

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA XILANA DO BAGAÇO DE MALTE PARA OBTENÇÃO DE XILO-OLIGOSSACARÍDEOS

L. S. Ribeiro¹, S. H. Duarte², M. Michelon³

1 - Laboratório de Microbiologia e Biosseparações (LMB) – Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: 55 (51) 99689-6787– e-mail: (luizasribeiro94@gmail.com).

2- Laboratório de Microbiologia e Biosseparações (LMB) – Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: 55 (53) 99706-3183– e-mail: (michelonmariano@gmail.com).

3 - Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: 55 (53) 99923-4659– e-mail: (susanduarte@gmail.com).

RESUMO - O bagaço de malte, resíduo da indústria cervejeira, é rico em celulose, hemicelulose e lignina, sendo uma potencial matéria-prima para a produção de xilo-oligossacarídeos (XOS). Assim, este estudo visou produzir XOS a partir da hidrólise enzimática de xilana extraída do bagaço de malte Pilsen e IPA. A hidrólise enzimática com Hemicelulase Amano revelou maior produção de XOS na xilana Pilsen, com teores superiores de XOSb ($1,13 \pm 0,08$ mg/mL), XOSa ($1,37 \pm 0,06$ mg/mL) e XOS_t ($2,50 \pm 0,05$ mg/mL), enquanto a xilana IPA apresentou concentrações de $0,75 \pm <0,01$ mg/mL, $1,03 \pm 0,03$ mg/mL e $1,78 \pm 0,03$ mg/mL, respectivamente. Esses resultados demonstram que a composição do bagaço de malte influencia diretamente a produção de XOS e a eficiência da hidrólise enzimática, além de reforçar o potencial do bagaço de malte como uma fonte renovável e de baixo custo para a produção de compostos de alto valor agregado.

ABSTRACT – The brewer's spent grain (BSG), a byproduct of the brewing industry, is rich in cellulose, hemicellulose, and lignin, making it a potential raw material for the production of xylo-oligosaccharides (XOS). Thus, this study aimed to produce XOS from the enzymatic hydrolysis of xylan extracted from Pilsen and IPA BSG. Enzymatic hydrolysis with Hemicellulase Amano revealed a higher production of XOS in Pilsen xylan, with higher concentrations of XOSb (1.13 ± 0.08 mg/mL), XOSa (1.37 ± 0.06 mg/mL), and XOS_t (2.50 ± 0.05 mg/mL), whereas IPA xylan showed concentrations of $0.75 \pm <0.01$ mg/mL, 1.03 ± 0.03 mg/mL, and 1.78 ± 0.03 mg/mL, respectively. These results highlight the influence of BSG composition on XOS production and demonstrate that the composition of brewer's spent grain directly affects XOS yield and the efficiency of enzymatic hydrolysis. Additionally, they reinforce the potential of BSG as a renewable and cost-effective source for the production of high-value-added compounds.

PALAVRAS-CHAVE: resíduos agroindustriais; hidrólise enzimática; xilo-oligossacarídeos.

KEYWORDS: agro-industrial residues; enzymatic hydrolysis; xylo-oligosaccharides.



1. INTRODUÇÃO

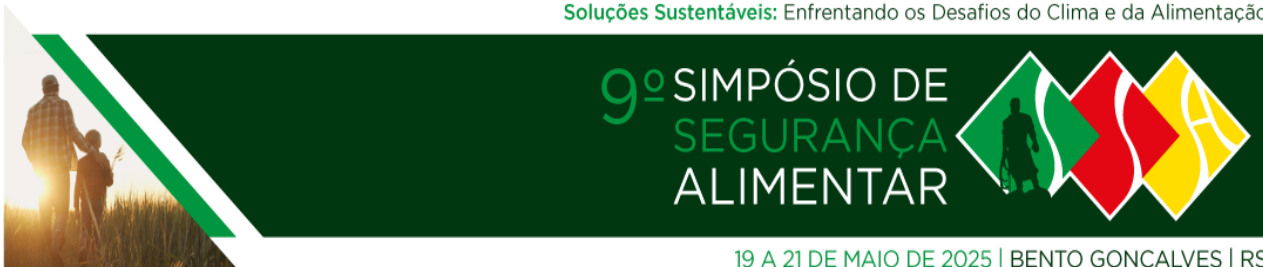
Os resíduos agroindustriais são uma das principais fontes de biomassa vegetal, totalizando cerca de 140 gigatoneladas anuais (D'Adamo *et al.*, 2022). O descarte inadequado desses resíduos pode causar impactos ambientais devido ao alto teor de matéria orgânica (Marim e Gabardo, 2021). O bagaço de malte, principal resíduo sólido da indústria cervejeira, corresponde a 85% do volume total gerado (Lynch; Steffen; Arendt., 2016; Sajib *et al.*, 2018). Apesar do uso na alimentação animal, seu excedente requer novas aplicações para agregação de valor (Massardi; Massini; Silva, 2020). Composto predominantemente por celulose, hemicelulose e lignina (Massardi; Massini; Silva, 2020), o bagaço de malte contém xilana, um heteropolissacarídeo cuja estrutura inclui resíduos de D-xilose ligados por β -1,4 glicosídicas (Marim e Gabardo, 2021). A conversão da xilana em xilo-oligosacarídeos (XOS) tem se destacado devido às propriedades prebióticas, antioxidantes e antidiabéticas dos XOS, tornando-os nutracêuticos promissores (Rodrigues *et al.*, 2024).

