

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

**SIMULAÇÃO DA PRODUÇÃO DE XILITOL POR VIA FERMENTATIVA A
PARTIR DO HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DE BAGAÇO DE CANA-DE-
AÇÚCAR UTILIZANDO O *SOFTWARE* LIVRE *SCILAB***

Laís Portugal Rios da Costa Pereira

Trabalho de Graduação apresentado ao
Departamento de Engenharia Química da
Universidade Federal de São Carlos.

Orientadora: **Prof.^a Dr.^a Alice Medeiros de Lima.**

São Carlos – SP

2017

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alice Medeiros de Lima, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos (DEQ/UFSCar).

Convidado: Prof. Dr. Antônio Carlos Luperni Horta, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos (DEQ/UFSCar).

Professor da Disciplina: Prof. Dr. João Batista Oliveira dos Santos, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos (DEQ/UFSCar).

Trabalho de Graduação apresentado no dia 11 de dezembro de 2017 perante a seguinte banca examinadora:

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por todo amor e carinho, por me proporcionarem as melhores oportunidades e por sempre me apoiarem em minhas decisões.

À minha família, por torcer por mim e por comemorar minhas vitórias.

Às minhas amigas de Alfenas, por todo companheirismo apesar da distância e, muitas vezes, da ausência.

Aos meus amigos de São Carlos, pela receptividade, por todo o apoio e por todas as vivências.

A todos os meus professores, por todos os ensinamentos e, em especial, à minha orientadora Alice, por toda atenção, dedicação e paciência.

RESUMO

O xilitol é um poliálcool de cinco carbonos presente em diversas frutas e vegetais, bem como em leveduras, líquens e cogumelos. Trata-se de um adoçante na forma de pó cristalino branco e inodoro. Quando comparado à sacarose, apresenta poder adoçante semelhante e valor calórico reduzido, além de independência de insulina para sua metabolização, sendo, portanto, tolerado por diabéticos. O xilitol pode ser obtido através de extração sólido-líquido, redução química da xilose e conversão biotecnológica da xilose. A baixa concentração do xilitol encontrado naturalmente (inferior a 0,9g/100g) faz com que o processo de extração sólido-líquido seja economicamente inviável. Já a redução catalítica da xilose oferece altos rendimentos, mas sofre desvantagens em razão de extensas etapas de purificação intermediárias e enormes requisitos de energia, principalmente, o que torna o processo global muito caro. As desvantagens no método convencional de produção de xilitol e o crescimento do mercado ao longo dos últimos anos têm motivado a busca por vias alternativas de obtenção desse produto. Um dos processos mais atrativos é a via microbiológica, que utiliza microrganismos (leveduras, bactérias e fungos filamentosos) com capacidade de assimilar e fermentar xilose. A xilose é obtida por meio de métodos de tratamento de materiais lignocelulósicos, como a hidrólise. O bagaço de cana-de-açúcar configura-se como um resíduo lignocelulósico altamente produzido no Brasil em decorrência da intensa atividade sucroalcooleira, podendo ser aproveitado na produção de xilitol. Tendo isso em vista, este trabalho objetivou simular e avaliar a produção de xilitol (em batelada) por via fermentativa utilizando o *Scilab*, um *software* livre para computação numérica. Isso foi possível através da definição de uma cinética para consumo de substrato (xilose), crescimento de células (levedura) e acumulação de produto (xilitol) e da resolução do sistema de equações diferenciais ordinárias resultante. O modelo cinético utilizado foi proposto por Mohamad et al. (2016) no estudo da produção de xilitol por fermentação de solução de xilose por *Candida tropicalis* e mostrou-se adequado a esse processo. A simulação dos dados obtidos por Arruda (2011) na fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado por *Candida guilliermondii* resultou em uma série de divergências entre os valores experimentais e os previstos pelo modelo matemático. O modelo cinético ajustou-se somente ao início do processo fermentativo, mas se mostrou promissor na predição da formação de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. Estudos apontam que esse processo representa uma alternativa satisfatória para obtenção de xilitol, ainda necessitando, porém, de um melhor entendimento.

ABSTRACT

Xylitol is a five-carbon polyalcohol presented in many fruits and vegetables, as well as yeasts, lichens and mushrooms. It is a white crystalline powder and odorless sweetener. Compared to sucrose, it has similar sweetness and reduced caloric value, besides being independent of insulin for its metabolizing, so it is tolerated by diabetics. Xylitol can be obtained by solid-liquid extraction, chemical reduction of xylose and biotechnological conversion of xylose. The low concentration of naturally occurring xylitol (less than 0.9 g/100 g) makes solid-liquid extraction process economically impracticable. The catalytic reduction of xylose offers high yields, but suffers disadvantages mainly due to extensive intermediate purification steps and huge energy requirements, which makes the overall process very expensive. The disadvantages in the conventional method of xylitol production and the market growth over the last years have motivated researches looking for alternative ways of obtaining this product. One of the most attractive processes is microbiological route, which uses microorganisms (yeasts, bacteria and filamentous fungi) with capacity to assimilate and ferment xylose. Xylose is obtained by treating methods of lignocellulosic materials, such as hydrolysis. Sugarcane bagasse is a highly lignocellulosic residue produced in Brazil as a result of the intense sugar-alcoholic activity and it can be used in xylitol production. Thus, this study aimed to simulate and evaluate batch production of xylitol by fermentation using Scilab, a free software for numerical computation. This was possible by defining kinetics for substrate consumption (xylose), cell growth (yeast) and product accumulation (xylitol) and by resolution of the ordinary differential equations resulting system. The kinetic model used was proposed by Mohamad et al. (2016) in the study of xylitol production by fermentation of pure xylose by *Candida tropicalis* and was suitable to this process. The simulation of data obtained by Arruda (2011) in the fermentation of detoxified hemicellulosic hydrolysate of sugarcane bagasse by *Candida guilliermondii* resulted in many divergences between experimental values and those predicted by the mathematical model. The kinetic model was suitable only at the beginning of the fermentation process, but it is promising in the prediction of xylitol formation from hemicellulosic hydrolysate of sugarcane bagasse. Studies indicate that this process is a satisfactory alternative for xylitol obtaining, but still needs a better understanding.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Materiais lignocelulósicos.....	3
2.1.1. Bagaço de cana-de-açúcar.....	7
2.2. Xilitol.....	8
2.2.1. Propriedades e aplicações.....	8
2.2.2. Mercado.....	11
2.3. Obtenção do xilitol.....	11
2.3.1. Extração sólido-líquido.....	12
2.3.2. Redução química da xilose.....	12
2.3.3. Conversão biotecnológica de soluções contendo xilose.....	14
3. METODOLOGIA.....	21
3.1. Simulação da produção de xilitol a partir da xilose pura utilizando <i>Candida tropicalis</i>	21
3.1.1. Modelo cinético.....	21
3.1.1.1. Modelo da taxa de crescimento celular.....	21
3.1.1.2. Modelo de degradação de substrato e de produção de xilitol.....	22
3.1.1.3. Balanço de massa do oxigênio.....	23
3.1.1.4. Parâmetros.....	25
3.1.2. Simulação.....	27
3.2. Simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando <i>Candida Guilliermondii</i>	28
3.2.1. Simulação.....	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....	38
REFERÊNCIAS.....	39
APÊNDICE A.....	42
APÊNDICE B.....	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Alterações estruturais do complexo celulose-hemicelulose-lignina determinadas pelo pré-tratamento	5
Figura 2.2. Molécula de xilitol	8
Figura 2.3. Produção de xilitol e de xilose	13
Figura 2.4. Principais características e desafios da produção de xilitol pelas rotas química e biotecnológica	15
Figura 2.5. Etapas iniciais da utilização de xilose pelas vias de redução/oxidação (A) e de isomerização (B)	17
Figura 4.1. Variação das concentrações de células, substrato e produto na simulação da produção de xilitol a partir de xilose pura utilizando <i>Candida tropicalis</i>	31
Figura 4.2. Variação das massas de oxigênio e oxigênio dissolvido na simulação da produção de xilitol a partir de xilose pura utilizando <i>Candida tropicalis</i>	32
Figura 4.3. Variação das concentrações de células, substrato e produto e da massa de oxigênio dissolvido no experimento e na simulação da produção de xilitol a partir de xilose pura utilizando <i>Candida tropicalis</i>	33
Figura 4.4. Variação das concentrações de células, substrato e produto na simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando <i>Candida guilliermondii</i> em frasco Erlenmeyer de 125 mL	34
Figura 4.5. Variação das concentrações de células, substrato e produto na simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando <i>Candida guilliermondii</i> em fermentador de bancada de 2,4 L ...	35
Figura 4.6. Variação das concentrações de células, substrato e produto na simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando <i>Candida guilliermondii</i> em fermentador de bancada de 16 L	35

LISTA DE QUADROS

Quadro 2.1. Composição de materiais hemicelulósicos	4
Quadro 2.2. Efeito de diferentes pré-tratamentos nos materiais lignocelulósicos	6
Quadro 2.3. Características e propriedades físico-químicas do xilitol	9
Quadro 2.4. Produção microbiana de xilitol	16
Quadro 3.1. Parâmetros cinéticos	25
Quadro 3.2. Condições iniciais para resolução do PVI	27
Quadro 3.3. Parâmetros cinéticos	28
Quadro 3.4. Velocidades de consumo de substrato máximas	29
Quadro 3.5. Condições iniciais para a resolução do PVI	29
Quadro 3.6. Concentração de xilose, de células e de xilitol ao longo do tempo na fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado por <i>Candida guilliermondii</i> em frasco Erlenmeyer de 125 mL	30
Quadro 3.7. Concentração de xilose, de células e de xilitol ao longo do tempo na fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado por <i>Candida guilliermondii</i> em fermentador de bancada de 2,4 L	30
Quadro 3.8. Concentração de xilose, de células e de xilitol ao longo do tempo na fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado por <i>Candida guilliermondii</i> em fermentador de bancada de 16 L	30
Quadro 4.1. Concentrações finais de células, substrato e produto experimentais e simuladas	36

NOMENCLATURA

A	Constante numérica	
C_{eq,O_2}	Concentração de oxigênio no equilíbrio	$g.L^{-1}$
C_{gO_2}	Concentração de oxigênio gasoso na saída do biorreator	$g.L^{-1}$
$C_{gO_2,in}$	Concentração de oxigênio gasoso na entrada do biorreator	$g.L^{-1}$
C_{O_2}	Concentração de oxigênio dissolvido no meio de fermentação	$g.L^{-1}$
C_S	Concentração de substrato no meio de fermentação	$g.L^{-1}$
C_X	Concentração de células no meio de fermentação	$g.L^{-1}$
C_P	Concentração de produto no meio de fermentação	$g.L^{-1}$
K_{eq}	Constante de equilíbrio	$g.L^{-1}$
K_{in,O_2}	Constante de inibição por oxigênio dissolvido	$g.L^{-1}$
$K_{in,P}$	Constante de inibição por produto	$g.L^{-1}$
$K_{in,S}$	Constante de inibição por substrato	$g.L^{-1}$
$k_L a$	Coefficiente volumétrico de transferência de oxigênio	h^{-1}
K_{li,O_2}	Constante de limitação do oxigênio dissolvido	$g.L^{-1}$
$K_{li,P}$	Constante de limitação do produto	$g.L^{-1}$
$K_{li,S}$	Constante de limitação do substrato	$g.L^{-1}$
K_{O_2}	Constante do oxigênio dissolvido	$g.L^{-1}$
m_{gO_2}	Massa de oxigênio gasoso	g
m_{O_2}	Massa de oxigênio dissolvido	g
n	Número de moles do gás	mol
N_{O_2}	Taxa de transferência de oxigênio	$g.L^{-1}.h^{-1}$
P	Produção de xilitol	$g.L^{-1}.h^{-1}$
P_g	Pressão do gás	atm
R	Constante universal dos gases	$atm.L.mol^{-1}.K^{-1}$
r_P	Taxa de produção de xilitol	$g.L^{-1}.h^{-1}$
r_S	Taxa de consumo de substrato	$g.L^{-1}.h^{-1}$
r_X	Taxa de crescimento celular	$g.L^{-1}.h^{-1}$
T_g	Temperatura do gás	K
V	Volume líquido	L
V_g	Volume ocupado pelo gás	L
vvm	Volume de gás por volume de líquido por minuto	h^{-1}
Y_{O_2}	Conversão de oxigênio por célula	$g.g^{-1}$
Y_{PS}	Conversão de produto por unidade de substrato	$g.g^{-1}$
Y_{XS}	Conversão de células por unidade de substrato	$g.g^{-1}$

Letras gregas

μ	Velocidade específica de crescimento	h^{-1}
μ_{max}	Velocidade específica de crescimento máxima	h^{-1}
μ_s	Velocidade específica de consumo de substrato	h^{-1}
μ_{smax}	Velocidade específica de consumo de substrato máxima	h^{-1}
δ	Taxa de decaimento do produto	$\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$
ε	Razão entre volume de gás e volume de líquido dentro do biorreator	
v_g	Vazão de oxigênio gasoso na fase líquida	L.h^{-1}

1. INTRODUÇÃO

O crescimento da conscientização mundial com relação à saúde tem impulsionado o mercado de edulcorantes alternativos ao longo dos últimos anos. Nesse cenário, destacam-se os polióis (ou açúcares de álcoois) eritritol, isomalte, lactitol, maltitol, manitol, sorbitol e xilitol. Dentre esses compostos, o xilitol configura-se como um potencial substituto do açúcar, uma vez que possui poder adoçante semelhante e valor calórico reduzido. Metabolicamente, é absorvido independentemente de insulina e sem elevação da taxa de glicose sanguínea, podendo ser consumido por diabéticos, assim como os demais polióis. Também apresenta resultados na prevenção de cáries, otites, infecções pulmonares e osteoporose e no tratamento de lesões renais e de distúrbios no metabolismo de lipídeos. Além disso, encontra aplicação nas indústrias alimentícia, farmacêutica e odontológica.

O xilitol é um poliálcool de cinco carbonos encontrado naturalmente em frutas, vegetais, leveduras, líquens e algas. No entanto, a recuperação por extração sólido-líquido é economicamente inviável devido à baixa concentração. O xilitol disponível no mercado é obtido por meio da hidrogenação catalítica de xilose com alto grau de pureza. Contudo, as condições necessárias para a execução desse processo químico, como extensas etapas de purificação (a presença de impurezas diminui a produtividade) e altas pressões e temperaturas, exigem grandes requerimentos de energia, o que torna o processo global dispendioso. Dessa forma, alternativas têm sido procuradas. Nesse contexto, surgem os métodos biotecnológicos de conversão, que consistem na fermentação de xilose em xilitol por microrganismos capazes (leveduras, bactérias ou fungos filamentosos). Essa opção apresenta boas perspectivas por operar em condições brandas de temperatura e de pressão e por necessitar de uma única etapa de purificação (na recuperação do produto).

Apesar de apresentarem inúmeras vantagens, algumas limitações podem ser encontradas quando se lida com processos biotecnológicos, como baixa produtividade e conversão. Entretanto, é possível melhorá-los entendendo as variáveis que afetam o metabolismo dos microrganismos assimiladores de xilose, em especial, as leveduras. A acumulação extracelular de xilitol é regulada pela atividade de duas enzimas: xilose redutase (XR) e xilitol desidrogenase (XDH). Resumidamente, a xilose é reduzida a xilitol na presença de XR ligada à nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatada ou não em sua forma reduzida (NADPH ou NADH) e, em seguida, o xilitol é oxidado à xilulose na presença de XDH ligada à nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatada ou não em sua

forma oxidada (NADP⁺ ou NAD⁺). A xilulose é então fosforilada e incorporada à via das pentoses-fosfato. Fatores como presença de glicose, concentração de xilose, pH e temperatura e suprimento de oxigênio podem influenciar esse processo. Também é necessário o entendimento do mecanismo de reação, possibilitado pela modelagem cinética.

A xilose, que atua como reagente na redução química e como substrato na conversão biotecnológica, é encontrada na fração hemicelulósica de materiais lignocelulósicos e obtida através do tratamento desses materiais via hidrólise, principalmente. Um exemplo de material lignocelulósico é o bagaço de cana-de-açúcar, resíduo produzido em grande quantidade no Brasil em razão da intensa atividade sucroalcooleira. Estima-se que, na safra 2017/2018, serão gerados em torno de 181,0 milhões de toneladas de bagaço. Devido à elevada concentração de xilose na fração hemicelulósica, o bagaço de cana-de-açúcar que não é utilizado para a geração de vapor na própria usina pode ser aproveitado na produção de xilitol.

