

Avaliação da casca de aveia para produção biotecnológica de xilitol

Carolina Tamanini¹, Antonio Sergio de Oliveira¹, Maria das Graças de Almeida Felipe², Eliana Vieira Canettieri³, Elisângela de Jesus Cândido² e Maria Celia de Oliveira Haully^{1*}

¹Departamento de Bioquímica e Biotecnologia, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Caixa Postal 6001, 86051-970, Londrina, Paraná, Brasil. ²Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Engenharia Química de Lorena (FAENQUIL), Caixa Postal 116, 12600-970, Lorena, São Paulo, Brasil. ³Departamento de Energia, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá (FEG/UNESP), 12516-410, Guaratinguetá, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência, e-mail: mcoh@uel.br

RESUMO. A aveia, cereal rico em fibras, cultivada principalmente no Sul do Brasil libera 25-30% do peso do grão como casca, quando processada industrialmente para fins alimentícios, causando impacto ambiental negativo. Este resíduo pode ser utilizado como matéria prima para obtenção de xilitol, um açúcar álcool com poder adoçante comparável à sacarose, anticariogênico e permitido para diabéticos e obesos. Este poliol é produzido comercialmente por catálise química da xilose obtida de resíduos lignocelulósicos. Porém a bioconversão por leveduras representa uma alternativa a este processo. O presente trabalho teve como objetivos determinar a composição química da casca de aveia e utilizar o hidrolisado ácido deste resíduo para produção de xilitol, por fermentação descontínua, empregando *Candida guilliermondii*. Análises químicas demonstraram que a casca de aveia é composta de celulose (29,26%), hemicelulose (28,35%) e lignina (22,22%), entre outros. A fermentação teve rendimento e produtividade volumétrica de xilitol de 0,54 g/g e 0,34 g/L.h, respectivamente.

Palavras-chave: resíduos lignocelulósicos, casca de aveia, xilose, xilitol, *Candida guilliermondii*.

ABSTRACT. Evaluation of oat hull for biotechnological production of xylitol.

Oat, cereal rich in fiber, cultivated mainly in the South of Brazil, gives rise to 25-30% of its weight as oat hulls when it is processed for nourishing purposes, causing negative ambiental impact. Therefore, this residue can be used as raw material for obtaining products such as xylitol, a sugar-alcohol with sweetness similar to sucrose, anticariogenic, substitute for sugars in diabetic and obese people's diet. This polyol is currently produced by chemical catalysis of the xylose obtained from lignocellulosic residue. However, the bioconversion by yeasts is an alternative for this process. This work aims to determine the chemical composition of the oat hulls and to use the acid hydrolysate from this residue for the xylitol production by batch fermentation employing *Candida guilliermondii*. Chemical analysis showed that oat hulls are composed by cellulose (29.26%), hemicellulose (28.35%) and lignin (22.22%), among others. The batch fermentation resulted in xylitol yield and volumetric productivity of 0.54 g/g and 0.34 g/L.h, respectively.

Key words: lignocellulosic residue, oat hull, xylose, xylitol, *Candida guilliermondii*.

Introdução

A aveia, cereal membro do gênero *Avena* e da família Gramíneae teve seu cultivo iniciado recentemente, se comparado a outros cereais como o trigo. Foi primeiramente cultivada no Norte da Europa, em função do aumento do uso de cavalos como animais de trabalho, provavelmente dois mil anos antes de Cristo (Ceres, 2003).

Existem múltiplas possibilidades de utilização da aveia como produção de grãos (alimentação humana e animal), forragem (pastejo, feno, silagem ou cortada e fornecida fresca no cocho), cobertura do solo e adubação verde (proteção e melhoria das condições físicas do solo), além de inibir as infestações de plantas invasoras (efeito alelopático) (Sá, 1995).

A produção mundial de aveia em 2004 foi de, aproximadamente, 27 milhões de toneladas (Faostat, 2004). Os maiores produtores são

Rússia, Estados Unidos, Canadá, Alemanha, Polônia, Finlândia e Austrália (Ceres, 2003). A maior parte da produção, aproximadamente 75%, é representada por *Avena sativa* (aveia branca) (Webster, 1996).

No Brasil, a aveia é cultivada nos estados do Paraná, do Rio Grande do Sul, de Santa Catarina e do Mato Grosso do Sul. A produção brasileira em 2003 foi de 435 mil toneladas, sendo que o Paraná se destacou como maior produtor, colhendo 320 mil toneladas desse cereal (IBGE, 2003).

A casca da aveia é um subproduto da moagem do grão (Deshpand *et al.*, 1991) e representa 25 a 30% do peso do mesmo (Webster, 1996). Sua função é a proteção do grão contra fatores do ambiente e ataque de patógenos (Kurek *et al.*, 2002). A casca da aveia tem sido descartada durante o processamento do grão, tornando-se um poluente ao meio ambiente (Stephen *et al.*, 1997).

As pentosanas presentes na casca podem ser utilizadas na produção comercial de furfural, (Deshpand *et al.*, 1991) e também na produção de pães, de biscoitos e de massas alimentícias (Galdeano, 2001).

