportamento sugere que o processo de adsorção em carbono ativado seja um processo chamado de ativado, termo esse utilizado para processos nos quais as taxas aumentam com o aumento de temperatura. Há então uma energia de ativação da adsorção. Entrada rápida do adsorbato quer dizer que a temperatura é alta o suficiente para evitar que a energia de ativação de adsorção controle a taxa de adsorção, essa sendo controlada apenas pela taxa de acesso do adsorbato ao poro. Neste processo, à medida que a temperatura de adsorção decresce, a adsorção passa a acontecer somente quando a dimensão do poro, que varia constantemente, for suficientemente grande, ou estiver próxima do seu limite superior de variação, e as moléculas adsorventes apresentarem comprimento de ligação suficientemente pequenos. A taxa de adsorção nesse caso é controlada pela frequência em que essa situação ocorre, logo a energia de ativação de adsorção controla a taxa de adsorção. Esse fenômeno pode ser chamado de difusão ativada (MARSH & REINOSO, 2006).

O segundo mecanismo pode ser explicado entendendo como funciona o desenvolvimento de eluição. A melhor explicação para o fenômeno é uma série de processos de adsorção-dessorção contínuos que acontecem do momento em que a amostra é injetada no sistema até que haja a saída dos solutos. Ocorre o equilíbrio entre a fase móvel e a fase estacionária quando a probabilidade de uma molécula de soluto atingir a superfície e entrar na fase estacionária é a mesma que a probabilidade de uma molécula de soluto adquirir aleatoriamente energia cinética suficiente para deixar a fase estacionária e entrar na fase móvel. O sistema é continuamente conduzido em direção ao equilíbrio termodinâmico. No entanto, a fase móvel continuamente desloca o perfil de concentração do soluto na fase móvel

para frente, em relação ao perfil de concentração da fase estacionária. Como resultado desse deslocamento, a concentração de soluto na fase móvel na frente do pico excede a concentração de equilíbrio com relação a fase estacionária. Por conseguinte, uma quantidade maior de soluto na parte frontal do pico está continuamente entrando na fase estacionária a partir da fase móvel, na tentativa de restabelecer o equilíbrio à medida que o pico progride ao longo da coluna. Na parte traseira do pico ocorre o inverso. À medida que o perfil de concentração avança, a concentração de soluto na fase estacionária na parte traseira do pico passa a exceder a concentração de equilíbrio. Uma quantidade maior de soluto deve, nessa situação, deixar a fase estacionária e entrar na fase móvel em um esforço para restabelecer o equilíbrio. Assim, o soluto se move através do sistema de adsorção como resultado de o soluto entrar na fase estacionária na parte frontal do pico e retornar à fase móvel na traseira do pico. Vale ressaltar que nesse processo, durante todo o tempo, há tanto adsorção quanto dessorção em ambos os lados do pico, porém há mais adsorção que dessorção na parte frontal e mais dessorção que adsorção na parte traseira (Cazes & Scott, 2002).

Os processos envolvidos no estabelecimento do equilíbrio do soluto entre as duas fases podem ser explicados de uma maneira simplificada a seguir. As moléculas de soluto só podem deixar a fase estacionária quando sua energia cinética for igual ou superior à energia potencial de sua associação com as moléculas da fase estacionária. A distribuição da energia cinética entre as moléculas dissolvidas na fase estacionária a qualquer temperatura específica T é considerada sob a forma de uma curva gaussiana, como mostrada na Figura 25A. O número de moléculas na superfície limite (N_1) que possuem uma energia cinética superior à energia potencial associada às suas interações moleculares com a fase estacionária (E_A , ou energia de ativação) sairá da fase estacionária e entrará na fase móvel. Elas são representadas pela área sombreada da curva de distribuição. Aquelas moléculas com uma energia menor que E_A permanecerão na fase estacionária. Já na fase móvel, que é mostrada na Figura 25B, o número de moléculas (N_2) atingindo a superfície que possuem uma energia menor que E_A permanecerá na fase estacionária. Essas estão representadas pela área sombreada na curva. As demais moléculas, que possuem energias acima de E_A , colidem com a superfície e retornam (Cazes & Scott, 2002).

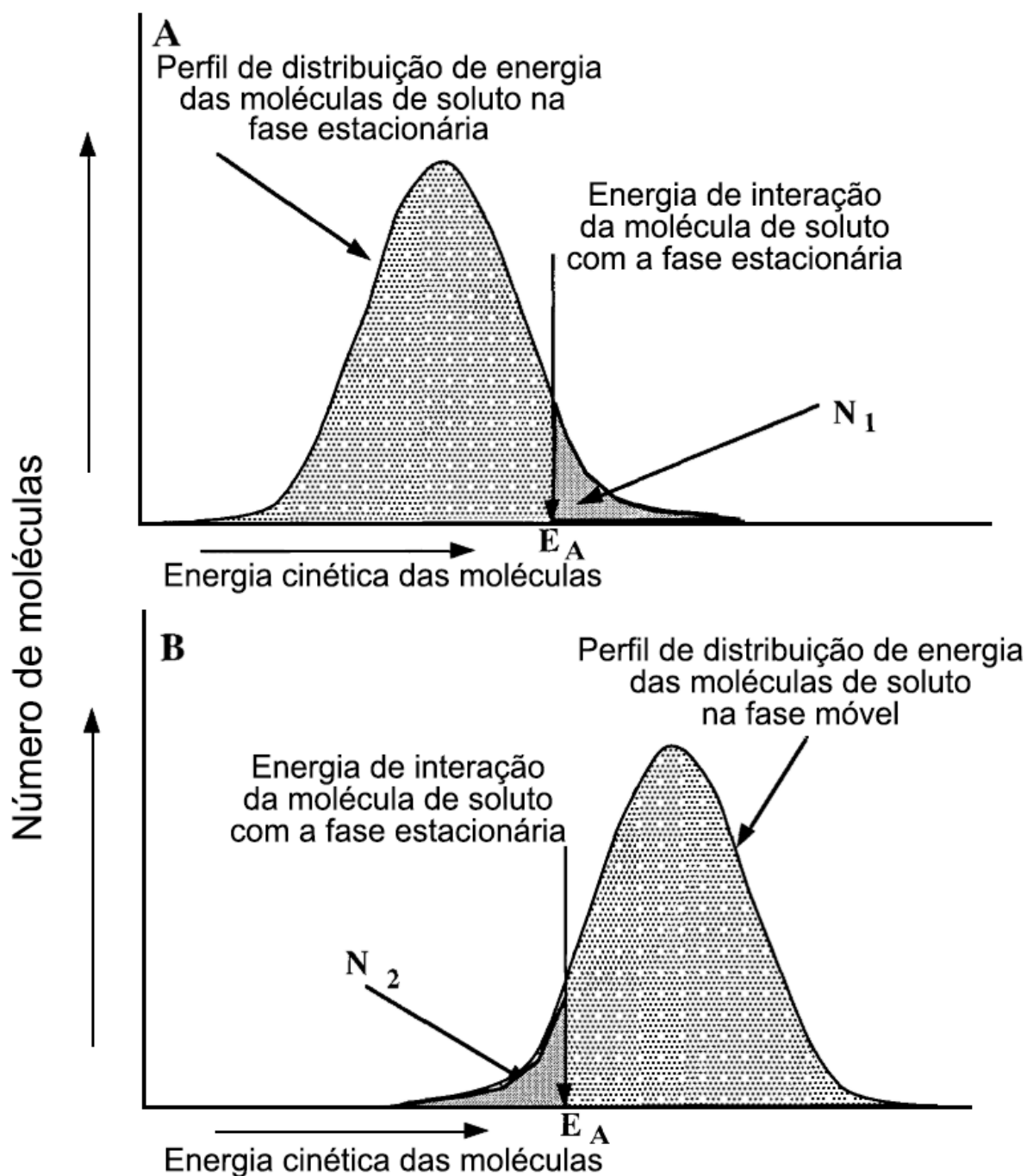


Figura 25. Distribuição de energia das moléculas de soluto na fase estacionária em (A), e na fase móvel em (B). Adaptado de: Cazes & Scott, 2002.