A produção eficiente de XOS exige a hidrólise da xilana por endo- β -1,4-xilanase, mas a associação com lignina dificulta essa conversão. Para superar essa barreira, utiliza-se tratamento alcalino seguido de hidrólise enzimática, estratégia que melhora a conversão da biomassa lignocelulósica (Lynch, Steffen e Arendt, 2016). A enzima endo-1,4- β -xilanase (EC 3.2.1.8) é fundamental nesse processo, promovendo a quebra das ligações β -1,4 da xilana e liberando XOS. Embora existam diversos estudos sobre a produção de XOS a partir de materiais lignocelulósicos, há poucas pesquisas focadas no uso do bagaço de malte como fonte alternativa de xilana. Assim, este estudo buscou suprir essa lacuna e contribuir para o aproveitamento sustentável de resíduos agroindustriais na produção de XOS.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparo do bagaço de malte

Os bagaços de malte úmidos, provenientes da produção das cervejas Pilsen e Indian Pale Ale (IPA), foram inicialmente lavados uma única vez com água destilada e, em seguida, colocados em uma peneira para a remoção do excesso de água, seguido de secagem em estufa com circulação de ar a 60°C por 24 h. Posteriormente, foram submetidos à redução de tamanho em um moinho de facas (Moedor Perfect Coffee, Philco) e peneirado até a obtenção de partículas menores que 0,5 mm (Tyler 32). Os materiais processados foram armazenados em sacos de polietileno a -18°C até utilização.



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

2.2. Extração da xilana do bagaço de malte

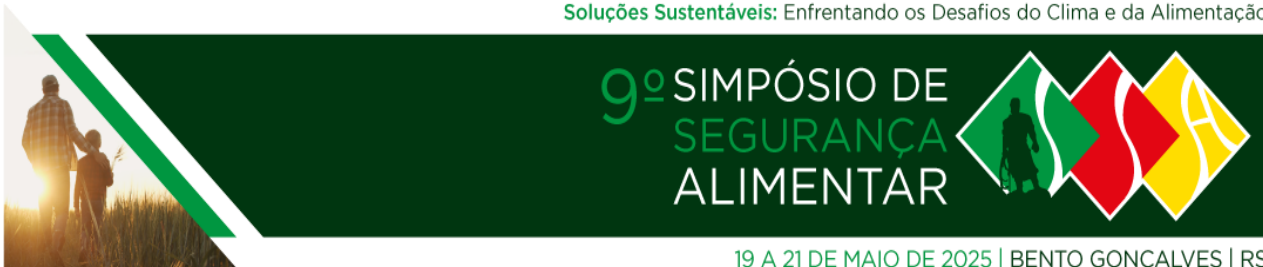
A xilana foi extraída do bagaço de malte seguindo um método modificado de Hauli *et al.* (2013). O bagaço foi disperso em solução de NaOH 10% (m/v) na proporção 1:10 (m/v) e mantido a 50 °C sob agitação por 14 h. Posteriormente, passou por tratamento térmico em autoclave a 100 °C por 3 h, seguido de resfriamento e centrifugação. O sobrenadante foi acidificado com HCl até pH 5,0 e a xilana precipitada com etanol 95% (v/v). Após 1 h, o precipitado foi separado por centrifugação, seco em estufa a 55 °C por 24 h e macerado até formar um pó fino.