O xilitol ($C_5H_{12}O_5$), álcool pentahidroxilado (pentiol) de xilose e massa molar 152,15 g/mol, é um produto intermediário do metabolismo de carboidratos no homem e em animais (Manz *et al.*, 1973). Esse açúcar-álcool tem sido empregado na formulação de vários produtos alimentícios e de higiene oral em função de suas peculiaridades como não participação de reações do tipo Maillard, anticariogenicidade (Emodi, 1978), além de ter metabolismo independente da insulina (Yilikahri, 1979). Foi relatado o emprego desse para a prevenção de osteoporose (Mattila *et al.*, 1998) e tratamento de otite aguda (Taipainen *et al.*, 2002).

Esse poliálcool é produzido em larga escala por hidrogenação catalítica de soluções ricas em xilose provenientes da hidrólise ácida de materiais lignocelulósicos ricos em xilana. São necessárias sucessivas etapas de cromatografia de troca iônica para obtenção de uma solução de xilose de alta pureza. Essa solução sofre redução catalítica em xilitol, utilizando níquel como catalisador. O xilitol passa, então, por processo de cristalização, que requer várias etapas de purificação para remoção de resíduos tóxicos do catalisador e de subprodutos que podem ser formados durante a hidrogenação (Melaja e Hämäläinen, 1977). A etapa inicial de purificação do hidrolisado consiste em um processo químico que permite a recuperação de somente 50% a 60% da xilose

(Nigam e Singh, 1995), além de perdas na etapa de remoção de resíduos do catalisador para purificação do produto final (Parajó *et al.*, 1998).

A via biotecnológica apresenta-se como alternativa à via química de obtenção de xilitol em função do alto custo do processo químico e da capacidade de microrganismos fermentarem a xilose presente nos hidrolisados (Parajó *et al.*, 1998). Dentre os microrganismos, as leveduras têm-se destacado para a produção de xilitol principalmente *Candida guilliermondii* (Felipe *et al.*, 1997 a e b; Marton, 2002; Rodrigues *et al.*, 2003).

O metabolismo de xilose em leveduras inicia-se com o seu transporte através da membrana celular por diferentes mecanismos (Winkelhausen e Kuzmanova, 1998) e, uma vez no interior das células, é reduzida em xilitol através da enzima xilose redutase, que requer como cofator o NADPH, seguida da oxidação à xilulose pela enzima xilitol desidrogenase, que requer como cofator o NAD^+ . A xilulose é fosforilada à xilulose-5-fosfato que pode ser convertida em piruvato através da conexão da via das fosfopentoses com a via Embden-Meyerhof-Parnas (Hahn-Hägerdal *et al.*, 1994).

A xilose utilizada na produção biotecnológica de xilitol é proveniente de hidrolisados hemicelulósicos obtidos de resíduos agroindustriais tais como bagaço de cana-de-açúcar (Dominguez *et al.*, 1996; Felipe *et al.*, 1997a e b; Alves *et al.*, 1998; Verde, 2001; Marton, 2002; Rodrigues *et al.*, 2003), cavacos de eucalipto (Parajó *et al.*, 1998; Canettieri *et al.*, 2003), palha de arroz (Mussatto e Roberto 2002) e palha de trigo (Canilha, 2001).

O objetivo do presente trabalho foi determinar a composição química da casca de aveia, compará-la a outras fontes de biomassa vegetal, obter hidrolisado hemicelulósico para a produção de xilitol por fermentação descontínua empregando a levedura *Candida guilliermondii* e determinar os parâmetros fermentativos desse processo.

Material e métodos

Matéria-prima. A casca de aveia branca (*Avena sativa*) cultivar IAC 7 foi fornecida pela Indústria SL Alimentos Ltda de Mauá da Serra – PR. Os resíduos foram homogeneizados e armazenados em sacos de 10 kg.

Determinação do teor de umidade. O teor de umidade da casca de aveia foi determinado em balança MB 200, por exposição do material à radiação infravermelha, à temperatura de 105°C durante 30 minutos.

Determinação da composição química da casca de aveia. A análise dos teores dos componentes da casca de aveia foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Dunning e Dallas (1949), adaptada por Cândido *et al.* (2002), que se fundamenta na sacarificação quantitativa dos polissacarídeos de diferentes matérias-primas vegetais. Amostras de 2 g de casca de aveia moída (Moinho Manesco e Ranieri Ltda, tipo MR 340, Piracicaba, Estado de São Paulo) e passada por peneira de 20 mesh (0,84 mm) foram acondicionadas em envelopes de papel de filtro e submetidas à extração com etanol 95%, em Soxhlet durante 6 horas. Após secagem das mesmas, primeiramente ao ar para evaporação do solvente e, em seguida, em estufa a 105°C até obtenção de peso constante, a quantidade de extrativos, foi determinada com base no peso seco. Em um béquer contendo 1 g do material moído e isento de extrativos foram adicionados 10 mL de H₂SO₄ (72% m/v) e a mistura foi agitada continuamente por 7 minutos, sendo mantida em banho termostático a 45°C. Nessa etapa, denominada hidrólise principal, ocorre o rompimento das fibras de celulose em oligômeros.

