

4º WORKSHOP DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCOMBUSTÍVEIS UFVJM-UFU

EFEITO DO pH E TEMPERATURA SOBRE A PRODUÇÃO DE XILITOL POR *Candida orthopsilosis* UFMJM-4G

Natália Oliveira Pereira ^{1 a}, Fellipe Rocha Pereira ^b, Filipe Soares de Freitas ^c, Lílian de Araújo Pantoja ^d, Alexandre Soares dos Santos ^e

^aEstudante de Engenharia Química da UFMJM. E-mail: oliveira.natalia@ufvjm.edu.br

^bEstudante do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis da UFMJM, nível mestrado. E-mail: fellipe.rocha@ufvjm.edu.br

^cEstudante do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis da UFMJM, nível doutorado. E-mail: filipe.soares@ufvjm.edu.br

^dProfessor do Instituto de Ciência e Tecnologia da UFMJM. E-mail: l.pantoja@ufvjm.edu.

^eProfessor do Departamento de Ciências Básicas da UFMJM. E-mail:

alexandre.soares@ufvjm.edu.br

1

Resumo: O xilitol é um poliol amplamente utilizado pela indústria farmacêutica e de alimentos devido ao seu poder adoçante e benefícios à saúde. Sua produção se dá por redução da xilose utilizando rota química ou biotecnológica. Este estudo avaliou o efeito do pH e da temperatura sobre o crescimento celular e o consumo de xilose durante a conversão da xilose em xilitol promovida pela levedura *Candida orthopsilosis* UFMJM 4G, uma linhagem isolada pelo grupo de pesquisa de Prospecção Microbiana e Bioprocessos da UFMJM. O pH e a temperatura influenciaram significativamente a produção de xilitol. Em pH 4 foi observada maior produção de xilitol, com rendimento $Y_{P/S}$ de 0,52. A 28°C obteve-se a maior rendimento de biomassa celular.

Palavras-chave: Adoçante, Poliol, Fermentação, Xilose, Pentose.

1 - Introdução

A procura por métodos sustentáveis e economicamente viáveis para a produção de compostos de interesse industrial tem estimulado o desenvolvimento de processos com microorganismos aptos a realizar transformações bioquímicas complexas utilizando substratos renováveis (Azevedo, 2018). O xilitol é um poliol com fórmula química $C_5H_{12}O_5$ (1,2,3,4,5-pentahidroxi-pentano) e que possui características desejáveis para a indústria farmacêutica e de alimentos devido aos seus benefícios à saúde (Kaur et al., 2022).

Segundo Kaur (2022) o xilitol é um adoçante natural com baixo índice glicêmico e tem aproximadamente 40% menos calorias do que a sacarose. O poliol é aplicado em uma vasta gama

de produtos, como alimentos, medicamentos, cosméticos e produtos de higiene oral. Pesquisas apontam que o xilitol tem a capacidade de inibir o desenvolvimento de bactérias responsáveis pela cárie dentária, como o *Streptococcus mutans*, o que tem expandido sua aplicação em produtos dentários (Silva et al. 2022).

O xilitol pode ser produzido a partir da xilose, uma pentose abundante na natureza que existe como componente das hemiceluloses de vegetais (Farias et al., 2022). Segundo Barreto e Silva (2023), resíduos agroindustriais podem ser uma fonte de xilose oportuna para a produção de xilitol. Industrialmente, o xilitol é produzido por hidrogenação catalítica da xilose a altas temperaturas e pressões elevadas e utilizando catalisadores à base de metais pesados (Bevilaqua; Maugeri; Forte, 2023).

A alternativa biotecnológica para a produção de xilitol utiliza condições reacionais brandas e com menor impacto ambiental. Alguns micro-organismos são capazes de converter xilose a xilitol por ação da enzima xilose-redutase. As condições de cultivo, como a oferta de nutrientes e ajustes de parâmetros físicos, exercem efeito significativo sobre o rendimento e a produtividade do processo biotecnológico (Souza, 2019).

A linhagem *Candida orthopsilosis* UFVJM-4G foi isolada e identificada pelo Grupo de Pesquisa de Prospecção Microbiana e Bioprocessos da UFVJM como capaz de assimilar xilose e transformá-la em etanol e xilitol (Barbosa, 2017).

A temperatura desempenha um papel crítico nos processos de obtenção de xilitol, especialmente nos processos fermentativos. Segundo estudos de Silva e Pereira (2020), a atividade enzimática da xilose-redutase e outras enzimas associadas à conversão da xilose é altamente sensível à temperatura, sendo observados ótimos rendimentos em intervalos específicos, geralmente entre 28°C e 37°C. Temperaturas abaixo desse intervalo podem reduzir a taxa metabólica das leveduras, enquanto temperaturas elevadas podem inibir o crescimento celular e promover a desnaturação de enzimas essenciais para o processo fermentativo (Pereira, 2020).

Além disso, Barreto et al. (2021) destacam que a estabilidade térmica dos cofatores enzimáticos, como NADPH, é crucial para a eficiência da bioconversão. Flutuações de temperatura durante o cultivo podem afetar a disponibilidade desses cofatores, comprometendo a síntese de xilitol. Portanto, a otimização das condições de temperatura é indispensável para maximizar o rendimento do processo fermentativo, sendo necessária uma abordagem cuidadosa ao projetar biorreatores e definir parâmetros operacionais.

