



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Câmpus de Três Lagoas

Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas

ANÁLISE DOS POTENCIAIS FERMENTATIVOS DE LEVEDURAS PRODUTORAS DE XILITOL

Aluna: Isabela Andrade dos Santos

Orientadora: Elisangela de Souza Miranda Muynarsk

Três Lagoas, MS

Dezembro de 2024

Análise dos potenciais fermentativos de leveduras produtoras de xilitol

1

2

3 **Isabela Andrade dos Santos^a, Danilo Grünig Humberto da Silva^a, Edis Belini-Junior^a,**

4 **Elisangela de Souza Miranda Muynarsk^{a*}**

5

6 **^aFederal University of Mato Grosso of Sul (UFMS), Zip code 79070-900, Campo Grande,**

7 **MS, Brazil.**

8

9 *** Corresponding author**

10 **elisangela.miranda@gmail.com**

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35 **Resumo**

36 A crescente demanda por xilitol nas indústrias alimentícia, farmacêutica e odontológica
37 impulsiona a busca por métodos de produção eficientes e sustentáveis. O estudo investigou o
38 potencial fermentativo de três linhagens de *Meyerozyma caribbica* (CHAP-96, CHAP-103 e
39 CHAP-204) na produção de xilitol, um adoçante amplamente utilizado em indústrias alimentícias
40 e farmacêuticas. Utilizando um planejamento experimental baseado em Delineamento Composto
41 Central Rotacional (DCCR), as linhagens foram submetidas a diferentes concentrações de xilose
42 e valores de pH para otimizar as condições de produção. Os resultados indicaram que a faixa
43 ideal para a produção de xilitol está em uma concentração de xilose de aproximadamente 80 g/L
44 e pH próximo a 7, condições que resultaram no maior rendimento para as linhagens CHAP-103
45 e CHAP-204. Em contrapartida, valores extremos de pH comprometeram o crescimento celular
46 e a eficiência do processo fermentativo, evidenciando os desafios metabólicos enfrentados pelas
47 leveduras em ambientes adversos. Os modelos matemáticos gerados apresentaram alta correlação
48 entre os valores observados e previstos, validando a análise experimental e fornecendo subsídios
49 para futuras otimizações. Conclui-se que a bioprodução de xilitol por *M. caribbica* é uma
50 alternativa ao método químico tradicional, contribuindo para processos mais sustentáveis e
51 economicamente viáveis. Estudos futuros deverão focar em estratégias para mitigar os efeitos
52 dos inibidores e aprimorar as condições fermentativas.

53 Palavras-chave: Inibidores; hidrolisado lignocelulósico; Planejamento Experimental

54

55 **Abstract**

56 The growing demand for xylitol in the food, pharmaceutical, and dental industries drives
57 the search for efficient and sustainable production methods. This study investigated the
58 fermentative potential of three *Meyerozyma caribbica* strains (CHAP-96, CHAP-103, and
59 CHAP-204) for xylitol production, a sweetener widely used in food and pharmaceutical
60 industries. Using an experimental design based on a Central Composite Rotational Design
61 (CCRD), the strains were exposed to different xylose concentrations and pH values to optimize
62 production conditions. The results indicated that the optimal range for xylitol production was
63 achieved at a xylose concentration of approximately 80 g/L and a pH close to 7, which yielded
64 the highest efficiency for CHAP-103 and CHAP-204 strains. Conversely, extreme pH values
65 hindered cell growth and fermentative efficiency, highlighting yeasts' metabolic challenges in
66 adverse environments. The mathematical models generated showed a strong correlation between
67 observed and predicted values, validating the experimental analysis and providing a foundation
68 for future optimizations. It is concluded that xylitol bioproduction by *M. caribbica* offers a
69 promising alternative to traditional chemical methods, contributing to more sustainable and
70 economically viable processes. Future studies should focus on strategies to mitigate the effects
71 of inhibitors and enhance fermentative conditions.

72 Keywords: Hybridization; Inhibitors; Lignocellulosic hydrolysate; Design of experiments

73

74 **1. Introdução**

75 A produção de xilitol está recebendo maior interesse devido à sua crescente demanda nas
76 indústrias alimentícia e farmacêutica. O tamanho do mercado global de xilitol foi avaliado em
77 US\$ 957 milhões em 2023 e deverá expandir a uma taxa de crescimento anual composta de 3,7
78 % de 2024 a 2032 (Glycol et al., 2024). O xilitol é utilizado como substituto do açúcar em

79 alimentos com baixa calórica (Kommineni et al., 2012) e encontra-se em grande expansão no
80 mercado devido aos seus efeitos prebióticos e aplicação de diversos produtos da indústria de
81 alimentos (Camargo et al., 2015).

82 O processo de obtenção de xilitol a partir da biomassa celulósica tem início com a
83 conversão dos compostos lignocelulósicos, na etapa de pré-tratamento, em seus açúcares básicos
84 entre os quais a xilose que pode ser convertida em uma variedade de moléculas de interesse,
85 incluindo o xilitol. Atualmente, o xilitol é produzido por meio da hidrogenação catalítica da
86 xilose, um processo químico que demanda altas temperaturas e pressões, resultando em elevados
87 custos energéticos. Além disso, utiliza-se catalisadores químicos, como o níquel de Raney, o que
88 torna o processo ambientalmente prejudicial e contribui para um elevado custo no Mercado
89 (Ordeñana Manso et al., 2024).

90 A produção biotecnológica do xilitol utilizando microrganismos tem sido pesquisada
91 como alternativa para o processo químico que, quando integrada ao modelo de biorrefinaria,
92 apoia as metas de sustentabilidade (Su et al., 2013). Determinados microrganismos,
93 especialmente leveduras, possuem uma capacidade intrínseca de metabolizar xilose e, quando
94 submetidos a condições otimizadas de processo, demonstram elevada eficiência na produção de
95 xilitol, como exemplificado pelo desempenho de *Candida tropicalis* em estudos recentes
96 (Bianchini et al., 2023).

97 A principal dificuldade encontrada no processo para obter xilitol a partir da xilose é a
98 formação de inibidores durante a etapa de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica, os quais
99 impactam diretamente no estado fisiológico das células de levedura e podem levar à redução do
100 crescimento e da viabilidade celular, diminuir o rendimento, e aumentar o tempo de fermentação
101 (Basso et al., 2008).