2.3. Hidrólise enzimática das xilanas

As reações de hidrólise enzimática das xilanas provenientes dos bagaços de malte, utilizando o complexo xilanolítico Hemicelulase Amano, foram conduzidas em reator de mistura encamisado, operado a 180 rpm (agitação magnética) e 50°C, ao longo de 24 h. O sistema reacional consistiu em 40 mL de xilana (6,0%, m/v) dispersa em tampão citrato de sódio 50 mM, com pH 5,3 e enzima (3000 U/g). Amostras do meio reacional foram coletadas em intervalos de tempo pré-definidos (0, 0,5, 1, 3, 6, 12 e 24 h), e aquecidas à 100°C por 5 min para garantir a completa inativação das enzimas. As hidrólises foram realizadas em triplicata e os hidrolisados finais obtidos em cada tempo foram congelados para posterior quantificação dos XOS.

2.4. Quantificação de xilo-oligossacarídeos

Os hidrolisados foram centrifugados a 10.000 ×g por 10 min (Centrífuga Mega 17R, Hanil) e filtrados em membrana de fluoreto de polivinilideno de 0,22 μm (Milipore, EUA), repetindo-se esse processo duas vezes. Os filtrados foram analisados em cromatógrafo líquido (Prominence®, Shimadzu, Japão) com detector de índice de refração (RID-10A), forno de colunas (CTO-20A) e autoinjeter (SIL-20AHT). Foram injetadas automaticamente alíquotas de 20 μL, eluídas com água ultrapura (Milli-Q®, Milipore) a 0,4 mL/min. A quantificação utilizou a coluna Aminex HPX-42A (Bio-Rad, EUA) a 50°C, com tempo de corrida de 40 min, conforme Gautério *et al.* (2018), e foi controlada pelo software LC Solution®. As concentrações de xilose, xilobiose, xilotriose, xilotetraose e xilopentose foram determinadas por curva padrão. A quantificação total dos XOS considerou a soma dos oligossacarídeos identificados, expressando os resultados também como XOSa (xilotetraose + xilopentose) e XOSb (xilobiose + xilotriose). O rendimento (%) foi calculado pela conversão de hemicelulose em XOS, relacionando a massa gerada à massa inicial de hemicelulose.



2.5. Tratamento de dados

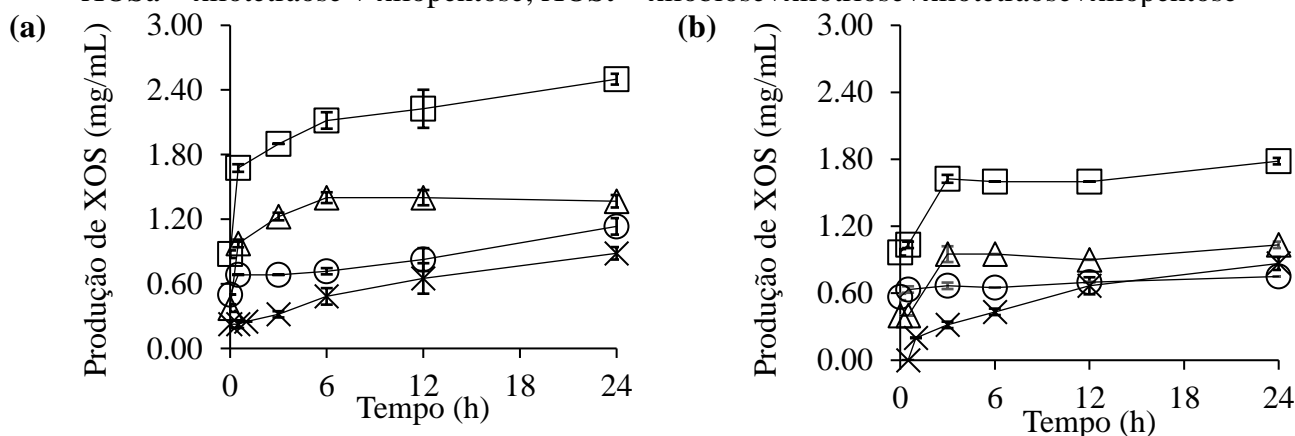
Os resultados foram tratados por teste *t-Student*, usando o software *Statistica 7.0* (Statsoft, EUA). A análise estatística foi realizada considerando um nível de 95 % de confiança ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Produção enzimática de xilo-oligossacarídeos

As xilanas extraídas foram submetidas à hidrólise pelo complexo xilanolítico comercial Hemicellulase Amano, visando a produção de xilo-oligossacarídeos (XOS), sendo os ensaios de hidrólise enzimática conduzidos por 24 h. A produção de XOS ao longo do tempo de hidrólise nas diferentes amostras de xilana extraídas estão apresentados na Figura 1.