Segundo Santos (2014), a regulação do pH durante o cultivo de uma levedura é um fator crítico para otimizar a produção de xilitol. A autora, ainda aborda que o pH influencia diretamente a atividade enzimática e a eficiência das vias metabólicas responsáveis pela conversão de xilose, sendo um parâmetro determinante para a maximização dos rendimentos e produtividade no processo fermentativo.

Estudos indicam que condições específicas de pH podem afetar não apenas a viabilidade celular, mas também a taxa de conversão de xilose e o acúmulo de xilitol no meio de cultura (Mesquita, 2021). O pH impacta a estabilidade dos cofatores enzimáticos, como NADPH, essenciais para a atividade da xilose-redutase, e o crescimento celular, pois afetam a taxa de multiplicação das células, resultando em diferentes tempos de adaptação e crescimento (Ferreira, 2010).

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos de diferentes valores de pH e temperatura sobre a produção de xilitol pela levedura *C. orthopsilosis* UFVJM 4G.

2 - Material e Métodos

As etapas experimentais deste projeto foram executadas no Laboratório de Bioprocessos e Biotransformação (LabBio) e no Laboratório de Microbiologia para Biocombustíveis (LabMBio) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), localizado no Campus JK, Diamantina-MG.

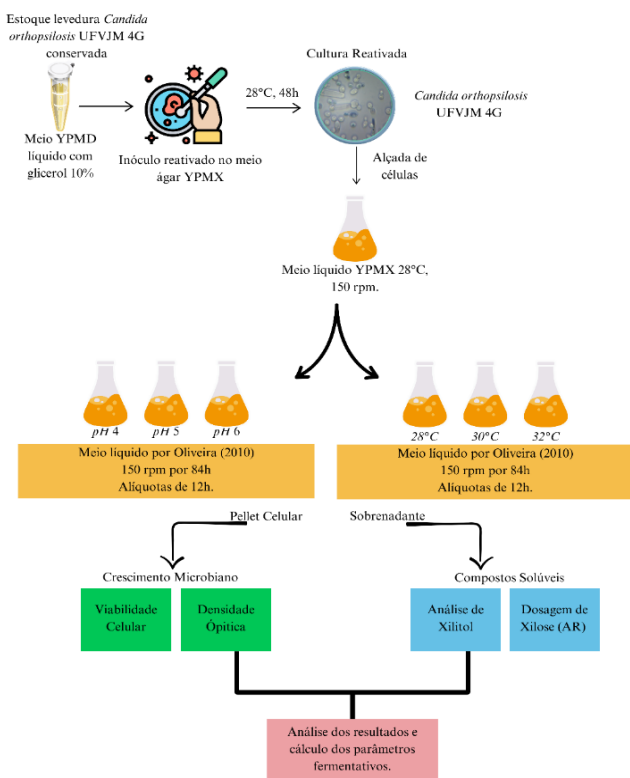


Figura 1. Fluxograma de trabalho do estudo fermentativo com a linhagem de *C. orthopsisilosis* Ufvjm 4G.

Preparo do inóculo

A linhagem de levedura *C. orthopsisilosis* Ufvjm 4G, registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), número de cadastro A18446E, se encontrava conservada em microtubos tipo *Eppendorf* após crescimento em meio de cultivo YPMD (3,0 g L⁻¹ de extrato de levedura; 3,0 g L⁻¹ de extrato de malte; 5,0 g L⁻¹ de peptona de soja e 10 g L⁻¹ de glicose) adicionado de 10% glicerol.

A levedura foi reativada em meio ágar YPMX (3,0 g L⁻¹ de extrato de levedura; 3,0 g L⁻¹ de extrato de malte; 5,0 g L⁻¹ de peptona de soja, 10 g L⁻¹ de xilose, 17 g L⁻¹ de ágar) mantido a 28°C por 48h. Após reativação, uma alçada de células foi transferida, com auxílio de alça de inoculação (loop de 10 µL), para meio líquido descrito por

Oliveira (2010) (20,0 g L⁻¹ de xilose; 1,25 g L⁻¹ de ureia; 1,10 g L⁻¹ de fosfato monopotássico; 2,00 g L⁻¹ de extrato de levedura e 40 mL de uma solução de sais) e cultivada a 28°C a 150 rpm.

Ensaio Fermentativos

As fermentações foram realizadas em triplicata em frascos cônicos de 125 mL contendo 60 mL do meio descrito por Oliveira (2010). O pH dos meios de cultivo foi ajustado para os valores de 4,0; 5,0 e 6,0 utilizando sistema tampão contendo ácido cítrico a 0,1 mol/L. Os valores de temperatura avaliados foram de 28°C, 30°C, e 32°C, mantido o pH = 4,0. Os ensaios fermentativos foram conduzidos sobre agitação em incubadora refrigerada (NT - 714) com agitação orbital de 150 rpm, durante 84 horas. Aliqotas de 500 µL de meio foram retiradas a cada 12 horas, para acompanhamento do crescimento celular e a determinação da concentração de açúcares. Ao final do das fermentações, foram determinadas as concentrações de xilitol e etanol.