102 Entre os inibidores gerados durante o pré-tratamento, o furfural, hidroximetil-furfural
103 (HMF) e o ácido acético são os compostos que interferem severamente no crescimento das
104 leveduras (Wang et al., 2014). Seus efeitos inibitórios e mecanismos sobre o crescimento de
105 leveduras foram amplamente investigados (Qin et al., 2016). O acético ácido, derivado dos
106 radicais acetil presentes na estrutura da hemicelulose, pode penetrar na célula e se dissociar
107 causando uma diminuição no pH intracelular e, assim, afetar o metabolismo celular (Guaragnella
108 & Bettiga, 2021). O furfural e HMF são aldeídos com efeitos tóxicos amplamente documentados
109 em células microbianas. Ambos os compostos atravessam a membrana microbiana por difusão,
110 causando danos significativos à homeostase celular. Esses efeitos incluem o aumento da
111 produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) no citoplasma, fragmentação de DNA,
112 disfunção de mitocôndrias e vacúolos, desequilíbrio no estado redox celular e inibição de

113 enzimas essenciais da via glicolítica, comprometendo o metabolismo energético e a viabilidade
114 celular (Jilani & Olson, 2023).

115 A produção biotecnológica de xilitol tem sido amplamente investigada ao longo dos anos,
116 com foco na otimização de diversos fatores que afetam a conversão de xilose em xilitol. Entre as
117 principais áreas de pesquisa destacam-se a adaptação celular aos inibidores presentes em
118 hidrolisados lignocelulósicos (Bianchini et al., 2022), o valor do pH (Felipe et al., 1995), a
119 concentração inicial do substrato (da Silva & de Almeida Felipe, 2006) e outros parâmetros
120 críticos que influenciam o rendimento e a eficiência do processo. Esses esforços visam aprimorar
121 as condições bioprocessuais e viabilizar alternativas sustentáveis e economicamente
122 competitivas à produção química convencional.

123 Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial fermentativo de 3
124 linhagens de *Meyerozyma caribbica* (CHAP-96, CHAP-103 e CHAP-204) produtoras de xilitol,
125 através de um planejamento experimental com diferentes concentrações de xilose e valores de
126 pH.

127

128 2. Material e método

129 2.1 Cepas de levedura e preparação de inóculo

130 Foram avaliadas 3 cepas de *Meyerozyma caribbica* (CHAP-96 CHAP-103 e CHAP-204)
131 produtoras de xilitol, obtidas do Laboratório de Bioquímica de Leveduras da Universidade
132 Federal da Fronteira Sul, Campus Chapecó. As linhagens foram reativadas pela estria para obter
133 colônia pura em YEPD ágar estéril (2% de glicose; 1% de peptona; 1% de extrato de levedura)
134 seguido de incubação a 30°C por 24 horas.

135

136 2.2 Planejamento experimental e Fermentação em meio sintético de xilose

137 O planejamento experimental utilizado foi o Delineamento Composto Central Rotacional
138 (DCCR) fatorial $2^{(2)}$, elaborado no Software STATISTICA composto por onze ensaios,
139 constituídos por três pontos centrais (Tabela 1). Como fatores foram testados diferentes
140 concentrações de xilose e diferentes valores de pH, a fim de se encontrar as condições ideais para
141 que o processo fermentativo ocorra de forma mais eficiente possível. O rendimento de xilitol e o
142 percentual do consumo de açúcar foi determinado como as respostas CCRD.

143 **Tabela 1** - Planejamento experimental para produção de xilitol. Xilose (g/L) e pH.

144

Ensaio	Xilose (g/L)	pH
1	30	3.5
2	130	3.5
3	30	10.5
4	130	10.5
5	9.29	7
6	150.71	7
7	80	2.05
8	80	11.95
9 (PC)	80	7
10 (PC)	80	7
11 (PC)	80	7

145

***PC = ponto central**

146

147 A partir do planejamento experimental gerado pelo Software STATISTICA, as
 148 linhagens foram avaliadas em fermentações em lote. Para tal, as colônias foram pré-crescidas
 149 durante 48 h em 10 mL de meio YEPD líquido estéril e depois inoculado (500 µL) em 50 mL de
 150 meio YPX com 3 g/L de ácido acético, 0,2 g/L de furfural e 0,06 g/L de HMF, os principais
 151 inibidores em hidrolisados lignocelulósicos. As concentrações destes compostos foram assim
 152 escolhidas a partir da média de valores relatados anteriormente (Bohn et al., 2021; Lucaroni et
 153 al., 2022; Bonatto et al., 2020)

154 Os ensaios foram realizados a 30°C com agitação (140 rpm) em frascos de Erlenmeyer
 155 tapados com algodão por 48 horas. Amostras de cultura foram colhidas regularmente para medir
 156 o crescimento celular através da densidade óptica a 600 nm utilizando um espectrofotômetro

157 (UV-2600, SHIMADZU). O restante da alíquota foi centrifugado (5000 g, 3 min), e seus
158 sobrenadantes utilizados para quantificar xilose e xilitol através de HPLC.

159

160 2.3 Métodos Analíticos

161 A determinação de xilose e xilitol foi realizado segundo Tadioto et al., 2022. Inicialmente,
162 as amostras dos sobrenadantes foram filtradas através de filtros 0,45 µm antes da transferência
163 para frascos cromatográficos. As concentrações dos compostos foram determinadas usando
164 HPLC (LCMS-2020, Shimadzu), com índice de refração detector (RID-10, Shimadzu) e uma
165 coluna para ácidos orgânicos (Aminex HPX-87H, Bio-Rad). A fase móvel utilizou 5 mM ácido
166 sulfúrico a 50 °C com vazão de 0,6 ml/min. Curvas de calibração foram estabelecidas para todas
167 as amostras usando sete concentrações variando de 0,25 a 20 g/L para carboidratos e 0,125 a 10
168 g/L para xilitol.

169

170 3. Resultados e discussão

171 3.1 Fermentação em meio sintético de xilose

172 Leveduras da espécie *M. caribbica* são reconhecidas por sua habilidade em fermentar a
173 glicose de forma eficiente, produzindo etanol, e por acumular xilitol a partir da xilose disponível
174 no meio (Tadioto et al., 2022; Arumugam et al., 2020). O consumo de xilose e o acúmulo do
175 produto (xilitol) foram analisados sob a influência dos principais inibidores de fermentação
176 encontrados na biorefneria 2G – compostos geralmente gerados durante o pré-tratamento e
177 hidrólise (Jönsson et al., 2013).

178 A cinética do consumo de xilose e a produção de xilitol, para as 3 cepas em cada
179 condição de fermentação, estão representadas nas Figuras 1, 2 e 3. Os valores de pH mais baixos
180 (2.05 e 3.5) comprometeram fortemente as cepas nas fermentações em lote, que apresentaram
181 consumo nulo ou insignificante de xilose. Estudos indicam que a adaptação de células de
182 levedura a condições de pH ácido depende de dois fatores principais: a restauração do pH
183 intracelular, realizada por meio da exportação de prótons via H⁺-ATPase de membrana, um
184 processo energeticamente exigente; e a geração de ATP suficiente para sustentar esse mecanismo
185 enquanto promove o crescimento celular. Apesar do pH externo ser ácido, as células de levedura
186 devem manter o pH intracelular próximo da neutralidade para garantir a eficiência de processos
187 metabólicos essenciais (Schmidl et al 2021) tais como os das enzimas-chave envolvidas no
188 metabolismo da xilose, como xilose redutase e xilitol desidrogenase. Um estudo realizado por
189 Sene et al. (2000) demonstrou que pH abaixo de 3,5 diminui significativamente a atividade dessas

190 enzimas em *Candida guilliermondii*, levando a rendimentos baixos de xilitol. Esses resultados
191 são consistentes com o comprometimento observado nas cepas avaliadas no estudo atual.