O desenvolvimento do processo biotecnológico de obtenção de xilitol tem gerado interesse global, uma vez que representa uma possibilidade de reutilização de resíduos agrícolas, possui custos inferiores aos da rota química e resulta em um produto de alto valor agregado. É válido ressaltar que, de acordo com o levantamento feito pela *Industry Experts*, o mercado global de xilitol foi estimado em 190,9 mil toneladas avaliadas em US\$ 725,9 milhões em 2016 e deverá chegar a 266,5 mil toneladas avaliadas acima de US\$ 1 bilhão em 2022. Tendo isso em vista, este trabalho objetiva simular e avaliar a produção de xilitol por via fermentativa utilizando o *Scilab*, um *software* livre para computação numérica. Isso será possível através da definição de uma cinética para consumo de substrato (xilose), crescimento de células (levedura) e acumulação de produto (xilitol) e de seus respectivos parâmetros e da resolução do sistema de equações diferenciais ordinárias resultante.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Materiais lignocelulósicos

Materiais lignocelulósicos compreendem resíduos agrícolas (palhas, cascas, caules e talos), madeiras provenientes de árvores de folhas decíduas (dicotiledôneas) e de coníferas, resíduos sólidos urbanos e resíduos da indústria de papel (SAHA, 2003).

Os materiais lignocelulósicos são constituídos por três frações principais: celulose, hemicelulose e lignina. A celulose é um homopolissacarídeo linear composto por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas $\beta(1-4)$ (GALDEANO, 2001 *apud* TAMANINI; HAULY, 2004). A hemicelulose é um heteropolissacarídeo ramificado, formado por pentoses (xilose, raminose e arabinose), hexoses (glicose, manose e galactose), ácidos urônicos, podendo apresentar também radicais acetila (RAMOS, 2003 *apud* CASTRO; PEREIRA JÚNIOR, 2010a). Já a lignina é um polímero vegetal derivado dos álcoois hidroxicinâmílicos p-coumarílico, coniferílico e sinapílico, também chamados de monolignóis (ENDT et al., 2000 *apud* TAMANINI; HAULY, 2004).

Estruturalmente, a fração celulósica dispõe-se como fibrilas espirais, de forma a conferir força e flexibilidade ao material. Esta fração encontra-se envolvida pela lignina, cuja função é aumentar a resistência da estrutura a ataques químicos e enzimáticos. Por sua vez, a hemicelulose atua como um elo químico entre a celulose e a lignina (SZENGYEL, 2000; RAMOS, 2003 *apud* CASTRO; PEREIRA JÚNIOR, 2010b). Na Figura 2.1 é possível ver um esquema dessa estrutura.

A concentração dos principais componentes dos materiais lignocelulósicos é variável de acordo com o tipo de material. O componente predominante é a celulose (35-50%), seguida pela hemicelulose (20-35%) e pela lignina (10-25%) (SAHA, 2003). O Quadro 2.1 apresenta a composição de alguns materiais lignocelulósicos.

Quadro 2.1. Composição de materiais hemicelulósicos.

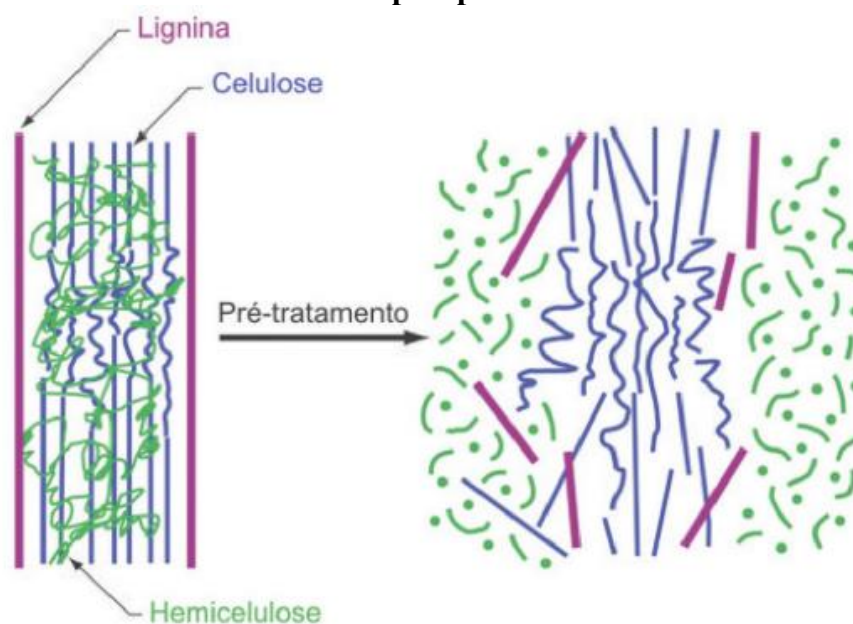
Material	Composição (%)			Referência
	Celulose	Hemicelulose	Lignina	
Bagaço de cana (<i>Saccharum officinarum</i>)	36	28	20	Olsson; Hahn-hagerdal (1996)
Palha de cana	36	21	16	
Palha de milho (<i>Zea mays</i>)	36	28	29	Olsson; Hahn-hagerdal (1996)
Sabugo de milho	36	28	NR	Olsson; Hahn-hagerdal (1996)
Palha de trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	39	36	10	Awafo (1997)
Palha de cevada (<i>Hordeum vulgare</i>)	44	27	7	Awafo (1997)
Farelo de cevada	23	33	21	Couto; Sanromán (2005)
Palha de arroz (<i>Oryza sativa</i>)	33	26	7	Awafo (1997)
Casca de arroz	36	20	19	Cen; Xia (1999)
Palha de aveia (<i>Avena sativa</i>)	41	16	11	Awafo (1997)
Palha de algodão (<i>Gossypium hirsutum</i>)	42	12	15	Ghosh; Singh (1993)
Casca de amendoim (<i>Arachis hypogaea</i>)	38	36	16	Ghosh; Singh (1993)
Douglas Fir (<i>Pseudotsuga menziesii</i>)	50	18	28	Cen; Xia (1999)
Pinheiro (<i>Pinus sp.</i>)	44	26	29	Olsson; Hahn-hagerdal (1996)
Salgueiro (<i>Salix alba</i>)	37	23	21	Olsson; Hahn-hagerdal (1996)
Capim elefante (<i>Pennisetum purpureum</i>)	32	20	9	
Resíduos sólidos municipais	33	9	17	
Papel	43	13	6	Olsson; Hahn-hagerdal (1996)
Papelão	47	25	12	Olsson; Hahn-hagerdal (1996)
Jornal	62	16	21	

NR: não reportado.

Fonte: Castro; Pereira Júnior (2010).

Os materiais lignocelulósicos podem ser convertidos em energia, produtos químicos e alimentos (GARCIA; PRATA, 1998 *apud* TAMANINI; HAULY, 2004). No entanto, segundo Santos et al. (2012), a complexa estrutura da parede celular da biomassa lignocelulósica, no geral, é resistente à bioconversão. Sendo assim, para que a utilização dos diferentes componentes dessa matéria seja possível, é necessária uma separação seletiva através da ruptura do complexo celulose-hemicelulose-lignina e da remoção de cada fração por técnicas de pré-tratamento (SANTOS et al., 2012). A Figura 2.1 mostra a alteração estrutural provocada pelo pré-tratamento.

Figura 2.1. Alterações estruturais do complexo celulose-hemicelulose-lignina determinadas pelo pré-tratamento.



Fonte: Santos et al. (2012).

O processo de pré-tratamento pode ser físico, químico, biológico ou uma combinação destes. Um pré-tratamento efetivo deve obedecer a uma série de requisitos, dentre eles, resultar em uma elevada recuperação de todos os carboidratos, evitar a formação de subprodutos e requerer uma baixa demanda energética, além de baixo investimento e custo operacional (ZHENG et al., 2009; GALBE; ZACCHI, 2007; TAHERZADEH; KARIMI, 2008 *apud* SANTOS et al., 2012). O Quadro 2.2 apresenta de forma simplificada o efeito de diferentes pré-tratamentos nos materiais lignocelulósicos.

Quadro 2.2. Efeito de diferentes pré-tratamentos nos materiais lignocelulósicos.

Pré-tratamento		Características composicionais			Vantagens	Desvantagens
		Celulose	Hemicelulose	Lignina		
Físico	Moinho de bolas	Intensiva diminuição do grau de cristalinidade	Não remove	Não remove	Redução de cristalinidade	Alto consumo de energia
Químico	Ácido diluído	Pouca despolimerização	80-100% de remoção	Pouca remoção, mas ocorre mudança da estrutura	Condições médias, alta produção de xilose	Difícil recuperação do ácido, corrosivo e relativamente custoso
	Hidróxido de sódio	Inchação significativa	Considerável solubilidade	Considerável solubilização, >50%	Remoção efetiva de ésteres	Reagente caro, recuperação alcalina
	ARP	Menor que 5% de despolimerização	~50% de solubilidade	~70% de solubilização	Efetiva deslignificação	Recuperação alcalina, relativamente caro
	Hidróxido de cálcio	Pouca despolimerização	Significativa solubilização	Solubilização parcial (~40%)	Efetiva remoção de lignina e acetil, baixo custo	Menor efetividade devido à pouca solubilidade da cal
	Ozonólise	Não foi observada despolimerização	Pequena solubilização	Solubilização acima de 70%	Efetiva deslignificação em condições suaves	Caro, necessidade de mais ozônio
	Organosolv	Considerável inchaço	Significativo, quase completa	Significativo, pode ser quase completa	Alta produção de xilose, efetiva deslignificação	Recuperação de solvente cara
Biológico	Biológico	20-3-% de despolimerização	Acima de 80% de solubilização	~40% de deslignificação	Baixo requerimento de energia, efetiva deslignificação	Perda de celulose, baixa taxa de hidrólise
Combinado	Explosão a vapor	Pouca despolimerização	80-100% de remoção	Pouca remoção, mas ocorre mudança da estrutura	Energia eficiente, nenhum custo de reciclagem	Degradação da xilana como produto inibitório
	AFEX	Diminuição do grau de cristalinidade	Acima de 60% de solubilidade	10-20% de solubilização	Menor perda de xilanas, não formação de inibidores	Recuperação de amônia, não é efetivo para alta concentração de lignina

Fonte: Santos et al. (2012).

De acordo com a literatura, dentre os métodos disponíveis, a hidrólise ácido diluído tem sido fortemente empregada, uma vez que alcança rendimentos elevados de açúcares a partir da hemicelulose (ARRUDA, 2011). Há dois tipos de hidrólise ácido diluído: alta temperatura (maior que 160°C), processo contínuo para baixa carga de sólidos (5 a 10% massa de substrato/massa da mistura reacional) (BRENNAN et al., 1986; CONVERSE et al., 1989 *apud* SUN; CHENG, 2002), e baixa temperatura (menor que 160°C), processo em batelada para alta carga de sólidos (10 a 40%) (CAHELA et al. 1983; ESTEGHLALIAN et al., 1997 *apud* SUN; CHENG, 2002). Temperaturas elevadas favorecem a hidrólise da celulose (MCMILLAN, 1994 *apud* SUN; CHENG, 2002), enquanto condições mais brandas alcançam altas conversões de xilana (constituente da

hemicelulose que, quando hidrolisado, dá origem à xilose) em xilose (SUN; CHENG, 2002).

2.1.1. Bagaço de cana-de-açúcar

O Brasil configura-se como o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, seguido pela Índia e pela China (FAO, 2014 *apud* KIST et al., 2016). A cana-de-açúcar é cultivada em diferentes condições edáficas no Brasil, estendendo-se por todas as regiões do país, em maior ou menor escala. A maior área produtora é a região sudeste, em razão de suas condições edafoclimáticas. Na safra 2016/2017, área de cana colhida nesta região representou 63% do total da área de cana colhida do país (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB, 2017a).

A produção de cana-de-açúcar estimada para a safra 2017/2018 é de 646,4 milhões de toneladas, conforme o segundo levantamento de Acompanhamento da Safra Brasileira da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2017b). Segundo Alcarde (2017), a quantidade de bagaço produzida depende do teor de fibra da cana processada, que apresenta, em média, 46% de fibra e 50% de umidade, resultando em, aproximadamente, 280 quilogramas de bagaço por tonelada de cana processada. Assim, estima-se que, na safra 2017/2018, serão gerados em torno de 181,0 milhões de toneladas de bagaço.

Grande parte do bagaço produzido é utilizada pela própria indústria sucroalcooleira como combustível nas caldeiras, gerando vapor para aquecimento e para geração de energia elétrica, que é consumida na própria usina e, quando há excedente, vendida. No entanto, ainda resta uma quantidade significativa desse material. Estudos apontam que, em razão de suas características, o bagaço remanescente pode ser empregado na alimentação animal, na construção civil, na fabricação de papel e na indústria química.

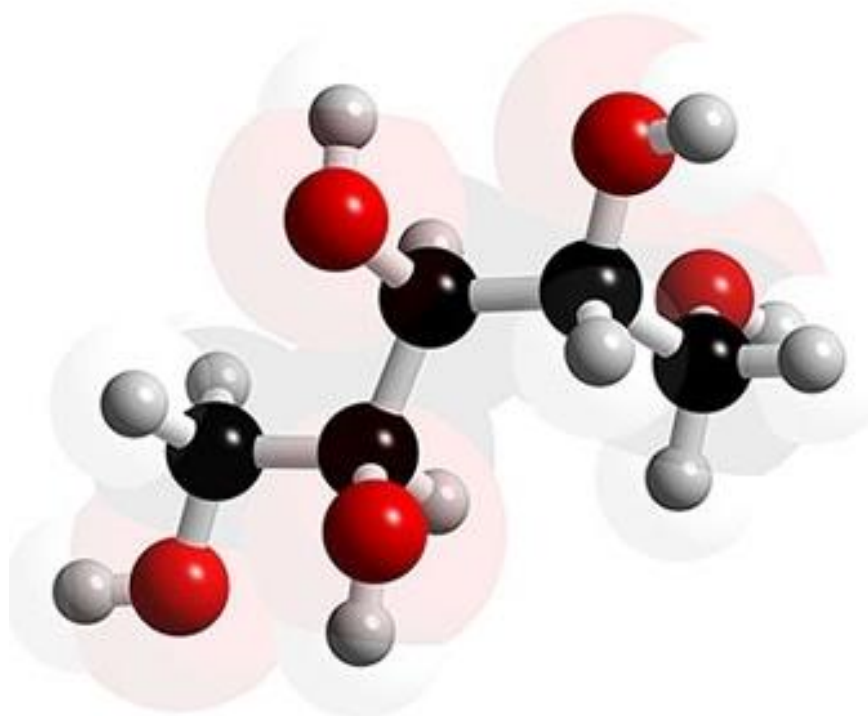
Além disso, de acordo com a literatura, o bagaço de cana-de-açúcar também pode ser aproveitado em processos de bioconversão, como a produção de xilitol, devido à elevada concentração de xilose na fração hemicelulósica (até 80% do total de açúcar) (RODRIGUES et al., 2001 *apud* ARRUDA, 2011) e à capacidade de assimilação dessa pentose por vários microrganismos (ARRUDA, 2011).

2.2. Xilitol

2.2.1. Propriedades e aplicações

O xilitol é um poliálcool de cinco carbonos presente em diversas frutas e vegetais, bem como em leveduras, líquens e cogumelos (PARAJÓ; DOMÍNGUEZ; DOMÍNGUEZ, 1998a *apud* TAMANINI; HAULY, 2004). De estrutura aberta, a molécula de xilitol possui cinco grupos hidroxila (OH), cada um deles ligado a um átomo de carbono (Figura 2.2), razão pela qual esse composto é conhecido como poliidroxiálcool acíclico ou pentitol (MÄKINEN, 2000 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002).

Figura 2.2. Molécula de xilitol.



Fonte: Governo do Estado do Paraná, 2017.

Trata-se de um adoçante na forma de pó cristalino branco e inodoro, cujas propriedades físico-químicas são encontradas no Quadro 2.3. Quando comparado à sacarose, apresenta poder adoçante semelhante e valor calórico reduzido, além de independer de insulina para sua metabolização, sendo, portanto, tolerado por diabéticos.

Quadro 2.3. Características e propriedades físico-químicas do xilitol.

Propriedades	Características ou valores
Fórmula empírica	C ₅ H ₁₂ O ₅
Massa molar	152,15 g.mol ⁻¹
Aparência	Pó cristalino
Cor	Branca
Sabor	Doce
Odor	Nenhum
Ponto de fusão	92-96°C
Ponto de ebulição	216°C (1 atm)
pH (solução aquosa a 10%)	5-7
Densidade (solução aquosa a 10%)	1,03 g.mL ⁻¹
Solubilidade em água a 20°C	63 g/100 g solução
Viscosidade (solução aquosa a 10%)	1,23 cP (a 20°C)
Calor de solução (endotérmico)	34,8 cal.g ⁻¹
Valor calórico	2,4 kcal.g ⁻¹
Índice de refração (25°C)	1,3471 (solução aquosa a 10%)
Higroscopicidade	Em elevada umidade relativa, é mais higroscópico que a sacarose e menos que o sorbitol
Poder adoçante	Similar ao da sacarose, superior ao do sorbitol e manitol
Estabilidade	Estável a 120°C (não carameliza)

Fonte: Hyvonen et al. (1982); Bar (1991) *apud* Mussato; Roberto (2002).