Crescimento e viabilidade celular

O crescimento celular foi determinado por densidade óptica (D.O. a 610 nm) e por contagem de células em câmara de Neubauer, observada a viabilidade celular com uso de solução de azul de metileno (Alves, 1998), de acordo com a equação 1.

$$VB(\%) = \frac{C.V *}{C.V * + C.M *} \times 100 \quad (1)$$

VC = iabilidade Celular

*C.V = Células Vivas

*C.M = Células Mortas

Os valores de D.O. foram convertidos em concentração de células (g L⁻¹) utilizando curva de correlação D.O. (610nm) x Peso Seco (g L⁻¹) com equação $y = 1,6636 x$.

Variáveis de resposta do processo fermentativo

Os fatores crescimento celular e taxa de consumo de açúcares foram considerados como fatores de respostas, calculados conforme as equações 2 a 8, a seguir:

a. Taxa específica de crescimento microbiano, equação 2:

$$\mu_{\text{máx}} = \frac{\ln X}{X_0} \div t \quad (2)$$

$\mu_{\text{máx}}$ = taxa específica de crescimento microbiano máximo (h^{-1});
 X = massa celular final (g L^{-1});
 X_0 = massa celular inicial (g L^{-1});
 t = duração da fase exponencial do crescimento celular (h).

b. Tempo de geração, equação 3;

$$t_g = \frac{\ln(2)}{\mu_{\text{máx}}} \quad (3)$$

t_g = tempo de geração;
 $\mu_{\text{máx}}$ = taxa específica de crescimento microbiano máximo (h^{-1});

c. Consumo de xilose, equação 4:

$$\text{Velocidade de Consumo} = \frac{X_i - X_f}{\text{Tempo}} \quad (4)$$

X_i = Concentração inicial de massa celular presente no meio (g L^{-1})
 X_f = Concentração final de massa celular presente no meio (g L^{-1})

d. Rendimento do produto em função do substrato ($Y_{P/S}$), equação 5:

$$Y_{P/S} = \frac{P}{S_i - S_f} \quad (5)$$

$Y_{P/S}$ = Rendimento em ($\text{g}_{\text{produto}}, \text{g}_{\text{substrato}}^{-1}$)

P = Concentração final de etanol (g L^{-1})

S_i = Concentração inicial de açúcar presente no meio (g L^{-1})

S_f = Concentração final de açúcar presente no meio (g L^{-1})

e. Rendimento do produto em função da massa celular ($Y_{P/X}$), equação 6:

$$Y_{P/X} = \frac{P}{X_f - X_i} \quad (6)$$

$Y_{P/X}$ = Rendimento em ($\text{g}_{\text{produto}}, \text{g}_{\text{biomassa}}^{-1}$)

P = Concentração final de etanol (g L^{-1})

X_i = Concentração inicial de massa celular presente no meio (g L^{-1})

X_f = Concentração final de massa celular presente no meio (g L^{-1})

f. Rendimento de massa celular em função do substrato ($Y_{X/S}$), equação 7:

$$Y_{X/S} = \frac{X_f - X_i}{S_i - S_f} \quad (7)$$

$Y_{X/S}$ = Rendimento em ($\text{g}_{\text{biomassa}}, \text{g}_{\text{substrato}}^{-1}$)

X_i = Concentração inicial de massa celular presente no meio (g L^{-1})

X_f = Concentração final de massa celular presente no meio (g L^{-1})

S_i = Concentração inicial de açúcar presente no meio (g L^{-1})

S_f = Concentração final de açúcar presente no meio (g L^{-1})

g. Eficiência Fermentativa

$$E_f = \frac{Y_{P/S}}{0,917} \times 100 \quad (7)$$

E_f = Eficiência Fermentativa

$Y_{P/S}$ = Rendimento em ($\text{g}_{\text{produto}}, \text{g}_{\text{substrato}}^{-1}$)

Métodos analíticos

O consumo de xilose ao longo do tempo de fermentação foi determinado por meio da quantificação do teor de açúcares redutores seguindo o método colorimétrico com ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), descrito por Miller (1959) e adaptado segundo Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013). D-xilose com concentrações variando de 0,0 a 1,0 g L⁻¹ foi usada para construção de curva analítica.

As concentrações de xilitol e etanol foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) - Shimadzu Prominence UFLC 20A, com coluna Rezex ROA-Phenomenex® (300 x 7,5 mm) mantida a 60°C e utilização de H₂SO₄ 0,0025 mol L⁻¹ como eluente a 0,6 mL min⁻¹. A detecção foi feita por índice de refração e para a quantificação foram usados padrões externos.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas por meio do software SISVAR, versão 5.8 (Build 92). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 0,05 de significância.

3 - Resultados e Discussão

Crescimento celular e Viabilidade Celular

Na Figura 2 é possível observar os perfis de crescimento celular da levedura *C. orthopsilosis* UFLVJM 4G em meios com diferentes valores de pH. Nos bioprocessos conduzidos com meio fermentativo em pH iniciais de 4 e 5 houve a presença de fases de latência nas primeiras 12 horas, indicando um período de adaptação do microrganismo ao meio fermentativo, onde não há reprodução celular e sim uma intensa atividade metabólica preparatória visando a sobrevivência no meio de cultivo (Bertrand, 2019). Na fermentação conduzida em meio com pH igual a 6, não foi observado o mesmo perfil preparatório, uma vez que o crescimento da levedura foi

contínuo durante 48h de processo. Todavia, nos bioprocessos conduzidos em pH 4 e 5, a fase logarítmica, caracterizada por um crescimento exponencial, começou a partir de 12h chegando até as 24h de fermentação.