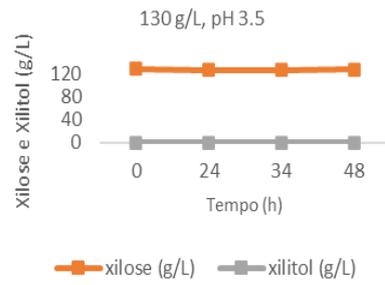
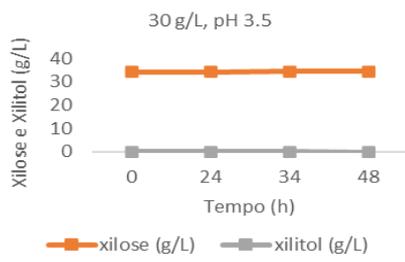
192 É relevante destacar que a seleção da faixa de pH 10.5 foi fundamentada em estudos
193 prévios os quais indicam que valores de pH mais elevados atenuam os efeitos inibitórios
194 exercidos por ácidos carboxílicos, como o acético, nos processos metabólicos (Bonatto et al.,
195 2020). Entretanto, nos experimentos realizados, observou-se que essa faixa de pH avaliada (10.5
196 e 11.95), as leveduras também enfrentaram dificuldade em metabolizar a xilose. Além disso,
197 deve-se notar que a presença concomitante de todos os inibidores representa uma condição muito
198 hostil para células de levedura (Bohn et al., 2021; Trichez et al., 2019; Lucaroni et al., 2022).

199 Em nosso estudo, podemos observar que somente as fermentações onde o pH foi ajustado
200 para 7 houve acúmulo de xilitol. O pH próximo a 7 é frequentemente relatado como ideal para
201 várias espécies de leveduras produtoras de xilitol, incluindo *C. tropicalis* e *C. guilliermondii*.
202 Rodrigues et al. (2002) mostraram que pH mais alcalino favorece a atividade da xilose redutase
203 e reduz a formação de subprodutos indesejáveis, como etanol e ácidos orgânicos. Em contraste,
204 valores de pH abaixo de 5,5 tendem a diminuir o rendimento devido à menor eficiência das
205 enzimas envolvidas na bioconversão de xilose. Conforme relatado por Cheng et al., 2009 em
206 fermentações com *C. tropicalis* W103 utilizando hidrolisado de espiga de milho como substrato
207 e pH ajustado entre 4,5 e 6,5, foi observado que o aumento do pH de 4.5 para 6.0 resultou em
208 maior produtividade e rendimento de xilitol.

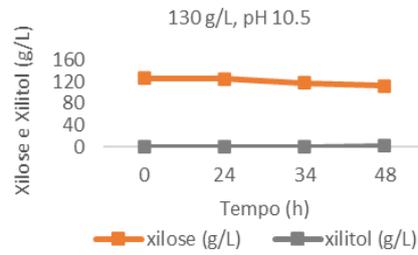
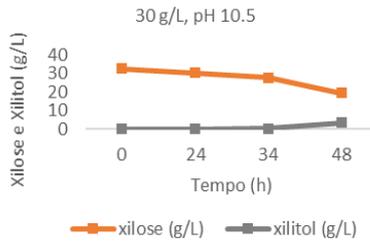
209 Em relação ao consumo de xilose, é importante mencionar que a condição com 80 g/L de
210 xilose em pH 7.0 apresentou a maior taxa de consumo de xilose entre todas as condições
211 avaliadas o que resultou no acúmulo de aproximadamente 30 g/L de xilitol para as cepas CHAP-
212 103 e CHAP-204 e 20 g/L de xilitol para a cepa CHAP-96 em 48 h. Estudos como os
213 Barathikannan e Agastiande (2016) observaram que concentrações elevadas de xilose favorecem
214 a produção de xilitol, especialmente em espécies que suportam alta pressão osmótica, como no
215 caso de *Candida tropicalis*. No entanto, o efeito da concentração de xilose pode variar de acordo
216 com a cepa utilizada.

217 Os valores ideais de pH e concentração de açúcar observados neste estudo estavam, em
218 grande parte, alinhados com as expectativas, uma vez que a literatura aponta para a limitada
219 tolerância das leveduras a condições extremas, as quais podem prejudicar consideravelmente seu
220 metabolismo em situações de estresse osmótico (Della-Bianca & Gombert, 2013).

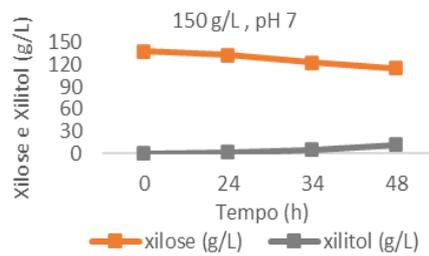
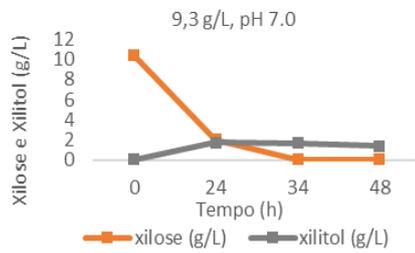
221



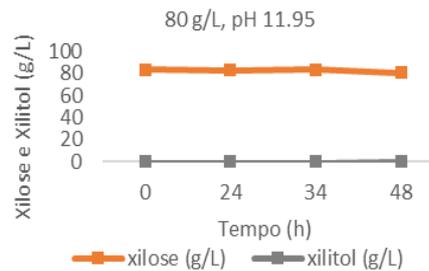
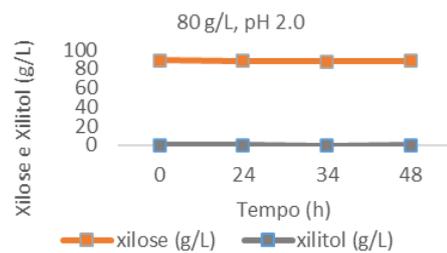
222