Completado o tempo da hidrólise, a reação foi interrompida com adição de 275 mL de água destilada e o conteúdo do béquer foi transferido para um frasco Erlenmeyer de 500 mL. A suspensão foi autoclavada a 121°C por 30 minutos. Ocorre, nessa etapa, o que se denomina pós-hidrólise, sendo os oligômeros transformados em monômeros. Após resfriamento, a suspensão foi filtrada em papel de filtro quantitativo, previamente seco a 105°C, e transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 250 mL. O volume foi completado com água destilada e submetido à análise de açúcares (celobiose, glicose, xilose e arabinose), ácido glucurônico e acético.

Determinação do teor de lignina. Os sólidos retidos no papel de filtro foram lavados com água destilada até completa neutralização e submetido à secagem a 105°C, até obtenção de peso constante.

Determinação da concentração de açúcares, ácido acético, glucurônico, xilitol, etanol e glicerol. As concentrações dos açúcares glicose, xilose, arabinose, celobiose bem como as dos ácidos glucurônico e acético e de xilitol, etanol e glicerol foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (Waters 786), nas seguintes condições: coluna BIO RAD Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm); temperatura da coluna, 45°C; detector de índice de refração

WATERS 410; eluente H₂SO₄ 0,01 N, fluxo de 0,6 mL/min.; volume da amostra injetada, 20 µL. As amostras provenientes do balão de 250 mL, após devidamente diluídas, foram filtradas em filtro Sep Pak C18 (MILLIPORE). O eluente foi filtrado a vácuo em membrana HAWP 0,45 µm de poro, 47 mm de diâmetro (MILLIPORE) e simultaneamente desgaseificado em banho de ultra-som (THORTON) por 25 minutos.

Determinação dos teores de celulose, hemicelulose e grupos acetila. As concentrações (g/L) dos componentes foram divididas pela massa do material (em base seca) e multiplicadas pelos fatores de hidrólise para conversão das concentrações em porcentagens de cada componente. Os fatores de hidrólise para conversão de glicose e celobiose em celulose são 0,90 e 0,95, respectivamente. Do mesmo modo, xilose, arabinose e ácido glucurônico foram convertidos em hemicelulose usando fator 0,88 para os açúcares e 1 para o ácido. O ácido acético foi convertido em grupos acetil multiplicando-se sua concentração por 0,72 (Ferraz *et al.*, 2000).

Determinação do teor de cinzas. O teor de cinzas foi determinado pelo método nº 923.03 (AOAC, 1995). A amostra (1g) foi pesada em cadinho de porcelana, previamente padronizado em mufla a 550°C, e colocada na mesma por aproximadamente 3 horas a 800°C. Após esse tempo, o cadinho foi retirado da mufla, transferido para o dessecador e, após resfriamento até temperatura ambiente, foi pesado.

Hidrólise ácida da casca de aveia. A casca de aveia foi hidrolisada em reator de aço inoxidável com capacidade de 1,5 L nas seguintes condições: temperatura 156°C; H₂SO₄ 0,35% (m/v); relação sólido: diluição ácida (1: 4,5) por 27 minutos (Canettieri *et al.*, 2001).

Tratamento do hidrolisado hemicelulósico de casca de aveia. O hidrolisado hemicelulósico foi tratado a partir do ajuste do pH inicial (2,22) para pH 7,0, com CaO comercial seguido do abaixamento para pH 2,5 com H₃PO₄. Em seguida, esse foi submetido à adsorção em carvão ativado (1%) em frascos agitados a 200 rpm, a 60°C, por 30 minutos. A cada etapa de alteração do pH e adsorção em carvão, o hidrolisado foi centrifugado a 2000 rpm por 20 minutos para a remoção do precipitado formado (Marton, 2002). O tratamento ocorreu para a redução da concentração dos compostos tóxicos como ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural, provenientes do procedimento de hidrólise da casca de aveia.

Determinação da concentração de furfural e de hidroximetilfurfural. As concentrações de furfural e hidroximetilfurfural, presentes no hidrolisado utilizado como meio de fermentação, foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (WATERS), nas seguintes condições: coluna Hewlett-Packard RP 18 (200 mm); temperatura da coluna 25°C; detector de ultravioleta UV-2487; utilizando como eluente solução de acetonitrila/água (1:8) com 1% de ácido acético; volume da amostra injetada 20 µL. O hidrolisado foi devidamente diluído e filtrado em filtro Swennex com membrana Minisart 0,22 µm (MILLIPORE). Na composição do eluente, a água bidestilada foi filtrada a vácuo, empregando-se membrana HAWP 0,45 µm (MILLIPORE). Os demais componentes, ácido acético e acetonitrila, foram adicionados à água filtrada nas proporções adequadas. Em seguida, o eluente foi degaseificado em banho de ultra-som (THORNTON) por 15 minutos e deixado em repouso, antes de ser utilizado, em repouso por 10 minutos.