À medida que a temperatura é elevada, as curvas de distribuição de energia se alteram para comportar faixas mais altas de energia. Assim, quando a temperatura do processo é aumentada, um número maior de moléculas de soluto na fase estacionária adquire aleatoriamente energia suficiente (E_A) para deixar a fase estacionária e entrar na fase gasosa, e uma menor quantidade de moléculas na fase

móvel tem energia suficientemente baixa (menor que E_A) para migrar para a fase estacionária (Cazes & Scott, 2002).

De acordo com esses dois mecanismos, sugere-se explicação para o comportamento que foi obtido nos experimentos apresentados: Quando à baixa temperatura, a energia de ativação de adsorção ainda limitava a taxa de adsorção com baixas difusividades, e por isso obteve-se baixas taxas de retenção do xilitol. Conforme aumentou-se a temperatura houve maior difusão de xilitol no adsorvente, e tendo maior acesso à sítios de adsorção, possivelmente houve maior adsorção de xilitol, e por isso a retenção de xilitol no carbono também aumentou. Uma vez que a temperatura foi suficiente para suprir a energia de ativação de adsorção, do processo de difusão ativada, a taxa de adsorção passou a ser governada pela taxa de acesso de xilitol aos poros. Porém, com a elevação da temperatura, a distribuição de energia das moléculas de xilitol passou a comportar faixas mais altas de energia, reduzindo o fenômeno de adsorção e aumentando o fenômeno de dessorção, que acabou por reduzir a retenção de xilitol no carbono ativado a medida que a temperatura foi elevada.

Vale ressaltar que o caldo contendo xilitol apresenta muitos outros compostos como açúcares, álcoois, proteínas, sais e compostos coloridos, e a interação deles com o adsorvente e com o próprio xilitol podem também influenciar o comportamento da adsorção do xilitol de maneiras diferentes em diferentes temperaturas. Outro fator que pode influenciar o comportamento da adsorção do xilitol em diferentes temperaturas é a interação do xilitol com os grupos de superfície presentes no carbono ativado utilizado. Essas interações podem apresentar E_A e, em diferentes temperaturas, apresentarem comportamentos variados. Como indicado por BOTTANI & TASCÓN (2008), a interação com esses grupos de superfície pode alterar as características da adsorção em carbono ativado.

O comportamento da retenção de xilitol com relação à variação do volume de injeção mostrou-se mais simples. Qualquer aumento no volume de injeção gerou menor coeficiente de retenção de xilitol no carbono ativado. A explicação sugerida seria a de que, para uma mesma massa de adsorvente, com uma mesma capacidade de adsorção, quanto mais amostra é alimentada, menor quantidade relativa ao total é adsorvida. Isso é especialmente verdadeiro para o xilitol, que no

processo apresentado tem pouca prioridade na ocupação dos sítios do carbono ativado se comparado à outros compostos mais retidos, como as proteínas e compostos coloridos.

Sobre o comportamento da retenção de xilitol com relação à variação da velocidade superficial do processo, são sugeridos dois mecanismos como explicação. Primeiramente, como se pode observar na Figura 26, o fluxo da fase móvel no interior da coluna evita os obstáculos (leito fixo) ao longo de caminhos de menor resistência. Há caminhos mais estreitos e obstruídos e caminhos mais abertos e menos obstruídos, e por isso a velocidade do fluxo em cada caminho varia. O fluxo varia não só de caminho para caminho devido à resistência ao fluxo, mas também dos limites exteriores até o centro do caminho devido à velocidade do fluxo se aproximar a zero próximo à superfície das partículas de adsorvente, por conta de atrito viscoso. Uma partícula percorrendo um certo caminho vai, após distância percorrida de por volta de um diâmetro de partícula de adsorvente, ser carregada a uma subsequente parte da rede de canais que contenha uma velocidade diferente da anterior. Portanto, uma molécula qualquer alterará erráticamente sua velocidade após cada diâmetro de partícula, ou aproximadamente, e esse fenômeno se torna ainda mais intenso devido a difusão molecular lateral ao fluxo. Essa variação da velocidade do fluxo de ponto a ponto causa um fenômeno chamado de difusão por turbilhonamento (Giddings, 1965). Esse fenômeno reduz a resistência à transferência de massa na fase móvel, aumentando consideravelmente a difusividade. Além do termo turbilhonamento, é utilizado também o termo pseudo-turbulência para referir ao que ocorre no fluxo (Cazes & Scott, 2002).

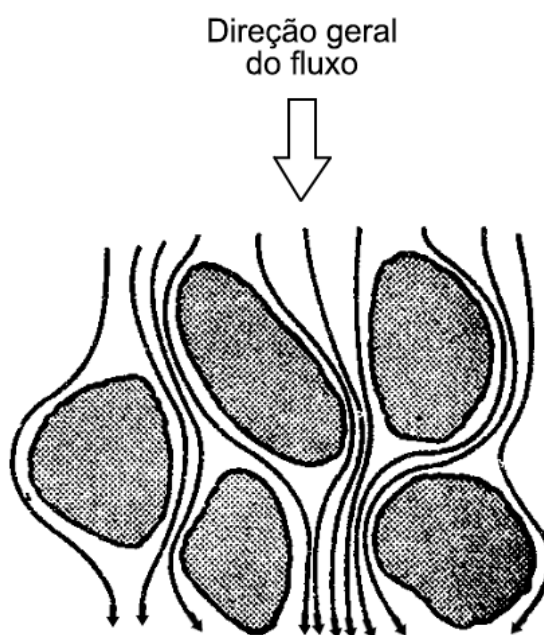


Figura 26. Diagrama mostrando como se comporta o fluxo de fase móvel em uma pequena área da coluna. Adaptado de: Giddings, 1965.

O segundo mecanismo responsável pela variação da retenção de xilitol com a variação da velocidade superficial seria o seguinte: conforme a velocidade superficial se eleva, o tempo de residência do soluto na coluna se reduz, e com menor tempo para ocorrer a difusão do soluto para o interior dos poros do carbono ativado, parte maior do soluto deixa a coluna antes que pudesse ser adsorvido (SHENG et al., 2018; AHMAD & HAMEED, 2010).

De acordo com esses dois mecanismos apresentados, sugere-se como explicação para o comportamento observado o seguinte. Com o aumento da velocidade superficial desde o limite inferior de 0,40 cm/min até o limite superior de 1,20 cm/min, tanto aumentou o turbilhonamento e pseudo-turbulências, elevando a transferência de massas na fase móvel, quanto diminui o tempo de residência do soluto no interior da coluna. Porém a mais baixas velocidades o efeito causado pelo aumento da transferência de massa na fase móvel é mais intenso que o da diminuição do tempo de residência do soluto, elevando o coeficiente de retenção de xilitol conforme se aumenta a velocidade superficial. Já à velocidades mais altas, quando os turbilhonamentos e pseudo-turbulências já estão devidamente formados, o decréscimo da resistência à transferência de massa na fase móvel se torna menos

intenso, e o efeito da diminuição do tempo de residência do soluto na coluna passa a governar o sentido da mudança do coeficiente de retenção de xilitol, que decresce por consequência.

Uma vez que há uma drástica queda de retenção de xilitol conforme se aumenta temperatura, volume de injeção e velocidade superficial, e o parâmetro $FP_{\text{área}}$ apresenta bons valores nos experimentos axiais positivos (1 variável independente em +1,68 e as demais em 0) de 3,7, 3,8 e 3,6, entendeu-se que as melhores condições para realizar os próximos testes seriam aquelas encontradas na extremidade dos limites testados, isto é, nos valores equivalentes a $+\alpha$ (+1,68), apresentados na Tabela 17. Uma vez que já está havendo alta remoção de proteínas e compostos coloridos, opta-se pelas condições que resultam em menor perda de xilitol devido à adsorção ao carbono ativado.