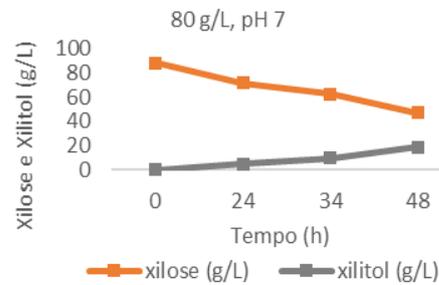
223



224



225



226

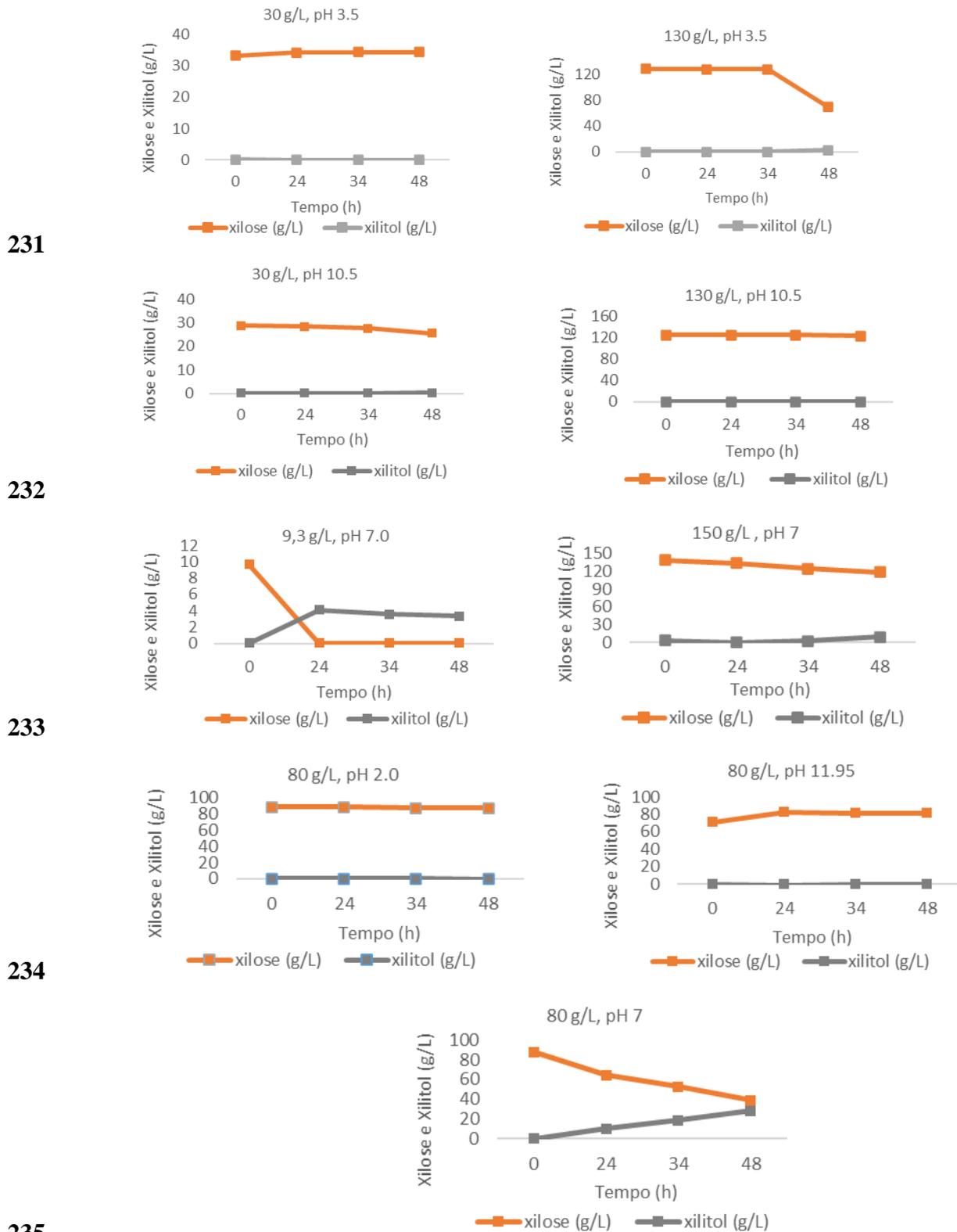
227

228

229

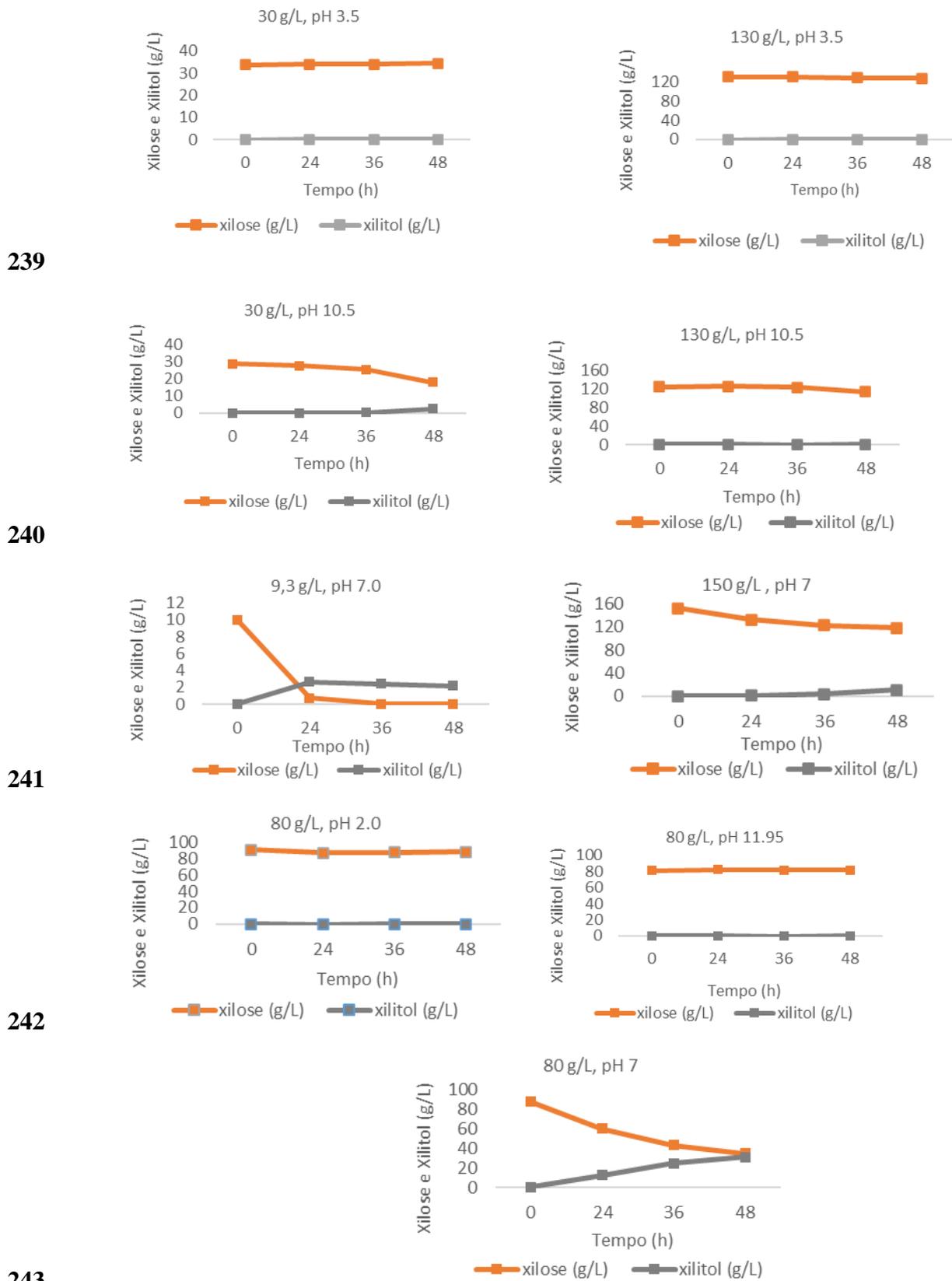
230

Figura 1. Consumo de xilose e acúmulo de xilitol da cepa *M. Caribbica* CHAP-96 submetidas ao CCRD (Tabela 1). A triplicata dos pontos centrais estão respresentados pela sua média.



235

236 **Figura 2. Consumo de xilose e acúmulo de xilitol da cepa *M. Caribbica* CHAP-103**
 237 **submetidas ao CCRD (Tabela 1). A triplicata dos pontos centrais estão representados pela**
 238 **sua média**



244 **Figura 3. Consumo de xilose e acúmulo de xilitol da cepa *M. Caribbica* CHAP-204**
245 submetidas ao CCRD (Tabela 1). A triplicata dos pontos centrais estão respresentados pela
246 sua média
247

248 3.2 Planejamento experimental

249 O planejamento experimental é uma técnica de análise de dados experimentais
250 fundamentada em análise estatística. Essa técnica é utilizada para estudar as variáveis que
251 influenciam positivamente ou negativamente as respostas desejadas, assim como a influência
252 exercida pela interação entre elas permitindo a otimização do sistema ou processo sob análise
253 (Rodrigues e Lemma, 2015).

254 As linhagens *M. caribbica* (CHAP-96, CHAP-103 e CHAP-204) foram avaliadas em um
255 DCCR fatorial 2(2), elaborado no Software STATISTICA, composto por onze ensaios
256 constituídos por três pontos centrais e posterior construção das superfícies de resposta para
257 avaliar os efeitos da concentração de xilose e pH sobre o acúmulo de xilitol a fim de determinar