Apesar de a Organização Mundial da Saúde (OMS) não estabelecer um limite para sua ingestão diária, de acordo com Emodi e Culbert et al., o xilitol é bem tolerado pelo corpo humano quando ingerido em doses de no máximo 20g e desde que a quantidade consumida por dia não ultrapasse 60 g, já que o uso de maiores quantidades provoca efeito laxativo (ARRUDA, 2011). A *Food and Drug Administration* (FDA), que classifica o xilitol como um aditivo do tipo GRAS (*Generally Regarded as Safe*), indica que seu consumo é permitido na quantidade necessária para atingir o adoçamento necessário. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) classifica-o como um aditivo alimentar com limite *quantum satis*, ou seja, pode ser empregado na quantidade necessária para obter o efeito tecnológico desejado desde que não altere a identidade e a genuinidade do produto (ANVISA, 2013).

O xilitol encontra vasta aplicação na indústria de alimentos e de bebidas, assim como no ramo farmacêutico e odontológico. Em razão de sua elevada estabilidade química e microbiológica, ele atua, mesmo em baixas concentrações, como conservante de produtos alimentícios, oferecendo resistência ao crescimento de microrganismos e prolongando a durabilidade desses produtos (BAR, 1991 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002). Além disso, devido à ausência de grupos aldeídicos e cetônicos em sua molécula, o xilitol não participa de reações com aminoácidos (reações de Maillard), responsáveis por escurecimento e diminuição do valor nutricional das proteínas. Dessa maneira, pode ser

utilizado em produtos nos quais essas reações são indesejáveis, como alimentos infantis obtidos por secagem (MANZ et al., 1973 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002). Outra propriedade de interesse industrial é seu elevado calor de solução endotérmico (Quadro 2.3), que faz com que o xilitol produza um agradável efeito refrescante na boca quando entra em contato com a saliva, realçando o efeito refrescante de produtos com sabor de menta, como balas e gomas de mascar (PEPPER; OLINGER, 1988 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002). Na indústria farmacêutica, o xilitol pode ser empregado como adoçante ou excipiente na formulação de xaropes, tônicos e vitaminas (BAR, 1991 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002). Já na área de dentefrícios, é usado em cremes dentais e soluções para lavagem bucal (MUSSATO; ROBERTO, 2002).

No que diz respeito ao tratamento de patologias, o xilitol também possui diversas aplicações. Nesse âmbito, uma propriedade do xilitol que merece destaque é a anticariogenicidade. Essa propriedade é determinada principalmente pelo fato de o xilitol não ser fermentado por bactérias do gênero *Streptococcus* – bactérias encontradas na flora bucal que, em condições ácidas, produzem grande quantidade de ácido láctico e sintetizam polissacarídeos extracelulares, que aumentam a adesão da placa bacteriana na superfície dos dentes (KANDEMAN, 1997 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002). Sendo assim, a proliferação dessas bactérias torna-se limitada e, com a redução da concentração de *Streptococcus mutans*, diminui a quantidade de polissacarídeos insolúveis e aumenta a de polissacarídeos solúveis, o que resulta em uma placa menos aderente e de fácil remoção pela escovação habitual dos dentes (KÖNIG, 2000; GALES; NGUYEN, 2000 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002). De maneira geral, o xilitol contribui para a saúde bucal das seguintes maneiras: reduzindo a incidência de cáries; estabilizando íons cálcio e fosfato na saliva e, conseqüentemente, remineralizando os dentes; estabilizando as cáries já formadas; reduzindo o crescimento de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* na saliva; estimulando a formação da saliva (sem aumentar a produção de ácidos na placa dentária); controlando o pH da placa e a capacidade tamponante da saliva, após o consumo de sacarose (KANDELMAN, 1997; MÄKINEN, 2000 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002).

Outra propriedade relevante é o fato de, ao contrário dos açúcares convencionais, o xilitol depender de insulina para ser metabolizado pelo organismo, sendo, por isso, bem tolerado por portadores de *Diabetes mellitus* Tipo I ou Tipo II (MANZ et al., 1973; PEPPER; OLINGER, 1988; BAR, 1991 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002). De fato, nenhuma das duas principais vias de absorção do xilitol (fígado e flora intestinal) é mediada pela insulina (MUSSATO; ROBERTO, 2002).

Pesquisas com animais e seres humanos apontam que o xilitol também apresenta resultados no tratamento de distúrbios no metabolismo de lipídios e de lesões renais e parenterais, bem como na prevenção de otites, infecções pulmonares e osteoporose (MUSSATO; ROBERTO, 2002).

2.2.2. Mercado

Ao longo dos últimos anos, o uso comercial do xilitol, visto como um substituto do açúcar aumentou significativamente, principalmente no mercado de alimentos, devido às suas vantajosas propriedades (poder adoçante, valor calórico, anticariogenicidade, metabolização independente de insulina, entre outros) e à preocupação crescente com a saúde, que impulsionou o crescimento do mercado de edulcorantes alternativos.

De acordo com a análise feita em “*Xylitol – A Global Market Overview*” pela *Industry Experts*, o mercado global de xilitol foi estimado em 190,9 mil toneladas avaliadas em US\$ 725,9 milhões em 2016 e deverá chegar a 266,5 mil toneladas avaliadas acima de US\$ 1 bilhão em 2022.

No Brasil, as indústrias estão começando a incluir o xilitol na formulação de gomas de mascar, balas, confeitos, compotas, caramelos, chocolates, geléias, sobremesas e pudins, na área de comestíveis, e de cremes dentais e soluções para lavagem bucal, na área de dentifrícios (MUSSATO; ROBERTO, 2002).

Segundo a *Global Market Insights*, quatro das principais indústrias do mercado global de xilitol atendem mais de 40% da demanda mundial. São elas: Danisco (DuPont), *Futase Pharmaceutical*, *Yucheng Lujian* e *Hangzhou Shouxing*. Outros fabricantes relevantes incluem *Roquette Freres*, *ZuChem, Inc*, *CSPC Shengxue Glucose*, *Thomson Biotech* e *DFI Corporation*. A maior parte da capacidade de produção global de xilitol está concentrada na China (*GLOBAL MARKET INSIGHTS*, 2016).

2.3. Obtenção do xilitol

O xilitol pode ser obtido através das seguintes maneiras: extração sólido-líquido, redução química da xilose e conversão biotecnológica de soluções contendo xilose (DOMÍNGUEZ et al., 1999 *apud* TAMANINI; HAULY, 2004).

2.3.1. Extração sólido-líquido

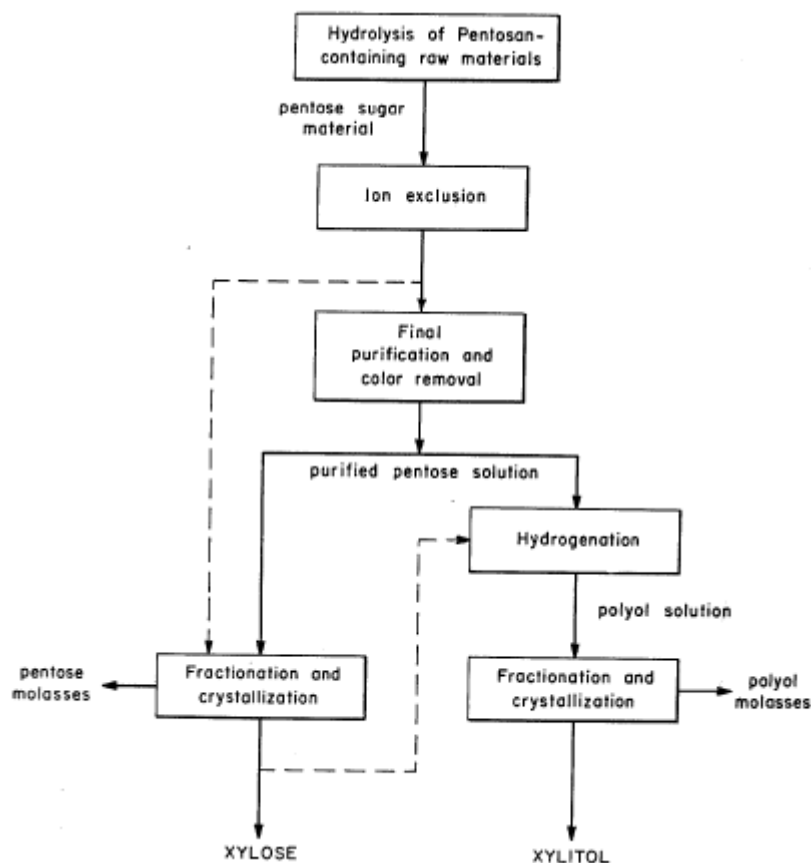
O xilitol presente em diversas frutas e vegetais, bem como em leveduras, líquens e cogumelos pode ser recuperado por extração sólido-líquido. No entanto, a baixa concentração (inferior a 0,9g/100g) faz com que esse processo seja economicamente inviável (PARAJÓ; DOMÍNGUEZ; DOMÍNGUEZ, 1998a *apud* TAMANINI; HAULY, 2004).

2.3.2. Redução química da xilose

A produção de xilitol iniciou-se na Finlândia na década de 70 após o desenvolvimento da produção em escala de xilose através da separação cromatográfica da fração hemicelulósica de madeiras. Em seguida, a redução catalítica de xilose em xilitol sob pressão e temperatura elevadas foi alcançada e, posteriormente, refinada como o método industrial de produção de xilitol (DASGUPTA et al., 2017). Esse processo químico foi patenteado em 1977 por Asko J. Melaja e Lauri Hämäläinen.

O processo pode ser dividido em quatro etapas básicas: hidrólise ácida de materiais lignocelulósicos ricos em xilana; purificação do hidrolisado até se obter uma solução de xilose de elevada pureza; hidrogenação catalítica da xilose pura a xilitol; purificação e cristalização do xilitol (MELAJA; HÄMÄLÄINEN, 1977 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002). Isso pode ser visto na Figura 2.3.

Figura 2.3. Produção de xilitol e de xilose.



Fonte: Melaja; Hämäläinen (1977).

Na etapa de purificação do hidrolisado, uma combinação de cromatografia de troca iônica (ZAMANI, 2015; HEIKKILAE et al., 1997 *apud* DASGUPTA et al., 2017) e carbono ativado é empregada para remover sais dissolvidos, produtos de degradação com carga e coloração (WEI et al, 2010; GURGEL et al., 1995 *apud* DASGUPTA et al., 2017). A hidrogenação catalítica é convencionalmente conduzida em um reator de suspensão trifásico com catalisador de níquel Raney (SU et al., 2013 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002) sob elevadas pressões (31-40 atm) e temperaturas (100-130°C) e tem um tempo de duração de 3 a 5 horas, dependendo das condições de temperatura e pressão empregadas, atingindo um rendimento de 50 a 60% de xilitol (JAFFE et al., 1974; MELAJA; HÄMÄLÄINEN, 1977 *apud* MUSSATO; ROBERTO, 2002). Após a remoção do catalisador por filtração e troca iônica, a solução de xilitol é concentrada, fracionada por cromatografia e cristalizada para obtenção do produto puro (LIMA; BERLINCK, 2003 *apud* TAMANINI; HAULY, 2004).

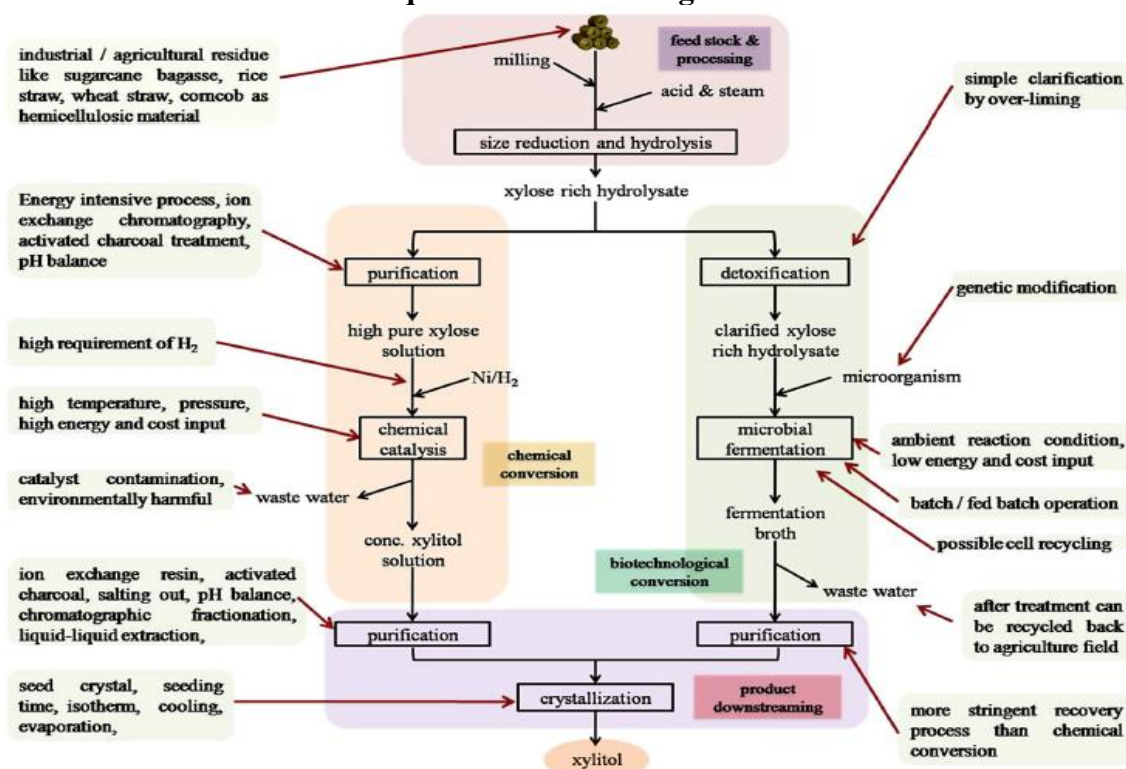
A rota química para a produção de xilitol oferece alto rendimento e eficiência de conversão, mas sofre grandes desvantagens em termos de equipamentos especiais e

dispendiosos, extensas etapas de purificação intermediária (devido à necessidade de alimentação de xilose pura), recuperação de produtos, desativação catalítica e reciclagem de catalisadores (complicada devido à homogeneidade da solução), com enormes requisitos de energia, o que torna o processo global muito caro (DASGUPTA et al., 2017).

2.3.3. Conversão biotecnológica de soluções contendo xilose

As desvantagens no método convencional de produção de xilitol, como a necessidade de utilização de xilose com alto grau de pureza e de elevadas pressões e temperaturas no processo, têm motivado a busca por vias alternativas de obtenção desse produto. Outra motivação é o alto nível de poluição e a consequente necessidade de tratamento dos resíduos inerentes à rota química (CUNHA et al., 2005). Um dos processos mais atrativos é a via microbiológica (WINKELHAUSEN; KUSMANOVA, 1998 *apud* CUNHA et al., 2005), que apresenta vantagens como o uso de condições amenas de pressão e temperatura (SILVA et al., 1997 *apud* CUNHA et al., 2005), a possibilidade de utilização de xilose impura, uma vez que os microrganismos são capazes de converter xilose em xilitol diretamente a partir do hidrolisado hemicelulósico (ROSEIRO et al., 1991 *apud* CUNHA et al., 2005) e a não formação de resíduos tóxicos, que precisariam ser removidos nas etapas de purificação (OJAMO; YLINEN; LINKO, 1988 *apud* CUNHA et al., 2005). A Figura 2.4 apresenta as principais características desses processos de produção.

Figura 2.4. Principais características e desafios da produção de xilitol pelas rotas química e biotecnológica.



Fonte: Dasgupta et al. (2017).

A maioria dos microrganismos com capacidade para fermentar xilose para produção de xilitol pertence às leveduras, com poucas exceções de bactérias (RAFIQUL; SAKINAH, 2013; PENG et al., 2011 *apud* DASGUPTA et al., 2017). Fungos filamentosos também são relatados para produzir xilitol, mas seu rendimento é significativamente baixo (DASGUPTA et al., 2017). O Quadro 2.4 apresenta a produção de xilitol por diferentes microrganismos.

Quadro 2.4. Produção microbiana de xilitol.