Temperatura (°C)	60,0
Volume de injeção (mL)	2,0
Velocidade superficial (cm/min)	1,2

Tabela 17. Parâmetros do processo selecionados como melhores dentro da faixa testada.

5.2.2 Estudos de confirmação

Com a intenção de testar as tendências encontradas no planejamento experimental foram realizados dois testes em triplicata. No primeiro, foram utilizadas as condições selecionadas na seção anterior (5.2.1), de T , V_i e v_s no limite superior dos valores testados. Esse teste é referido como Conf1. No segundo, foram testadas condições mais extremas, apresentadas na Tabela 18, com a intenção de avaliar se as tendências encontradas persistem fora dos limites testados inicialmente, e se os resultados de purificação podem ser melhorados. O segundo teste é referido como Conf2.

	Pto. Central	Conf1	Conf2
T (°C)	40	60	70
V _i (mL)	1,4	2,0	3,0
v _s (cm/min)	0,8	1,2	1,5
CR_{xilitol}	18,8 ± 5,7	15,5 ± 2,9	5,0 ± 4,5
CR_{prot}	98,9 ± 2,0	97,7 ± 2,1	101,0 ± 1,7
FP_{área}	3,8 ± 0,1	3,8 ± 0,2	3,6 ± 0,1
CR_{xilose}	89,6 ± 5,3	70,4 ± 3,1	49,0 ± 19,5
CR_{arabinose}	44,7 ± 19,1	45,4 ± 11,8	37,2 ± 7,2
CR_{glicerol}	23,2 ± 8,7	23,0 ± 2,4	9,4 ± 6,5
CR_{etanol}	-	72,3 ± 20,0	57,4 ± 5,5
FP_{sólidos}	-	5,6 ± 1,2	5,4 ± 0,4
η_{xilitol, pool} (%)	75,2 ± 7,7	76,7 ± 4,4	80,5 ± 2,7
m_{xilitol, pool} (mg)	15,6 ± 1,9	23,0 ± 1,3	36,3 ± 1,2

Tabela 18. Condições utilizadas e respostas obtidas para o ponto central do planejamento experimental, teste de confirmação 1 (Conf1) e teste de confirmação 2 (Conf2). Os valores referentes ao ponto central foram adicionados à tabela a fim de comparação. De cima para baixo tem-se temperatura, volume de injeção, velocidade superficial, coeficiente de retenção de xilitol, fator de purificação do xilitol no pool por áreas do cromatograma, coeficiente de retenção de xilose, coeficiente de retenção de arabinose, coeficiente de retenção de glicerol, coeficiente de retenção de etanol, fator de purificação com relação a sólidos, rendimento de xilitol no *pool*, e massa de xilitol no *pool* em miligramas (mg).

Observa-se que tornando as condições mais extremas, isto é, aumentando a temperatura, o volume de injeção e a velocidade superficial, o coeficiente de retenção de xilitol de fato decresce, assim como apontado pelo planejamento experimental, apesar de esse decrescimento ter sido menor que o previsto pelo modelo. Decrescem também os coeficientes de retenção de xilose, arabinose, glicerol e etanol, como é esperado, uma vez que os mecanismos que influenciam o decréscimo da retenção de xilitol provavelmente agem também sobre esses compostos. A retenção de proteínas e compostos coloridos permanece máxima, levando em consideração os limites de detecção dos métodos empregados.

Outro efeito obtido pelo aumento de T, V_i e v_s sob o processo pode ser observado na Figura 27. Conforme as condições do processo ficaram mais extremas, a dispersão de cada composto se tornou menor.

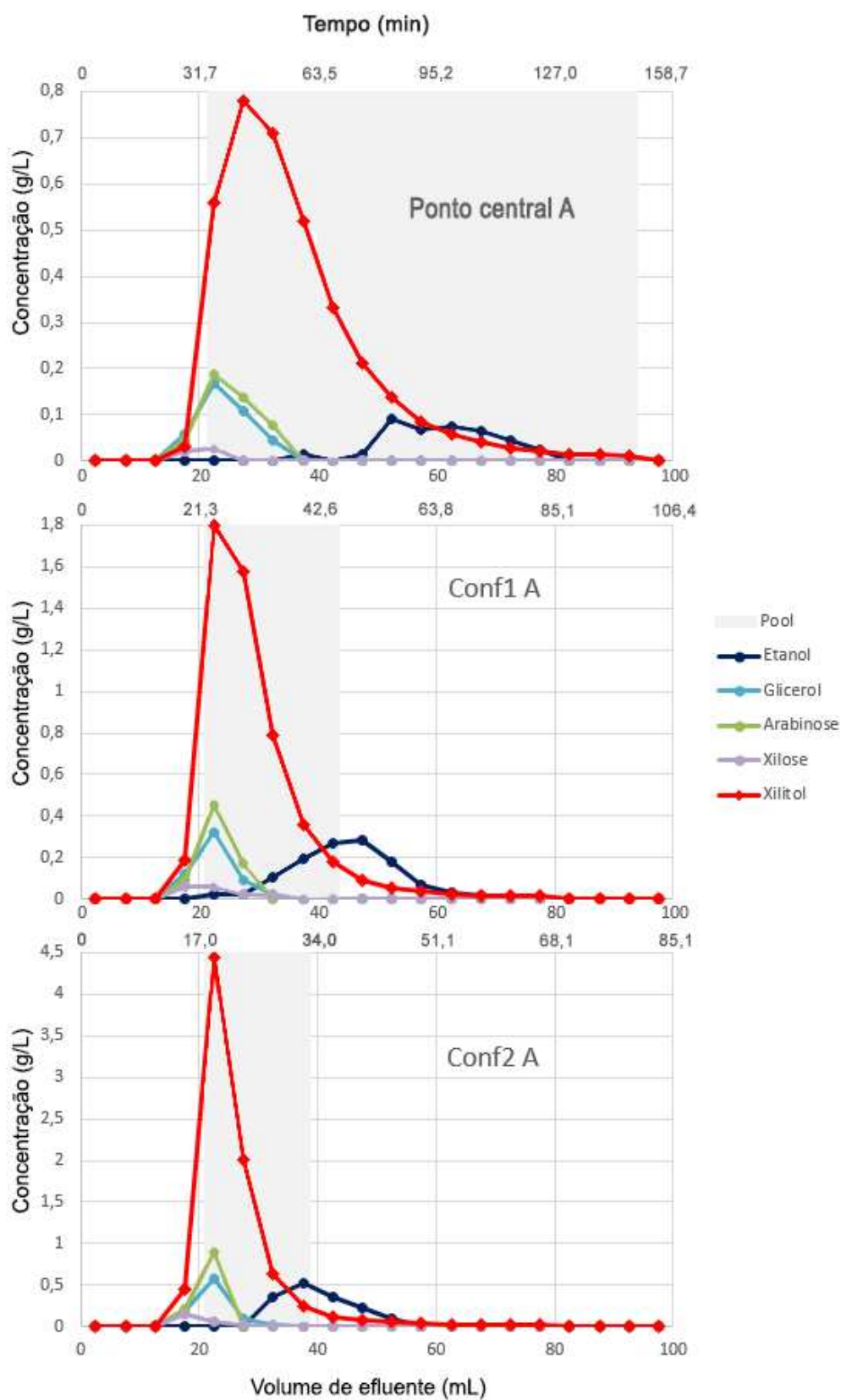


Figura 27. Concentração de xilitol, xilose, arabinose, glicerol e etanol na saída do processo de purificação de 3 corridas. Em ordem de cima para baixo, uma corrida da triplicata realizada no ponto central do DCCR, uma corrida da triplicata dos testes de confirmação 1 e uma corrida da triplicata dos testes de confirmação 2.

