

PRODUÇÃO DE XILO-OLIGOSSACARÍDEOS A PARTIR DE RESÍDUO CERVEJEIRO E AVALIAÇÃO DE SUAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS

Palavras-Chave: BAGAÇO DE MALTE, RESÍDUO AGROINDUSTRIAL, PREBIÓTICOS, ANTIOXIDANTES

Autores(as):

Marina de Lima Tresmondi, FEA — UNICAMP

Pesquisadora (Pós Doutoranda) Dr^a. Ana Gabriela da Silva Anthero Rissato, FEA — UNICAMP

Prof^a. Dr^a. Rosana Goldbeck, FEA — UNICAMP

INTRODUÇÃO:

Os xilo-oligossacarídeos (XOS) são oligossacarídeos não digeríveis e não calóricos, formados por cadeias de xilose ligadas por β -(1,4), com ou sem ramificações, reconhecidos por seus efeitos prebióticos ao estimular bactérias benéficas no intestino (CHEN et al., 2021). Por estarem presentes em baixas concentrações naturais em frutas e vegetais, sua produção e uso como suplemento alimentar tornam-se relevantes (BOONCHUAY et al., 2014). Além da ação sobre a microbiota intestinal, os XOS têm sido associados à redução do ganho de peso, melhora da glicemia e modulação de genes ligados à lipólise, demonstrando efeitos positivos sobre parâmetros de obesidade (TATEYAMA et al., 2005).

Entre as principais fontes industriais de XOS estão resíduos lignocelulósicos, como o bagaço de malte, subproduto da indústria cervejeira, que contém cerca de 28% de hemicelulose, além de celulose e lignina (CANO et al., 2020; AGRAWAL et al., 2023). A produção envolve a extração da xilana, seguida de hidrólise enzimática, método mais seletivo e menos agressivo que a hidrólise ácida ou auto-hidrólise, permitindo preservar as propriedades funcionais dos oligossacarídeos (AGRAWAL et al., 2023; VÁZQUEZ et al., 2000). Este projeto teve como objetivo otimizar a extração e a produção de XOS a partir do bagaço de malte, além de caracterizar sua composição química e avaliar propriedades prebióticas, antioxidantes e antidiabéticas *in vitro*.

METODOLOGIA:

A xilana foi extraída do bagaço de malte cedido pela Cervejaria Cogumelo (Campinas-SP) seguindo Zilliox e Debeire (1998), com adaptações. O material foi tratado com solução de KOH (5–12%) na proporção 1:10 (m/v), a 121 °C por 30-60 min. O extrato foi neutralizado com ácido acético (pH 5,0–5,5), precipitado com etanol a 4 °C, centrifugado, lavado com etanol 50% e EDTA 0,5%, seco a 50 °C por 24 h e diluído em tampão McIlvaine (pH 5,0). A composição química foi determinada em quadruplicata por hidrólise ácida com ácido sulfúrico 72%, seguindo Rocha, Pereira, Vicente (2019) seguida de análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Para obtenção dos XOS, a xilana foi hidrolisada com os coquetéis enzimáticos Shearzyme® e HTEC (40 U/g de xilana), a 50 °C, pH 5 e por 48 h sob agitação, conforme Ávila et al. (2020). A quantificação foi feita por

cromatografia de troca iônica com detecção amperométrica pulsada (HPLC-PAD). As variáveis de processo (pH, concentração de xilana, temperatura e agitação) foram avaliadas por planejamento *Plackett–Burman*, sendo pH e concentração de xilana otimizados via Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) no software *Protimiza*, visando maximizar o rendimento.

As propriedades funcionais dos XOS foram avaliadas *in vitro*. A atividade prebiótica foi determinada pelo crescimento de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* em meio MRS com XOS (4 g/L) como única fonte de carbono, monitorando densidade óptica (600 nm) e produção de ácidos orgânicos por HPLC. A atividade antioxidante foi avaliada pelo ensaio DPPH em concentrações de 0,25-9 g/L, com leitura a 517 nm e Trolox como padrão. A atividade antidiabética foi medida pela inibição da α -amilase de *Bacillus licheniformis*, conforme Casarin, Rasera e De Castro (2021). Ela foi incubada com amido 0,5% (p/v) e XOS em diferentes concentrações, com a reação sendo interrompida com DNS e aquecida a 100 °C. A liberação de açúcares redutores foi quantificada a 540 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