Preparo do inóculo para fermentação. Os experimentos foram conduzidos com a levedura *Candida guilliermondii* FTI 20037, selecionada por Barbosa et al. (1988), para a bioconversão de xilose em xilitol. Foi utilizada uma cultura estoque do Departamento de Biotecnologia da Faenquil mantida em ágar extrato de malte a 4°C. O cultivo da levedura foi realizado em frascos Erlenmeyer de 125 mL contendo 50 mL de meio semi-sintético composto de 30 g/L de xilose, 2 g/L de sulfato de amônio, 0,1 g/L de cloreto de cálcio e 20 g/L de solução de extrato de farelo de arroz. O cultivo foi desenvolvido em incubadora tipo “Shaker” rotatório (New Brunswick, Scientific Co.) com agitação de 200 rpm, a 30°C, por 24 horas. Em seguida, as células foram recuperadas por centrifugação a 2000 x g (Cu-5000 – Damon/IEC Division) e lavadas com água destilada estéril, novamente centrifugadas e, após o descarte do sobrenadante, utilizadas para o preparo de uma suspensão de células a qual foi empregada como inóculo em uma concentração inicial de 1,0 g/L no meio.

Fermentação em batelada para produção de xilitol. O meio de fermentação constituiu-se do hidrolisado hemicelulósico de casca de aveia, autoclavado por 20 minutos a 0,5 atm, suplementado com os mesmos nutrientes empregados no inóculo, exceto D-xilose. As soluções de sulfato de amônio e cloreto de cálcio di-hidratado foram esterilizadas a 121°C por 20

minutos. A solução de extrato de farelo de arroz foi autoclavada a 111°C por 15 minutos e em seguida, centrifugada a 2000 rpm para remoção da fração sólida. As fermentações ocorreram em frascos Erlenmeyer de 125 mL, contendo 50 mL do meio, a 200 rpm e 30°C.

Determinação da concentração celular. As concentrações celulares, para o preparo do inóculo e durante a fermentação, foram determinadas por turbidimetria a 600 nm (BECKMAN DU 640), e a concentração de células (em g/L) foi calculada, com base na curva padrão que correlaciona a absorvância a 600 nm e a massa seca das células obtidas do cultivo por 24 horas em meio sintético.

Determinação do pH. O pH das amostras foi determinado em pH-metro Micronal modelo B 474, o qual executa leituras através de uma sonda apropriada (tipo Pt100) na faixa de -5,0 a +105°C.

Determinação dos parâmetros fermentativos

Fator de conversão de xilose em xilitol (Y_{p/s}). Este fator expressa a produção de xilitol em relação ao consumo de xilose e é calculado pela Equação 1:

$$Y_{p/s} = \frac{\Delta P}{\Delta S} = \frac{P_f - P_i}{S_f - S_i} \quad (\text{Equação 1})$$

onde: S_i e S_f correspondem às concentrações inicial e final de xilose (g/L);

P_i e P_f correspondem às concentrações inicial e final de xilitol (g/L).

Produtividade volumétrica de xilitol (Q_p). Este fator expressa a concentração de xilitol produzida (g/L) em função do tempo (h) e é calculada de acordo com a Equação 2:

$$Q_p = \frac{\Delta P}{\Delta t} = \frac{P_f - P_i}{T_f - T_i} \quad (\text{Equação 2})$$

onde: P_i e P_f correspondem às concentrações inicial e final de xilitol (g/L);

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

Resultados e discussão

Composição química da casca de aveia.

Diferentes resíduos lignocelulósicos têm sido investigados quanto à sua composição química parcial, como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química parcial de alguns resíduos lignocelulósicos.

Resíduo	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Grupos acetila (%)	Cinzas (%)	Referência
Farelo de cevada	23,0	32,7	24,4	1,6	n.d.	Cruz <i>et al.</i> , 2000
Sabugo de milho	31,7	34,7	20,3	3,4	n.d.	Cruz <i>et al.</i> , 2000
Folhas de milho	37,6	34,5	12,6	3,2	n.d.	Cruz <i>et al.</i> , 2000
<i>Eucalyptus globulus</i>	46,3	17,1	22,9	3,6	n.d.	Cruz <i>et al.</i> , 2000
Bagaço de cana	35,0	25,0	23,0	n.d.	n.d.	Rodrigues <i>et al.</i> , 2001
Palha de trigo	33,81	31,83	20,12	n.d.	n.d.	Cândido <i>et al.</i> , 2002
<i>Eucalyptus grandis</i>	40,20	15,67	23,44	2,43	1,41	Canetti <i>et al.</i> , 2002
Palha de arroz	43,5	22	17,2	n.d.	11,4	Mussatto e Roberto, 2002
Palha de sorgo	34	44	20	n.d.	n.d.	Herrera <i>et al.</i> , 2003
Casca de aveia	29,26	28,35	22,22	1,60	4,49	No presente trabalho

n. d. = não disponível

A casca de aveia apresenta teor de celulose de 29,26%, teor inferior aos demais resíduos apresentados na Tabela 1, exceto quanto ao farelo de cevada (23%). A quantidade de hemicelulose (28,35%) é superior à de *Eucalyptus globulus*, bagaço de cana-de-açúcar, *Eucalyptus grandis* e palha de arroz e semelhante à da palha de trigo, os quais são resíduos amplamente utilizados na produção biotecnológica de xilitol. Essa característica da casca de aveia demonstra a possibilidade de sua utilização como matéria-prima no processo biotecnológico de obtenção desse poliál. Em relação ao teor de lignina, a quantidade presente na casca de aveia (22,22%) é semelhante à da maioria dos resíduos apresentados. A quantidade de grupos acetila presentes na casca de aveia é semelhante à do farelo de cevada e inferior aos dos outros resíduos citados na Tabela 1. O teor de cinzas foi superior ao dos resíduos de *Eucalyptus grandis* e inferior ao da palha de arroz.