Esse efeito pode ser explicado pela equação de Van Deemter (Eq. 12). Van Deemter e colaboradores postularam que quatro efeitos de primeira ordem são responsáveis pela dispersão de picos em sistemas cromatográficos: dispersão por caminhos múltiplos, difusão longitudinal, resistência à transferência de massa na fase móvel e resistência à transferência de massa na fase estacionária. E desse conceito foi derivada a equação que relaciona a contribuição de cada efeito de dispersão com a variância geral por unidade de comprimento da coluna (eficiência do processo). Como se pode considerar que os processos de dispersão individuais são aleatórios e não interagem, na equação são somadas as contribuições de cada variação individual (Ornaf & Dong, 2005; Edge, 2003; Cazes & Scott, 2002)

$$H = A + \frac{B}{v_s} + C v_s \quad (12)$$

O termo H , conhecido como altura equivalente de um prato teórico, é relacionado à teoria dos pratos, que lida com o fenômeno de retenção de soluto e eficiência de coluna em cromatografia. O termo será referido como altura de prato por fins de praticidade. Como a altura de prato é igual ao comprimento da coluna (L) dividido pelo número teórico de pratos (N) (Eq. 13), que é uma medida quantitativa da eficiência da coluna, quanto menor H para um mesmo tamanho de coluna, maior é N , maior é a eficiência do processo. A eficiência do processo mede o quão estreito é o pico no processo cromatográfico (Ornaf & Dong, 2005; Edge, 2003).

$$H = L/N \quad (13)$$

O termo A representa o efeito de dispersão por caminhos múltiplos, o termo B representa a difusão longitudinal, o termo C representa a resistência à transferência de massa e v_s é a velocidade superficial. Como pode se observar na Figura 28, para baixas velocidades superficiais a eficiência da coluna é limitada pela difusão longitudinal, à altas velocidades a eficiência da coluna é limitada pelo termo de transferência de massa, e o termo H atinge um ponto de mínima em determinada velocidade superficial, atingindo a eficiência máxima da coluna.

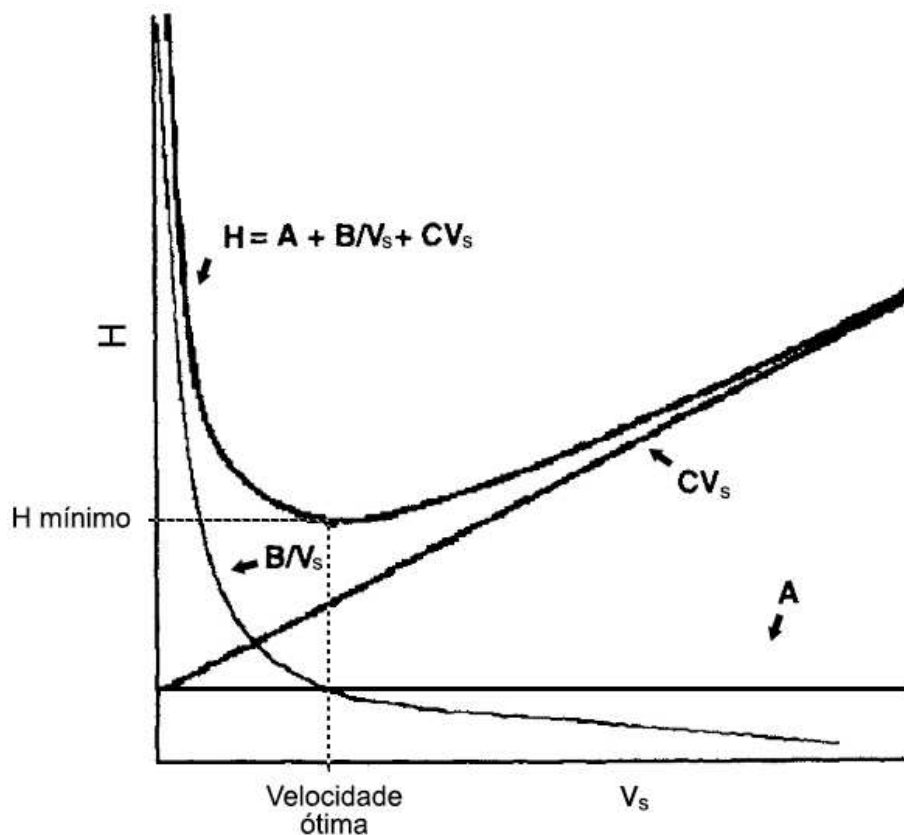


Figura 28. Curva de Van Deemter mostrando a relação da altura relativa de um prato teórico (H) com a velocidade superficial do fluxo (v_s). Adaptado de Orna & Dong, 2005.

De acordo com o explicitado, sugere-se como explicação para o encontrado experimentalmente que conforme foram empregadas condições mais extremas de T , V_i e v_s , o aumento da velocidade superficial diminuiu o efeito da difusão longitudinal, trazendo a altura equivalente de um prato teórico mais próximo de seu valor mínimo, e portanto aumentando a eficiência do processo, diminuindo a dispersão. O aumento do volume de injeção causou o aumento da concentração de cada composto, como observado na Figura 27. Por último, sobre o efeito da temperatura, McGuffin (2004) afirma que uma alteração na temperatura atua na dispersão de compostos, influenciando as resistências à transferência de massa na fase móvel e na fase estacionária. Caso a resistência à transferência de massa seja maior na fase móvel que na fase estacionária, conforme se eleva a temperatura há um decréscimo da altura de prato, diminuindo a dispersão dos compostos. Caso a resistência à transferência de massa na fase estacionária for maior, o efeito é

inverso. Para julgar qual efeito de resistência a transferência de massa é mais intenso seria necessário coletar mais dados sobre o processo e o adsorvente utilizado.

Esse efeito de redução da dispersão dos componentes do caldo é interessante no processo estudado pois através dele obtém-se o xilitol purificado em uma menor quantidade de frações, permitindo a interrupção do processo com a passagem de menor quantidade de fase móvel. Ou seja, diminui-se o tempo do processo, aumentando sua produtividade.

Comparando as duas condições testadas, Conf1 e Conf2, ao tornar as condições do processo mais extremas, as vantagens para o processo foram: o coeficiente de retenção de xilitol reduziu de $15,5 \pm 2,9$ para $5,0 \pm 4,5$; o rendimento de xilitol não variou significativamente (de $76,7 \pm 4,4$ para $80,5 \pm 2,7$); a massa de xilitol no *pool* elevou de $23,0 \pm 1,3$ mg para $36,3 \pm 1,2$ mg; houve diminuição do tempo de processo com a redução da dispersão do xilitol, levando o fim do *pool* a ocorrer em média em 41 minutos na condição mais extrema, enquanto esse se deu em 58 minutos na condição mais branda. Com aumento da massa de xilitol obtido e redução do tempo até o final do *pool*, podemos observar que houve um aumento de produtividade mássica de 2,2 vezes (de 0,40 g/min para 0,88 g/min). Os fatores $FP_{\text{área}}$ (de $3,8 \pm 0,2$ para $3,6 \pm 0,1$) e $FP_{\text{sólidos}}$ (de $5,6 \pm 1,2$ para $5,4 \pm 0,4$) não apresentaram diferença significativa entre as duas condições.

A partir dessa comparação, foi feita a escolha das condições de processo mais extremas, de Conf2, como melhor condição para realização do processo de purificação de xilitol. Isso se deu pois com ela obtém-se maior massa de xilitol em menor tempo, ou seja, obtém-se maior produtividade, e menor perda de xilitol, ao custo de uma pequena diminuição nos fatores de purificação com relação à sólidos e compostos secundários, e uma maior perda de carga no sistema devido ao aumento da velocidade superficial.

5.3 Purificação de xilitol pelo método do degrau

Foi realizado experimento em triplicata com alimentação contínua de CH (alimentação em degrau) utilizando as condições selecionadas na etapa anterior, de temperatura igual a 70 °C e velocidade superficial de 1,5 cm/min (vazão de 1,2

mL/min), e foram obtidas as curvas de *breakthrough* do processo. Os resultados obtidos através das curvas de *breakthrough* estão apresentados na Tabela 19.