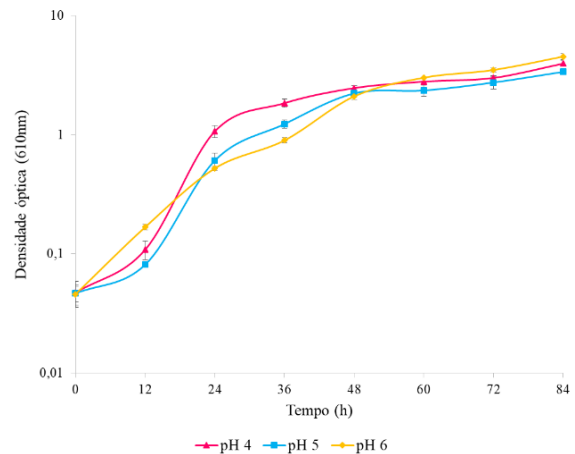


Figura 2. Perfis de crescimento celular da levedura *C. orthopsilosis* UFVJM 4G em processos fermentativos com meio Oliveira (2010) em diferentes pHs

Na Figura 3 é possível observar que a 28°C houve latência no crescimento nas primeiras 12 horas. Nas fermentações conduzidas a 30°C e 32°C não foram observadas fases lag. Todavia, no bioprocessos conduzido a 28°C, a fase logarítmica foi mais intensa.

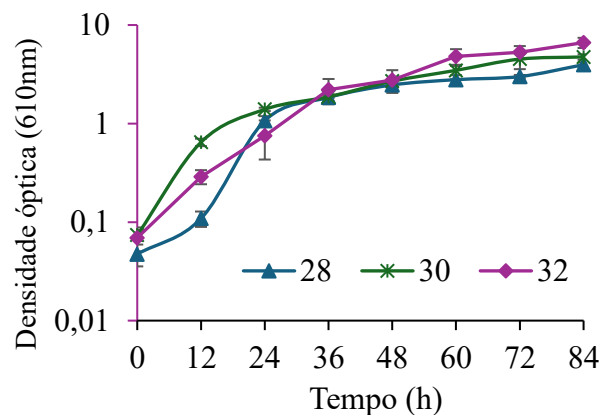


Figura 3. Perfis de crescimento celular da levedura *C. orthopsilosis* UFVJM 4G em processos fermentativos com meio Oliveira (2010) em diferentes temperaturas

Na Tabela 1 é possível observar que apenas em pH 4 a viabilidade celular se manteve em 100% durante as primeiras 36 horas (Figura 3).

Tabela 1. Viabilidade celular da *C. orthopsilosis* UFVJM 4G em meios fermentativos com diferentes valores de pH.

Horas de Fermentação	pH 4	pH 5	pH 6
	%		
0	100,00	100,00	100,00
12	100,00	86,21	93,33
24	100,00	100,00	100,00
36	100,00	88,89	92,31
48	98,39	97,83	92,86
60	97,59	94,74	93,51
72	98,18	96,30	98,15
84	96,88	95,24	94,67

Na Tabela 2 é possível observar que a 28°C a viabilidade celular foi a que menos diminuiu com o passar das 84 horas de fermentação.

Tabela 2. Viabilidade celular da *C. orthopsilosis* UFVJM 4G em meios fermentativos com diferentes temperaturas

Horas de Fermentação	28°C	30°C	32°C
	%		
0	100,00	100,00	100,00
84	96,88	82,45	92,86

Quanto à taxa máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) (Tabela 3), foi observado que dentre as condições estudadas, não houve diferença significativa entre as fermentações conduzidas com pH 4 ($0,19 \text{ h}^{-1}$) e pH 5 ($0,16 \text{ h}^{-1}$). Em pH 6, a taxa máxima de crescimento foi menor que as demais, apresentando um valor de $0,09 \text{ h}^{-1}$. Consequentemente, o tempo de geração (t_g)

apresentou perfis inversamente proporcionais a $\mu_{\text{máx}}$, mantendo a igualdade estatística entre as condições em pH 4 e 5, e divergência quanto ao pH 6.

Tabela 3. Parâmetros de crescimento da *C. orthopsilosis* UFVJM 4G em meios fermentativos com diferentes valores de pH.

pH	Parâmetros	
	$\mu_{\text{máx}} (\text{h}^{-1})^*$	$t_g (\text{h})^*$
4	$0,19 \pm 0,06^a$	$3,63 \pm 0,12^b$
5	$0,16 \pm 0,01^a$	$4,18 \pm 0,29^b$
6	$0,09 \pm 0,06^b$	$7,37 \pm 0,54^a$

*Letras iguais na coluna correspondente indicam que não há diferença estatística ao nível de 95% de significância.

* $\mu_{\text{máx}} (\text{h}^{-1})$: taxa máxima de crescimento celular; t_g : tempo de geração (h).

Não houve diferença significativa entre as taxas máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) nas fermentações conduzidas com as temperaturas de 28°C ($0,19 \text{ h}^{-1}$) e 30°C ($0,18 \text{ h}^{-1}$) (Tabela 4). A 32°C, a taxa máxima de crescimento foi menor que as demais, apresentando um valor de $0,07 \text{ h}^{-1}$. Consequentemente, o tempo de geração (t_g) apresentou perfis inversamente proporcionais a $\mu_{\text{máx}}$, mantendo a igualdade estatística entre as condições em 28°C e 30°C, e divergência quanto a 32°C.