Figura 1 - Cinética da produção de XOSb (○), XOSa (Δ), XOSst (□) e xilose (×) utilizando (a) xilana tipo Pilsen hidrolisada com Hemicellulase Amano e (b) xilana IPA hidrolisada com Hemicellulase Amano. Média±desvio padrão (n=3). Legendas: XOSb = xilobiose + xilotriose; XOSa = xilotetraose + xilopentose; XOSst = xilobiose+xilotriose+xilotetraose+xilopentose



A xilana Pilsen apresentou maior produção de XOSb (xilobiose, xilotriose), atingindo 1,13 mg/mL em 24 h de hidrólise (Figura 1a), enquanto a xilana IPA resultou em 0,75 mg/mL (Figura 1b). Os XOSb possuem rápida fermentação por bactérias probióticas, beneficiando a saúde intestinal (Poletto *et al.*, 2020). Para XOSa (xilotetraose, xilopentose), a xilana Pilsen alcançou 1,37 mg/mL (Figura 1a), enquanto a IPA manteve-se abaixo de 1,0 mg/mL (Figura 1b). Os XOSa apresentam fermentação mais lenta, promovendo benefícios prolongados à microbiota intestinal (Singh *et al.*, 2015). Na produção total de XOS (XOSst), a xilana Pilsen hidrolisada apresentou 2,5 mg/mL em 24 h, enquanto a IPA estabilizou em 1,78 mg/mL. Sajib *et al.* (2018) extraíram xilana do bagaço de malte por meio de tratamento alcalino com KOH 0,5 M e realizaram a hidrólise enzimática utilizando a



enzima Pentopan Mono BG, obtendo um rendimento de 2,00 mg/mL de XOS_t ao final de 5 horas de reação.

Em 24 h de hidrólise, observou-se diferenças significativas na produção de xilose e XOS entre os tipos de xilana analisados (Tabela 1). Os resultados do presente estudo mostram que a produção de xilose não diferiu significativamente entre os dois tipos de bagaço, com valores de $0,88 \pm 0,06$ mg/mL para o Pilsen e $0,87 \pm 0,06$ mg/mL para o IPA, mas a produção de XOS foi superior para a xilana Pilsen: XOS_b (1,13 mg/mL vs. 0,75 mg/mL), XOS_a (1,37 mg/mL vs. 1,03 mg/mL) e XOS_t (2,50 mg/mL vs. 1,78 mg/mL), diferindo significativamente, da xilana IPA.

Tabela 1 - Produção de xilose e XOS em 24 h de hidrólise enzimática, para o complexo xilanolítico Hemicelulase Amano, dos bagaços de malte tipo Pilsen e IPA

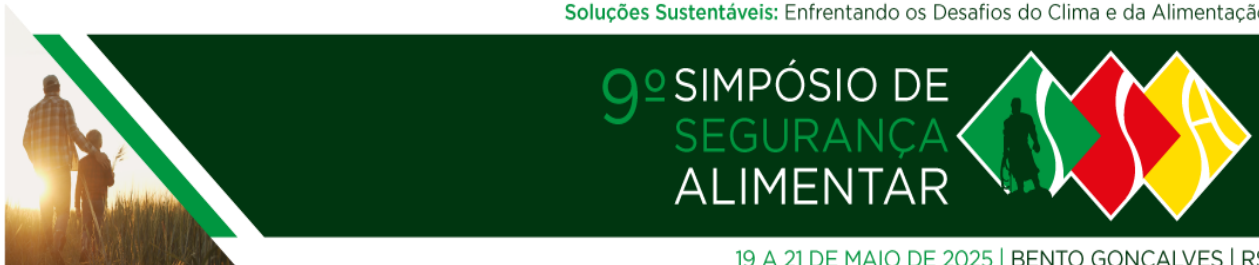
Xilana	Açúcar (mg/mL)				Conversão de hemicelulose em XOS (%)
	Xilose	XOS _b	XOS _a	XOS _t	
Pilsen	$0,88 \pm 0,06^a$	$1,13 \pm 0,08^a$	$1,37 \pm 0,06^a$	$2,50 \pm 0,05^a$	$10,9 \pm 0,20^a$
IPA	$0,87 \pm 0,06^a$	$0,75 \pm <0,01^b$	$1,03 \pm 0,03^b$	$1,78 \pm 0,03^b$	$9,4 \pm 0,17^b$