<i>Breakthrough</i>			
	Concentração relativa / absorbância relativa	Volume (mL)	Tempo (min)
Sólidos totais	0,1	5,1	4,3
Proteínas	0,1	18,8	16,0
Compostos coloridos a 420 nm	0,1	26,7	22,7
Compostos coloridos a 560 nm	0,1	27,7	23,6

Tabela 19. Resultados obtidos através das curvas de *breakthrough* do experimento com alimentação contínua de CH.

A concentração de *breakthrough* selecionada foi de 0,1 (10% da concentração de alimentação) para as proteínas e sólidos totais, e a concentração de *breakthrough* dos compostos coloridos foi selecionada de acordo com a absorbância, também com o valor de 0,1 (10% da absorbância obtida na alimentação) tanto para a leitura em 420 nm quanto em 560 nm. De acordo com as concentrações de *breakthrough* escolhidas, foram calculados os tempos e volumes (de efluente) de *breakthrough*. O *breakpoint* dos contaminantes é uma informação importante para decidir quando interromper o processo. O processo é realizado até o momento em que a concentração de determinado contaminante se encontre em um limite estabelecido (nesse caso foi selecionado o valor de 10% da concentração inicial).

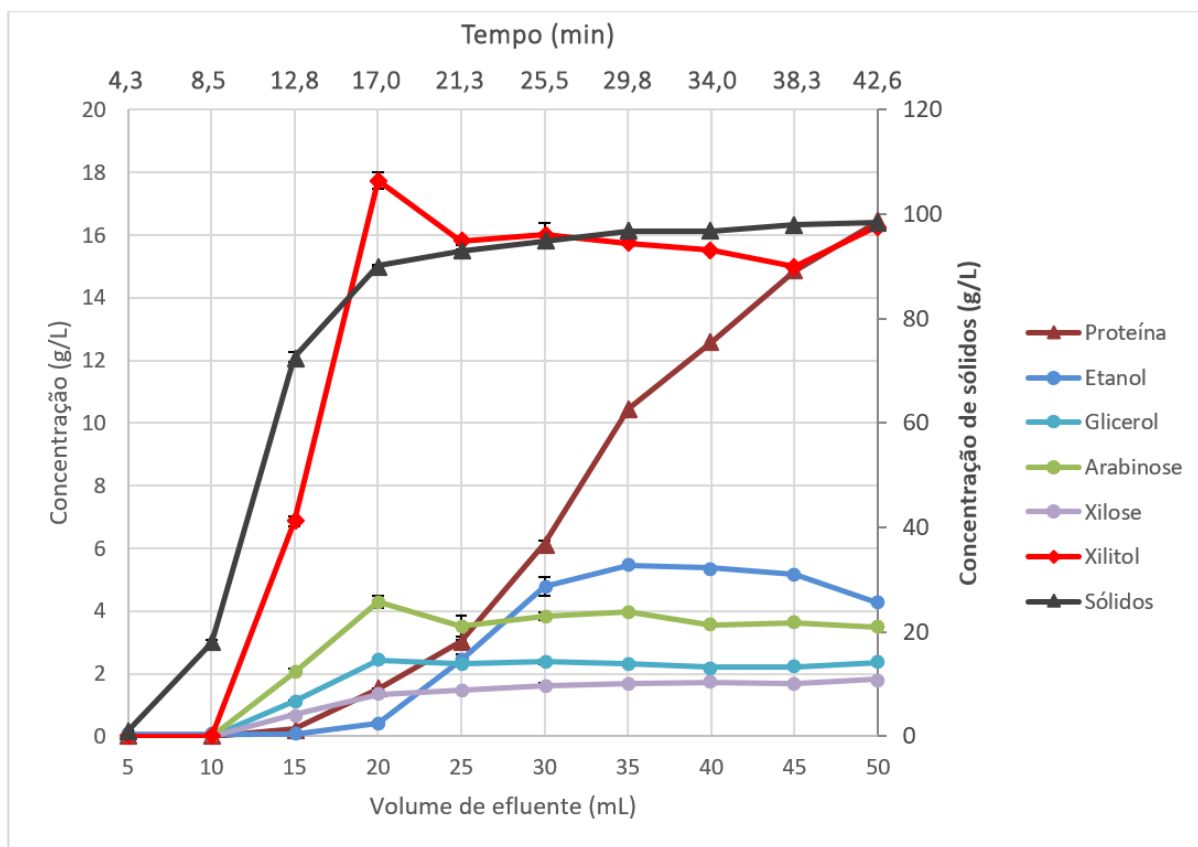


Figura 29. Separação de xilitol e contaminantes com alimentação contínua de CH (degrau) em triplicata. No eixo vertical primário, concentração (g/L) de xilitol, xilose, arabinose, glicerol, etanol e proteínas totais. No eixo vertical secundário, concentração (g/L) de sólidos totais.

Os compostos xilose, arabinose e glicerol se encontram em baixas concentrações, como pode ser observado na Figura 29, e por isso seus *breakpoints* não são adequados para avaliar quando o processo deve ser interrompido. No processo o xilitol exhibe principalmente separação das proteínas, compostos coloridos e etanol, e por isso o *breakpoint* de um desses compostos deve ser selecionado como ponto de interrupção do processo.

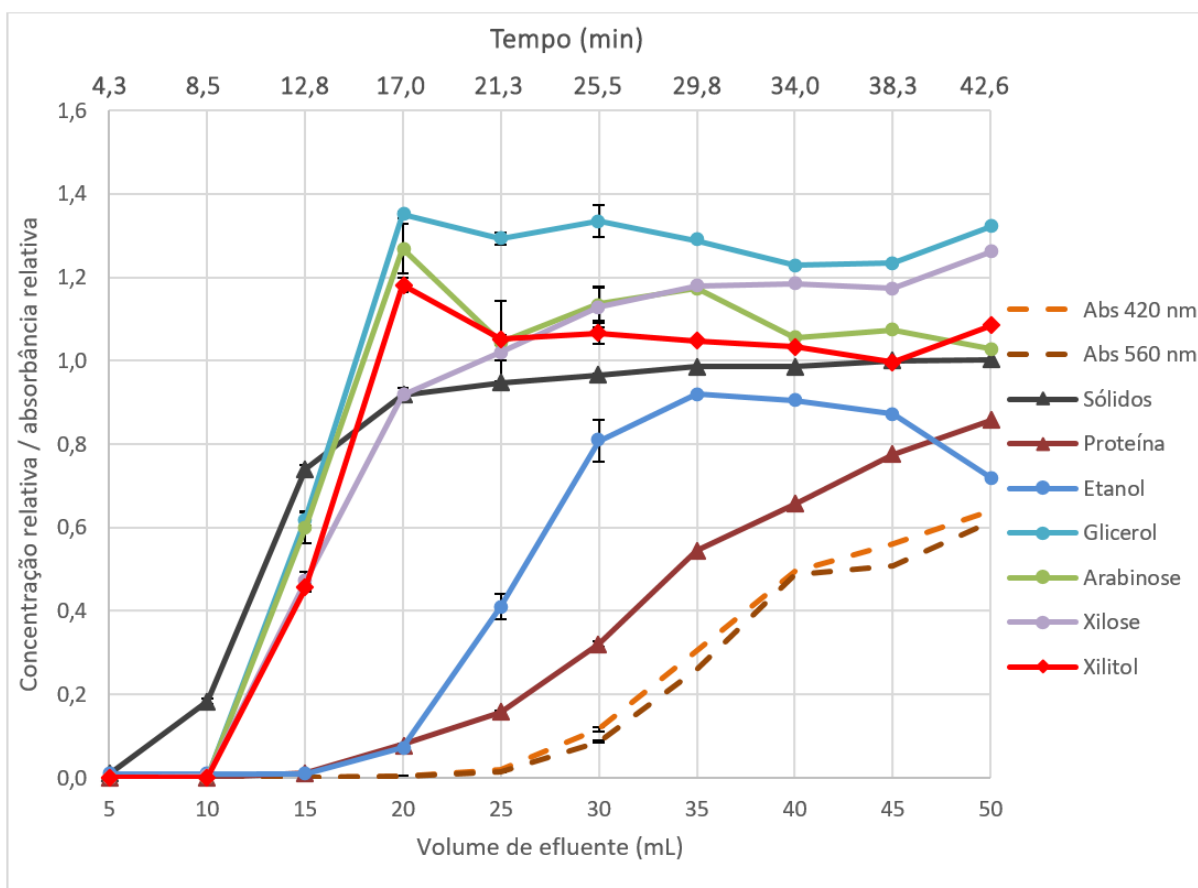


Figura 30. Separação de xilitol e contaminantes com alimentação contínua de CH (degrau) em triplicata. Concentração relativa refere-se à razão entre a concentração na fração coletada após a purificação e a concentração na amostra inicial. A absorbância relativa refere-se à razão entre a absorbância na fração coletada após a purificação e a absorbância na amostra inicial.