Tabela 4. Parâmetros de crescimento da *C. orthopsilosis* UFVJM 4G em meios fermentativos com as temperaturas: 28°C, 30°C e 32°C

Temperatura (°C)	Parâmetros	
	$\mu_{\text{máx}}$ (h ⁻¹)*	t _g (h)*
28	0,19±0,06 ^a	3,63±0,12 ^b
30	0,18±0,01 ^a	3,83±0,29 ^b
32	0,07±0,03 ^b	5,52±1,43 ^a

*Letras iguais na coluna correspondente indicam que não há diferença estatística ao nível de 95% de significância.

* $\mu_{\text{máx}}$ (h⁻¹): taxa máxima de crescimento celular; t_g: tempo de geração (h).

Consumo de xilose

As maiores velocidades de consumo de xilose foram observadas nas fermentações em pH 4 e pH 5, com velocidades de 0,24 g L⁻¹ h⁻¹, portanto, significativamente iguais (Tabela 5). No pH 6 houve a menor velocidade de consumo (0,17 g L⁻¹ h⁻¹). O consumo total de xilose foi observado apenas na fermentação em pH 4, após 84 horas de bioprocessamento (Figura 5). Em pH 5, após 48 horas ainda continha uma concentração de 2,47 g L⁻¹ da pentose, enquanto em pH 6 a concentração de xilose remanescente foi de 6,46 g L⁻¹. Em estudo conduzido por Ribeiro et al., 2019, sobre a otimização das condições fermentativas por levedura da espécie *Pichia membranifaciens*, os autores identificaram que dentre as condições avaliadas, a maior velocidade de consumo de xilose ocorreu em pH 4.

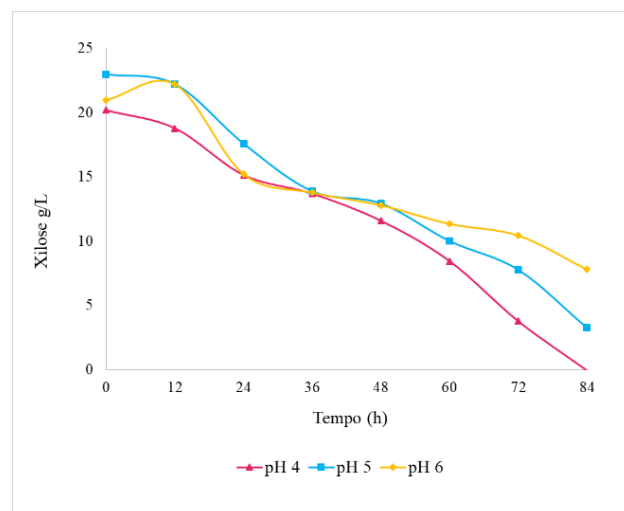


Figura 5. Perfis de consumo de xilose em processos fermentativos conduzidos com meio Oliveira (2010) com diferentes pHs

Tabela 5. Velocidade de consumo da xilose pela levedura *C. orthopsilosis* UJVJM 4G em meio fermentativo

pH	Velocidade de consumo (g L ⁻¹ h ⁻¹)
4	0,24±0,02 ^a
5	0,24±0,01 ^a
6	0,17±0,00 ^b

*Letras iguais na coluna correspondente indicam que não há diferença estatística ao nível de 95% de significância.

As velocidades de consumo de xilose observadas nas fermentações em 28°C, 30°C e 32°C foram semelhantes (Tabela 6). O consumo total de xilose foi observado na fermentação em 28°C, após 84 horas de bioprocessamento, já nas de 30°C e 32°C o açúcar esgotou em 72 horas (Figura 6).

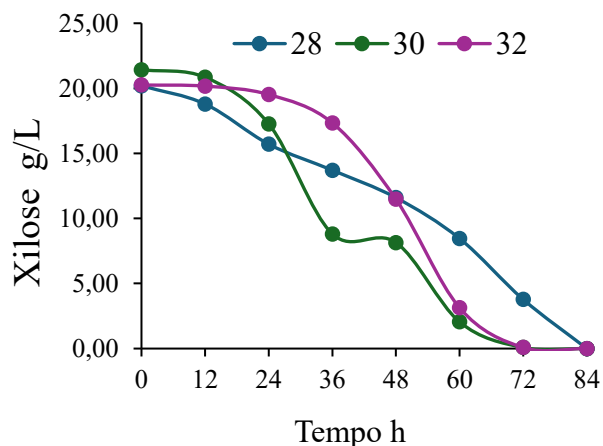


Figura 6. Perfis de consumo de xilose em processos fermentativos conduzidos com meio Oliveira (2010) com diferentes temperaturas

Tabela 6. Velocidade de consumo da xilose pela levedura *C. orthopsilosis* UFVJM 4G em meio fermentativo

Temperaturas (°C)	Velocidade de consumo (g L ⁻¹ h ⁻¹)
28	0,24±0,02 ^a
30	0,23±0,01 ^a
32	0,22±0,00 ^b

*Letras iguais na coluna correspondente indicam que não há diferença estatística ao nível de 95% de significância.