Microrganismo	Temperatura	pH	Concentração inicial de xilose	Título de xilitol	Conversão	Produtividade volumétrica	Referência
Gênero	°C	-	g.L ⁻¹	g.L ⁻¹	g.g ⁻¹	g.L ⁻¹ .h ⁻¹	-
Bacteria							
<i>Enterobacter liquefaciens</i> 553	30	7,0	100	33,3	-	0,35	Yoshitake et al. (1973)
<i>Corynebacterium</i> sp. B-4247	30	7,2	100	40	0,48	0,8	Rangaswamy e Agblevor (2002)
Fungo							
<i>Penicillium crustosum</i> CCT 4034	30	6,0	11,50	0,52	-	0,005	Sampaio et al. (2003)
<i>Aspergillus niger</i> PY11	30	5,0	30	1,39	0,101	-	Kang et al. (2016)
Levedura							
<i>Candida tropicalis</i> IF00618	30	5,0	172	-	0,64	2,67	Horitsu et al. (1992)
<i>Candida tropicalis</i> KCTC 7221	30	6,5	150	110	0,81	5,4	Kim et al. (2004)
<i>Candida</i> sp. 559-9	30	5,0	200	173	~0,90	1,44	Ikeuchi et al. (1999)
<i>Pichia</i> sp.	28	-	40	25	0,58	0,5	Rao et al. (2007)
<i>Pichia stipitis</i> CBS 5773	32	5,7	52	-	0,52	0,44	Neeru et al. (2013)
<i>Debaryomyces hansenii</i> UFV-170	30	6,0	10	5,84	0,54	0,24	Sampaio et al. (2004)
<i>Debaryomyces nepalensis</i> NCYC 3413	30	77,0	100	36	0,44	-	Kumdam et al. (2012)
<i>Hansenula anomala</i> NCAIM Y.01499	30	4,5	50	21,7	0,47	0,23	Mareczky et al. (2015)
<i>Kluyveromyces marxianus</i> IMB2	45	4,5	50	7,78	0,42	0,24	Mueller et al. (2011)
<i>Kluyveromyces marxianus</i> CCA510	30	6,0	36,44	12,27	0,50	0,170	De Albuquerque et al. (2015)

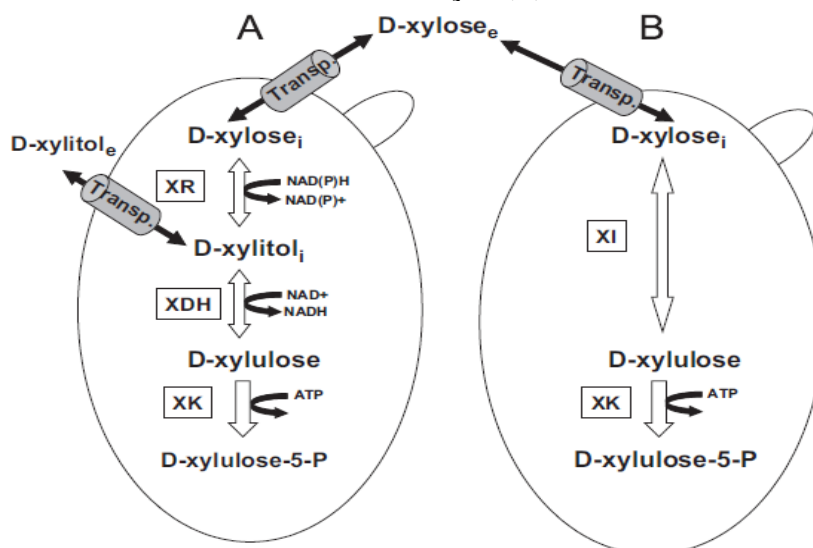
Fonte: Dasgupta et al. (2017).

O metabolismo da xilose inicia-se com o seu transporte através da membrana celular por diferentes mecanismos (WINKELHAUSEN; KUSMANOVA, 1998 *apud* ARRUDA, 2011). Já no interior das células, a xilose é reduzida a xilitol em uma reação catalisada pela enzima xilose redutase (XR; E.C. 1.1.1.21) ligada à nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatada ou não em sua forma reduzida (NADPH/NADH) (HAHN-HÄGERDAL et al., 1994; WINKELHAUSEN; KUSMANOVA, 1998 *apud* ARRUDA, 2011). O xilitol resultante é secretado ou oxidado a xilulose pela enzima xilitol desidrogenase (XDH; EC 1.1.1.9) (GRANSTRÖM et al., 2007 *apud* DASGUPTA et al., 2017) ligada à nicotinamida

adenina dinucleotídeo fosfatada ou não em sua forma oxidada (NADP⁺/NAD⁺) (ARRUDA, 2011). Então, a xilulose entra na via das pentoses-fosfato pela conversão em xilulose-5-fosfato catalisada pela enzima xiluloquinase (XK; EC 2.7.1.17) (PARACHIN et al., 2011). Por sua vez, a xilulose-5-fosfato pode ser convertida, através de reações não oxidativas da via das pentoses-fosfato, em gliceraldeído-3-fosfato e frutose-6-fosfato. Estes compostos intermediários podem ser metabolizados pela via Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), que está conectada a outras vias, como o ciclo de Krebs e as reações de fermentação alcoólica (HAHN-HÄGERDAL et al., 1994; WINKELHAUSEN; KUSMANOVA, 1998 *apud* ARRUDA, 2011).

Por outro lado, o metabolismo bacteriano da xilose inicia-se com a conversão de xilose em xilulose mediada pela enzima xilose isomerase (XI; EC 5.3.1.5) e prossegue através da via das pentoses-fosfato para manutenção e crescimento celular, ignorando a via de produção de xilitol devido à ausência de XR e XDH (DASGUPTA et al., 2017). Poucas bactérias, como *Enterobacter liquefaciens* (GHINDAE et al., 2010; YOSHITAKE et al., 1973 *apud* DASGUPTA et al., 2017) e *Corynebacterium sp.* (RANGASWAMY; AGBLEVOR, 2002 *apud* DASGUPTA et al., 2017) fermentam xilose em xilitol (DASGUPTA et al., 2017). A Figura 2.5 esquematiza esses dois mecanismos.

Figura 2.5. Etapas iniciais da utilização de xilose pelas vias de redução/oxidação (A) e de isomerização (B).



Fonte: Parachin et al. (2011).

Em geral, as leveduras são consideradas as melhores produtoras de xilitol, principalmente as do gênero *Candida* (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998 *apud*

CASSALES, 2010). As leveduras são preferidas para a fermentação de xilitol devido à alta taxa de assimilação de pentose e produtividade de xilitol e aos níveis de expressão de XR e XDH estáveis (RAFIQUL; SAKINAH, 2013 *apud* DASGUPTA, 2017).

Além do microrganismo, diversos fatores influenciam o processo fermentativo de obtenção de xilitol, como presença de glicose (FELIPE, 1994), concentração de xilose (FELIPE, 1994), pH e temperatura (FELIPE, 1994) e suprimento de oxigênio (FELIPE, 1994).

A utilização preferencial de glicose é um efeito evidente na fermentação de misturas de xilose e glicose (du PREEZ et al., 1986a *apud* FELIPE, 1994). A repressão à utilização da xilose pela glicose depende da concentração de glicose no meio de fermentação, conforme observado em estudos conduzidos com leveduras por Panchal et al. (1998) (FELIPE, 1994). Galactose, celobiose e arabinose não são inibitórios na assimilação de xilose (du PREEZ et al., 1986a; BICHO et al., 1998 *apud* FELIPE, 1994).

A obtenção de xilitol é favorecida com a elevação da concentração inicial de xilose até certo nível, uma vez que concentrações elevadas deste açúcar resultam em queda no rendimento (DELGENES et al., 1998; VONGSUVANLERT; TANI, 1989; MEYRIAL et al., 1991; VANDESKA et al., 1993; NOLLEAU et al., 1993 *apud* FELIPE, 1994). O aumento excessivo da concentração de xilose provoca um decréscimo na velocidade de crescimento do microrganismo e uma conseqüente queda na produção de xilitol (SILVA; AFSCHAR, 1994 *apud* MORAES, 2008).

O suprimento de oxigênio também exerce influência na fermentação de xilose, sendo a eficiência de fermentação alcançada pela disponibilidade de oxigênio no meio, onde o acúmulo de xilitol ocorre em função da velocidade de transferência de oxigênio (DELGENES et al., 1989 *apud* FELIPE, 1994). Dentre os vários parâmetros avaliados na bioconversão de xilose em xilitol por *Candida guilliermondii*, observou-se que a variação acima ou abaixo de um valor ótimo para o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio leva a uma diminuição significativa do fator de conversão e/ou produtividade em xilitol (SILVA; FELIPE; MANCILHA, 1998; ROBERTO; MANCILHA; SATO, 1999; MARTÍNEZ; SILVA; FELIPE, 2000; BRACO et al., 2009 *apud* ARRUDA, 2011). Entretanto, o valor ótimo para o coeficiente de transferência de oxigênio ainda é controverso. Em estudos sobre a produção de xilitol por leveduras do gênero *Candida*, já se obtiveram valores ótimos de 100 h⁻¹ (AGUIAR JÚNIOR et al., 2002 *apud* ARRUDA, 2011), de 47-50 h⁻¹ (WINKELHAUSEN; AMARTEY; KUZMANOVA, 2004; BRANCO et al., 2009 *apud* ARRUDA, 2011) e de 15-20 h⁻¹ (ROBERTO; MANCILHA; SATO, 1999;

MARTÍNEZ; SILVA; FELIPE, 2000; RODRIGUES, 2005; CANILHA, 2006; SILVA et al., 2007; MORAES, 2008; CHENG et al., 2011 *apud* ARRUDA, 2011).

No processo de obtenção de xilitol a partir de *Candida guilliermondii* cultivada em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, já foram estabelecidos parâmetros que favorecem a bioconversão, como concentração (0,1 a 1,0 g.L⁻¹) e idade (24h) do inóculo (FELIPE et al., 1997a *apud* ARRUDA, 2011), pH (5,5 a 6,5) (FELIPE et al., 1997b *apud* ARRUDA, 2011), temperatura (30°C) (FELIPE et al., 1997a; SENE et al., 2000 *apud* ARRUDA, 2011), concentração de xilose (50 a 60 g.L⁻¹) (FELIPE et al., 1997a *apud* ARRUDA, 2011) e relação glicose:xilose (1:5) (SILVA; FELIPE, 2006 *apud* ARRUDA, 2011).

Também é importante considerar a influência exercida por compostos tóxicos aos microrganismos. No processo de hidrólise, são liberados produtos indesejáveis para o processo fermentativo. Alguns deles são: furfural, proveniente da degradação de pentoses; 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), da desidratação de hexoses; ácido fórmico, da degradação de compostos derivados do furano (furfural ou 5- HMF); ácido levulínico, da degradação de 5-HMF (PALMQVIST; HAHN-HÄGERDAL, 2000 *apud* TAMANINI; HAULY, 2004). São gerados ainda ácido acético, proveniente dos grupos acetil; compostos não estruturais correspondentes à fração extrativa; produtos de degradação da lignina (CRUZ et al., 2000 *apud* TAMANINI; HAULY, 2004) (fenóis e outros compostos aromáticos); e metais pesados, como cromo, cobre, ferro e níquel, provenientes da corrosão dos equipamentos de hidrólise (RODRIGUES et al., 2001 *apud* TAMANINI; HAULY, 2004). Uma vez presentes no hidrolisado, esses compostos são inibidores potenciais do metabolismo microbiano (ALVES et al., 1998 *apud* TAMANINI; HAULY, 2004), por meio da inibição das enzimas XR e XDH (ALVES et al., 2002 *apud* TAMANINI; HAULY, 2004), limitando o consumo da fonte de carbono e interferindo na cinética de crescimento (MORITA; SILVA; MAUGERI, 2003 *apud* TAMANINI; HAULY, 2004).

Além da compreensão da influência das condições de processo, para melhorar a produção de xilitol, é necessário o entendimento do mecanismo de reação, possibilitado pela modelagem cinética. No entanto, a literatura sobre a modelagem cinética da produção de xilitol é escassa (MOHAMAD et al., 2016). Mohamad et al. (2016) conduziram um estudo com o objetivo de desenvolver um modelo de cinética de reação para representar a produção de xilitol por fermentação usando *Candida tropicalis*. Nesse estudo, os parâmetros cinéticos dos modelos foram expressos como função da concentração inicial de xilose e da concentração de oxigênio, relacionada à velocidade de agitação. A

concentração de substrato e de oxigênio são essenciais para descrever o crescimento celular e o processo de produção em sistemas de fermentação para produção de xilitol (MOHAMAD et al., 2016). Experimentos com *Candida tropicalis* mostraram que, para uma alta concentração de xilose em uma taxa de aeração ótima, ocorreu um crescimento celular significativo e a taxa de produção de xilitol foi consideravelmente melhorada (GHINDEA et al., 2010 *apud* MOHAMAD et al., 2016).

A recuperação do xilitol é a etapa mais complexa de todo o processo fermentativo devido à baixa concentração do produto e à complexa composição do caldo fermentado (DE FAVERI et al., 2004). Santos (2004) testou diferentes zeólitas na recuperação de xilitol obtido da fermentação por *Candida guilliermondii* em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. A técnica se mostrou eficaz, sendo que a utilização de um sistema composto por coluna de leito fixo empacotada com a zeólita BaWE conduziu à maior eficiência de recuperação do xilitol (94,5%). Martínez (2005) recuperou xilitol por cristalização do caldo fermentado obtido a partir de solução sintética e a partir da fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, obtendo cristais com 98-99% e 92-94% de pureza, respectivamente (ARRUDA, 2011).

3. METODOLOGIA

3.1. Simulação da produção de xilitol a partir de solução de xilose utilizando *Candida tropicalis*

Inicialmente, realizou-se a simulação da produção de xilitol no *software* livre *Scilab* seguindo o modelo cinético proposto por Mohamad et al. (2016) através do estudo do processo fermentativo em batelada de solução de xilose utilizando *Candida tropicalis*. O modelo cinético e os respectivos parâmetros, bem como as condições iniciais usadas, são apresentados a seguir.

3.1.1. Modelo cinético

O desenvolvimento do modelo dinâmico não-estruturado de cinética de reação para produção de xilitol foi baseado nas seguintes premissas:

1. Crescimento da levedura representado sob condições de substrato limitado e controlado por condições limitantes de oxigênio;
2. Mistura no reator considerada homogênea;
3. Balanço de massa realizado dentro do reator.

3.1.1.1. Modelo da taxa de crescimento celular

A Equação 1 descreve a taxa de crescimento celular (r_X) de *Candida tropicalis* no processo em questão.

$$r_X = \frac{dC_X}{dt} = \mu \cdot C_X \quad (1)$$

Em que:

μ : velocidade específica de crescimento, h^{-1} ;

C_X : concentração de células no meio de fermentação, $g.L^{-1}$.

Pode-se assumir que a relação entre a velocidade específica de crescimento (μ) e a concentração de substrato no meio de fermentação (C_S) forma a cinética limitante ou de saturação, representada aqui pela equação de Monod (Equação 2).

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{C_S}{C_S + K_{li,S}} \quad (2)$$

Em que:

μ_{max} : velocidade específica de crescimento máxima, h^{-1} ;

$K_{li,S}$: constante de limitação do substrato, $g.L^{-1}$.

Segundo Mohamad et al. (2016), os resultados experimentais indicaram que o crescimento dinâmico de *Candida tropicalis* foi limitado por oxigênio e inibido por altas concentrações de xilose. Essa limitação múltipla de substrato é sempre considerada não-competitiva e influenciou a taxa de crescimento de maneira multiplicativa, não aditiva (Koutinas et al., 2003). Dessa forma, modificou-se o modelo de Monod (Equação 2), resultando na Equação 3.

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{C_S}{C_S + K_{li,S}} \cdot \frac{K_{in,S}}{K_{in,S} + C_S} \cdot \frac{C_{O_2}}{C_{O_2} + K_{li,O_2}} \quad (3)$$

Em que:

$K_{in,S}$: constante de inibição por substrato, $g.L^{-1}$;

C_{O_2} : concentração de oxigênio dissolvido no meio de fermentação, $g.L^{-1}$;

K_{li,O_2} : constante de limitação do oxigênio dissolvido, $g.L^{-1}$.

3.1.1.2. Modelo de degradação de substrato e de produção de xilitol

A Equação 4 contém a expressão para o cálculo da taxa de consumo de substrato (r_S), relacionando a taxa de crescimento celular (r_X) e a produção de xilitol (P). A taxa de consumo de substrato determina a concentração de xilose no meio líquido em qualquer instante da fermentação.

$$r_S = -\frac{dC_S}{dt} = \frac{1}{Y_{XS}} \cdot r_X + \frac{1}{Y_{PS}} \cdot P \quad (4)$$

Em que:

Y_{XS} : conversão de células por unidade de substrato;

Y_{PS} : conversão de produto por unidade de substrato.