O *breakpoint* das proteínas foi selecionado como melhor opção para interrupção do processo. Em relação aos compostos coloridos, o *breakpoint* das proteínas ocorre antes, portanto a concentração dos compostos coloridos permanece abaixo de 10% do valor inicial no produto. Com relação ao etanol, a consequência dessa decisão é que a concentração de etanol no produto será maior que 10% do valor inicial (5,9 g/L), porém isso pode apresentar vantagens na etapa subsequente de purificação, a cristalização. Conforme apontado por RIVAS et al. (2006), a presença de etanol aumenta o rendimento da cristalização. Isso se dá pois o xilitol é pouco solúvel em etanol, e o etanol diminui a viscosidade do meio, o que facilita a cristalização.

O processo deve ser interrompido, então, aos 16 min, no momento em que as proteínas atingem 10% de sua concentração inicial. Uma vez que o fim da

quarta fração no experimento é suficientemente próxima à esse valor (17 min), esse será o ponto de interrupção utilizado para os cálculos apresentados na Tabela 20. Além disso, as duas primeiras frações não apresentam xilitol, portanto podem ser descartadas. Dessa maneira, é considerado como produto do processo de purificação o efluente obtido entre 8,5 min e 17 min de processo, ou entre 10 e 20 mL de efluente.

m_{xilitol}	123,0 ± 1,2	mg
m_{proteína}	8,7 ± 0,1	mg
m_{sólidos}	813,5 ± 9,2	mg
m_{adsorvente}	3,69 ± 0,04	g
CR_{xilitol}	31,1 ± 0,7	%
CR_{proteína}	96,2 ± 0,1	%
CR_{sólidos}	30,2 ± 0,8	%
CR₄₂₀	99,8 ± 0,1	%
CR₅₆₀	99,7 ± 0,1	%
CR_{etanol}	96,6 ± 1,0	%
FP_{proteína}	18,0	
FP_{sólidos}	0,99	
FP_{etanol}	20,4	
tempo	17,0	min
Prodv	36,8	g/L.h

Tabela 20. Resultados obtidos do experimento com alimentação contínua de CH entre 8,5 e 17 minutos de processo. m_{xilitol}: massa de xilitol; m_{proteína}: massa de proteínas; m_{sólidos}: massa de sólidos totais; m_{adsorvente}: massa de carbono ativado na coluna; CR_{xilitol}: coeficiente de retenção de xilitol; CR_{proteína}: coeficiente de retenção de proteínas; CR_{sólidos}: coeficiente de retenção de sólidos; CR₄₂₀: redução da absorbância lida a 420 nm; CR₅₆₀: redução da absorbância lida a 560 nm; CR_{etanol}: coeficiente de retenção de etanol; FP_{proteína}: fator de purificação de proteínas; FP_{sólidos}: fator de purificação de sólidos; FP_{etanol}: fator de purificação de etanol; tempo: tempo de operação da purificação; Prodv: produtividade volumétrica.

O processo é capaz de separar o xilitol efetivamente das proteínas, compostos coloridos e etanol presentes no caldo fermentado, apresentando fator de purificação de 18 para as proteínas, retenção de 99,8 e 99,7% dos compostos com absorbância à 420 e 560 nm, respectivamente, e fator de purificação de 20,4 para o etanol. O processo não é eficiente para reduzir o teor de sólidos totais do caldo com relação ao xilitol, apresentando fator de purificação de 0,99 para os sólidos totais. Também não há separação entre xilitol e xilose, arabinose e glicerol. Houve retenção de 31,1% do xilitol alimentado no sistema, porém esse xilitol não seria

descartado em um processamento completo. Após a primeira fase, de alimentação com CH, deve haver uma fase de dessorção, na qual é alimentada uma fase móvel que promove a remoção dos compostos adsorvidos ao carbono ativado de maneira seletiva, sendo possível então a recuperação do xilitol retido no adsorvente. Essa seletividade pode ser obtida por meio de diferentes técnicas como, por exemplo, uso de gradientes.

6. CONCLUSÕES

O método de purificação de xilitol obtido a partir de hidrolisado e fermentado de bagaço de cana-de-açúcar utilizando carbono ativado em leito fixo, nas condições testadas, foi efetivo em remover os contaminantes majoritários proteínas, compostos coloridos e etanol. O mesmo não é efetivo para separação de xilose, arabinose e glicerol, porém esses contaminantes encontram-se em concentrações baixas no caldo de fermentação.

Foram selecionadas condições de temperatura, velocidade superficial e volume de injeção objetivando diminuir a retenção de xilitol no adsorvente e aumentar a produtividade do processo. As condições selecionadas podem ser consideradas as melhores em atingir esses objetivos dentro dos limites testados, além de apresentarem resultados satisfatórios em relação à separação de proteínas, compostos coloridos e etanol.

É necessária, ainda, pesquisa e desenvolvimento de processo de dessorção complementar ao método apresentado, de modo a retirar os compostos que permanecem adsorvidos ao carbono ativado, separando-os seletivamente para serem aproveitados para outros fins, e possibilitando a reutilização do adsorvente. O etanol, em concentrações entre 10 e 20% em água destilada, foi identificado como agente que promove dessorção dos compostos analisados nesse estudo. Portanto, sugere-se a utilização de etanol para o estudo da etapa de dessorção.

É necessário também testar a cristalização do xilitol obtido através do método de purificação apresentado, uma vez que sua comercialização é na forma de cristais.

7. LISTA DE PUBLICAÇÕES

Artigo completo em periódico

CARDOSO, B. S.; FORTE, M. B. S. Purification of biotechnological xylitol from *Candida tropicalis* fermentation using activated carbon in continuous fixed-bed adsorption columns. Food and Bioproducts Processing. Status: Submetido.

Patente

FORTE, M. B. S.; CARDOSO, B. S.; ALVES, Y. P. C. PROCESSO CONTÍNUO DE PURIFICAÇÃO DE XILITOL BIOTECNOLÓGICO, 2020. Categoria: Processo. Instituição onde foi depositada: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. País: Brasil. Natureza: Patente de Invenção. Número do registro: BR10202001326. Data de depósito: 28/06/2020. Depositante/Titular: Raquel Moutinho Barbosa. Depositante/Titular: Universidade Estadual de Campinas.

Trabalhos completos publicados em Anais de Congresso

CARDOSO, B. S.; FORTE, M. B. S. Purification of biotechnological xylitol using activated carbon in adsorption columns. Em: XXII Simpósio Nacional de Bioprocessos e XIII Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassas (SINAFERM / SHEB 2019), Uberlândia, MG.

CARDOSO, B. S.; COSTA, F. A. A.; FORTE, M. B. S. Purification of xylitol from fermentation broth of *candida tropicalis* by continuous fixed bed adsorption. Em: XXIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química (COBEQ 2020), Gramado, RS.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHAW, O-W.; AFRANE, G. The evolution of pore structure of coconut shells during the preparation of cocnut shell-based activated carbons. Microporous and Mesoporous Materials, 2008, 112, pp. 284 – 290.