258 as condições ótimas.

259 As 3 linhagens apresentaram comportamento semelhante em relação ao acúmulo de
260 xilitol (g/L) nos diferentes ensaios realizados (Tabela 2).

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281 Tabela 2. Acúmulo de xilitol (g/L) para as cepas CHAP-96, CHAP-103 e CHAP-204 avaliadas
282 em planejamento experimental

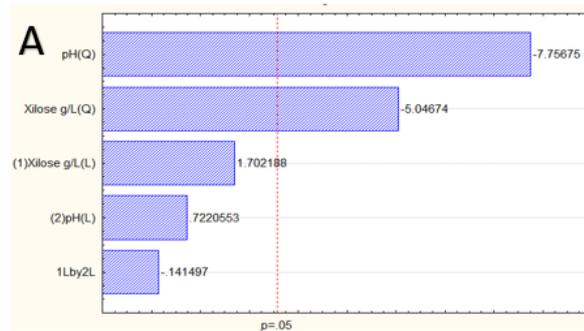
283

Ensaio	Xilose (g/L)	pH	Xilitol (g/L) CHAP - 96	Xilitol (g/L) CHAP - 103	Xilitol (g/L) CHAP - 204
1	30	3.5	0.02	0.02	0.02
2	130	3.5	0.00	2.65	0.01
3	30	10.5	3.43	0.30	2.52
4	130	10.5	2.58	0.00	1.00
5	9.29	7	1.40	3.34	2.16
6	150.71	7	12.0	9.55	10.0
7	80	2.05	0.01	0.02	0.02
8	80	11.95	0.01	0.02	0.02
9 (PC)	80	7	18.6	28.1	31.1
10 (PC)	80	7	17.9	27.6	29.7
11 (PC)	80	7	18.2	27.7	30.2

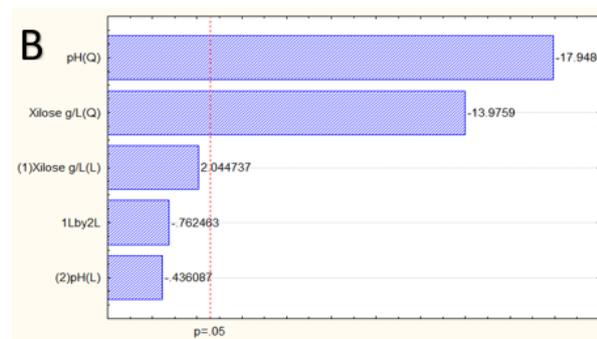
284

285 No planejamento experimental, foram considerados estatisticamente significativos os
286 termos em que $p < 0.05$, ou seja, a 5% de significância. Os gráficos de Pareto ilustram que a
287 redução na concentração de xilose e pH estimula efetivamente o acúmulo de xilitol. Nota-se que
288 o teor de pH é o que mais influência no processo de acúmulo de xilitol. Por outro lado, a interação
289 com 2 fatores “xilose * ph” ultrapassaram o valor de $p = 0,05$, no nível de confiança 95 %,
290 comprovando que não são valores estatisticamente significativos A significância das variáveis
291 independentes em relação a variável resposta do acúmulo de xilitol pode ser observada no gráfico
292 de Pareto na Figura 1.