A produção de xilitol foi calculada considerando-se a limitação e a inibição substrato-para-produto, através da Equação 5.

$$P = A \cdot C_X \cdot \frac{C_S}{C_S + K_{li,P}} \cdot \frac{K_{in,P}^2}{K_{in,P}^2 + C_S^2} \cdot \left[1 - \left(\frac{C_{O_2}}{K_{in,O_2}} \right)^2 \right] \quad (5)$$

Em que:

A : constante numérica;

$K_{li,P}$: constante de limitação do produto, g.L⁻¹;

$K_{in,P}$: constante de inibição por produto, g.L⁻¹;

K_{in,O_2} : constante de inibição por oxigênio dissolvido, g.L⁻¹.

Por sua vez, a Equação 6 expressa a taxa de produção de xilitol (r_p) levando-se em consideração a taxa de decaimento do produto (δ), uma vez que há consumo de xilitol pelo microrganismo quando o substrato começa a ser esgotado.

$$r_p = \frac{dC_P}{dt} = P - \delta \quad (6)$$

Em que:

C_P : concentração de produto no meio de fermentação, g.L⁻¹.

3.1.1.3. Balanço de massa do oxigênio

O crescimento da levedura e a acumulação de xilitol são dependentes da disponibilidade de oxigênio no meio de fermentação, conforme introduzido nas equações 3 e 5. Portanto, considerar o balanço de oxigênio é importante para o estudo cinético. O balanço de massa para o oxigênio gasoso é apresentado na Equação 7 e para o oxigênio dissolvido na fase líquida, na Equação 8.

$$\frac{dm_{gO_2}}{dt} = v_g \cdot (C_{gO_2,in} - C_{gO_2}) - V \cdot N_{O_2} \quad (7)$$

$$\frac{dm_{O_2}}{dt} = V \cdot N_{O_2} - V \cdot Y_{O_2} \cdot C_X \cdot \frac{C_{O_2}}{K_{O_2} + C_{O_2}} \quad (8)$$

Em que:

m_{gO_2} : massa de oxigênio gasoso, g;

v_g : vazão de oxigênio gasoso na fase líquida, $L^{-1}.h^{-1}$;

$C_{gO_2,in}$: concentração de oxigênio gasoso na entrada do biorreator, $g.L^{-1}$;

C_{gO_2} : concentração de oxigênio gasoso na saída do biorreator, $g.L^{-1}$;

V : volume líquido, L;

N_{O_2} : taxa de transferência de oxigênio, $g.L^{-1}.h^{-1}$;

m_{O_2} : massa de oxigênio dissolvido, g;

Y_{O_2} : conversão de oxigênio por célula;

K_{O_2} : constante do oxigênio dissolvido, $g.L^{-1}$.

A relação entre v_g e vvm (volume de gás por volume de líquido por minuto) é dada pela Equação 9.

$$v_g = 60 \times V \times vvm \quad (9)$$

As equações 10 e 11 mostram as relações para o cálculo da massa de oxigênio dissolvido e de oxigênio gasoso, respectivamente.

$$m_{O_2} = C_{O_2} \times V \quad (10)$$

$$m_{gO_2} = C_{gO_2} \times \varepsilon \times V \quad (11)$$

Em que:

ε : razão entre volume de gás e volume de líquido dentro do biorreator.

A taxa de transferência de oxigênio da fase gasosa para a fase líquida é descrita pela Equação 12.

$$N_{O_2} = k_L a \times (C_{eq,O_2} - C_{O_2}) \quad (12)$$

Em que:

$k_L a$: coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio, h^{-1} .

C_{eq,O_2} : concentração de oxigênio no equilíbrio, $g.L^{-1}$;

A concentração de oxigênio dissolvido no equilíbrio é encontrada através da Equação 13.

$$C_{eq,O_2} = K_{eq} \times C_{gO_2} \quad (13)$$

Em que:

K_{eq} : constante de equilíbrio, $g.L^{-1}$.

3.1.1.4. Parâmetros

O Quadro 3.1 contém os valores dos parâmetros apresentados nas equações de 1 a 13.

Quadro 3.1. Parâmetros cinéticos.

Parâmetro	Valor	Unidade
A	0,266	-
$C_{gO_2,in}$	1,2864	$g.L^{-1}$
K_{eq}	1,29	$g.L^{-1}$
K_{in,O_2}	25,15	$g.L^{-1}$
$K_{in,P}$	376,86	$g.L^{-1}$
$K_{in,S}$	393,07	$g.L^{-1}$
$k_L a$	32,6	h^{-1}
K_{li,O_2}	0,0009	$g.L^{-1}$
$K_{li,P}$	25	$g.L^{-1}$
$K_{li,S}$	50	$g.L^{-1}$
K_{O_2}	0,002	$g.L^{-1}$
V	3,5	L
vvm	0,0003	min^{-1}
Y_{O_2}	0,51	$g.g^{-1}$
Y_{PS}	0,36	$g.g^{-1}$
Y_{XS}	0,12	$g.g^{-1}$
μ_{max}	0,12	h^{-1}
δ	0,01	$g.L^{-1}.h^{-1}$
ε	0,4286	-

Fonte: Adaptado de Mohamad et al. (2016).

Excetuando-se a concentração de oxigênio gasoso na entrada do biorreator ($C_{gO_2,in}$), o volume de gás por volume de líquido por minuto (vvm) e a razão entre o volume de gás e o volume de líquido dentro do biorreator (ε), todos os parâmetros apresentados no Quadro 3.1 foram obtidos por Mohamad et al. (2016) através da simulação e do ajuste dos dados experimentais de crescimento celular, consumo de xilose, produção de xilitol e

concentração de oxigênio dissolvido no caldo de fermentação de acordo com o modelo proposto. É importante ressaltar que Mohamad et al. (2016) utilizaram uma correlação matemática proposta por Kapic e Heindal para prever o valor de $k_L a$. No entanto, neste trabalho, utilizou-se o valor de $k_L a$ que correspondeu à máxima produção de xilitol no conjunto de experimentos em que se variou a velocidade de agitação.

Sabe-se que o biorreator possuía um volume total de 5 L e um volume de trabalho (volume líquido) de 3,5 L. Dessa maneira, pôde-se encontrar o volume de gás (1,5 L) e a razão entre o volume de gás e o volume de líquido dentro do biorreator (ε), como demonstrado na Equação 14.

$$\varepsilon = \frac{1,5}{3,5} = 0,4286 \quad (14)$$

Também se sabe que a taxa de aeração foi mantida em $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, que corresponde a $0,06 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$. Sendo assim, calculou-se o volume de gás por volume de líquido por minuto (vvm) (Equação 15).

$$vvm = \frac{0,06}{3,5} = 0,0171 \text{ h}^{-1} \quad (15)$$

A concentração de oxigênio gasoso na entrada do biorreator ($C_{gO_2,in}$) foi determinada considerando-se a taxa de aeração de $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ a 30°C e 1 atm . Primeiramente, encontrou-se o número de moles pela equação dos gases ideais (Equação 16) e, em seguida, a referida concentração, como mostra o conjunto de equações abaixo.

$$P_g \cdot V_g = n \cdot R \cdot T_g \quad (16)$$

Em que:

P_g : pressão do gás;

V_g : volume ocupado pelo gás;

n : número de moles do gás;

R : constante universal dos gases;

T_g : temperatura do gás.

$$1 \cdot 1,5 = n \cdot 0,08206 \cdot 303,15 \quad (17)$$

$$n = 0,0603 \text{ mol} \quad (18)$$

$$C_{gO_2,in} = \frac{0,0603 \text{ mol}}{1,5 \text{ L}} \cdot 32 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = 1,2864 \frac{\text{g}}{\text{L}} \quad (19)$$

3.1.2. Simulação

O sistema de equações diferenciais ordinárias (EDOs) composto pelas equações 1, 4, 6, 7 e 8 foi implementado em ambiente *Scilab*. A resolução utilizou a função padrão “ode” (interface entre vários solucionadores de EDOs pertencentes à biblioteca numérica ODEPACK) através do solucionador “lsoda”, que seleciona automaticamente entre o método preditor-corretor de Adams para problemas não-rígidos e a Fórmula de Diferenciação Retroativa (FDR) para problemas rígidos. Os parâmetros cinéticos e as condições iniciais utilizadas na resolução do problema de valor inicial (PVI) composto pelas equações 1, 4, 6, 7 e 8 estão dispostos no Quadros 3.1 e 3.2, respectivamente. A rotina é mostrada no Apêndice A.

Quadro 3.2. Condições iniciais para resolução do PVI.

Parâmetro	Valor	Unidade
$C_X(t = 0)$	1,42	g.L^{-1}
$C_S(t = 0)$	105,49	g.L^{-1}
$C_P(t = 0)$	0,0001	g.L^{-1}
$m_{gO_2}(t = 0)$	0,075	g
$m_{O_2}(t = 0)$	0,035	g

As concentrações iniciais de células e de substrato foram obtidas da condição que levou a um valor ótimo de conversão de substrato em células (Y_{XS}) no conjunto de experimentos em que se variou a concentração inicial de substrato. As massas iniciais de oxigênio gasoso e de oxigênio dissolvido foram determinadas através da média dos valores de concentração inicial do conjunto de experimentos em que se variou a velocidade de agitação e a concentração inicial de substrato e da multiplicação pelo volume gasoso (1,5 L) e líquido (3,5 L), respectivamente. Assumiu-se que não há produto no início da fermentação.

3.2. Simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando *Candida Guilliermondii*

Também se executou a simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando *Candida guilliermondii* em frasco Erlenmeyer de 125 mL e em fermentador de bancada de 2,4 L e de 16 L, com base no estudo conduzido por Arruda (2011). Para isso, utilizou-se o modelo cinético apresentado anteriormente (equações 1-13) e mantiveram-se os parâmetros $C_{gO_2,in}$, K_{eq} , K_{in,O_2} , $K_{in,P}$, $K_{in,S}$, K_{li,O_2} , $K_{li,P}$, $K_{li,S}$, K_{O_2} , v_{vm} , Y_{O_2} e δ . Isso foi feito porque, de acordo com Mohamad et al. (2016), observações similares às do estudo foram reportadas para a produção de xilitol por *Candida guilliermondii*. Os demais parâmetros cinéticos foram modificados de acordo com o estudo feito por Arruda (2011) e são mostrados no Quadro 3.3.

Quadro 3.3. Parâmetros cinéticos.

Parâmetro	Erlenmeyer 125 mL	Fermentador 2,4 L	Fermentador 16 L	Unidade
$k_L a$	15	15	15	h^{-1}
V	0,050	1,5	11	L
Y_{PS}	0,783	0,686	0,665	$g \cdot g^{-1}$
Y_{XS}	0,125	0,648	0,704	$g \cdot g^{-1}$
μ_{max}	0,078	0,130	0,176	h^{-1}
ε	1,5	0,6	0,455	-

Fonte: Adaptado de Arruda (2011).

A conversão de células por unidade de substrato (Y_{XS}) pode ser calculada através da Equação 20.

$$Y_{XS} = \frac{\mu}{\mu_S} \quad (20)$$

Em que:

μ_S : velocidade específica de consumo de substrato.

Nos três casos, consideraram-se as velocidades específicas de crescimento máximas (μ_{max}) e de consumo de substrato máximas (μ_{Smax}), cujos valores se encontram no Quadros 3.3 e 3.4, respectivamente.

Quadro 3.4. Velocidades de consumo de substrato máximas.

Parâmetro	Erlenmeyer 125 mL	Fermentador 2,4 L	Fermentador 16 L	Unidade
μ_{Smax}	0,623	0,201	0,250	h^{-1}

Fonte: Adaptado de Arruda (2011).

Como demonstrado na Equação 14, a razão entre o volume de gás e o volume de líquido dentro de cada biorreator (ε), apresentada no Quadro 3.3, foi determinada encontrando-se o volume de gás a partir do volume total e do volume líquido de cada recipiente, também dispostos no Quadro 3.3. Admitiu-se que, para a produção de xilitol nos fermentadores de bancada de 2,4 e 16 L, a constante numérica (A) vale 0,1064.

3.2.1. Simulação

Análogo ao que foi feito anteriormente, para cada uma das três situações, o modelo cinético foi introduzido em ambiente *Scilab*, empregando-se a função padrão “ode” para a resolução do PVI. Os parâmetros cinéticos e as condições iniciais utilizadas encontram-se nos Quadros 3.3 e 3.5, respectivamente, e as rotinas, no Apêndice B.

Quadro 3.5. Condições iniciais para a resolução do PVI.

Parâmetro	Erlenmeyer 125 mL	Fermentador 2,4 L	Fermentador 16 L	Unidade
$C_X(t = 0)$	1,0	1,0	1,0	$g.L^{-1}$
$C_S(t = 0)$	64,0	58,0	61,0	$g.L^{-1}$
$C_P(t = 0)$	0,0	0,0	0,0	$g.L^{-1}$
$m_{gO_2}(t = 0)$	0,075	0,075	0,075	g
$m_{O_2}(t = 0)$	0,035	0,035	0,035	g

Também foram inseridos na rotina do *Scilab* dados experimentais de concentração de xilose, de células e de xilitol ao longo do tempo obtidos por Arruda (2011) na fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado por *Candida guilliermondii* em frasco Erlenmeyer de 125 mL, fermentador de bancada de 2,4 L e fermentador de bancada de 16 L. Esses valores estão nos Quadros 3.6, 3.7 e 3.8, respectivamente.

Quadro 3.6. Concentração de xilose, de células e de xilitol ao longo do tempo na fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado por *Candida guilliermondii* em frasco Erlenmeyer de 125 mL.

Tempo (h)	Concentração de xilose (g.L ⁻¹)	Concentração de células (g.L ⁻¹)	Concentração de xilitol (g.L ⁻¹)
0	63,965	0,880	0,000
24	47,862	2,141	7,857
48	29,077	2,666	21,282
72	14,718	3,150	32,648
96	2,323	4,256	46,184
120	0,310	5,534	49,868

Fonte: Adaptado de Arruda (2011).

Quadro 3.7. Concentração de xilose, de células e de xilitol ao longo do tempo na fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado por *Candida guilliermondii* em fermentador de bancada de 2,4 L.

Tempo (h)	Concentração de xilose (g.L ⁻¹)	Concentração de células (g.L ⁻¹)	Concentração de xilitol (g.L ⁻¹)
0	57,580	0,824	0,000
6	56,639	2,044	0,000
12	54,842	3,163	0,000
24	50,226	3,566	3,244
36	45,385	4,517	6,194
48	42,335	4,766	9,040
60	36,294	5,447	11,878
72	31,256	5,911	15,454
84	26,712	6,330	19,698
96	19,960	7,140	23,763
108	12,736	7,692	27,819
120	7,500	8,954	31,752
132	4,173	9,544	36,620
144	0,816	9,169	35,668

Fonte: Adaptado de Arruda (2011).

Quadro 3.8. Concentração de xilose, de células e de xilitol ao longo do tempo na fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado por *Candida guilliermondii* em fermentador de bancada de 16 L.

Tempo (h)	Concentração de xilose (g.L ⁻¹)	Concentração de células (g.L ⁻¹)	Concentração de xilitol (g.L ⁻¹)
0	60,971	0,931	0,000
6	55,089	2,364	0,000
12	54,001	3,249	0,000
24	51,970	4,041	0,000
36	48,610	4,815	3,972
48	43,710	5,469	6,846
60	35,970	6,585	9,425
72	33,200	7,543	13,012
84	29,300	8,262	18,106
96	22,800	9,065	23,949
108	16,100	10,032	27,539
120	9,100	10,731	32,620
132	3,430	12,365	38,285
144	0,590	13,298	38,980

Fonte: Adaptado de Arruda (2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A simulação do modelo cinético de produção de xilitol a partir de solução de xilose utilizando *Candida tropicalis* proposto por Mohamad et al. (2016) resultou nas Figuras 4.1 e 4.2.

Figura 4.1. Variação das concentrações de células, substrato e produto na simulação da produção de xilitol a partir de solução de xilose utilizando *Candida tropicalis*.