AHMAD, A. A.; HAMEED, B. H. Fixed-bed adsorption of reactive azo dye onto granular activated carbon prepared from waste. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 175, n. 1–3, p. 298–303, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.003>

ALBUQUERQUE, Tiago Lima *et al.* Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: A review. **Process Biochemistry**, [S. l.], v. 49, n. 11, p. 1779–1789, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.07.010>

ALI, Umi Fazara Md *et al.* Optimization study on preparation of amine functionalized sea mango (*cerbera odollam*) activated carbon for Carbon Dioxide (CO₂) adsorption. **Combustion Science and Technology**, [S. l.], v. 190, n. 7, p. 1259–1282, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00102202.2018.1448393>

ALVES, Yara Pereira Cerceau. Produção e purificação de xilitol a partir de bagaço de cana-de-açúcar utilizando nanofiltração. **Dissertação - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas**, [S. l.], 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

ANTUNES, Felipe A. F. *et al.* Sugarcane Biofuels. **Sugarcane Biofuels**, [S. l.], 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-18597-8>

ARRUDA, Priscila Vaz. **Avaliação do processo biotecnológico de obtenção de xilitol em diferentes escalas a partir do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar**. 2011. - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, [s. l.], 2011.

ARTIOLI, Y. The Chemistry of Adsorption. **Ecological Processes**, [S. l.], p. 60–65, 2008.

AZARPAZHOOH, Amir; LAWRENCE, Herenia P.; SHAH, Prakeshkumar S. Xylitol for preventing acute otitis media in children up to 12 years of age. **The Cochrane database of systematic reviews**, [S. l.], n. 8, p. CD007095, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007095.pub3>

BANSAL, Roop Chand; GOYAL, Meenakshi. Activated Carbon Adsorption. Boca Raton, CRC Press, 2005

BEMILLER, James N. Carbohydrate and Noncarbohydrate Sweeteners. **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists**, [S. l.], p. 371–399, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812069-9.00019-4>

BOND, Michael; DUNNING, Nicholas. Xylitol. *In*: MITCHELL, Helen (org.). **Sweeteners and sugar alternatives in food technology**. 2nd. ed. [S. l.]: Blackwell Publishing Ltd, 2006. p. 295–326. *E-book*.

BOTTANI, Eduardo J.; TASCÓN, Juan M.D. **Adsorption by Carbons**. 1st edition. Elsevier, 2008.

CANILHA, Larissa *et al.* Xylitol production from wheat straw hemicellulosic hydrolysate: Hydrolysate detoxification and carbon source used for inoculum preparation. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 39, n. 2, p. 333–336, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822008000200025>

CHANDEL, Anuj K.; DA SILVA, Silvio Silvério; SINGH, Om V. Detoxification of Lignocellulose Hydrolysates: Biochemical and Metabolic Engineering Toward White Biotechnology. **Bioenergy Research**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 388–401, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12155-012-9241-z>

CHEN, James C. P.; CHOU, Chung Chi. Cane Sugar Handbook: A Manual for Cane Sugar Manufacturers and Their Chemists, 12th Edition. Wiley, 1993.

CHEN, Xi *et al.* Microbial and bioconversion production of D-xylitol and its detection and application. **International Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 6, n. 7, p. 834–844, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.7150/ijbs.6.834>

CLAUSER, Nicolás M. *et al.* Small-sized biorefineries as strategy to add value to sugarcane bagasse. **Chemical Engineering Research and Design**, [S. l.], v. 107, p. 137–146, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2015.10.050>

CONAB. Perfil do Setor do Açúcar e do Etanol no Brasil - Edição para a safra 2015/16. Brasília, 2019.

CRAWFORD, Christopher Blair; QUINN, Brian. The interactions of microplastics and chemical pollutants. In: CRAWFORD, Christopher Blair; QUINN, Brian (Eds.). *Microplastic Pollutants*, Elsevier, 2017. p. 131-157.

DASGUPTA, Diptarka *et al.* Challenges and prospects of xylitol production with whole cell bio-catalysis: A review. **Microbiological Research**, [S. l.], v. 197, p. 9–21, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.12.012>

DELGADO ARCAÑO, Yaimé *et al.* Xylitol: A review on the progress and challenges of its production by chemical route. **Catalysis Today**, [S. l.], n. July, p. 0–1, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2018.07.060>

ERDOĞAN, Baki; DEMIRCI, Şahinde.; AKAY, Yener. Treatment of sugar beet juice with bentonite, sepiolite, diatomite and quartamin to remove color and turbidity. **Applied Clay Science**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 55–67, 1996. Disponível em:

[https://doi.org/10.1016/0169-1317\(96\)00012-9](https://doi.org/10.1016/0169-1317(96)00012-9)

ESCUDERO, Carlos; POCH, Jordi; VILLAESCUSA, Isabel. Modelling of breakthrough curves of single and binary mixtures of Cu(II), Cd(II), Ni(II) and Pb(II) sorption onto grape stalks waste. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 217, n. November, p. 129–138, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.11.096>

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT: Sugar cane - Crops (Production). Disponível em <http://www.fao.org/faostat/en/#search/sugar%20cane>. Acesso em 26/11/2019.

FELIPE HERNÁNDEZ-PÉREZ, Andrés *et al.* Xylitol bioproduction: state-of-the-art, industrial paradigm shift, and opportunities for integrated biorefineries. **Critical Reviews in Biotechnology**, [S. l.], v. 39, n. 7, p. 924–943, 2019 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1640658>

FELIPE HERNÁNDEZ-PÉREZ, Andrés *et al.* Xylitol bioproduction: state-of-the-art, industrial paradigm shift, and opportunities for integrated biorefineries. **Critical Reviews in Biotechnology**, [S. l.], v. 39, n. 7, p. 924–943, 2019 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1640658>

FORTE, Marcus Bruno Soares. Estudo da adsorção de ácido clavulânico em hidróxidos duplos lamelares: cinética, equilíbrio e modelagem matemática. [S. l.], 2013.

GARCÍA MARTÍN, Juan F.; SÁNCHEZ, Sebastián; CUEVAS, Manuel. Evaluation of the effect of the dilute acid hydrolysis on sugars release from olive prunings. **Renewable Energy**, [S. l.], v. 51, p. 382–387, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2012.10.002>

GÍRIO, Francisco M.; CARVALHEIRO, Florbela; DUARTE, Luís C.; BOGEL-ŁUKASIK, Rafał. Deconstruction of the Hemicellulose Fraction from Lignocellulosic Materials into Simple Sugars. In: SILVA, S. S.; CHANDEL, A. K. (Eds.). *D-Xylitol: Fermentative Production, Application and Commercialization*. Second ed. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2012. p. 3–37.

GLOBAL MARKET INSIGHTS. Xylitol Market Size By Application, Downstream Application Potential, Industry Analysis Report, Regional Outlook, Production Technology, Price Trend, Competitive Market Share & Forecast 2019–2025. Sample report, 2019.

GRAND VIEW RESEARCH. Xylitol Market: market estimates & trend analysis by application. Sample report, 2017.

GRANSTRÖM, Tom Birger; IZUMORI, Ken; LEISOLA, Matti. A rare sugar xylitol. Part I: The biochemistry and biosynthesis of xylitol. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 74, p. 277–281, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0761-3>

GURGEL, P. V. *et al.* Xylitol recovery from fermented sugarcane bagasse hydrolyzate. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 52, n. 3, p. 219–223, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(95\)00025-A](https://doi.org/10.1016/0960-8524(95)00025-A)

HERNÁNDEZ-PÉREZ, Andrés Felipe; DE ARRUDA, Priscila Vaz; FELIPE, Maria das Graças de Almeida. Sugarcane straw as a feedstock for xylitol production by *Candida guilliermondii* FTI 20037. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 47, n. 2, p. 489–496, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.019>

HOU-RUI, Z. Key Drivers Influencing the Large Scale Production of Xylitol. In: SILVA, S. S.; CHANDEL, A. K. (Eds.). *D-Xylitol: Fermentative Production, Application and Commercialization*. Second ed. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2012. p. 267–289.