Galdeano (2001) determinou a composição química de casca de aveia branca através da metodologia estabelecida por Claye *et al.* (1995), que consiste na utilização de enzimas e diferentes soluções de extração para separar as frações de celulose, de hemicelulose, de lignina e de substâncias pectínicas insolúveis obtendo os seguintes resultados (%): celulose (48,09), hemicelulose (29,45), lignina (6,53), substâncias pectínicas insolúveis, (3,98%), cinzas (3,50). Apesar do teor de hemicelulose ter sido bastante semelhante ao obtido no presente trabalho, o teor de celulose foi superior e o de lignina, inferior. Essas diferenças provavelmente estão relacionadas à variabilidade normal existente entre as variedades de aveia e aos métodos analíticos utilizados.

Produção de xilitol em hidrolisado de casca de aveia

A Tabela 2 apresenta a composição química parcial do hidrolisado hemicelulósico de casca de aveia tratado. Verifica-se que a xilose é o açúcar predominante na fração hemicelulósica cuja concentração (32,33 g/L) corresponde a 87,45% em

relação aos demais açúcares, glicose e arabinose, semelhante ao encontrado em outros resíduos como bagaço de cana-de-açúcar (Rodrigues *et al.*, 2001). A baixa concentração de glicose (1,61 g/L) nesse hidrolisado é favorável à bioconversão de xilose em xilitol por *C. guilliermondii* conforme já observado por Felipe *et al.* (1996) e por Rosa *et al.* (1998).

Observa-se ainda na Tabela 2 a presença de ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural no hidrolisado, mesmo após o tratamento. Esses compostos são considerados tóxicos à levedura, principalmente em função de suas concentrações no meio (Felipe *et al.*, 1997b; Alves *et al.*, 1998; Sene *et al.*, 2000). Nota-se maior concentração do ácido acético, seguido de furfural e hidroximetilfurfural semelhante ao encontrado em hidrolisados de outros resíduos como cavacos de eucalipto (Felipe *et al.*, 1996), bagaço de cana-de-açúcar (Rodrigues *et al.*, 2001) e palha de trigo (Canilha, 2001).

Tabela 2. Composição química parcial do hidrolisado hemicelulósico de casca de aveia tratado com CaO e com carvão ativo.

Componentes	Concentração (g/L)
Xilose	32,33
Glicose	1,61
Arabinose	3,03
Ácido acético	3,63
Furfural	0,47
Hidroximetilfurfural	0,22

Em relação à fermentação do hidrolisado hemicelulósico de casca de aveia, os resultados apresentados na Figura 1 indicam a formação de xilitol a partir do metabolismo de xilose pela levedura *C. guilliermondii*, concomitantemente à formação de biomassa. Esse comportamento foi observado com essa levedura cultivada em hidrolisados de outros resíduos agroindustriais como bagaço de cana-de-açúcar (Felipe *et al.*, 1997a), palha de arroz (Mussatto e Roberto, 2001) e palha de trigo (Canilha, 2001).

Observa-se também, na Figura 1, que a arabinose, presente em baixa concentração no hidrolisado (2,88 g/L), foi lentamente assimilada pela

levedura, o que correspondeu ao consumo de 28,5%, após 46h de fermentação, período em que o consumo de xilose atingiu 88,8%. A lenta assimilação de arabinose durante a fermentação de xilose em xilitol por *C. guilliermondii* foi anteriormente constatada em hidrolisados hemicelulósicos de bagaço de cana (Felipe *et al.*, 1997a e Sene *et al.*, 2000) e palha de trigo (Canilha, 2001). Segundo Shi *et al.* (2000) a via de assimilação da arabinose em leveduras é similar à de xilose. Sene *et al.* (2001) observaram que a assimilação de arabinose por *C. guilliermondii* em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana foi favorecida em condições de baixa aeração. Matos *et al.* (2002) relataram que a arabinose favoreceu a bioconversão de xilose em xilitol por *C. guilliermondii*, quando o inóculo foi obtido de células cultivadas nessa fonte de carbono. Quanto à glicose, essa foi totalmente assimilada pela levedura nas primeiras horas de cultivo (dados não apresentados).

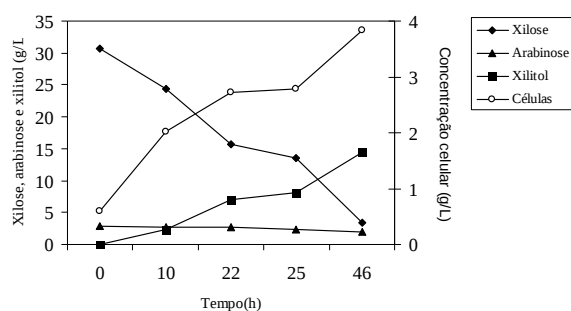


Figura 1. Consumo de xilose e de arabinose e formação de xilitol e de células durante o cultivo de *Candida guilliermondii* em hidrolisado de casca de aveia.