Os valores correspondem a médias \pm desvio padrão de análises realizadas em triplicata. Letras minúsculas iguais nas linhas indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *t-Student*. Legendas: XOS_b = xilobiose + xilotriose; XOS_a = xilotetraose + xilopentose; XOS_t = xilobiose+xilotriose+xilotetraose+xilopentose.

A conversão de hemicelulose em XOS variou significativamente entre as xilanas oriundas dos bagaços de malte utilizados, sendo que a conversão levou em consideração a proporção de hemicelulose presente em cada xilana extraída. A partir da Tabela 1 observa-se que a conversão de hemicelulose em XOS foi maior na xilana Pilsen (10,9%) em comparação à IPA (9,4%). Essa diferença pode estar associada à complexidade da hemicelulose nos diferentes bagaços de malte. Além disso, a xilana Pilsen apresentou maior teor de hemicelulose (38,2%) em relação à IPA (31,7%), o que pode ter favorecido a ação enzimática e a maior conversão observada.

4. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou a capacidade do bagaço de malte como matéria-prima para a produção sustentável de xilo-oligossacarídeos (XOS). Os rendimentos de XOS variaram conforme o tipo de xilana utilizada. Os resultados indicam que a composição do bagaço de malte influencia a produção de XOS e a hidrólise enzimática. Além disso, reforça o potencial do bagaço de malte como uma fonte renovável e de baixo custo para a produção de compostos de alto valor agregado,



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

fornecendo informações relevantes para o desenvolvimento de bioprocessos mais eficientes e específicos, contribuindo para a economia circular e a valorização de resíduos industriais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- D'ADAMO, I., GASTALDI, M., MORONE, P. Economic sustainable development goals: Assessments and perspectives in Europe. **Journal of Cleaner Production**, v. 354, p. 131730, 2022.
- LYNCH, K. M., STEFFEN, E. J., ARENDT, E. K. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 122, n. 4, p. 553–568, 2016.
- MARIM, A. V. C., GABARDO, S. Xylooligosaccharides: prebiotic potential from agro-industrial residue, production strategies and prospects. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 37, 2021.
- MASSARDI, M. M., MASSINI, R. M., SILVA, D. J. Caracterização Química Do Bagaço De Malte E Avaliação Do Seu Potencial Para Obtenção De Produtos De Valor Agregado. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 6, n. 1, p. 0083–0091, 2020.
- POLETTO, P., PEREIRA, G. N., MONTEIRO, C. R. M., PEREIRA, M. A. F., BORDIGNON, S. E., DE OLIVEIRA, D. Xylooligosaccharides: Transforming the lignocellulosic biomasses into valuable 5-carbon sugar prebiotics. **Process Biochemistry**, v. 91, p. 352–363, 2020.
- RODRIGUES, K. P., GAUTÉRIO, G. V., MICHELON, M. One-Step Fractionation of Xylooligosaccharides Using Nanofiltration Membranes to Obtain Hydrolysates with Distinct Biological Activities. **Food and Bioprocess Technology**, 2024.
- SAJIB, M., FALCK, P., SARDARI, R. R., MATHEW, S., GREY, C., KARLSSON, E. N., ADLERCREUTZ, P. Valorization of Brewer's spent grain to prebiotic oligosaccharide: Production, xylanase catalyzed hydrolysis, in-vitro evaluation with probiotic strains and in a batch human fecal fermentation model. **Journal of Biotechnology**, v. 268, p. 61–70, 2018.
- SINGH, R. D., BANERJEE, J., ARORA, A. Prebiotic potential of oligosaccharides: A focus on xylan derived oligosaccharides. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 5, n. 1, p. 19–30, 2015.