Produção de xilitol nos pH 4, 5 e 6

No meio fermentativo com pH 4 a concentração de xilitol chegou a 10,41 g L⁻¹, enquanto para o pH 5 e pH 6 foram alcançadas concentrações de 8,28 g L⁻¹ e 5,52 g L⁻¹, respectivamente (Tabela 7). De acordo com Hazal et al. (2024) o pH do meio é um dos parâmetros importantes na produção de xilitol, sendo que as leveduras geralmente prosperam em meios ácidos, com pH entre 4 e 6, podendo tolerar valores mais baixos ou mais elevados, no entanto, o pH ótimo para a produção de xilitol depende da linhagem de levedura e da composição do meio fermentativo. Neste sentido, foi possível identificar que o ajuste de pH para o meio Oliveira (2010) para valor igual a 4, favoreceu a produção de xilitol pela linhagem de levedura *C. orthopsilosis* UFVJM 4G. A

produção de etanol também foi observada ao longo das fermentações realizadas nos meios com pH 4 e 5, em concentrações de 0,90 g L⁻¹ e 0,81 g L⁻¹, respectivamente (Tabela 8). O etanol é produzido nessas situações devido ao desvio do metabolismo para a fermentação alcoólica, por se tratar de uma via eficiente para regeneração de NAD⁺, um cofator necessário para manutenção da atividade celular (Gambacorta et al., 2021).

Tabela 7. Concentrações de xilitol nos pontos inicial e final do processo com os pHs 4, 5 e 6 conduzidos com a levedura *C. orthopsilosis* UFVJM 4G

Tempo (h)	Xilitol (g L ⁻¹)		
	pH 4	pH 5	pH 6
0	0 ^a	0 ^a	0 ^a
84	10,41±0,4 ^a	8,28±0,19 ^b	5,52±1,03 ^c

*Letras iguais na linha correspondente indicam que não há diferença estatística ao nível de 95% de significância.

Tabela 8. Concentrações de etanol nos pontos inicial e final do processo com os pH 4, 5 e 6 conduzidos com a levedura *C. orthopsilosis* UFVJM 4G

Tempo (h)	Etanol (g L ⁻¹)		
	pH 4	pH 5	pH 6
0	0 ^a	0 ^a	0 ^a
84	0,90±0,01 ^a	0,81±0,11 ^a	0 ^b

*Letras iguais na linha correspondente indicam que não há diferença estatística ao nível de 95% de significância.

A 28°C a concentração de xilitol chegou a 10,41 g L⁻¹, enquanto para as temperaturas de 30°C e 32°C foram alcançadas concentrações de 8,50 g L⁻¹ e 8,80 g L⁻¹, respectivamente (Tabela 9). De acordo com Canuto (2024) a temperatura é um parâmetro de extrema importância produção de xilitol, sendo que as leveduras geralmente prosperam em entre 24°C a 35°C, podendo tolerar valores mais baixos ou mais elevados, no entanto,

várias pesquisas apontam que cada levedura possui uma temperatura ótima e depende da linhagem de levedura e da composição do meio fermentativo. Neste sentido, foi possível identificar que o ajuste de temperatura para o meio Oliveira (2010) para valor igual a 28°C, favoreceu a produção de xilitol pela linhagem de levedura *C. orthopsilosis* Ufvjm 4G.

Tabela 9. Concentrações de xilitol nos pontos inicial e final do processo com as temperaturas de 28°C, 30°C e 32°C conduzidos com a levedura *C. orthopsilosis* Ufvjm 4G

Tempo (h)	Xilitol (g L ⁻¹)		
	28°C	30°C	32°C
0	0 ^a	0 ^a	0 ^a
84	10,41±0,4 ^a	8,50±0,58 ^b	8,80±1,51 ^b

*Letras iguais na linha correspondente indicam que não há diferença estatística ao nível de 95% de significância.

Parâmetros Fermentativos do xilitol em meio com diferentes valores de pH

Os parâmetros fermentativos da levedura *C. orthopsilosis* Ufvjm 4G para a produção de xilitol se encontram na Tabela 10.

Os valores de rendimento ($Y_{P/S}$) não apresentaram diferenças significativas entre as três condições de pH utilizadas. Quanto aos $Y_{P/X}$, os valores foram significativamente semelhantes apenas para as condições de meios em pH 4 (6,07 g_P g_S⁻¹) e pH 5 (5,67 g_P g_S⁻¹). Em se tratando de rendimento ($Y_{X/S}$) o maior valor observado foi para o processo conduzido em meio com pH 4 (1,74 g_P g_S⁻¹). Nas fermentações em pH 5 e pH 6, os rendimentos ($Y_{X/S}$) não apresentaram diferença significativa, onde foram obtidos valores de 0,07 g_P g_S⁻¹ e 0,14 g_P g_S⁻¹, respectivamente.

Quanto à eficiência fermentativa (E_f) dos bioprocessos, não houve diferença significativa entre eles, onde foram alcançados valores de

52,94% em pH4, 40,37% em pH 5 e 38,08% em pH 6. Em relação a produtividade volumétrica, foram observadas diferenças significativas entre todas as condições. O processo conduzido com meio fermentativo com pH 4 obteve uma produtividade volumétrica (Q_P) de 0,14 g L⁻¹ h⁻¹, enquanto com pH 5 e pH 6 foram alcançadas produtividades de 0,11 g L⁻¹ h⁻¹ e 0,07 g L⁻¹, respectivamente. Em estudo conduzido por Silva et al. (2020), em processo fermentativo com levedura da espécie *Starmerella meliponinorum* em meio sintético (pH 4), os autores reportaram resultados de 63,5% de eficiência e produtividade de xilitol de 0,21 g L⁻¹ h⁻¹.