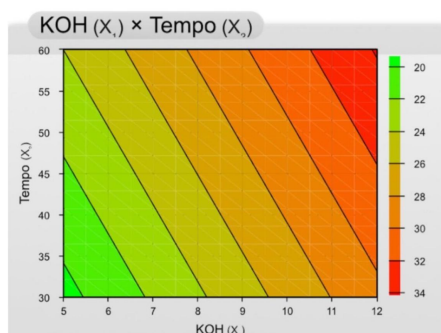


Figura 1 - Otimização da extração de xilana a partir do software *Protimiza*

Tratamentos	X1	X2	Y1
1	-1 (5%)	-1 (30 min)	20,5 g
2	1 (12%)	-1 (30 min)	26,8 g
3	-1 (5%)	1 (60 min)	21,15 g
4	1 (12%)	1 (60 min)	31,7 g
5	0 (8,5%)	0 (45 min)	29,1 g
6	0 (8,5%)	0 (45 min)	25,2 g
7	0 (8,5%)	0 (45 min)	24,3 g

Tabela 1 - Rendimentos obtidos na extração de xilana, utilizando diferentes concentrações de KOH e tempos de tratamento térmico.

A otimização da extração de xilana considerou os rendimentos obtidos nas diferentes condições testadas (Tabela 1). A análise no software *Protimiza* indicou que a concentração de KOH foi o principal fator para o rendimento, com coeficiente de determinação (R^2) de 87,4%, sendo o máximo obtido com 8,5% de KOH a 121 °C por 45 minutos. A caracterização química da xilana mostrou predominância de xilose ($0,958 \pm 0,028$ g/L), seguida por arabinose ($0,339 \pm 0,014$ g/L), ácido acético ($0,305 \pm 0,024$ g/L), etanol ($0,198 \pm 0,099$ g/L) e glicose ($0,032 \pm 0,003$ g/L), confirmando o potencial do bagaço de malte como matriz para produção de xilo-oligossacarídeos.

Na etapa de hidrólise enzimática, a comparação entre os coquetéis demonstrou maior eficiência da Shearzyme® em relação à HTEC, obtendo-se 1015 mg/L de XOS totais em 24 horas de reação. Esses resultados estão de acordo com as pesquisas de Kiran, Akpınar e Bakir (2013) e Quintero, de Souza e Milagres (2021), que, ao compararem a Shearzyme e a HTEC com demais coquetéis enzimáticos, identificaram uma maior capacidade de hidrólise da xilana por parte da Shearzyme, com um desempenho inferior apresentado pela HTEC. A Shearzyme® apresentou maior especificidade para as ligações β -1,4 da xilana devido à presença predominante de endo-1,4-xilanase em sua composição, resultando principalmente em xilobiose (X2) e xilotriose (X3), oligômeros de menor grau de polimerização reconhecidos por seus efeitos prebióticos, conforme os estudos de Ávila et al. (2020). Os resultados obtidos encontram-se na Figura 2.

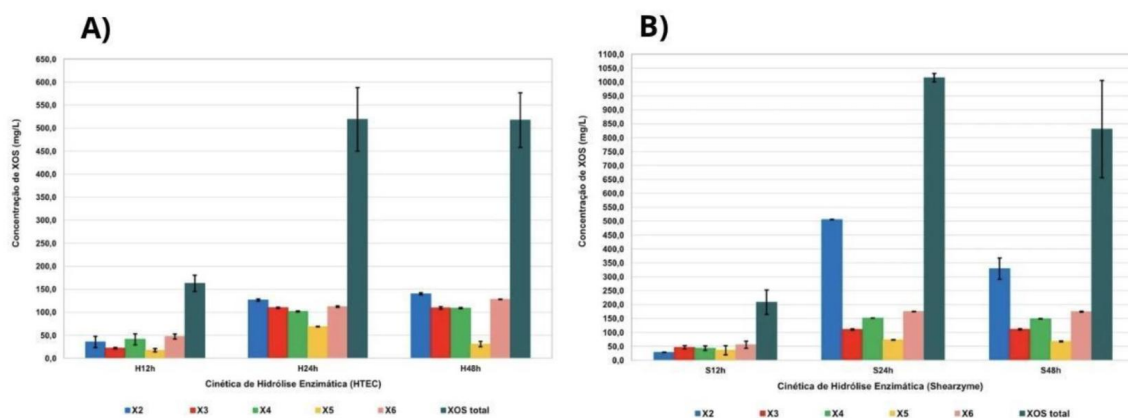


Figura 2 - Concentração de XOS obtidas (em mg/L) com hidrólise enzimática via HTEC (A) e Shearzyme (B)