INDUSTRY EXPERTS. Xylitol – A Global Market Overview, 2017. Disponível em: <http://industry-experts.com/verticals/food-and-beverage/xylitol-a-global-market-overview>. Acesso em 26/11/2019.

KOPPER, Randall A. *et al.* Adsorption of peanut (*Arachis hypogaea*, Leguminosae) proteins by activated charcoal. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 56, n. 22, p. 10619–10624, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf801731n>

KWAK, Suryang; JIN, Yong Su. Production of fuels and chemicals from xylose by engineered *Saccharomyces cerevisiae*: A review and perspective. **Microbial Cell Factories**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 1–15, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0694-9>

LIVESEY, Geoffrey. Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties. **Nutrition Research Reviews**, [S. l.], v. 16, p. 163–191, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/NRR200371>

MARTÍNEZ, Ernesto A. *et al.* **Strategies for xylitol purification and Crystallization: A review**. [S. l.]: Taylor & Francis, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01496395.2015.1009115>

MARTÍNEZ, Ernesto Acosta. **Estudo do processo de cristalização de xilitol obtido por via fermentativa**. 2005. - Faculdade de Engenharia Química de Lorena, [s. l.], 2005.

MARTÍNEZ, Ernesto Acosta; SANTOS, Juliana Aparecida Frade. Influence of the use of rice bran extract as a source of nutrients on xylitol production. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S. l.], v. 32, n. 2, p. 308–313, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000036>

MARTON, J. M. *et al.* Evaluation of the activated charcoals and adsorption conditions used in the treatment of sugarcane bagasse hydrolysate for xylitol production. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 9–21, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0104-66322006000100002>

MISRA, Swati *et al.* Comparative study on different strategies involved for xylitol purification from culture media fermented by *Candida tropicalis*. **Separation and Purification Technology**, [S. l.], v. 78, n. 3, p. 266–273, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.02.018>

MONEDERO, Vicente; PÉREZ-MARTÍNEZ, Gaspar; YEBRA, María J. Perspectives of engineering lactic acid bacteria for biotechnological polyol production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 86, n. 4, p. 1003–1015, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2494-6>

MORAES, Elisângela de Jesus Cândido *et al.* Xylitol-Sweetener Production from Barley Straw: Optimization of Acid Hydrolysis Condition with the Energy Consumption Simulation. **Waste and Biomass Valorization**, [S. l.], v. 0, n. 0, p. 0, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0501-9>

MPABANGA, Tandiwe P.; CHANDEL, Anuj K.; SILVA, Silvio Silvério da; SINGH, Om V. Detoxification Strategies Applied to Lignocellulosic Hydrolysates for Improved Xylitol Production. In: SILVA, S. S.; CHANDEL, A. K. (Eds.). *D-Xylitol: Fermentative Production, Application and Commercialization*. Second ed. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2012. p. 63–82.

MUSSATTO, Solange I.; DRAGONE, Giuliano; ROBERTO, C. Kinetic Behavior of *Candida guilliermondii* Yeast during Xylitol Production from Brewer ' s Spent Grain Hemicellulosic Hydrolysate. [S. l.], v. 8, p. 1352–1356, 2005.

MUSSATTO, Solange Inês. Application of Xylitol in Food Formulations and Benefits for Health. In: DA SILVA, Silvio Silvério; CHANDEL, Anuj Kumar (org.). **D-Xylitol: Fermentative Production, Application and Commercialization**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012. p. 309–323. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-642-31887-0_14

NASCIMENTO, Ronaldo Ferreira do *et al.* **Adsorção: Aspectos teóricos e aplicações ambientais**. 1ª ed. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4340.1041>

PATEL, Himanshu. Fixed-bed column adsorption study: a comprehensive review. **Applied Water Science**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 1–17, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13201-019-0927-7>

PONEC, Vladimir; KNOR, Slatko; CERNY, Slavoj. **Adsorption on solids**. London: Butterworths, 1974. 693p., il.

RAFIQUL, I. S. M.; SAKINAH, A. M. Mimi. Processes for the Production of Xylitol — A Review. **Food Reviews International**, [S. l.], v. 29, n. 2, p. 127–156, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/87559129.2012.714434>

RAO, Linga Venkateswar *et al.* Bioconversion of lignocellulosic biomass to xylitol: An overview. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 213, p. 299–310, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.092>

RAVELLA, S. R.; GALLAGHER J.; FISH S.; PRAKASHAM R. S. Overview on Commercial Production of Xylitol, Economic Analysis and Market Trends. In: SILVA, S. S.; CHANDEL, A. K. (Eds.). *D-Xylitol: Fermentative Production, Application and Commercialization*. Second ed. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2012. p. 291–306.

RICHARDSON, John Francis; PEACOCK, Donald George. *Chemical Engineering, Volume 3: Chemical and Biochemical Reactors and Process Control*. Third edition. Butterworth-Heinemann, 1994.

RITTER, A. V. *et al.* Tooth-surface-specific Effects of Xylitol: Randomized Trial Results. **Journal of Dental Research**, [S. l.], v. 92, n. 6, p. 512–517, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034513487211>

RIVAS, Beatriz *et al.* Purification of xylitol obtained by fermentation of corncob hydrolysates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 54, n. 12, p. 4430–4435, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf053156x>

RODRIGUES, R. C. L. B. *et al.* Enhanced xylitol production by precultivation of *Candida guilliermondii* cells in sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate. **Current Microbiology**, [S. l.], v. 53, n. 1, p. 53–59, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-005-0242-4>

RUTHVEN, Douglas M. Principles of adsorption and adsorption processes. University of New Brunswick, Fredericton, 1984.

SAMPAIO, Fábio Coelho *et al.* Xylitol crystallization from culture media fermented by yeasts. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, [S. l.], v. 45, n. 12, p. 1041–1046, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2006.03.012>

SANTOS, HILTON TÚLIO LIMA DOS. Avaliação da produção de xilitol a partir da palha de arroz empregando leveduras termotolerantes. [S. l.], v. 151, p. 10–17, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1145/3132847.3132886>

SHELLER, Henrik Vibe; ULVSKOV, Peter. Hemicelluloses. **Annual Review of Plant Biology**, [S. l.], v. 61, n. 1, p. 263–289, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112315>

SCHMAL, Martin. **Cinética e Reatores - Aplicação na Engenharia Química**. 1^a ed. Rio de Janeiro: Synergia Editora, 2010. *E-book*.

SENE, L. *et al.* Evaluation of sorghum straw hemicellulosic hydrolysate for biotechnological production of xylitol by *Candida guilliermondii*. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 42, n. 3, p. 1141–1146, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2009.06.196>

SHENG, Liping *et al.* Mesoporous/microporous silica materials: Preparation from natural sands and highly efficient fixed-bed adsorption of methylene blue in wastewater. **Microporous and Mesoporous Materials**, [S. l.], v. 257, p. 9–18, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2017.08.023>

SILVA, Débora D. V. *et al.* Production and purification of xylitol by *Scheffersomyces amazonenses* via sugarcane hemicellulosic hydrolysate. **Biofuels, Bioprod. Bioref**, [S. l.], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bbb.2085>

SING, K. S. W. Reporting physisorption data for gas/solid systems. **Pure and Applied Chemistry**, [S. l.], v. 54, n. 11, p. 2201–2218, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1351/pac198254112201>

TOMOTANI, Ester Junko *et al.* Obtaining partial purified xylose reductase from *Candida guilliermondii*. **Brazilian journal of microbiology: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, [S. l.], v. 40, n. 3, p. 631–635, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-838220090003000027>

WEI, Jinchao *et al.* Purification and crystallization of xylitol from fermentation

broth of corncob hydrolysates. **Frontiers of Chemical Engineering in China**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 57–64, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11705-009-0295-1>

YI, Guangshun; ZHANG, Yugen. One-pot selective conversion of hemicellulose (Xylan) to xylitol under mild conditions. **ChemSusChem**, [S. l.], v. 5, n. 8, p. 1383–1387, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cssc.201200290>