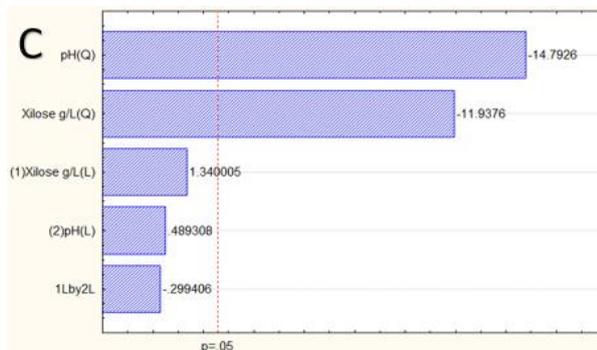
293



294



295



296

297

298 **Figura 1. Gráficos de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas**
 299 **(concentração de xilose; pH) para acúmulo de xilitol (g/L) das cepas CHAP-96 (A), CHAP-**
 300 **103 (B) e CHAP-204 (C), considerando nível de significância de 5% (linha pontilhada**
 301 **vermelha).**

302

303 A partir das variáveis significativas foi gerado um modelo matemático que representou o
 304 comportamento dos resultados experimentais e estes são apresentados nas equações 1 (CHAP-
 305 96), 2 (CHAP-103) e 3 (CHAP-204):

306

$$307 \quad Z = -40.9 + 0.44 * x - 0.002 * x^2 + 11.25 * y - 0.78 * y^2 - 0.001 * x * y + 0 \quad (1)$$

308

$$309 \quad Z = -63.15 + 0.78 * x - 0.004 * x^2 + 16.83 * y - 1.18 * y^2 - 0.004 * x * y + 0 \quad (2)$$

310

$$311 \quad Z = -68.87 + 0.85 * X - 0.005 * X^2 + 18.24 * Y - 1.28 * Y^2 - 0.002 * X * Y + 0 \quad (3)$$

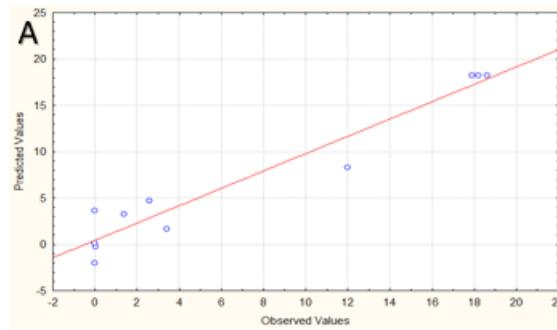
312

313 Onde Z representa acúmulo de xilitol (g/L), X para concentração de xilose (g/L) e Y para
314 valor de pH.

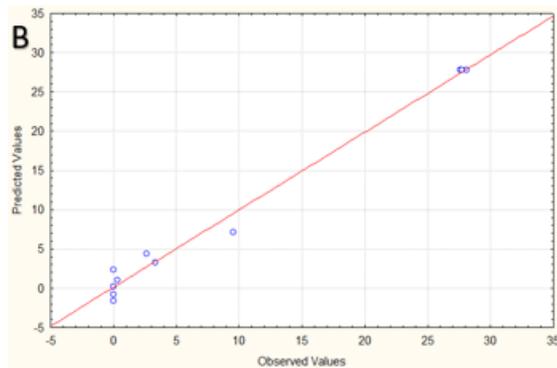
315

316 A regressão linear de experimental versus valores previstos apresentaram alto coeficiente
317 de correlação (R^2) foram 0,93, 0,97 e 0,98, respectivamente, sugerindo uma correlação
318 satisfatória entre eles. A qualidade do ajuste pode ser avaliada através do gráfico de valores
319 preditos versus valores observados que são mostrados na Figura 2. Os valores preditos pelo
320 modelo são representados pela reta, enquanto os valores observados são representados pelos
321 pontos e quanto mais os dados se ajustam à reta de identidade, melhor é a qualidade do ajuste.
322 Desta forma, observa-se que os valores preditos estão próximos aos valores observados.

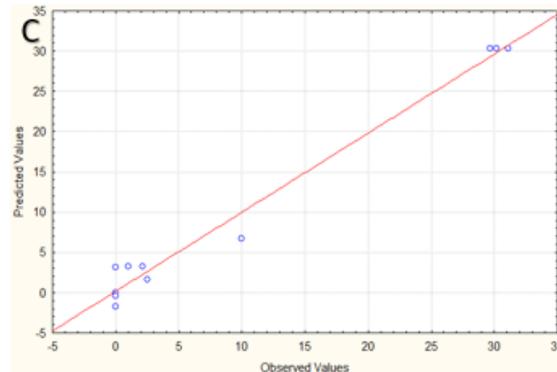
323



324



325



326 **Figura 2. Valores observados versus valores preditos para acúmulo de xilitol das cepas**
327 **CHAP-96 (A), CHAP-103 (B) e CHAP-204 (C).**

328

329

330 Através dos gráficos de superfície de resposta e curva de contornos (Figura 3) é possível
 331 observar a configuração para obtenção do maior acúmulo de xilitol (g/L), logo a região ótima foi
 332 encontrada para as 3 linhagens avaliadas. Esta configuração ótima é obtida quando a variável
 333 concentração de xilose está em torno de 80 g/L e o pH em torno de 7.