A análise das variáveis do processo de hidrólise pelo planejamento *Plackett–Burman* indicou que o teor de xilana no meio reacional e o pH foram os fatores mais significativos para maximizar a produção dos XOS, conforme apresentado na Figura 3, apresentando condições ótimas em pH 6 e com teor de 2% de xilana. Posteriormente, essas variáveis foram otimizadas por Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), o

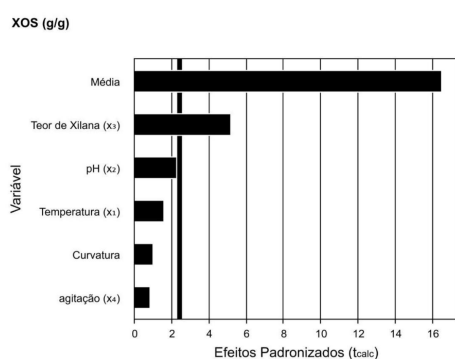


Figura 3 - Efeito das variáveis independentes na produção de XOS segundo resultados do PB

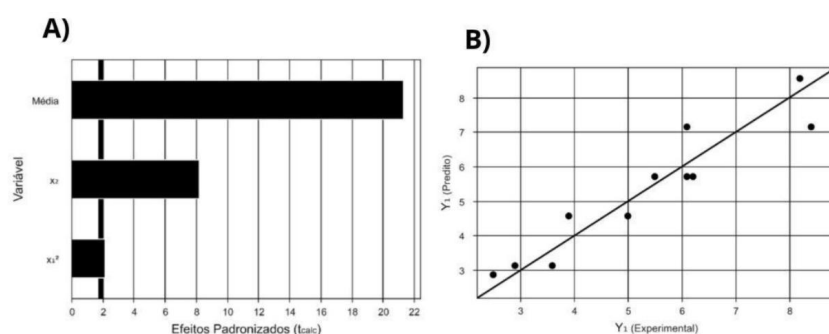


Figura 4 - Efeitos das variáveis independentes na produção de XOS segundo resultados do DCCR (A). Gráfico de dispersão entre rendimento previsto e experimental (B).

qual confirmou a concentração de xilana como a principal determinante do rendimento, permitindo atingir 8,4 g/L de XOS totais em pH 7 com teor de xilana de 3%.

A análise de variância (ANOVA) revelou um coeficiente de determinação ajustado (R^2) de 88,86%, e a significância estatística do modelo foi confirmada pelo baixo valor de p (0,0000513), evidenciando que as variáveis selecionadas influenciam significativamente a extração dos XOS. Além disso, a falta de ajuste não foi significativa ($p = 0,1209$), indicando que o modelo é adequado para prever os valores experimentais dentro do intervalo estudado, apresentando baixa dispersão, conforme apresentado na Figura 4.

Quanto ao estudo da atividade prebiótica, os XOS sustentaram o crescimento de *L. acidophilus* e *B. bifidum*, com desempenho semelhante ao observado em meios contendo glicose ou frutooligossacarídeos (FOS) como fontes de carbono. As curvas de crescimento (Figuras 5A e 5D) revelaram um aumento da densidade óptica das culturas até cerca de 24 horas, com estabilização após 48 horas. O perfil de ácidos orgânicos produzidos (Figuras 5C e 5F) durante a fermentação confirmou a atividade metabólica característica de bactérias ácido-láticas, com predomínio de ácido lático (4,6 g/L para *L. acidophilus* e 5,2 g/L para *B. bifidum*), seguido por

ácido acético (0,87–1,3 g/L) e menores quantidades de ácido propiônico. A análise do consumo dos diferentes graus de polimerização dos XOS (Figuras 5B e 5E) revelou preferência das bactérias pelos oligossacarídeos menores (X2 e X3), consumidos em mais de 90%, enquanto X4, X5 e X6 foram metabolizados de forma mais lenta, o que encontra-se de acordo com Paschoa et al. (2025), que destacou os oligômeros curtos como mais rapidamente assimiláveis pela microbiota.