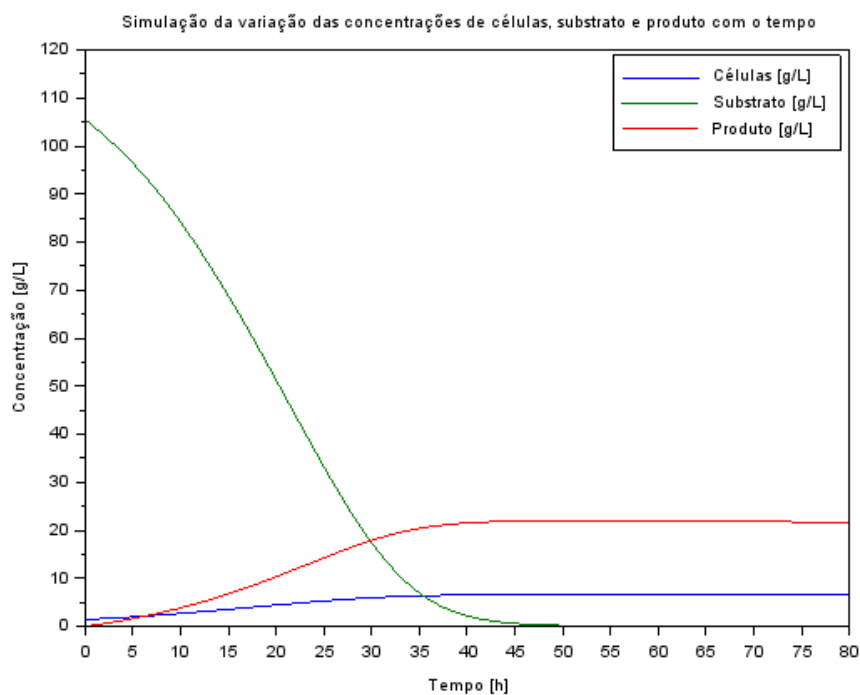
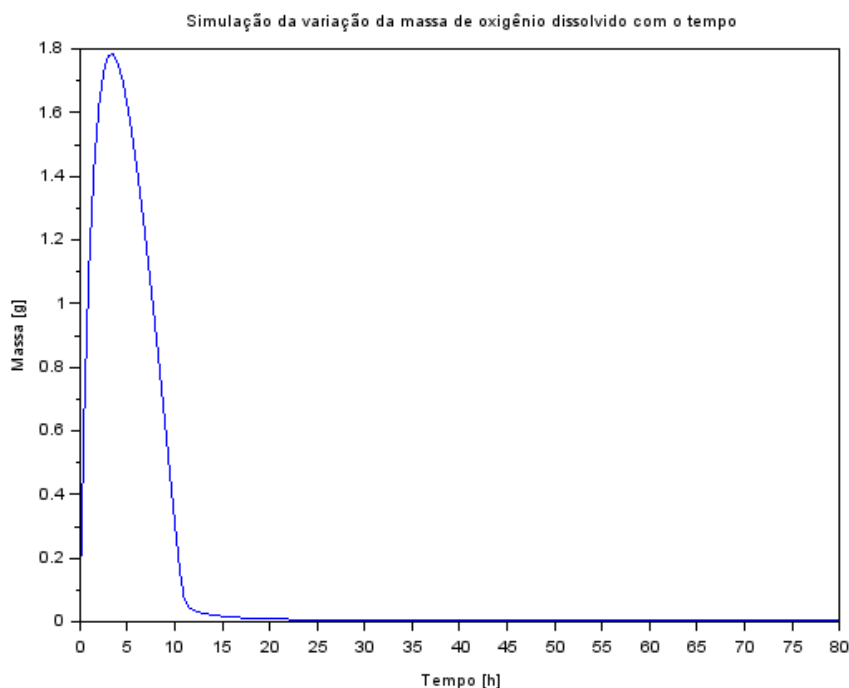


Figura 4.2. Variação das massas de oxigênio e oxigênio dissolvido na simulação da produção de xilitol a partir de solução de xilose utilizando *Candida tropicalis*.

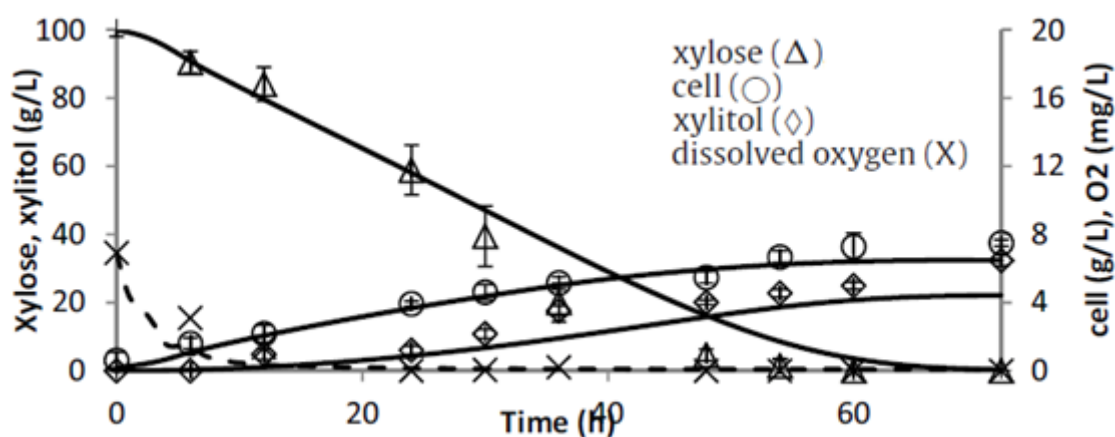


Quando células de microrganismos são inoculadas em um reator batelada contendo meio de cultura fresco e o aumento de sua concentração é monitorado, distintas fases de crescimento podem ser observadas. Inicialmente, há uma fase lag de duração variável. Após esse período de tempo, começa uma fase de crescimento exponencial, em que o número de células aumenta exponencialmente em razão da divisão celular. A fase de crescimento exponencial termina quando algum nutriente essencial, por exemplo, a fonte de carbono ou de nitrogênio, é esgotado ou quando algum metabólito tóxico se acumula em nível suficiente, dando início, então, a uma curta fase de crescimento decrescente, que é seguida por uma fase estacionária. Finalmente, o número de células diminui durante a fase de morte (Blanch; Clark, 1997). Analisando-se somente a Figura 4.1, nota-se que a fase de crescimento exponencial se estabelece rapidamente (após aproximadamente 2h de fase lag) e que o substrato é esgotado após um tempo de fermentação próximo a 45h, iniciando-se, então, a fase estacionária. Uma concentração de $21,7 \text{ g.L}^{-1}$ de xilitol é atingida. Além disso, através dos perfis de crescimento de células e de acumulação de produto, pode-se observar que a produção de xilitol é associada ao crescimento, fato já confirmado por Aranda-Barradas et al. (2000) em estudo cinético e modelagem da produção de xilitol com *Candida parapsilosis*.

Comparando-se os perfis simulados da Figura 4.1 e o perfil simulado do oxigênio dissolvido da Figura 4.2 com a Figura 4.3, que representa os resultados experimentais e o

resultado da simulação do modelo cinético obtidos por Mohamad et al. (2016), percebe-se que o formato dos perfis de crescimento celular, consumo de substrato e acumulação de produto é semelhante, assim como a concentração final de células, substrato e produto (aproximadamente 7,0, 0,0 e 22,0 g.L⁻¹, respectivamente). No entanto, há uma diferença no tempo de esgotamento do substrato e nas concentrações de oxigênio dissolvido. Essa divergência pode ter ocorrido devido à diferença nos parâmetros relacionados ao balanço de massa do oxigênio utilizados, uma vez que o autor não forneceu o valor da concentração de oxigênio gasoso na entrada do biorreator ($C_{gO_2,in}$), do volume de gás por volume de líquido por minuto (vvm) e da razão entre o volume de gás e o volume de líquido dentro do biorreator (ϵ).

Figura 4.3. Variação das concentrações de células, substrato e produto e da massa de oxigênio dissolvido no experimento e na simulação da produção de xilitol a partir de solução de xilose utilizando *Candida tropicalis*.



Fonte: Adaptado de Mohamad et al. (2016).

Também se verifica, na Figura 4.2, que a concentração do oxigênio aumenta durante o início da fermentação até atingir um valor limite e cai à medida que a fermentação ocorre. Uma possível explicação para esse fato está relacionada às condições iniciais consideradas na resolução das equações diferenciais ordinárias referentes ao balanço de massa do oxigênio. Mohamad et al. (2016) informaram que o oxigênio dissolvido estava saturado, mas que não foi controlado durante a fermentação. Sendo assim, pode-se dizer que, na Figura 4.2, o perfil do oxigênio segue uma tendência crescente até atingir a saturação. Depois, decresce em virtude do metabolismo da levedura, assim como na Figura 4.3.

De acordo com Aguiar Júnior et al. (2002), em leveduras produtoras de xilitol, a enzima XR deve estar especificamente ligada a NADPH e a enzima XDH deve estar

especificamente ligada a NAD^+ para atividade. A regeneração de NADPH ocorre apenas na cadeia respiratória, com o oxigênio como aceitador final de elétrons. Assim, um baixo suprimento de oxigênio não reoxida completamente o cofator reduzido, levando a um desequilíbrio redox. Uma baixa concentração de NAD^+ diminui a taxa de oxidação de xilitol, mas não afeta a sua taxa de produção, induzindo sua excreção no meio de cultura. Portanto, um alto grau de aeração promove o crescimento celular, sendo prejudicial para a acumulação de xilitol. O xilitol só é produzido com disponibilidade reduzida de oxigênio. No entanto, um fornecimento de oxigênio severamente restrito leva a uma baixa taxa de produção, mesmo que os rendimentos possam ser elevados.

As Figuras 4.4, 4.5 e 4.6 apresentam o resultado da simulação realizada com os dados obtidos por Arruda (2011) na fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado por *Candida guilliermondii* em frasco Erlenmeyer de 125 mL, em fermentador de bancada de 2,4 L e em fermentador de bancada de 16 L, respectivamente.

Figura 4.4. Variação das concentrações de células, substrato e produto na simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando *Candida guilliermondii* em frasco Erlenmeyer de 125 mL.

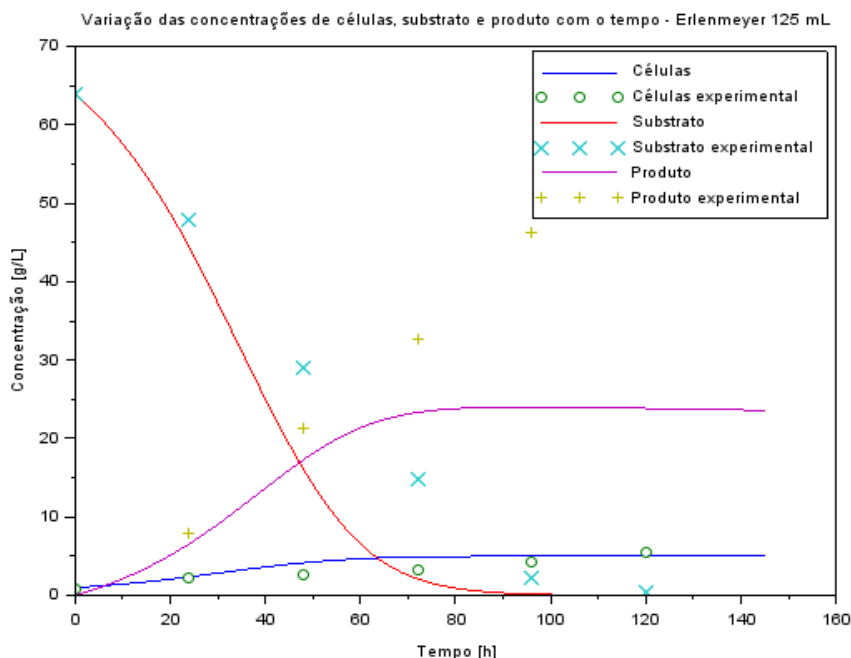


Figura 4.5. Variação das concentrações de células, substrato e produto na simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando *Candida guilliermondii* em fermentador de bancada de 2,4 L.

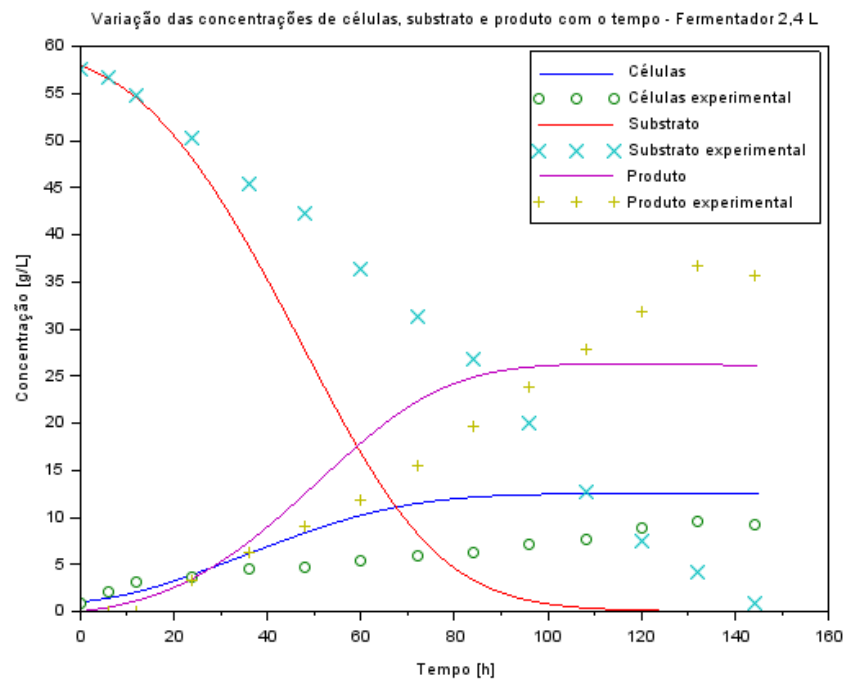
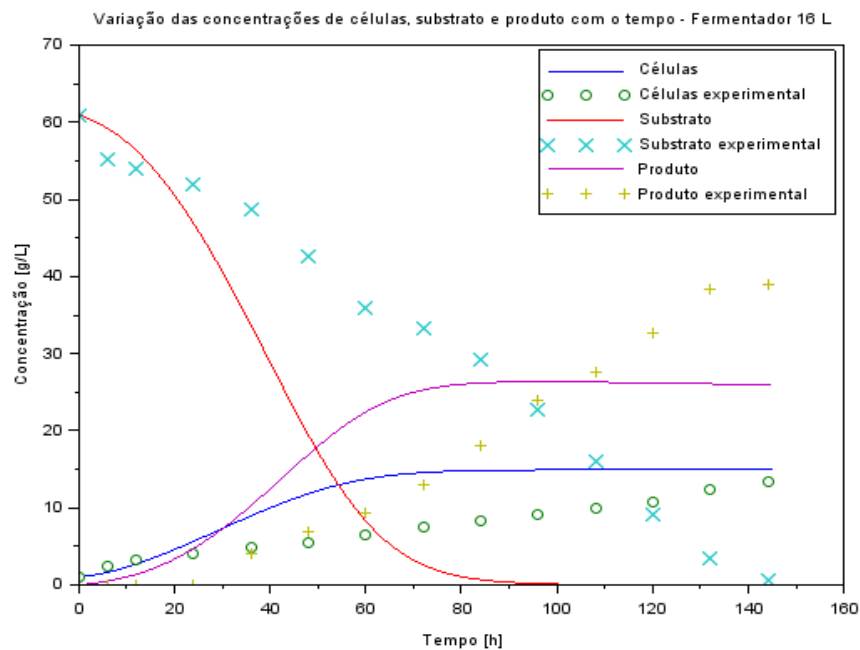


Figura 4.6. Variação das concentrações de células, substrato e produto na simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando *Candida guilliermondii* em fermentador de bancada de 16 L.



Examinando-se separadamente a Figura 4.4 vê-se que, para esta situação, o modelo matemático considerado adequa-se à geração de biomassa durante todo o processo de fermentação. Entretanto, a degradação de substrato é mais lenta do que a prevista pelo modelo e a formação de produto é superior à simulada. Já nas Figuras 4.5 e 4.6 verifica-se que o crescimento celular é mais lento que o simulado, assim como consumo de substrato. Nestes casos, a formação de produto também é superior à prevista pelo modelo. O Quadro 4.1 contém as concentrações finais de células, substrato e produto experimentais e simuladas. Comparando-se as Figuras 4.4, 4.5 e 4.6 constata-se que os perfis simulados vão se distanciando dos dados experimentais à medida que a escala aumenta. Esse fato é esperado, uma vez que o modelo matemático não considera todos os fenômenos de transferência envolvidos e outros açúcares (glicose e arabinose) e subprodutos (etanol e glicerol) presentes.

Quadro 4.1. Concentrações finais de células, substrato e produto experimentais e simuladas.

		Erlenmeyer 125 mL	Fermentador 2,4 L	Fermentador 16 L
Células (g.L ⁻¹)	Experimental	5,534	9,169	13,298
	Simulado	5,002	12,548	14,938
Substrato (g.L ⁻¹)	Experimental	0,310	0,816	0,590
	Simulado	0,001	0,011	0,001
Produto (g.L ⁻¹)	Experimental	49,868	35,668	38,980
	Simulado	23,594	26,105	25,949

De maneira geral, pode-se dizer que o modelo cinético proposto por Mohamad et al. (2016) ajusta-se aos dados das fermentações conduzidas por Arruda (2011) apenas no início dos processos. Vários fatores podem ter causado as divergências observadas, em razão das diferentes condições empregadas em cada experimento. Mohamad et al. (2016) utilizaram solução de xilose como substrato, enquanto Arruda (2011) realizou os experimentos a partir do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado. Nas simulações, os parâmetros cinéticos não foram ajustados exatamente para as condições experimentais empregadas por Arruda (2011), não considerando, portanto, o efeito dos demais açúcares (glicose e arabinose) presentes no material destoxificado. Parâmetros como a constante de limitação do substrato ($K_{i,s}$) variam de acordo com a natureza do substrato. Além disso, o modelo não prevê a utilização de mais de um tipo de açúcar como fonte de carbono. Outro ponto a se observar é que os microrganismos utilizados pertenciam ao mesmo gênero (*Candida*), mas diferiam na espécie (*Candida tropicalis* e *Candida guilliermondii*). Esse fato influencia diretamente a

velocidade específica de crescimento máxima (μ_{max}), que foi alterada, mas também pode ter interferido nas constantes de inibição e de limitação.