Na Figura 2, são apresentados os parâmetros fermentativos referentes ao rendimento e à produtividade volumétrica de xilitol e de células durante a fermentação do hidrolisado hemicelulósico de casca de aveia por *C. guilliermondii*. Verifica-se o rápido aumento tanto da conversão de xilose em células quanto em xilitol nas primeiras 10h de cultivo, enquanto que, a partir desse período, a formação de xilitol foi favorecida em detrimento à formação de biomassa. Os máximos valores de rendimento e de produtividade de xilitol foram 0,54 g/g e 0,34 g/L.h, respectivamente. Quanto ao rendimento e à produtividade em células, diferente ao encontrado para a conversão em xilitol, nota-se também na Figura 2, um rápido decréscimo após 10h, embora se observe que, após 24h, essa redução foi mais lenta. Esses resultados são esperados uma vez que o favorecimento da formação de xilitol em detrimento à formação de células vem sendo constatado durante pesquisas com essa levedura, tanto em meio sintético (Felipe *et al.*, 1995) quanto

em hidrolisados hemicelulósicos de bagaço de cana (Sene *et al.*, 2000), palha de arroz (Mussatto e Roberto, 2001) e palha de trigo (Canilha, 2001).

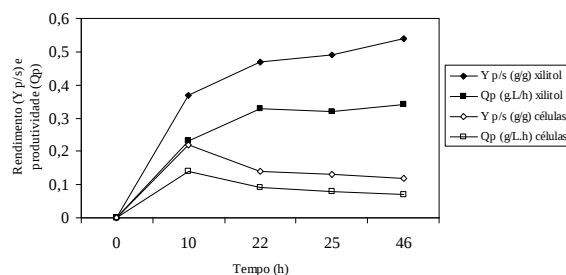


Figura 2. Rendimento (Y_p/s) e produtividade (Q_p) de xilitol e de células durante a fermentação em batelada de hidrolisado de casca de aveia por *C. guilliermondii*.

Foi constatada a presença de etanol e de glicerol como subprodutos dessa fermentação, conforme mostra a Figura 3. A concentração de etanol no meio (1,70 g/L) foi 2,7 vezes superior à de glicerol, observando-se um rápido aumento do etanol nas primeiras 24h, permanecendo praticamente constante até o final do processo (46h), diferente ao observado para a formação do glicerol, pois, a partir das primeiras dez horas de fermentação, não se observou aumento considerável em sua concentração. Segundo Rodrigues *et al.* (2002), a formação desses subprodutos é influenciada pelo pH do meio.

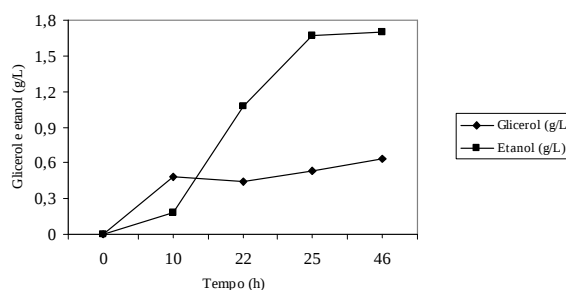


Figura 3. Formação dos subprodutos glicerol e etanol durante a fermentação de hidrolisado de casca de aveia por *C. guilliermondii*.

Na Figura 4, verifica-se o consumo de ácido acético (51,34%) após 46h de fermentação, coincidente com o decréscimo do pH do meio. Esse ácido, embora considerado tóxico para a levedura *C. guilliermondii* em função de sua concentração no meio, é assimilado durante a fermentação, conforme já observado tanto em meio sintético (Felipe *et al.*, 1995) quanto em outros hidrolisados hemicelulósicos (Felipe *et al.*, 1997b; Mussatto e Roberto, 2001; Canilha, 2001).

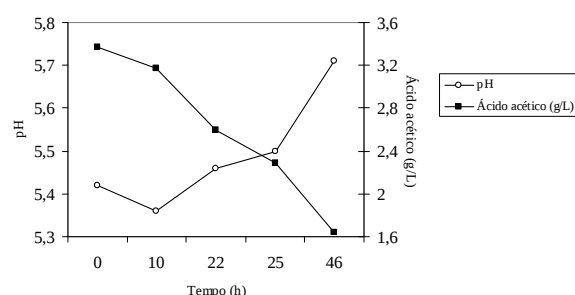


Figura 4. Consumo de ácido acético e variação de pH durante a fermentação de hidrolisado de casca de aveia por *C. guilliermondii*.

A comparação dos teores de açúcares e de compostos tóxicos de hidrolisados hemicelulósicos de diferentes resíduos é interessante quando se discute a produção de xilitol, mas as condições de hidrólise, em geral, são diferentes em função da estrutura química do resíduo. Portanto, é relevante a determinação das condições ótimas de hidrólise para cada resíduo visando à maior concentração de xilose e menor concentração de compostos tóxicos. Com relação ao processo fermentativo, os parâmetros de produção de xilitol podem ser melhorados reduzindo-se o teor de compostos tóxicos e determinando-se as melhores condições de fermentação.

Conclusão

O teor relativamente elevado de hemicelulose na casca de aveia e de xilose no hidrolisado hemicelulósico, bem como a capacidade da *Candida guilliermondii* em converter xilose em xilitol faz que esse resíduo se apresente promissor a essa bioconversão. Estudos deverão ser conduzidos para o estabelecimento de melhores condições de hidrólise da casca, do tratamento do hidrolisado e de determinação de parâmetros fermentativos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio financeiro da Fundação Araucária-PR e do CNPq e à SL Alimentos Ltda pelo fornecimento da casca de aveia.