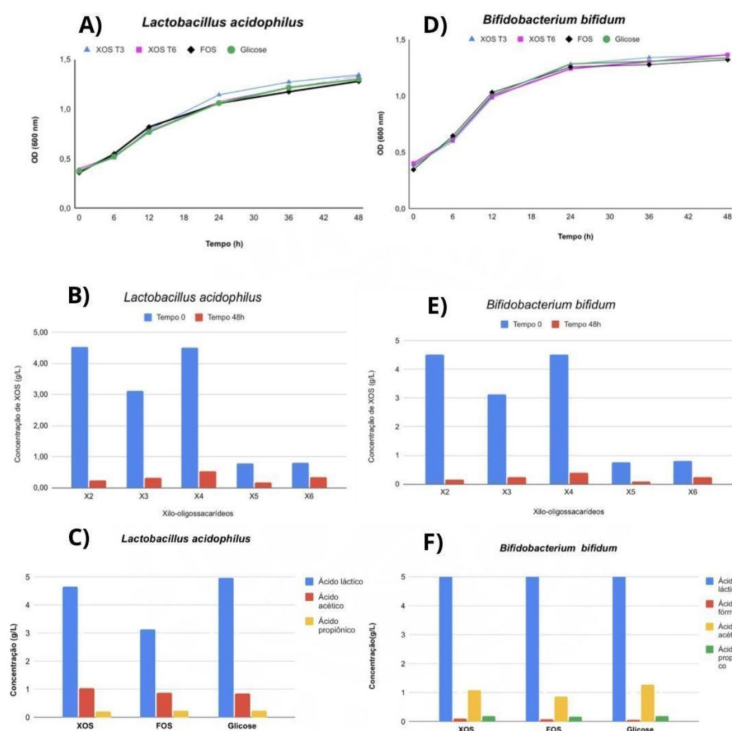


Figura 5 - Eficiência dos XOS no crescimento de *L. acidophilus* (A) e *B. bifidum* (D) em relação a fontes convencionais. Consumo de frações de XOS durante a fermentação por *L. acidophilus* (B) e *B. bifidum* (E). Produção de ácidos orgânicos durante a fermentação por *L. acidophilus* (C) e *B. bifidum* (F).

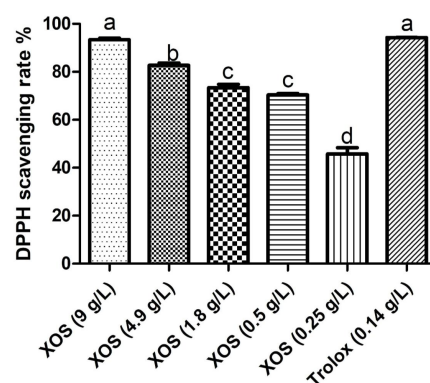


Figura 6 - Atividade antioxidante determinada pelo método de radical livre DPPH para diferentes concentrações de XOS

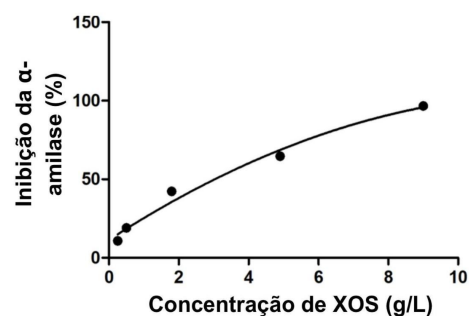


Figura 7 - Percentual de Inibição da α-amilase pelos XOS

Quanto à atividade antioxidante, os XOS apresentaram um aumento progressivo da eliminação do radical DPPH conforme a concentração dos oligossacarídeos, atingindo 94% de inibição na concentração mais alta testada (9 g/L), resultado comparável ao controle positivo Trolox. Esse resultado indica que os XOS do bagaço de malte possuem grupos hidroxila livres capazes de doar elétrons para estabilizar radicais livres, demonstrando potencial antioxidante relevante para aplicações alimentícias. Os dados obtidos estão apresentados na Figura 6.

Na avaliação da atividade antidiabética, verificou-se que o aumento da concentração de XOS (0,25-9 g/L) promoveu inibição progressiva da α-amilase, alcançando 96% na maior concentração testada. Esse efeito demonstra que os XOS reduzem a degradação do amido e retardam a liberação de glicose, sugerindo interação significativa com a enzima. Tais resultados reforçam o potencial dos XOS no controle da glicemia e na aplicação como ingrediente funcional (CASARIN; RASERA; DE CASTRO, 2021).