Tabela 10. Parâmetros fermentativos da *C. orthopsilosis* Ufvjm 4G em meio de fermentação com pH 4, 5 e 6

Parâmetros	pH 4	pH 5	pH 6
$Y_{P/S}$	0,52±0,07 ^a	0,40±0,01 ^a	0,38±0,07 ^a
$Y_{P/X}$	6,07±0,36 ^b	5,67±0,29 ^b	2,78±0,34 ^a
$Y_{X/S}$	1,74±0,09 ^b	0,07±0,00 ^a	0,14±0,00 ^a
E_f	52,94±7,33 ^a	40,37±1,75 ^a	38,08±7,53 ^a
Q_P	0,14±0,01 ^c	0,11±0,02 ^b	0,07±0,01 ^a

*Letras iguais na linha correspondente indicam que não há diferença estatística ao nível de 95% de significância.

Os valores de rendimento ($Y_{P/S}$) variaram entre as temperaturas analisadas, com destaque para a fermentação conduzida a 28°C, que obteve o maior rendimento de 0,53 g_P g_S⁻¹ (Tabela 12). Em 30°C, o rendimento foi reduzido para 0,43 g_P g_S⁻¹, enquanto a temperatura de 32°C apresentou um leve aumento, atingindo 0,48 g_P g_S⁻¹. Não houve diferença estatística significativa entre os valores de $Y_{P/S}$ nas condições de 28°C e 32°C.

Quanto ao rendimento de produto por célula ($Y_{P/X}$), a maior eficiência foi observada a 28°C, com um valor de 6,07 g_P g_X⁻¹. À medida que a temperatura aumentou, os valores decresceram significativamente, alcançando 3,33 g_P g_X⁻¹ em

30°C e 2,54 g_p g_x⁻¹ em 32°C. Esses resultados indicam uma relação inversa entre o aumento da temperatura e a eficiência de conversão celular.

Em termos de rendimento de substrato por célula (Y_{X/S}), o valor mais elevado foi obtido a 28°C (1,74 g_x g_s⁻¹), seguido por uma redução considerável nas temperaturas de 30°C (0,32 g_x g_s⁻¹) e 32°C (0,43 g_x g_s⁻¹). A análise estatística revelou que o rendimento a 28°C foi significativamente maior em comparação com as demais condições.

A eficiência fermentativa (E_f) apresentou variações limitadas entre as temperaturas, sendo mais alta a 28°C (52,94%) e ligeiramente inferior em 32°C (51,79%). A temperatura de 30°C resultou na menor eficiência (47,41%). Apesar disso, as diferenças entre os valores não foram estatisticamente significativas.

Por fim, a produtividade volumétrica (Q_P) foi maior a 28°C, com um valor de 0,14 g L⁻¹ h⁻¹. As temperaturas de 30°C e 32°C apresentaram produtividades semelhantes, de 0,11 g L⁻¹ h⁻¹ e 0,12 g L⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Esses resultados corroboram a importância de controlar a temperatura para maximizar a produtividade no bioprocessos.

Tabela 12. Parâmetros fermentativos da *C. orthopsilosis* UFVJM 4G em meio de fermentação com temperatura 28°C, 30°C e 32°C

Parâmetros	28°C	30°C	32°C
Y _{P/S}	0,53±0,07 ^a	0,43±0,01 ^a	0,48±0,04 ^a
Y _{P/X}	6,07±0,36 ^b	3,33±0,06 ^a	2,54±0,60 ^a
Y _{X/S}	1,74±0,09 ^b	0,32±0,07 ^a	0,43±0,11 ^a
E _f	52,94±7,33 ^a	47,41±2,99 ^a	51,79±4,77 ^a
Q _P	0,14±0,01 ^a	0,11±0,00 ^a	0,12±0,02 ^a

*Letras iguais na linha correspondente indicam que não há diferença estatística ao nível de 95% de significância.

4 - Conclusões

A partir dos resultados observados, concluiu-se que, os valores de pH e temperatura afetaram o crescimento, a viabilidade e parâmetros de fermentação da levedura estudada. E entre as condições avaliadas, o pH 4 e a temperatura de 28°C foram os que a linhagem de *C. orthopsilosis* UFVJM 4G apresentou o melhor desempenho. Nessa condição, foram obtidos os melhores resultados de taxa de crescimento e viabilidade celular, maior taxa de consumo de substrato e formação de produto, e conseqüentemente, os melhores parâmetros de processo. Conhecer a capacidade da levedura *C. orthopsilosis* de prosperar em condições específicas, permitiu avaliar a sua aplicabilidade em bioprocessos.

5 - Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradecimento à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG); Instituto de Ciência e Tecnologia (ICT-UFVJM) e Programa de Pós – Graduação em Biocombustíveis – UFVJM/UFU.

6 - Referências

- Azevedo, J. L., et al. Biotecnologia: Microbiana Ambiental. Editora Da Universidade Estadual De Maringá. [s.l.: s.n.].
- Barreto, A.V. V. P.; Silva, C. F. Produção De Xilitol: Reaproveitamento De Resíduos Da Agroindústria. Anais Do III Congresso Brasileiro de Biotecnologia On-Line, 30 Mar. 2023.
- Bertrand R. L. (2019). Lag Phase Is a Dynamic, Organized, Adaptive, and Evolvable Period That Prepares Bacteria for Cell Division. Journal of Bacteriology, 201(7), e00697-18.