Referências

- ALVES, L. A.; *et al.* Pretreatment of sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Appl. BioChem., Biotechnol.*, Clifton, v. 70-72, p. 89-98, 1998.
- AOAC. *Official Methods of Analysis*, 15th ed. Washington D.C., Association of Official Analytical Chemists, 1995.
- BARBOSA, M. F. S. *et al.* Screening of yeasts for production of xylitol from D-xylose and some factors which affect xylitol yield in *Candida guilliermondii*. *J. Ind. Microbiol.*, Amsterdam, v. 3, p. 241-251, 1988.

CÂNDIDO, E. J. *et al.* Determinação da composição química da palha de trigo In: SEMINÁRIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS, 7, 2002, Maringá. *Anais...* Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2002, p. 108.

CANETTIERI, E. V. *et al.* Application on factorial design for xylitol production from eucalyptus hemicellulosic hydrolysate. *Appl. BioChem., Biotech.*, Clifton, v. 94, p. 159-168, 2001.

CANETTIERI, E. V. *et al.* Tratamento químico de resíduos de *Eucalyptus grandis* com ácido diluído In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 14, 2003, Florianópolis. *Anais...* Florianópolis, 2003, CDROM.

CANETTIERI, E. V. *et al.* Composition of *Eucalyptus grandis* residues. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE AZUCAR Y DERIVADOS DE LA CAÑA, La Habana, 2002, *Anais...* La Habana, 2002, p. 51-52.

CANILHA, L. *Aproveitamento do hidrolisado de palha de trigo para produção de xilitol por via microbiana*. 2001. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2001.

CERES - *Laboratório de Ciência e Tecnologia de Cereais*, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em: <<http://www.cca.ufsc.br/dcal/labs/ceres/aveia.html#carac>>. Acesso em 04 set. 2003.

CLAYE, S. S. *et al.* Extraction and fractionation of insoluble fiber from five fiber sources. *Food Chem.*, London, v. 57, n.2, p.305-310, 1996.

CRUZ, J. M. *et al.* Preparation of fermentation media from agricultural wastes and their bioconversion to xylitol. *Food Biotechnol.*, New York, v. 14, p. 79-97, 2000.

DESHPAND, S. S.; *et al.* (Ed.) *Foods and plant origin: production, technology and human nutrition*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991, cap 1, p. 1-125.

DOMINGUEZ, J.M., GONG, C.S., TSAO, G.T. Pretreatment sugar cane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by yeast. *Appl. BioChem., Biotechnol.*, Clifton, v.57/58, p.49-56, 1996.

DUNNING, J.W., DALLAS, D. E. Analytical procedures for control of saccharification process. *Anal. Chem.*, Washington, DC, v.21, n.6, p. 727-729, 1949.

EMODI, A. Xylitol its properties and food applications. *Food Technol.*, Chicago, v. 32,, p. 28-32, 1978.

FAOSTAT, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. [S.l.: s.n.], 2004. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/form?collection=Production.Crops.Primary&Domain=Production&servlet=1&hasbulk=0&version=ext&language=EN>>. Acesso em: 29 jan. 2005.

FELIPE, M. G. A. *et al.* Effect of acetic acid on xylose fermentation to xylitol by *Candida guilliermondii*. *J. Basic Microbiol.*, Berlin, v. 35, p. 171-177, 1995.

FELIPE, M. G. A. *et al.* Fermentation of eucalyptus hemicellulosic hydrolysate to xylitol by *Candida*