CONCLUSÕES:

Diante dos resultados expostos, a produção de xilo-oligossacarídeos a partir do bagaço de malte mostrou-se viável, com extração otimizada (8,5% KOH, 121°C, 45 min) e hidrólise enzimática eficiente (1015 mg/L de XOS). A análise de *Plackett-Burman* destacou o teor de xilana e o pH como fatores críticos na produção, enquanto o

DCCR confirmou o teor de xilana como o principal influenciador do rendimento de XOS (0,401g XOS/g xilana, $R^2 = 89\%$). Em relação a atividade prebiótica, constatou-se que a xilobiose (X2) e a xilotriose (X3) foram os principais produtos, sustentando o crescimento de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* de forma comparável à glicose e FOS, resultando em elevada produção de ácido láctico (5,3 g/L para *B. bifidum* e 4,7 g/L para *L. acidophilus*). Além da atividade prebiótica, os XOS apresentaram alta capacidade antioxidante (94%) e inibição da α -amilase (96%), sugerindo potencial no controle glicêmico. Apesar dos resultados promissores, estudos adicionais são necessários para validar sua estabilidade e biodisponibilidade na indústria de alimentos.

BIBLIOGRAFIA

AGRAWAL, D.; **GOPALIYA**, D.; **WILLOUGHBY**, N.; **KHARE**, S.K.; **VINOD K.**, Recycling potential of brewer's spent grains for circular biorefineries, **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, 40, 2023, 100748, 1-9, 2023 <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2022.100748>.

ÁVILA, P.F.; **MARTINS**, M.; **COSTA**, F.A.C.; **GOLDBECK**, R. Xylooligosaccharides production by commercial enzyme mixture from agricultural wastes and their prebiotic and antioxidant potential. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, 24, 2020, ISSN 2212-6198. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2020.100234>.

BOONCHUAY, P.; **TECHAPUN**, C.; **SEESURIYACHAN**, P.; **CHAIYASO**, T. Production of xylooligosaccharides from corncob using a crude thermostable endo-xylanase from *Streptomyces thermovulgaris* TISTR1948 and prebiotic properties. **Food Science and Biotechnology**, 23, v. 5, p. 1515–1523, 2014.

CANO, M.; **GARCÍA-MARTIN**, A.; **MORALES**, P.; **WOJTUSIK**, M.; **SANTOS**, V. ; **KOVENSKY**, J.; **LADERO**, M. Production of Oligosaccharides from AgrofoodWastes. **Fermentation**, v. 6, n. 1, p. 1-27, 2020.

CASARIN, A. L. F.; **RASERA**, G. B.; **DE CASTRO**, R. J. S. Combined biotransformation processes affect the antioxidant, antidiabetic and protease inhibitory properties of lentils. **Process Biochemistry**, v. 102, p. 250-260, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.01.011>.

CHEN, Y. ; **XIE**, Y. ; **AJUWON**, K.M.; **ZHONG**, R.; **LI**, T.; **CHEN**, L. Xylo-oligosaccharides, preparation and application to human and animal health: a review. **Frontier Nutrition**, v.8, 731930, p. 1-10, 2021.

KIRAN, E. U.; **AKPINAR**, O.; **BAKIR**, U. Improvement of enzymatic xylooligosaccharides production by the co-utilization of xylans from different origins. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, n. 4, p. 565-574, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.12.002>.

QUINTERO, L.P., **DE SOUZA**, N.P.Q. & **MILAGRES**, A.M.F. The Effect of Xylan Removal on the High-Solid Enzymatic Hydrolysis of Sugarcane Bagasse. **Bioenerg. Res.** 15, 1096–1106 (2022). <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10294-0>

TATEYAMA, I. et al. Effect of xylooligosaccharide intake on severe constipation in pregnant women. **Journal nutrition Science Vitaminol**, v.51, n.6, p.445-448, 2005.

ZILLIOX, C.; **DEBEIRE**, P. Hydrolysis of wheat straw by a thermo stable endoxylanase: adsorption and kinetic studies. **Enzyme and Microbial technology**, 22, n. 1, 1998, p. 58-63