Com relação ao oxigênio, Arruda (2011) comenta sobre a influência exercida no processo fermentativo, mas não disponibiliza valores de concentração. Assim, não é possível saber se a autora considerou uma limitação múltipla de substrato, como assumido por Mohamad et al. (2016) na Equação 3, ou se admitiu que apenas a fonte de carbono é determinante na proliferação de células, como no modelo de Monod (Equação 2).

Houve diversas tentativas de estimação dos parâmetros pertencentes ao modelo cinético com base nas informações obtidas por Arruda (2011) através do *software Statistica*, porém os dados disponíveis não foram suficientes para um ajuste adequado.

É válido ressaltar que o modelo cinético explorado neste trabalho se trata de um modelo não-estruturado. Esse tipo de modelo não considera reações individuais ou grupos de reações ocorrendo dentro das células; vê a célula como uma única espécie em solução que interage com o meio, como resultado de simplificações, cuja extensão depende do propósito do modelo.

Apesar de ter se ajustado apenas a uma determinada faixa dos dados da produção de xilitol obtidos por Arruda (2011), o modelo cinético proposto por Mohamad et al. (2016) é promissor na predição da formação de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, desde que se faça o levantamento adequado dos parâmetros cinéticos. Além disso, testes de produção de xilitol por *Candida guilliermondii* em condições semi-aeróbicas utilizando frações hemicelulósicas hidrolisadas de bagaço de cana-de-açúcar e de palha de arroz realizados por Silva et al. (1996) mostraram que ambos os hidrolisados podem ser convertidos em xilitol com rendimentos e produtividades satisfatórios quando comparados aos resultados obtidos em meio sintético. Entretanto, para se atingir a conversão biotecnológica de xilose em xilitol em larga escala, é necessário um melhor entendimento do processo e dos fatores e parâmetros que o afetam.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

A realização deste trabalho teve como ponto de partida a definição de um modelo cinético que possibilitasse a simulação da produção de xilitol via fermentação. Assim, com base no modelo cinético proposto por Mohamad et al. (2016) no estudo do processo fermentativo em batelada de solução de xilose utilizando *Candida tropicalis*, foi possível simular (em ambiente *Scilab*) e analisar esse processo. O formato dos perfis simulados de células, substrato e produto coincidiu com o obtido por Mohamad et al. (2016), mas houve divergência no tempo de esgotamento do substrato e na concentração de oxigênio dissolvido, possivelmente devido à diferença nos parâmetros e nas condições iniciais empregadas na resolução do sistema de equações ordinárias diferenciais constituintes do modelo. No entanto, pôde-se confirmar a conclusão obtida por Mohamad et al. (2016): o modelo cinético proposto adequa-se a esse caso.

Com o objetivo de simular e avaliar a obtenção de xilitol a partir do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, incorporaram-se os dados obtidos por Arruda (2011) na fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado por *Candida guilliermondii* em frasco Erlenmeyer de 125 mL e em fermentador de bancada de 2,4 L e de 16L ao modelo apresentado por Mohamad et al. (2016). De maneira geral, o modelo ajustou-se somente às horas iniciais dos processos. Para as três situações, o consumo de substrato foi mais lento e a produção de xilitol superior à simulação. O crescimento celular adequou-se ao modelo matemático somente para a fermentação realizada em frasco Erlenmeyer, sendo mais lento que o previsto para os fermentadores de bancada. Pôde-se concluir que essas diferenças foram causadas pela não adaptação de alguns parâmetros cinéticos à situação em questão. O substrato continha, além de xilose, glicose e arabinose, o que pode ter influenciado a constante de limitação do substrato ($K_{li,S}$). O modelo também não previa a assimilação de mais de uma fonte de carbono. Outro motivo é a diferença de espécie dos microrganismos utilizados, que pode interferir nas constantes de limitação e de inibição. Foram realizadas tentativas de obtenção dos parâmetros mencionados acima através do ajuste dos dados experimentais disponibilizados por Arruda (2011) no *software Statistica*, mas não se obtiveram resultados satisfatórios.

Apesar de ter se adequado parcialmente à previsão de condições relacionadas à fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, o modelo

cinético considerado é promissor desde que se levantem adequadamente os parâmetros cinéticos. Além disso, estudos apontam que sua utilização como substrato em processos biotecnológicos é uma alternativa para a produção de xilitol. No entanto, ainda é necessário um melhor entendimento dos parâmetros relacionados ao processo para se atingir a produção em larga escala.

Para dar continuidade ao trabalho, sugerem-se o levantamento completo da cinética (equações e parâmetros) para o processo com hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar como substrato; a melhoria na modelagem dos fenômenos de transporte; e a realização de experimentos em laboratório.

REFERÊNCIAS

AGUIAR JÚNIOR, W. B.; FARIA, L. F. F.; COUTO, M. A. P. G.; ARAÚJO, O. Q. F.; PEREIRA JÚNIOR, N. Growth model and prediction of oxygen transfer rate for xylitol production from d-xylose by *C. guilliermondii*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 12, p. 49-59, 2002.

ALCARDE, A. R. **Árvore do conhecimento: cana-de-açúcar**. Agitec. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_108_22122006154841.html>. Acesso em: 22 nov. 2017.

ARRUDA, P. V. de. **Avaliação do processo biotecnológico de obtenção de xilitol em diferentes escalas a partir do hidrolisado hemicelulósico de bagaço da cana-de-açúcar**. 2011. 163p. Tese (Doutorado em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo.

BLANCH, H. W.; CLARK, D. S. **Biochemical engineering**. Second edition. New York: CRC Press, 1997.

CASSALES, A. R. **Otimização da hidrólise da casca de soja (*glycine max*) e avaliação da capacidade de produção de xilitol e etanol por microrganismos sobre este hidrolisado**. 2010. 123p. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

CASTRO, A. M.; PEREIRA JÚNIOR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010a.

CASTRO, A. M.; PEREIRA JÚNIOR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, S1-S5, 2010b.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. CONAB. **Observatório agrícola**. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, Brasília, v. 3. Safra 2016/17, n. 4. Quarto levantamento, p. 1-77, abr. 2017a.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. CONAB. **Observatório agrícola.** Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, Brasília, v. 4. Safra 2017/18, n. 2. Segundo levantamento, p. 1-73, ago. 2017b.

CUNHA, M. A. A. da; SILVA, S. S. da; CARVALHO, W. de; SANTOS, J. C. dos. Uso de células imobilizadas em gel PVA: uma nova estratégia para produção biotecnológica de xilitol a partir de bagaço de cana-de-açúcar. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 61-70, jan./mar. 2005.

DASGUPTA, D.; BANDHU, S.; ADHIKARI, D. K.; GOSH, D. Challenges and prospects of xylitol production with whole cell bio-catalysis: a review. **Microbiological Research**, v. 197, p. 9-21, apr. 2017.

FELIPE, M. das G. de A. **Obtenção de xilitol por fermentação de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar.** 1994. Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica. Área de Tecnologia de Fermentações). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

GLOBAL MARKET INSIGHTS. **Xylitol market size by application (chewing gum, confectionary, food, personal care, pharmaceuticals, nutraceuticals), downstream application potential (xylaric acid, ethylene glycol, propylene glycol), industry analysis report, regional outlook (U.S., Germany, UK, France, Finland, China, India, Japan, Malaysia, Thailand, Vietnam, Brazil, Mexico), production technology, price trend, competitive market share & forecast, 2016 – 2023.** 153p. Oct. 2016. Disponível em: <<https://www.gminsights.com/industry-analysis/xylitol-market>>. Acesso em: 22 nov. 2017.

GOVERNO DO ESTADO DO PARANÁ. SECRETARIA DA EDUCAÇÃO DO PARANÁ. Dia a dia da educação. **Xilitol.** Disponível em: <<http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1667&>>. Acesso em: 22 nov. 2017.

INDUSTRY EXPERTS. Redefines Business Acumen. **Xylitol – a global market overview.** 258p. Jan. 2017. Disponível em: <<http://industry-experts.com/verticals/food-and-beverage/xylitol-a-global-market-overview>>. Acesso em: 22 nov. 2017.

KIST, B. B. et al. **Anuário brasileiro de cana-de-açúcar 2016.** Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2016.

MELAJA, A. J; HÄMÄLÄINEN, L. Process for making xylitol. **United States Patent**, Feb, 15, 1977.

MOHAMAD, N. L.; KAMAL, S. M. M.; MOKHTAR, M. N.; HUSAIN, S. A. ABDULLAH, N. Dynamic mathematical modelling of reaction kinetics for xylitol fermentation using *Candida tropicalis*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 111, p. 10-17, 2016.

MORAES, E. de J. C. **Estudo de viabilidade econômica da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de palha de cevada**. 2008. 157p. Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial. Área de concentração: Conversão de Biomassa). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo.

MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C. Xilitol: edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 401-413, out./dez. 2002.

PARACHIN, N. S.; BERGDAHL, B.; van NIEL, ED W. J.; GORWA-GRAUSLUND, M. F. Kinect modelling reveals current limitations in the production of ethanol from xylose by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. **Metabolic Engineering**, v. 13, p. 508-517, 2011.

SAHA, B. C. Hemicellulose bioconversion. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 30, p. 279-291, 2003.

SANTOS, F. A.; QUEIRÓZ, J. H. de; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES, V. M.; REZENDE, S. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012.

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

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

TAMANINI, C.; HAULY, M. C. de O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 4, p. 315-330, out./dez. 2004.

APÊNDICE A

Simulação da produção de xilitol a partir de solução de xilose utilizando *Candida tropicalis*.

```
clear;
clc;
```

```
//-----NOMENCLATURA-----
```

```
//A = constante numérica
//CeqO2 = concentração de oxigênio no equilíbrio [g/L]
//CgO2 = concentração de oxigênio gasoso na saída do biorreator [g/L]
//CgO2in = concentração de oxigênio gasoso na entrada do biorreator [g/L]
//CO2 = concentração de oxigênio dissolvido no meio de fermentação [g/L]
//Keq = constante de equilíbrio [g/L]
//KinO2 = constante de inibição por oxigênio dissolvido [g/L]
//KinP = constante de inibição por produto [g/L]
//KinS = constante de inibição por substrato [g/L]
//kLa = coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio [h-1]
//KliO2 = constante de limitação do oxigênio dissolvido [g/L]
//KliP = constante de limitação do produto [g/L]
//KliS = constante de limitação do substrato [g/L]
//KO2 = constante do oxigênio dissolvido [g/L]
//NO2 = taxa de transferência de oxigênio [g/L.h]
//P = produção de xilitol [g/L]
//V = volume de líquido [L]
//vvm = volume de gás por volume de líquido por minuto [min-1]
//YO2 = conversão de oxigênio por célula [g/g]
//Yps = conversão de produto por unidade de substrato [g/g]
//Yxs = conversão de células por unidade de substrato [g/g]
//mi = velocidade específica de crescimento [h-1]
//mimax = velocidade específica de crescimento máxima [h-1]
//del = taxa de decaimento do produto [g/L.h]
//eps = razão entre volume gasoso e volume líquido no biorreator
//vg = fluxo de oxigênio na fase líquida [L/h]
//y(1) = concentração de células [g/L]
//y(2) = concentração de substrato [g/L]
//y(3) = concentração de produto [g/L]
//y(4) = massa de oxigênio gasoso [g]
//y(5) = massa de oxigênio dissolvido [g]
//f(1) = concentração de células com o tempo
//f(2) = concentração de substrato com o tempo
//f(3) = concentração de produto com o tempo
//f(4) = massa de oxigênio gasoso com o tempo
//f(5) = massa de oxigênio dissolvido com o tempo
```

```
//-----DEFINIÇÃO DAS FUNÇÕES-----
```

```
function [f]=fun(t, y, V, mimax, KliS, KinS, KliO2, A, KliP, KinP, KinO2, Yxs, Yps, del, vvm, eps, Keq, kLa, CgO2in, YO2, KO2)
```

```
//MODELO DA TAXA DE CRESCIMENTO
//Relação do balanço de massa do oxigênio
CO2=y(5,:)/V;
//Equação de Monod modificada
mi=mimax*(y(2,:)/(y(2,:)+KliS))*((KinS/(KinS+y(2,:)))*(CO2/(CO2+KliO2)));
//Taxa de crescimento celular
f(1)=mi*y(1,:);
//MODELO DE DEGRADAÇÃO DO SUBSTRATO E DE PRODUÇÃO DE XILITOL
//Produção de xilitol
P=A*y(1,:)*(y(2,:)/(y(2,:)+KliP))*((KinP^2/(KinP^2+(y(2,:))^2))*(1-(CO2/KinO2)^2));
//Taxa de consumo de xilose
f(2)=-((1/Yxs)*f(1)+(1/Yps)*P);
//Taxa de produção de xilitol
```

```

f(3)=P-del;
//BALANÇO DE MASSA DO OXIGÊNIO
//Relações
vg=60*V*vvm;
CgO2=y(4,:)/(eps*V);
CeqO2=Keq*CgO2;
NO2=kLa*(CeqO2-CO2);
//Balanço de massa para o oxigênio gasoso
f(4)=vg*(CgO2in-CgO2)-V*NO2;
//Balanço de massa para o oxigênio dissolvido
f(5)=V*NO2-V*YO2*y(1,:)*(CO2/(KO2+CO2));

endfunction

//-----PROGRAMA PRINCIPAL-----

//PARÂMETROS
V=3.5;
mimax=0.12;
KliS=50;
KinS=393.07;
KliO2=0.0009;
A=0.266;
KliP=25;
KinP=376.86;
KinO2=25.15;
Yxs=0.12;
Yps=0.36;
del=0.01;
vvm=0.0171;
eps=0.42857;
Keq=1.29;
kLa=32.6;
CgO2in=1.2864;
YO2=0.51;
KO2=0.002;
t0=[0.0];
y0=[1.42;105.49;1d-4;0.075;0.035];
t=[0:0.5:80];

flist=list(fun,V,mimax,KliS,KinS,KliO2,A,KliP,KinP,KinO2,Yxs,Yps,del,vvm,eps,Keq,kLa,CgO2in,YO2,KO2);
y=ode(y0,t0,t,flist)

//-----GRÁFICOS-----

function graf(ind, esp, tam)
    xset("window",ind)
    xset("thickness",esp)
    xset("font size",tam)
    clf();
endfunction

//Dados do modelo - Células, substrato e produto
graf(0,2,12)
plot(t,y(1,:),'-',t,y(2,:),'-',t,y(3,:),'-')
xlabel("Tempo [h]")
ylabel("Concentração [g/L]")
xtitle("Simulação da variação das concentrações de células, substrato e produto com o tempo")
hl=legend(["Células [g/L]";"Substrato [g/L]"; "Produto [g/L]"]);

//Dados do modelo - Oxigênio
graf(1,2,12)
plot(t,y(5,:),'-')
xlabel("Tempo [h]")
ylabel("Massa [g]")
xtitle("Simulação da variação da massa de oxigênio dissolvido com o tempo")