- guilliermondii*. *Bioresour. Technol.*, Essex, v. 56, p. 281-283, 1996.
- FELIPE, M.G.A. et al. Environmental Parameters Affecting Xylitol Production from Sugar Cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate by *Candida guilliermondii*. *J. Ind. Microbiol.*, Amsterdam, v.18, p.251-254, 1997a.
- FELIPE, M.G.A. et al. Fermentation of Sugar Cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate for Xylitol Production: Effect of pH. *Biomass and Bioenergy*, Oxford, v.13, p.11-14, 1997b.
- FERRAZ, A. et al. Estimating the chemical composition of biodegraded pine and eucalyptus wood by DRIFT spectroscopy and multivariate analysis. *Bioresour. Technol.*, Essex, v. 74, p. 201-212, 2000.
- GALDEANO, M. C. *Caracterização e aplicação de casca de aveia modificada por tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino associado à extrusão*. 2001. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2001.
- HAHN-HÄGERDAL, B. et al. Biochemistry and physiology of xylose fermentation by yeasts. *Enzyme and Microbial Technology*, New York, v. 16, p. 933-943, 1994.
- HERRERA, A.; et al. Production of xylose from sorghum straw using hydrochloric acid. *J. Cereal Sci.*, London, v. 37, p. 267-274, 2003.
- IBGE. *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*. Produção agrícola municipal - Culturas temporárias e permanentes 2003. [S.l.: s.n.], 2003. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao_Agricola_Municipal_%5Banual%5D/2003/> Acesso em 30 jan, 2005.
- KUREK, A. J. et al. Fatores genéticos relacionados com a expressão do caráter percentual de cariopse em aveia branca. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 32, n. 5, p. 751-756, 2002.
- MANZ, U. et al. Xylitol - Its Properties and Use as a Sugar Substitute in Foods. In: FOOD R.A. SYMP. SUGAR AND SUGAR REPLACEMENTS, London, oct., 1973.
- MARTON, J. M. *Avaliação de diferentes carvões ativos e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana para obtenção biotecnológica de xilitol*. 2002. Dissertação (Mestrado)–Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2002.
- MATILLA, P.T. et al. Dietary xylitol supplementation prevents osteoporotic changes in streptozotocin-diabetic rats. *Metabolism*, [S.l.], v. 47, p. 578-583, 19, 1998.
- MATOS, G. S. et al. Influência da arabinose na bioconversão de xilose em xilitol por *C. guilliermondii*. trigo In: SEMINÁRIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS, 7, 2002, Maringá. *Anais...* Maringá : UEM, 2002, p. 199.
- MELAJA, J., HÄMÄLÄINEN, L. Process for Making Xylitol. US n.4.008.285. 15 fev. 1977.
- MUSSATTO, I. C. E ROBERTO, I. C. Hydrolysate detoxification with activated charcoal for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Biotechnol. Lett.* Dordrecht, v. 23, p. 1681-1684, 2001.
- MUSSATTO, I. S.; ROBERTO, I. C. Produção biotecnológica de xilitol a partir da palha de arroz. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, Brasília, n. 28, p.34-39, 2002.
- NIGAM, P., SINGH, D. Processes for fermentative production of xylitol: a sugar substitute. *Process BioChem.*, Essex, v. 30, p. 117-124, 1995.
- PARAJÓ, J.C. et al. Biotechnological Production of Xylitol. Part 1: Interest of Xylitol and Fundamentals of its Biosynthesis. *Bioresour. Technol.*, Essex, v. 65, p. 191-201, 1998.
- RODRIGUES, R. C. L. et al. The influence of pH, temperature and hydrolysate concentration on the removal of volatile and nonvolatile compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate treated with activated charcoal before or after vacuum evaporation. *Brazilian J. Chem. Eng.*, São Paulo, v. 18, p. 299-311, 2001.
- RODRIGUES, R. C. L. et al. Influência do pH no metabolismo de xilose em *Candida guilliermondii* FTI 20097 para a produção de xilitol e subprodutos (glicerol e etanol). In: BRAZILIAN MEETING ON CHEMISTRY OF FOOD AND BEVERAGES, 4, 2002, Campinas, *Anais...* Campinas, 2002, p. 80.
- RODRIGUES, R. C. L. B. et al. Crescimento de *Candida guilliermondii* durante cultivo descontínuo em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana: efeito do O₂. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 14, 2003, Florianópolis. *Anais...* Florianópolis, 2003. CDROM.
- ROSA, S. M. A. et al. Xylose reductase production by *Candida guilliermondii*. *Appl. BioChem., Biotechnol.*, Clifton, v. 70-72, p. 127-135, 1998.
- SÁ, J. P. G. Utilização da aveia na alimentação animal. *Circular nº 87*: Londrina - Iapar (Instituto Agrônomo do Paraná), 1995.
- SENE, L., et al. Preliminary kinetic characterization of xylose reductase and xylitol dehydrogenase extracted from *Candida guilliermondii* FTI 20037 cultivated in sugarcane bagasse hydrolysate for xylitol production. *Appl. BioChem., Biotechnol.*, Clifton, v. 91-93, p. 671-680, 2001.
- SENE, L. et al. Effect of environmental conditions on xylose reductase and xylitol dehydrogenase production in *Candida guilliermondii*. *Appl. BioChem., Biotechnol.*, Clifton, v. 84-86, p. 371-380, 2000.
- SHI, N. Q. et al. Characterization and complementation of a pichia stipitis mutant unable to grow on D-xylose or L-arabinose. *Appl. BioChem., Biotechnol.*, Clifton, v. 84-86, p. 201-215, 2000.
- STEPHEN, M. A. et al. Effect of oat hull fiber on human colonic function and serum lipids. *Cereal Chem.*, Saint Paul, v. 74, n. 4, p. 379-383, 1997.
- TAIPAINEN, T. et al. Xylitol administered only during respiratory infections failed to prevent acute otitis media. *Pediatrics*, Springfield, v. 109, n. 2, p. 17-19, 2002.
- VERDE, M. V. *Aplicação de resinas de troca iônica no tratamento de hidrolisado hemicelulósico para processos*

fermentativos. 2001. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2001.

WEBSTER, F. H. Oats. In: HENRY, R. J.; KETTLEWELL, P.S. (Ed.) *Cereal grain quality*. Atlanta: p.179-203, 1996.

WINKELHAUSEN, E.; KUZMANOVA, S. Microbial conversion of D-xylose to xylitol. *J. Ferment. Bioeng.*, Osaka, v. 86, n. 1, p. 1-14, 1998.

YLIKAHRI, R. Metabolic and nutritional aspects of xylitol. *Adv. Food Res.*, San Diego, v. 25, p. 159-180, 1979.

Received on August 03, 2004.

Accepted on December 10, 2004.