334

335

336

337

338

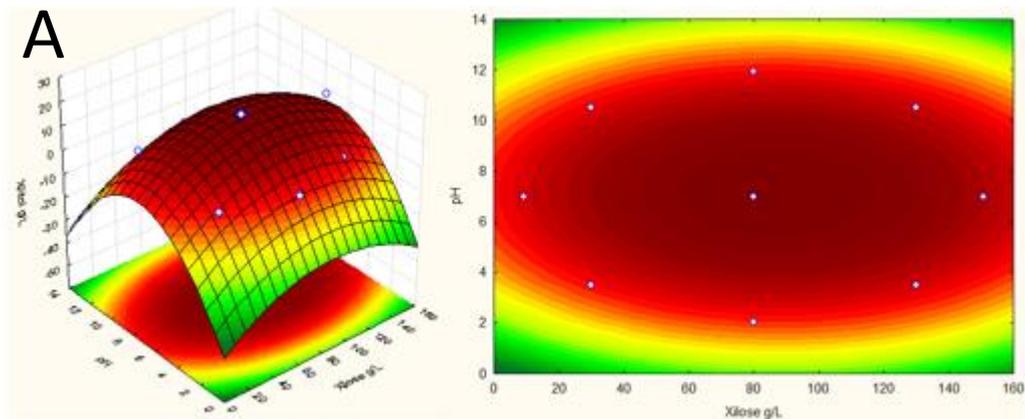
339

340

341

342

343



344

345

346

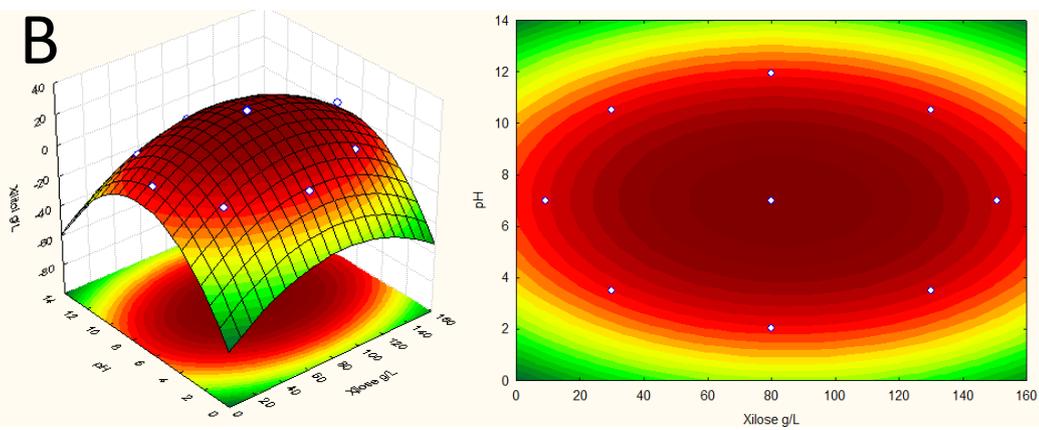
347

348

349

350

351



352

353

354

355

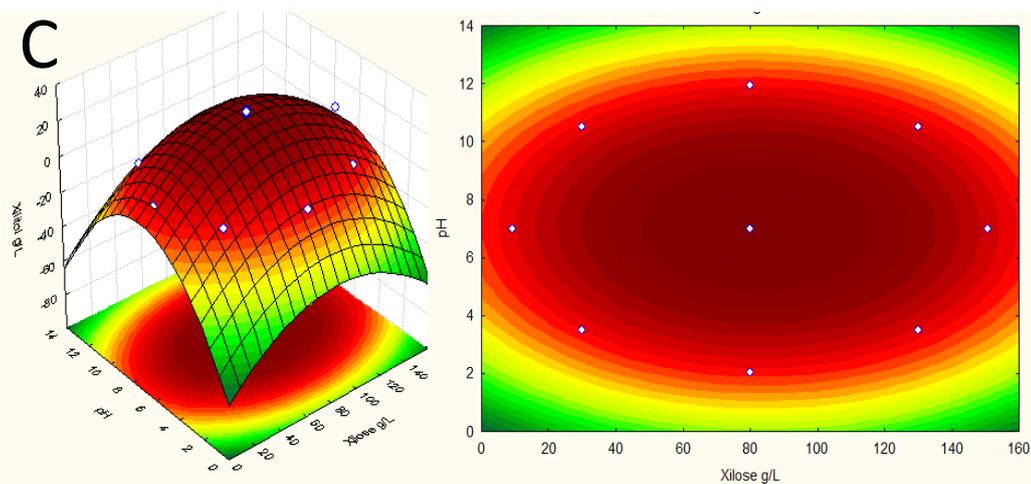
356

357

358

359

360



361 **Figura 3. Superfície de resposta e curva de contorno para o acúmulo xilitol (g/L) das cepas**
 362 **CHAP-96 (A), CHAP-103 (B) e CHAP-204 ©**

363

364 Conforme observado, a produção de xilitol por *M. caribbica* pode ser viável,
365 especialmente em condições controladas que minimizem os efeitos adversos do pH e da
366 concentração de xilose. A adaptação da cepa, seja por meio de engenharia genética ou evolução
367 adaptativa, pode representar uma abordagem interessante para aumentar a resistência a condições
368 de estresse e melhorar a conversão de xilose em xilitol.

369

370

371 4. Conclusão

372 Os resultados demonstraram que a concentração de xilose em torno de 80 g/L e pH
373 próximo de 7 foram as condições ótimas para maximizar o rendimento de xilitol, com destaque
374 para as linhagens CHAP-103 e CHAP-204, que apresentaram maior acúmulo do produto. Os
375 dados revelaram também que valores extremos de pH e concentração de xilose comprometem
376 significativamente o metabolismo das leveduras. Além disso, a presença simultânea de inibidores
377 comuns em hidrolisados lignocelulósicos apresentaram desafios adicionais, reforçando a
378 necessidade de estratégias para minimizar seus efeitos no contexto industrial.

379 A análise estatística e os modelos matemáticos gerados corroboram a validade dos
380 resultados experimentais e oferecem insights valiosos para otimização de processos futuros.
381 Novas pesquisas devem explorar estratégias adicionais de adaptação celular para mitigar os
382 impactos dos inibidores e aprimorar a eficiência do processo.

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392

393

394

395

396

397

398 Referências

- 399 Arumugam, N., Boobalan, T., Saravanan, S., Jothi Basu, M., Arun, A., Suganya Devi, T., &
400 Kavitha, T. (2020). In silico and in vitro comparison of nicotinamide adenine dinucleotide
401 phosphate dependent xylose reductase rossmaan fold in Debaryomycetaceae yeast family.
402 *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101508>
403
- 404 Basso, L. C., De Amorim, H. V., De Oliveira, A. J., & Lopes, M. L. (2008). Yeast selection for
405 fuel ethanol production in Brazil. *FEMS Yeast Research*, 8(7), 1155–1163.
406 <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00428.x>
407
- 408 Bianchini, I. de A., Sene, L., da Cunha, M. A. A., & Felipe, M. das G. de A. (2022). Short-term
409 Adaptation Strategy Improved Xylitol Production by *Candida guilliermondii* on Sugarcane
410 Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate. *Bioenergy Research*, 15(2), 1182–1194.
411 <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10324-x>
412
- 413 Barathikannan, K. and Agastian, P. (2016). Xylitol: Production, Optimization and Industrial
414 Application. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* (Vol. 5, Issue
415 9, pp. 324-339) <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.509.036>
416
- 417 Bianchini, I. de A., Jofre, F. M., Queiroz, S. de S., Lacerda, T. M., & Felipe, M. das G. de A.
418 (2023). Relation of xylitol formation and lignocellulose degradation in yeast. In *Applied*
419 *Microbiology and Biotechnology* (Vol. 107, Issue 10, pp. 3143–3151). Springer Science and
420 Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12495-3>
421
- 422 Bonatto, C., Venturin, B., Mayer, D. A., Bazoti, S. F., de Oliveira, D., Alves, S. L., & Treichel,
423 H. (2020). Experimental data and modelling of 2G ethanol production by *Wickerhamomyces* sp.
424 UFFS-CE-3.1.2. *Renewable Energy*, 145, 2445–2450.
425 <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.08.010>
426
- 427 Bohn, L. R., Dresch, A. P., Cavali, M., Vargas, A. C. G., Führ, J. F., Tironi, S. P., Fogolari, O.,
428 Mibielli, G. M., Alves Jr., S. L., & Bender, J. P. (2021). Alkaline pretreatment and enzymatic
429 hydrolysis of corn stover for bioethanol production. *Research, Society and Development*, 10(11),
430 e149101118914. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.18914>
431