```

APÊNDICE B

Simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando *Candida guilliermondii* em frasco Erlenmeyer de 125 mL.

```
clear;
clc;
```

```
//-----NOMENCLATURA-----
```

```
//A = constante numérica
//CeqO2 = concentração de oxigênio no equilíbrio [g/L]
//CgO2 = concentração de oxigênio gasoso na saída do biorreator [g/L]
//CgO2in = concentração de oxigênio gasoso na entrada do biorreator [g/L]
//CO2 = concentração de oxigênio dissolvido no meio de fermentação [g/L]
//Keq = constante de equilíbrio [g/L]
//KinO2 = constante de inibição por oxigênio dissolvido [g/L]
//KinP = constante de inibição por produto [g/L]
//KinS = constante de inibição por substrato [g/L]
//kLa = coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio [h-1]
//KliO2 = constante de limitação do oxigênio dissolvido [g/L]
//KliP = constante de limitação do produto [g/L]
//KliS = constante de limitação do substrato [g/L]
//KO2 = constante do oxigênio dissolvido [g/L]
//NO2 = taxa de transferência de oxigênio [g/L.h]
//P = produção de xilitol [g/L]
//V = volume de líquido [L]
//vvm = volume de gás por volume de líquido por minuto [min-1]
//YO2 = conversão de oxigênio por célula [g/g]
//Yps = conversão de produto por unidade de substrato [g/g]
//Yxs = conversão de células por unidade de substrato [g/g]
//mi = velocidade específica de crescimento [h-1]
//mimax = velocidade específica de crescimento máxima [h-1]
//del = taxa de decaimento do produto [g/L.h]
//eps = razão entre volume gasoso e volume líquido no biorreator
//vg = fluxo de oxigênio na fase líquida [L/h]
//y(1) = concentração de células [g/L]
//y(2) = concentração de substrato [g/L]
//y(3) = concentração de produto [g/L]
//y(4) = massa de oxigênio gasoso [g]
//y(5) = massa de oxigênio dissolvido [g]
//ff(1) = concentração de células com o tempo
//ff(2) = concentração de substrato com o tempo
//ff(3) = concentração de produto com o tempo
//ff(4) = massa de oxigênio gasoso com o tempo
//ff(5) = massa de oxigênio dissolvido com o tempo
```

```
//-----DEFINIÇÃO DAS FUNÇÕES-----
```

```
function [f]=fun(t, y, V, mimax, KliS, KinS, KliO2, A, KliP, KinP, KinO2, Yxs, Yps, del, vvm, eps, Keq, kLa, CgO2in, YO2, KO2)
```

```
//MODELO DA TAXA DE CRESCIMENTO
```

```
//Relação do balanço de massa do oxigênio
```

```
CO2=y(5,:)/V;
```

```
//Equação de Monod modificada
```

```
mi=mimax*(y(2,:)/(y(2,:)+KliS))*(KinS/(KinS+y(2,:)))*(CO2/(CO2+KliO2));
```

```
//Taxa de crescimento celular
```

```
f(1)=mi*y(1);
```

```
//MODELO DE DEGRADAÇÃO DO SUBSTRATO E DE PRODUÇÃO DE XILITOL
```

```
//Produção de xilitol
```

```
P=A*y(1,:)*(y(2,:)/(y(2,:)+KliP))*(KinP^2/(KinP^2+(y(2,:))^2))*(1-(CO2/KinO2)^2);
```

```
//Taxa de consumo de xilose
```

```
f(2)=-((1/Yxs)*f(1)+(1/Yps)*P);
```

```

//Taxa de produção de xilitol
f(3)=P-del;
//BALANÇO DE MASSA DO OXIGÊNIO
//Relações
vg=60*V*vvm;
CgO2=y(4,:)/(eps*V);
CeqO2=Keq*CgO2;
NO2=kLa*(CeqO2-CO2);
//Balanço de massa para o oxigênio gasoso
f(4)=vg*(CgO2in-CgO2)-V*NO2;
//Balanço de massa para o oxigênio dissolvido
f(5)=V*NO2-V*YO2*y(1,:)*(CO2/(KO2+CO2));

endfunction

//-----PROGRAMA PINCIPAL-----

//PARÂMETROS
V=0.050;
mimax=0.078;
KliS=50;
KinS=393.07;
KliO2=0.0009;
A=0.266;
KliP=25;
KinP=376.86;
KinO2=25.15;
Yxs=0.125;
Yps=0.783;
del=0.01;
vvm=0.0171;
eps=1.5;
Keq=1.29;
kLa=15;
CgO2in=1.2864;
YO2=0.51;
KO2=0.002;
t0=[0.0];
y0=[1;64;0;0.075;0.035];
t=[0:0.5:145];

flist=list(fun,V,mimax,KliS,KinS,KliO2,A,KliP,KinP,KinO2,Yxs,Yps,del,vvm,eps,Keq,kLa,CgO2in,YO2,KO2);
y=ode(y0,t0,t,flist)

//-----GRÁFICOS-----

clf;

//Dados do modelo x Dados experimentais (Arruda_2011)
//Dados experimentais
t_cel=[0 24 48 72 96 120];
c_cel=[0.880 2.141 2.666 3.150 4.256 5.534];
t_sub=[0 24 48 72 96 120];
c_sub=[63.965 47.862 29.077 14.718 2.323 0.310];
t_xil=[0 24 48 72 96 120];
c_xil=[0.000 7.857 21.282 32.648 46.184 49.868];
plot(t,y(1,:),'-',t_cel,c_cel,'o',t,y(2,:),'-',t_sub,c_sub,'x',t,y(3,:),'-',t_xil,c_xil,'+')
xlabel("Tempo [h]")
ylabel("Concentração [g/L]")
xtitle("Variação das concentrações de células, substrato e produto com o tempo - Erlenmeyer 125 mL")
hl=legend(["Células";"Células experimental";"Substrato";"Substrato experimental";"Produto";"Produto experimental"]);

```


Simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando *Candida guilliermondii* em fermentador de bancada de 2,4 L.

```
clear;
clc;
```

```
//-----NOMENCLATURA-----
```

```
//A = constante numérica
//CeqO2 = concentração de oxigênio no equilíbrio [g/L]
//CgO2 = concentração de oxigênio gasoso na saída do biorreator [g/L]
//CgO2in = concentração de oxigênio gasoso na entrada do biorreator [g/L]
//CO2 = concentração de oxigênio dissolvido no meio de fermentação [g/L]
//Keq = constante de equilíbrio [g/L]
//KinO2 = constante de inibição por oxigênio dissolvido [g/L]
//KinP = constante de inibição por produto [g/L]
//KinS = constante de inibição por substrato [g/L]
//kLa = coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio [h-1]
//KliO2 = constante de limitação do oxigênio dissolvido [g/L]
//KliP = constante de limitação do produto [g/L]
//KliS = constante de limitação do substrato [g/L]
//KO2 = constante do oxigênio dissolvido [g/L]
//NO2 = taxa de transferência de oxigênio [g/L.h]
//P = produção de xilitol [g/L]
//V = volume de líquido [L]
//vvm = volume de gás por volume de líquido por minuto [min-1]
//YO2 = conversão de oxigênio por célula [g/g]
//Yps = conversão de produto por unidade de substrato [g/g]
//Yxs = conversão de células por unidade de substrato [g/g]
//mi = velocidade específica de crescimento [h-1]
//mimax = velocidade específica de crescimento máxima [h-1]
//del = taxa de decaimento do produto [g/L.h]
//eps = razão entre volume gasoso e volume líquido no biorreator
//vg = fluxo de oxigênio na fase líquida [L/h]
//y(1) = concentração de células [g/L]
//y(2) = concentração de substrato [g/L]
//y(3) = concentração de produto [g/L]
//y(4) = massa de oxigênio gasoso [g]
//y(5) = massa de oxigênio dissolvido [g]
//f(1) = concentração de células com o tempo
//f(2) = concentração de substrato com o tempo
//f(3) = concentração de produto com o tempo
//f(4) = massa de oxigênio gasoso com o tempo
//f(5) = massa de oxigênio dissolvido com o tempo
```

```
//-----DEFINIÇÃO DAS FUNÇÕES-----
```

```
function [f]=fun(t, y, V, mimax, KliS, KinS, KliO2, A, KliP, KinP, KinO2, Yxs, Yps, del, vvm, eps, Keq, kLa, CgO2in, YO2, KO2)
```

```
//MODELO DA TAXA DE CRESCIMENTO
```

```
//Relação do balanço de massa do oxigênio
```

```
CO2=y(5,:)/V;
```

```
//Equação de Monod modificada
```

```
mi=mimax*(y(2,:)/(y(2,:)+KliS))*(KinS/(KinS+y(2,:)))*(CO2/(CO2+KliO2));
```

```
//Taxa de crescimento celular
```

```
f(1)=mi*y(1);
```

```
//MODELO DE DEGRADAÇÃO DO SUBSTRATO E DE PRODUÇÃO DE XILITOL
```

```
//Produção de xilitol
```

```
P=A*y(1,:)*(y(2,:)/(y(2,:)+KliP))*(KinP^2/(KinP^2+(y(2,:))^2))*(1-(CO2/KinO2)^2);
```

```
//Taxa de consumo de xilose
```

```
f(2)=-((1/Yxs)*f(1)+(1/Yps)*P);
```

```
//Taxa de produção de xilitol
```

```
f(3)=P-del;
```

```
//BALANÇO DE MASSA DO OXIGÊNIO
```

```
//Relações
```

```

vg=60*V*vvm;
CgO2=y(4,:)/(eps*V);
CeqO2=Keq*CgO2;
NO2=kLa*(CeqO2-CO2);
//Balanço de massa para o oxigênio gasoso
f(4)=vg*(CgO2in-CgO2)-V*NO2;
//Balanço de massa para o oxigênio dissolvido
f(5)=V*NO2-V*YO2*y(1,:)*(CO2/(KO2+CO2));

endfunction

//-----PROGRAMA PINCIPAL-----

//PARÂMETROS
V=1.5;
mimax=0.130;
KliS=50;
KinS=393.07;
KliO2=0.0009;
A=0.1064;
KliP=25;
KinP=376.86;
KinO2=25.15;
Yxs=0.648;
Yps=0.686;
del=0.01;
vvm=0.0171;
eps=0.6;
Keq=1.29;
kLa=15;
CgO2in=1.2864;
YO2=0.51;
KO2=0.002;
t0=[0.0];
y0=[1;58;0;0.075;0.035];
t=[0:0.5:145];

flist=list(fun,V,mimax,KliS,KinS,KliO2,A,KliP,KinP,KinO2,Yxs,Yps,del,vvm,eps,Keq,kLa,CgO2in,YO2,KO2);
y=ode(y0,t0,t,flist)

//-----GRÁFICOS-----

clf;

//Dados do modelo x Dados experimentais (Arruda_2011)
//Dados experimentais
t_cel=[0 6 12 24 36 48 60 72 84 96 108 120 132 144];
c_cel=[0.824 2.044 3.163 3.566 4.517 4.766 5.447 5.911 6.330 7.140 7.692 8.954 9.544 9.169];
t_sub=[0 6 12 24 36 48 60 72 84 96 108 120 132 144];
c_sub=[57.580 56.639 54.842 50.226 45.385 42.335 36.294 31.256 26.712 19.960 12.736 7.500 4.173 0.816];
t_xil=[0 6 12 24 36 48 60 72 84 96 108 120 132 144];
c_xil=[0.000 0.000 0.000 3.244 6.194 9.040 11.878 15.454 19.698 23.763 27.819 31.752 36.620 35.668];
plot(t,y(1,:),'-',t_cel,c_cel,'o',t,y(2,:),'-',t_sub,c_sub,'x',t,y(3,:),'-',t_xil,c_xil,'+')
xlabel("Tempo [h]")
ylabel("Concentração [g/L]")
xtitle("Variação das concentrações de células, substrato e produto com o tempo - Fermentador 2,4 L")
hl=legend(["Células";"Células experimental";"Substrato";"Substrato experimental";"Produto";"Produto experimental"]);

```

Simulação da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar destoxificado utilizando *Candida guilliermondii* em fermentador de bancada de 16 L.

```
clear;
clc;
```

```
//-----NOMENCLATURA-----
```

```
//A = constante numérica
//CeqO2 = concentração de oxigênio no equilíbrio [g/L]
//CgO2 = concentração de oxigênio gasoso na saída do biorreator [g/L]
//CgO2in = concentração de oxigênio gasoso na entrada do biorreator [g/L]
//CO2 = concentração de oxigênio dissolvido no meio de fermentação [g/L]
//Keq = constante de equilíbrio [g/L]
//KinO2 = constante de inibição por oxigênio dissolvido [g/L]
//KinP = constante de inibição por produto [g/L]
//KinS = constante de inibição por substrato [g/L]
//kLa = coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio [h-1]
//KliO2 = constante de limitação do oxigênio dissolvido [g/L]
//KliP = constante de limitação do produto [g/L]
//KliS = constante de limitação do substrato [g/L]
//KO2 = constante do oxigênio dissolvido [g/L]
//NO2 = taxa de transferência de oxigênio [g/L.h]
//P = produção de xilitol [g/L]
//V = volume de líquido [L]
//vvm = volume de gás por volume de líquido por minuto [min-1]
//YO2 = conversão de oxigênio por célula [g/g]
//Yps = conversão de produto por unidade de substrato [g/g]
//Yxs = conversão de células por unidade de substrato [g/g]
//mi = velocidade específica de crescimento [h-1]
//mimax = velocidade específica de crescimento máxima [h-1]
//del = taxa de decaimento do produto [g/L.h]
//eps = razão entre volume gasoso e volume líquido no biorreator
//vg = fluxo de oxigênio na fase líquida [L/h]
//y(1) = concentração de células [g/L]
//y(2) = concentração de substrato [g/L]
//y(3) = concentração de produto [g/L]
//y(4) = massa de oxigênio gasoso [g]
//y(5) = massa de oxigênio dissolvido [g]
//f(1) = concentração de células com o tempo
//f(2) = concentração de substrato com o tempo
//f(3) = concentração de produto com o tempo
//f(4) = massa de oxigênio gasoso com o tempo
//f(5) = massa de oxigênio dissolvido com o tempo
```

```
//-----DEFINIÇÃO DAS FUNÇÕES-----
```

```
function [f]=fun(t, y, V, mimax, KliS, KinS, KliO2, A, KliP, KinP, KinO2, Yxs, Yps, del, vvm, eps, Keq, kLa, CgO2in, YO2, KO2)
```

```
//MODELO DA TAXA DE CRESCIMENTO
//Relação do balanço de massa do oxigênio
CO2=y(5,:)/V;
//Equação de Monod modificada
mi=mimax*(y(2,:)/(y(2,:)+KliS))*(KinS/(KinS+y(2,:)))*(CO2/(CO2+KliO2));
//Taxa de crescimento celular
f(1)=mi*y(1);
//MODELO DE DEGRADAÇÃO DO SUBSTRATO E DE PRODUÇÃO DE XILITOL
//Produção de xilitol
P=A*y(1,:)*(y(2,:)/(y(2,:)+KliP))*(KinP^2/(KinP^2+(y(2,:))^2))*(1-(CO2/KinO2)^2);
//Taxa de consumo de xilose
f(2)=-((1/Yxs)*f(1)+(1/Yps)*P);
//Taxa de produção de xilitol
f(3)=P-del;
//BALANÇO DE MASSA DO OXIGÊNIO
//Relações
```

```

vg=60*V*vvm;
CgO2=y(4,:)/(eps*V);
CeqO2=Keq*CgO2;
NO2=kLa*(CeqO2-CO2);
//Balanço de massa para o oxigênio gasoso
f(4)=vg*(CgO2in-CgO2)-V*NO2;
//Balanço de massa para o oxigênio dissolvido
f(5)=V*NO2-V*YO2*y(1,:)*(CO2/(KO2+CO2));

endfunction

//-----PROGRAMA PINCIPAL-----

//PARÂMETROS
V=11;
mimax=0.176;
KliS=50;
KinS=393.07;
KliO2=0.0009;
A=0.1064;
KliP=25;
KinP=376.86;
KinO2=25.15;
Yxs=0.704;
Yps=0.665;
del=0.01;
vvm=0.0171;
eps=0.455;
Keq=1.29;
kLa=15;
CgO2in=1.2864;
YO2=0.51;
KO2=0.002;
t0=[0.0];
y0=[1;61;0;0.075;0.035];
t=[0:0.5:145];

flist=list(fun,V,mimax,KliS,KinS,KliO2,A,KliP,KinP,KinO2,Yxs,Yps,del,vvm,eps,Keq,kLa,CgO2in,YO2,KO2);
y=ode(y0,t0,t,flist)

//-----GRÁFICOS-----

clf;

//Dados do modelo x Dados experimentais (Arruda_2011)
//Dados experimentais
t_cel=[0 6 12 24 36 48 60 72 84 96 108 120 132 144];
c_cel=[0.931 2.364 3.249 4.041 4.815 5.469 6.585 7.543 8.262 9.065 10.032 10.731 12.365 13.298];
t_sub=[0 6 12 24 36 48 60 72 84 96 108 120 132 144];
c_sub=[60.971 55.089 54.001 51.970 48.610 42.710 35.970 33.200 29.300 22.800 16.100 9.100 3.430 0.590];
t_xil=[0 6 12 24 36 48 60 72 84 96 108 120 132 144];
c_xil=[0.000 0.000 0.000 0.000 3.972 6.846 9.425 13.012 18.106 23.949 27.539 32.620 38.285 38.980];
plot(t,y(1,:),'-',t_cel,c_cel,'o',t,y(2,:),'-',t_sub,c_sub,'x',t,y(3,:),'-',t_xil,c_xil,'+')
xlabel("Tempo [h]")
ylabel("Concentração [g/L]")
xtitle("Variação das concentrações de células, substrato e produto com o tempo - Fermentador 16 L")
hl=legend(["Células";"Células experimental";"Substrato";"Substrato experimental";"Produto";"Produto experimental"]);

```