4º WORKSHOP DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCOMBUSTÍVEIS

UFVJM-UFU

- BEVILAQUA, G. C.; MAUGERI FILHO, F.; FORTE, M. B. S. Simultaneous production of xylitol and arabitol by *C. tropicalis* fermentation improving agro-industrial wastes valorization. *Food and Bioproducts Processing*, v. 140, p. 29–45, ago. 2023.
- Canuto, M. H. Influência de alguns parâmetros na produção de cachaça: linhagem de levedura, temperatura de fermentação e corte do destilado. UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS DEPARTAMENTO DE QUÍMICA. [s.l: s.n.].
- Diógenes, B. C.; Carmo S. K. S. Desempenho Da *Saccharomyces Cerevisiae* Ao Estresse Ácido No Processo de Fermentação Alcoólica. *Research, Society and Development*, vol. 10, no. 10, 9 Aug. 2021, p. e232101018716.
- FARIAS, D. et al. New biotechnological opportunities for C5 sugars from lignocellulosic materials. *Bioresource Technology Reports*, v. 17, p. 100956, fev. 2022.
- Ferreira, A. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA. [s.l: s.n.].
- Filiz Hazal, et al. “A Sustainable Approach for Xylitol Production from Pistachio Shell Using *C. Tropicalis*.” *Biofuels Bioproducts and Biorefining*, 21 Nov. 2024,
- Françoso, L. O. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA -UNESP FACULDADE DE CIÊNCIAS DEPARTAMENTO DE QUÍMICA. [s.l: s.n.].
- Freitas, F. S. Fermentação Alcoólica De Hidrolisado Ácido De Torta De Polpa De Macaúba Utilizando a Levedura *C. akabanensis* UFMJM-R131 na Forma Livre e Imobilizada. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri.
- Gambacorta, F. V., Dietrich, J. J., Yan, Q., Pflieger, B. F. (2020). Rewiring yeast metabolism to synthesize products beyond ethanol. *Current opinion in chemical biology*, 59, 182–192.
- Honorato, V. M.; Paes, B. G.; Almeida, J. R. M. Genética e Biotecnologia Microbiana 21 Graduandos Construção de novas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* capazes de utilizar xilose para a produção de bioetanol. [s.l: s.n.].
- Kaur, S. et al. Efficient process for xylitol production from nitric acid pretreated rice straw derived pentosans by *C. tropicalis* GS18. *Biomass and Bioenergy*, v. 166, p. 106618, nov. 2022.
- Machado, P. G. Solubilidade Da Xilose E Do Xilitol Em Soluções Líquidas Binárias Formadas Por Água, Etilenoglicol E 1,2- Propilenoglicol Na Faixa De Temperatura De 293,15 K A 323,15 K. [s.l: s.n.].
- Mesquita, T. J. B. Estruturas De Controle De Biorreator Baseadas Em Fluxos Metabólicos Para Fermentações Micro-aeradas. Universidade Federal De São Carlos Centro De Ciências Exatas E De Tecnologia Programa De Pós-Graduação em Engenharia Química. São Carlos-SP 2021. [s.l: s.n.].
- Oliveira (2010). Dissertação de Mestrado. 2010. Avaliação da aclimatização do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana-de-açúcar por *Pichia stipitis* e classificação da toxicidade dos inibidores celulares.
- Pereira, L. P. R. C. 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. [s.l: s.n.].
- Pontes, R. P. C. Adaptação De Linhagens de Leveduras Fermentadoras de Pentoses em Hidrolisado de Torta de Girassol para Produção de Bioetanol. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.
- Santos, F. R. S. Produção E Caracterização De Celulases E Hemicelulases Por Linhagens Fúngicas Mesófilas Isoladas Do Cerrado Sul-Mato-Grossense. Universidade Federal da Grande Dourados Faculdade de Ciências Exatas e Tecnológicas. Dissertação De Mestrado Em Ciência E Tecnologia Ambiental.
- Silva, P. V.; Peres, J. R.; Sousa, K. H. D. A Eficácia Do Xilitol Na Prevenção Da Cárie Dentária: Revisão De Literatura. *Facit Business and Technology Journal*, v. 2, n. 39, 2022.
- Silva, R. O.; Serpa, M. N.; Brod, F. C. A. (2020). INFLUENCE OF AGITATION AND AERATION ON

**4º WORKSHOP DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCOMBUSTÍVEIS
UFVJM-UFU**

XYLITOL PRODUCTION BY THE YEAST *Starmerella meliponinorum*. *Química Nova*, 43(6), 705–710.

Souza, R. M. Produção de xilitol por linhagens de leveduras do gênero *Cyberlindnera*. Universidade Federal De Minas Gerais Instituto De Ciências Biológicas Departamento De Microbiologia Dissertação De Mestrado [s.l: s.n.].

Pereira, A. D. FATORES QUE AFETAM A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA. *Ciência e Tecnologia Fatec*.

Tortora, Gerard J.; Funke, Berdell R.; Case, Christine L. *Microbiologia*. 12th ed. Porto Alegre: ArtMed, 2017. E-book. p.Capa. ISBN 9788582713549.