- 432 Camargo, D., Sene, L., Variz, D. I. L. S., & Felipe, M. das G. de A. (2015). Xylitol Bioproduction
433 in Hemicellulosic Hydrolysate Obtained from Sorghum Forage Biomass. *Applied Biochemistry
434 and Biotechnology*, 175(8), 3628–3642. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1531-4>
435
- 436 Cheng, K. K., Zhang, J. A., Ling, H. Z., Ping, W. X., Huang, W., Ge, J. P., & Xu, J. M. (2009).
437 Optimization of pH and acetic acid concentration for bioconversion of hemicellulose from
438 corncobs to xylitol by *Candida tropicalis*. *Biochemical Engineering Journal*, 43(2), 203–207.
439 <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.09.012>
440
- 441 da Silva, D. D. V., & de Almeida Felipe, M. das G. (2006). Effect of glucose:xylose ration on
442 xylose reductase and xylitol dehydrogenase activities from *Candida guilliermondii* in sugarcane
443 bagasse hydrolysate. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81(7), 1294–1300.
444 <https://doi.org/10.1002/jctb.1570>
445
- 446 Della-Bianca, B. E., & Gombert, A. K. (2013). Stress tolerance and growth physiology of yeast
447 strains from the Brazilian fuel ethanol industry. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal
448 of General and Molecular Microbiology*, 104(6), 1083–1095. [https://doi.org/10.1007/s10482-
449 013-0030-2](https://doi.org/10.1007/s10482-013-0030-2)
450
- 451 Felipe, M. G. A., Vieira, A. C., Vitolo', M., Silva, S. S., Roberto, I. C., & Manchilha, I. M.
452 (1995). Effect of acetic acid on xylose fermentation to xylitol by *Candida guilliermondii*. In *J.
453 Basic Microbiol* (Vol. 35).
454
- 455 Glycol, S., Glycol Propylene, E., Acid, X., & Pa, B. (2024). *Xylitol Market Snapshot SCOPE
456 AND COVERAGE Scope Market Segment Chewing gum Confectionary Food Personal care
457 Pharmaceuticals Nutraceuticals By Application Corncob Hardwood Corn Husk Sugarcane
458 Bagasse Others (Berries, Mushrooms, Oats) By Downstream application potential*.
459
- 460 Guaragnella, N., & Bettiga, M. (2021). Acetic acid stress in budding yeast: From molecular
461 mechanisms to applications. *Yeast*, 38(7), 391–400. <https://doi.org/10.1002/yea.3651>
462
- 463 Jilani, S. B., & Olson, D. G. (2023). Mechanism of furfural toxicity and metabolic strategies to
464 engineer tolerance in microbial strains. In *Microbial Cell Factories* (Vol. 22, Issue 1). BioMed
465 Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02223-x>

466

467 Jönsson, L. J., Ariksson, B., & Nilvebrant, N. O. (2013). Bioconversion of lignocellulose:
468 Inhibitors and detoxification. In *Biotechnology for Biofuels* (Vol. 6, Issue 1).
469 <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-16>

470

471 Kommineni, A., Amamcharla, J., & Metzger, L. E. (2012). Effect of xylitol on the functional
472 properties of low-fat process cheese. *Journal of Dairy Science*, 95(11), 6252–6259.
473 <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5376>

474

475 Lucaroni AC, Dresch AP, Fogolari O et al (2022) Effects of temperature and pH on salt-stressed
476 yeast cultures in non-detoxifiedcoconut hydrolysate. *Ind Biotechnol* 18:205–213.
477 <https://doi.org/10.1089/ind.2021.0029>

478

479 Ordeñana Manso, J., Nielsen, M. B., Balaguer Moya, E., Sandri, J. P., Yamakawa, C. K., &
480 Mussatto, S. I. (2024). Intensification of corn fiber saccharification using a tailor made enzymatic
481 cocktail. *Enzyme and Microbial Technology*, 172.
482 <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2023.110347>

483

484 Rodrigues, M. I.; Lemma, A. F. Experimental design and process optimization. Boca Raton: CRC
485 Press, 2015.336 p.

486 Su, B., Wu, M., Lin, J., & Yang, L. (2013). Metabolic engineering strategies for improving xylitol
487 production from hemicellulosic sugars. In *Biotechnology Letters* (Vol. 35, Issue 11, pp. 1781–
488 1789). <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1279-2>

489

490 Rodrigues, D. C. G. A., da Silva, S. S., & Vitolo, M. (2002). Influence of pH on the xylose
491 reductase activity of *Candida guilliermondii* during fed-batch xylitol bioproduction. *Journal of*
492 *Basic Microbiology*, 42(3). 201-206. [https://doi.org/10.1002/1521-4028\(200206\)42:3<201::AID-JOBM201>3.0.CO;2-%23](https://doi.org/10.1002/1521-4028(200206)42:3<201::AID-JOBM201>3.0.CO;2-%23)

494

495 Sene, L., Vitolo, M., Felipe, M. G., & Silva, S. S. (2000). Effects of environmental conditions
496 on xylose reductase and xylitol dehydrogenase production by *Candida guilliermondii*. *Applied*
497 *Biochemistry and Biotechnology* (Vol. 84, pp. 371-380). <https://doi.org/10.1385/ABAB:84-86:1-9:371>

499

- 500 Tadioto, V., Milani, L. M., Barrilli, É. T., Baptista, C. W., Bohn, L., Dresch, A., Harakava, R.,
501 Fogolari, O., Mibielli, G. M., Bender, J. P., Treichel, H., Stambuk, B. U., Müller, C., & Alves,
502 S. L. (2022). Analysis of glucose and xylose metabolism in new indigenous *Meyerozyma*
503 *caribbica* strains isolated from corn residues. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*,
504 38(2). <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03221-0>
505
- 506 Trichez, D., Steindorff, A. S., Soares, C. E. V. F., Formighieri, E. F., & Almeida, J. R. M. (2019).
507 Physiological and comparative genomic analysis of new isolated yeasts *Spathaspora* sp. JA1 and
508 *Meyerozyma caribbica* JA9 reveal insights into xylitol production. *FEMS Yeast Research*, 19(4).
509 <https://doi.org/10.1093/femsyr/foz034>
510
- 511 Qin, L., Liu, L., Li, W. C., Zhu, J. Q., Li, B. Z., & Yuan, Y. J. (2016). Evaluation of soluble
512 fraction and enzymatic residual fraction of dilute dry acid, ethylenediamine, and steam explosion
513 pretreated corn stover on the enzymatic hydrolysis of cellulose. *Bioresource Technology*, 209,
514 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.123>
515
- 516 Wang, X., Jin, M., Balan, V., Jones, A. D., Li, X., Li, B. Z., Dale, B. E., & Yuan, Y. J. (2014).
517 Comparative metabolic profiling revealed limitations in xylose-fermenting yeast during co-
518 fermentation of glucose and xylose in the presence of inhibitors. *Biotechnology and*
519 *Bioengineering*, 111(1), 152–164. <https://doi.org/10.1002/bit.24992>
520